

Validation eines neuen Genpoolkonzeptes für die Energiemaiszüchtung Validation of a new gene pool concept for energy maize breeding

Hartwig H. Geiger^{1*}, Henriette Burger^{1,2} und Walter Schmidt²

Abstract

The German energy maize acreage increased from 4 000 ha in 2004 to about 375 000 ha in 2009. All energy maize is used for biogas (methane) production. The crop is conserved as whole-plant silage. Maximum methane yields are obtained if the whole-plant moisture content at harvest ranges between 30 and 34%. Up to this developmental stage the still immature ears and the whole biomass (ears plus stover) provide similar amounts of methane per unit dry matter. Therefore, a close correlation exists between methane yield and biomass dry matter yield allowing the breeder to largely neglect genotypic variation in ear proportion and rather focus selection on maximizing biomass production. To this end we created seed and pollen parent gene pools with specific suitability for biogas production by combining the climatic adaptedness of Central European elite lines with the high productivity level of Southern European lines as well as with the cold tolerance of high-elevation Peruvian landraces, and the late flowering of tropical short-day germplasm. First experimental hybrids were tested in a multilocation yield trial in 2007. Various hybrids surpassed actual silage maize hybrids in biomass yield by 15 to 20% while reaching a dry matter content of 30-32% by the end of the season. These highyielding hybrids had tall leafy plants with thick, sturdy stems. They excelled in superior early vigor and remained in the fast growing vegetative phase until the end of August. Results clearly demonstrate that the newly developed gene pools are optimally suited for creating superior energy hybrids.

Keywords

Biogas, gene pool, hybrid, landrace, methane, *Zea mays*

zeichnet sich seit zwei Jahren eine starke Zunahme der Energiemaiszüchtung ab.

Ziel der Energiemaiszüchtung ist die Maximierung des Methanertrages, d.h. der erzeugten Methanmenge je Flächeneinheit. Komponenten des Methanertrages sind der Gesamttrockenmasse (GTM)-Ertrag und die in der Biogasanlage gewonnene Methanmenge je Gewichtseinheit Substrat, kurz die Methanausbeute. Wie AMON et al. (2004) zeigen konnten, ist die Methanausbeute zwischen dem Milch- und Teigreifstadium annähernd konstant und wird in dieser Entwicklungsphase kaum vom Kolbenanteil beeinflusst. Dem entsprechend fanden Oechsner und Mucke (2008) in mehrjährigen und mehrortigen Feldversuchen mit gestaffelten Ernteterminen und Hybriden unterschiedlicher Reifegruppe eine straffe Beziehung zwischen GTM-Ertrag und Methanertrag ($r^2 = 0,97$). Da Lignin und lignifizierte Zellwandbestandteile von den Biogasbakterien nicht abgebaut werden (WEILAND 2001), verringert sich die Methanausbeute ab der Gelbreife deutlich (AMON et al. 2004).

Aus obigen Befunden ergibt sich für den Energiemaiszüchter die Aufgabe, Sorten mit früh einsetzender, starker Massenwüchsigkeit zu entwickeln, die gleichwohl bis zum Vegetationsende sicher die Silierfähigkeit (30-32% Gesamtpflanzen-Trockensubstanz (GTS)-Gehalt) erreichen. Entsprechend dieser Aufgabenstellung begann die KWS SAAT AG bereits 2002 (SCHMIDT 2004), in mehreren Stufen sowohl auf der Saatelter- als auch auf der Pollenel-

Table 1: Entwicklung der Maisanbaufläche (1000 ha) in Deutschland 2004-2009 unterteilt nach Nutzungsrichtungen (Quellen: Deutsches Maiskomitee 2004-2008, Kleffmann Group 2009; zitiert bei W. SCHMIDT, Vortrag, KWS Einbeck, Sept. 2009)

Table 1: Trend of the German maize acreage (1000 ha) during 2004-2009 according to usage (grain, forage, biogas and total) (Sources: German Maize Committee (DMK) 2004-2008, Kleffmann Group 2009; cited by W. SCHMIDT, Presentation at KWS Einbeck, Sept. 2009)

