

## **Etablierung eines neuen Hybridsystems zur Züchtung von Möhren mit spezifischer Anbaueignung unter Trocken- und Salzstressbedingungen in Zentralasien**

Establishment of a new hybrid system for carrot breeding with enhanced drought and salt stress tolerance in Central Asia

Rode, A.<sup>1</sup>, Nothnagel, T.<sup>1</sup>, Kampe, E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und Obst, Erwin-Bauer-Str. 27, 06484 Quedlinburg

<sup>2</sup> satimex QUEDLINBURG Züchtersaaten GmbH, Groß Orden 19, 06484 Quedlinburg

Kontakt: A. Rode [andrea.rode@jki.bund.de](mailto:andrea.rode@jki.bund.de); E. Kampe [zucht@satimex.de](mailto:zucht@satimex.de)

### **Zusammenfassung**

Die Züchtung neuer Möhrenhybriden mit verbesserter Trocken- und Salzstresstoleranz kann einen nachhaltigen Beitrag zur Steigerung der Anbaufläche, höhere Ertragsstabilität und eine wesentliche Qualitätsverbesserung des Erntegutes leisten. Ziel des Projektes ist es ein neues Hybridsystem zu etablieren und geeignete Hybridpartner auf der Basis wissenschaftlicher Evaluierungsdaten zu selektieren. Zur Evaluation und Selektion von trocken- und salzstresstoleranten Möhren-Genotypen wurde ein Prüfverfahren in Topfkultur unter Klimakammerbedingungen entwickelt. Die Ergebnisse der ersten Versuche sollen vorgestellt werden.

Stichwörter: Möhren, Hybridsystem, Trocken- und Salzstresstoleranz

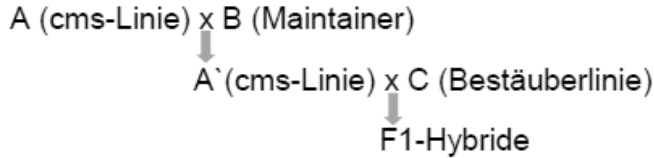
### **Abstract**

Plant breeding of a new carrot hybrid with an enhanced drought and salt stress tolerance may lead to a sustained increase the global carrot production, stabilization of yield and quality. It is the goal to establish a new hybrid system and to select suitable hybrid partners based on scientific evaluation. A laboratory test (climate chamber) was developed to evaluate and select carrot cultivars with salt stress tolerance. The results of the first experiments will be presented.

Keywords: carrot, hybrid, drought tolerance, salt stress tolerance

### **Einleitung und Zielsetzung**

Der kommerzielle Möhrenanbau weltweit nutzt weitgehend F<sub>1</sub>-Hybridsorten. Die entwickelten Hybridsorten beruhen alle auf der Bestäubungslenkung durch die cytoplasmatisch männliche Sterilität (cms). Nach intensiver Züchtungsforschung in den 1950-60er Jahren, nutzt die praktische Züchtung heute zwei cms-Systeme - zu einem das „*brown anther*“ System (cms<sup>b.a.</sup>), bei dem das sterilitätbedingende Cytoplasma aus verschiedenen Kulturmöhrensorten (*Daucus carota* ssp. *sativus*) selektiert wurde, sowie das „*petaloide*“ cms-System (cms<sup>pet</sup>), bei dem das Cytoplasma der Wildform *Daucus carota* ssp. *carota* verwendet wird. Bereits in den 1990iger Jahren konnten im Rahmen eines Evaluierungs-projektes in mehreren Wildformen der Möhre männlich sterile Pflanzen identifiziert werden. Durch ihre Selektion und wiederholte Rückkreuzung konnten weitere alloplasmatische cms-Linien entwickelt werden (Nothnagel et al. 2000). Zwei der alloplasmatischen cms- Systeme basierend auf den Cytoplasmen der Wildform *D.c. maritimus* (cms<sup>mar</sup>) und *D.c. gadecaei* (cms<sup>gad</sup>) sind nach dem bisherigen Kenntnisstand für die Herstellung neuer Hybridsorten geeignet. Im Rahmen des AIF-Projektes (Projektbeginn: 07.01.2010) werden zunächst potentielle Hybrideltern, die cms-Linie (A), Maintainer (B) und Bestäuber (C) evaluiert und vermehrt (Abbildung 1).



