



„Smart Breeding“

Clevere Züchtung von heute für gesunde Sorten und Lebensmittel von morgen

Die Züchtung neuer Nutzpflanzensorten mittels Gentechnik hat mit erheblichen Akzeptanzproblemen zu kämpfen. Gleichwohl erwartet der Verbraucher gesunde Lebensmittel zu einem geringen Preis und die Landwirtschaft benötigt ertragreiche Sorten mit möglichst hoher Resistenz gegen Krankheiten, Schädlinge und Stress. In der Kombination von klassischer Pflanzenzüchtung und molekulargenetischen Untersuchungen bietet Smart Breeding alternative Ansätze, um dieses Ziel zu erreichen.

Was ist Smart Breeding?

Der Begriff „Smart Breeding“ (auch „clevere Züchtung“ oder „Präzisionszucht“), kennzeichnet die heutigen methodischen Alternativen der modernen Pflanzenzüchtung, **in der klassische Vorgehensweisen – wie die Kreuzung verschiedener Elternsorten und anschließende Nachkommenschaftsselektion – mit neuen, molekulargenetischen Ansätzen kombiniert werden.**

Wichtige Unterschiede zwischen Smart Breeding und klassischer Züchtung bestehen u. a. darin, dass wesentliche Züchtungsschritte nun im Labor (d. h. umweltunabhängig) erfolgen können und dass nicht mehr allein anhand des **Phänotyps** (= äußere und innere Pflanzenmerkmale wie Wuchsform, Krankheitsresistenz, Ertragsleistung, Produktqualität) ausgelesen wird, sondern dass die genetische Information der Nutzpflanze selbst, also der **Genotyp** für Selektionsentscheidungen genutzt wird.

So erfolgt die Auswahl der Pflanzen aus Kreuzungsnachkommenschaften anhand entsprechender Varianten des Erbmaterials, die mit der erwünschten Merkmalsausprägung einhergehen.

Smart Breeding basiert auf Molekulargenetik, verzichtet aber auf Gentechnik

Es liegt auf der Hand, dass das Erbgut (Genom) hierfür genau analysiert werden muss, um auf dieser Basis **zunächst die passenden Kreuzungspartner und dann die besten Kreuzungsnachkommen auswählen** zu können.

Wie bei der Anwendung der Grünen Gentechnik ist also auch für die „Präzisionszucht“ zunächst eine **möglichst umfassende Kenntnis des Genoms** bzw. wenigstens der jeweiligen merkmalsrelevanten Genombereiche erforderlich. Aber im Gegensatz zur Gentechnik wer-



Prof. Dr. agr. Dr. h.c. Wolfgang Friedt
Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, IFZ für Umweltsicherung
Justus-Liebig-Universität Gießen
Heinrich-Buff-Ring 26-32
35392 Gießen
email: wolfgang.friedt@agr.uni-giessen.de

Glossar:

Grüne Gentechnik = Bezeichnung für gentechnische Methoden in Zusammenhang mit Nutzpflanzen

Antheren = die pollentragenden Staubblätter der Blüte

Mikrosporen = noch nicht ausgereifte Pollen

haploid = mit halbem Chromosomensatz

homozygot = „reinerbig“; eigentlich der Zustand, wenn ein Organismus von väterlicher und mütterlicher Seite identische genetische Information erhielt



den hier keine einzelnen Gene (ggf. aus ganz verschiedenen Lebewesen) in die Nutzpflanze übertragen, so dass **keine transgenen Pflanzen (gentechnisch veränderte Organismen, GVOs)** gezüchtet werden. Andererseits liegt somit auf der Hand, dass bei dieser Vorgehensweise die erwünschten Gene bereits in einer Pflanze vorhanden sein müssen, um sie allein oder in Kombination mit anderen günstigen Genen in neuen, besseren Nachkommenschaften zur **Ausprägung** (Genexpression) bringen zu können.

