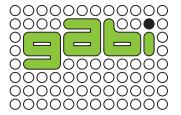


GENOMXPRESS

SONDERAUSGABE



Die Highlights aus der zweiten GABI Förderperiode 2004 – 2007

Bioinformatik, Technologien und Ressourcen,
Entwicklung und Differenzierung, Stressantworten,
Qualität und Ertrag



Editorial

Liebe Leserinnen und Leser

mit dieser Sonderausgabe des GenomX-Press machen wir Sie mit den Forschungs- und Entwicklungsergebnissen des deutschen Pflanzengenomprogramms GABI in dessen zweiter Förderperiode von 2004 bis 2007 in konzentrierter Form vertraut. Der Zeitpunkt ist bewusst gewählt. Das Sonderheft erscheint zum 7. GABI Statusseminar in Potsdam und unmittelbar vor dem Start von GABI-FUTURE im Rahmen der Hightech Strategie der Bundesregierung.

Mit den Highlights stellen wir die Forschungscluster in GABI prägnant und kondensiert vor und berichten über deren Ergebnisse,

Sie bekommen einen hervorragenden Überblick über die geleistete Arbeit in einem spannenden und innovativen Forschungsfeld

Durch GABI gelang es die „Versäulung“ der Forschungslandschaft aufzubrechen. Molekularbiologen arbeiten mit Agrarwissenschaftlern, Phytopathologen, Bioinformatikern und Pflanzenzüchtern in Forschungsclustern zusammen. Damit unterstreicht die Genomforschung die Interdisziplinarität moderner Wissenschaft. GABI Projektverbände integrieren Universitäten, Institute der Max-Planck-, der Leibniz- oder der Fraunhofergesellschaft sowie die Forschungslaboratorien der Industrie. Mit Fug und Recht können wir behaupten, gelebte „Public-

Private“-Partnerschaft entwickelt zu haben. Die bereits an GABI beteiligten Firmen bilden eine breite Palette der Wertschöpfungskette ab. Global aufgestellte agrochemische Konzerne, mittelständische Pflanzenzuchtbetriebe, Betriebe der Nahrungsmittel- und Energiewirtschaft und so genannten „Start-Up“ Unternehmen, d.h. Neugründungen, die aus Forschungsprojekten heraus entstanden sind, wurden zum integralen Bestandteil von GABI. Diese Partnerschaften weiter auszubauen und entsprechend sich verändernder Wertschöpfungsketten in Richtung einer auf biologischem Wissen aufbauenden, nachhaltigen Ökonomie zu entwickeln, wird die zentrale Aufgabe von GABI-

Inhalt

Editorial2
Inhalt2

Bioinformatik

GABI-MATRIX: »Archäologische« Arbeiten an Pflanzengenomen ... 4
GABI-BRAIN: Sicherung des Wissenstransfers aus den GABI-Projekten in die züchterische Praxis5
GABI-MAPMAN: Datenmengen aus Transkriptions- und Metabolitenprofilen gezielt strukturieren und in ihrem natürlichen Kontext abbilden6
GABI-PD: Integration von Pflanzengenomdaten7
GABI-PLASMAR: Kleine RNA-Moleküle und ihre Rolle bei der pflanzlichen Reaktion auf Umweltfaktoren8
GABI-ARAMEMNON: Datenbank für pflanzliche Membranproteine ...9

Technologien und Ressourcen

GABI-NATURAL-DIVERSITY durchleuchtet weltweite Populationen der Ackerschmalwand nach agronomisch wichtigen Merkmalen10
GABI-BEET-PHYSICAL-MAP: Genomkartierung ermöglicht detaillierten Einblick in die Erbinformation Zuckerrübe11

GABI-KAT: Mutantensammlung für die funktionelle Genomforschung bei *Arabidopsis thaliana*12

GABI-AB-QTL: Ertragreicher, widerstandsfähiger, schmackhafter: Weizen durch Kreuzung mit seinen wilden Vorfahren verbessern ...13

GABI-METABOLOMICS: Pflanzliche Stoffwechseleränderungen identifizieren und für die Pflanzenzüchtung zugänglich machen14

GABI-TILL: Zentrale Plattform zur funktionalen Untersuchung von Leitgenen in Feldfrüchten mit Hilfe der TILLING-Technologie ...15

Entwicklung und Differenzierung

GABI-ARABIDO-SEED: Wie steuern Transkriptionsfaktoren die Samenentwicklung bei Pflanzen?16

GABI-MAIZE-TF: Vom Modellorganismus zur Nutzpflanze: Wie übertragbar sind Daten aus dem Modellsystem Ackerschmalwand auf Nutzpflanzen wie etwa Mais?17

GABI-REGULATORS: GABI-REGULATOR identifiziert regulatorische Abschnitte in Startsequenzen von Genen18

GABI-SEED: Genetische Grundlagen komplexer agronomischer Merkmale im Getreidekorn entschlüsseln19

GABI-RYE-BARLEY-DIVERSITY: Von der Genomik zur genetischen Diversität: Zusammenhang zwischen genetischer Vielfalt und Merkmalsvariationen bei Getreide20

FUTURE werden. Bereits jetzt haben wir hierfür hervorragende Grundlagen gelegt.

Die in GABI gelebte Partnerschaft zeichnet sich durch die Verzahnung von Basis-, und anwendungsorientierter Forschung aus. Machen Sie die Probe auf's Exempel und versuchen Sie beim Lesen in diesen Rubriken zu denken – es wird Ihnen schwerfallen Trennlinien zu ziehen! Lineare Vorstellungen, wie „heute an Grundlagen um morgen an Produkten zu forschen“, funktionieren nicht mehr. Diese Prozesse laufen heute zeitgleich ab und müssen deshalb auch zeitgleich weiterentwickelt werden. Auch hierfür ist GABI zum exzellenten Beispiel geworden. Treibende Kraft bleibt es dabei auch in GABI-

FUTURE, den Herausforderungen der Zukunft mit kreativen Antworten zu begegnen.

