

Untersuchungen der Reaktionen verschiedener Gerstegenotypen auf zukünftige CO₂-Konzentrationen als Grundlage zur züchterischen Optimierung des „CO₂-Düngeeffektes“

Analyses of the responses of different barley genotypes to future CO₂ concentrations in order to optimise the CO₂ fertilisation effect through plant breeding

Esther Mitterbauer^{1*}, Frank Ordon², Antje Habekuß², Martin Erbs¹, Matthias Enders²,
Benjamin Kilian³, Hans-Joachim Weigel¹, Anette Giesemann⁴ und Jürgen Bender¹

Abstract

Atmospheric CO₂ concentration has risen all over the globe from pre-industrial times until today and is predicted to increase even more rapidly in future. Higher CO₂ concentration stimulates photosynthesis and can increase biomass and yield in C3 crops (CO₂ fertilization effect).

To get information about the genetic variability in winter barley (*Hordeum vulgare* L.) on CO₂ responses, 100 of about 630 genotypes analysed with the Illumina 9k iSelect chip were grown in open-top chambers at different CO₂ levels. Plants were phenotyped for growth parameters, yield (seed weight per plant) and yield components (seed number per ear, number of ears per plant, and the thousand-kernel weight) as well as for physiological (carbon isotope discrimination) and morphological (leaf structure) traits.

The genotypes differed significantly for thousand-kernel weight and number of ears per plant within the groups. The two-rowed genotypes varied in their seed number per ear, but this was not found in the six-rowed genotypes. Elevated CO₂ enhanced yield (+28%), number of seeds per ear (+12%), and number of ears per plant (+15%) in six-rowed genotypes. Elevated CO₂ increased the thousand-kernel weight (+4 %) and number of seeds per ear (+11%) in two-rowed genotypes, but not the yield and the number of ears per plant.

First association analyses were carried out by using the relative phenotypic data (elevated CO₂ vs. ambient CO₂) and markers have been identified that are most likely associated with particular yield traits.

Keywords

Hordeum vulgare, winter barley, elevated CO₂, genetic variability, yield, association analysis

Einleitung

Die über die letzten Jahrtausende relativ konstante atmosphärische CO₂-Konzentration von etwa 280 ppm ist durch anthropogene Einflüsse seit Beginn des industriellen Zeitalters bereits auf heutzutage 390 ppm angestiegen. Verschiedene Klimawandel-Projektionen gehen einhellig von einer weiteren Steigerung der CO₂-Konzentration für die Zukunft aus, die sich aller Voraussicht nach sogar noch beschleunigen wird. Lag die Zunahme der CO₂-Konzentration zwischen 1970 und 1999 noch bei 1,3-1,5 ppm pro Jahr, erhöhte sie sich im Jahr 2007 bereits auf 2,2 ppm. Die Projektionen sagen atmosphärische CO₂-Konzentrationen zwischen 460 und 620 ppm bereits im Jahr 2050 voraus (MEEHL et al. 2007).

Während CO₂ als wichtigstes Treibhausgas nach Wasserdampf starken Einfluss auf die Änderungen des Klimas nimmt, ist es gleichzeitig ein essentielles Substrat für die Biomasseerzeugung durch Pflanzen. Höhere CO₂-Konzentrationen stimulieren grundsätzlich unter ansonsten gleichen Bedingungen die Photosynthese bei C3-Pflanzen bei gleichzeitig reduzierter Blatttranspiration und einem damit einhergehenden geringeren Wasserverbrauch. Daher spricht man von einem CO₂-Düngeeffekt.

In verschiedenen Untersuchungen ist jedoch festgestellt worden, dass sich der potentielle Effekt von erhöhtem CO₂ (e[CO₂]) auf die Photosynthese weder in der aktuellen Photosynthese noch in entsprechenden Ertrags- bzw. Biomassezuwächsen wiederfindet (LONG et al. 2006).

Dass Kulturpflanzenarten und Sorten eine erhebliche Variationsbreite in der - in der Regel positiven - Wachstumsreaktion auf erhöhte CO₂-Konzentrationen aufweisen, ist bekannt (KIMBALL 1983). Zudem gibt es Hinweise, dass heutige Sorten das zusätzlich angebotene CO₂ nicht optimal verwerten können. Aus züchterischer Sicht ist daher die Frage nach intraspezifischer Variabilität von großer Bedeutung,

¹ Thünen-Institut für Biodiversität, Bundesallee 50, D-38116 BRAUNSCHWEIG

² Julius Kühn-Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Str. 27, D-06484 QUEDLINBURG

³ IPK Gatersleben, Corrensstraße 3, D-06466 Stadt Seeland, OT GATERSLEBEN

⁴ Thünen-Institut für Agrarklimaforschung, Bundesallee 50, D-38116 BRAUNSCHWEIG

* Ansprechpartner: Esther MITTERBAUER, esther.mitterbauer@vti.bund.de



soll der CO₂-Düngeeffekt gezielt nutzbar gemacht werden. Diese Fragestellung fand bislang nur wenig Berücksichtigung. So ist die Untersuchung von 17 Reislinien, die unter verschiedenen CO₂-Konzentrationen angebaut wurden, die bislang umfassendste (ZISKA et al. 2012).

