

Erwartungen eines Getreidezüchters an die Genomforschung

G. WELZ

Die praktische Getreidezüchtung, zumal die von Selbstbefruchtern, hat von Fortschritten in der Genomforschung bisher weniger profitiert als beispielsweise die Maiszüchtung. Dies hat zum einen betriebswirtschaftliche Gründe in den Saat-zuchtunternehmen, welche in der Regel die Forschungsetats an den fruchtartspezifischen Umsätzen ausrichten - zum anderen biologische Gründe. So stand der Weizen als wichtigste, aber genetisch äußerst komplexe, Getreideart lange Zeit nicht eben im Mittelpunkt der genomischen Grundlagenforschung. In jüngster Zeit hat aber die schnell voranschreitende Aufklärung der Gräsergenome auch zu einem tieferen Verständnis des Weizens geführt (POWELL und LANGRIDGE 2004), und ein frischer Blick auf die Wechselbeziehung von Genomforschung und Getreidezüchtung ist daher angebracht.

Weiterentwicklung der Technologie

Entscheidend für die praktische Pflanzenzüchtung ist, dass aus dem Methodenrepertoire der Genomik-Grundlagenforschung optimierte molekulare Marker für viele agronomisch relevante Merkmale resultieren (Abbildung 1). Hilfreich für die Umsetzung der Ergebnisse ist es, wenn bei Auswahl und Phänotypisierung

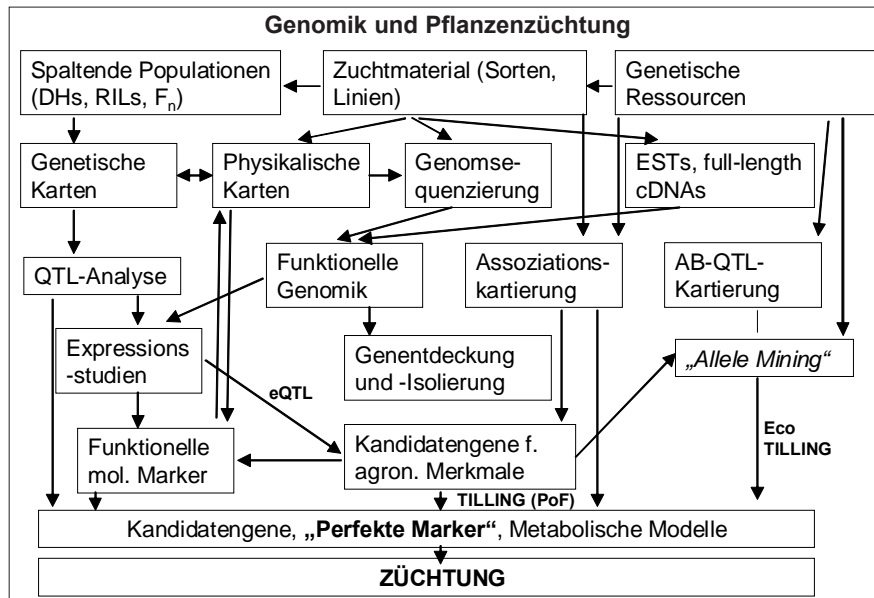


Abbildung 1: Methoden und Werkzeuge der Genomik (nach VARSHNEY et al. 2005, verändert)

des Pflanzenmaterials die Bedürfnisse der angewandten Züchtung berücksichtigt werden.

Zunehmend werden in Genomprojekten wichtige Gene zentraler Stoffwechselwege funktionell aufgeklärt und kloniert. Aus spezifischen Gensequenzen können sogenannte „perfekte Marker“ (LANGRIDGE et al. 2001) entwickelt werden. Dies sind molekulare Marker, die direkt im Zielgen allelische Variation aufde-

cken können. Ein großer Vorteil solcher Marker ist die Tatsache, dass eine Assoziation zwischen Marker und QTL nicht über die Generationen durch Rekombination abgebaut werden kann wie bei mehr oder weniger eng gekoppelten Markern.