Zu einem Meilenstein von GABI entwickelte sich seit 2001 die internationale Zusammenarbeit. Diese Internationalen Verbünde gliedern sich organisch in GABI ein. Um dies deutlich zu machen, haben wir auf eine spezielle Rubrik unserer internationalen Aktivitäten verzichtet. Internationale Projekte sind einfach GABI.

Wem dieser Überblick Lust auf mehr bereitet, dem empfehlen wir das Stöbern auf den GABI Webseiten. Ausführliche Beiträge zu ausgewählten Projekten finden Sie im GenomX-Press Archiv unter www.gabi.de. In einigen Wochen wird auch ein Progress Report publi-

ziert. Dieser wird die Ergebnisse der zweiten Förderperiode ausführlich darstellen und richtet sich primär an ein wissenschaftliches Fachpublikum. Umso bedeutsamer sind für uns die vorliegenden Highlight Berichte, da diese das deutsche Pflanzengenomprogramm GABI einer breiten Öffentlichkeit zugänglich machen.

Im Namen des gesamten GABI Netzwerkes wünsche ich Ihnen viel Spaß beim Lesen mit zahlreichen Aha-Effekten. Mit fröhlichen Grüßen aus Potsdam,

Jens Freitag

GABI-GENOSOME: Ertrag und Lagerfähigkeit von Kartoffeln und Tomaten verbessern 21

Stressantworten

GABI-DILEMA: Variationen von pflanzlichen Resistenzmerkmalen als Basis für die Züchtung krankheitsresistenter Sorten nutzen 22

GABI-AGROTEC: Genetische Mechanismen bei der Abwehr von Fusariumpilzen in Getreidezellen liefern Grundlagen zur gezielten Verbesserung der Krankheitsresistenz 23

PRO-GABI: Pflanzliche Abwehrmechanismen gegen Pilzbefall gezielt einschalten 24

GABI-LIGNIN-METABOLIC-PATHWAY: Funktion von pflanzlichem Lignin: Besteht ein Zusammenhang zwischen Ligningehalt und Krankheitsresistenz? 25

GABI-CORE-GRAPE-GENE: Natürliche genetische Vielfalt der Weinrebe für die Züchtung von pilzresistenten Sorten erschließen 26

GABI-DIGENFOR: Wie lassen sich Waldbäume besser an den Klimawandel anpassen? 27

GABI-COOL: Aus der Wärme in die Kälte – Züchtung kältetoleranter Maissorten 28

Qualität und Ertrag

GABI-EVAST: Evaluation der Kraft von AssoziationsTests im Vergleich zur QTL-Kartierung 29

GABI-SUGAR-BEET-SEED: Saatgutqualität bei Zuckerrüben verbessern: Mit Hilfe von Markern Qualitätsprofile von Saatgutpartien erstellen 30

GABI-COMPARATIVE-GENOMICS: Wertvolles Rapsprotein für die menschliche Ernährung erschließen 31

GABI-BRIDGE: Die Brücke von Sequenz zu Ölgehalt und Resistenz: DNA-Unterschiede kontrollieren agronomisch wichtige Merkmale bei Raps 32

GABI-MALT: Entwicklung von molekularen Markern zur gezielten Auswahl von Gerstensorten mit hoher Brauqualität 33
Molekularbiologische Analyse von Kandidatengenomen für Malzqualität bei Gerste 34
Zurück zu den genetischen Ursprüngen – Gerstenmalz durch die Kreuzung mit wilden Gersten verbessern ... 35

GABI-GENMETFRUQUAL: Molekularbiologische Grundlagen zur Verbesserung der Fruchtqualität von Tomaten 36

GABI-CHIPS: Assoziations-Kartierung als Basis für gezielte Züchtung von verbesserten Kartoffelchips-Sorten 37

Glossar 38

Science Digest 40

Impressum 44

Bioinformatik

GABI-MATRIX: »Archäologische« Arbeiten an Pflanzengenomen

Georg Haberer, Rémy Bruggmann, Heidrun Gundlach, Hans Werner Mewes und Klaus Mayer

MIPS/Institut für Bioinformatik des Forschungszentrums für Umwelt und Gesundheit (GSF) in Neuherberg

Die Sequenzierung von tierischen und pflanzlichen Genomen macht immer weitere Fortschritte. Die Bioinformatik sorgt dafür, dass die dabei erzeugten riesigen Datenmengen schnell und effizient ausgewertet und interpretiert werden können. Auch eine Stufe weiter, bei der detaillierten Analyse der entschlüsselten Genome, sind bioinformatische Methoden hilfreich. So hat die von Dr. Klaus Mayer geleitete Arbeitsgruppe „Pflanzliche Genomforschung“ am MIPS/Institut für Bioinformatik des Forschungszentrums für Umwelt und Gesundheit (GSF) im Rahmen des GABI-MATRIX-Projektes ausgewählte Abschnitte des Erbguts von Mais und Reis verglichen, um Einblick in die Evolution dieser beiden zu den Gräsern gehörenden Nutzpflanzen zu gewinnen. Eine solche „Genom-Archäologie“ ist auch für die moderne landwirtschaftliche Züchtungsarbeit von Interesse, denn beide Pflanzen sind weltweit bedeutende Grundnahrungsmittel.

