Ergebnisse aus Arbeitspaketen des Verbundprojektes „Erfassung der genetischen Diversität für das Merkmal „Trockenstresstoleranz“ bei Deutschem Weidelgras als Basis zur Entwicklung molekulargestützter Selektionsverfahren und klimaangepasster Neuzüchtung“

Dr. Peter Westermeier[1], Andrea Wosnitza[1], Dr. Annegret Schum[2], Dr. Evelin Willner[3], Dr. Stephan Hartmann[1]
[1] Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft - Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung,
[2] Julius Kühn Institut – Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz,
[3] IPK Gatersleben – Abteilung Genbank, Teilsammlungen Nord

Einleitung

Als Folge des allgemeinen Klimawandels wird die Bedeutung des Faktors Trockenheit in der Pflanzenproduktion in Zukunft weiter zunehmen. Aktuelle Klimasimulationen gehen davon aus, dass es neben einem Anstieg der Durchschnittstemperaturen zu einer Häufung von Wetterextremen wie Starkniederschläge und Dürreperioden kommen wird, wobei sich weniger die absolute Niederschlagsmenge als vielmehr die regionale und saisonale Verteilung der Niederschlagsmengen verändern wird. In Bayern soll beispielsweise die Niederschlagsmenge des Sommerhalbjahres in etwa gleich bleiben, je nach Region wird jedoch die Anzahl der Trockentage zwischen April und August zunehmen. Ein zweiter Effekt entsteht durch ein Ansteigen der Durchschnittstemperatur im Winterhalbjahr. Dadurch fallen mehr Niederschläge in Form von Regen und die Zwischenspeicherung in fester Form geht zurück, was wiederum Auswirkungen auf die Wasserversorgung im Frühjahr hat. Die Pflanzenproduktion muss daher künftig an eine zunehmende Anzahl an zeitlich begrenzten Trockenheitsereignissen angepasst werden. Besonders in mehrjährigen Kulturen, wie dem Dauergrünland werden mehrere Vegetationsperioden mit unterschiedlichen Stressbedingungen, die auf die Pflanzen einwirken, durchlaufen. Hinzu kommt, dass Grünland häufig auf Grenzstandorten mit suboptimalen Wachstumsbedingungen zu finden ist, darunter auch Gebiete, die bereits jetzt durch Trockenheit gekennzeichnet sind.

Zur Anpassung an die sich aus dem Klimawandel ergebenden veränderten Rahmenbedingungen gibt es verschiedene Lösungsansätze. Eine künstliche Bewässerung kommt gerade auf Grünlandflächen aus wirtschaftlichen Gründen häufig nicht in Frage. Daher liegt die nachhaltigste Strategie den Problemen zu begegnen in der Entwicklung neuer, trockentoleranter Sorten. Da das Merkmal „Ertrag unter Trockenstress“ stark von Umweltbedingungen beeinflusst ist und daher bei der direkten Selektion auf dieses Merkmal nur geringer Zuchtfortschritt zu erwarten ist, werden im Rahmen des vorgestellten Projektes die Grundlagen zur Entwicklung von molekularen und physiologischen Markern für die Selektion trockentoleranter Genotypen gelegt. Diese sollen einerseits selbst einen hohen Zuchtfortschritt erwarten lassen und zum anderen eng mit dem Zielmerkmal korreliert sein. Als Modellpflanze dient in diesem Projekt das Deutsche Weidelgras (*Lolium perenne* L.), das zwar relativ die höchste Vorzüglichkeit un-

ter den Futtergräsern besitzt, jedoch nur eine mäßige Trockentoleranz. Um diese Vorzüglichkeit von Deutschem Weidelgras unter sich ändernden Klimabedingungen weiter nutzen zu können, besteht bei dieser Grasart der größte Handlungsbedarf. Die in diesem Projekt identifizierten Selektionsmerkmale besitzen dabei Modellcharakter und können auf die Trockentoleranzzüchtung anderer Grasarten übertragen werden.