Jahr	Körner	Silage		Gesamt
		Futter	Biogas	
2004	462	1244	4	1710
2005	443	1190	73	1706
2006	401	1194	152	1747
2007	403	1263	208	1874
2008	520	1277	290	2087
2009	470	1268	375	2113

Einleitung

Als Energiemais bezeichnen wir einen silierbaren Mais (*Zea mays* L.) mit spezieller Eignung für die Erzeugung von Biogas (Methan, CH₄). Im Zeitraum 2004 bis 2009 stieg in Deutschland die Energiemaisfläche annähernd linear von 4000 ha auf etwa 375 000 ha (Table 1). Schon für das Anbaujahr 2010 ist zu erwarten, dass die Energiemaisfläche die Körnermaisfläche übertreffen wird. Auch in Österreich

¹ Universität Hohenheim, Fruwirthstraße 25, D-70593 STUTTGART

² KWS SAAT AG, Grimsehlstraße 3, D-37555 EINBECK

* Ansprechpartner: Prof. Dr. Hartwig H. GEIGER, geigerhh@uni-hohenheim.de

Tabelle 2: Ausgangsmaterial für den Aufbau der neuen Energiemais-Genpools

Table 2: Source materials used for gene pool development

Elternseite	Abkürzung	Erläuterung
Saatelter	D	Mitteleuropäische Dent-Silomaislinien
	SSS	Südeuropäische Dent-Körnermaislinien ('Stiff-Stalk-Synthetik'-Pool)
	Mex	Mexikanische Dentmaisherkünfte
Pollenelter	F	Mitteleuropäische Flint-Silomaislinien
	Lanc	Südeurop. Körnermaislinien ('Lancaster'-Pool)
	Peru	Peruanischer Hochlandmais (≥ 3000 m ü. NN)

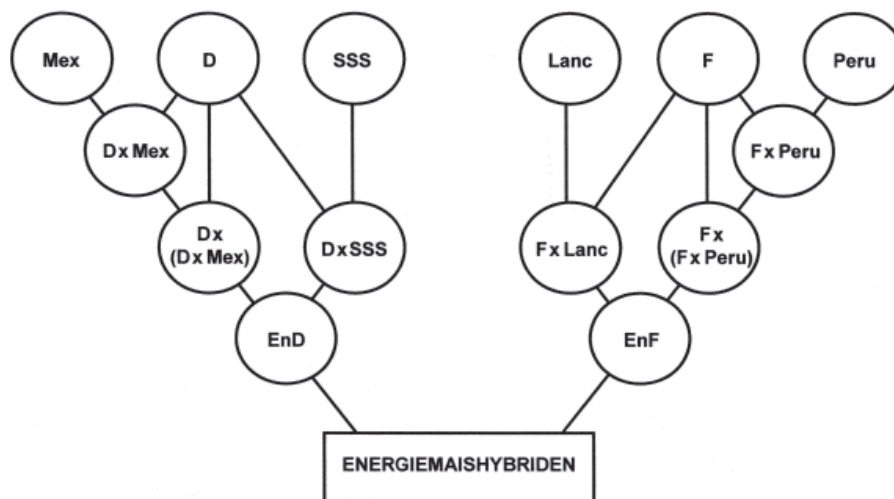


Abbildung 1: Flussdiagramm des Aufbaus der Energiemais-Genpools (Erläuterung der Abkürzungen in Tabelle 2)

Figure 1: Flow diagram illustrating the build-up of gene pools for breeding energy maize (for abbreviations see Table 2)

terseite geeignetes Ausgangsmaterial (Genpools) für die Energiemaiszüchtung zu entwickeln. Aus diesem Material standen 2006 erstmals vorgeprüfte, überwiegend doppelhaploide, Linien zur Verfügung, die 2007 in faktoriellen Kreuzungen auf Kombinationsfähigkeit geprüft wurden. Diese Prüfung stellt die erste Validation des vorstehenden Konzeptes dar. Das dafür verwendete Zuchtmaterial und die Ergebnisse der Leistungsprüfung sollen hier vorgestellt und diskutiert werden.