Konkret sind die Wissenschaftler der Fragestellung nachgegangen, wie sich das bei Pflanzen im Laufe der Evolution oft auftretende Phänomen der Polyploidisierung, der Verschmelzung von zwei unterschiedlichen Genomen, auswirkt. Viele pflanzliche Organismen durchliefen in ihrer Evolution polyploide Phasen mit anschließender Reorganisation zum diploiden, also doppelten Chromosomensatz, wie er auch für die meisten Tiere typisch ist. Als Folge der Rückbildung finden sich im diploiden Genom viele duplizierte Regionen mit ähnlichen Sequenzmerkmalen und korrespondierender genetischer Information. So

auch beim heute diploiden Mais, der vor fast fünf Millionen Jahren aus einem Vorfahren mit vierfachem (tetraploiden) Chromosomensatz entstanden ist.

Das GABI-MATRIX-Team hat einerseits korrespondierende Regionen zweier Chromosomen von Mais miteinander und andererseits mit der entsprechenden Region beim Reis verglichen. Im Gegensatz zum Mais hat das Reisgenom keine Duplikation erfahren, weshalb diese Region hier nur einmal vorkommt.



Abb. 1: Schematische Darstellung der Strukturunterschiede bei den untersuchten, korrespondierenden Regionen im Maisgenom.

Die für das Pilotprojekt notwendigen Sequenzierungen wurden von amerikanischen Partnern hauptsächlich an der Rutgers University in New Jersey vorgenommen, Analytik und Auswertung der Daten im Wesentlichen vom GABI-MATRIX-Team des MIPS.

Die Frage war: Wie gut stimmt die Struktur zum einen innerhalb der beiden Maisregionen und zum anderen zwischen den Regionen Mais und Reis überein? Das Ergebnis: Im Maisgenom nehmen manche Bereiche der einen Chromosomenregion mehr oder auch weniger Raum ein als die entsprechenden Bereiche auf dem anderen Chromosom (Abb. 1). Hervorgerufen werden die Größenänderungen durch Verlust oder Einbringen von Bausteinen. Diese unterliegen keiner bisher erkennbaren Regel.

Im Reisgenom fehlen etwa zehn Prozent der Gene in den untersuchten Maisregionen völlig, ungefähr 20 Prozent finden sich an anderen Stellen im Genom. Innerhalb des Maisgenoms sind die Gene erstaunlich mobil: 20 bis 25 Prozent sind irgendwann im Laufe der Evolution an einen anderen Ort „gesprungen“. Zwei Drittel der ursprünglichen Gene des vierfachen Chromosomensatzes sind in den untersuchten Regionen ganz verschwunden.

Korrespondierende Gene können demzufolge an völlig verschiedenen Stellen im Genom liegen. Moderne Pflanzenzüchtung, die gezielt Pflanzen mit bestimmten Eigenschaften zu züchten versucht, kann sich diese Erkenntnisse zunutze machen. Die Abfolge der genetischen Bausteine und Gesetzmäßigkeiten ihres Verhaltens im Erbgut von Mais zu verstehen, ist zudem nützlich für das Entschlüsseln der Genome anderer, ähnlicher Nutzpflanzen.

GABI-BRAIN: Sicherung des Wissenstransfers aus den GABI-Projekten in die züchterische Praxis

Martin Heckenberger, Andreas Büchse, Hans Peter Maurer, Vilson Mirdita, Jens Möhring, Jasmina Muminovic, Hans-Peter Piepho, Jochen C. Reif, Benjamin Stich, Matthias Frisch, Friedrich Utz und Albrecht E. Melchinger Universität Hohenheim

Dieter Stelling Deutsche Saatveredelung Lippstadt-Bremen GmbH

Axel Schechert Fr. Strube Saatzucht KG

Heinrich Wortmann Hybro Saatzucht GmbH & Co. KG

Arndt Zacharias KWS Saat AG

Felix Dreyer Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg-Lembke KG

Axel Schechert A. Dieckmann-Heimburg Saatzucht Sülbeck

Eckhard Tacke Böhm Nordkartoffel Agrarproduktion oHG

Erhard Ebmeyer Lochow-Petkus GmbH

Erich Knopf Pflanzenzucht Dr. h.c. Carsten - Inh. Erhardt Eger KG

Josef Breun Saatzucht Josef Breun GbR

Stefan Streng Saatzucht Streng GmbH & Co. KG

Jens Lübeck Saka-Ragis Pflanzenzucht GbR

Frank Lichert Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V.

Ziel von GABI ist es, umfassende Informationen über die Struktur und Funktion von pflanzlichen Genen beziehungsweise des gesamten Genoms bedeutsamer Nutzpflanzen bereitzustellen. Doch damit die wertvollen Forschungsergebnisse Pflanzenzüchtern bei ihrer täglichen Arbeit tatsächlich zu Gute kommen können, müssen die wachsenden GABI Ressourcen auch effizient gespeichert und verwaltet werden. Dieser Aufgabe haben sich Wissenschaftler der Universität Hohenheim gemeinsam mit Industriepartnern im Rahmen des Projektes GABI-BRAIN angenommen und ein integriertes Datenbanksystem aufgebaut. Damit können übergreifend über alle untersuchten Kulturarten phänotypische und genomische Daten aus Zuchtprogrammen gespeichert, validiert und später ausgewertet werden.

