

Kühletoleranz von Mais - Von der Physiologie zur Genetik

J. LEIPNER, Y. FRACHEBOUD, C. JOMPUK und P. STAMP

Effekte von Kühlestress auf die Physiologie von Mais

In den gemäßigten Zonen Europas erweist sich Mais in seiner frühen Entwicklungsphase als sehr sensitiv gegenüber niedrigen Temperaturen. In den vergangenen Jahren wurden große Anstrengungen unternommen, die Wirkungsweise von Kühlestress in Mais besser zu verstehen. Es hatte sich dabei gezeigt, dass schädliche Effekte niedriger Temperatur auf den photosynthetischen Apparat von besonderer Bedeutung für eine gesunde Jugendentwicklung des Mais sind. Diese beinhalten sowohl lichtinduzierte Schädigungen am Photosystem II als auch Störungen der Chloroplastenentwicklung. Zusätzlich wurden Veränderungen im Assimilattransport und in der Wurzelentwicklung beobachtet.

Der Vergleich von Genotypen unterschiedlicher Kühletoleranz erlaubt es, den für die Kühletoleranz limitierenden Faktor zu finden. Unter suboptimalen Temperaturbedingungen unterscheiden sich kühletolerante von sensitiven Maisgenotypen durch eine höhere photosynthetische Effizienz und Kapazität sowie durch einen niedrigeren Gehalt an Zeaxanthin (LEIPNER et al., 1999). Der Gehalt an Antioxidantien und an antioxidativen Enzyme ist unter suboptimaler Temperatur im Vergleich zu optimaler Temperatur erhöht (LEIPNER et al., 1997). Im antioxidativen Status der Pflanzen konnten jedoch keine konsistenten Unterschiede zwischen toleranten und sensitiven Genotypen gefunden werden.

Selektion auf kühletolerante Photosynthese

Kühletolerante und kühesensitive Genotypen unterscheiden sich in ihrer photosynthetischen Leistung, wenn Sämlinge unter suboptimaler Temperatur (15°C) angezogen werden. Als geeigneter Selektionsparameter erwies sich die aktuelle Quanteneffizienz von Photosystem II (ϕ_{PSII}) gemessen bei niedriger Tempe-

ratur (6°C) und niedriger Lichtintensität (60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in Sämlingen, welche unter suboptimaler Temperatur angezogen wurden (FRACHEBOUD et al., 1999). Mit diesem Protokoll konnten wir, ausgehend von drei Züchtungspopulation, kühletolerante und kühesensitive Maisgenotypen züchten, indem über 5 Generationen auf hohes bzw. niedriges ϕ_{PSII} selektiert wurde (FRACHEBOUD et al., 1999).

QTL (Quantitative Trait Locus) Analyse

Mittels QTL-Analyse können die genetischen Ursachen der Kühletoleranz identifiziert sowie die Interaktionen zwischen verschiedenen physiologischen und morphologischen Merkmalen unter Kühlestress studiert werden. Als Versuchsmaterial diente eine Mais-Population, die aus der kühletoleranten Linie ETH-DH7 und der sensitiven Linie ETH-DL3 gebildet wurden. Die genetische Karte der Population wurde in der F₂-Generation mittels SSR Marker erstellt (FRACHEBOUD et al., 2004). Phänotypische Untersuchungen wurden in der F_{2,3} Generation durchgeführt.

Material und Methoden

Die F_{2,3} Population wurde unter kontrollierten Bedingungen bei suboptimaler (15°C) und optimaler (25°C) Temperatur in Klimakammern untersucht (FRACHEBOUD et al., 2004) sowie in einem Feldversuch (Feldversuchsstation der ETH Zürich, Eschikon, Schweiz) in zwei Jahren, 2002 und 2003, ausgesät und analysiert (JOMPUK et al., 2005). Für den Feldversuch wurde in jedem der beiden Jahre die Population zu einem frühen (Mitte April) und zu einem späten Termin (Mitte Mai) ausgesät. Die Jugendentwicklung der Pflanzen erfolgte somit unter suboptimalen beziehungsweise unter optimalen Temperaturbedingungen. Chlorophyll *a*-Fluoreszenzparameter, CO₂-Fixierung, Blattgrüne und Sprosstrockenmasse wurden im Drei-

blattstadium bestimmt. Im Feldversuch wurden zur Ernte die Kolben-, Stroh- und Sprosstrockenmasse ermittelt. Für die QTL-Analysen mittels *Composite Interval Mapping* wurde das Programm QTL Cartographer verwendet. Ein QTL wurde für signifikant erachtet, wenn der LOD-Wert höher als 3.5 war.