Material und Methoden

Das für den Aufbau der Genpools verwendete Ausgangsmaterial gliedert sich auf der Saat- wie auf der Pollenelterseite entsprechend der von ihnen beigesteuerten Werteeigenschaften in jeweils drei Gruppen (Tabelle 2). (i) Anpassung an die mitteleuropäischen Standortbedingungen lieferten aktuelle adaptierte mitteleuropäische Dent- bzw. Flint-Silomaislinien. (ii) Höchste Produktivität trugen südfranzösische und norditalienische Linien des Stiff-Stalk-Synthetic- bzw. des Lancaster-Pools bei. (iii) Blühverzögerung durch Kurztagsgene wurde aus mexikanischen Hybriden und Landrassen der peruanischen Hochandenzone (≥ 3000 m über NN) eingekreuzt, wobei letztere gleichzeitig Kühltoleranz beisteuerten.

Die tropischen Formen wurden wegen mangelnder Standfestigkeit und verschiedener Anpassungsschwächen einmal zum adaptierten Genpool rückgekreuzt, bevor mit der Linienent-

wicklung begonnen wurde. Diese neuen Pools wurden mit den Abkürzungen $D \times (D \times \text{Mex})$ bzw. $F \times (F \times \text{Peru})$ bezeichnet. Kreuzungen zwischen südeuropäischen SSS-Linien und mitteleuropäischen Dentlinien sowie zwischen südeuropäischen Lancaster-Linien und mitteleuropäischen Flintlinien ergaben die Mischpools $D \times \text{SSS}$ bzw. $F \times \text{Lanc}$. Aus der Verschmelzung der Genpools $D \times \text{SSS}$ und $D \times (D \times \text{Mex})$ entstand schließlich der eigentliche Energiemaispool EnD und aus den Genpools $F \times \text{Lanc}$ und $F \times (F \times \text{Peru})$ der Energiemaispool EnF (Abbildung 1).

Für die Herstellung der im vorliegenden Experiment geprüften Kreuzungen wurden auf der Saat- und Pollenelterseite jeweils 4 der obigen Genpools herangezogen, so dass 16 Kreuzungsgruppen entstanden. Aus den einzelnen Genpools kamen 1, 2 oder 3 Linien zum Einsatz (Tabelle 4). Insgesamt ergaben sich so 81 Einfachhybriden. Die Leistungsprüfung wurde 2007 an den Versuchsorten Hohenheim und Kleinhohenheim (beide bei Stuttgart), Nördlingen (Bayern) und Wiebrechtshausen (bei Einbeck) angelegt. In Hohenheim und Nördlingen wurden die Versuchsflächen konventionell bewirtschaftet, in Kleinhohenheim und Wiebrechtshausen ökologisch. Alle Versuche wurden als Zweisatzgitter mit vierreihigen Parzellen angebaut. Die Reihenlänge betrug je nach Prüfart 4-6 m und die Bestandesdichte 9 Pflanzen m^{-2} . Um Konkurrenzeffekte zwischen den Parzellen zu vermeiden, wurden nur die beiden mittleren Reihen einer Parzelle geerntet. Die Witterung war an allen Standorten während der ganzen Vegetationsperiode für das Maiswachstum günstig.

