

Mitteilungen und Nachrichten

Reisebericht – Larnaka, Zypern Treffen im Rahmen von COST FA1306 „The Quest for Tolerant Varieties – Phenotyping at Plant and Cellular Level,, WG1 Meeting „Phenotyping: from the Lab to the Field“, 13.-14.11.2014

Das COST-Projekt (Laufzeit 22.05.2014 – 21.05.2018) will ein Netzwerk etablieren zur Wiederentdeckung genetischer Ressourcen für die züchterische Verbesserung der Stresstoleranz, im Sinne einer weniger auf Vorleistungen (Bewässerung, Pflanzenschutz und Düngung) angewiesenen Landwirtschaft. Es umfasst drei Arbeitsgruppen: 1. Phänotypisierung auf Ebene der Pflanze, 2. Phänotypisierung auf Zellebene, 3. Integration, u.a. auch Datenmanagement und Statistik. Das Treffen betraf hauptsächlich Themen der ersten Arbeitsgruppe.

Physiologische Grundlagen und Messung der Trocken- toleranz

Zum Kernthema Trockentoleranz stellte M. REYNOLDS (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT) einleitend Faktoren der Wasserausnutzung wie Lichtinterzeption, Ährenphotosynthese, Atmung, schützende Wachsschichten, Karotinoide, Nährstoffverteilung, Blütenabwurf und Wurzeltiefe am Weizen vor. Geringere Blattoberflächentemperaturen zeigen trockenolerante Genotypen an. Sie werden luftgestützt mit Infrarot-Thermometrie erfasst. Verschiedene spektrale Wasserindizes wurden entwickelt. Das CIMMYT-Programm verfolgt die Erhöhung der Trockentoleranz durch die Erforschung genetischer Grundlagen und komplementäre Artkreuzungen. Gegenläufiges Verhalten von Kornertag und Biomasse unter Trocken- und Salzstress zeigte Imre VASS (Institut für Pflanzenbiologie der Akademie der Wissenschaften, Szeged, Ungarn) auf. In bildanalytischen Verfahren ermittelte digitale Biomasse prognostiziert daher nicht immer den Ertrag. Das Fahnenblatt weist eher auf den Ertrag, die sekundären Blätter eher auf die Biomasse hin. Tolerante Sorten halten die Wassereffizienz bei Stress stabil, bei empfindlichen bricht sie zusammen. In der Türkei wird Tiefsaat mit speziell verträglichen Weizensorten (z.B. Tir, chinesische Sorten) zur Verbesserung des Wasserangebots für die Keimung praktiziert. Ismail TURKAN (Ege Universität, Türkei) untersuchte Stoffwechselprozesse, die verstärktes Internodienwachstum bedingen.

Verschiedene Beiträge beschäftigten sich mit der Stomataregulation. Geschlossene Stomata vermindern Wasserverlust und schützen vor Krankheiten, vermindern aber auch das zum Wachstum verfügbare CO₂. Hannes KOLLIST (Universität Tartu, Estland) untersuchte durch Messung des Gasaustauschs an Mutanten im geschlossenen System wichtige Einflussfaktoren wie Ca²⁺-abhängige Proteine, Anionen-Kanäle und Abscisinsäure-Rezeptoren. Bei Ruderalpflanzen (*Arabidopsis*) überwiegen Stomata öffnende Faktoren, bei stresstoleranten Pflanzen (Weizen, Gerste) schließende. Tiina LYNCH (Oak Park Research Center, Carlow, Irland) zeigte, dass die mit Wärmephotographie erfassbare Blatttemperatur auch die Stomata-Durchlässigkeit anzeigt und deutlich durch Trockenstress beeinflusst wird. C3-Pflanzen sind empfindlicher als C4-Pflanzen. Auch bei Weinsorten wird die Thermographie von Blattoberflächen zur Bestimmung von Trockenstress und Stomatareaktionen verwendet. Miguel COSTA (Instituto de Tecnologia Química e Biológica ITQB, Oeiras, Portugal) zeigte die Erfassung sowohl einzel-