Projektbeschreibung

Das vorgestellte Forschungsvorhaben gliedert sich in fünf verschiedene Arbeitspakete. Nukleus des gesamten Projektes ist Arbeitspaket 1, das eine Kollektion von 200 verschiedenen Akzessionen umfasst, die sich aus 186 Sorten und Genbankakzessionen von Deutschem Weidelgras, zehn *Festulolium*- sowie je zwei Rohr- und Wiesenschwingelsorten zusammensetzen und an fünf trockengefährdeten Feldversuchsstandorten geprüft werden. Die untersuchten Akzessionen von Deutschem Weidelgras aus der Genbank des IPK-Gatersleben umfassen dabei historisches Sortenmaterial, sowie Wildsammlungen u.a. aus Deutschland, Frankreich, Irland, Bulgarien, Kroatien, Ungarn, der Türkei und dem Iran. Ein Teil dieser Ursprungsländer ist dabei gekennzeichnet durch geringe Jahresniederschläge oder ausgeprägte Sommertrockenheit. Ergänzt wird das Sortiment durch aktuelle Sorten und Sortenkandidaten der beteiligten Züchtungsunternehmen. Ausgehend von ersten Ergebnissen zur Trockenstresstoleranz aus dem Versuchsjahr 2012, wurden für Arbeitspaket 3 50 in ihrer Trockenstressreaktion diverse Akzessionen selektiert und jeweils 40 Klone in Rain-out Shelter Anlagen auf der Insel Poel und in Pulling bei Freising auf ihre Trockentoleranz getestet. Das gleiche Sortiment wird dazu verwendet, Untersuchungen im Rahmen von Arbeitspaket 4 durchzuführen, die die Sämlingsentwicklung unter simulierten Trockenstressbedingungen im Labor und Gewächshaus zum Gegenstand haben (Bearbeitung bei Dr. A. Schum; JKI). Im Einzelnen wurden Keimungsversuche unter simulierten Trockenstressbedingungen, Untersuchung der Sämlingsentwicklung unter simuliertem Trockenstress, die Bestimmung des Wassersättigungs- und Resaturationsdefizits von isolierten Blättern sowie die Pflanzenentwicklung unter simuliertem Trockenstress in Hydrokultur im Gewächshaus untersucht. Ein Teilsortiment von 20 dieser 50 Akzessionen wird zudem im Rahmen von Arbeitspaket 2 an vier Feldversuchsstandorten einer dreijährigen Leistungsprüfung an trockenheitsgefährdeten Feldstandorten unterzogen. Arbeitspaket 5 integriert die auf verschiedenen Skalenebenen gewonnenen Ergebnisse in Form einer gemeinsamen Auswertung. Im Rahmen der Rain-out Shelter- und Feldversuche wurden neben quantitativen Ertragsparametern im Hochdurchsatz durchzuführende visuelle Bonituren der Trockenstressreaktion, der Massenbildung und des Gesundheitszustandes der Pflanzen erhoben.

Ergebnisse und Diskussion

Die Versuche von Arbeitspaket 1 wurden im Herbst 2011 an den potentiellen Trockenstandorten Kaltenhof, Malchow, Bocksee, Triesdorf und Les Rosiers (F) als 20 x 10 Alphagitter angelegt und im Nutzungsjahr 2012 erste Daten erhoben. Auf der Basis der Trockenstressboniturenim August 2012 am Standort Triesdorf wurden 50 möglichst diverse Akzessionen für die Rain-out Shelter und Laborprüfungen selektiert (siehe Abbildung 1, hell- und dunkelgrüne Balken), sowie darin enthalten 20 Akzessionen, die in Leistungsprüfungen unter Trockenstressbedingungen getestet werden (siehe Abbildung 1, dunkelgrüne Balken). Beispielhaft ist am Merkmal Massenbildung nach Schnitt 4 aus dem Jahr 2013 gezeigt, dass die Selektion erfolgreich war und eine breite Variation der Trockentoleranz für die Arbeitspakete 2, 3 und 4 selektiert werden konnte. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die mehrortig erhobenen Daten in Arbeitspaket 1 in der Vegetationsperiode 2013 (2. Nutzungsjahr).

