

- Erschließung möglicher Quellen für Material von samenvermehrten Zierpflanzen; Sammlungsbeginn u. a. durch „Sammlungsaufrufe“ bei Liebhabern, Züchtern etc.
- Erarbeitung geeigneter Methoden für Saatgutlagerung, Sortenerhaltung, Beschreibung und Evaluierung sowie Festlegung der entsprechenden Abläufe
- Entwicklung geeigneter EDV-Programme zur Verwaltung und Dokumentation der Genbank
- Einbindung der Genbank samen vermehrter Zierpflanzen in vorhandene Datennetzwerke, u. a. in das Nationale Inventar zu Pflanzengenetischen Ressourcen in Deutschland (PGRDEU; <http://pgrdeu.genres.de/>) bzw. im Netzwerk Pflanzensammlungen bei der DGG 1822 e.V.
- Nationale und internationale Zusammenarbeit mit entsprechenden Fachkreisen

Von besonderer Bedeutung ist es, die Kriterien zur Auswahl von erhaltenswerten, samenvermehrten Zierpflanzen festzulegen. Prioritäten für die Auswahl von Arten und Sorten sollen von einer Expertengruppe festgelegt werden. Dabei sollten insbesondere folgende Aspekte Berücksichtigung finden:

- in Deutschland vorhandene bzw. traditionell genutzte Arten und Sorten
- Arten und Sorten mit potentieller züchterischer, wirtschaftlicher und wissenschaftlicher Bedeutung
- Arten und Sorten mit historischer und kultureller Bedeutung
- Arten und Sorten mit besonderen Eigenschaften (z.B. Resistenzen)

Bei der Aufnahme von Sorten in die Genbank wird der Echtheitsüberprüfung der Akzessionen (Art-/Sortenzugehörigkeit) besondere Priorität beizumessen sein.

Aktivitäten zur Bewahrung von genetischen Ressourcen bei Rhododendron und Rose

Das Bundessortenamt ist im Beirat zur Genbank Rhododendron vertreten und unterstützt hier mit Kenntnissen und Erfahrungen aus dem Bereich der Sortenschutzprüfungen bei Freilandrhododendron und Topfazalee. Für die Genbank Rose ist geplant, dass das Bundessortenamt noch in 2011 sammlungserhaltender Partner wird. Es ist vorgesehen, dass geeignete Rosensorten aus den beim Bundessortenamt erhaltenen lebenden Kollektionen von Freilandrose und Topfrosee in die Genbank übernommen und entsprechend dokumentiert werden.

Nutzung molekularer Marker in der Züchtung von Heide (*Calluna vulgaris*)

Use of molecular markers in breeding of heather (*Calluna vulgaris*)

Hohe, Annette; Behrend, Anne

Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau (IGZ), Institutsteil Erfurt, Kühnhäuser Straße 101, 99189 Erfurt
Tel.: 036201 785 210; E-Mail: hohe@erfurt.igzev.de

DOI: 10.5073/jka.2011.433.004

Zusammenfassung

Zur Unterstützung der Züchtung von knospenblühender Sommerheide (*Calluna vulgaris*) wurde die Vererbung des Merkmals „Knospenblütigkeit“ in verschiedenen spaltenden Rückkreuzungspopulationen untersucht. Aufgrund der analysierten Spaltungsverhältnisse wird von einem monogen-rezessiven Erbgang ausgegangen. RAPD- und ISSR-Marker wurden zur Untersuchung der Größe des genetischen Pools der Art *C. vulgaris* verwendet, und ein Verfahren zur Identifikation sogenannter „abgeleiteter Sorten“ wurde für diese Pflanzenart angepasst. Zudem wurde nach molekularen Markern für das ökonomisch wichtige Merkmal „Blütentyp“ gesucht, die eine Selektion auf dieses Merkmal bereits im Jungpflanzenstadium ermöglichen würden. Sowohl für RAPD- als auch für AFLP-Marker wurden ausschließlich Marker für das dominante Allel „Einfachblüher“ gefunden.

Die dargestellten Ergebnisse fassen mehrere Arbeiten zur Züchtungsforschung an knospenblühender Sommerheide zusammen.