ner Blätter aus der Ferne, wie auch von Bereichen und Temperaturverteilungen im Blätterdach. Bodenbedeckung reduziert Boden- und Blatttemperatur. Hitze und Trockenheit beschleunigen die Seneszenz. Ein Vermeidungsverhalten gegenüber Trockenstress ist beschleunigte Blüte. Physiologische Mechanismen sind tageslängenabhängig und durch Abscisinsäure gesteuert. Lucio CONTI (Universität Mailand, Italien) präsentierte darüber hinaus spezifische Gene und Proteine. Bananen brauchen 1400–2000 mm Niederschlag und sind äußerst trockenempfindlich. Wilde Vorfahren sind z.T. toleranter. Sebastien CARPENTIER, (Universität Leuven, Belgien) führt Untersuchungen zur Trockentoleranz von 32 Referenzsorten mit Labormodellen, In-vitro-Wachstumsmodellen und auf einer Phenovision-Gewächshausplattform durch. Basierend auf Flächenwachstums- und Blatttemperaturmessung mit Infrarotkameras werden aus multivariaten Statistiken Pflanzen- und Wasserhaushaltsmodelle berechnet. In Tansania werden Feldversuche zur Bestätigung angelegt.

Neue Phänotypisierungstechniken

Jose Luis ARAUS ORTEGA (Universität Barcelona, Spanien) gab einen Überblick. Zielgrößen sind Ressourcenaneignung und -verteilung. Trockenstress vermindert z.B. Blattentfaltung und Stomataleitfähigkeit und damit die Lichtausnutzung. Phänotypisierungsplattformen mit Töpfen zeigen häufig geringe Übereinstimmung zum Verhalten im Feld. Auch dort stehen Plattformen mit verschiedenen Sensortechniken zur Verfügung: Thermographie, Spektroradiometrie und Reflexionsindizes, multi- und hyperspektrale Kameras und für die Präzisionslandwirtschaft entwickelte Messgeräte wie Greenseeker und Chlorophyllmesser (SPAD). Photosyntheseeffizienz, Wassergehalt, Ertrag und Enzymaktivitäten werden abgeleitet. Kameras können auf fahrbaren Plattformen oder luftgestützt auf Polykoptern und Drohnen eingesetzt werden. Digitalphotographien im visuellen Bereich können kostengünstig mit quelloffener Software numerisch auf Farben oder Grünanteile ausgewertet werden. Radar kann auch im Boden eingesetzt werden (Shovelomics), wird aber stark vom Wassergehalt gestört. Mit stabilen Isotopen können Ertragsbildung und Wassernutzungseffizienz (¹³C) und die Nutzung von Wasser aus tieferen Bodenschichten (¹⁸O im Stängelsaft) bestimmt werden.

Phänotypisierungsplattformen im Gewächshaus von oder nach Lemnatec stellten Astrid JUNKER (Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, IPK), Jakub JEZ (Campus Science Support Facilities CSF, Wien) und Giuseppe SCIARA (Universität Bologna, Italien) vor. Am IPK befinden sich drei auf unterschiedliche Pflanzengrößen (*Arabidopsis*, Gerste und Mais) dimensionierte Anlagen, die 1600–4600 Pflanzen gleichzeitig aufnehmen. Bildanalytik (NIR, Fluoreszenz), Topfgewichtsbestimmung und Bewässerung sind automatisiert. 3D-Auswertung und Analyse funktioneller Chlorophyllfluoreszenz wurden ergänzt. Temperatur- und Windsimulation sind möglich. Digital ermittelte Biomassen erreichen hohe Korrelationen mit Biomassen im Feld. Alternativ zur Lemnatec-Auswertungssoftware wurde am IPK die Open Source Plattform IAP entwickelt. Gearbeitet wird auch zu Wurzeln. Giuseppe SCIARA arbeitete auf PhenoArch, einer in Frankreich weiterentwickelten Lemnatec-Plattform, zur Trockentoleranz von Mais-Introgressionslinien. An 1860 Pflanzen gleichzeitig wurden Bildaten zur Schätzung von Biomasse, Blattfläche und Evapotranspiration erhoben. Zahlreiche Merkmale zur Trockentoleranz haben eine gemeinsame genetische Basis. Trockentolerante Sorten bilden in der Jugendentwicklung nur die tiefer wachsenden Samenwurzeln.