**Abb. 1** Zuchtschema F1-Hybridzüchtung von Möhren

Dazu werden blütenbiologische, histologische, agronomische und molekularbiologische Daten erfasst und beurteilt. Die Selektion stabiler cms-Linien (A') sowie die Abschätzung der allgemeinen und der spezifischen Kombinationseignung der zur Verfügung stehenden Kreuzungspartner sind Evaluierungsschwerpunkte. Trocken- und Salzstress sind weltweit wichtige ertragseinschränkende Faktoren in der Pflanzenproduktion (Zörb, 2006). Die Versalzung des Bodens wird von der Konzentration und der Zusammensetzung der Salze bestimmt. Zu den dominierenden Ionen zählen  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  und sieben weitere. Diese Ionen sind in der Bodenlösung unterschiedlich löslich und pflanzenverfügbar. Von der Bewässerungsfläche des zentralasiatischen Bodens sind bereits mehr als 50 % von Versalzung betroffen (Shirokova et al., 2000). Laut Literaturangaben wird die Möhre als eine salzempfindliche Kultur beschrieben (Maas und Hoffmann, 1977). Ziel des ersten Projektjahres war die Methodenentwicklung zur Evaluierung der Salzstresstoleranz bei Möhren.

### Material und Methode

Zur Entwicklung des neuen Hybridsystems wurde zunächst eine Vorauswahl aus dem gesamten Möhrenzuchtmaterial der Firma satimex<sup>2</sup> getroffen. Die Selektion erfolgte hauptsächlich nach der Wurzelform (Chantenay Typ), der Wurzelfarbe (orange) und nach dem Ertragspotential. Von diesem satimex-Zuchtmaterial wurden 55 Genotypen als potentielle B- und C-Linien ausgewählt und in Topfkultur unter Gewächshausbedingungen (20 °C – 24 °C) kultiviert. Die potentiellen cms-Linien (A) und die bereits vorhandenen Maintainer (B) des JKI-Sortiments wurden vorselektiert und ebenfalls in Topfkultur angezogen (100 d). Alle Pflanzen wurden geerntet und nach Wurzelmerkmalen (Wurzelform, Wurzelfarbe) beurteilt. Für selektierte Einzelpflanzen folgte zur Induktion der generativen Entwicklungsphase eine Vernalisation (90 d, 5 – 6 °C) in der Klimakammer. In der generativen Phase wurden insgesamt 10 morphologische Boniturgrößen von allen Pflanzen erfasst. An jedem Genotyp der potentiellen cms-Linien (A) erfolgten blütenbiologische Untersuchungen. Mit ausgewählten Einzelpflanzen wurden im ersten Projektjahr manuelle Testkreuzungen vorgenommen.

Für eine Assoziationsstudie wurde eine Kollektion von insgesamt 125 Möhrenherkünften zusammengestellt. Sie umfasst die o.g. cms-Linien (A), Maintainer (B) der JKI-Kollektion sowie 55 potentiellen Bestäuber (C) aus dem satimex-Sortiment und Genotypen (C) aus der JKI-Genbanksammlung. Bei dem Material aus Genbanken handelt es sich um Genotypen aus insgesamt 19 Ländern. Diese Genotypen wurden im Gewächshaus angezogen und zu definierten ontogenetischen Stadien evaluiert. Weiterhin wurde Blattmaterial zur Identifikation von flüchtigen Inhaltsstoffen (volatiles) und Wurzelmaterial zur Analyse von nicht flüchtigen Inhaltsstoffen (non volatiles) entnommen. In der weiteren Projektplanung wird das Material auf Resistenz gegen *Alternaria dauci* und *Alternaria radicina* getestet. Zur molekularen Charakterisierung der ausgewählten Möhrenlinien wurde nach der Methode von Roger und Bendich (1985) DNA aus Blattmaterial isoliert. Mit dieser DNA wird zur Abschätzung der genetischen Distanz eine genomweite Genotypisierung mit DArT-Markern (Diversity Arrays Technology Pty Ltd, Australien) vorgenommen.

