

Integrierter Pflanzenschutz – Welche Möglichkeiten eröffnet die klassische Züchtung?

Vortrag von Prof. Dr. Gerhard Wenzel, Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Technische Universität München*)

Unter ökonomischem und ökologischem Druck haben sich die Schwerpunkte der Züchtung in den letzten Jahren verschoben: So konzentriert sich die Arbeit nicht mehr auf das Ziel Maximalertrag sondern auf optimale Ernten und nicht mehr auf den Kurzzeitnutzen, sondern auf Nachhaltigkeit. Für die Genetik als Grundlage der Züchtung bedeutet dies die Arbeit mit immer komplexeren Eigenschaften und damit die Hinwendung zu polygenen Erbgängen. Diese eindeutig positive Entwicklung bringt für die Züchtungsarbeit aber eine deutliche Erschwernis: Der Zeitraum zwischen einer grundlegenden Kreuzung und der Markteinführung einer neuen Sorte, der schon für die Einführung eines monogenisch vererbten Resistenzgens leicht 15 Jahre beträgt, umfasst bei dem Ziel komplexe Eigenschaften zu kombinieren wesentlich längere Selektionszeiten.

Die Einlagerung dieser Gene in Hochleistungsgenotypen wird heute durch molekulare Marker unterstützt. In Tabelle 1 sind die Gene wiedergegeben, für die eng gekoppelte molekulare Marker zur Verfügung stehen.

Diese Marker liegen weitgehend in einer Form vor, in der sie sich im Züchterlabor ohne großen technischen Aufwand, in der Regel PCR-gestützt, als STS-Sonde einsetzen lassen. Mit dieser Technik ist es jetzt in der praktischen Züchtung mit klassischer Kombinationszüchtung gelungen, eine Weizenlinie zu selektieren, die drei Mehlauresistenzgene in einer Linie vereinigt (Abb. 1). Die Chemikalien-Kosten für eine derartige Markeranalyse belaufen sich für 50 Proben pro Marker auf etwa 50,- DM. Es kommen Gerätekosten (PCR-Maschine 14000,- DM) und die Arbeitskosten (8 Mann/Stunden) hinzu.

Die Pyramidisierung mehrerer monogener Marker in einer Linie bildet den Übergang zur polygen verankerten Krankheitsresistenz. Der Aufbau dieser polygen meist quantitativ ausgeprägten Resistenz ist mit klassischer Züchtung wesentlich zeitaufwendiger als die Einlagerung einer monogenisch vererbten Resistenz. So ist es ein glücklicher Umstand, dass die Kombinationszüchtung heute durch biotechnologische Verfahren unterstützt wird. Dies umfasst zwei Zellkulturtechniken: den Einsatz Haploider und die Zellfusion. Die Kombination komplexer Eigenschaften ist vorwiegend für vegetativ vermehrte Fruchtarten wie die Kartoffel wichtig und wird heute in der Züchtungspraxis zur Kombination von Resistenzgenen genutzt. Der Einsatz Haploider erlaubt es z. B. in Liniensorten zum Aufbau der Homozygotie auf wiederholte Selbstungen zu verzichten. Damit reduzieren sich die Rekombinationsereignisse, so dass komplexe Genbereiche beider Eltern weitestgehend erhalten bleiben und es zur erwünschten Pyramidisierung kommt. Mit den beiden Zellkulturtechniken lässt sich die Effizienz der klassischen Züchtung bei der genetischen Resistenzeinlagerung deutlich steigern.

Eine weitere Verbesserung des Resistenzniveaus und der Dauerhaftigkeit der Resistenz sollte durch besseres Wissen über die Kombinierbarkeit entsprechender Allele zu erreichen

Tab. 1. Mehltau-Resistenzgene, die Marker-gestützt identifiziert werden können (Literatur zitiert in WENZEL et al., 2000).

Gen	Referenz
Pm 1a, b, c	HARTL et al., 1995, 1996
Pm 2	MOHLER & JAHOOOR, 1993
Pm 3b	HARTL et al., 1993
Pm 4a, b	HARTL et al., 1998, 1999
Pm 6	LIN et al., 1996
Pm 12	JIA et al., 1996
Pm 13	DONINI et al., 1995
Pm 17	HSAM et al., 2000
Pm 21	QI et al., 1996
Pm 24	HUANG et al., 2000
Pm 25	SHI et al., 1998
Pm 29	ZELLER et al., 2002

sein. Hier konzentrieren sich die Arbeiten heute auf die Identifizierung und Lokalisierung von quantitativen Resistenzloci (QRL) und Versuche zu deren Kombination. Im Zentrum stehen die Fusariosen bei Weizen, die sich chemisch nur schwer bekämpfen lassen und die Züchtung folglich die aussichtsreichste Alternative bietet.