Onno MÜLLER und Ronald PIERUSCHKA (beide Forschungszentrum Jülich) stellten Aktivitäten des deutschen (DPPN) und des europäischen (EPPN) Phänotypisierungsnetzwerkes vor. Im Fokus des DPPN stehen Photosynthese und Wasserhaushalt. Es werden verschiedene Sensoren und Positionierungssysteme eingesetzt: stationäre, mobile oder luftgestützte Plattformen im Feld, ausgerüstet mit Spektroskopie, verschiedenartig induzierter Fluoreszenz zur Messung der Photosynthese, Chlorophyllfluoreszenz und Thermographie zur Bestimmung des Blattwassergehalts. Im EPPN wird ein Referenzexperiment mit Raps und Mais in 10 verschiedenen Einrichtungen durchgeführt, um Einflussfaktoren der Versuchsbedingungen zu normalisieren. Im Hinblick auf die züchterische Relevanz betrachtete PIERUSCHKA die Phänotypisierung unter Topf- und Feldbedingungen. Im Topfversuch steht die Einzelpflanze im Mittelpunkt, im Feld der Bestand. Die Temperatur ist im Topfversuch meist kontrolliert, im Feldversuch heterogen. Die Bodentemperatur kann in Topfversuchen bis zu 10 °C höher als die Lufttemperatur sein, was zu stärkerem Biomassewachstum und veränderter Wurzelverteilung führt. Es ist daher wichtig, die Bodentemperatur im Auge zu behalten.

Verschiedene technische Verfahren wurden in weiteren Vorträgen vorgestellt: Tragbare Kernspingeräte, Röntgen-Tomographie zur Erfassung der Wurzelmorphologie im Boden, Chlorophyll-Fluoreszenz, Hellfeldkameras, sowie multispektrale Ansätze zur Messung von Krankheiten durch Gerrit POLDER (Wageningen University & Research Centre, Niederlande). Auf dem Feld können Pflanzen automatisch gezählt und ihr Biomasseertrag bestimmt werden. Carl OTTOSEN (Aarhus Universität, Dänemark) stellte 3D-NIR-Laserscanner (PenospeX PlantEye) zur kontinuierlichen Erfassung von Pflanzengrößen als kosteneffiziente und robuste Lösung auch im Feldeinsatz vor. Das NIR-Laserlicht beeinträchtigt die Photosynthese nicht. Olga GRANT (Universität Dublin, Irland) verwies auf die Komplementarität von Bildverarbeitungsverfahren und Isotopentechniken. Digital- und Thermophotographie sowie Chlorophyllfluoreszenz ermöglichen die Bestimmung der Stresstoleranz über Blattemperatur, Spaltöffnungsaktivität, Blattwinkel oder den Zustand des Photosystems. Während dies Punktmessungen sind, integrieren stabile Isotope über die Wachstumsperiode: $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{18}\text{O}$ zeigen Wassernutzungseffizienz und Stomataleitfähigkeit an, $\delta^{15}\text{N}$ die N-Effizienz. Bei limitiertem Wasser verweist ^{13}C -Anreicherung auf hohe Wasserausnutzungseffizienz (z.B. in Apfelunterlagen). Kombination der Methoden erzielt Ergebnisse in hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung.

Fluoreszenzmessungen

Eva ROSENQUIST (Universität Kopenhagen, Dänemark) beschäftigte sich mit dem Einfluss dynamischer und statischer Lichtregimes auf mit Fluorimeter und Gaswechsellmeter erfasste Photosyntheseparameter. Nachmittägliche Verminderung der Stomataleitfähigkeit geht einher mit Entkopplung von photosynthetischer Aktivität und Stomataleitfähigkeit bei diskontinuierlichem Licht. Es wurden artspezifische und fluktuationsspezifische Einflüsse auf Photosynthese und Fluoreszenzparameter gefunden. In einem Poster stellte sie Verfahren der Chlorophyll-Fluoreszenzmessung und ihre Beeinflussung durch Stressoren vor: Messung von Quantenerträgen, Elektronentransport und der maximalen Effizienz von Photosystem II nach Dunkeladaptation. Zu methodischen Schwierigkeiten bei der Applikation von Lichtpulsen stellt Monitoring-PAM-Fluorometrie die bessere Alternative. Ein bulgarisches Poster zeigte den Einsatz des Photosynthesemesssystems LI 6400 zur Phänotypisierung