Im ersten Projektjahr konnten methodische Vorversuche zur Evaluierung von Toleranz gegen Salzstress unter Klimakammerbedingungen mit Möhren durchgeführt werden. Auch Untersuchungen zur Keimfähigkeit von Möhrensamen in Salzmedium, Substratversuche (Perlit, Sand) und Vorversuche zur Länge des Stresszeitraums wurden durchgeführt (nicht dargestellt). Für alle Vorversuche sind einheitlich zwei Möhrensorten ausgewählt worden, eine moderne Hybridsorte (HS) und eine samenechte Zuchtlinie aus dem satimex-Sortiment (SAT-Linie). Innerhalb der zwei Versuche wurden die Salzkonzentrationen und der Beginn der Salzapplikation variiert. Eine Übersicht der gewählten Versuchsparameter zur Evaluierung der Salzstresstoleranz der zwei Vorversuche ist in Tab. 1 ersichtlich. Die varianzanalytische Auswertung mittels ANOVA und t-Test (LSD bei  $P \leq 0,01$ ) erfolgte mit dem Programm Systat 9 (Wilkinson, 1998).

## Ergebnisse

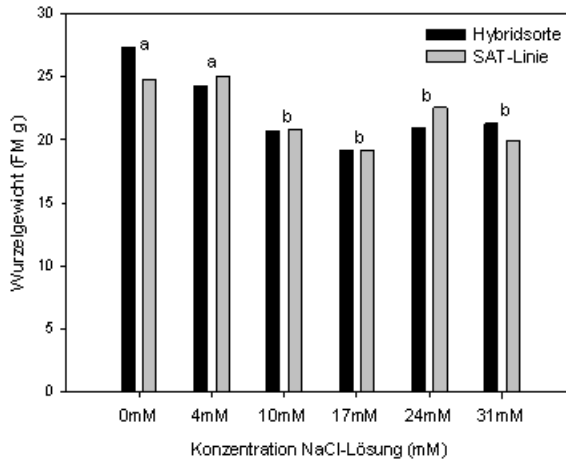
Zur Selektion geeigneter cms-Genotypen und Maintainer wurden 113 Pflanzen beurteilt (zehn Merkmale: Pflanzengröße, Wuchstyp, Blattfarbe, Doldenform, Blütenvorkommen, Blütenfarbe, Blühbeginn, Blühende, Erntedatum, Seneszenz). Mit dem selektierten Material wurden im Zeitraum des ersten Projektjahres 156 Testkreuzungen vorgenommen. Davon wurden zwölf Kreuzungen im Grundbeet ausgesät. Die abschließende Beurteilung dieser Testkreuzungen erfolgt nach der Vernalisation in der generativen Phase.

**Tab. 1** Übersicht der Versuchsparameter der Methodenentwicklung zur Evaluierung der Salzstresstoleranz der ersten zwei Vorversuche in der Klimakammer

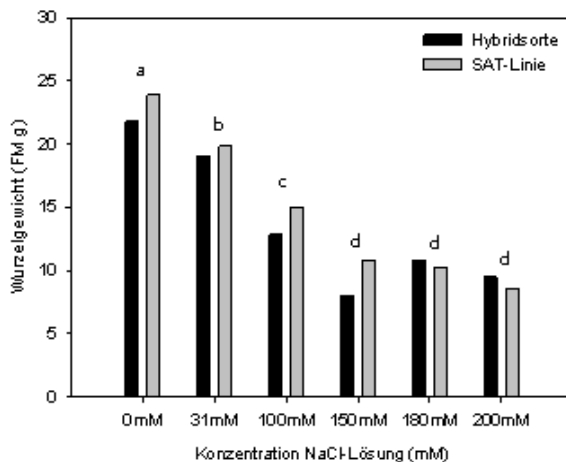
1. Vorversuch	2. Vorversuch
Klimakammer-Regime: 20 °C Tag/16 h, 15 °C Nacht/8 h, 60 % LF 15 Lux Einstrahlung 18x18 cm Töpfe; pro Variante/Genotyp n = 5, 10 Pflanzen pro Topf Gießzeitpunkt Mo./Mi.: 250 ml, Fr.: 300 ml	
Anzucht 68 Tage	Anzucht 46 Tage
Salzapplikation ab 68. Tag	Salzapplikation ab 47. Tag
Varianten Salzapplikation (NaCl):	Varianten Salzapplikation (NaCl):
0 mM	0 mM
4 mM	31 mM
10 mM	100 mM
17 mM	150 mM
24 mM	180 mM
31 mM	200 mM
Ernte am 110. Tag nach Aussaat	Ernte am 110. Tag nach Aussaat