Der vorliegende Beitrag berichtet über erste Ergebnisse aus einem Freilandexperiment mit einer umfangreichen Population von Wintergerstegenotypen, die unter verschiedenen CO₂-Konzentrationen aufwuchsen und im Hinblick auf physiologische, morphologische sowie Wachstums- und Ertragsmerkmale phänotypisiert und anschließend unter Berücksichtigung der Populationsstruktur assoziationsgenetisch analysiert wurden.

Material und Methoden

In Freilandversuchen am Thünen-Institut für Biodiversität werden über einen Zeitraum von drei Jahren jeweils 100 Wintergerstegenotypen in sogenannten open-top Kammern angebaut. Die Auswahl der Versuchsglieder erfolgte aufgrund einer vorangegangenen Genotypisierung unter Einbeziehung von 629 Gerste-Accessionen mit dem Illumina iSelect Chip (6808 SNP-Marker) (COMADRAN et al. 2012) und einer Clusteranalyse der in dem Panel enthaltenen 321 Wintergerstegenotypen (Enders, pers. Mitt.) anhand ihrer genetischen Distanz, Herkunft und ihres Alters. Die 100 Wintergerstegenotypen wurden parallel zu der ortsüblichen

Wintergerste-Aussaam im Feld (Mantelsaat) im September 2011 in Multi-Topfplatten im Gewächshaus ausgesät. Rund vier Wochen später wurden je 26 Versuchsgenotypen pro open-top Kammer in Beete inmitten der Mantelsaat gepflanzt, um einen Bestand zu simulieren (*Abbildung 1*).

Im März 2012 wurden die insgesamt zwölf open-top Kammern (*Abbildung 2*) über den Beeten platziert. Ab Ende März wurden in jeweils sechs Kammern die Versuchspflanzen aktiv mit Außenluft (~390 ppm CO₂, [amb]) bzw. mit Außenluft plus zusätzlichem CO₂ (700 ppm CO₂, e[CO₂]) belüftet.

Im ersten Anbaujahr wurden verschiedene phänotypische Parameter erfasst, darunter der Ertrag und Ertragsparameter. Unterschiede in der Kohlenstoffdiskriminierung und Blattmorphologie (Anzahl Stomata pro cm²) ausgewählter Genotypen konnten mittels Massenspektrometrie bzw. mittels Lackreliefs von Fahnenblättern nachgewiesen werden. Erste Merkmals-Markerassoziationen wurden anhand der einjährigen Ergebnisse berechnet.

Die Kovarianzanalysen wurden mit SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) unter Anwendung verschiedener Modelle (GLM/MLM) zu einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% durchgeführt. Die Auswertungen erfolgten jeweils nach zwei- und mehrzeiligen Genotypen getrennt in einem Modell, die Genotypen und die CO₂-Konzentration wurden als feste Effekte und die OTCs als zufällige Effekte in den Modellen berücksichtigt.

