

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Veröffentlichung der Ergebnisse von Forschungsvorhaben im BMBF-Programm

Pflanzenbiotechnologie

„Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 0315945D gefördert.“

Forschungsvorhaben

Vorhersage der Hybridleistung bei Winterweizen mittels genomischer und metabolomischer Ansätze (HYWHEAT)

Partner 2

Förderkennzeichen

0315945D

Zuwendungsempfänger

Universität Hohenheim

Landessaatzuchtanstalt

Fruwirthstraße 21

70599 Stuttgart

Projektleiter

Prof. Dr. J.C. Reif und Dr. C.F.H. Longin

Laufzeit

01.07.2011 – 30.06.2014

Inhaltsverzeichnis	Seite
I. Kurze Darstellung	
1. Aufgabenstellung	3
2. Voraussetzungen unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	3
3. Planung und Ablauf des Vorhabens	4
4. Wissenschaftlicher und technischer Stand zu Projektbeginn	5
5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen	7
II. Eingehende Darstellung	
1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse	7
2. Wichtige Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	14
3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	15
4. Voraussichtlicher Nutzens im Sinne des Verwertungsplans	16
5. Bekanntgewordener Fortschritt bei anderen Stellen	16
6. Erfolgte Veröffentlichungen der Ergebnisse	17
III. Zitierte Literatur	19

I. Kurze Darstellung

1. Aufgabenstellung

Die Aufgabenstellungen des HYWHEAT-Projekts waren zum einen die Untersuchung des Potenzials der Hybridzüchtung bei Weizen als Selbstbestäuber und zum anderen die Entwicklung von Methoden zur Vorhersage der Hybridleistung auf der Basis der Eigenschaften der Elternlinien. Daher sollte eine umfangreiche Anzahl an Weizenhybriden aus 135 diversen Elternlinien hergestellt und in ausgedehnten Feldversuchen in Bezug auf eine Vielzahl von agronomisch bedeutenden Eigenschaften evaluiert werden. Zeitgleich sollte das verwendete Pflanzenmaterial mit aktuellen Methoden im Hochdurchsatz genotypisiert und in Bezug auf seine Metabolit-Zusammensetzung charakterisiert werden. Die phänotypischen, genomischen und metabolomischen Daten sollten im Anschluss zur Evaluation der entwickelten genomischen und metabolomischen Vorhersagemodelle herangezogen werden. Ausgangspunkt der Projektarbeiten waren linear gemischte Modellen zur Vorhersage der allgemeinen und spezifischen Kombinationsfähigkeit der Elternlinien. Diese Modelle sollten für die Vorhersage der Hybridleistung auf der Basis von genomweiten Genotypisierungs- bzw. Metabolit-Daten erweitert werden („Ridge-Regression“ Modelle). Zusätzlich zu den „Ridge-Regression“ Modellen sollten verschiedene Bayes-Verfahren (Bayes-A, Bayes-B, Bayes-C, und Bayes-C π) für die Hybridvorhersage implementiert werden. Die Vorhersagegenauigkeit dieser Verfahren sollte durch Kreuzvalidierung der vorhergesagten Werte im Vergleich zu den in Feldversuchen erhobenen Werten bestimmt werden.

2. Voraussetzungen unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Im Gegensatz zu vielen anderen Kulturarten, für die die Hybridzüchtung seit langem etabliert ist, erfolgt die Züchtung von Weizen nahezu ausschließlich als Linienzüchtung. Ein Grund dafür ist, dass im Unterschied zu anderen Selbstbestäubern für Weizen bisher kein praktikables System zur Erzeugung männlich-steriler Linien etwa über cytoplasmatische männliche Sterilität zur Verfügung steht. Mit Gametoziden zur chemischen Induktion männlicher Sterilität ist bei Weizen die Erzeugung von Hybridsaatgut möglich. Die zu Projektbeginn vorliegenden begrenzten Erfahrungen mit den so erzeugten Weizenhybriden deuteten bereits auf ein vielversprechendes Potenzial der Hybridzüchtung hin (Longin et al. 2012; Whitford et al. 2013).

Für Kulturarten bei denen die Hybridzüchtung schon seit geraumer Zeit etabliert wurde, wie zum Beispiel Mais, werden zurzeit genomische oder metabolomische

Hybridvorhersagemodelle entwickelt. Diese sollen mittelfristig zu einer Steigerung des Selektionsgewinns führen. Bei Projektbeginn nutzten die meisten genomischen Vorhersagemodelle nur den additiven Anteil der genetischen Varianz. Die Varianz aufgrund von Dominanzeffekten hingegen wurde nur stark begrenzt berücksichtigt.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das HYWHEAT-Projekt wurde in enger Kooperation und arbeitsteilig von zwei wissenschaftlichen Einrichtungen, der Universität Hohenheim (Partner 2; wissenschaftliche Koordination) und dem IPK Gatersleben (Partner 6), sowie vier Züchtungsunternehmen, KWS LOCHOW (Partner 1; wirtschaftliche Koordination), Nordsaat (Partner 3), Limagrain (Partner 4) und Lantmännern SW Seed (Partner 5), durchgeführt. Das Arbeitsprogramm gliederte sich in vier Arbeitspakete:

ARBEITSPAKET A – BEREITSTELLUNG UND PHÄNOTYPISIERUNG VON ELTERNLINIEN UND DEN DARAUS HERGESTELLTEN HYBRIDEN

An die Bedingungen in Mitteleuropa angepasste Winterweizen-Linien wurden von KWS LOCHOW, Nordsaat, Limagrain und Lantmännern SW Seed aus ihren aktuellen Zuchtprogrammen als Elternlinien für die Hybriderzeugung zur Verfügung gestellt. Die Erzeugung des Hybridsaatguts für die Evaluierung in Feldversuchen erfolgte mit Hilfe von Gametozid-basierten Verfahren durch die Nordsaat am Standort Böhnshausen und durch Limagrain in Chartainvilliers, Frankreich. Design und Auslegung der Feldversuche unter Einbeziehung von Referenzlinien, Elternlinien und Hybriden erfolgte durch die Universität Hohenheim. Anbau und Evaluierung wurden von den Partnern KWS LOCHOW an den Standorten Bodenwerder (Anbauperiode 2012/13), Cecilienkoog (2011/12), und Seligenstadt (2011/12 und 2012/13), Universität Hohenheim am Standort Hohenheim (2011/12 und 2012/13), Nordsaat am Standort Böhnshausen (2011/12 und 2012/13), Limagrain an den Standorten Adenstedt (2011/12 und 2012/13) und Rosenthal (2011/12 und 2012/13) und Lantmännern SW Seed an den Standorten Hadmersleben (2011/12 und 2012/13) und Harzhof (2011/12 und 2012/13) durchgeführt. In den Feldversuchen wurden der Ertrag und agronomisch wichtige Eigenschaften erfasst und nach der Ernte verschiedene Merkmale der Backqualität.