Nach Auswertung der flüchtigen Inhaltsstoffe in Blatt und Wurzel, sowie den Ergebnissen der geplanten Resistenzversuche Mitte 2011 und der Auswertung aller agronomischen Daten können die ausgewählten 125 Möhrenlinien bewertet werden. Aus diesem Sortiment werden potentielle Hybridpartner basierend auf den Ergebnissen der Assoziationsstudie nach ihrer maximalen genetischen Distanz ausgewählt.

Für die Vorversuche zur Salzstresstoleranz wurde ein einheitliches Klimakammerregime gewählt (Tabelle 1). Die NaCl-Konzentrationen (4 - 31 mM) wurden im ersten Vorversuch noch moderat gewählt. Die Pflanzen wurden bis zum 66. Tag nach der Aussaat optimal mit Wasser versorgt. Im Anschluss wurden sie bis zur Ernte in definierter Höhe mit unterschiedlich hohen Salzkonzentrationen gegossen. In der Abbildung 2 ist exemplarisch der Einfluss der Salzapplikation auf das agronomische Merkmal (Wurzelgewicht FM in g) dargestellt. Dagegen hatten die Behandlungsstufen 10, 17, 24 und 31 mM im Vergleich zur Kontrolle und zur Variante mit 4 mM einen signifikanten Einfluss auf das Wurzelgewicht (Abbildung 2).



**Abb. 2** Einfluss der Salzapplikationsvarianten 0 - 31 mM NaCl-Lösung auf das Wurzelgewicht ( $n = 100$ ) der Hybridsorte und der satimex-Linie im ersten Vorversuch in der Klimakammer; Mittelwerte; signifikante Unterschiede sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet ( $P \leq 0,01$  LSD)



**Abb. 3:** Einfluss der Salzapplikationsvarianten 0 - 200 mM NaCl auf das Wurzelgewicht ( $n = 100$ ) der Hybridsorte und der satimex-Linie im zweiten Vorversuch in der Klimakammer; Mittelwerte; signifikante Unterschiede sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet ( $P \leq 0,01$  LSD)

Die Varianten 10, 17, 24, 31 mM waren untereinander nicht signifikant verschieden. Die statistische Auswertung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Genotypen (HS, SAT-Linie) bezogen auf die Behandlungsstufen. Im zweiten Vorversuch wurden deutlich höhere Salzkonzentrationen gewählt (Abbildung 3). Der Beginn der Salzapplikation wurde im zweiten Versuch 21 Tage früher als im ersten Versuch gewählt.

Wie die Abbildung 3 verdeutlicht, ist ein hoch signifikanter Effekt der Salzapplikation bezogen auf das Wurzelgewicht (FM g) zu erkennen. So sind die drei Varianten mit 150, 180, 200 mM signifikant verschieden zu den Varianten mit 0, 31, 100 mM NaCl-Salzapplikation. Auch hier waren zwischen den Genotypen keine signifikanten Unterschiede nachweisbar. Beide Versuche wurden nach 110 Tagen geerntet.