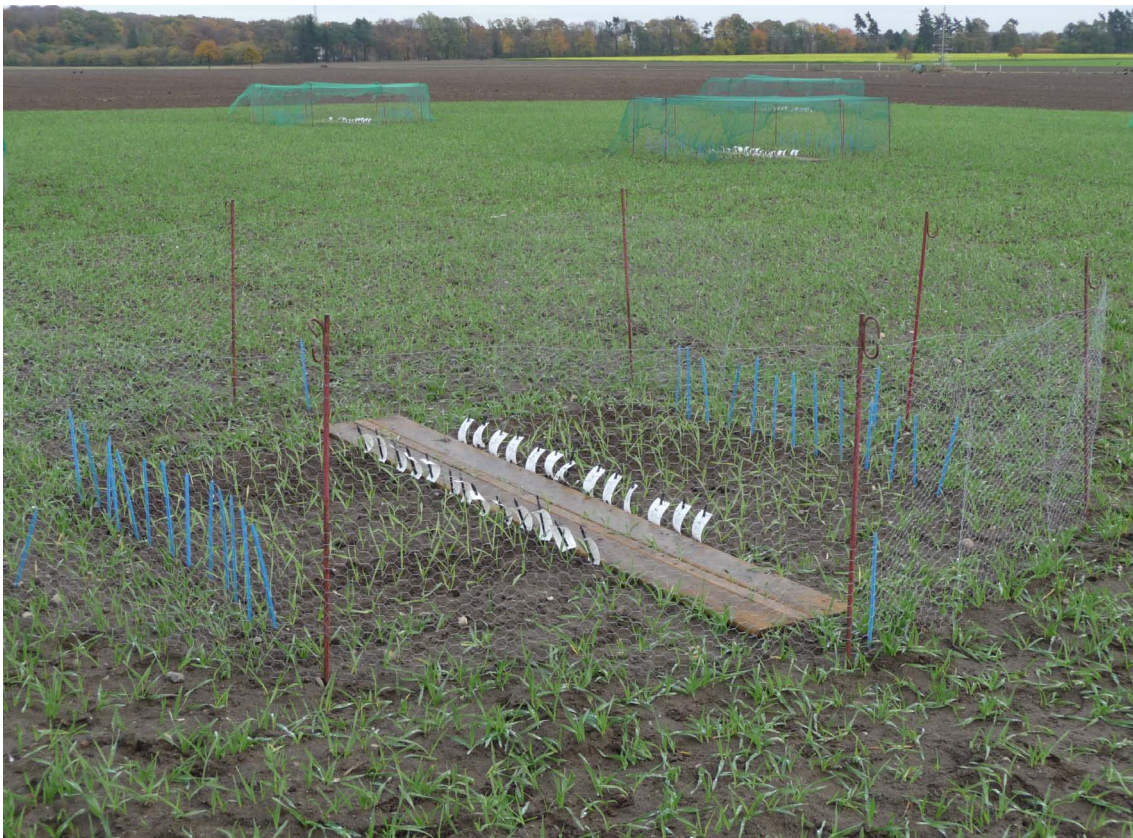


Abbildung 1: 26 Versuchsgenotypen pro open-top Kammer wurden in zwei Beete inmitten der Mantelsaat gepflanzt, um einen Bestand zu simulieren. Jede markierte Reihe entspricht einem Genotypen.

Figure 1: Twenty six genotypes per open-top chamber were transplanted in single rows among the shelter crop rows to simulate a closed canopy. Every labeled row corresponds to one genotype.



Abbildung 2: Zwölf open-top Kammern inmitten der Mantelsaat. Sechs der Kammern wurden mit Außenluft (~390 ppm CO₂), die übrigen sechs mit Außenluft plus zusätzlichem CO₂ (~700 ppm CO₂) belüftet.

Figure 2: Twelve open-top chambers on the field among the shelter crop. Six of the chambers were supplied with ambient air (~390 ppm CO₂) and with ambient air plus additional CO₂ (~700 ppm CO₂), respectively.

Ergebnisse und Diskussion

Die zwei- und sechszeiligen Genotypen unterschieden sich innerhalb der beiden Gruppen hinsichtlich ihres Tausendkorngewichts (TKG) signifikant voneinander. Erhöhtes CO₂ steigerte das TKG der zweizeiligen Genotypen signifikant um 4% von 53,5 auf 55,7 g. Das TKG der sechszeiligen Genotypen stieg um 1% von 44,7 auf 45,3 g.

Zweizeilige und sechszeilige Genotypen unterschieden sich jeweils hinsichtlich ihres Ertrages voneinander, jedoch hatte e[CO₂] lediglich einen signifikant positiven Einfluss auf sechszeilige Genotypen. Der Ertrag (Korngewicht pro Pflanze) stieg um 7% von 6,9 auf 7,4 g pro Pflanze bei den zweizeiligen Genotypen bzw. um 28% von 6,5 auf 8,3 g pro Pflanze bei den sechszeiligen Genotypen.

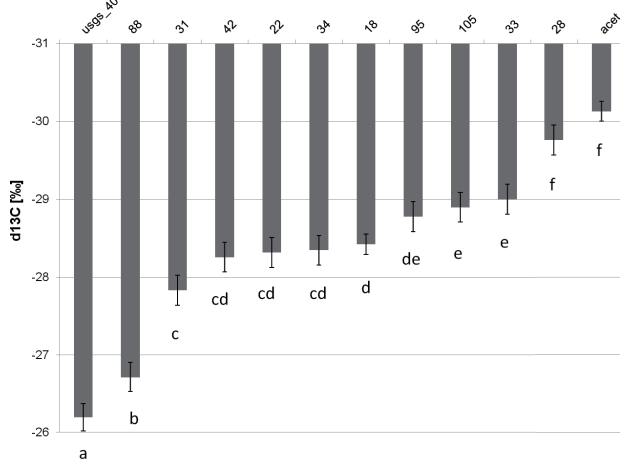


Abbildung 3: Die Kohlenstoffisotopensignaturen (δ¹³C) von zehn Genotypen gewachsen unter Außenluft und zwei Standards (usgs 40/acet). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen (P<0,05)