Einige technische Erläuterungen

Biotechnologische Arbeitsschritte ermöglichen seit geraumer Zeit eine Effizienzsteigerung und Beschleunigung des Zuchtanges. Hierzu gehören einerseits Zell- und Gewebekulturtechniken wie die Embryokultur, mit deren Hilfe sexuelle Kreuzungen zwischen entfernt verwandten Arten möglich sind, sowie die Antheren- und Mikrosporenkultur, welche über die Regeneration haploider Pflanzen in kurzer Zeit zu homozygoten

Infokasten

Als wichtigste **molekulargenetische Marker-techniken** sind zu nennen die **Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs)**, die auf unterschiedlich häufigen Schnittstellen eines Restriktionsenzym (Enzym, welches DNA-Stränge schneidet) in der DNA-Sequenz beruhen. Die resultierenden, unterschiedlich großen DNA-Fragmente (Polymorphismus) werden mittels Gelelektrophorese aufgetrennt und über eine Hybridisierung mit einer markierten, spezifischen DNA-Sonde sichtbar gemacht (dieses Verfahren wird übrigens analog auch in der Kriminalistik bei Tatortspuren oder bei Vaterschaftstests angewandt).

RFLP-Marker haben sich bei Pflanzen als nützlich erwiesen für phylogenetische (Erforschung des Stammbaums) und taxonomische (Einordnung in Gattungen, Arten etc.) Studien, aber auch für die Zuordnung von Herkünften und Sorten zu genetischen Gruppen. Vorteil der RFLP-Technik ist ihre sehr gute Reproduzierbarkeit und die so genannte kodominante Expression der Marker: Hierdurch können heterozygote (mischerbig, unterschiedliche Gene von väterlicher und mütterlicher Seite) von homozygoten (reinerbigen) Individuen unterschieden werden. Nachteilig ist der große experimentelle Aufwand und der Bedarf an relativ großen Materialmengen.

Weitere DNA-Markertechniken basieren auf der Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR); hierzu gehören: RAPD-Marker (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms), Mikrosatelliten (Simple Sequence Repeats, SSRs), STS-Marker (Sequence Tagged Sites) und in zunehmendem Maße auch Marker, die auf der Variation einzelner Nucleotide beruhen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs).

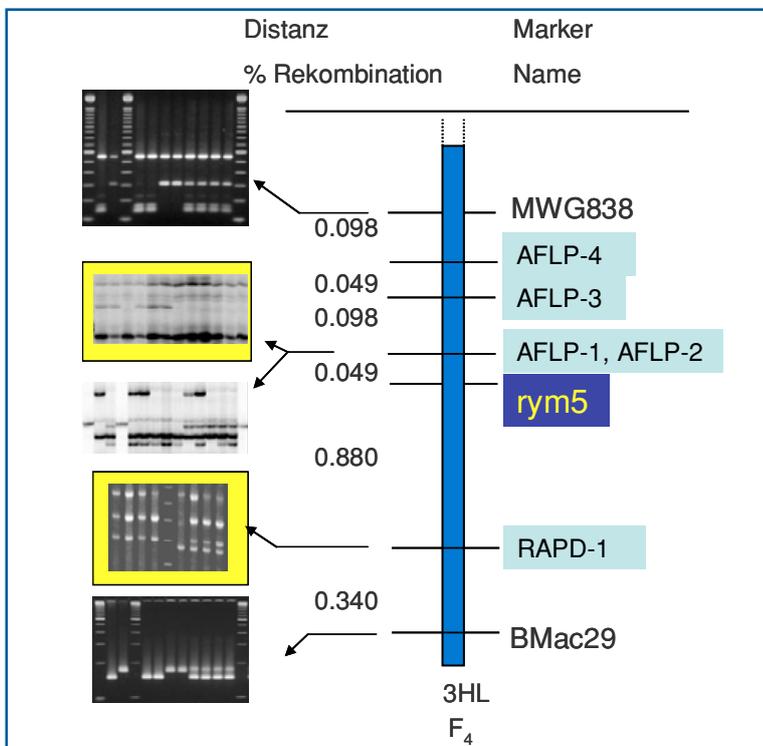


Abb. 1: Ausschnitt der genetischen Karte der Gerste mit dem Genlocus **rym5** (Resistenz gegen bodenbürtige Viren) und benachbarten molekularen Markern; je enger ein Marker mit dem Gen gekoppelt ist (Distanz, % Rekombination), desto zuverlässiger kann er für die Auslese auf das Zielgen **rym5** verwendet werden.