## Diskussion

Seit den 1990iger Jahren dominieren Hybridsorten mit dem „*brown anther*“ System (cms<sup>b.a</sup>) sowie dem „*petaloide*“ cms-System (cms<sup>pet</sup>) den Weltmarkt. Eine neue cms-Quelle erweitert die genetische Basis und wirkt dem allgemeinen Trend der genetischen Erosion entgegen. Durch die langjährige Forschungsarbeit im Julius Kühn-Institut konnten schon früh männlich sterile Pflanzen selektiert und mit der Kulturmöhre rückgekreuzt werden (BC<sub>5</sub>–BC<sub>9</sub>). Damit entspricht der Phänotyp der entwickelten Linie wieder weitgehend dem der Kulturmöhre. Im Rahmen der Projektarbeit wurden die ersten Testhybriden erstellt. Die Stabilität der cms-Linien, der Maintainer und der potentiellen Hybridpartner werden umfangreich untersucht und bewertet. Die umfassende Bewertung der Testkreuzungen ist erst Mitte 2011 möglich. Auch wenn bisher noch keine Aussagen zur genetischen Kompatibilität und Leistungsfähigkeit der neuen cms-Quellen mit dem Möhren-Genpool von satimex möglich sind, so sind die ersten Ergebnisse sehr vielversprechend.

Ziel der Methodenentwicklung war es, morphologisch und pflanzenbaulich relevante Salzstressreaktionen der Möhre zu erfassen. Innerhalb des ersten Vorversuches (Salzkonzentration: 4, 10, 17, 24, 31 mM NaCl) wurden zwar signifikante Effekte der Salzapplikation auf das Wurzelgewicht nachgewiesen, jedoch scheinen die Effekte für ein effektives Screeningverfahren nicht ausreichend zu sein. Deshalb wurden die Salzkonzentrationen im zweiten Vorversuch (0, 31, 100, 150, 180, 200 mM) deutlich erhöht. Eine Ertragsreduktion von über 50 % in der höchsten Salzapplikationsstufe von 200 mM zur Kontrolle mit 0 mM ist nachweisbar. Die Variante 100 mM zeigte eine deutliche Signifikanz, welche für Selektionszwecke vermutlich ausreichend ist. Die beiden Genotypen (HS, SAT-Linie) unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Im zweiten Versuch wurde deutlich früher (ab dem 47. Tag) mit der Applikation der Salzlösung begonnen, damit sollte der Einfluss des Applikationsbeginns auf das Wurzelgewicht überprüft werden. Vergleicht man die Varianten mit 31 mM sind in beiden Vorversuchen die Wurzelgewichte ähnlich. In weiteren Versuchen wird der Einfluss des Stresszeitraumes weiter untersucht werden. Da Salzstresstoleranz ein komplexes Merkmal ist sind weitere Untersuchungen zur Verifizierung der bisherigen eigenen Ergebnisse nötig und geplant. Erst nach Abschluss der Vorversuche kann die Effizienz der verschiedenen Methoden bewertet werden. Nachfolgend sollen hieraus artspezifische Toleranzparameter zur Bewertung der Genotypen entwickelt werden. Mit der nach abschließender Versuchsauswertung favorisierten Methode sollen 2011 die potentiellen Hybridpartner (Assoziationsstudie) hinsichtlich ihrer Salzstresstoleranz evaluiert werden. Innerhalb der Projektplanung ist weiterhin eine Methodenentwicklung zur Trockentoleranz der Möhre geplant.

**Danksagung:** Die Autoren danken der AIF für die Förderung des FuE-Projektes (ZIM-KOOP: 2241302MD9)

## Literatur

- Maas, E.V., Hoffmann, G.J. (1977): Crop salt tolerance – current assessment. Journal of the Irrigation and Drainage Division, American Society of Civil Engineers **103**, 115-134
- Notnagel, T., Straka, P., Linke, B. (2000): Male sterility in populations of *Daucus* and the development of alloplasmic male-sterile lines of carrot. Plant Breeding **119**, 145-152
- Roger, S.O.; Bendich, A.J. (1985): Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant-tissues. Plant Mol. Biol. **5**: 69-76
- Skiroikova, Y., Forkutsa, I., Shara Futdinova, N. (2000): Use of electrical conductivity instead of soluble salts for soil salinity monitoring in Central Asia. Irrigation and Drainage Systems **14**, 199-205
- Zörb, C. (2006): Physiologische Strategien zur Entwicklung salzresistenter Mais- und Weizensorten. Habilitationsschrift Justus-Liebig-Universität Giessen, 1
- Wilkinson, L. (1998): Systat 9.0 for Windows. Statistics SPSS Inc., Chicago.