Stichwörter: AFLP, ISSR, Knospenblüher, Marker-gestützte Selektion, RAPD, Sortenidentifizierung

Abstract

In order to assist breeding of bud-flowering heather (*Calluna vulgaris*) the inheritance of the trait “bud-flowering” has been analyzed in various segregating backcross populations. From the resulting segregation ratios a monogenic recessive inheritance was deduced. RAPD- and ISSR-markers have been used for evaluation of the genetic pool of *C. vulgaris*, and a technique for identification of “essentially derived varieties” has been adapted for this species. Moreover, it has been searched for molecular markers of the economically important trait “flower type” that would allow selection already in the seedling stage. However, both RAPD as well as AFLP-markers have only been found for the dominant wild-type allele.

In the current review various publications on breeding research of bud-flowering heather are summarized.

Keywords: AFLP, bud-flowers, cultivar identification, ISSR, marker-assisted selection, RAPD

Einleitung

Calluna vulgaris zählt in Mittel- und Nordeuropa zu den wirtschaftlich wichtigsten Beet- und Balkonpflanzen für die Herbstbepflanzung (BEHR und NIEHUES, 2009). Im Vergleich zu anderen ökonomisch wichtigen Zierpflanzenkulturen ist *C. vulgaris* bisher aber noch nicht sehr intensiv züchterisch bearbeitet worden. Bisherige Züchtungsstrategien beschränken sich auf die Auslese von zufälligen Mutanten und einfache Kreuzungspläne. In mehreren aufeinanderfolgenden Forschungsprojekten wurde daher daran gearbeitet, ein systematisches Züchtungsverfahren insbesondere für die wichtige Sortengruppe der sogenannten Knospenblüher von *C. vulgaris* (Abbildung 1) zu entwickeln, wobei auch die Nutzung molekularer Marker einbezogen wurde. Molekulare Marker werden in der Pflanzenzüchtung im Wesentlichen für zwei unterschiedliche Zwecke eingesetzt: Zum einen dienen sie der Marker-gestützten Selektion („marker-assisted selection“ – MAS), zum anderen der Untersuchung der genetischen Distanz verschiedener Individuen. Beide Ziele wurden auch bei den Arbeiten mit *C. vulgaris* verfolgt. Einerseits wurde die Größe des genetischen Pools untersucht und ein Verfahren zur Identifikation sogenannter „abgeleiteter Sorten“ entwickelt. Andererseits sollten molekulare Marker für das ökonomisch wichtige Merkmal „Knospenblütigkeit“ gefunden werden, die eine Selektion auf dieses Merkmal bereits im Jungpflanzen-stadium ermöglichen.



Abb. 1 Blütentriebe der Sommerheide (*Calluna vulgaris*); links: Knospenblüher, rechts: Einfachblüher (Wildtyp)

Die Ergebnisse dieser Arbeiten werden im Folgenden zusammenfassend dargestellt. Die verschiedenen Publikationen, in denen die Ergebnisse detailliert veröffentlicht wurden, werden jeweils entsprechend zitiert.

Material und Methoden

Zu Untersuchung der Vererbung des Merkmals „Knospenblütigkeit“ wurden gezielt einzelne einfach- und knospenblütige Individuen miteinander gekreuzt und rückgekreuzt. Die genauen Kreuzungspläne sind in Borchert und Hohe (2009) dargestellt. Die Untersuchung der genetischen Distanzen unterschiedlicher Sorten erfolgte mit Hilfe von RAPD- und ISSR-Markern (Borchert et al., 2008). Zur Markierung des Merkmals „Knospenblütigkeit“ wurden sowohl RAPD- als auch AFLP-Marker eingesetzt (Borchert und Hohe, 2009; Borchert und Gawenda, 2010).