(doppelhaploiden) Linien führt (s. u.). Andererseits haben molekulargenetische Methoden und Techniken (s. Kasten) in jüngerer Zeit eine große Bedeutung für die Züchtungsforschung und angewandte Pflanzenzüchtung erlangt. Für die Auswahl der am besten geeigneten Individuen oder Pflanzennachkommenschaften aus den Kreuzungen (spaltende Generationen) können heute genetische bzw. molekulare Marker eingesetzt werden. Das sind kurze DNA-Abschnitte, die sich aufgrund ihrer passenden Basensequenz an spezifische Abschnitte im Pflanzengenom anheften können. Geeignete Marker können zwar quasi per Zufall mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) generiert werden, aber die Identifikation zuverlässiger, bereits einsetzbarer Marker erfordert Sequenzinformationen des Genoms der betreffenden Pflanze. Mithin sind dafür nicht unerhebliche Vorarbeiten (und Finanzmittel) erforderlich. Zudem kann das Auffinden diagnostischer Marker, die einen speziellen Phänotyp (bestimmte Eigenschaften) unverwechselbar anzeigen, sehr zeitaufwändig sein. Nur solche Marker, die hinreichend eng mit dem Zielgen gekoppelt sind (◆Abbildung 1), gestatten eine zuverlässige Selektion auf dieses Gen und das betreffende Merkmal. Es liegt daher auf der Hand, dass eine DNA-Sequenz aus dem Gen selbst der zuverlässigste Marker ist.

Molekulare Marker zeigen somit an, ob eine Pflanze oder Sorte das (die) gewünschte(n) Gen(e) besitzt. Da für die heutigen, PCR-gestützten Methoden sehr wenig DNA und mithin nur wenig Pflanzenmaterial benötigt wird, kann die Markeranalyse bereits an Keimlingen oder sogar Pflanzen-Embryonen kurze Zeit nach der Befruchtung erfolgen. Dies bedeutet einen erheblichen Zeit-

gewinn im Züchtungsprozess. Hinzu kommen ggf. weitere Einsparungen, weil durch die Frühselektion im Labor (insbesondere das Verwerfen ungeeigneter Individuen) weniger Gewächshaus- und Feldkapazität erforderlich ist.

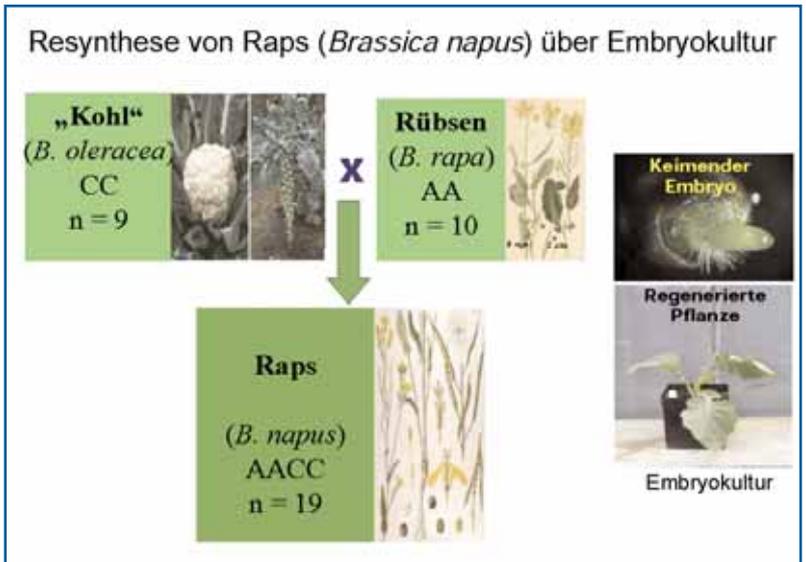


Abb. 2: Kreuzung zwischen Kohl- und Rübsenformen zur Schaffung von neuem Ausgangsmaterial („Resyntheseraps“) für die Züchtung von Öl- oder Futterraps (*B. napus*). Raps besitzt die vollständigen Genome von Kohl und Rübsen (9 + 10 Chromosomen) und ist damit ein allopolyploider Bastard (AA + CC = AAC).