ARBEITSPAKET B – GENOTYPISIERUNG DER ELTERNLINIEN

Die Genotypisierung von Weizen mit SSR- und SNP-Markern (Würschum et al. 2013a), funktionellen Markern (Zhao et al. 2013a; Zhao et al. 2014) sowie einem 9k SNP Array

(Cavanagh et al. 2013) wurden von KWS LOCHOW, die Genotypisierung mit einem 90k SNP Array (Gowda et al. 2014) von Limagrain übernommen.

ARBEITSPAKET C – QUANTITATIV-GENETISCHE ANALYSE DER LEISTUNG VON HYBRIDWEIZEN

Die Entwicklung quantitativ-genetischer Methoden, die Zusammenführung und Auswertung der Daten aus den Feldversuchen im Arbeitspaket A, sowie die Analyse in Kombination mit den Daten aus der Genotypisierung in Arbeitspaket B und der Metabolit-Analyse in Arbeitspaket D lagen bei der Universität Hohenheim. Im Rahmen der Projektarbeiten wurden verschiedene Verfahren der genomischen und metabolomischen Vorhersage der Hybridzüchtung entwickelt und anhand der hervorragenden phänotypischen Daten auf ihre Genauigkeit hin evaluiert. Die erhaltenen quantitativ genetischen Kennzahlen wurden im Anschluss eingesetzt, um alternative Hybridzüchtungsschemata im Hinblick auf den erwarteten Selektionsgewinn zu vergleichen.

ARBEITSPAKET D – METABOLIT-ANALYSE IN DEN ELTERNLINIEN

Blattproben wurden an den Standorten Hohenheim, Böhnshausen und Hadmersleben von allen Elternlinien gesammelt. Die Probenaufarbeitung sowie die Bestimmung von Metabolit-Profilen durch kombinierte Gaschromatographie-Massenspektroskopie-Analyse (GC-MS) wurden am IPK Gatersleben ausgeführt. Die ermittelten Metabolit-Profile wurden hinsichtlich der Reproduzierbarkeit zwischen den biologischen Wiederholungen der Linien eines Standortes, sowie auch Standort übergreifend geprüft. Zur Vorhersage der Hybridleistung wurden die Metabolit-Daten an die Universität Hohenheim weitergegeben. Die dort erhaltenen quantitativ-genetischen Parameter wurden mit denen aus der Vorhersage auf der Basis von Genotypisierungsdaten verglichen.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand zu Projektbeginn

Die Projektpartner Nordsaat und Limagrain verfügten mit Projektbeginn über zugelassene Verfahren zur Erzeugung von Hybridsaatgut bei Weizen. Damit waren die Voraussetzungen für die erfolgreiche Herstellung von Weizenhybriden gegeben. Eine wesentliche Frage bei der Hybridzüchtung ist eine gute Vorauswahl von Elternlinien für die Erzeugung möglichst leistungsfähiger Hybriden.

Für die Auswahl von geeigneten Elternlinien stand bereits ein breites Spektrum an quantitativ-genetischen Methoden zur Verfügung. Der optimale Ansatz ist aber von den Eigenschaften der betrachteten Kulturart abhängig. Bei fremdbestäubenden Kulturarten

können die Elternlinien auf der Grundlage ihrer allgemeinen Kombinationsfähigkeit ausgewählt werden (Melchinger et al. 1987). Diese lässt sich mit wohletablierten Kreuzungsschemata gut bestimmen (Hallauer und Miranda 1988). Nur Kombinationen mit höchster auf Basis der allgemeinen Kombinationsfähigkeiten vorhergesagter Leistung werden erzeugt und in Feldversuchen evaluiert (Schrag et al. 2009a). Bei Selbstbestäubern wie dem Weizen ist dagegen die Bestimmung der allgemeinen Kombinationsfähigkeit aufgrund der schwierigeren Erzeugung von Hybridsaatgut viel aufwändiger. Allerdings zeigen erste Studien, dass die Korrelation zwischen Linien-*per-se*-Leistung und allgemeiner Kombinationsfähigkeit bei Selbstbestäubern höher als bei Fremdbestäubern ist (Fischer et al. 2010). Daher erscheint bei Fremdbestäubern eine Auswahl der Elternlinien auf der Basis der Linien-*per-se*-Leistung anstatt der allgemeinen Kombinationsfähigkeit möglich (Fischer et al. 2010). Die Verwendung der Linien-*per-se*-Leistung bringt allerdings den gravierenden Nachteil, dass Dominanzeffekte ignoriert werden und dass in der Linien-*per-se*-Leistung andere Epistasie-Effekte als in der Hybridleistung zum Tragen kommen. Dadurch kann es zu substantziellen Vorhersagefehlern kommen (Wricke und Weber 1986). Bei Weizen können diese Fehler bedeutend sein, da bei Selbstbestäubern die Epistasie-Effekte eine noch größere Rolle spielen als bei Fremdbestäubern (Holland 2001).

Für die Vorhersage der Leistung von Hybriden sind verschiedene weitere Verfahren vorgeschlagen worden (Schrag et al. 2009a). Diese beinhalten Vorhersagen auf der Basis der „Best Linear Unbiased Prediction“ (BLUP) (Bernardo 1994; Panter und Allen 1995; Bernardo 1996a; Bernardo 1996b; Bernardo 1996c), der genetischen Distanz (Dudley et al. 1995; Charcosset et al. 1998) und der aus Marker-Daten abgeleiteten genetischen Effekte (Vuylsteke et al. 2000; Schrag et al. 2006; Schrag et al. 2007; Schrag et al. 2009b; van Eeuwijk et al. 2010). Die Genauigkeit der Vorhersage der Hybridleistung hängt sowohl vom mathematischen Verfahren als auch vom untersuchten Material ab. Laut Piepho (2009) ist für eine genomische Selektion auf der Basis von sehr dichten Marker-Daten eine substantziell erhöhte Genauigkeit der Vorhersage zu erwarten. Zum Zeitpunkt des Projektstarts war noch keine der beschriebenen Methoden an Weizen erprobt worden. Weiterhin waren zu Projektbeginn noch keine Berichte über die Nutzung von Metabolit-Profilen der Elternlinien als eine mögliche Alternative zu Genotypisierungsdaten zur Vorhersage der Leistung von Hybriden zugänglich.

