GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Veröffentlichung der Ergebnisse von Forschungsvorhaben im BMBF-Programm

B I O L O G I E

"Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 0313711A gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegen bei den Autoren".

Forschungsvorhaben:
Verbundprojekt: GABI-KANADA (CGAT): Reduzierung des Gehalts an Fusarium - Toxinen in Weizen mit einem genomischen Ansatz / Teilprojekt A

Förderkennzeichen: 0313711A
Laufzeit: 01.04.2006 bis 31.03.2010

Zuwendungsempfänger:
Technische Universität München, 80290 München

Schlussbericht

GABI-KANADA (CGAT): Reduzierung des Gehalts an Fusarium-Toxinen in Weizen mit einem genomischen Ansatz/ Teilprojekt A

Ausführende Stellen:
Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung
Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
Technische Universität München (TUM)
Emil-Ramann-Str. 4, D-85354 Freising

Projektleiter: Dr. Michael Schmolke

Abt. Cytogenetik und Genomanalyse
Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK)
Corrensstraße 3, D-06466 Gatersleben

Projektleiter: Dr. Patrick Schweizer

I. Kurze Darstellung

1. Aufgabenstellung

An der Technischen Universität München wurden drei Teilprojekte bearbeitet:

Teilprojekt A beschäftigte sich mit der Assoziationskartierung von Fusariumresistenz-QTL in einem Sortiment aus adaptiertem europäischen Winterweizensorten basierend auf Kopplungsungleichgewichten (Linkage Disequilibrium, LD) innerhalb dieses Sortiments. Dieses Teilprojekt ist dem Modul 1 zugeordnet.
Ziel dieses Teilprojekts war Charakterisierung genomischer Regionen des Weizens, die zuvor über biparentale Kartierungspopulationen identifiziert wurden. In diesem Teilprojekt sollte gezeigt werden, ob über einen LD-Ansatz dieselben QTL und/oder neue QTL-Regionen identifiziert werden können. Zudem sollte mittels dieser Analysen die genetische Diversität innerhalb des europäischen Winterweizengenpools untersucht werden.

Im Rahmen von Teilprojekt B wurde eine mutagenisierte Population mittels EMS-Behandlung (Ethylmethansulfonat) basierend auf der deutschen Winterweizensorte Dream erstellt. Diese Population wurde im weiteren Verlauf des Projekts für TILLING-Analysen (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) verwendet. Zunächst wurde die Frequenz der induzierten Mutationen innerhalb der mutagenisierten Population mittels locusspezifischen Primerpaaren analysiert. Der Aufbau dieser TILLING-Population ist ebenfalls dem Modul 1 zugeordnet.

Das Teilprojekt C wurde als Unterauftrag der Technischen Universität München vom Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) durchgeführt. Das Teilprojekt C wurde im Modul 3 „Functional Genomics“ durchgeführt. Ziel dieses Projektteils war die Identifikation von Kandidatengenen, deren Regulation mit Fusariumresistenz vermittelt durch *quantitative trait loci* (QTL) auf dem Chromosom 3BS und 5A assoziiert ist, plus die funktionelle Analyse der identifizierten Gene mittels *virus-induced gene silencing* (VIGS) durch *barley-stripe mosaic virus* (BSMV).
Basierend auf Ergebnissen der Projektpartner IPK (Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung) und ECORC (Eastern Cereal and Oilseed Research Centre, Ottawa) sollten schließlich mit TILLING-Population auch Kandidatengene für Fusariumresistenz untersucht werden (Modul 3: Functional Genomics).

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Sowohl in Deutschland als auch in Kanada können Ährenfusarien bei Weizen (*Triticum aestivum* L.) zu beträchtlichen Ertrags- und Qualitätsverlusten führen. Insbesondere die Kontamination der Körner mit pilzlichen Toxinen bereitet große Probleme. Die Entwicklung und der Anbau von resistenten Sorten werden in beiden Ländern als die beste Methode zur Verminderung des Fusariumbefalls und damit zur Reduktion von Toxinen im Erntegut betrachtet. Dabei soll der gezielte Einsatz von molekulargenetische Methoden in der Züchtung dazu dienen, die genetische Verbesserung des Weizens zu beschleunigen. Die Ergebnisse dieses Projekts leisten somit einen Beitrag zu einer nachhaltigen landwirtschaftlichen Produktion.

