

## Backqualität und Ertrag im deutschen Weizensortiment II. Marker-Merkmalsassoziation

### Bread-making quality and grain yield in German winter wheat II. Marker-trait associations

Volker Mohler<sup>1\*</sup>, Günther Schweizer<sup>1</sup> und Lorenz Hartl<sup>1</sup>

#### Abstract

Grain yield and bread-making quality are priority traits for each commercial wheat breeding programme. Association mapping of grain yield, grain protein content, sedimentation volume, gluten index and loaf volume was carried out in 94 elite soft winter wheat lines. Population structure was inferred with the software package STRUCTURE using 37 microsatellite markers. Descriptions of that relatedness of individuals were incorporated into the statistical model using TASSEL software package. Genotyping the set of diverse wheat samples with Diversity Arrays Technology and microsatellite markers provided 502 unique segregation signatures showing allele frequencies >5%. Grain yield and grain protein content were associated ( $P < 0.01$ ) with 19 and 18 marker loci, respectively. Of these marker-trait associations, 11 were common to both traits. Comparing trait differences between lines carrying alternative marker alleles at these 11 marker loci allowed the detection of significant marker effects. Except for *XwPt-1403-1B*, relative effects of marker alleles on grain yield and grain protein content were more or less similar, but opposite indicating a genetic basis for the inverse relationship between the traits. Consequently, only marker *XwPt-1403-1B* was associated with grain protein yield:

presence of the allele that was positively associated with grain yield resulted in a relative mean increase of grain protein yield by 4%. Since the glutenins are major determinants of bread-making quality, the underlying loci and the T1BL.1RS wheat-rye translocation were subjected to marker-trait association analysis. For *Glu-D3*, the closely linked marker *XwPt-7946-1D* was used to estimate trait associations. Except *Glu-A3*, all glutenin loci were associated with gluten index and sedimentation volume. The strongest association with gluten index was found for *Glu-D1*, whereas allelic variation at *Glu-B3* was most significant for sedimentation volume. Loaf volume was equally associated with glutenin loci from B and D genomes, no association was observed with *Glu-A1* and *Glu-A3*. The T1BL.1RS wheat-rye translocation showed similar marker-trait associations as *Glu-B3*, but with opposite effects. For grain yield and grain protein content, an association was only found with *Glu-D3* (*XwPt-7946-1D*).

#### Key words

Association mapping, bread-making quality, grain protein content, grain yield, population structure, *Triticum aestivum*

#### Einleitung

Kornertrag und Backqualität sind vorrangige Zuchtziele in der Weizenzüchtung. Diese beiden Merkmale gleichermaßen zu realisieren, fordert die Pflanzzüchter immer wieder aufs Neue heraus. Ein wesentlicher Grund hierfür besteht in der inversen Beziehung zwischen dem Kornertrag und dem Rohproteingehalt; letzterer ist auch maßgebend für die Abschätzung der Backqualität bei der Vermarktung von Weizen. Die Identifizierung von QTL (*quantitative trait loci*) für Kornertrag, Rohproteingehalt und andere Backqualitätsparameter gestattet Einblicke in die genetische Basis der inversen Beziehung zwischen den Eigenschaften. Für eine solche Fragestellung sind Assoziationsstudien mit molekularen Markern durch die Nutzung der Alleldiversität eines Sortiments verschiedener Weizensorten bezüglich der genannten Merkmale sehr gut geeignet.

#### Material und Methoden

Der Anbau von 94 Sorten erfolgte an fünf Züchterstandorten in jeweils 2 Wiederholungen. Mischproben der jeweiligen Wiederholungen von sieben Umwelten (Aspachhof 2008, Mittelhof 2008, Morgenrot 2008 und 2009, Söllingen 2008 und 2009, Sülbeck 2009) wurden bezüglich der in *Tabelle 1* aufgeführten Merkmale analysiert. Qualitätsparameter wurden nach folgenden Methoden der International Association for Cereal Science and Technology (ICC) durchgeführt: ICC159 (Rohproteingehalt durch Nahinfrarot-Spektroskopie), ICC116 (Sedimentationsvolumen) und ICC155 (Glutenindex). Der Backversuch (Rapid-Mix-Test) wurde entsprechend dem Standardprotokoll der Arbeitsgemeinschaft für Getreideforschung e.V. durchgeführt. Die Genotypisierung des Weizensortiments mit Mikrosatelliten- und DArT- (Diversity Arrays Technology; AKBARI