von Pilzbefall an Eichen. Häufig ist es schwierig, Krankheiten und Nährstoffmangel, z.B. Eisenmangel, zu unterscheiden, wie Marta de VASCONCELOS (Universidade Católica Portuguesa, Porto, Portugal) ausführte. Durch Eisenmangel ausgelöste Chlorosen lassen sich mit Chlorophyllmessung (SPAD) nachweisen. Die Reduktase-Aktivität ist bei mangeltoleranten Pflanzen höher. Schnellverfahren für die Mineralgehaltsbestimmung, aber auch Olfaktometer, werden eingesetzt.

Phänotypisierung von Wurzeln und Rhizosphäre

Einen Überblick gab Christophe SALON (INRA Dijon, Frankreich). Es werden Wurzelröhren aus Plexiglas (HT Rhizotubes) mit Erde und RhizoCabs ohne Erde eingesetzt. Im Vordergrund steht die Untersuchung der Wurzelknöllchen von Leguminosen (Fläche, Anzahl, Position). Sie sind bildanalytisch schwer, aber über die Textur erfassbar. In Rhizotronen, Töpfen oder Hydrokultur zeigten Genotypen ähnliche Rangfolgen. Es wurden Modelle für die Wachstumsdynamik der Knöllchen entwickelt. Wasser und N-Konkurrenz werden in Assoziationsexperimenten und mit gesplitteten Wurzelsystemen untersucht. Ein Poster der Universität Bologna, Italien, zeigte QTLs für die Wurzelsystemarchitektur von Sämlingen und hohe Heritabilität für den Winkel der Keimwurzeln. QTLs überlappen mit solchen für agronomisch wichtige Merkmale. Simon FRAAS, Universität Hamburg, präsentierte eine auf Flachbrettscannern basierende Plattform zur Phänotypisierung von *Arabidopsis*-Wurzelsystemen aus Flüssigkultur. Zur Auswertung wurden Erweiterungen für ImageJ entwickelt.

Inhaltsstoffe

Antioxidativ wirkende Phenole sind von Interesse in der menschlichen Ernährung. Beeren von *Vaccinium* (Blaubeeren), *Rubus* (Brombeeren, Himbeeren) und *Oxycoccus*-Arten (Moosbeeren) enthalten vor allem Anthocyanine. Die Arten werden in Skandinavien, Polen und Deutschland kultiviert. In Litauen gibt es Sammlungen genetischer Ressourcen. Kristina LOZIENE (Naturforschungszentrum Vilnius, Litauen) beschäftigt sich mit der züchterischen Bearbeitung des Phenolgehalts in *Vaccinium*-Beeren. Ziel ist eine höhere Umweltstabilität. Inger MARTINUSSEN (Bioforsk, Norwegen) phänotypisiert natürliche Populationen. Diese verfügen über eine große Diversität und sind als perennierende Pflanzen zum Studium von Genotyp-Umwelt-Wechselwirkungen sehr geeignet. Die Heritabilität der Blütenzahl pro m^2 ist hoch, die der Beerenanzahl und -größe niedrig. Blüten- und Beerenzahl korrelieren nicht. Ein flüssigchromatographisch/massenspektrometrisches Hochdurchsatz-Verfahren wurde zur Bestimmung der Antioxidantien verwendet. Genotyp- und Temperatureffekte auf Polyphenole sind gering, Anthocyanine treten verstärkt bei niedrigen Temperaturen auf. Weibliche Klone haben höhere Antioxidantiengehalte. Kommerzielle Sorten sind weiblich, männlich oder hermaphroditisch und werden als Klone vermehrt.

Züchtungstechniken

Ansätze, die von Dionysia FASUOLA (Agricultural Research Institute, Nikosia, Zypern) verfolgt werden, wollen die intraspezifische Konkurrenz in Zuchtparzellen minimieren (Honeycomb-Design). Sie gehen aus von einer negativen Korrelation zwischen Konkurrenzstärke und Ertragspotential, verminderter Heritabilität und Störung durch physische Interferenz.