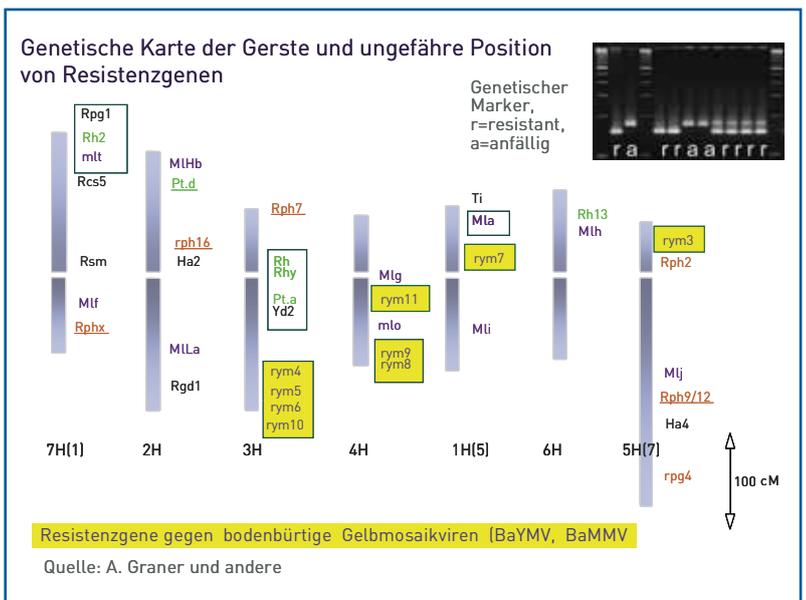


Abb. 3: Genetische Karte der Gerste (*Hordeum vulgare*). Zahlreiche Gene gegen Pilzpathogene und Viren konnten hier einer bestimmten Chromosomenposition zugeordnet werden. Die Identifikation molekularer Marker ermöglicht eine markergestützte Auslese resistenter bzw. anfälliger Pflanzen (Individuen, Zuchtlinien, Sorten). Spezifische Marker für verschiedene Gene gestatten deren markergestützte Kombination („Pyramidisierung“).

Glossar:

interspezifisch = hier: die Eltern entstammen unterschiedlichen Pflanzenarten

intergenerisch = hier: die Eltern entstammen unterschiedlichen Pflanzengattungen

Plastiden = Unterstrukturen (Organellen) der Pflanzenzellen, zu denen z. B. die Chloroplasten zählen, welche den grünen Blattfarbstoff Chlorophyll beherbergen

Oleosomen = Unterstrukturen (Organellen) der Pflanzenzellen, in denen synthetisierte Fette/Öle gespeichert werden

Smart Breeding und die Entwicklung neuer Sorten

Vorteile verspricht „Smart Breeding“ in allen Phasen der Sortenzüchtung:

1. Schaffung neuer genetischer Ausgangsvariation
2. Selektion von Sorteneltern in spalten-den Generationen
3. Entwicklung von Sortenkandidaten und neuen Sorten