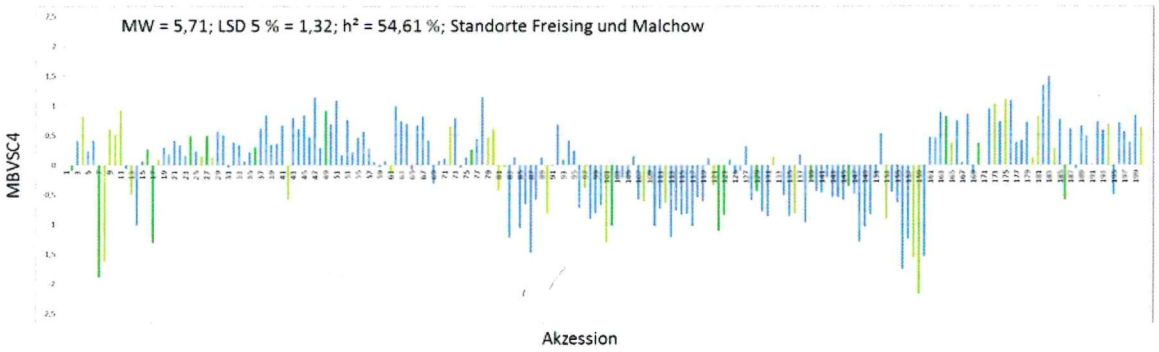

Abbildung 1: Massebildung nach Schnitt 4 (MBVSC4) dargestellt als Abweichung vom Gesamtmittel. Hellgrün gekennzeichnete Akzessionen sind in Arbeitspaket 3, dunkelgrün gekennzeichnete Akzessionen in den Arbeitspaketen 2 und 3.

Tabelle 1: Heritabilitäten und Signifikanz der Varianzkomponenten der einzelnen Merkmale in der mehrortigen Verrechnung in Arbeitspaket 1, Vegetationsperiode 2013

Merkmal	**Versuchsort**								
	MAL	**KAL**	**ROS**	**TRS**	**BOR**	**h^2**	**σ^2_G**	**σ^2_L**	**σ^2_{GL}**
MBANF	X	X				86,06	**	+	**
MBVSC1		X		X		69,47	**	**	**
MBVSC2		X		X		59,77	**	**	**
MBVSC2 (3 Orte)	X	X		X		70,52	**	**	**
MBVSC4		X		X		54,61	**	-	**
MBNSC2		X		X		54,19	**	**	**
DURESD		X	X	X		0,00	-	**	**

Merkmale: MBANF – Massenbildung in der Anfangsentwicklung; MBVSC1, MBVSC2, MBVSC4 – Massenbildung vor Schnitttermin 1, 2 bzw. 4; MBNSC2 – Massenbildung 10 Tage

nach Schnitttermin 2; DURESD – visuelle Trockenstressbonitur; MAL: Malchow; KAL: Kaltenhof; ROS: Les Rosiers sur Loire (F); TRS: Triesdorf; BOR: Bornhof; h^2: Heritabilität [%]; σ^2_G: Varianzkomponente des Genotyps; σ^2_L: Varianzkomponente des Ortes; σ^2_{GL}: Varianzkomponente der Interaktion Genotyp x Ort; ** p<0,01; * p<0,05; +: p<0,10; - fehlend