Ergebnisse

○ Vererbung der Merkmale „Knospenblütigkeit“ (Borchert und Hohe, 2009):

Die Kreuzung von Einfach- mit Knospenblüher resultiert in der Regel in einer rein einfach blühenden F1-Population. Wurden Individuen dieser F1-Generation mit dem knospenblütigen Elter zurückgekreuzt, so spaltete die resultierende Rückkreuzungspopulation in Bezug auf das Merkmal „Blütentyp“. In drei von vier untersuchten Kreuzungskombinationen betrug das Spaltungsverhältnis 1 : 1. Dies deutet auf einen monogen rezessiven Erbgang hin. Allerdings treten auch Spaltungsverhältnisse auf, die signifikant von einem 1 : 1-Verhältnis abweichen. Dies ist ein Hinweis darauf, dass an der Aufprägung des Merkmals neben dem antizipierten Majorgen vermutlich noch weitere Faktoren beteiligt sind, die sich zwischen den einzelnen Sortenkombinationen unterscheiden. In einzelnen Fällen wurden F1-Pflanzen zudem mit einem Knospenblüher gekreuzt, der nicht Elter der F1 war. Auch in diesem Fall spalteten Knospenblüher in der Nachkommenschaft heraus. Dies deutet darauf hin, dass in den knospenblütigen Sorten ein- und derselbe Locus betroffen ist, da ansonsten bei einem rezessiv vererbten Merkmal der mutierte Locus komplementiert würde.

○ Analyse genetischer Distanzen (Borchert et al., 2009):

Auf der Basis von 168 RAPD- und ISSR-Markern wurden die genetischen Distanzen von 74 Genotypen von *C. vulgaris* (Sorten sowie einige Wildpflanzen) sowie 3 Genotypen von *Erica* spp. ermittelt und in einem Dendrogramm verrechnet. Die überwiegende Mehrheit der paarweisen Vergleiche wies einen Ähnlichkeitskoeffizienten (Dice) von 0,8 oder größer auf. Der genetische Pool von *C. vulgaris* ist daher als relativ eng einzustufen, insbesondere da auch in der Natur gesammelte Genotypen in Verbindung mit Zuchtsorten nur einen geringfügig kleineren Ähnlichkeitskoeffizienten aufwiesen als Zuchtsorten untereinander. Nur eine sehr geringe Anzahl von Knotenpunkten des Dendrogramms konnte statistisch abgesichert werden (bootstrapping, n=10.000). Daher scheint dieses Verfahren nicht für die Identifizierung von abgeleiteten Sorten nutzbar zu sein. Entsprechend wurde ein alternatives Verrechnungsverfahren der Ähnlichkeitskoeffizienten angewandt (Eeuwijk und Law, 2004), mit dessen Hilfe ein individuell auf den untersuchten genetischen Pool abgestimmter Grenzwert des Ähnlichkeitskoeffizienten (Dice) ermittelt wird. Dieser betrug in diesem Fall 0,865. Zur Validierung dieses Wertes wurden Sortenpaare eingesetzt, von denen bekannt war, dass sie voneinander abgeleitet bzw. dass sie züchterisch voneinander unabhängig waren. Die Ähnlichkeitskoeffizienten der voneinander abgeleiteten Sortenpaare lagen über dem genannten Grenzwert, die der unabhängigen Sortenpaare darunter oder innerhalb des Fehlerbereiches über dem Grenzwert. Anschließend wurden zwölf Sortenpaare getestet, bei denen aus unterschiedlichen Quellen eine Hypothese über deren genetischen Distanz abgeleitet werden konnte. Diese wurde für elf der zwölf Paare bestätigt.

○ Molekulare Marker für das Merkmal „Knospenblütigkeit“ (Borchert und Hohe, 2000; Borchert und Gawenda, 2010):

Mit Hilfe der bulked-segregant-analysis nach Michelmore (1991) wurden in einer spaltenden Rückkreuzungsnachkommenschaft der Sorten 'Melanie' und 'Roter Oktober' zwei gekoppelte RAPD-Marker für den Blütentyp „Einfachblüher“ identifiziert. Diese wiesen eine Größe von ca. 2,5 bzw. 1,2 kb auf. Auf Einzelpflanzenebene wurden für den kleineren Marker keine Rekombinanten gefunden, bei dem größeren Marker trat eine Rekombinante unter den Knospenblüher auf. Beide RAPD-Marker wurden sequenziert, wobei für den kleineren zwei unterschiedliche Sequenzen gewonnen wurden, was vermutlich