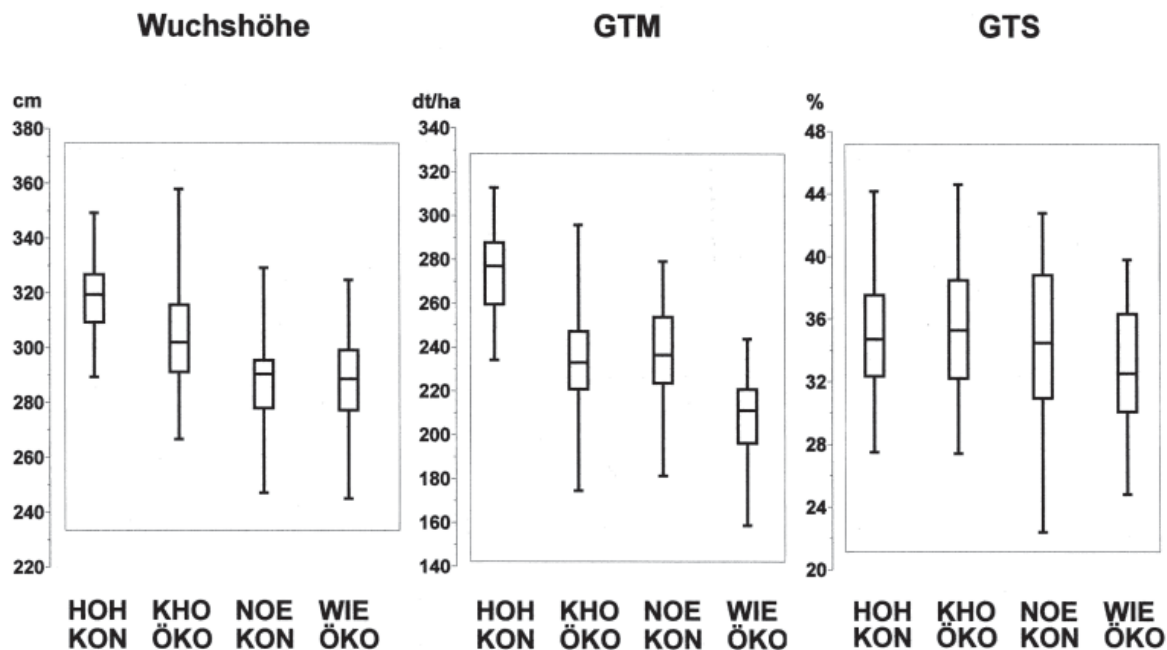


Abbildung 2: Verteilung der Prüfgliedmittelwerte in den einzelnen Testumwelten 2007 für die Merkmale Wuchshöhe, Gesamtpflanzenrockenmasse (GTM) und Gesamtpflanzenrockensubstanzgehalt (GTS); HOH, Hohenheim; KHO, Kleinhohenheim; NOE, Nördlingen; WIE, Wiebrectshausen; KON, konventionell; ÖKO, ökologische Wirtschaftsweise; Boxplots mit Median, 0,25- und 0,75-Quantil sowie Spannweite

Figure 2: Boxplots illustrating the distribution of entry means in four test environments 2007 in Germany for plant height, whole-plant dry matter (GTM) and whole-plant dry matter concentration (GTS); HOH, Hohenheim; KHO, Kleinhohenheim; NOE, Nördlingen; WIE, Wiebrectshausen; KON, conventional farming; ÖKO, organic farming; boxplots with median, 0.25 and 0.75 quantile, and range

Tabelle 3: Ergebnisse der Varianzanalyse für Wuchshöhe (WUH; cm), Gesamtpflanzenrockenmasse (GTM; dt ha⁻¹), und Gesamttrockensubstanzgehalt (GTS; %)

Table 3: Results of the analysis of variance for plant height (WUH; cm), whole-plant dry matter (GTM; dt ha⁻¹) and whole-plant dry matter content (GTS; %)

Parameter	Varianzursache	WUH	GTM	GTS
F-Wert	Kreuzungsgruppen (K)	7,45**	5,03**	6,18**
	K × Umwelt-Interaktion	1,53*	1,87**	2,38**
Varianzkomponente	Genotypen innerhalb K	86,07**	43,51**	6,57**
Fehler CV (%) ¹	Restvariation zwischen Parzellen	2,98	6,76	4,45

¹ Berechnet aus der zusammengefassten effektiven Fehlervarianz der Einzelversuche (Effective error variance pooled across individual experiments)

*, ** Signifikant für P=0,05 bzw. 0,01

Die Ernte erfolgte Mitte Oktober. Nennenswerte Schäden durch Krankheiten oder Schädlinge waren nicht zu verzeichnen. Einige Hybriden mit Pollenelter aus dem Genpool F×(F×Peru) zeigten Schwächen in der Standfestigkeit.