<sup>1</sup> Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85354 FREISING

\* Ansprechpartner: Volker Mohler, volker.mohler@lfl.bayern.de

**Tabelle 1: Heritabilität ( $h^2$ ) der Merkmale nach FEHR (1987)**  
**Table 1: Trait broad-sense heritabilities ( $h^2$ ) according to FEHR (1987)**

Merkmal	$h^2$	Konfidenzintervall 95%
Kornertrag (YLD)	0,86	0,80 - 0,89
Rohproteingehalt (RPG)	0,94	0,92 - 0,96
Sedimentationsvolumen (SEDI)	0,97	0,95 - 0,98
Glutenindex (GLI)	0,93	0,90 - 0,95
Backvolumen (VOLRMT)	0,96	0,94 - 0,97

et al. 2006) Markern lieferte 502 einzigartige Signaturen mit Allelfrequenzen >5%. Durch die Verwendung von 37 Mikrosatelliten-Markern und dem Computerprogramm STRUCTURE (PRITCHARD et al. 2000) ließ sich das Sortiment in zwei Subpopulationen (Sorten ohne und mit englischem Genmaterial) unterteilen. Die Identifizierung der mit den Merkmalen assoziierten Markerloci wurde mit dem Computerprogramm TASSEL (BRADBURY et al. 2007) unter Berücksichtigung der Populationsstruktur durchgeführt.

## Ergebnisse

Für alle Merkmale konnten sehr hohe Heritabilitäten gefunden werden (Tabelle 1). Folglich war die Korrelation der Linienmittel, die in den unabhängigen Feldversuchen geschätzt wurden, sehr hoch.

Die Korrelationskoeffizienten zwischen den Merkmalen sind in Tabelle 2 dargestellt. Während Rohproteingehalt, Sedimentationsvolumen und Backvolumen positiv miteinander korreliert waren, zeigte der Kornertrag eine negative Korrelation mit diesen Merkmalen. Der Glutenindex, der ein Maß für die Proteinqualität darstellt, war positiv mit dem Sedimentations- und Backvolumen korreliert. Dieser Parameter zeigte aber lediglich eine schwache Korrelation mit dem Rohproteingehalt, und keine mit dem Kornertrag.

In der Marker-Merkmalassoziationsanalyse konnten für die Merkmale Kornertrag und Rohproteingehalt 19 bzw. 18 Markerloci identifiziert werden ( $P < 0,01$ ), wobei 11 Markerloci mit beiden Merkmalen assoziiert waren. Für jeden dieser 11 Loci wurden Markerallelklassen gebildet und bezüglich ihrer Merkmalsausprägung miteinander verglichen. Tabelle 3 zeigt die Mittelwerte der Allelklassen für Ertrag

**Tabelle 2: Korrelationskoeffizienten nach Pearson zwischen den Merkmalen**

**Table 2: Pearson correlation coefficients among traits**

	YLD	RPG	GLI	SEDI
RPG <sup>1</sup>	-0,76 ***			
GLI	-0,16 n.s.	0,28 **		
SEDI	-0,60 ***	0,85 ***	0,62 ***	
VOLRMT	-0,56 ***	0,74 ***	0,60 ***	0,81 ***

<sup>1</sup> Abkürzungen siehe Tabelle 1

\*,  $p < 0,05$ ; \*\*,  $p < 0,01$ ; \*\*\*,  $p < 0,001$ ; n.s., nicht signifikant