Eine mögliche Einbeziehung der spezifischen Kombinationsfähigkeit zusätzlich zur allgemeinen Kombinationsfähigkeit würde nicht unbedingt die Genauigkeit der Vorhersage

der Hybridleistung erhöhen (Bernardo 1999). Zum Beispiel kann der Beitrag der spezifischen Kombinationsfähigkeit wesentlich kleiner als der der allgemeinen Kombinationsfähigkeit sein, wie experimentelle Daten aus Mais belegen (Fischer et al. 2008). Dies könnte bei Weizen aber anders sein, da selbstbestäubende Kulturarten sehr wohl eine breite Varianz der spezifischen Kombinationsfähigkeit zum Beispiel für Kornertrag zeigen können (Oettler et al. 2005). Es erschien daher vielversprechend, das Potenzial der Vorhersage der allgemeinen und spezifischen Kombinationsfähigkeit in Weizen basierend auf Genotypisierungsdaten hoher Marker-Dichte oder alternativ auf Metabolit-Daten zu untersuchen.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Arbeiten im Projekt wurden von den Partnern gemeinsam in enger Kooperation und arbeitsteilig durchgeführt, da keiner der Partner das Programm hätte alleine realisieren können. Neben regelmäßigen jährlichen Projekttreffen und weiteren *ad hoc* Treffen erfolgte ein steter Informationsaustausch der Partner zum Stand der einzelnen Arbeitspakete. Der Universität Hohenheim kam im Rahmen von Arbeitspaket C eine zentrale Stellung bei der Planung der Feldversuche, der Zusammenführung und Auswertung aller Daten aus den Feldversuchen, aus der Genotypisierung und Metabolit-Analyse sowie der Entwicklung von quantitativ-genetischen Verfahren zur Vorhersage der Hybridleistung zu. Es erfolgte weiterhin eine fruchtbare Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Rohan Fernando vom Department of Animal Science, Center for Integrated Animal Genomics, Iowa State University bei der Entwicklung der Bayes-Verfahren zur Vorhersage der Hybridleistung (Zhao et al. 2013a; Zhao et al. 2013b). Die Untersuchungen der Ertragsstabilität von Hybriden versus Linien erfolgten in enger Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Bioinformatik von Prof. H.-P. Piepho am Institut für Kulturpflanzenwissenschaften der Universität Hohenheim.

II. Eingehende Darstellung

1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse

ARBEITSPAKET A: PHÄNOTYPISIERUNG DER ELTERNLINIEN UND HYBRIDEN

Meilenstein A-1: Erzeugung von mindestens 1000 Weizenhybriden

Meilenstein A-2: Feldevaluierung an 6 Standorten in der Anbauperiode 2011/12

Meilenstein A-3: Nacherzeugung von Hybridsaatgut

Meilenstein A-4: Feldevaluierung an 6 Standorten in der Anbauperiode 2012/13

An die Bedingungen in Mitteleuropa angepasste Winterweizen-Linien wurden von KWS LOCHOW, Nordsaat, Limagrain und Lantmännen SW Seed aus ihren aktuellen Zuchtprogrammen als Elternlinien für die Herstellung von Hybriden zur Verfügung gestellt. Aus einem ursprünglichen Satz von 343 potenziellen Elternlinien (68 männlichen und 275 weiblichen) wurden auf der Basis von SSR-Marker-Daten 15 Linien als männliche und 120 Linien als weibliche Kreuzungspartner ausgewählt (Longin et al. 2013; Würschum et al. 2013a). Die Erzeugung des Hybridsaatguts für die Phänotypisierung in Feldversuchen erfolgte mit Hilfe von Gametoziden durch die Nordsaat am Standort Böhnshausen für 12 der männlichen Linien und durch Limagrain in Chartainvilliers, Frankreich, für die restlichen 3 der männlichen Elternlinien in einem faktoriellen Design mit allen 120 weiblichen Elternlinien. Die Menge des erzeugten Hybridsaatguts lag deutlich höher als geplant. Für 1604 der möglichen 1800 Hybridkombinationen konnte ausreichend Saatgut für die geplanten, umfangreichen Feldversuche erhalten werden. Somit wurde die im Antrag angestrebte Zahl von 1000 Hybriden deutlich übertroffen. ***Damit wurden Meilenstein A-1 und Meilenstein A-3 erfüllt.*** Design und Auslegung der Feldversuche unter Einbeziehung von Referenzlinien, Elternlinien und Hybriden erfolgte durch die Universität Hohenheim. Anbau und Evaluierung wurden von den Partnern KWS LOCHOW an den Standorten Bodenwerder (Anbauperiode 2012/13), Cecilienkoog (2011/12), und Seligenstadt (2011/12 und 2012/13), Universität Hohenheim am Standort Hohenheim (2011/12 und 2012/13), Nordsaat am Standort Böhnshausen (2011/12 und 2012/13), Limagrain an den Standorten Adenstedt (2011/12 und 2012/13) und Rosenthal (2011/12) und Lantmännen SW Seed an den Standorten Hadmersleben (2011/12 und 2012/13) und Harzhof (2011/12 und 2012/13) durchgeführt. ***Damit wurden Meilenstein A-2 und Meilenstein A-4 erfüllt.*** Eine Zusammenfassung der in den Feldversuchen an den einzelnen Standorten in den beiden Anbauperioden erfassten agronomischen Eigenschaften findet sich in Tabelle 1.

Die aus den Feldversuchen anfallenden phänotypischen Daten wurden durch die Universität Hohenheim gesammelt, auf ihre Qualität hin überprüft und in ein für die Verrechnung mit quantitativ-genetischen Methoden geeignetes Format gebracht. Die Daten aus den Feldversuchen zeichneten sich durch eine ausgesprochen hohe Qualität aus und wurden für die Schätzung relevanter quantitativ-genetischer Parameter sowie Merkmalskorrelationen verwendet.

Tab. 1 Übersicht der durchgeführten Feldevaluierungen

	KWS LOCHOW			Univ. Hohenheim	Nordsaat	Limagrain		Lantmännen SW Seed	
	Bodenwerder	Cecilienkoog	Seligenstadt	Hohenheim	Böhnshausen	Adenstedt	Rosenthal	Hadmersleben	Harzhof
Kornertrag			2011/12	2011/12	2011/12	2011/12*		2011/12	2011/12
			2012/13	2012/13	2012/13	2012/13		2012/13	2012/13
Wuchshöhe			2011/12	2011/12	2011/12		2012/13	2011/12	2011/12
			2012/13	2012/13	2012/13			2012/13	2012/13
Blühzeitpunkt			2011/12	2011/12	2011/12		2012/13	2011/12	2011/12
			2012/13	2012/13	2012/13			2012/13	2012/13
Lagern				2011/12				2011/12	2011/12
Sedimentationswert			2012/13	2011/12	2011/12			2011/12	
								2012/13	
Proteingehalt			2012/13	2011/12	2011/12	2012/13		2011/12	
								2012/13	
Stärkegehalt								2011/12	
								2012/13	
Glutengehalt								2011/12	
								2012/13	
1000-Korn-Masse			2012/13	2011/12	2011/12			2011/12	
								2012/13	
Hektolitergewicht			2012/13		2011/12			2011/12	
								2012/13	
Kornhärte					2011/12			2011/12	
								2012/13	
Mehltau	2012/13						2011/12	2011/12	2011/12
							2012/13	2012/13	2012/13
Braunrost					2011/12	2012/13	2011/12	2011/12	2011/12
							2012/13	2012/13	
Gelbrost					2011/12		2011/12	2011/12	2011/12
					2012/13			2012/13	
Septoria	2012/13	2011/12	2012/13				2012/13	2011/12	2011/12
								2012/13	2012/13
Fusarium				2011/12	2011/12		2011/12		2011/12
				2012/13	2012/13		2012/13		2012/13
Frosthärte			2011/12		2011/12	2011/12		2011/12	

* Wurde wegen starker Frostschäden von der Auswertung ausgenommen.