Figure 3: The carbon isotope signatures (δ¹³C) of ten genotypes grown under ambient air and two standards (usgs 40/acet). Different letters indicate significant differences between the genotypes (P<0.05)

Hinsichtlich der Kornzahl pro Ähre unterschieden sich die zweizeiligen Genotypen voneinander, nicht jedoch die sechszeiligen Genotypen. Beide Gruppen reagierten mit einem signifikant positiven Zuwachs auf e[CO₂]. Die Kornzahl pro Ähre nahm bei zweizeiligen Genotypen um 11% von 19 auf 21 Körner pro Ähre und bei sechszeiligen Genotypen um 12% von 43 auf 48 Körner pro Ähre zu.

Die Anzahl Ähren pro Pflanze unterschied sich bei den zweizeiligen und sechszeiligen Genotypen von einander. e[CO₂] führte bei zweizeiligen Genotypen zu keiner signifikanten Erhöhung der Ährenzahl, bei sechszeiligen stieg sie um 15% von 3,3 Ähren pro Pflanze auf 3,8 Ähren pro Pflanze.

Mittels massenspektrometrischer Bestimmung konnten signifikante Unterschiede der Kohlenstoff-Isotopensignaturen (δ¹³C) zwischen zehn unter normaler Außenluft angebauten Genotypen nachgewiesen werden, die zwischen -26,19 und -30,13‰ lagen (Abbildung 3).

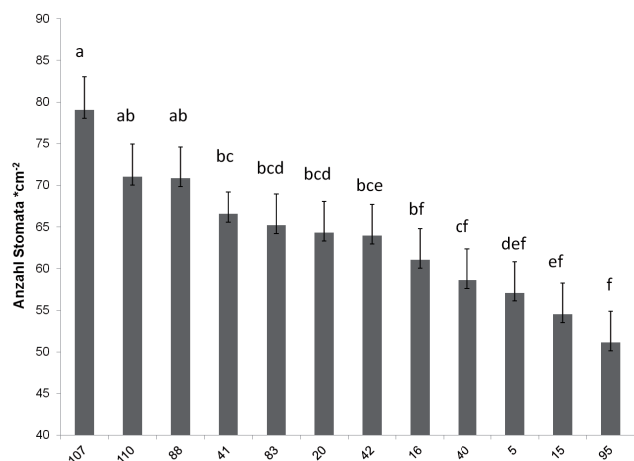


Abbildung 4: Die Anzahl Stomata pro cm² Blattfläche des Fahnenblatts 12 verschiedener Genotypen. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen (P<0,05)

Figure 4: The number of stomata per cm² leaf area of the flag leaf of 12 genotypes. Different letters indicate significant differences between the genotypes (P<0.05)

Die Anzahl Stomata pro cm² der Fahnblätter von 12 unter normaler Außenluft angebauten Genotypen unterschieden sich signifikant von einander und variierte zwischen 51 und 79 Stomata pro cm² (Abbildung 4).

Erste Assoziationsanalysen (MLM in Tassel 3.0; <http://www.maizegenetics.net>) anhand von 3842 Markern, die auf der Morex×Barke Karte kartiert werden konnten und eine Minorallelfrequenz von >5% aufwiesen, wurden durchgeführt. Dabei wurden die Populationsstruktur und Verwandtschaft berücksichtigt. Verrechnet wurden jeweils die relativen Daten (e[CO₂]/[amb]). Es konnte je ein Marker auf den Chromosomen 2H und 5H gefunden werden, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit mit den Merkmalen Ertragszuwachs und TKG assoziiert sind ($P < 0,001$). Mit dem Merkmal Anzahl Körner pro Ähre sind vier Marker assoziiert, drei auf Chromosom 6H, eines auf Chromosom 3H. Für das Merkmal Anzahl Ähren pro Pflanze konnten keine assoziierten Marker identifiziert werden (Abbildung 5).