Auffällig ist, dass in diesem Versuchsjahr das Merkmal visuelle Trockenstressbonitur (DURESD) trotz signifikanter genotypischer Varianz und z.T. hoher Wiederholbarkeiten an den Einzelstandorten (57,9 % am Standort ROS) in der mehrortigen Auswertung keine Heritabilität besitzt. Als geeigneteres Merkmal zum Vergleich der Trockenstressantwort über Umwelten hinweg wurde die visuelle Bonitur der Massenbildung identifiziert, die sowohl am Einzelstandort gute Wiederholbarkeiten zeigte, als auch über Umwelten hinweg verrechnet. Im Vergleich der am Standort Triesdorf in Kleinparzellen durchgeführten Ertragsbestimmungen und den visuellen Massenbildungsbonituren konnte festgestellt werden, dass die visuelle Massenbildungsbonitur auch höhere Wiederholbarkeiten liefert, als die quantitative Ertragsbestimmung an Kleinparzellen. Als Beispiel sei hier die Massenbildung vor Schnitttermin 4 in der Vegetationsperiode 2013 dargestellt, die sich nach mind. einer Trockenstressperiode während der Vegetationszeit anschließt (Verrechnung über die Versuchsstandorte Kaltenhof und Triesdorf). Hinsichtlich dieses Merkmals konnten die tetraploiden Vertreter signifikant mehr Masse bilden als die diploide Materialgruppe (siehe Abbildung 2 A). Gleichzeitig ist erkennbar, dass in der tetraploiden Materialgruppe weniger Variation für das Merkmal vorhanden ist. Hinsichtlich des Blühzeitpunktes sind die Unterschiede in der Massenbildung weniger stark ausgeprägt (siehe Abbildung 2 B), das heißt es wird möglich sein, sowohl früh, als auch spät-blühende Genotypen mit guter Trockentoleranz zu selektieren.

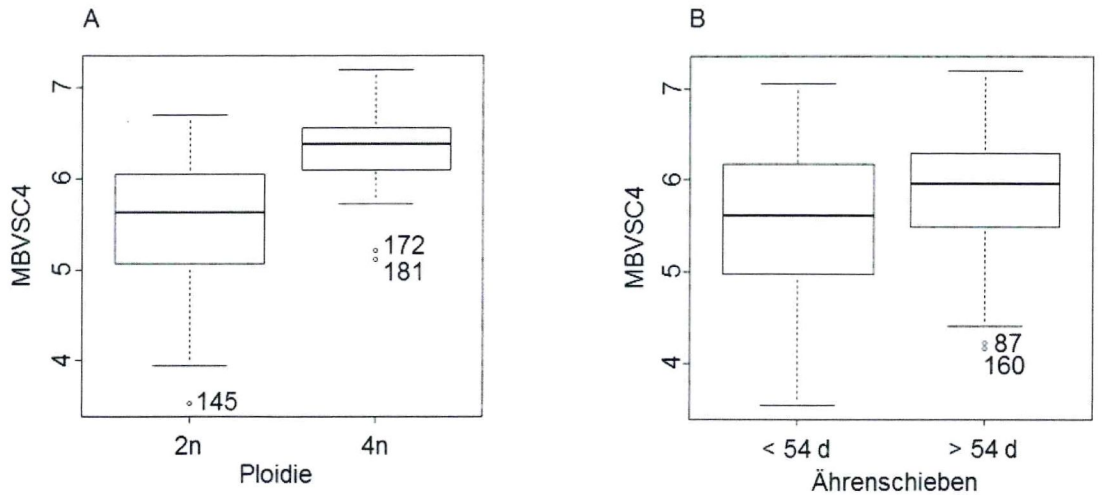

Abbildung 2: visuelle Bonitur der Massenbildung vor Schnitttermin 4 (MBNSC4) im Jahr 2013 verrechnet über die Versuchsstandorte Kaltenhof und Triesdorf. A: diploide und tetraploide Akzessionen, B: früh und spätblühende Akzessionen

In Arbeitspaket 2 wurden neben visuellen Bonituren mehrortig Ertragsbestimmungen durchgeführt. In der Verrechnung über vier Versuchsstandorte konnten dabei sehr hohe Heritabilitäten zwischen 93,3 % und 96,2 % für die quantitativen Ertragsparameter ermittelt werden. Dabei konnten zwischen den visuellen Bonituren der Massenbildung in den quantitativen Ertragsdaten z.T. hohe Korrelationen gefunden werden. Abbildung 3 zeigt beispielhaft die Ertragsmessung am Standort Triesdorf im Jahr 2013.