Nach der vollständigen Sequenzierung des Arabidopsisgenoms (KAUL et al., 2000) konnte für diese Modellpflanzen gezeigt werden, dass 1–2% der kodierenden Sequenzen für 200 bis 300 Proteine mit lysinreichen Wiederholungsmotiven, die für Resistenzgene charakteristisch sind, kodieren (WENZEL et al., 1999). Solche Resistenzgene liegen oft in Klustern vor (Resistenzgen-Analoga, RGAs). In Abbildung 2 sind für Mais (Abb. 2a) und Gerste (Abb. 2b) die Verteilung von Resistenzgenen bzw. RGAs über das Genom angegeben.

Die einzelnen Chromosomen sind gleichmäßig in etwa 10 bis 20cM große BINs unterteilt. Chromosomenbereiche ohne R-Gene oder ohne RGAs sind weiß belassen, solche mit einem pilzlichen Resistenzgen sind grau und Bereiche mit mehreren sind dunkel markiert. Für Gerste sind nun gut 100 quantitativ wirkende Resistenzgen loci (*Erysiphe graminis*, ml; *Puccinia hordei*, Lr; *P. graminis*, Sr; *P. striiformis*, Yr; *Rhynchosporium secalis*, Rh; *Pyrenophora teres*, Nb; *P. graminea*, Ls; *Cochliobolus sativus*, Sb und *Fusarium* sp., Fs) lokalisiert, für Mais ca. 200 (*Setosphaeria turcica*, St; *Puccinia sorghi*, Ps; *Ustilago maydis* Um und maize streak virus, msv; sowie sugar cane mosaic virus, scm). Ihre Verteilung ist mit den entsprechenden Kürzeln in Abbildung 2 eingetragen (LÜBBERSTEDT et al., 2001). Die Frage, die sich stellt, ist nun: Sind diese QRL zufällig über das Genom verteilt, oder verhalten sie sich ähnlich wie die R bzw. RGA loci, sind diesen möglicherweise sogar zugeordnet. Für Gerste deutet sich eine Klusterung an. Damit könnte sich die Isolierung der Gene erleichtern, da man sich auf die entsprechenden Bereiche konzentrieren kann; eine Pyramidisierung wird allerdings