und Rohproteingehalt sowie den absoluten und relativen Effekt der Markerloci, immer bezogen auf das Markerallel, das den Ertrag erhöht. So zeigten z.B. Weizenlinien mit dem Allel 1 am Markerlocus *XwPt-5313-3D* im Mittel höhere Kornerträge bzw. niedrigere Rohproteingehalte als solche mit dem Allel 2. Dieser inverse Effekt der Markerallele auf Kornertrag und Rohproteingehalt konnte für alle 11 Markerloci beobachtet werden. Bei Betrachtung der relativen Effekte zeigte sich zudem, dass sich diese im Großen und Ganzen in der gleichen Größenordnung bewegten. Eine Ausnahme hiervon stellte Markerlocus *XwPt-1403-1B* dar. In diesem Falle war der positive Effekt des ertragserhöhenden Allels mehr als doppelt so hoch wie sein negativer Effekt auf den Rohproteingehalt. Dies konnte in der Assoziationskartierung für das Merkmal Rohproteinertrag bestätigt werden. Die Anwesenheit des den Kornertrag begünstigenden Markerallels führte gleichzeitig zu einer im Mittel relativen Erhöhung des Rohproteinertrags um 4% (Daten nicht gezeigt).

Die Glutenine sind eine für die Backqualität wichtige Komponente des Kornproteins, weshalb auch eine Assoziationsanalyse der fünf Merkmale mit den hoch- und niedermolekularen Gluteninloci durchgeführt wurde. Da für *Glu-D3* keine funktionalen Marker zur Verfügung standen, wurden Assoziationen indirekt über den gekoppelten DArT-Marker *XwPt-7946-1D* abgeschätzt. Bis auf *Glu-A3* waren alle Glutenin-Loci mit den Eigenschaften Glutenindex und Sedimentationsvolumen assoziiert ( $P < 0,01$ , Tabelle 4). Die stärkste Assoziation mit dem Glutenindex wurde für *Glu-D1* beobachtet, das Sedimentationsvolumen war am stärksten mit *Glu-B1* assoziiert. Das Backvolumen war gleichermaßen mit den hoch- und niedermolekularen Glutenin-Loci des B- und D-Genoms assoziiert, während mit *Glu-A1*

**Tabelle 3: Effekte der ertragserhöhenden Markerallele auf Kornertrag und Rohproteingehalt**

**Table 3: Effects of yield-increasing marker alleles on grain yield and grain protein content**

Markerlocus	Ertrag dt/ha				Rohproteingehalt %			
	Allel 1 <sup>1</sup>	Allel 2	Abs.	Rel.	Allel 1	Allel 2	Abs.	Rel.
<i>XwPt-9592-1A</i>	99,6	103,9	4,3	4,3%	12,9	12,4	-0,5	-3,9%
<i>XwPt-1403-1B</i>	103,3	95,7	7,6	7,9%	12,6	13,1	-0,5	-3,8%
<i>XwPt-7946-1D</i>	100,3	103,3	3,0	3,0%	12,9	12,5	-0,4	-3,1%
<i>XwPt-7225-3B</i>	97,7	102,5	4,8	4,9%	13,3	12,6	-0,7	-5,3%
<i>XwPt-5313-3D</i>	103,2	97,0	6,2	6,4%	12,5	13,3	-0,8	-6,0%
<i>XwPt-0817-4A</i>	93,8	102,2	8,4	9,0%	13,5	12,6	-0,9	-6,7%
<i>XwPt-1046-4B</i>	104,7	101,1	3,6	3,6%	12,3	12,8	-0,5	-3,9%
<i>XwPt-7906-6A</i>	103,0	101,3	1,7	1,7%	12,5	12,8	-0,3	-2,3%
<i>XwPt-2175-6B</i>	100,3	102,8	2,5	2,5%	12,8	12,6	-0,2	-1,6%
<i>XwPt-4748-7A</i>	100,0	104,1	4,1	4,1%	12,9	12,4	-0,5	-3,9%
<i>XwPt-1066-7B</i>	102,6	97,9	4,7	4,8%	12,6	13,1	-0,5	-3,8%

<sup>1</sup> Mittelwerte der Genotypklassen, absoluter und relativer Effekt des ertragserhöhenden Markerallels; alle Mittelwerte waren signifikant unterschiedlich (Scheffé-Test,  $p < 0,05$ )

**Tabelle 4: Assoziation der Gluteninloci mit den Merkmalen (P<0,01)****Table 4: Association of glutenin loci with traits (P<0.01)**