In diesem ersten Versuchsjahr ließen sich Unterschiede der untersuchten Genotypen hinsichtlich ihrer Reaktion auf e[CO₂] feststellen. Allerdings zeigten sich deutliche Unterschiede in den Reaktionen auf e[CO₂] zwischen den zwei- und sechszeiligen Genotypen. Die Gründe für diese Unterschiede müssen in weiteren Versuchen geklärt werden. Möglicherweise spielen hier die unterschiedlichen Senkenstärken zwischen den morphologisch verschiedenen Linien eine Rolle. Zusammenhänge mit der Kohlenstoffdiskriminierung während der Photosynthese oder der Blattbeschaffenheit können anhand der vorläufigen Ergebnisse nur vermutet werden. In den kommenden beiden Jahren müssen die Versuche wiederholt werden, um die vorliegenden Ergebnisse zu verifizieren und die Datengrundlage zu verbessern.

Danksagung

Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/>) - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

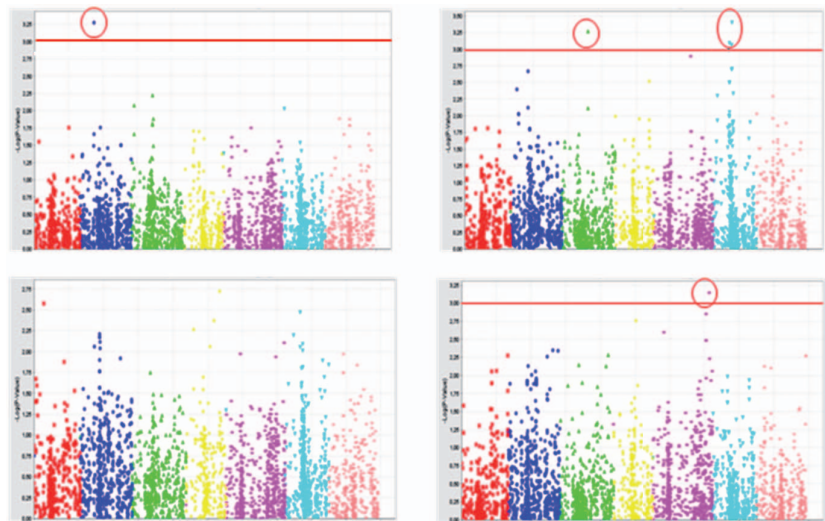


Abbildung 5: Scatterplotdarstellung der Markerpositionen auf den Chromosomen aufgetragen gegen den $-\log_{10}$ P -value für Ertrag, Kornzahl pro Ähre, Tausend-korngewicht und Anzahl Ähren pro Pflanze (im Uhrzeigersinn von links oben). Die Linie markiert den Schwellenwert $P=0,001$. Mit Kreisen markiert sind Marker, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit mit den Merkmalen assoziiert sind.

Figure 5: Scatterplot of chromosomal position (x axis) against $-\log_{10}$ GWAS P -value (y axis) for yield, number of seeds per ear, thousand-kernel weight and number of ears per plant (clockwise from top left). The line indicates the threshold of $P=0.001$. Markers associated with the traits are depicted by circles.

Literatur

- COMADRAN J, KILIAN B, RUSSELL J, RAMSAY L, STEIN N, GANAL M, SHAW P, BAYER M, THOMAS W, MARSHALL D, HEDLEY P, TONDELLIA, PECCHIONI N, FRANCIA E, KORZUN V, WALTHERA, WAUGH R, 2012: Natural variation in a homolog of *Antirrhinum CENTRORADIALIS* contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley. *Nature Genet* 44, 1388-1392.
- KIMBALL BA, 1983: Carbon-dioxide and agricultural yield - an assemblage and analysis of 430 prior observations. *Agron J* 75, 779-788.
- LONG SP, AINSWORTH EA, LEAKEY ADB, NÖSBERGER J, ORT DR, 2006: Food for thought: Lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations. *Science* 312, 1918-1921.
- MEEHL GA, STOCKER TF, COLLINS WD, FRIEDLINGSTEIN P, GAYE AT, GREGORY JM, KITOH A, KNUTTI R, MURPHY JM, NODA A, RAPER SCB, WATTERSON IG, WEAVER AJ, ZHAO ZC, 2007: Global climate projections. In: SOLOMON S, QIN D, MANNING M, CHEN Z, MARQUIS M, AVERYT KB, TIGNOR M, MILLER HL (Eds.), *Climate change 2007: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- ZISKA LH, BUNCE JA, SHIMONO H, GEALY DR, BAKER JT, NEWTON PCD, REYNOLDS MP, JAGADISH KSV, ZHU C, HOWDEN M, WILSON LT, 2012: Food security and climate change: on the potential to adapt global crop production by active selection to rising atmospheric carbon dioxide. *Proc Roy Soc B Biol Sci* 279, 4097-4105.