Ein weiterer Schwerpunkt von GABI-BRAIN ist eine vom Projektteam entwickelte Software, die sich zur praxisnahen Simulation einzelner Züchtungsschritte und sogar ganzer Zuchtprogramme einsetzen lässt. Damit können Pflanzenzüchter zu Beginn eines Zuchtprogramms beispielweise die optimale Strategie für Auswahl vielversprechender Pflanzen ermitteln. Dies ist insbesondere dann hilfreich,

wenn es gilt, mehrere neue Eigenschaften in eine Sorte einzubringen. Auch ein Effizienzvergleich verschiedener Züchtungsmethoden ist mit der Software möglich.

Dritter Baustein von GABI-BRAIN sind statistische Methoden und Software, die den Anwender bei der Kartierung der Erbinformation von pflanzlichem Zuchtmaterial unterstützen.

Derartige

Kartierungen sind erforderlich, um Aufschluss über die Position von bestimmten, funktionalen Sequenzen im Genom zu erhalten.

Als Ausgangsmaterial zur Datenbank- und Softwareentwicklung nutzte das Team der Universität Hohenheim umfangreiche und speziell für dieses Projekt erhobene phänotypische und genomische Daten aus Zuchtprogrammen bei Nutzpflanzen. Zudem sind Informationen zur Struktur und Dimension der jeweiligen Daten eingeflossen. Damit hat das BRAIN-Team sichergestellt, dass Methoden und Software praxisbezogen entwickelt und kulturartenübergreifend einsetzbar sind.

Das Projekt entwickelt eine IT-gestützte Pipeline für den Transfer von Wissen, Technologien und Ressourcen aus vielen GABI-Projekten in die angewandte Pflanzenzüchtung. Durch das Anzapfen und Nutzen von GABI-BRAIN können Pflanzenzuchtunternehmen ihre Position im internationalen Saatgutmarkt entscheidend stärken. Nicht zuletzt durch dieses Projekt ist in Hohenheim ein international führendes Kompetenzzentrum für „Züchtungsinformatik“ im Entstehen begriffen, wofür im November 2006 ein seitens der Wirtschaft initiiertes Stiftungslehrstuhl für „Nutzpflanzenbiodiversität und Züchtungsinformatik“ eingerichtet wurde.



Abb. 1: Das GABI-BRAIN-Konsortium besteht aus drei universitären Forschergruppen und zwölf mittelständischen Züchtungsunternehmen.

GABI-MAPMAN: Datenmengen aus Transkriptions- und Metabolitenprofilen gezielt strukturieren und in ihrem natürlichen Kontext abbilden

Mark Stitt, Björn Usadel, Jan Hanneman, Yves Gibon, Dirk Walther und Daniel Weicht

Max-Planck-Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam-Golm

Die funktionelle Pflanzengenomik hat das Wissen um Funktionsweise und Regulation vieler pflanzlicher Stoffwechselwege maßgeblich erweitert und damit neuartige Forschungsansätze erst möglich gemacht. Mittlerweile lässt sich mittels der so genannten Mikroarray-Technologie die Aktivität von Tausenden von Genen in einer kleinen Probe gleichzeitig messen. Zusätzlich können auch Dutzende von kleinen Stoffwechsellmolekülen mittels chromatographischer und massenspektrometrischer Methoden erfasst werden. Einziger Haken: Die leistungsfähigen Methoden liefern so viele Daten,

dass der Anwender schnell den Überblick verlieren kann.

Deshalb haben Wissenschaftler am Max-Planck-Institut für Pflanzenphysiologie in Golm (MPI Golm) zusammen mit Mitarbeitern des Deutschen Ressourcenzentrums für Genomforschung und der Universität Potsdam im Rahmen des GABI-MAPMAN Projektes eine Softwarelösung – den IMAGEANNOTATOR – zur geordneten und systematischen Darstellung der Datenflut entwickelt. Dieses neuartige Auswertungssystem ermöglicht es, Gene und Stoffwechsellmoleküle in ihrem biologischen Kon-

text anzuzeigen. Das kann beispielweise ein spezifischer Stoffwechselweg oder eine Signalkaskade sein. Sind bei der Reaktion einer Pflanze auf einen sich ändernden Umweltfaktor mehrere, koordiniert antwortende Gene beteiligt, können diese gemeinsam dargestellt werden. Zur besseren Orientierung hinterlegt IMAGEANNOTATOR die Anzeigen mit Abbildungen der zugehörigen biologischen Prozesse. Insgesamt stehen derzeit zirka 50 Schemata und Übersichten von Stoffwechselwegen und weiteren Prozessen zur Verfügung. Wenn Genaktivitäten während Analysevorgängen nicht nur einmal, sondern mehrfach gemessen werden, kommt ein weiteres Tool der Software ins Spiel: Der IMAGEANNOTATOR wertet statistisch die biologische Zugehörigkeit – wie etwa Teil eines Stoffwechselwegs oder Signalprozesses – aus und stellt die Ergebnisse graphisch abstrakt dar.

Die erste Zuordnung der Gene zu Stoffwechselwegen, Signalkaskaden oder auch weiteren Prozessen übernimmt eine weitere Softwarekomponente, der so genannte SCAVENGER. Dabei werden zunächst computergenerierte Klassifizierungen vorgenommen und diese schließlich per Hand geprüft. Über tausend Kategorien stehen bereit. Als Modellpflanze zur Systementwicklung diente die Ackerschmalwand, da deren Genom vollständig bekannt ist. Im Anschluss wurden, ausgehend von dieser ersten Einordnung, Klassifizierungen für (vorhergesagte) Gene von vielen Nutzpflanzen, darunter etwa Gerste und Kartoffel, vorgenommen und diese im Zuge von neuen Forschungsergebnissen ständig angepasst.

Mit der neuen Software haben die Mitarbeiter des MPI Golm ein einzigartiges Auswertungsinstrument bereitgestellt. Der IMAGEANNOTATOR ist bereits bei vielen Unternehmen und Instituten erfolgreich im Einsatz.