ARBEITSPAKET B: GENOTYPISIERUNG DER ELTERNLINIEN

Meilenstein B-1: Genotypisierung mit SSR-Markern

Meilenstein B-2: Genotypisierung mit SNP-Markern

Für die Genotypisierung der Elternlinien nutzten wir SSR-Marker (Würschum et al. 2013a), weitere funktionelle Marker für *Ppd-D1*, *Rht* und *Vrn*-Allele (Zhao et al. 2013a; Zhao et al. 2014) sowie einen 9k (Cavanagh et al. 2013 – durchgeführt von KWS LOCHOW) und 90k SNP Array (Gowda et al. 2014 – durchgeführt von Limagrain). Nach Filterung der SNP-Marker-Daten nach strikten Qualitätskriterien durch die Universität Hohenheim wurden in den 9k SNP Array-Daten 1280 und in den 90k SNP Array-Daten 17372 polymorphe SNP-Marker identifiziert. Durch diese breite Basis an qualitativ hochwertigen, informativen Marker-Daten wurden ***Meilenstein B-1*** und ***Meilenstein B-2*** zur Gänze erreicht. Die Daten wurden in ein für die quantitativ-genetische Analyse geeignetes Format überführt.

ARBEITSPAKET C: VORHERSAGE DER HYBRIDLEISTUNG UND BESTIMMUNG IHRER KOMPONENTEN

Die Beschreibung der Erreichung der verschiedenen Meilensteile in Arbeitspaket C erfolgt abweichend vom Antrag inhaltlich und nicht chronologisch gegliedert in der Reihenfolge (1) Meilenstein C-1, (2), Meilenstein C-3, (3) Meilensteine C-4 und C-5, (4) Meilenstein C-6 und (5) Meilensteine C-2, C-7, C-8 und C-9. Alle Berechnungen zur quantitativ-genetischen Analyse erfolgten unter Verwendung der gemeinsamen Software-Basis R (R Development Core Team, 2010) und ASReml-R 3.0 (Butler et al. 2009).

Meilenstein C-1: Bestimmung der für die genomweite Vorhersage nötigen Markerdichte

In einem ersten Schritt untersuchten wir das Ausmaß an Gametenphasenungleichgewicht in der Population der Elternlinien. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass eine Erhöhung der Markerdichte von 9k zu 90k SNP Array-Daten viel versprechend ist (Würschum et al. 2013a). Der Einfluss der Markerdichte auf die genomische Selektion wurde weiterhin durch den Vergleich der Vorhersagegenauigkeit auf Basis der 9k SNP Array-Daten (1280 polymorphe Marker) zu der auf Basis der 90k SNP Array-Daten (17372 polymorphe Marker) am Beispiel verschiedener Pathogenresistenzen abgeschätzt (Gowda et al. 2014). Hier führte die höhere Zahl von Markern konsistent zu einer höheren Vorhersagegenauigkeit. Eine weitere Erhöhung der Genauigkeit durch eine noch größere Anzahl an Markern erscheint möglich. Allerdings erwies sich die Durchführung einer Kreuzvalidierung gerade bei hoher Markerdichte als

essenziell, um eine Überschätzung der Vorhersagegenauigkeit zu verhindern. Zudem ergaben unsere Studien, dass eine selektive Genotypisierung von einer vorsortierten Teilgruppe von Genotypen in der Kalibrierungspopulation die Vorhersagegenauigkeit der genomischen Selektion verringern kann (Zhao et al. 2012). Durch die umfassenden Studien, die wir hierzu in begutachteten Zeitschriften publiziert haben, wurde **Meilenstein C-1** vollständig erreicht.

Meilenstein C-3: Schätzung von allgemeiner und spezifischer Kombinationsfähigkeit sowie Bestimmung ihrer Korrelation mit der Linien-per-se-Leistung

Wir passten linear gemischte Modelle zur phänotypischen Datenanalyse von allgemeiner und spezifischer Kombinationsfähigkeit an und berücksichtigten dabei die Verwandtschaftsstruktur. Die Ergebnisse wurden verwendet um die Korrelation zwischen allgemeiner Kombinationsfähigkeit und Linien-per-se-Leistung zu schätzen. Diese Modelle testeten wir an Datensätzen bei Roggen (Hübner et al. 2013) und Zuckerrübe (Schwegler et al. 2013a; Schwegler et al. 2013b). Die Relevanz der allgemeinen und spezifischen Kombinationsfähigkeit der Elternlinien für die Vorhersage der Hybridleistung wurde in der Übersichtsarbeit von Longin et al. (2012) diskutiert und an einem bereits vorhandenen, limitierten Datensatz zum Kornertrag in Hybrid-Winterweizen getestet (Gowda et al. 2012). Die Arbeiten wurden nun mit den umfassenden phänotypischen Daten, die im Rahmen von HYWHEAT ermittelt wurden, substantiell unterfüttert. Hierzu passten wir komplexe linear gemischte Modelle an, die wir mit einer „Leave-One-Out“ Kreuzvalidierung kombinierten (Longin et al. 2013). In unserer Studie wurden für die allgemeine und spezifische Kombinationsfähigkeit Werte abweichend von Null festgestellt und eine mittlere bis gute Korrelation der allgemeinen Kombinationsfähigkeit mit dem Kornertrag der Hybride festgestellt. Die allgemeine Kombinationsfähigkeit erwies sich somit als Parameter für eine erste Schätzung der Hybridleistung als geeignet. Eine Berücksichtigung der spezifischen Kombinationsfähigkeit ist aber aufgrund ihrer hohen Relevanz für den Kornertrag unabdingbar. Weiterhin beobachteten wir eine mittlere Korrelationen zwischen allgemeiner Kombinationsfähigkeit und der Linien-per-se-Leistung, was nahe legt, die Elternselektion für Linien- und Hybridzüchtung getrennt voneinander zu betrachten. Zusammenfassend lässt sich konstatieren dass **Meilenstein C-3** zur Gänze erreicht wurde.