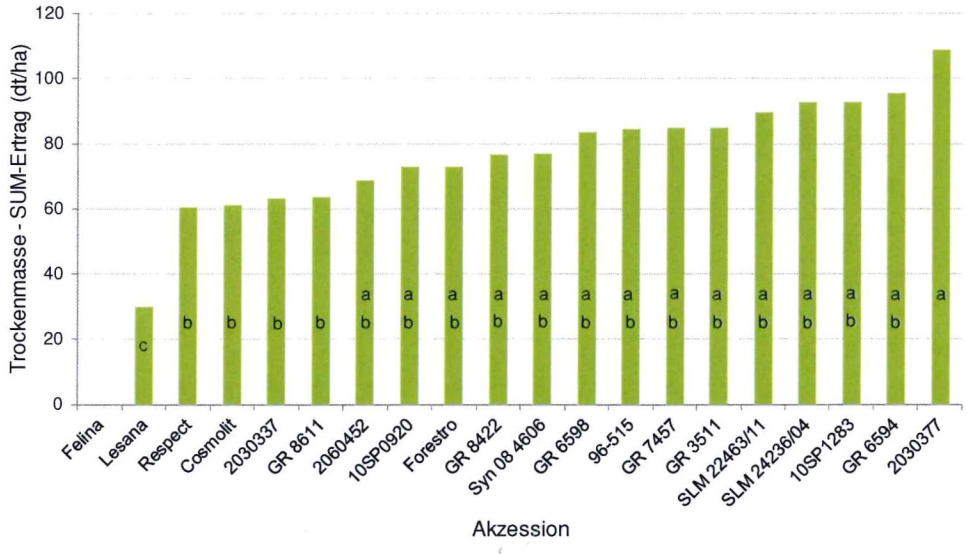

Abbildung 3: Summe der Trockenmasseerträge aus Schnitt 2 und 4 der Leistungsprüfung (Arbeitspaket 2) am Standort Triesdorf in 2013 (SAS; adjustierte Mittelwerte, Prozedur GLM, SNK-Test, $\alpha = 0,05$).

In Arbeitspaket 3 wurden von den 50 in Arbeitspaket 1 selektierten Akzessionen jeweils 40 Pflanzen umfassende Populationen verklont, so dass in den Rain-out Shelterversuchen in Malchow und Pulling/Freising identische Individuen und Populationen unter künstlichen Trockenstressbedingungen getestet werden konnten. Ziel war, die Trockentoleranz sowohl auf Akzessionsebene, als auch auf der Basis von Einzelklonen zu erfassen. In der Vegetationsperiode 2013 wurden zwei Trockenstressphasen angelegt. Die erste Trockenstressphase sollte eine Frühjahrstrockenheit vor Schnitttermin 2 simulieren, wie sie häufig in Franken und anderen Gebieten Süddeutschlands auftritt. Die zweite Trockenstressphase wurde auf Mitte Juli terminiert und sollte die häufig im Osten Deutschlands auftretende Frühsommertrockenheit abbilden. Vor und zwischen diesen Zeitpunkten wurden die Pflanzen jeweils optimal mit Wasser versorgt. Sowohl die auf Klonbasis als auch auf Parzellenbasis erhobenen Parameter zeigten in der Verrechnung über die beiden Versuchsstandorte alle signifikante genotypische Varianz und größtenteils hohe Heritabilitäten. Die Ergebnisse zeigten wiederum, dass vor allem die Heranziehung der Massenbildungsbonituren für die Bewertung der Akzessionen zielführend ist. Zum einen können die Massenbildungsbonituren sowohl auf Parzellen- als auch auf Ein-

zelklonbasis erhoben werden und auf diese Weise die Variation sowohl innerhalb einer Akzession, als auch zwischen Akzessionen erfasst werden. Zum anderen zeigten die Massenbildungsbonituren höhere Wiederholbarkeiten und gute Korrelationen zwischen den beiden Versuchsstandorten (siehe Abbildung 4) als dies beispielsweise bei der visuellen Trockenstressbonitur der Fall ist.