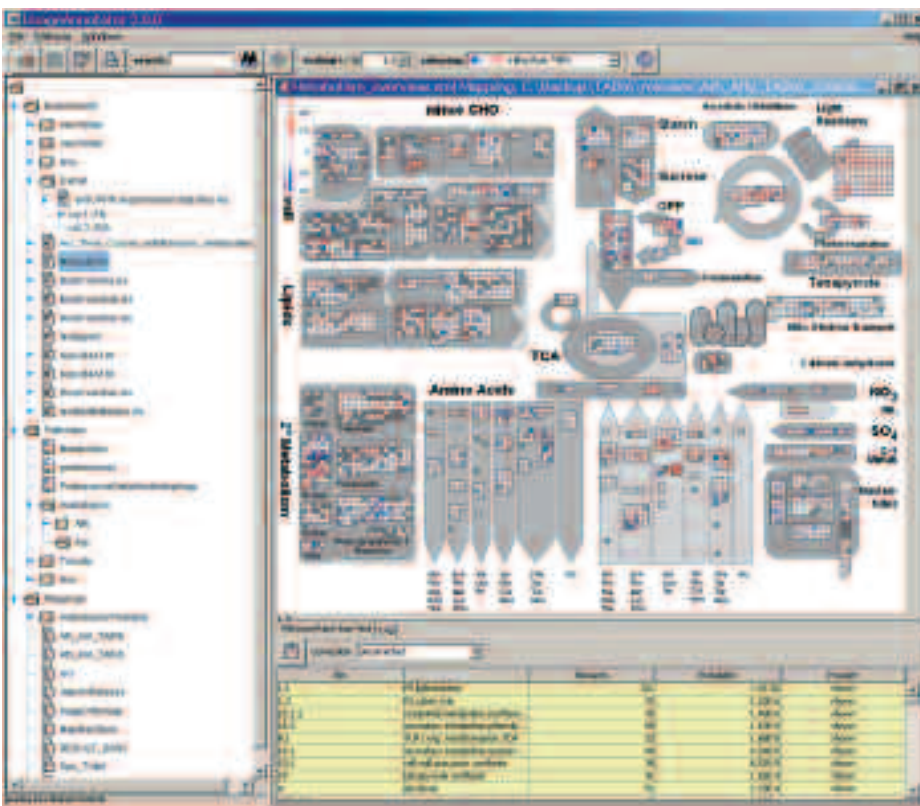


Abb. 1: Screenshot der MAPMAN-Anwendung So anschaulich lassen sich große Datenmengen darstellen: Die MAPMAN-Anwendung wertet Genaktivitäten aus und bildet diese farblich kodiert auf dem entsprechenden biologischen Prozess, hier ein Stoffwechselweg, ab.

GABI-PD: Integration von Pflanzengenomdaten

Birgit Kersten, Axel Nagel, Rico Basekow und Svenja Meyer

Deutsches Ressourcenzentrum für Genomforschung (RZPD), Berlin

Die GABI Primärdatenbank (GabiPD) stellt Forschern umfangreiche Pflanzendaten aus GABI-Projekten über das Internet unter <http://gabi.rzpd.de> zur Verfügung. Die Daten sind vernetzt sowie mit externen Daten und öffentlichen Informationen verknüpft. In GABI-Ressourcenzentren verfügbare biologische Forschungsmaterialien sind ebenfalls über GabiPD zugänglich (Abb. 1). Darüber hinaus führt das GabiPD-Team umfangreiche Datenanalysen durch und stellt die Ergebnisse anschaulich und verknüpft mit den Originaldaten dar. So hat der GabiPD-Nutzer nicht nur Zugang zu experimentellen Daten, sondern beispielsweise auch zu den Ergebnissen von vergleichenden und Clusteranalysen sowie zur Vorhersage der codierenden Bereiche in DNA-Sequenzen (Abb. 1). Die Zusammenstellung der Daten auf einer intuitiven, grafischen Oberfläche ermöglicht ganzheitliche Betrachtungen und neue Interpretationsansätze. Über die Oberfläche können auch Daten effizient gesucht und heruntergeladen werden. State-of-the-art

WebServices gewährleisten automatisierte Zugriffe auf GabiPD. Eigene Daten können auch online unter Verwendung der GabiPD-BioTools analysiert werden.

Welche Daten findet der Nutzer in GabiPD? Das Datenspektrum spiegelt vielfältige Forschungsergebnisse wider, die auf dem Wege vom Gen zum Merkmal bei Pflanzen gewonnen wurden: Von der Erfassung genomischer Daten über die Expression der Gene und Umsetzung in Proteine bis hin zur Ausprägung der phänotypischen Merkmale. So finden sich etwa in PoMaMo (Potato Maps and More) funktionelle genetische Karten von Kartoffeln und anderen Nachtschattengewächsen. Verschiedene Resistenzmarker sind auf den Chromosomen grafisch abgebildet und können von Züchtern genutzt werden, um Pflanzen mit bestimmten Merkmalen auszuwählen.

Komplexe Genexpressionsdaten werden mit dem MapMan-Tool (siehe Projektbeitrag GABI-MapMan) anschaulich auf verschiedene

Stoffwechselwege abgebildet. Diese Software wird über die GabiPD-Projektseiten zur Verfügung gestellt. Inwiefern sich verschiedene Pflanzengewebe auf der Proteinebene unterscheiden, kann sich der GabiPD-Nutzer auf den Proteomik-Seiten anschauen. Hier findet er interaktiven Zugang zu Gelen verschiedener Arabidopsis- und Rapsgewebe (Abb. 2), die mittels 2-dimensionaler Gelelektrophorese (2DE) erstellt wurden. 2DE ist eine analytische Methode der Molekularbiologie, um die Proteine aus einer Probe in zwei Dimensionen voneinander zu trennen. Umfangreiche Informationen zu den identifizierten Proteinspots werden bereitgestellt.