Ergebnisse

Die Umweltmittelwerte für den GTM-Ertrag variierten von 210 bis 276 dt ha⁻¹, wobei an den ökologisch bewirtschafteten Standorten durchschnittlich 13,6% weniger als an den konventionell bewirtschafteten geerntet wurde. Die höchsten Erträge wurden in Hohenheim erzielt (Abbildung 2). Im Mittelwert und in der Spannweite für GTS-Gehalt unterschieden sich die Umwelten nur unwesentlich. Zwischen den Kreuzungsgruppen bestanden für alle drei Merkmale hoch signifikante genotypische Unterschiede (Tabelle 3). Letzteres gilt auch für die genotypische Varianz innerhalb der Kreuzungsgruppen. Die über die Umwelten zusammen-

gefasste effektive Fehlervarianz der Gitteranlagen lieferte Variationskoeffizienten zwischen 4,4% für Wuchshöhe und 9,6% für GTM-Ertrag.

Den geringsten GTM-Ertrag (226 dt ha⁻¹) und den höchsten GTS-Gehalt (38,9%) wies die Vergleichsgruppe der (Dent×Flint)-Silomaishybriden auf, während die Gruppen SSS×[F×(F×Peru)] und [D×(D×Mex)]×(F×Lanc) GTM-Erträge von 259 dt ha⁻¹ bei GTS-Gehalten von 32,4 bzw. 30,1% erreichten (Tabelle 4). Im Durchschnitt über alle Pollenelterpools wiesen die Kreuzungen mit dem SSS-Saatelterpool die günstigsten Ertrag-Reife-Kombinationen auf, und im Durchschnitt über alle Saatelterpools die Kreuzungen mit dem (F×Lanc)- und dem [F×(F×Peru)]-Pollenelterpool.

Zwischen dem GTM-Ertrag und dem GTS-Gehalt bestand eine schwach negative phänotypische Korrelation. Dementsprechend wurde in jeder Reifegruppe eine große Spannweite der GTM-Erträge beobachtet (Abbildung 3). So

Tabelle 4: Mittelwerte der 16 Kreuzungsgruppen für Gesamtpflanzentrockenmasse (GTM) und Gesamtpflanzentrockensubstanzgehalt (GTS); 4 Umwelten 2007 (n = Anzahl Linien je Genpool)

Table 4: Means of the 16 crossing groups for whole-plant dry matter yield (GTM) and whole-plant dry matter content (GTS); 4 environments 2007 (n = number of lines per gene pool)

Saateltergenpool		Polleneltergenpool			
		Flint (F) n=3	F×Lanc n=2	Lanc n=2	F×(F×Peru) n=2
GTM (dt ha ⁻¹)					
Dent (D)	n=3	226	231	216	251
D×SSS	n=3	240	243	232	251
SSS	n=2	243	255	235	259
D×(D×Mex)	n=1	242	259	243	259
GTS (%)					
Dent (D)	n=3	38,9	37,5	36,4	34,4
D×SSS	n=3	36,1	32,6	32,0	31,0
SSS	n=2	37,5	33,9	32,8	32,4
D×(D×Mex)	n=1	32,6	30,1	29,3	26,9