*) Weitere Autoren sind: URSULA FREI, THOMAS LÜBBERSTEDT und VOLKER MOHLER

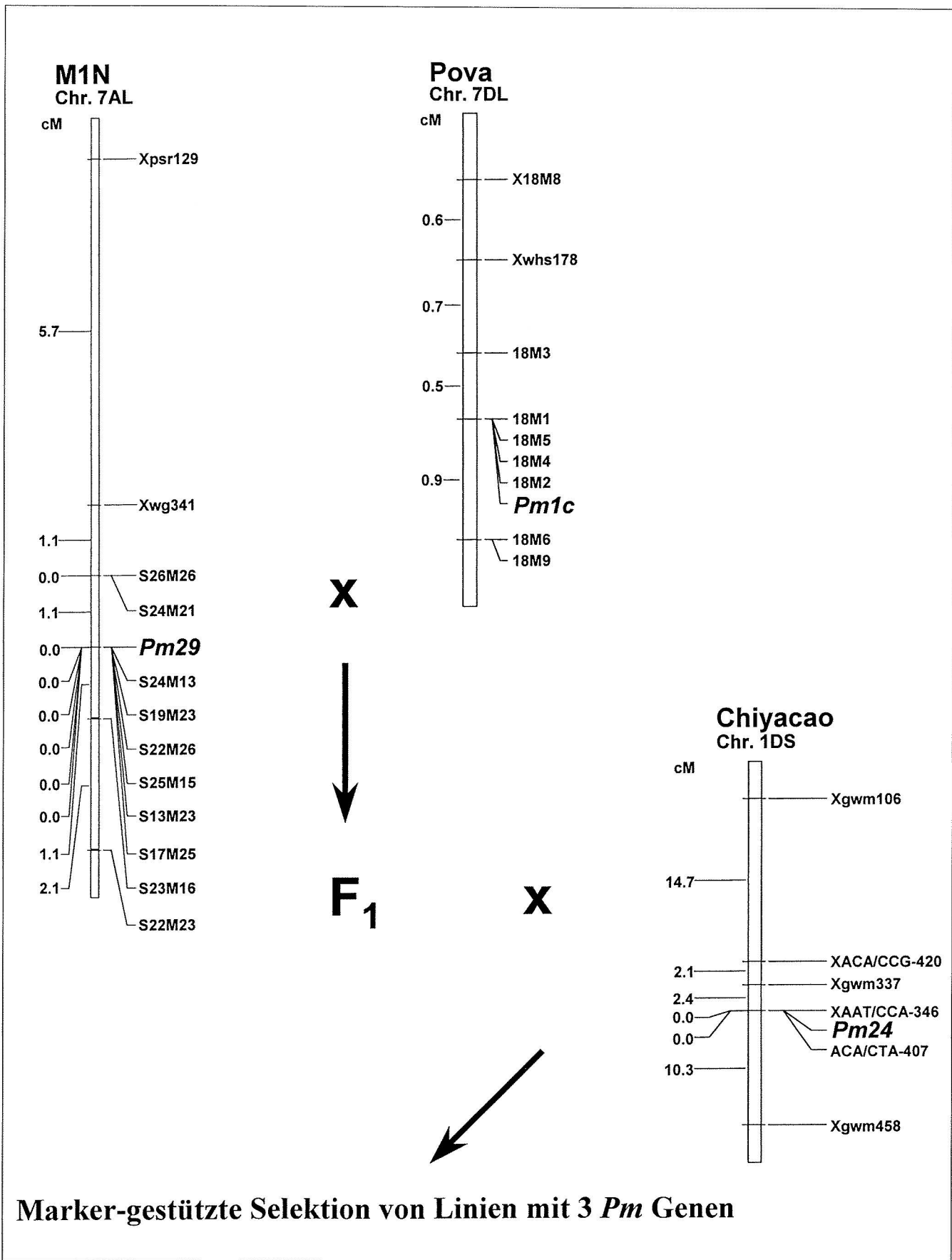


Abb. 1. Pyramidierung von den drei Mehltaugenen Pm29, Pm1c und Pm24 in einer neuen Linie durch Einsatz von entsprechenden Gensonden in der Marker-gestützten Selektion.

Chr.	BINs ^a															
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16
1(7H)	<i>MI(2)</i> <i>Sr, Nb</i>	<i>Fs</i>	<i>Sb</i> <i>Fs(2)</i>	<i>Rh, Sb</i>	<i>MI</i>		<i>MI, Nb</i> <i>Ls</i>			<i>MI</i>	BYDV					
2(2H)			<i>Lr(2)</i> <i>Ls</i>	<i>Lr, Nb</i> <i>Ls</i>	<i>Nb, Lr</i> <i>Fs</i>		<i>Fs</i>	<i>MI</i>	<i>Fs</i>	<i>Lr</i>	Fs		<i>MI</i>			<i>MI, Rh</i> <i>Fs</i>
3(3H)		<i>Bl, Nb</i> <i>Fs(2)</i>				<i>Nb, Fs</i>		<i>Bl</i>	<i>Nb</i>			<i>Nb</i>	<i>Nb, Fs</i> <i>Yr</i>		<i>Rh</i>	Fs, Rh
4(4H)	<i>Ls</i>	BYDV		<i>Fs(2)</i>	<i>MI, Nb</i>	<i>MI(2)</i> <i>Nb(2)</i>	<i>Lr</i>	<i>MI, Sr</i> <i>Rh, Nb</i> <i>Fs</i>		<i>MI</i> <i>Yr(2)</i>	BYDV					
5(1H)		<i>MI</i> <i>Yr(2)</i>	<i>MI</i>	<i>MI</i>		<i>Sb, Fs</i>	<i>MI, Sb</i>	<i>Nb</i>	BYDV			<i>Fs(2)</i>				
6(6H)		<i>MI</i>		<i>Yr</i>		<i>MI, Lr</i> <i>Rh</i> <i>Nb(3)</i>	<i>Nb</i>	<i>Fs(2)</i>								
7(5H)			<i>MI, Fs</i>	<i>MI(2)</i> <i>Fs, Nb</i>	<i>MI</i>		<i>Yr</i>		<i>Yr</i>	<i>Lr, Nb</i>	<i>MI</i>	<i>MI</i>	<i>MI</i>			<i>MI(2)</i>