Meilenstein C-4: Entwicklung und Validierung verbesserter Verfahren zur Vorhersage der allgemeinen Kombinationsfähigkeit auf der Basis der Linien-per-se-Leistung und der Marker-basierten Verwandtschafts-Matrix

Meilenstein C-5: Entwicklung von Verfahren zur genomischen Vorhersage der Hybridleistung bei Weizen

In einem ersten Schritt haben wir Verfahren implementiert, um die allgemeine und spezifische Kombinationsfähigkeit auf der Grundlage von der Linien-*per-se*-Leistung und Marker-basierten Verwandtschafts-Matrizen vorherzusagen (Gowda et al. 2013; Reif et al. 2013). Parallel dazu entwickelten wir „Ridge-Regression“ Modelle zur Vorhersage der allgemeinen Kombinationsfähigkeit auf der Grundlage von Markereffekten (Würschum et al. 2013b; Zhao et al. 2012; Zhao et al. 2013a). Im Anschluss an diese Arbeiten implementierten wir unterschiedliche genomische und metabolomische Vorhersagemodelle der Hybridleistung („Ridge Regression“, W-BLUP, Bayes-A, Bayes-B, Bayes-C, Bayes-C π) und testeten diese in umfangreichen Arbeiten mit den im HYWHEAT-Projekt generierten Daten (Miedaner et al. 2013; Zhao et al. 2013b; Zhao et al. 2013c; Zhao et al. 2014; Gowda et al. 2014). Die entwickelten Modelle basieren auf dem F_{∞} Modell und berücksichtigen neben den Additiv- auch die Dominanzeffekte für die Hybridvorhersage. Weiterhin konnten wir durch Kreuzvalidierung unter Verwendung von Testsets mit unterschiedlichem Grad an Verwandtschaft zum Kalibrierungsset ein optimiertes Schema für die Kalibrierung der genomischen Selektion bei Hybridweizen entwickeln. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass **Meilensteine C-4** und **C-5** zur Gänze erreicht wurden.

Meilenstein C-6: Vergleich der Ertragsstabilität von Elternlinien und Hybriden

Wir haben verschiedene linear gemischte Modelle implementiert, um statische und dynamische Stabilitätsparameter zu schätzen (Mühleisen et al. 2014b). Diese Modelle wurden nun für die im HYWHEAT-Projekt erhaltenen Daten angepasst, um die Ertragsstabilität von Hybriden und Linien zu vergleichen. Dabei war die Gruppe an Hybriden signifikant ertragsstabiler als die Gruppe der Elternlinien (Abbildung 11; Mühleisen et al. 2014a). Somit wurde der **Meilenstein C-6** zur Gänze erreicht.

Meilenstein C-2: Modelle für die Simulation von Züchtungsschemata

Meilenstein C-7: Validierung der Verfahren zur Simulation von Züchtungsschemata, Marker-basierten Vorhersage der allgemeinen Kombinationsfähigkeit und der genomischen Vorhersage der Hybridleistung

Meilenstein C-8: Vergleich der Genauigkeit der genomischen Vorhersage der Hybridleistung im Kontext verschiedener Züchtungsschemata

Meilenstein C-9: Simulation möglicher Züchtungsschemata für die Entwicklung neuer Elternlinien in Weizen

In Vorarbeiten für die geplanten Simulationsstudien haben wir im Rahmen des Projekts erfolgsversprechende Strategien zur Hybridzüchtung bei Weizen ausgearbeitet (Longin et al. 2012). Weitere wichtige Voraussetzung für die Durchführung von Simulationsstudien waren robuste Schätzwerte relevanter quantitativ genetischer Parameter sowie das Ausmaß an Heterosis und die Verteilung additiver *versus* nicht-additiver genetischer Varianz, die wir im Projektverlauf schätzen konnten (Longin et al. 2013). Aufbauend auf diesen Parametern wurden quantitativ-genetische Modelle entwickelt, um den Selektionsgewinn in der Hybridzüchtung im Vergleich zur Linienzüchtung zu untersuchen (Longin et al. 2014a). Dabei konnten wir aufzeigen, unter welchen Voraussetzungen die Hybridzüchtung langfristig der Linienzüchtung überlegen ist. Im Anschluss untersuchten wir das optimale Design für die Mehrstufenselektion in der Hybridweizenzüchtung, wobei wir einen Vortest auf die Eigenleistung berücksichtigten (Longin et al. 2014b). Die relative Effizienz verschiedener Züchtungsschemata wurde intensiv bearbeitet. Die Ergebnisse wurden in vier Manuskripten in begutachteten Zeitschriften publiziert. Somit wurden die **Meilensteine C-2, C-7, C-8 und C-9** zur Gänze erreicht.

ARBEITSPAKET D: METABOLIT-ANALYSE IN DEN ELTERNLINIEN.

Meilenstein D-1: Optimierung von GC- und LC-MS für die Anwendung an Weizen

Meilenstein D-2: Durchführung von GC- und LC-MS-Analysen für drei biologische Wiederholungen

Meilenstein D-3: Korrelative Datenanalyse

Meilenstein D-4: Datenanalyse im Kontext quantitativ-genetischer Verfahren

Im Arbeitspaket D war die ungerichtete Metabolit-Analyse von Weizenfahnenblättern aller Elternlinien von drei Standorten in jeweils zwei biologischen Wiederholungen geplant. Als Zeitpunkt für die Probennahme wurde das EC Stadium 69 (Meier 2001) gewählt, da zu diesem Zeitpunkt der größte metabolische Beitrag des Fahnenblattes zur Kornfüllung erwartet werden kann. Im Rahmen des Projekts wurden die analytischen Methoden auf die Metabolit-Profilanalyse von Weizenblättern angepasst. Dies ermöglichte mittels GC-MS-Analyse die Detektion von mehr als 100 Substanzpeaks, von denen etwa 80 bekannten Substanzen zugeordnet werden konnten. Damit wurde **Meilenstein D-1** voll erfüllt.

Jeweils 10 Fahnenblätter aller Elternlinien wurden im EC Stadium 69 an den drei Standorten Böhnshausen, Hadmersleben und Hohenheim in den Anbaujahren 2011/12 und 2012/2013 geerntet. Das Material des Anbaujahres 2011/12 wurde anschließend für die Laboranalysen vorbereitet. Alle Proben wurden unmittelbar nach der Ernte gefriergetrocknet und zu Pulver homogenisiert. Zur ungerichteten Metabolit-Analyse wurden für jede Probe zwei unabhängige Extraktionen ausgeführt, um den technischen Fehler bei der Probenvorbereitung zu berücksichtigen. Aus den gemessenen Rohdaten wurden anschließend die Peakflächen der annotierten Metabolite extrahiert. Die erhobenen Daten wurden an Partner 2 weitergegeben, auf ihre Qualität hin geprüft und zur phänotypischen Vorhersage verwendet. Damit wurden die Vorgaben von *Meilenstein D-2* zur Gänze erreicht.