Ergebnisse und Diskussion

Zwischen kontrollierten und Feldbedingungen konnten einige übereinstimmende QTLs identifiziert werden. Der wichtigste QTL war ein QTL auf Chromosom 6 für die aktuelle Quanteneffizienz von Photosystem (ϕ_{PSII}) und die maximale Quanteneffizienz der primären Photochemie des Photosystem II (F_v/F_m) (Tabelle 1). Dieser QTL besaß einen hohen LOD-Wert und wurde in 15°C-Pflanzen und in früh im Feld gesäten Pflanzen gefunden. Das Allel für hohe ϕ_{PSII} - und F_v/F_m -Werte kam vom kühletoleranten Elternteil, ETH-DH7. Dieser QTL wurde auch für das Trockengewicht des Sprosses im Sämlingsstadium von 15°C-Pflanzen gefunden. Dieses deutet darauf hin, dass die Photosyntheseleistung der begrenzende Faktor für die Biomasseakkumulation unter sub- optimaler Wachstumstemperatur war.

Für die Blattgrüne (SPAD) wurde ein QTL auf Chromosom 2 sowohl in 15°C-Pflanzen als auch in Pflanzen, die früh im Feld gesät wurden, gefunden (Tabelle 1). Dieser QTL war außerdem mit einem QTL für die Photosyntheserate bei 15°C-Pflanzen und für ϕ_{PSII} und F_v/F_m in früh gesäten Sämlingen assoziiert. Das vorteilhafte Allel für diese Merkmale wurde vom kühletoleranten Elternteil (ETH-DH7) vererbt. Für diesen QTL konnte ein potentiell Kandidatengen identifiziert werden: das Gen *hcf106*. Dieses Gen kodiert das *high chlorophyll fluorescence protein 106*, welches eine Komponente des pH-abhängigen Translokationswegs in der Thylakoidmembran darstellt. Da die Proteine der Lichtsammelfallen (LHC) über diesen Mecha-

Autoren: Dr. Jörg LEIPNER, Dr. Yvan FRACHEBOUD, Dr. Choosak JOMPUK und Prof. Dr. Peter STAMP, Institut für Pflanzenwissenschaften, ETH Zürich, Universitätsstraße 2, CH-8092 ZÜRICH



nismus in die Thylakoidmembran eingebaut werden, könnte eine geringere Menge dieses Proteins in den kühesensitiven Pflanzen den niedrigen Chlorophyllgehalt erklären.

Während die meisten QTLs ausschließlich unter niedrigen Temperaturbedingungen gefunden wurde, konnte ein QTL für den Chlorophyllgehalt auf Chromosom 3 in 25°C-Pflanzen und in Pflanzen, die spät im Feld gesät wurden, lokalisiert werden (Tabelle 1). Dieser QTL war auch für die photosynthetischen Merkmale F_v/F_m , ϕ_{PSII} und die CO_2 -Wechselrate (CER) in Pflanzen, welche unter optimalen Temperaturbedingungen (25°C) wuchsen, vorhanden. An der gleichen Position wurde ein QTL für den Chlorophyllgehalt und das Trockengewicht des Sprosses im Sämlingsstadium sowie für das Trockengewicht des Kolbens während der Ernte in Pflanzen, die spät ausgesät wurden, gefunden. Der allelische Beitrag für hohe Werte dieser Merkmale kam vom kühesensitiven Elternteil (ETH-DL3).

Unterschiede zwischen kontrollierten und Feldbedingungen gab es für das Trockengewicht des Sprosses. Unter Feldbedingungen konnte ein stabiler QTL für das Sprosstrockengewicht auf Chromosom 5 in Pflanzen aller Saattermine detektiert werden (Tabelle 1). Dieser QTL war mit keinem anderen Merkmal assoziiert, weder unter Feld- noch unter Klimakammerbedingungen. Dies lässt darauf schließen, dass unter Feldbedingungen der Einfluss der Photosynthese auf das Wachstum der Sämlinge nur gering ist. Interessanterweise ist dieser QTL, vergleicht man seine Position mit der *IBM2 2004 Neighbor's map*, in der unmittelbaren Nähe des Gens *nnr2*, dessen Produkt die NAD(P)H Nitratreduktase ist. Eine enge Korrelation zwischen Nitratreduktaseaktivität und Pflanzenbiomasse konnte in Europäischen Maissorten gezeigt werden (FEIL et al., 1993). Zur Erntezeit wurde ein stabiler QTL auf Chromosom 7 für das Trockengewicht des Sprosses, des Strohs und des Kolbens in Pflanzen aller Saattermine gefunden (Tabelle 1). Jedoch war dieser QTL nicht mit einem QTL für photosynthetische Parameter oder mit einem QTL für das Trockengewicht der Sämlinge assoziiert. Auch die weiteren QTLs für Merkmale, die zur Ernte determiniert wurden, waren nicht eindeutig mit QTLs aus der früheren Wachstumsphase assoziiert.