Das Mehltreueresistenzgen *Pm21* ist in Tabelle 1 beispielhaft für andere klonierte rassenspezifische Resistenzgene mit aufgenommen worden. *Pm21* wirkt noch

Tabelle 1: Agronomisch wichtige Gene des Weizens, für die genspezifische („perfekte“) molekulare Marker verfügbar sind

Gen	Merkmal	Haupt- oder Nebenwirkung	Literatur
<i>Rht-B1b, Rht-D1b</i>	Reduced height	Wuchshöhe, Kornzahl/Ähre, Fusariumanfälligkeit	ELLIS et al. 2002, 2005
<i>Ppd-B1, Ppd-A1</i>	Photoperiod	Ährenschiebedatum	SNAPE et al. 2001, KUCHEL et al. 2006
<i>Vrn-A1, Vrn-D1</i>	Vernalisation	Ährenschiebedatum	SNAPE et al. 2001, YAN et al. 2003
<i>Pin-D1a, ..., Pin-D1g</i>	Puroindoline	Kornhärte	HUANG und RÖDER 2006
<i>Gpc-B1</i>	Grain protein content	Rohproteingehalt im Korn	DISTELFELD et al. 2006
<i>Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1</i>	Glutenin (HMWGS)	Proteinqualität	SCHWARZ et al. 2004
LMWGS	Low mol. weight glutenin subunits	Proteinqualität	D'OIDIO und MASCI 2004, AN et al. 2006, XIN-YU et al. 2006
GBSS	Granular-bound starch synthase	Stärkequalität	MCLAUCHLAN et al. 2001, SLADE et al. 2004
<i>Pm21</i>	Powdery mildew	Mehltauresistenz	CHEN et al. 2006

Autor: Dr. habil. Günter WELZ, FR. STRUBE Saatzucht GmbH & Co. KG, Postfach 1353, D-38358 SCHÖNINGEN, welz@fr-strube.de



gegen alle Mehlaurassen weltweit (CHEN et al. 2006), ist aber nach Wissen des Verfassers auch noch nicht in kommerziellen Sorten eingesetzt worden. Perfekte Marker eignen sich zur Selektion, um gewünschte Allele in Zuchtmaterial einzulagern, sind aber auch von großem Interesse für Assoziationskartierungsstudien. Im Weizen ist noch unklar, ob züchterisch brauchbare allelische Variation an physiologisch wesentlichen Hauptgenorten existiert. Im Reis ist die Cytokininoxidase ein Schlüsselenzym bei der Differenzierung von Kornanlagen und gleichzeitig ein relevanter „Ertrags-QTL“: der QTL *Gn1* (grain number), der die hohe Anzahl von Körnern je Rispe in den modernen „Superreissorten“ mit bedingt, ist ursächlich ein Gen für höhere Cytokininoxidase-Aktivität (ASHIKARI et al. 2005). Auch die Aktivität der Saccharosesynthase, welche für die physiologische Source-Stärke von Körnerfrüchten mit verantwortlich ist, korrelierte im Reis mit Ertragsunterschieden (COUNCE und GRAVOIS 2006).

Einbindung von Marker-Anwendungen in die klassische Getreidezüchtung

Markergestützte Selektion (MAS) wird in privatwirtschaftlichen Weizenzüchtungsprogrammen bislang nur in mäßigem Umfang betrieben. In Ländern mit großer, exportorientierter Weizenproduktion, in denen der überwiegende Teil der Weizen-F&E im öffentlichen Sektor stattfindet, wie den USA, Kanada und Australien, gibt es umfangreiche QTL-