GabiPD bietet der GABI-Community verschiedenste bioinformatische Services an, wie die bioinformatische Aufarbeitung von Sequenzdaten, um diese bei anderen öffentlichen Datenbanken zur Weiterverbreitung einzureichen. Auf der Grundlage von Sequenzanalysen wurde in Zusammenarbeit mit GABI-Partnern ein Klonset der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (Ackererschmalwand) hergestellt, um 1700 verschiedene Arabidopsisproteine zur Entwicklung der ersten pflanzlichen Protein-Mikroarrays zu gewinnen. Diese innovative Mikroarray-Technik erlaubt es, mehrere Tausend Proteine gleichzeitig zu untersuchen. Ebenso entwickelt GabiPD in Zusammenarbeit mit GABI-Partnern projektspezifische Benutzeroberflächen, die über GabiPD bereitgestellt werden, wie etwa die Oberfläche Breed-CAM (<http://gabi.rzpd.de/projects/breed/>).



Abb. 1: GabiPD schafft eine breite, projektübergreifende Datenbasis und ermöglicht zudem Zugriff auf verschiedenste, bioinformatische Auswertungen.



Abb. 2: Übersicht über Proteine, die in einem bestimmten Arabidopsis-Gewebe zu einem definierten Entwicklungszeitpunkt aktiv sind.

GABI-PLASMAR: Kleine RNA-Moleküle und ihre Rolle bei der pflanzlichen Reaktion auf Umweltfaktoren

Yu Wang und Klaus Mayer MIPS – Institut für Bioinformatik des Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (GSF) in Neuherberg

Ein wichtiger Aspekt pflanzlicher Genomforschung ist es, die Mechanismen zu analysieren die dazu führen, dass ein Gen aktiviert, also abgelesen und in ein Protein übersetzt wird. Zahlreiche entsprechende genetische Mechanismen und Faktoren sind heute bereits bekannt. Hierzu zählen so genannte Transkriptionsfaktoren – Schlüsselproteine, die das Ablesen der DNA mit initiieren. Sie entfalten ihre regulatorische Wirkung, indem sie an Promotoren binden und Gene an- und ausschalten. Erst in den letzten Jahren ist eine weitere revolutionäre Ebene der Aktivitätskontrolle entdeckt worden. Ergänzend zur klassischen Regulation durch Transkriptionsfaktoren existieren Mechanismen, die die Stabilität einzelner Transkripte (mRNA = Abschrift der DNA) oder auch die direkte Übersetzung transkriptionaler Information in Proteine steuern und kontrollieren. Als auslösende Faktoren sind kurze mRNA-Stücke,

so genannte *microRNAs* (miRNA) und *small interspersed RNA's* (siRNA's) beteiligt. Sie binden an komplementäre Abschnitte der mRNA. Die so markierten Sequenzen werden nachfolgend abgebaut oder in ihrer Translation (Umsetzung in Proteine) gehemmt. Derartige Mechanismen sind an der Regulation von vielen biologischen Prozessen beteiligt.

Im Rahmen des trilateralen GABI-PLASMAR-Projektes arbeitet die bioinformatische Arbeitsgruppe des Forschungszentrums für Umwelt und Gesundheit (GSF) in Neuherberg zusammen mit experimentellen Arbeitsgruppen aus Frankreich und Spanien an der Sammlung und Auswertung von Daten zu den kleinen RNA-Regulatoren. Die bisher vorhandenen, riesigen Sequenzdatenmengen werden in einer Datenbank integriert und im Web dargestellt. Auf Basis von small RNA-Sequenzbibliotheken, die die Daten der experimentellen Partner ent-

halten, kann ein Abgleich mit den weltweit verfügbaren Daten für small RNA's bezüglich ihrer Entstehung, Lokalisation, evolutionären Konservierung und Aktivierung oder Unterdrückung durch Umweltfaktoren untersucht werden. Ziel ist es, tiefere Einblicke in die durch kleine RNAs gesteuerte Modulationen in pflanzlichen Stresssituationen zu bekommen und die dadurch erschlossene, neue regulatorische Ebene zu analysieren.

Zusätzlich untersuchen die GABI-Projektpartner die Promotorstrukturen, die – auf Ebene von Transkription und Regulation – an der Bildung von miRNAs beteiligt sind. Dabei verfolgen sie zum einen deren phylogenetische (stammesgeschichtliche) Entwicklung, erfassen aber auch weitere, genomische Charakteristika der kleinen RNA-Moleküle. Die in dem Projekt gewonnenen Erkenntnisse kommen unter anderem der modernen Pflanzenzüchtung zu Gute.