^a BIN size: 10 cM

Abb. 2a

Chrom.	BIN												
	00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
1		<i>Ps</i>	<i>Um St</i>	<i>Ps Sr</i> <i>Pe Ps</i>	<i>Um Um</i>	<i>Um Ps</i> <i>msv msv</i>	<i>Ps Um</i> <i>Ps Cz</i>	<i>St Pe</i> <i>Gz</i>	<i>scm Ps</i> <i>Ps Um</i>	<i>Um Ps</i>	<i>Ps Um Ps</i> <i>St Um</i>		
2			<i>St</i>	<i>msv Um</i> <i>St Ps</i> <i>Um Cz</i>	<i>Um msv</i> <i>St</i>	<i>Um Ps</i> <i>Um</i>	<i>msv Ps</i> <i>St Um</i> <i>Um Um</i>	<i>Sr</i>	<i>Ps Um</i> <i>Um</i>	<i>Ps Ps</i>			
3		<i>Ps St</i>	<i>msv</i>	<i>St</i>	<i>hpv msv</i> <i>scm Ps</i> <i>Ps</i>	<i>Sr Um</i>	<i>Ps Ps</i> <i>St Um</i> <i>Um</i>	<i>Gz Ps</i> <i>St St</i>	<i>Ps St</i> <i>Um Um</i>	<i>msv msv</i>	<i>St</i>		
4				<i>Ps St</i> <i>Um</i>	<i>msv Gz</i> <i>Ps St</i> <i>Um</i>		<i>Sr St</i> <i>Um</i>	<i>Um Um</i>	<i>z Ps</i> <i>Um</i>	<i>Um</i>	<i>Ps</i>		
5		<i>scm Ps</i> <i>Ps Ps</i> <i>St Um</i> <i>Um</i>	<i>msv Gz</i> <i>St Um</i> <i>Um</i>	<i>msv Ps</i> <i>St St</i> <i>Um Um</i>	<i>Gz Ps</i> <i>Ps Ps</i> <i>Sr St</i>	<i>Cz Ps</i> <i>St</i>	<i>St Um</i>	<i>St</i>					
6	<i>hpv scm</i> <i>Sr</i>	<i>msv Um</i>			<i>Ps Ps</i>		<i>Ps Sr</i> <i>St</i>	<i>Ps Ps</i> <i>Sr Um</i>					
7		<i>Ps Ps</i> <i>Um</i>	<i>Ps Um</i> <i>Um</i>	<i>Ps St</i> <i>St Um</i>	<i>Ps Ps</i> <i>Um Um</i>								
8	<i>Um</i>	<i>Ps</i>	<i>Ps Sr</i> <i>St</i>	<i>Ps St</i> <i>St</i>	<i>Ps</i>	<i>Ps Ps</i> <i>St</i>	<i>Cz Ps</i> <i>Sr St</i> <i>Um</i>	<i>msv</i>	<i>Ps Um</i>				
9		<i>Pe Ps</i> <i>Um</i>	<i>msv St</i>		<i>Ps Sr</i> <i>Um</i>	<i>St Um</i>	<i>Ps Um</i> <i>Um</i>	<i>Ps Ps</i>					
10	<i>Um</i>		<i>Ps</i>		<i>Um Um</i>	<i>msv scm</i> <i>Ps</i>	<i>msv Gz</i> <i>Ps</i>						

Abb. 2b

Abb. 2a. und 2b. Verteilung der Resistenzgene in Genomen a) Gerste mit sieben Chromosomen und b) Mais mit 10 Chromosomen. Die Chromosomen sind in BINs unterteilt. Schwarze Bereiche geben BINs mit mehreren Hauptresistenzen, graue solche mit mindestens einem Resistenzgen an. Die Beschriftung steht für die Verteilung von quantitativen Merkmalen (Abkürzungen siehe Text) (LÜBBERSTEDT et al., 2001).

schwieriger, da eng beieinander liegende Allele selten rekombinieren. Beim Mais ist keine Ordnung erkennbar. Damit dürfte die Pyramidisierung einfacher sein. Ein Grund für diesen deutlichen Unterschied kann man möglicherweise in den unterschiedlichen Befruchtungsmechanismen finden: Der Selbstbefruchter Gerste kommt zu dem statischeren Genom, während der Fremdbefruch-

ter Mais durch ständige Rekombination eine zufälliger Struktur aufweist. Der Unterschied könnte aber auch einfach eine Folge der Genomgröße sein: Im größeren Gerstegenom ($5,3 \times 10^9$ bp) bilden sich leichter Resistenzinseln als im kleineren Maisgenom (4×10^9 bp).