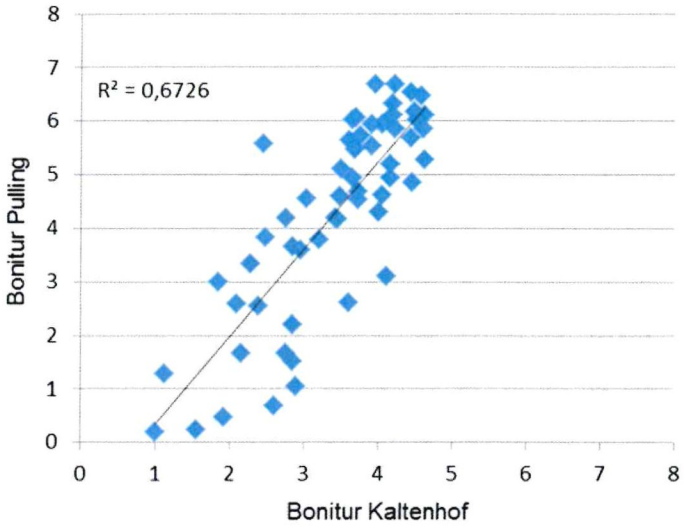

Abbildung 4: Vergleich der Bonitur Massenbildung vor Schnitttermin 6 (MBVSC6) zwischen den Standorten Foliengewächshaus Kaltenhof und Foliengewächshaus Pulling im Jahr 2013

Nach zwei Trockenstressphasen im Jahr 2013 zeigte sich eine starke Differenzierung in der Überlebensrate der einzelnen Akzessionen. Abbildung 5 verdeutlicht dies durch einen Blick in den Rain-out Shelter Freising zu Beginn der Vegetationsperiode 2013 und im Vergleich dazu im April 2014.

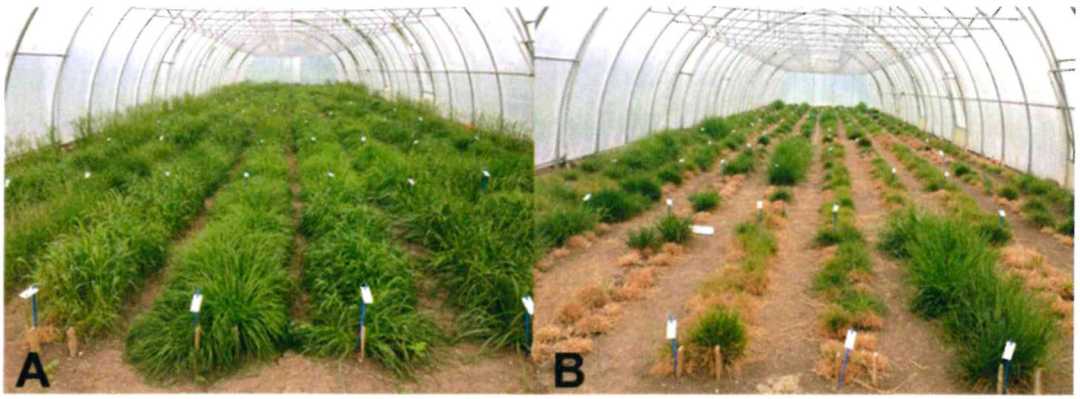

Abbildung 5: Pflanzenbestand im Rain-out-Shelter (A) im Frühjahr 2013 nach Pflanzung im Herbst 2012; (B) im April 2014 nach zwei Trockenstressperioden 2013 und Überwinterung.