Die qualitativen Untersuchungen ergaben für mehr als 40% der annotierten Metabolite hohe Reproduzierbarkeiten zwischen 0.6 und 0.8 zwischen den biologischen Wiederholungen innerhalb der Standorte. Die Heritabilitäten zwischen den verschiedenen Standorten waren erwartungsgemäß mit Werten um 0.4 geringer. Nach dieser Qualitätskontrolle wurden die Daten von 68 der annotierten Metabolite für die weitere Analyse verwendet. Die Clusteranalyse zeigte biologisch interpretierbare Assoziationen sowohl zwischen den Linien als auch zwischen den annotierten Metaboliten. Für die Metabolitprofile der männlichen Elternlinien konnte eine hohe Korrelation gezeigt werden. Eine mögliche Erklärung wäre eine Korrelation der Metabolit-Profile mit dem Blühzeitpunkt, was wir in anschließenden Arbeiten überprüfen wollen. Damit wurde *Meilenstein D-3* vollständig erreicht.

Die Metabolitprofile wurden von der Universität Hohenheim zur Vorhersage der Hybridleistung verwendet. Dazu wurden die oben beschriebenen Verfahren zur genomisch-basierten Vorhersage angewendet. Die erzielten Ergebnisse waren denen auf der Basis der genomischen Selektion erreichten nicht überlegen und waren weniger präzise als die für Mais gezeigten Vorhersagegenauigkeiten (Riedelsheimer et al. 2012). Die besten Vorhersagegenauigkeiten auf der Basis von Metabolit-Profilen wurden für die Eigenschaften Kornertrag, Pflanzenhöhe, Blühzeitpunkt, und Braunrost-Anfälligkeit erzielt. Die Vorgaben von *Meilenstein D-4* konnten damit voll erfüllt werden.

2. Wichtige Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises der vier Züchtungsunternehmen lagen in den Kosten für die Erstellung des Pflanzenmaterials und der Durchführung der sehr

umfangreichen Feldversuche in Arbeitspaket A. Diese Arbeiten wurden durch die Genotypisierung der Elternlinien mit verschiedenen Marker-Plattformen in Arbeitspaket B ergänzt. Die wichtigsten Positionen der Wissenschaftspartner waren die Personalkosten für die in Arbeitspaket C und D eingesetzten promovierten und nicht promovierten wissenschaftlichen sowie technischen Mitarbeiter. Ihre Tätigkeit war für das gesamte Verbundprojekt von entscheidender Bedeutung. Sie entwarfen die Designs für die Feldversuche aller Projektpartner in Arbeitspaket A und führten alle Evaluierungsdaten aus den Feldversuchen unter Prüfung der Konsistenz und Reproduzierbarkeit der Bonituren für die agronomischen Eigenschaften zusammen. Sie erhoben am Standort Hohenheim phänotypische Daten über zwei Jahre. Weiterhin generierten sie die umfangreichen Metabolitdaten in Arbeitspaket D. Ebenso wurden durch sie die Genotypisierungsdaten aus Arbeitspaket B und die Metabolit-Daten aus Arbeitspaket D in Kooperation mit den zurarbeitenden Projektpartnern aufgearbeitet und in eine für die weitere Auswertung geeignete Form überführt. Quantitativ-genetische Verfahren zur Vorhersage der Hybridleistung anhand der Eigenschaften der Elternlinien wurden von ihnen nach Bedarf adaptiert bzw. neu entwickelt, auf der Grundlage der umfangreichen Datensätze erprobt und schließlich auf die entscheidenden Fragestellungen im Kontext der Vorhersage der Hybridleistung bei Weizen angewendet. Weiterhin entwickelten die wissenschaftlichen Mitarbeiter Modelle für die Simulation von Züchtungsschemata und verglichen verschiedene Hybridweizenstrategien mit Hilfe der entwickelten Modelle. Konkrete Zahlen sind dem Verwendungsnachweis zu entnehmen.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die Arbeiten an der Universität Hohenheim waren notwendig, um die Erzeugung der für das Projekt essenziellen umfangreichen Datenbasis zu planen und koordinieren sowie die hohe Qualität der Evaluierungs-, Genotypisierungs- und Metabolit-Datensätze zu garantieren. Im Vorlauf zu der Ermittlung der projekteigenen Daten durch die zuständigen Partner wurden unter Nutzung der umfangreichen Expertise der Universität Hohenheim umfassende Arbeiten zur Entwicklung geeigneter quantitativ-genetischer Verfahren an Modelldatensätzen durchgeführt. Mit Vorliegen der projekteigenen Daten wurden diese Verfahren auf diese Daten angewendet und in Rücksprache mit den Projektpartnern laufend verfeinert.

Um eine breite Datenbasis für die Erarbeitung und Validierung der metabolomischen Vorhersagemodelle der Hybridleistung zu generieren, waren umfangreiche Nasslaboranalysen beim Partner IPK Gatersleben notwendig. Eine zusammenhängende Metabolit-Analyse von

etwa 2500 Proben (Feldwiederholungen von drei Standorten und entsprechende technische Wiederholungen) ist im Pflanzenbereich in dieser Größenordnung noch nie durchgeführt worden und stellte daher eine große logistische und technische Herausforderung für die Laborarbeit dar. Die erzielte sehr gute Qualität der Metabolit-Daten verdeutlicht die Angemessenheit der geleisteten Arbeit und weist erneut auf die exzellente Zusammenarbeit der Partner von der Erzeugung der Linien, deren Anbau, Ernte und Analyse bis zur quantitativ-genetischen Daten-Interpretation hin.

Die Arbeiten der vier Züchtungsfirmen waren essenziell, um eine exzellente Datenbasis für die Entwicklung und Validierung der verschiedenen genomischen und metabolomischen Vorhersagemodelle der Hybridleistung zu generieren. Durch eine hervorragende Koordination gelang es, die logistischen Herausforderungen bei der Erstellung der Hybriden und bei deren Phänotypisierung und Genotypisierung zu meistern. Die sehr hohen Heritabilitäten die selbst für komplexe Merkmale wie Kornertag realisiert wurden belegen die Angemessenheit der geleisteten Arbeit.

Zusammenfassend wurden im gesamten Verbundprojekt alle Ziele und Meilensteine aus dem ursprünglichen Antrag voll erreicht oder teilweise sogar übertroffen. Die Ergebnisse stellen aktuell vermutlich die umfangreichste Untersuchung zur Hybridleistung bei Weizen als solcher und zu den Möglichkeiten ihrer Vorhersage dar. Der beachtliche Umfang und die hohe wissenschaftliche Qualität der geleisteten Arbeiten spiegelt sich unter anderem in den bis jetzt 20 begutachteten Artikeln in renommierten internationalen Fachzeitschriften wieder, die im Rahmen des Projekts veröffentlicht wurden.