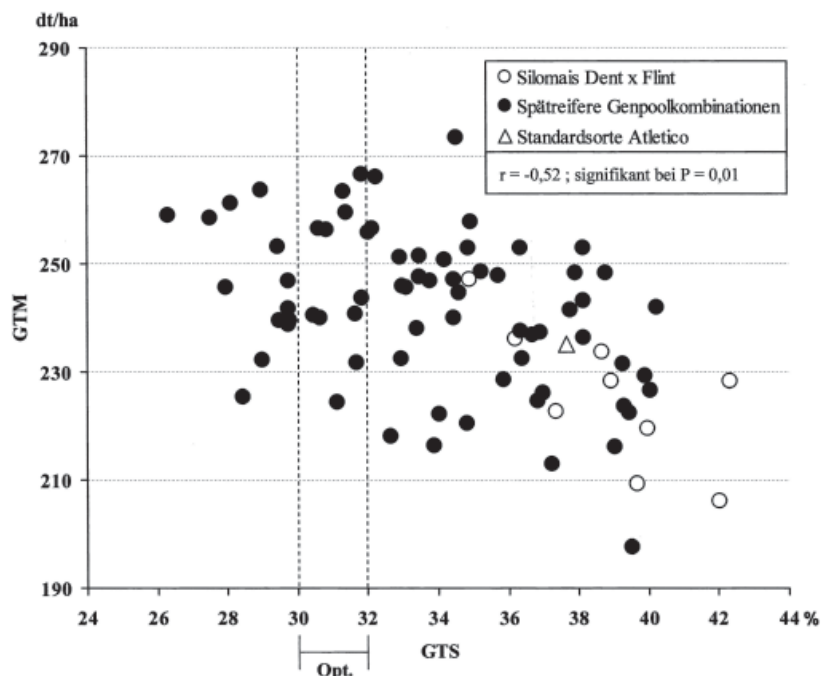


Abbildung 3: Beziehung zwischen Gesamtpflanzentrockenmasse (GTM) und Gesamtpflanzentrockensubstanzgehalt (GTS) der 81 Testhybriden (Opt. = optimaler Reifegradbereich für Energiemais)

Figure 3: Relationship between whole-plant dry matter (GTM) and whole-plant dry matter content (GTS) of 81 test hybrids (Opt. = optimal maturity range for energy maize); empty circles = silage maize Dent×Flint hybrids; filled circles = late maturing gene pool combinations; triangle = check hybrid variety Atletico

lag im optimalen GTS-Bereich von 30-34% der höchste Ertrag bei 267 dt ha⁻¹ und der niedrigste bei 216 dt ha⁻¹. Die vier ertragreichsten Prüfglieder mit einem GTS-Gehalt über 30% rangierten im Ertrag zwischen 273 und 263 dt ha⁻¹ (Tabelle 5). Jede dieser Hybriden geht auf Einkreuzungen aus südeuropäischem und/oder mexikanischem bzw. peruanischem Material zurück.

Diskussion und Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass nach dem vorliegenden Ansatz eindrucksvolle Leistungen in der Energiemaiszüchtung erreichbar sind. Dabei ist zu beachten, dass in diesem Experiment das Potential des entwickelten

Materials noch nicht voll ausgeschöpft wurde, da zunächst nur Komponenten der auf der Saat- und Pollenelterseite inzwischen aufgebauten finalen Genpools zum Einsatz kamen.

Die kurze Zeitspanne vom Beginn des Materialaufbaus im Jahre 2002 bis zur Herstellung der hier getesteten Hybriden lässt erkennen, mit welcher Geschwindigkeit und Effektivität die moderne Maiszüchtung arbeitet. Neben dem Einsatz von Winterzuchtgärten trägt dazu in den letzten Jahren ganz wesentlich die konsequente Anwendung der Doppelhaploidentechnik bei. Sie hat sich gerade bei der Erschließung nicht-adaptierter genetischer Ressourcen als außerordentlich hilfreich erwiesen (WILDE et al. 2009).

Tabelle 5: Mittelwerte der sieben ertragreichsten Hybriden mit GTS \geq 30,0% (4 Umwelten 2007) im Vergleich zu einer spätreifen Silomaishybridensorte**Table 5: Means of the seven highest yielding hybrids with GTS \geq 30.0% (4 environments 2007) in comparison with a late maturing silage maize hybrid variety**

Hybrid	GTM ¹		GTS (%)	Genpool-Kombination
	dt ha ⁻¹	% DF		
1	273,5	121	34,5	SSS×[F×(F×Peru)]
2	266,6	118	31,9	(D×SSS)×[F×(F×Peru)]
3	266,2	118	32,3	D×[F×(F×Peru)]
4	263,5	117	31,3	D×[F×(F×Peru)]
5	259,5	115	31,4	SSS×(F×Lanc)
6	257,8	114	34,9	SSS×F
7	256,6	114	32,2	[D×(D×Mex)]×F
Atletico	235,1	104	37,2	

¹ GTM, Gesamtpflanzentrockenmasse (whole-plant dry matter); GTS, Gesamtpflanzentrockensubstanzgehalt (whole-plant dry matter content); % DF, GTM relativ zum Mittelwert der (D×F)-Gruppe (GTM relative to that of the (D×F) group)