Sonstiges

Beim Screening von Gerste auf Krankheitsresistenz, Phänologie und Nährstoffeffizienz fand Pirjio PELTONEN-SAINIO (MTT Agri-food, Finnland) große Variationsbreite. Im Schnitt zeigten moderne Sorten gesteigerte Resistenz, leicht spätere Reife, bessere N-Aufnahme, aber nicht immer bessere N-Verwertungseffizienz als alte Sorten oder Landrassen. Letztere können wertvolle spezifische Resistenzen einbringen. Weitere Themen waren Embryogenese aus somatischen Zellen (Tereza SALAJ, Slowakische Akademie der Wissenschaften), parasitische Pflanzen (*Striga*, *Orobancha*, *Viscum*, *Cuscuta*) im südeuropäischen Leguminosenanbau und Möglichkeiten einer Resistenzzüchtung, z.B. durch fehlende Keimstimulierung (Diego RUBIALES, Instituto de Agricultura Sostenible, IAS-CSIC Cordoba, Spanien) und die Induktion von Virusresistenzen durch RNA-Interferenz (Andreas VOLOUDAKIS, Landwirtschaftliche Universität Athen, Griechenland).

Relevanz für das Julius Kühn-Institut

Das Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) war durch den Berichterstatter mit einem eingeladenen Beitrag zu fruchtartsspezifischen Informationssystemen als Mittel zur Etablierung guter Phänotypisierungspraxis vertreten.

Das Netzwerk ist von hoher Relevanz vor allem im Hinblick auf gegenwärtige Bestrebungen zum Aufbau eines Translationsnetzwerks FZ Jülich – JKI zur Phänotypisierung. Phänotypisierung wird zunehmend als der entscheidende Engpass auch für die Nutzung genomischer Methoden (markergestützte und genomische Selektion, Assoziationsanalysen) erkannt. Eine Automatisierung, wie sie zum Aufschwung der Genomforschung in den letzten Jahrzehnten geführt hat, wird derzeit in der Phänotypisierung entwickelt. Das IPK, mit dem das JKI eine Kooperationsvereinbarung hat, ist in dieser Entwicklung bereits ein starker Partner und Mitglied in der COST-Aktion. Das IPK wird vom 22. bis 24. Juni 2015 in Gatersleben das erste allgemeine (Themen aller Arbeitsgruppen umfassende) Treffen der COST-Aktion veranstalten (http://meetings.ipk-gatersleben.de/COST_IPK_2015/index.php). Die Teilnahme ist gebührenfrei. (Stand: März 2015)

Christoph GERMEIER
(JKI Quedlinburg)

Wissenschaft trifft Poesie

Im Rahmen der 4. Quedlinburger Pflanzenzüchtungstage verbunden mit den 17. Kurt-von-Rümker-Vorträgen, die am 25./26. März 2015 gemeinsam veranstaltet vom Julius Kühn-Institut (JKI) und der Gesellschaft für Pflanzenzüchtung (GPZ) in Quedlinburg stattfanden, hat sich Frau Sarah SCHIESSL von der Justus-Liebig-Universität Gießen mit einem außergewöhnlichen Vortrag um den Kurt-von-Rümker-Preis beworben. Der Kurt-von-Rümker-Preis wird in Gedenken an den Namensgeber, der die erste akademische Vorlesung zur Pflanzenzüchtung im Sommersemester 1889 in Göttingen gehalten hat, von der GPZ für den besten Vortrag eines Nachwuchswissenschaftlers auf dem Gebiet der Pflanzenzüchtung vergeben. Frau SCHIESSL trug die Ergebnisse ihrer Promotion in Form von Sonetten vor. Diese, sowie vorab eine wissenschaftliche Zusammenfassung finden Sie im Folgenden.