Tabelle 1: Positionen der wichtigsten QTLs für Blattgrüne (SPAD), aktuelle Quanteneffizienz von PSII (ϕ_{PSII}), maximale Quanteneffizienz von PSII (F_v/F_m), CO_2 -Wechselrate (CER) und Trockenmasse (TM) des Sprosses, der Kolben und des Strohs detektiert in Sämlingen unter kontrollierten Bedingungen und unter Feldbedingungen als auch in Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte.

Chr, Chromosomen Nummer; +, positive Additivität (hohe Merkmalswerte wurden vom Elternteil ETH-DH7 vererbt); -, negative Additivität (hohe Merkmalswerte wurden vom Elternteil ETH-DL3 vererbt); 15, 15 °C Anzuchttemperatur; 25, 25 °C Anzuchttemperatur; F, frühe Saat; S, späte Saat.

Chr.	Bereich (cM)	Klimakammer	Feld (Sämling)	Feld (Ernte)
1	160 - 180	+ SPAD (15) + ϕ_{PSII} (15) + F_v/F_m (25)	+ SPAD (F/S)	
2	100 - 145	+ SPAD (15/25) + CER (15)	+ SPAD (F) + ϕ_{PSII} (F) + F_v/F_m (F/S)	- Spross TM (F)
3	80 - 120	- SPAD (25) - CER (25) - F_v/F_m (25) - ϕ_{PSII} (25)	- SPAD (F/S) - Spross TM (S)	- Kolben TM (S)
5	80 - 100		+ Spross TM (F/S)	
6	215 - 240	+ ϕ_{PSII} (15) + F_v/F_m (15) + CER (15) + Spross TM (15)	+ ϕ_{PSII} (F) + F_v/F_m (F/S)	
7	20 - 45			+ Stroh TM (S) + Kolben TM (F/S) + Spross TM (F/S)
8	30 - 50		- Spross TM (F) + ϕ_{PSII} (F/S)	+ Kolben TM (F)
9	50 - 65			+ Kolben TM (S)

Die Resultate zeigen, dass in den verschiedenen Entwicklungsstadien das Pflanzenwachstum wahrscheinlich unter unterschiedlicher genetischer Kontrolle ist. Es ist jedoch auch möglich, dass die Änderung von niedriger Temperatur während der Sämlingsentwicklung zu höherer Temperatur in der späteren Entwicklung zu einer starken QTL x Umwelt Interaktion führt. Zu erwähnen sei hierbei auch, dass im Juli 2002 die Pflanzen stark durch Hagel geschädigt worden sind und der Sommer 2003 durch extreme Trockenheit charakterisiert war.

Dennoch zeigt die QTL-Studie eindeutig, dass einige photosynthetische Parameter wie ϕ_{PSII} und F_v/F_m in Maissämling, die unter Feldbedingungen angezogen werden, durch Experimente in Klimakammern vorausgesagt werden können. Markergestützte Selektion (MAS) könnte daher für die Züchtung auf eine höhere Kühltoleranz des photosynthetischen Apparates in Mais angewandt werden. Dieses würde Züchtern helfen, effizienter Maisgenotypen mit einer verbesserten Kühltoleranz im Sämlingsstadium zu züchten.

Literatur

- FEIL, B., R. THIRAPORN and P. STAMP, 1993: In vitro nitrate reductase activity of laboratory-grown seedlings as an indirect selection criterion for maize. *Crop Science* 33, 1280-1286.
- FRACHEBOUD, Y., P. HALDIMANN, J. LEIPNER and P. STAMP, 1999: Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany* 50, 1533-1540.
- FRACHEBOUD, Y., C. JOMPUK, J.-M. RIBAULT, P. STAMP and J. LEIPNER, 2004: Genetic analysis of cold-tolerance of photosynthesis in maize. *Plant Molecular Biology* 56, 241-253.
- JOMPUK, C., Y. FRACHEBOUD, P. STAMP and J. LEIPNER, 2005: Mapping of quantitative trait loci associated with chilling tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings grown under field conditions. *Journal of Experimental Botany* 56, 1153-1163.
- LEIPNER, J., Y. FRACHEBOUD and P. STAMP, 1997: Acclimation by suboptimal growth temperature diminishes photooxidative damage in maize leaves. *Plant, Cell and Environment* 20, 366-372.
- LEIPNER, J., Y. FRACHEBOUD and P. STAMP, 1999: Effect of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defenses in two maize genotypes of different chilling tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 42, 129-139.