4. Voraussichtlicher Nutzen im Sinne des Verwertungsplans

Die erzeugte Datenbasis und die erarbeiteten quantitativ-genetischen Verfahren zur Vorhersage der Hybridleistung in Weizen werden von KWS LOCHOW, Nordsaat, Limagrain und Lantmännen SW Seed für die Optimierung der laufenden Züchtungsarbeiten an Hybridweizen eingesetzt. Gleichzeitig wird die Einreichung der besten im Rahmen des Projekts erzeugten Hybriden zur Zulassungsprüfung beim Bundessortenamt vorbereitet.

5. Bekanntgewordener Fortschritt bei anderen Stellen

In einem unabhängig vom vorliegenden Projekt vom BMBF unter Förderkennzeichen 0315889B geförderten Ansatz wurde vom IPK Gatersleben in Kooperation mit der Nordsaat ein Transgen-basiertes System zur Erzeugung und Propagierung männlich-steriler Linien in

Weizen entwickelt (Kempe et al. 2014). Damit erweitert sich das für Weizen verfügbare Spektrum möglicher Methoden zur Erzeugung von Hybridsaatgut.

6. Erfolgte Veröffentlichungen der Ergebnisse

Die im HYWHEAT-Projekt erarbeiteten Ergebnisse wurden in bisher 20 wissenschaftlichen Publikationen veröffentlicht. Diese gliedern sich in:

BEGUTACHTETE PUBLIKATIONEN, DIE AUF IM HYWHEAT-PROJEKT ENTWICKELTEN METHODEN UND ERHOBENEN DATEN BASIEREN:

Gowda M., Y. Zhao, T. Würschum, C.F.H. Longin, T. Miedaner, E. Ebmeyer, R.

Schachschneider, E. Kazman, J. Schacht, J.-P. Martinant, M.F. Mette, and J.C. Reif (2014). Relatedness severely impacts accuracy of marker-assisted selection for disease resistance in hybrid wheat. *Heredity* 112:552-561.

Longin C.F.H., M. Gowda, J. Mühleisen, E. Ebmeyer, E. Kazman, R. Schachschneider, J. Schacht, M. Kirchhoff Y. Zhao, and J.C. Reif (2013). Hybrid wheat: quantitative genetic parameters and consequences for the design of breeding programs. *Theoretical and Applied Genetics* 126:2791-2801.

Longin C.F.H., X. Mi, A.E. Melchinger, J.C. Reif, and T. Würschum (2014a) Optimum allocation of test resources and comparison of breeding strategies for hybrid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 127: 2117-2126.

Longin C.F.H., J.C. Reif, and T. Würschum (2014b) Long-term perspective of hybrid versus line breeding in wheat based on quantitative genetic theory. *Theoretical and Applied Genetics* 127: 1635-1641.

Miedaner T., Y. Zhao, M. Gowda, C.F.H. Longin, V. Korzun, E. Ebmeyer, E. Kazman, and J.C. Reif (2013). Genetic architecture of resistance to *Septoria tritici* blotch in European wheat. *BMC Genomics* 14:858.

Mühleisen J., H.-P. Piepho, H.P. Maurer, C.F.H. Longin, and J.C. Reif (2014a). Yield stability of hybrids versus lines in wheat, barley, and triticale. *Theoretical and Applied Genetics* 127:309-316.

Würschum T., S.M. Langer, C.F.H. Longin, V. Korzun, E. Akhunov, E. Ebmeyer, R. Schachschneider, J. Schacht, E. Kazman, and J.C. Reif (2013a). Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 126:1477-1486.

Zhao Y., M. Gowda, T. Würschum, C.F.H. Longin, V. Korzun, S. Kollers, R. Schachschneider, J. Zeng, R. Fernando, J. Dubcovsky, and J.C. Reif (2013a).

Dissecting the genetic architecture of frost tolerance in Central European winter wheat. *Journal of Experimental Botany* 64:4453-4460.

Zhao Y., M.F. Mette, M. Gowda, C.F.H. Longin, and J.C. Reif (2014). Bridging the gap between marker-assisted and genomic selection of heading time and plant height in hybrid wheat. *Heredity* 112: 638-645.

BEGUTACHTETE PUBLIKATIONEN, DIE AUF IM HYWHEAT-PROJEKT ENTWICKELTEN
METHODEN IN VERBINDUNG MIT WEITEREN DATEN BASIEREN:

Gowda M., C.F.H. Longin, V. Lein, and J.C. Reif (2012). Relevance of specific versus general combining ability in winter wheat. *Crop Science* 52:2494-2500.

Gowda M., Y. Zhao, H.P. Maurer, E.A. Weissmann, T. Würschum, and J.C. Reif (2013). Best linear unbiased prediction of triticale hybrid performance. *Euphytica* 191:223-230.

Hübner M., P. Wilde, B. Schmiedchen, P. Dopierala, M. Gowda, J.C. Reif, and T. Miedaner (2013) Hybrid rye performance under natural drought stress in Europe. *Theoretical and Applied Genetics* 126:475-482.

Mühleisen J., H.-P. Piepho, H.P. Maurer, Y. Zhao, and J.C. Reif. Exploitation of yield stability in barley (2014b). *Theoretical and Applied Genetics* 127: 1949-62.

Reif J.C., Y. Zhao, T. Würschum, M. Gowda, and V. Hahn (2013). Genomic prediction of sunflower hybrid performance. *Plant Breeding* 132:107-114.

Schwegler D.D., W. Liu, M. Gowda, T. Würschum, B. Schulz, and J.C. Reif (2013a). Multiple-line cross quantitative trait locus mapping in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Molecular Breeding* 31:279-287.

Schwegler D.D., M. Gowda, B. Schulz, T. Miedaner, W. Liu, and J.C. Reif (2013b) Genotypic correlations and QTL correspondence between line per se and testcross performance in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Molecular Breeding* 34:205-215.

Würschum T., J.C. Reif, T. Kraft, G. Janssen, and Y. Zhao (2013b). Genomic selection in sugar beet breeding populations. *BMC Genetics* 14:85.

Zhao Y., M. Gowda, C.F.H. Longin, T. Würschum, N. Ranc, and J.C. Reif (2012). Impact of selective genotyping in the training population on accuracy and bias of genomic selection. *Theoretical and Applied Genetics* 125:707-713.

Zhao Y., M. Gowda, W. Liu, T. Würschum, H.P. Maurer, C.F.H. Longin, N. Ranc, H.-P. Piepho, and J.C. Reif (2013b). Choice of shrinkage parameter and prediction of genomic breeding values in elite maize breeding populations. *Plant Breeding* 132:99-106.

Zhao Y., J. Zeng, R. Fernando, and J.C. Reif (2013c). Genomic prediction of hybrid wheat performance. *Crop Science* 53: 802-810.

ÜBERSICHTSARTIKEL MIT BEZUG ZUM HYWHEAT-PROJEKT

Longin C.F.H., J. Mühleisen, H.P. Maurer, H. Zhang, M. Gowda, and J.C. Reif (2012). Hybrid breeding in autogamous cereals. *Theoretical and Applied Genetics* 125:1087-1096.