Kartierungs- und MAS-Verbundprojekte. Im US-„MASwheat Project“ haben 12 Labore mit über 1200 MAS-BCs daran gearbeitet, 21 Allele aus den Klassen Agronomie, Stresstoleranz und Qualität in verschiedene Weizenhintergründe einzulagern (SORIA et al. 2004). Das Konsortium stellt auf seiner Webseite die verwendeten Protokolle zur Verfügung (<http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/index.htm>). In einer zweiten Phase des Projekts werden nun 17 Kartierungspopulationen in vielen US-Bundesstaaten auf eine Vielzahl von Merkmalen hin phänotypisiert und mit SSR und SNP-Markern genotypisiert (http://maswheat.ucdavis.edu/PDF/CAP_proposal.pdf). Auch CIMMYT-Wissenschaftler arbeiten an MAS-Verfahren im Weizen. Sie erzeugen jährlich ca. 15.000 Marker-Datenpunkte (WILLIAM 2006). Die betrachteten Merkmale sind Wurzelgesundheit (Nematodenresistenz, Wurzelfäule- und Bortoleranz), Resistenz gegen Blattkrankheiten (Roste, Fusarium, BYDV), agronomische Eigenschaften (Halbzweggene wie *Rht-B1b*, *Rht-D1b* und *Rht8*) sowie Qualitätsparameter (*GBSS*-Null, *Glu1BX*-Überexpression und Kornhärte), die sich in verschiedenen Phasen der Umsetzung befinden. Als Herausforderung für die nahe Zukunft sieht CIMMYT die Identifikation, Validierung und Optimierung neuer Marker, Reduktion der Markerkosten, Erhöhung des Probendurchsatzes und die Integration von MAS in ausgewählte Nationale Züchtungsprogramme (WILLIAM 2006). In Australien werden u.a. am Molecular Plant Breeding Cooperative

Research Centre (MPB) (<http://www.molecularplantbreeding.com/>) Verfahren der markergestützten Selektion für Getreide systematisch und mit großem Aufwand erforscht.

Von Australian Grain Technologies kommt auch eine Modellrechnung, die die Wirtschaftlichkeit von MAS im Weizen untersucht (KUCHEL et al. 2005). Die Sorte *Stylet* mit sehr hohem Ertragspotential gelangte in Australien 2000/2001 in den Anbau, verlor aber in nur einem Jahr ihre umfassende Rostresistenz, weil kurz nacheinander Virulenzen gegen *Lr37*, *Yr17* und *Sr38* auftraten. Die Sorte *Annuello* sollte als Donor multipler Rostresistenzgene (adult plant resistance) und besserer Proteinqualität (*Stylet* hat minderwertiges *Glu-A3e* Allel) in einem DH-basierten, markergestützten Rückkreuzungsansatz benutzt werden, eine verbesserte Version von *Stylet* zu erstellen.

Haydn KUCHEL und Mitarbeiter verglichen rein phänotypische Selektion (MAS0) in den Generationen DH1 und DH2 mit drei abgestuften MAS-Strategien, in denen wie bei MAS0 phänotypisch selektiert wurde nachdem (a) nur die BC1F1 für *Lr34/Yr18* und *Lr46/Yr29* (MAS1), (b) zusätzlich die haploiden Regeneratpflanzen für *Glu-A3b* oder *-c* und *Glu-D1d* (MAS2) oder (c) zusätzlich in der DH0 gegen den genetischen Hintergrund von *Annuello* selektiert worden war (MAS3) (Abbildung 2).

Im Endergebnis führte die intensivste Variante, MAS3, zu einem signifikant höheren Kornertrag als MAS0, 1 oder 2, bei geringeren Kosten als die markerfreie Variante. Dies lag im Wesentlichen daran, dass erhebliche Kosten bei den Leistungsprüfungen eingespart werden konnten, die nur teilweise für Markeranalysen aufgewendet werden mussten (KUCHEL et al. 2005). Eine neue Simulationsstudie markergestützter rekurrenter Selektion (MARS) im Mais belegt den großen theoretischen Vorteil perfekter Marker gegenüber flankierenden Markern (BERNARDO und CHARCOSSET 2006). In einem rekurrenten System potenziert sich natürlich dieser Vorteil, weil Marker und QTL assoziiert bleiben, aber die Studie ist auch insofern interessant für Weizen, als sie zeigte, dass MARS gegenüber der phänotypischen Variante