Mit zunehmendem Wissen über die Genomstruktur wird es

möglich, die klassische Kombinationszüchtung richtiger zu dimensionieren und durch Marker-gestützte Selektion das Beste sicherer zu selektieren. Dies gilt zunehmend auch für quantitativ ausgeprägte Resistenzen, die mit großer Wahrscheinlichkeit aufgrund ihrer polygenen Struktur dauerhafter sein dürften, als dies monogen verankerte Pilzresistenzen sind. Die Resistenzzüchtung kann damit zunehmend Beiträge für eine genetisch verankerte Krankheitsresistenz liefern, eine besonders wertvolle Art des prophylaktischen Pflanzenschutzes.

Literatur

- DONINI, P., R. M. D. KOEBNER, C. CIOLONI, 1995: Cytogenetic and molecular mapping of the wheat *Aegilops longissima* chromatin breakpoints in powdery mildew resistant introgression lines. *Theoret. Appl. Genet.* **91**, 738–743.
- HARTL, L., V. MOHLER, F. J. ZELLER, S. L. K. HSAM, G. SCHWEIZER, 1999: Identification of AFLP markers closely linked in the powdery mildew resistance gene Pm1c and Pm4a in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* **42**, 322–329.
- HARTL, L., H. WEISS, F. J. ZELLER, A. JAHOR, 1993: Use of RFLP markers for the identification of alleles of the Pm3 locus conferring powdery mildew resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoret. Appl. Genet.* **86**, 959–963.
- HARTL, L., H. WEISS, U. STEPHAN, F. J. ZELLER, A. JAHOR, 1995: Molecular identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoret. Appl. Genet.* **90**, 601–606.
- HARTL, L., V. MOHLER, F. J. ZELLER, S. L. K. HSAM, G. SCHWEIZER, 1999: Identification of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes Pm 1c and Pm 4a in common wheat. *Genome* **42**, 322–329.
- HUANG, X. Q, S. L. K. HSAM, F. J. ZELLER, G. WENZEL, V. MOHLER, 2000: Molecular mapping of the wheat powdery mildew resistance gene Pm24 and marker validation for molecular breeding. *Theoret. Appl. Genet.* **101**, 407–414.
- HSAM, S. L. K., V. MOHLER, L. HARTL, G. WENZEL, F. J. ZELLER, 2000: Mapping of powdery mildew and leaf rust resistance genes on the wheat-rye translocated chromosome T1BL.1RS using molecular and biochemical markers. *Plant Breeding* **119**, 87–89.
- HUANG, X. Q, S. L. K. HSAM, F. J. ZELLER, G. WENZEL, V. MOHLER, 2000a: Molecular mapping of the wheat powdery mildew resistance gene Pm24 and marker validation for molecular breeding. *Theoret. Appl. Genet.* **101**, 407–414.
- JIA, J., K. M. DEVOS, S. CHAO, T. E. MILLER, S. M. READER, M. D. GALE, 1996: RFLP-based maps of the homologous group-6 chromosomes of wheat and their application in the tagging of Pm 12, a powdery mildew resistance gene transferred from *Aegilops speltoides* to wheat. *Theoret. Appl. Genet.* **92**, 559–565.
- KAUL, S. et al., 2000: Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* **408**, 796–815.
- LÜBBERSTEDT, T., V. MOHLER, G. WENZEL, 2001: Function of genetic material – Genes involved in quantitative and qualitative resistance. *Prog. Bot.* **63**, 80–105.
- MOHLER, V., A. JAHOR, 1996: Allele specific amplification of polymorphic sites for the detection of powdery mildew resistance loci in cereals. *Theoret. Appl. Genet.* **93**, 1078–1082.
- QI, L. L., M. S. CAO, P. D. CHEN, W. L. LI, D. J. LIU, 1996: Identification, mapping, and application of polymorphic DNA associated with resistance gene Pm21 of wheat. *Genome* **39**, 191–197.
- SHI, A. N., S. LEATH, J. P. MURPHY, 1998: A major gene for powdery mildew resistance transferred to common wheat from wild einkorn wheat. *Phytopathology* **88**, 144–147.
- WENZEL, G., G. SCHWARZ, F. THÜMLER, 1999: Approaches to understand the action of genes responsible for disease resistance in plants. In: DENKE, A. et al. (eds.). *Different pathways through life*. pp 299–317, Lincom Europa, München.
- ZELLER, F. J., L. KONG, L. HARTL, V. MOHLER, S. L. K. HSAM, 2002: Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L em. Thell) 7. Gene Pm29 in line Pova. *Euphytica* **123**, 187–194.