Im Rahmen von GABI-Kanada wurden Forschungsaktivitäten auf deutscher und kanadischer Seite aufeinander abgestimmt, um die Thematik Fusariumresistenz umfassend zu bearbeiten. Von dieser Zusammenarbeit wurden synergistische Effekte durch die Verwendung komplementären genetischen Material erwartet. Zudem lagen die Schwerpunkte der Forschung auf deutscher Seite eher im Bereich der molekulargenetischen Charakterisierung interessanter genomischer Regionen, während auf kanadischer Seite die Transkriptom- und Proteom-Analysen stärker betont wurden. Die deutschen Forschungsarbeiten waren wiederum in drei verschiedene Module unterteilt:

Modul 1) Molekulargenetische Charakterisierung von europäischen Resistenzquellen

Modul 2) Introgression von exotischen Resistenzen in europäisches Elitematerial

Modul 3) Functional Genomics

Insgesamt war das Verbundprojekt so konzipiert, dass die umfangreiche Expertise von Projektpartnern aus akademischen Forschungseinrichtungen und der Industrie genutzt wird. Die jeweiligen Partner verfügen über die spezielle Kompetenz und Erfahrung, die zur Durchführung der entsprechenden Projektaufgaben notwendig waren. Die unmittelbare Übertragung der Forschungserkenntnisse für die praktische Anwendung wurde durch die Einbindung der Wirtschaftspartner in allen Projektphasen garantiert.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Für das Teilprojekt A (Assoziationsstudien) war sowohl die genotypische Charakterisierung des Winterweizensortiments mit molekularen Markern als auch die phänotypische Evaluierung des Fusariumbefalls der Sorten in Feldversuchen notwendig. Die Zusammenstellung und Saatgutvermehrung des Sortiments wurde bereits vor Beginn der Förderungsdauer (01.04.2006) eingeleitet. Die in Tabelle 1a aufgeführten Arbeiten entsprechen der Planung aus dem Projektantrag

Tabelle 1a: Übersicht der Arbeiten in Teilprojekt A (Assoziationsstudien)

Tätigkeiten	**Partner**	**Jahr**
Zusammenstellung und Saatgutvermehrung des Winterweizen-Sortiments (200 Sorten)	TUM[1]	2005/06
Feldprüfungen der Sorten (4 Orte)	TUM, SU-Bio[2]	2006-2008
Genotypisierung der Sorten mit molekularen Markern	TUM, SU-Bio, LfL[3]	2006-2008
Analyse von Kopplungsungleichgewichten innerhalb des Sortiments	TUM	2008
Assoziationsstudien	TUM	2009

[1]Technische Universität München; [2]Saaten-Union Biotech GmbH; [3]Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Ergänzend wurde 2007/08 der deutsch-kanadische Sommerweizenversuch (siehe Bericht Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft) zum Vergleich des Zuchtmaterials im Hinblick auf die Fusariumresistenz am Versuchstandort der Technischen Universität München in Roggenstein betreut und bonitiert.

Für das Teilprojekt B (TILLING) haben sich gegenüber der geplanten Milestones aus dem Projektantrag einige Änderungen ergeben. Vorversuche zur Erstellung der TILLING-Population wurden bereits 2004 durchgeführt. Hierfür wurde Saatgut der Winterweizensorte Dream mit verschiedenen EMS-Konzentrationen (40mM – 200mM) zur Induktion von Mutationen behandelt. Basierend auf Keimtests mit dem behandelten Saatgut wurde ebenfalls 2004 damit begonnen zwei mutagenisierte Subpopulationen (40mM, 60mM) aufzubauen. Im Projektverlauf hat sich herausgestellt, dass die gewählten EMS-Konzentrationen nicht zu einer ausreichenden Mutationsfrequenz geführt haben. Daher wurde 2008 damit begonnen eine zweite TILLING-Population zu erstellen (70mM EMS). Zudem musste die ursprüngliche Zielsetzung der Erstellung von 10.000 Linien reduziert werden. Die in Tabelle 1b dargestellten Arbeiten entsprechen also nicht in allen Punkten der ursprünglichen Planung aus dem Projektantrag.