darauf zurückzuführen ist, dass dieser sehr eng von weiteren Banden flankiert wurde. Die Marker erwiesen sich aber nur in der Ausgangspopulation als funktional. Sowohl in einer anderen Rückkreuzungspopulation als auch in unabhängigen Sorten war das Auftreten beider Marker nicht mit dem Blütentyp gekoppelt. In einem weiteren Ansatz wurde in einer Rückkreuzungspopulation der Sorten 'Maria' und 'Boskoop' nach AFLP-Marker für den Blütentyp gesucht (Abbildung 2). Hier wurden 44 Marker für Einfachblüher und 22 Marker für Knospenblüher identifiziert. Bei allen Markern für Knospenblüher war allerdings die Präsenz der Marker in den Elternpflanzen und der F1 nicht konsistent; bei den Markern für Einfachblüher traten solche widersprüchliche Ergebnisse nicht auf. Die Marker für Knospenblütigkeit wurden daher nicht weiter untersucht. Von den Kandidaten-Markern für Einfachblüher wurden 16 auf Einzelpflanzenebene überprüft. Sieben wiesen eine Rekombinationsrate von weniger als 5% auf, einer zeigte sogar eine Rekombinationsrate von 0%. Dieses Fragment wurde sequenziert, um zu prüfen, ob er möglicherweise ein Kandidatengen abdeckt. Dies war jedoch nicht der Fall, die klonierte Sequenz lag nicht in einem kodierenden DNA-Bereich.

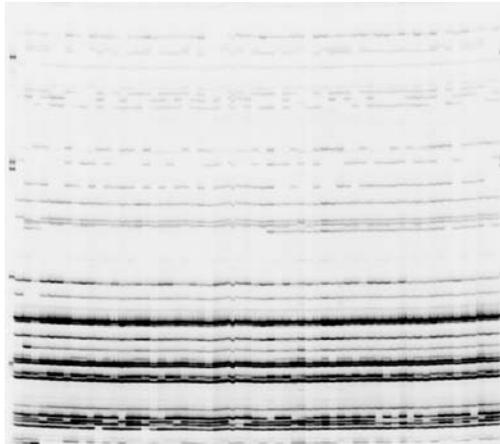


Abb. 2 Ausschnitt eines AFLP-Gels von *Calluna vulgaris* (Primer: HindIII+CAT IRDye 700 + MseI+CAC).

Diskussion

Die systematische Züchtung von knospenblühenden Genotypen bei *C. vulgaris* erfordert die Erstellung von Rückkreuzungspopulationen. In Verbindung mit einem engen genetischen Pool der Art führt dies zu geringen genetischen Distanzen zwischen den Sorten. Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass es dennoch möglich ist, auf der Basis der Analyse genetischer Marker abgeleitete Sorten zu identifizieren. Voraussetzung ist allerdings die Ermittlung eines spezifischen Grenzwertes für den genetischen Pool, aus dem die in Frage stehenden Sorten stammen, da dieser deutlich von einem z.B. für Rosen ermittelten Grenzwert (Vosman et al., 2004) differiert.

Die Suche nach einem molekularen Marker für das Merkmal „Knospenblütigkeit“ war nur bedingt erfolgreich. Trotz der Anwendung unterschiedlicher Methoden in zwei verschiedenen Rückkreuzungspopulationen ist es nicht gelungen, einen Marker zu finden, der mit dem Merkmal „Knospenblütigkeit“ gekoppelt ist. Allerdings wurden sowohl RAPD- als auch AFLP-Marker identifiziert, die mit dem Merkmal „Einfachblüher“ kosegregieren. Aufgrund der Menge an durchgeführten Untersuchungen wird davon ausgegangen, dass der Mangel an Markern für die „Knospenblütigkeit“ nicht zufällig sondern genetisch begründet ist, z.B. durch eine Deletion im Genom der Knospenblüher.