MAS-Modellrechnung Sommerweizen

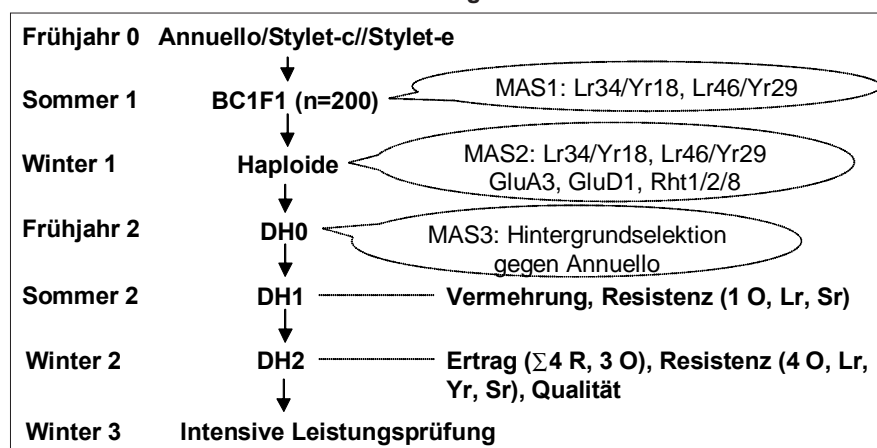


Abbildung 2: Abfolge der Schritte eines markergestützten Selektionsprogramms in Sommerweizen (nach KUCHEL et al. 2005; R = Wiederholung, O = Ort)

besonders überlegen war, wenn die Populationen größer gewählt wurden, speziell bei weniger hoch heritablen Merkmalen wie dem Ertrag. Tendenziell würde also ein MAS-intensives Zuchtprogramm dazu führen, dass ein Züchter eher mit wenigen großen ($n = 200$ oder 400) Populationen oder Familien als mit vielen kleineren ($n = 100$) arbeiten sollte, was Konsequenzen für die genetische Diversität des bearbeiteten Materials hätte (BERNARDO und CHARCOSSET 2006). Dieser Trend ist ohnehin schon in DH-basierten Weizenzuchtprogrammen zu verzeichnen und verlangt Wachsamkeit, damit keine genetische „Erosion“ eintritt.

Genetisch eng sind schon jetzt markergestützte Ährenfusarium-Resistenzzüchtungsprogramme, die im wesentlichen auf zwei oder drei wirkungsvolle QTL aus Sumai-3 setzen (CUTHBERT et al. 2006 a, b, MIEDANER et al. 2006). Auf praktisch allen Kontinenten wird an einer markergestützten Übertragung dieser Gene gearbeitet. Würden entsprechende Sorten sehr populär, könnte sich die Erreger-Population möglicherweise selektiv anpassen und die Weizenproduktion gefährden. Daher darf die klassische Fusariumresistenzzüchtung nicht vernachlässigt werden.

Entgegengesetzt kann per MAS auch die „funktionale“ genetische Diversität des Weizens erweitert werden, z.B. durch neue Allele für höheren Proteingehalt (GPC) in tropischem Weizen auf 2DL und 6BS (LANGRIDGE et al. 2001). Auch wurden neuartige Glutenin- und Gliadin-Allele, die zur Verbesserung der Backqualität in hexaploidem Weizen genutzt werden können, in diploiden und tetraploiden Weizenformen kartiert (NELSON et al. 2006).

Strategische Ausrichtung der Forschung

Das häufig geäußerte Argument, dass noch zu hohe Kosten den Einsatz von MAS in der praktischen Getreidezüchtung limitieren würden (VARSHNEY et al. 2005), ist zwar berechtigt aber nicht hinreichend. Unter Züchtern herrscht noch Skepsis, was die tatsächliche Effizienz des Markereinsatzes vor allem bei quantitativen Merkmalen betrifft. Simulationsstudien oder Modellrechnungen

wie die von KUCHEL et al. (2005) sind experimentell zu validieren. Viele Weizenzüchter haben ja schon mit Markern gearbeitet, wie z.B. dem Endopeptidase-Isoenzymmarker *Ep-D1*, der zuverlässig das Halmbruchresistenzgen *Pch1* anzeigt (MCMILLIN et al. 1986) oder den Gluteninbanden, die einen signifikanten Anteil der Backqualität vorhersagen und mit SDS-PAGE detektiert werden können (PAYNE et al. 1984). Nur erlauben die mäßigen Lizenzentnahmen aus der Selbstbefruchter-Getreidezüchtung keinen umfangreichen Einsatz nicht validierter MAS-Verfahren. Hierzu sind *public-private partnerships* unabdingbar, wie sie in den Forschungsprogrammen der Gemeinschaft zu Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung (GFP e.V.) lebhaft existieren. Sie ermöglichen auch mittelständischen Unternehmen den Einstieg in markergestützte Selektionsverfahren. Prebreeding-Aktivitäten wie die Identifikation neuer Resistenzgene in genetischen Ressourcen und deren Nutzbarmachung per MAS sind aus Sicht der privaten Getreidezüchter Grundlagenforschung und von ihnen alleine nicht zu leisten. Sie sind eine klassische Aufgabe der öffentlichen Forschungseinrichtungen und haben die besten Aussichten auf praktische Umsetzung, wenn sie partnerschaftlich mit praktischen Züchtern angegangen werden. Dieser Standortvorteil der deutschen Züchtungsforschung muss bewahrt und gestärkt werden.