Schaffung neuer genetischer Variation

Seit eh und je schaffen Züchter neue genetische Variation durch Kreuzungen geeigneter Varietäten der jeweiligen Kulturpflanze. Zahlreiche Pflanzenarten sind jedoch selbst durch natürliche Kreuzung zwischen verschiedenen Arten entstanden – darunter viele Kulturpflanzen wie Baumwolle, Hafer, Weizen, Tabak oder Raps. Mithin sind sog. „Weite Kreuzungen“ zwischen Vertretern verschiedener Pflanzenarten oder auch Gattungen dazu geeignet, ganz neue genetische Vielfalt zu generieren. Hierfür werden die nach erfolgreicher Befruchtung gebildeten, interspezifischen bzw. intergenerischen Hybridembryonen in der Regel im Labor *in vitro* kultiviert (Embryokultur), um daraus intakte Pflanzen zu regenerieren. Dieses Verfahren eröffnet dem Pflanzenzüchter die Möglichkeit, wichtige Nutzeigenschaften, z. B. Resistenz- und Qualitätsmerkmale, aus verwandten Pflanzenarten bzw. Gattungen in landwirtschaftliche oder gärtnerische Kulturpflanzen einzulagern und somit die verfügbare genetische Variation zu erweitern.

Mithilfe der Embryokultur konnten bereits bei verschiedenen Nutzpflanzenarten interspezifische bzw. intergenerische Hybriden erzeugt und damit auch neue Eigenschaften in Kulturformen eingelagert werden. Ein Beispiel ist die Kreuzung der **Kultursonnenblume** (*Helianthus annuus*) mit *Helianthus*-Wildarten: dadurch ist es gelungen, Resistenzeigenschaften aus den Wildformen in die Kultursonnenblume einzulagern. Auch **Triticale**, das vielleicht bekannteste Produkt einer gezielten intergenerischen Kreuzung von **Weizen** (*Triticum ssp.*) und **Roggen** (*Secale cereale*), kann mit Hilfe der Embryokultur effizient erzeugt werden.

Züchtung von Kohlhernie-resistenten Raps-Sorten am Beispiel der Sorte MENDEL®

Quelle

Resynthese-Raps „1543“ (ECD-05 × ECD-15)
 ECD-04: *Brassica rapa* ssp. *rapifera* (resistent)
 ECD-15: *Brassica oleracea* var. *Acephala* cv. Verheul]

Kreuzung

(Falcon × „1543“) × Falcon

DH-Linien

Selektion von 3 437 Linien auf Resistenz, Qualität und Ertrag

Vaterlinie

Bl. 6431/96

Hybriden mit den Mutterlinien MSL004C und MSL007C

® NPZ Lembke GmbH, Hohenlieth

Abb. 4: Entwicklung Kohlhernie-resistenter Hybridsorten auf der Basis von Resynthese-Rapsformen (*B. rapa* × *B. oleracea*); die Resistenz stammt aus dem Rübseneltern (*B. rapa* ssp. *rapifera*). M. Frauen, NPZ, pers. Mitt.

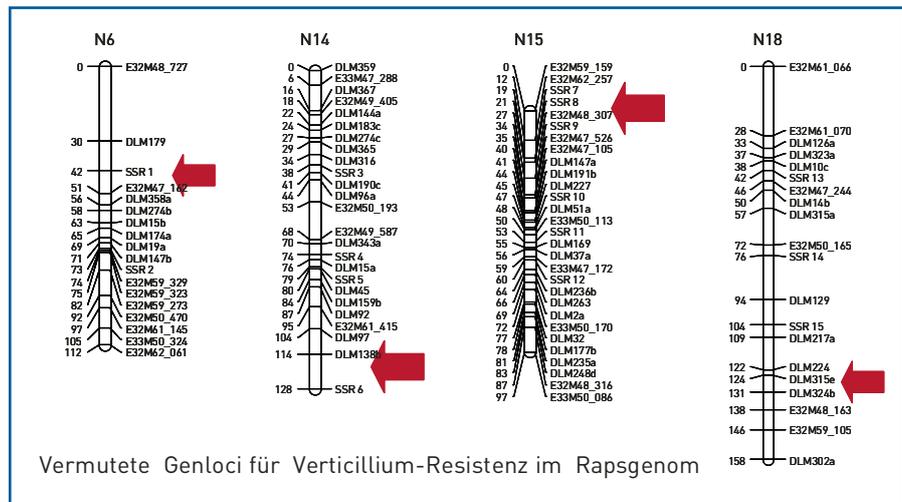


Abb. 5: Genetische Kartierung von vier Genloci (QTL) im Rapsgenom (Kopplungsgruppen N6, N14, N15, N18), die vermutlich Verticillium-Resistenz bedingen; die Größe der Pfeile ist Hinweis auf die Ausprägung der Resistenz (Rygulla W. et al., in Vorbereitung).