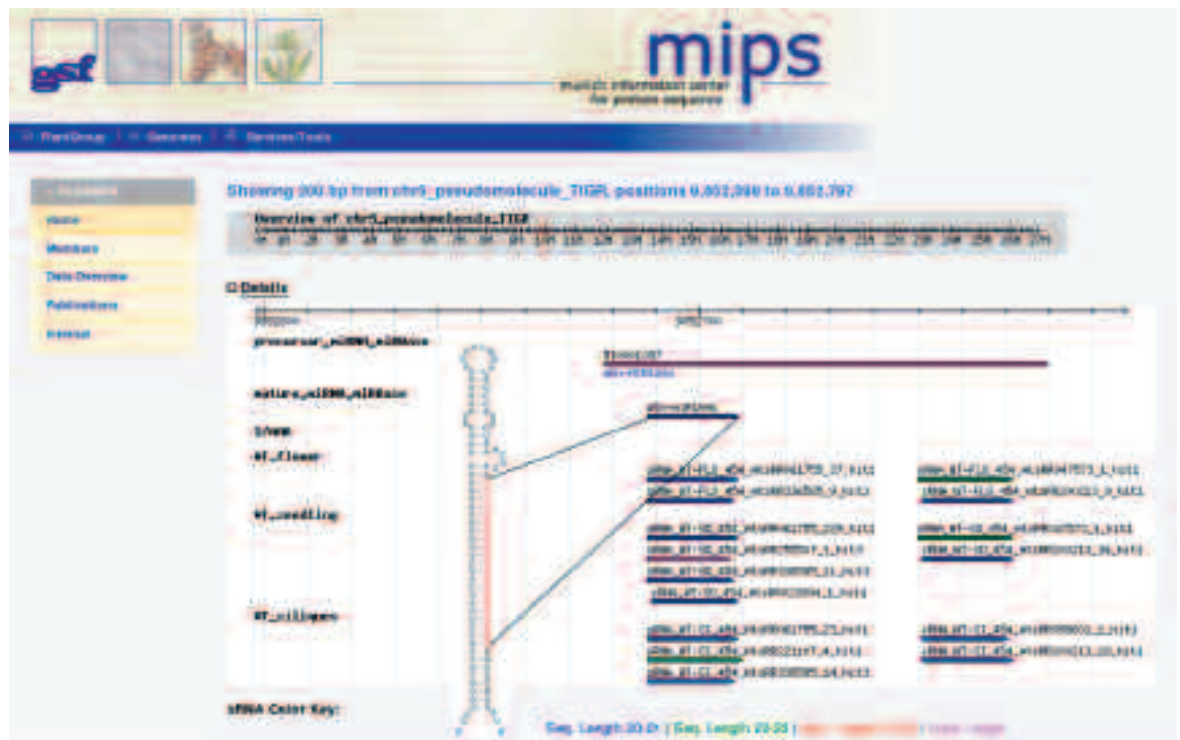


Abb 1: Visualisierung der genomischen Lokalisation des *microRNA* Vorläufers *miR164c* (Haarnadelstruktur) auf Chromosom 5 von *Arabidopsis thaliana* mit Hilfe des *generic genome browser* (GBrowse).

GABI-ARAMEMNON: Datenbank für pflanzliche Membranproteine

Rainer Schwacke und Ulf-Ingo Flüge

Botanisches Institut der Universität zu Köln

Der Stofftransport über Zellmembranen oder intrazelluläre Membranen – etwa in Zellorganellen wie Plastiden, Mitochondrien und Vakuolen – trägt maßgeblich zur Kontrolle und Regulation der pflanzlichen Entwicklung bei. Die Eigenschaften der dabei beteiligten Proteine sind jedoch bislang nur unzureichend untersucht, da Membranproteine in der Regel experimentell schwer zugänglich sind. Allerdings lassen sich ausgehend von der Proteinsequenz (Abfolge der Einzelbausteine) mit Hilfe von Computerprogrammen wichtige Eigenschaften wie beispielweise Anzahl und Lage der membrandurchspannenden Bereiche oder die Zuordnung zu bestimmten Membranen vorher-sagen. Hierfür stehen aktuell verschiedene Programme zur Auswahl, die je nach gewähltem Ansatz unterschiedliche Vorhersagen liefern. Aber welche der verfügbaren Vorhersagen am wahrscheinlichsten zutrifft, ist für den Anwender nicht ohne Weiteres ersichtlich. Daher bietet es sich an, verschiedenste Vorhersagen für ein Protein zu sammeln und anschließend mit-

einander und mit den Vorhersagen verwandter Proteine zu vergleichen. Um diesen aufwändigen Vorgang möglichst schnell und nutzerfreundlich zu gestalten, haben Wissenschaftler der Universität zu Köln im Rahmen des GABI-Projektes ARAMEMNON eine gleichnamige Datenbank entwickelt.

Die Datenbank ARAMEMNON beschreibt Eigenschaften von Membranproteinen der Modellpflanze Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*), von Reis (*Oryza sativa*) und von über 200 weiteren Samenpflanzen. Nutzer können unter anderem eine kurze Beschreibung der Moleküle, DNA-, cDNA- und Proteinsequenzen, 16 verschiedene Vorhersagen für Anzahl und Lage der Membranspannen und ein Dutzend Vorhersagen zur möglichen subzellulären Lokalisation abrufen. Die Datensätze sind so miteinander verknüpft, dass sich verwandte Membranproteine sowohl der gleichen Pflanzenart als auch anderer Pflanzen anzeigen lassen. Zur Zeit enthält ARAMEMNON Daten von mehr als 20.000 Membranproteinen, über 600.000 Ein-

zelvorhersagen zu topologischen Eigenschaften und mehr als 4.000 Literaturhinweise. Es ist damit die umfangreichste Datenbank für pflanzliche Membranproteine, die öffentlich verfügbar ist.

ARAMEMNON ist über das Internet unter <http://aramemnon.botanik.uni-koeln.de> zugänglich. Besonderer Wert wurde darauf gelegt, dass sich die Datenbank leicht und intuitiv vom Nutzer handhaben lässt. So zeigen Symbole für jedes Membranprotein übersichtlich an, welche Angaben verfügbar sind (Abb. 1). Verknüpfungen der Datensätze untereinander erlauben einen raschen Vergleich von Informationen. Viele Daten werden nicht nur tabellarisch gelistet, sondern auch anschaulich in eine Graphik umgesetzt.