Blühzeitpunkt, Entwicklung und Ertrag in Raps (*Brassica napus* L.): Sequenzdiversität in regulatorischen Genen

Der Blühzeitpunkt ist ein wesentlicher Anpassungsfaktor an ein Habitat. Die Kenntnis der genetischen Regulation dieses Merkmals ist deshalb bei der Züchtung angepasster Sorten wichtiger Kulturpflanzenarten hilfreich. Da viele der heutigen Kulturpflanzenarten polyploid sind, werden dazu entsprechende genetische Modelle benötigt. Die Ölpflanze *Brassica napus* (Raps) ist mit der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (Acker-Schmalwand) nah verwandt und stellt daher ein geeignetes System zur Erforschung von polyploiden Einflüssen auf komplexe genetische Netzwerke dar. Zur Offenlegung der genetischen Diversität des Blühnetzwerks in *B. napus* verfolgte diese Arbeit drei Ziele: (1) die Identifikation einer Reihe von repräsentativen *B. napus*-Orthologen des Blühgen-Netzwerks in *A. thaliana*, (2) die Beleuchtung der allelischen Diversität in diesen *B. napus*-Genen und (3) die Verknüpfung dieser Diversität mit der phänotypischen Variation in Blühzeitpunkt, Pflanzenleistung und Entwicklungsmerkmalen.

In einer ersten Studie wurde die Sequenzähnlichkeit von verschiedenen Kopien eines Gens dazu genutzt, diese Kopien durch sequenzspezifisches Anreichern aus einer Bibliothek von DNA-Fragmenten zu isolieren (*sequence capture*). Die Ergebnisse zeigten für vier unterschiedliche *B. napus*-Morphotypen eine hohe strukturelle Konservierung der Hauptkomponenten des Blühnetzwerks in *A. thaliana*, nämlich für Winter-Ölraps, Winter-Futerraps, Sommer-Ölraps (alle *B. napus* ssp. *napus*) und Kohlrübe (*B. napus* ssp. *napobrassica*). Innerhalb der Art gab es eine große Streubreite an Polymorphismen. So zeigte beispielsweise der Sommerraps 'Campino' in drei seiner vier Kopien von *Bna.FRI* SNPs, die voraussichtlich eine Veränderung der Proteinsequenz nach sich ziehen.

Weiterhin standen für eine genomweite Assoziationsstudie phänotypische Daten für Blühzeitpunkt, Pflanzenhöhe und Ertrag aus 11 unterschiedlichen Umwelten in Deutschland, Chile und China zur Verfügung. Als genetische Marker konnten 21623 Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) verwendet werden, die durch den *Brassica 60K-SNP Illumina® Infinium consortium array* ausgelesen worden waren. Das genetische Material, das für diesen Ansatz verwendet wurde, bestand aus 140 angepassten Winterrapslinien, das dem ERANET-ASSYST-Diversitätssset entnommen worden war.

Die Ergebnisse dieses zweiten Ansatzes unterstützten die Annahme, dass Blühzeitgene an der Regulation anderer Parameter von Biomasse und Samenertrag beteiligt sind. Blühgene wie *Bna.FT* wurden in assoziierten Genregionen für Pflanzenhöhe und Ertrag gefunden. Durch die Analyse der Daten basierend auf absoluten wie auch auf relativen Werten konnte zwischen populationsspezifischen und umweltspezifischen Faktoren unterschieden werden. So konnte beispielsweise eine genetische Region um den Temperaturregulator *Bna.TFL1* umweltspezifisch nur im warmen Frühjahr 2011 assoziiert werden. Klassische Blühregulatoren wie *Bna.CO* und *Bna.FLC* wurden in diesen Regionen nicht gefunden, hingegen viele Gene, die vermutlich analog zu *Arabidopsis* mit dem Gen *Bna.SOC1* interagieren. Die Variation der Blüte scheint in Winterraps daher eher auf Variation in Genen zurückzugehen, die in der Signalkaskade stromabwärts liegen.

Weiterhin implizierten verschiedene Ergebnisse beider Studien eine wichtige Rolle der Gendosierung in Polyploiden, so zum Beispiel die Kopienanzahlvariation der Gene *Bna.CO* und *Bna.TEM1*. Die Ergebnisse der genomweiten Assoziationsstudie ergänzten das Bild, indem sie für die Regulation der Blüte eine entscheidende Rolle für epigenetische und posttranskriptionelle