Ebenso werden heute in großem Stil **neue Rapsformen** (*Brassica napus*) durch Kreuzungen zwischen Rübsen- (*Brassica rapa*) und Kohlformen (*B. oleracea*) geschaffen; man spricht von „Resynthese-Rapsformen“ (◆ Abbildung 2), die sich insbesondere für die Resistenzzüchtung als nützlich erwiesen haben (s. u., ◆ Abbildung 4 und 5). In diesem Fall ist Präzisionszüchtung besonders nützlich und zielführend, denn es ist nicht allein die betreffende Re-

sistenz-eigenschaft stabil zu etablieren. Vielmehr sind auch im Raps **unerwünschte Merkmale der Kreuzungseltern** zu eliminieren; hierzu gehören negative Qualitätseigenschaften, z. B. ernährungsphysiologisch unerwünschte oder schädliche Fettsäuren (wie die langkettige Erucasäure) oder Glukosinolate (Senfölglykoside), welche die Verwertung des Rapsschrotes einschränken. Je genetisch komplexer die Merkmale sind und je mehr davon kombi-

Zusammenfassung

Smart Breeding

Wolfgang Friedt, Gießen

„Smart Breeding“, zuweilen auch „clevere Züchtung“ oder „Präzisionszucht“ genannt, steht für methodische Alternativen zur Gentechnik in der modernen Pflanzenzüchtung. Hierbei werden klassische Vorgehensweisen – wie die Kreuzung verschiedener Elternsorten und anschließende Nachkommenselektion – mit neuen, molekularbiologischen Ansätzen kombiniert. Smart Breeding nutzt molekularbiologische Methoden (z. B. Genkartierung, Mutagenese) zur Charakterisierung von Ausgangspflanzen mit gewünschten Zuchteigenschaften. Arbeitsweisen der pflanzlichen Gewebekultur und anschließenden Regeneration intakter Pflanzen verkürzen wesentlich die Schritte zwischen klassischer Kreuzung, Selektion gesuchter Zuchtergebnisse und anschließender Vermehrung der Pflanzen.

Die Zuchtziele, z. B. Krankheits- und Schädlingsresistenz, Stresstoleranz (z. B. gegen Trockenheit, Salz, Hitze) oder veränderte Inhaltsstoffe (z. B. Fettsäuremuster) werden jedoch letztendlich mit klassischer Züchtung, also durch Kombination geeigneter Elternsorten erzielt und führen somit zu gentechnik-freien Nutzpflanzen.

Ernährungs Umschau 54 (2007)
S. 108–113

Beispiel für die Potenziale von Smart Breeding. An der *de novo* Fettsäuresynthese im Plastiden und den weiteren Syntheschritten (Elongationen, Desaturationen) im Zytoplasma bis hin zum Einbau in die Triglyzeride und deren Einlagerung in die Oleosomen sind zahlreiche Enzyme beteiligt. Die enzymatisch katalysierten Syntheschritte werden jeweils von einem oder mehreren Genen kontrolliert, die heute praktisch alle als klonierte

DNA-Sequenzen vorliegen. Hierdurch eröffnet sich der direkte Zugriff für Präzisionszüchtung. Gleiches gilt für andere entschlüsselte Biosynthese- und Stoffwechselwege der Pflanzen, die dadurch für moderne züchterische Ansätze zugänglich werden.