Literatur

AN, X., Q. ZHANG, Y. YAN, Q. LI, Y. ZHANG, A. WANG, Y. PEI, J. TIAN, H. WANG, S.L.K. HSAM and F.J. ZELLER, 2006: Cloning and molecular characterization of three novel LMW-i glutenin subunit genes from cultivated einkorn (*Triticum monococcum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 113:383-395.

ASHIKARI, M., H. SAKAKIBARA, S. LIN, T. YAMAMOTO, T. TAKASHI, A. NISHIMURA, E.R. ANGELES, Q. QIAN, H. KITANO and M. MATSUOKA, 2005: Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* 309:741-745.

BERNARDO, R. and A. CHARCOSSET, 2006: Usefulness of gene information in marker-assisted recurrent selection: a simulation appraisal. *Crop Science* 46:614-621.

CHEN, Y.P., H.Z. WANG, A.Z. CAO, C.M. WANG and P.D. CHEN, 2006: Cloning of a resistance gene analog from wheat and development of a codominant PCR marker for *Pm21*. *J. Integrative Plant Biology* 48:715-721.

COUNCE, P.A. and K.A. GRAVOIS, 2006: Sucrose synthase activity as a potential indicator of high rice grain yield. *Crop Science* 46:1501-1507.

CUTHBERT P.A., D.J. SOMERS, J. THOMAS, S. CLOUTIER and A. BRULE-BABEL, 2006a: Fine mapping *Fhb1*, a major gene controlling fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 112:1465-1472.

CUTHBERT P.A., D.J. SOMERS and A. BRULE-BABEL, 2006b: Mapping of *Fhb2* on chromosome 6BS: a gene controlling Fusarium head blight field resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* DOI 10.1007/s00122-006-0439-3. Online veröffentlicht 08.11.2006.

DISTELFELD, A., C. UAUY, T. FAHIMA and J. DUBCOVSKY, 2006: Physical map of the wheat high-grain protein content gene *Gpc-B1* and development of a high-throughput molecular marker. *New Phytologist* 169: 753-763.

D'OVIDIO R. and S. MASCI, 2004: The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. *J Cereal Sci.* 39:321-339.

ELLIS, M.H., G.J. REBETZKE, F. AZANZA, R.A. RICHARDS and W. SPIELMEYER, 2005: Molecular mapping of gibberellin-responsive dwarfing genes in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 111:423-430.

ELLIS, M.H., W. SPIELMEYER, K.R. GALE, G.J. REBETZKE and R.A. RICHARDS, 2002: „Perfect“ markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 105:1038-1042.

HUANG, X.Q. and M. RÖDER, 2006: Assessment of SNP haplotypes of the puroindoline b gene for grain hardness in European wheat varieties by pyrosequencing. <http://pgrc.ipk-gatersleben.de/puroindoline/>, geprüft 18.11.2006.

KUCHEL, H., G. YE, R. FOX and S. JEFFERIES, 2005: Genetic and economic analysis of a targeted marker-assisted wheat breeding strategy. *Mol. Breeding* 16:67-78.

KUCHEL, H., G. HOLLAMBY, P. LANGRIDGE, K. WILLIAMS and S.P. JEFFERIES, 2006: Identification of genetic loci associated with ear-emergence in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 113:1103-1112.

LANGRIDGE, P., E.S. LAGUDAH, T.A. HOLTON, R. APPELS, P.J. SHARP and K.J. CHALMERS, 2001: Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Austral. J. Agric. Res.* 52:1043-1077.