Basierend auf den bisher erhobenen phänotypischen Daten wurden überwiegend auf Basis der visuellen Massenbildungsbonitur in Arbeitspaket 3 trockentolerante und trockenanfällige Einzelklone selektiert, die zum Aufbau spaltender Kreuzungspopulationen verwendet werden

sollen. Die trockentoleranten Klone reagieren dabei auf eine Trockenheitsphase mit einem relativ geringen Rückgang der Massenbildung und einer schnellen Regeneration nach Wiederbewässerung. Die anfälligen Klone hingegen zeigen einen starken Rückgang in der Massenbildung und eine zögerliche Erholung nach dem Aufwässern (siehe Abbildung 6).

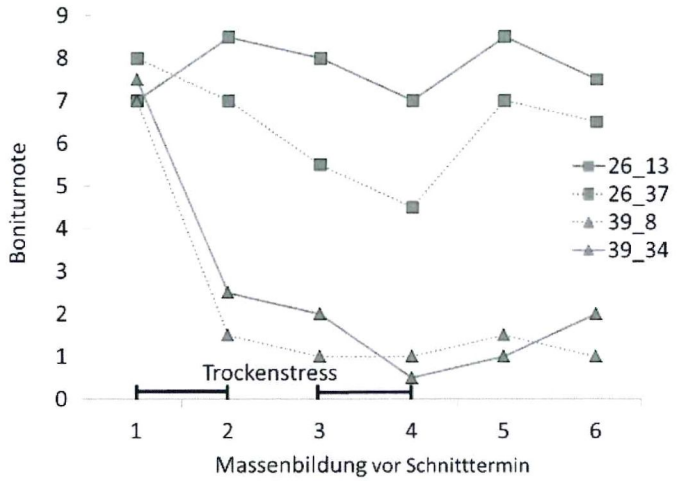

Abbildung 6: Massenbildung von 4 verschiedenen Klonen zu jeweils 6 Schnittterminen über das Jahr 2013 verteilt. Verrechnung über die Rain-out Shelter Standorte Malchow und Freising. quadratische Symbole: potentiell trockentolerante Genotypen; dreieckige Symbole: potentiell trockenstressanfällige Genotypen

In Arbeitspaket 4 wurden an den 50 Akzessionen, die auch in Arbeitspakt 3 untersucht werden verschiedene Versuche unter Labor- und Gewächshausbedingungen durchgeführt. Die Untersuchung des Wassersättigungs- und Resaturationsdefizits von Blättern als Maß des Osmoregulationsvermögens an 26 Akzessionen ergab signifikante genotypische Unterschiede zwischen den Akzessionen. Eine abschließende Bewertung des Merkmals wird möglich sein, wenn Daten zu allen Akzessionen vorliegen. Auch die Untersuchung der Pflanzenentwicklung unter simuliertem Trockenstress ergab für 30 Akzessionen signifikante genotypische Unterschiede beim Merkmal Biomasseentwicklung, wobei es Hinweise gibt, dass unter Trockenstressbedingungen das Sprosswachstum zugunsten der Wurzelentwicklung zurückbleibt.

Ausblick

Es ist geplant, die Kreuzungsnachkommen in Feld- und Rain-out Shelter Versuchen auf ihre Trockentoleranz zu testen. Ergänzt werden soll die Phänotypisierung durch die Untersuchung der Kreuzungseltern mit pflanzenphysiologischen Methoden, wie der ^{13}C-Kohlenstoffisotopenanalyse, die ein Maß für die Wassernutzungseffizienz der Pflanzen darstellt. Außerdem ist geplant, die spaltenden Populationen mit DNA-Markern zu untersuchen, um Genomregionen, die Trockentoleranz vermitteln, aufzudecken und auf diese Weise die Züchtung trockentoleranter Sorten weiter zu beschleunigen.