Die für einen maximalen Biogasertrag erforderliche späte Blüte wurde erwartungsgemäß sowohl durch Einkreuzen südeuropäischer Elitelinien als auch durch Introgression von Kurztagsgenen aus tropischen Herkünften erreicht. Bei der Evaluierung der Introgressionslinien bestätigten sich Befunde von CHARDON et al. (2004), wonach der Blühtermin solcher Formen im gemäßigten Klima polygenisch vererbt wird. Die peruanischen Hochlandrassen trugen zudem zu einer erhöhten Kühletoleranz bei, während die mexikanischen und südeuropäischen Ausgangsformen zunächst zu einer Schwächung der Kühletoleranz führten. Durch wiederholte Rekombination und intensive Selektion auf Jugendwüchsigkeit konnte dieser Nachteil aber auf der Saatterseite weitgehend und auf der Pollenelaterseite vollständig aufgehoben werden. In den anschließend durch Verschmelzen der hier getesteten Materialgruppen geschaffenen Saat- bzw. Pollenelaterpools (*Abbildung 1*) stehen jetzt mehrere aussichtsreiche Linien zur Verfügung, deren Hybriden in diesem Jahr einer ökologisch weit gestreuten Energiemaissprüfung unterzogen werden.

Außer der späteren Blüte und der verbesserten Kühletoleranz könnten auch erhöhte Heterosiseffekte zur Leistungsüberlegenheit der Hybriden mit peruanischem Genanteil beigetragen haben. Sehr wahrscheinlich haben die in den Hochanden kultivierten Landsorten bisher noch keine wesentliche Verwendung in der europäischen oder nordamerikanischen Maiszüchtung gefunden, so dass sie zu diesem Material eine weit überdurchschnittliche genetische Distanz besitzen. Die daraus resultierende Heterozygotieerhöhung in den Hybriden könnte durchaus einen erhöhten Heterosiszuwachs bewirkt haben.

Angesichts des ungebrochenen Trends in der Erweiterung bestehender und Errichtung neuer Biogasanlagen ist davon auszugehen, dass der Energiemaissanbau in Deutschland schon in Kürze die zweite Stelle nach dem Silomaissanbau einnehmen wird. Es erscheint daher sinnvoll und notwendig, künftig in der Maiszüchtung nicht nur Körner- und

Silomaishybriden, sondern auch auf die Biogaserzeugung zielende Energiemaishybriden zu entwickeln. Die im vorliegenden Experiment erhaltenen hohen GTM-Erträge zeigen, dass die für diese dritte Nutzungsrichtung geschaffenen neuen Genpools voll den in sie gesetzten Erwartungen entsprechen.

Danksagung

Für die sorgfältige und engagierte Versuchsbetreuung an den vier Prüforten danken die Autoren vielmals Melanie Braun, Oliver Hübner, Jochen Jesse, Silvia Koch, Hartmut Meyer und Patric Schrader.

Literatur

- AMON TH, KRYVORUCHKO V, AMON B, ZOLLITSCH W, MAYER K, BUGA S, AMID A, 2004: Biogaserzeugung aus Mais - Einfluss der Inhaltsstoffe auf das spezifische Methanbildungsvermögen von früh- bis spätreifen Maissorten. Bericht 54. Tagung 2003 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 59-68. BAL Gumpenstein, Irnding.
- CHARDON F, VIRLON B, Moreau L, FALQUE M, DECOUSSET L, MURIGNEUX A, CHARCOSSET A, 2004: Genetic architecture of flowering time in maize inferred from QTL meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. *Genetics* 162, 2169-218.
- OECHSNER H, MUKENGELE MM, 2008: Erschließung des biosynthetischen Potenzials einheimischer Nutzpflanzen als nachwachsende Rohstoffe zu Erzeugung erneuerbarer Energie. BMVEL-FNRProjekt 22000403, Endbericht.
- SCHMIDT W, 2004: Hybridmaiszüchtung bei der KWS SAAT AG. Bericht 54. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 1-6. BAL Gumpenstein, Irnding.
- WEILAND P, 2001: Grundlagen der Methangärung - Biologie und Substrate. VDI-Bericht 1620, 19-32.
- WILDE K, BURGER H, PRIGGE V, PRESTERL T, SCHMIDT W, OUNOVNA M, GEIGER HH, 2009: Testcross performance of doubled-haploid lines developed from European flint maize landraces. *Plant Breeding*, in press. DOI:10.1111/j.1439-0523.2009.01677.x.