Hochmolekulare Glutenine			Niedermolekulare Glutenine		
Locus	Merkmal	P <sub>Marker</sub>	Locus	Merkmal	P <sub>Marker</sub>
<i>Glu-A1</i>	YLD	n.s.	<i>Glu-A3</i>	YLD	n.s.
	RPG	n.s.		RPG	n.s.
	GLI	<0,01		GLI	n.s.
	SEDI	<0,01		SEDI	n.s.
	VOLRMT	n.s.		VOLRMT	n.s.
<i>Glu-B1</i>	YLD	n.s.	<i>Glu-B3</i>	YLD	n.s.
	RPG	n.s.		RPG	n.s.
	GLI	<0,001		GLI	<0,0001
	SEDI	<0,01		SEDI	<0,0001
	VOLRMT	<0,01		VOLRMT	<0,01
			T1BL.1RS	YLD	n.s.
				RPG	n.s.
				GLI	<0,0001
				SEDI	<0,0001
				VOLRMT	<0,01
<i>Glu-D1</i>	YLD	n.s.	<i>XwPt-7946-1D</i>	YLD	<0,01
	RPG	n.s.		RPG	<0,01
	GLI	<10 <sup>-8</sup>		GLI	<0,01
	SEDI	<0,001		SEDI	<0,001
	VOLRMT	<0,01		VOLRMT	<0,01

und *Glu-A3* keine Assoziation bestand. Die T1BL.1RS Weizen-Roggen-Translokation, die im Weizensortiment spaltete, zeigte die gleichen Merkmalsassoziationen wie *Glu-B3*, jedoch mit negativen Effekten auf die Merkmale (Daten nicht gezeigt). Für die Merkmale Kornertrag und Rohproteingehalt konnte nur eine Beziehung mit *Glu-D3* (*XwPt-7946-1D*) hergestellt werden.

## Zusammenfassung

Diese Studie lieferte einen klaren Hinweis für eine genetische Basis - d.h. Kopplung, höchstwahrscheinlich in der Repulsionsphase - der inversen Beziehung zwischen Kornertrag und Rohproteingehalt. Zum besseren Verständnis dieser Beziehung sind jedoch hochauflösende Kartierungsstrategien notwendig. Es konnten aber auch

Markerloci identifiziert werden, deren Effekte ausschließlich den Kornertrag oder den Rohproteingehalt betrafen. Desweiteren konnte gezeigt werden, dass Glutenine von grundlegender Bedeutung für die Backqualität sind, ohne aber wesentlich den Ertrag zu beeinflussen.

## Danksagung

Wir danken den folgenden Züchterhäusern für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung des Projekts: SW Seed Hadmersleben, Fr. Strube Saatzucht, Saatzucht Streng, Saatzucht Josef Breun, Saatzucht Dieckmann und KWS LOCHOW. Weiterhin gilt unser Dank allen beteiligten Mitarbeitern der Arbeitsgruppen IPZ 2c (Züchtungsforschung Weizen und Hafer), IPZ 1b (Genomanalysen) des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung sowie der Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft. Letztlich möchten wir uns bei der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GPZ, Projektnummer, G116/07a) und dem Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi, Projektnummer 16IN0577) für die Förderung des Projekts bedanken.

## Literatur

- AKBARI M, WENZL P, CAIG V, CARLING J, XIA L, YANG S, USZYSKI G, MOHLER V, LEHMENSIEK A, KUCHEL H, HAYDEN MJ, HOWES N, SHARP P, VAUGHAN P, RATHMELL B, HUTTNER E, KILIAN A, 2006: Diversity arrays technology (DArT) for high-throughput profiling of the hexaploid wheat genome. *Theor. Appl. Genet.* 113, 1409-1420.
- BRADBURY PJ, ZHANG Z, KROON DE, CASSTEVENS RM, RAMDOSS Y, BUCKLER ES, 2007: TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23, 2633-2635.
- FEHR WR (1987) Heritability. In: Fehr WR (Ed.), *Principles of cultivar development: theory and technique*, 95-105. MacMillan, New York.
- PRITCHARD JK, STEPHENS M, DONNELLY P, 2000: Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959.