Zukunftsperspektiven und Ausblick

Über die genannten Beispiele hinaus wird in der Züchtungsforschung und den Laboren der Zuchtfirmen an der Optimierung weiterer Merkmale bzw. Merkmalskombinationen gearbeitet. Neben Nutzpflanzen mit verstärkter Krankheits- und Schädlingsresistenz, Genotypen mit kombinierter Resistenz gegen verschiedene Krankheitsursachen und Sortenkandidaten mit verbesserten Qualitätseigenschaften gehören dazu auch neue Pflanzen, die sich durch eine bessere Stresstoleranz und Anpassungsfähigkeit an widrige Umweltbedingungen auszeichnen. Daher sind solche Prototypen potenziell durch eine höhere Ertragsstabilität gekennzeichnet und für eine nachhaltige Pflanzenproduktion geeignet.

Bei der Stresstoleranz ebenso wie beim Pflanzenertrag selbst handelt es sich um sehr komplexe Merkmale, die in züchterischer Hinsicht eine besondere Herausforderung darstellen. Gerade bei solchen Nutzeigenschaften verspricht das Herangehen mithilfe des heutigen züchterischen Repertoires inkl. der beschriebenen Methoden und Techniken des Smart Breeding künftige Fortschritte, die mithilfe klassischer Züchtungsmethodik alleine nicht realisierbar wären.

Eine besondere Rolle dürfte dabei künftig der **Chip-Technologie** zukommen: Die rasch fortschreitende Sequenzierung pflanzlicher Genome (nach *Arabidopsis*, Ackerschmalwand, und Reis geht die Sequenzanalyse weiterer Pflanzen wie Mais und Rübe schnell voran) und die Zuordnung von Genfunktionen eröffnet hier die Möglichkeit, die für bestimmte Entwicklungsstadien oder Mechanismen wesentlichen Gene auf so genannten **Microchips** (Arrays) anzuordnen und damit für Hochdurchsatzverfahren der Genomanalyse zugänglich zu machen. Nachdem die Chiptechnologie heute in der Züchtungsforschung schon etabliert ist, könnte es

bald auch in der Züchtungspraxis möglich sein, bestimmte Entscheidungen wie die Elternwahl und Nachkommenselektion anhand von Array-Auswertungsdaten zu treffen. ■

Weiterführende Literatur

- Friedt, W et al.: *Strategies of Breeding for Durable Disease Resistance in Cereals. Progress in Botany* 64: 138–167 (2002)
- Kumar, R et al.: 2005: *Characterisation of plant tocopherol cyclases and their overexpression in transgenic Brassica napus seeds. FEBS Lett.* 579: 1357–1364 (2005)
- Ordon F et al.: *Recombination: From genetic towards physical distances: High resolution mapping of plant resistance genes. Progress in Botany* 61: 37–53 (2000)
- Rönicke, S et al.: *QTL analysis of resistance to Sclerotinia sclerotiorum Lib. de Bary in sunflower (Helianthus annuus L.). Phytopathology* 95:834–839 (2005)
- Snowdon RJ, Friedt W: *Molecular markers in Brassica oilseed breeding: current status and future possibilities. Plant Breeding* 123: 1–8 (2004)
- Stoll C et al.: *Genetic modification of saturated fatty acids in oilseed rape (Brassica napus). Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107: 244–248 (2005)
- Stoll C et al.: *Knockout of KASIII regulation changes fatty acid composition in canola (Brassica napus). Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108: 277–286 (2006)
- Wagner C et al.: *Molecular analyses on the genetic diversity and inheritance of (-)- α -bisabolol and chamazulene content in tetraploid chamomile (Chamomilla recutita (L.) Rausch.). Plant Sci.* 169:917–927 (2005)
- Werner K et al.: *Dissection of resistance to soil-borne yellow mosaic inducing viruses of barley (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) in a complex breeders cross by SSRs and simultaneous mapping of BaYMV/BaYMV-2 resistance of „Chikurin Ibaraki 1“. Theor. Appl. Genet.* 106: 1425–1432 (2003)
- Werner K, Friedt W, Ordon F: *Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2). Molecular Breeding* 16:45–55 (2005)
- Zarhloul MK et al.: 2006. *Breeding high-stearic oilseed rape (Brassica napus) with high- and low-erucic background using optimised promoter-gene constructs. Molecular Breeding* 18: 241–251 (2006)