MCLAUCHLAN A., F.C. OGBONNAYA, B. HOLLINGSWORTH, M. CARTER, K.R. GALE, R.J. HENRY, T.A. HOLTON, M.K. MORELL, L.R. RAMPLING, P.J. SHARP, M.R. SHARIFLOU, M.G.K. JONES and R. APPELS, 2001: Development of robust PCR-based DNA markers for each homoeo-allele of granule-bound starch synthase and their application in wheat breeding programs. *Austral. J. Agric. Res.* 52: 1409-1416.

MCMILLIN, D.E., R.E. ALLAN and D.E. ROBERTS, 1986: Association of an isozyme locus and strawbreaker foot rot resistance derived from *Aegilops ventricosa* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 79:743-747.

- MIEDANER, T., F. WILDE, B. STEINER and H. BÜRSTMAYR, 2006: Stacking quantitative trait loci (QTL) for Fusarium head blight resistance from non-adapted sources in an European elite spring wheat background and assessing their effects on deoxynivalenol (DON) content and disease severity. *Theor. Appl. Genet.* 112:562-569.
- NELSON, J.C., C. ANDREESCU, F. BRESEGHIELLO, P.L. FINNEY, D. GUALBERTO, C.J. BERGMAN, R.J. PEÑA, M.R. PERRETANT, P. LEROY, C.O. QUALSET and M.E. SORRELLS, 2006: Quantitative trait locus analysis of wheat quality traits. *Euphytica* 149:145-159.
- PAYNE P.I., L.M. HOLT, E.A. JACKSON and C.N. LAW, 1984: Wheat storage proteins: Their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B* 304:359-371.
- POWELL, W. and P. LANGRIDGE, 2004: Unfashionable crop species flourish in the 21st century. *Genome Biology* 5:233.
- SCHWARZ G., F.G. FELSENSTEIN and G. WENZEL, 2004: Development and validation of a PCR-based marker assay for negative selection of the HMW glutenin allele Glu-B1-1d (Bx-6) in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 109:1064-1069.
- SLADE, A.J., S.I. FUERSTENBERG, D. LOEFFLER, M.N. STEINE and D. FACCIOTTI, 2004: A reverse genetic, non-transgenic approach to wheat crop improvement by TILLING. *Nature Biotechnology* 23:75-81.
- SNAPE, J.W., K. BUTTERWORTH, E. WHITECHURCH and A.J. WORLAND, 2001: Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. *Euphytica* 119:185-190.
- SORIA, M.A., I.A. KHAN, J.A. ANDERSON, G. BROWN-GUEDIRA, K.G. CAMPBELL, E.M. ELIAS, A.K. FRITZ, B.S. GILL, K.S. GILL, S. HALEY, S.F. KIANIAN, K. KIDWELL, N.L.V. LAPITAN, H. OHM, J.D. SHERMAN, M.E. SORRELLS, E. SOUZA, L. TALBERT and J. DUBCOVSKY, 2004: The MASwheat project: bringing genomics to the wheat fields. http://www.intl-pag.org/12/abstracts/P3a_PAG12_216.html, geprüft 18.11.2006.
- VARSHNEY, R.V., A. GRANER and M.E. SORRELLS, 2005: Genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends in Plant Science* 10:621-630.
- WILLIAM, H.M., 2006: Wheat molecular breeding - does it offer any hope? International Symposium on Wheat Yield Potential: Challenges to International Wheat Breeding. http://www.cimmyt.org/english/wps/events/2006/whtSymposium/WhtYield_extenAbstracts.pdf Geprüft 18.11.2006.
- XIN-YU, W., L. KUN-FAN and G. WANG-ZHEN, 2006: Cloning and expression of low molecular weight glutenin genes from the Chinese elite wheat cultivar „Xiaoyan 54“. *J. Integrative Plant Biology* 48:212-218.
- YAN, L., A. LOUKOIANOV, G. TRANQUILLI, M. HELGUERA, T. FAHIMA and J. DUBCOVSKY, 2003: Positional cloning of the wheat vernalization gene VRN1. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 100:6263-6268.