Rout und Mohapatra (2006) und Byrne (2007) haben ermittelt, dass nur sehr wenige Zierpflanzenzüchter Verfahren der Marker-gestützten Selektion nutzen. Hierzu trägt sicher der hohe Entwicklungsaufwand bei, der sich nicht lohnt, sofern insbesondere in den oft noch nicht sehr intensiv züchterisch bearbeiteten Kulturen des Zierpflanzenbaus auch mit konventionellen Verfahren Züchtungsfortschritte zu erzielen sind. Allerdings

nutzen auch Zierpflanzenzüchter molekulare Marker regelmäßig zur Eltern-Identifizierung und zur Sortenunterscheidung (Rout und Mohapatra, 2006). Zukünftig ist aufgrund neuer DNA-Sequenzierverfahren mit einer erheblichen Reduktion der Entwicklungskosten für molekulare Marker zu rechnen, während gleichzeitig die Verfügbarkeit von Sequenzdaten auch für wirtschaftlich weniger bedeutende Kulturen deutlich steigt. Daher kann mit einer verstärkten Anwendung molekulare Marker auch in der Zierpflanzenzüchtung gerechnet werden. Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, dass auch bei leichter Verfügbarkeit von Sequenzdaten (bzw. dann insbesondere) nur eine planvolle und systematische Anwendung die Züchtungsarbeit tatsächlich erleichtert.

Literatur

- Behr H. C. und R. Niehues, 2009: Markt und Absatz. In: Status quo und Perspektiven des deutschen Produktionsgartenbaus. Landbauforschung, Sonderheft **330**, 69-98.
- Borchert T. und A. Hohe, 2009: Identification of molecular markers for the flower type in the ornamental crop *Calluna vulgaris*. *Euphytica* **170**, 203-213.
- Borchert T. und I. Gawenda, 2010: Development and application of high-throughput amplified fragment length polymorphism technique in *Calluna vulgaris* (Ericaceae). *Electronic Journal of Biotechnology* **13** No. 2, Issue of March 15, 2010.
- Borchert T., J. Krueger und A. Hohe, 2008: Implementation of a model for identifying Essentially Derived Varieties in vegetatively propagated *Calluna vulgaris* varieties. *BMC Genetics* **9**, 56.
- Byrne D. H., 2007: Molecular marker use in perennial plant breeding. *Acta Hort* **751**, 163-167.
- Michelmore R. W. I. Paran und R. V. Kesseli, 1991: Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 9828-9832.
- Rout, G. R. und A. Mohapatra, 2006: Use of molecular markers in ornamental plants: a critical reappraisal. *Europ. J. Hort Sci.* **71**(2), 53-68.
- Vosman B., D. Visser, J. van der Voort, Smulders M und F. van Eeuwijk, 2004: The establishment of 'essential derivation' among rose varieties, using AFLP. *Theor Appl Genet* **109**, 1718-1725.

Biotechnologische Methoden für die züchterische Verbesserung von Zierpflanzen

Mibus, Heiko; Serek, Margrethe; Winkelmann, Traud
 Institut für Zierpflanzen - und Gehölzwissenschaften, Leibniz Universität Hannover,
 Herrenhäuser Straße 2, 30419 Hannover

DOI: 10.5073/jka.2011.433.005

Einleitung

Die deutsche Zierpflanzenzüchtung nimmt weltweit eine führende Rolle ein und meldet jährlich für die internationale Vermarktung eine große Anzahl von neuen Sorten an. Beim Europäischen Sortenamts sind die neu angemeldeten Zierpflanzenarten mit einem Anteil von 60% die mit Abstand größte Pflanzengruppe (Jahresbericht 2007 CPVO Community Plant Variety Office). Neben der großen Bedeutung deutscher Zierpflanzenzüchtungsunternehmen lässt sich daraus auch entnehmen, dass die Suche nach Neuheiten den Sektor bestimmt. Der große Konkurrenzdruck unter den Zierpflanzenzüchtern und die schnellen Veränderungen des Sortenspektrums am Markt erfordern neue Strategien zur Sortenentwicklung. Zur Unterstützung und Beschleunigung der klassischen Züchtung hat deshalb die Nutzung von biotechnologischen Methoden in den letzten Jahrzehnten stark an Bedeutung gewonnen.

Unter Zierpflanzen fallen viele diverse Pflanzenarten verschiedenster Familien in tausenden von Sorten. Durch diese Vielfalt ergibt sich eine ausgeprägte Heterogenität, die eine Übertragung von biotechnologischen Methoden von einer Zierpflanzenart auf eine andere und sogar die Übertragung von einer Sorte auf eine andere meist ausgesprochen schwierig und damit sehr zeitintensiv werden lässt. Idealerweise werden Methoden benötigt, die bei vielen verschiedenen Pflanzenarten und -sorten effizient