III. Zitierte Literatur

- Bernardo R. (1994). Prediction of single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids. *Crop Science* 34:20-25.
- Bernardo R. (1996a). Best linear unbiased prediction of the performance of crosses between untested maize inbreds. *Crop Science* 36:50-56.
- Bernardo R. (1996b). Testcross selection prior to further inbreeding in maize: mean performance and realized genetic variance. *Crop Science* 36:867-871.
- Bernardo R. (1996c). Best linear unbiased prediction of maize single-cross performance. *Crop Science* 36: 872-876.
- Bernard R. (1999). Marker assisted best linear unbiased prediction of single-cross performance. *Crop Science* 39:1277-1282.
- Butler D., B.R. Cullis, A.R. Gilmour and B.J. Gogel (2009). ASREML-R, reference manual, Version 3, Queensland Department of Primary Industries and Fisheries, Brisbane.
- Cavanagh C.R., S. Chao, S. Wang, B.E. Huang, S. Stephen, S. Kiani, K. Forrest, C. Sainetnac, G.L. Brown-Guedira, A. Akhunova, D. See, G. Bai, M. Pumphrey, L. Tomar, D. Wong, S. Kong, M. Reynolds, M.L. da Silva, H. Bockelman, L. Talbert, J.A. Anderson, S. Dreisigacker, S. Baenziger, A. Carter, V. Korzun, P.L. Morrell, J. Dubcovsky, M.K. Morell, M.E. Sorrells, M.J. Hayden MJ, and E. Akhunov (2013). Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:8057-8062.
- Charcosset A., B. Bonnisseau, O. Touchebeauf, J. Burstin, P. Dubreuil, Y. Barrière, A. Gallais, and J.B. Denis (1998). Prediction of maize hybrid silage performance using marker data: comparison of several models for specific combining ability. *Crop Science* 38:38-44.

- Dudley J. W., M.A. Saghai Maroof, and G.K. Rufener (1991). Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs. *Crop Science* 31:718-723.
- Fischer S., J. Möhring, C.C. Schön, H.-P. Piepho, D. Klein, W. Schipprack, H.F. Utz, A.E. Melchinger, and J.C. Reif (2008). Trends in genetic variance components during 30 years of hybrid maize breeding at the University of Hohenheim. *Plant Breeding* 127:446-451.
- Fischer S., H.P. Maurer, T. Würschum, J. Möhring, H.-P. Piepho, C.C. Schön, E.-M. Thiemt, B.S. Dhillon, A.E. Melchinger, and J.C. Reif (2010). Development of heterotic groups in triticale. *Crop Science* 50:584-590.
- Hallauer A.R., and J.B. Miranda (1988). *Quantitative genetics in maize breeding*. 2nd ed. Iowa State Univ. Press, Ames, IA.
- Holland J. B. (2001). Epistasis and plant breeding. *Plant Breeding Reviews* 21: 27-92.
- Kempe K., M. Rubtsova, and M. Gils (2014). Split-gene system for hybrid wheat seed production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111:9097-9102.
- Meier U. (2001) *Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen - BBCH Monografie*. 2. Auflage, Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg.
- Melchinger A. E., H.H. Geiger, G. Seitz, and G.A. Schmidt (1987). Optimum prediction of three-way crosses from single crosses in forage maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 74:339-345.
- Oakey H., A. Verbyla, W. Pitchford, B. Cullis, and H. Kuchel (2006). Joint modeling of additive and non-additive genetic line effects in single field trials. *Theoretical and Applied Genetics* 113:809-819.
- Oettler G., S.H. Tams, H.F. Utz, E. Bauer, and A.E. Melchinger (2005). Prospects for hybrid breeding in winter triticale: I. Heterosis and combining ability for agronomic traits in European elite germplasm. *Crop Science* 45:1476-1482.
- Panter D.M. and F.L. Allen (1995). Using best linear unbiased predictions to enhance breeding for yield in soybean: II. Selection of superior crosses from a limited number of yield trials. *Crop Science* 35:405-410.
- Piepho H.P. (2009). Ridge regression and extensions for genome wide selection in maize. *Crop Science* 49:1165-1176.
- R Development Core Team. (2010). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.

- Riedelsheimer C., J. Lisec, A. Czedik-Eysenberg, R. Sulpice, A. Flis, C. Grieder, T. Altmann, M. Stitt, L. Willmitzer, and A.E. Melchinger AE. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109:8872-8877.
- Schrag T.A., A.E. Melchinger, A.P. Sorensen, and M. Frisch (2006). Prediction of single-cross hybrid performance for grain yield and grain dry matter content in maize using AFLP markers associated with QTL. *Theoretical and Applied Genetics* 113:1037-1047.
- Schrag T.A., H.P. Maurer, A.E. Melchinger, H.-P. Piepho, J. Peleman, and M. Frisch (2007). Prediction of single-cross hybrid performance in maize using haplotype blocks associated with QTL for grain yield. *Theoretical and Applied Genetics* 114:1345-1355.
- Schrag T.A., M. Frisch, B.S. Dhillon, and A.E. Melchinger (2009a). Marker-based prediction of hybrid performance in maize single-crosses involving doubled haploids. *Maydica* 54:353-362.
- Schrag T.A., J. Möhring, H.P. Maurer, B.S. Dhillon, A.E. Melchinger, H.-P. Piepho, A.P. Sorensen, and M. Frisch (2009b). Molecular marker-based prediction of hybrid performance in maize using unbalanced data from multiple experiments with factorial crosses. *Theoretical and Applied Genetics* 118:741-751.
- van Eeuwijk F. A., M. Boer, L.R. Totir, M. Bink, D. Wright, C.R. Winkler, D. Podlich, K. Boldman, A. Baumgarten, M. Smalley, M. Arbelbide, C.J.F. ter Braak, and M. Cooper (2010). Mixed model approaches for the identification of QTLs within a maize hybrid breeding program. *Theoretical and Applied Genetics* 120:429-440.
- Vuylsteke M., M. Kuiper, and P. Stam (2000). Chromosomal regions involved in hybrid performance and heterosis: their AFLP-based identification and practical use in prediction models. *Heredity* 85:208-218.
- Whitford R., D. Fleury, J.C. Reif, M. Garcia, T Okada, V Korzun, and P. Langridge (2013). Hybrid breeding in wheat: technologies to improve hybrid wheat seed production. *Journal of Experimental Botany* 64:5411-5428.
- Würschum T., S.M. Langer, C.F.H. Longin, V. Korzun, E. Akhunov, E. Ebmeyer, R. Schachschneider, J. Schacht, E. Kazman, J.C. Reif (2013a). Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 126:1477-1486.
- Wricke G., and W.E. Weber (1986). *Quantitative genetics and selection in plant breeding*. Walter de Gruyter & Co., Berlin.