Das Ergebnis ist eine wertvolle Datenquelle für pflanzliche Membranproteine, die mittlerweile weltweit von zahlreichen Forschungseinrichtungen genutzt wird. Die Zahl der Institutionen, die ARAMEMNON regelmäßig nutzen, hat sich im vergangenen Jahr fast verdoppelt.

ID	Description	Species	Topology	Transmembrane	Transmembrane
1	high affinity sulfate transporter (AT2u11.2)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
2	positive sulfate transporter (AT2u11.3)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
3	low affinity sulfate transporter (AT2u11.2)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
4	high affinity sulfate transporter (AT2u11.2)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
5	positive sulfate transporter (AT2u11.2)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
6	positive sulfate transporter (AT2u11.4)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
7	positive sulfate transporter (AT2u11.1)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
8	positive sulfate transporter (AT2u11.2)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
9	high affinity sulfate transporter (AT2u11.1)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
10	high affinity sulfate transporter (AT2u11.1)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
11	positive phosphate, potassium sulfate co-transporter (AT2u11.1)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model
12	positive sulfate transporter (AT2u11.2)	Arabidopsis thaliana	Yes	Tree List	3D Model

Abb. 1: Screenshot der ARAMEMNON-Anwendung. Hier erhält der Nutzer einen Überblick, welche Daten für das von ihm bearbeitete Protein verfügbar sind.

Technologien und Ressourcen

GABI-Genoplane-NATURAL DIVERSITY durchleuchtet weltweite Populationen der Ackerschmalwand nach agronomisch wichtigen Merkmalen

Thomas Altmann und Bernd Müller-Röber Universität Potsdam

Mark Stitt Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Potsdam-Golm

Jürgen Kroymann Max-Planck-Institut für chemische Ökologie, Jena

Stefan Clemens Institut für Pflanzenbiochemie, Halle

Mylene Durand-Tardif INRA, Versailles

Im landwirtschaftlichen Anbau hat die unscheinbare Ackerschmalwand *Arabidopsis thaliana* keine große Bedeutung. Aber für die Pflanzenzüchtung ist sie als Modellpflanze unverzichtbar geworden. Mit ihrem kleinen und vor allem vollständig aufgeschlüsselten Genom hilft sie Wissenschaftlern, grundlegende Abläufe in Pflanzen, wie etwa die Ausprägung von Krankheitsresistenzen, auf molekularbiologischer Ebene nachzuvollziehen. Aber noch sind nicht alle ihre genetischen Möglichkeiten ausgeschöpft. Denn so vielfältig wie die Standorte der Pflanze – *A. thaliana* hat sich auf fast allen Kontinenten ausgebreitet – ist auch das Erbgut, das sie mit sich trägt.

Im Laufe der Zeit ist es der Ackerschmalwand gelungen, sich genetisch optimal an die jeweils vorherrschenden regionalen Standortbedingungen anzupassen. Die natürliche Selektion

hat letztendlich bewirkt, dass die Gene in vielen unterschiedlichen Variationen (Allelen) vorhanden sind und sich verschiedene Teilpopulationen herausgebildet haben. Darüber hinaus können natürliche Populationen auch in Anpassung an schwankende Umweltfaktoren ihr Erscheinungsbild (Phänotyp) ändern, ohne dass sich die genetische Ausstattung verändert (Plastizität). Aus dieser natürlichen Vielfalt lassen sich wertvolle Erkenntnisse für die Pflanzenzüchtung ableiten – etwa zur Erzeugung von Nutzpflanzen, die unangenehme Umweltbedingungen wie Frost oder Dürre tolerieren können.

Im Rahmen des GABI-Genoplane Projekts haben Forscher aus Deutschland und Frankreich jetzt erstmals einen umfassenden Katalog der natürlichen phänotypischen Diversität der Ackerschmalwand erstellt. Im Gegensatz zu

früheren Analysen, die jeweils auf relativ wenige Linien und einzelne Merkmale beschränkt waren, haben die Forscher systematisch eine große Zahl unterschiedlicher Merkmale in einem ausgedehnten Satz an Akzessionen (von Wildformen abgeleitete Linien) untersucht. Die Basis bildete eine französische „Kernkollektion“ von *Arabidopsis*-Akzessionen, die in einer möglichst niedrigen Zahl von Linien eine maximale Zahl unterschiedlicher Allele mitbrachte. Damit war es den Wissenschaftlern möglich, effizient die Vielfalt dieser Art in ihrer gesamten Breite zu erfassen. Diese „Kernkollektion“ wurde von den insgesamt 15 französischen und 5 deutschen Projektpartnern untersucht und zum Teil durch weitere Akzessionen mit besonderen Eigenschaften ergänzt. Jeder beteiligte Partner brachte dabei seine besondere Expertise für die Erfassung bestimmter Merkmale ein.

Ergebnis von GABI-Genoplane-NATURAL-DIVERSITY ist eine gemeinsame Datenbank für die untersuchten Akzessionen (Vnat: <http://dbsgap.versailles.inra.fr/vnat/>), die eine bislang unerreichte Informationsfülle bietet. Sie umfasst Daten zu einer Vielzahl von pflanzlichen Merkmalen – bezogen auf Aspekte wie Pflanzenentwicklung, Stoffwechsel, Wechselwirkungen mit der Umwelt und molekulare Profildaten. Damit ist eine entscheidende Grundlage geschaffen, um neue Gene beziehungsweise Allele zu identifizieren, die agronomisch wichtige Eigenschaften von Pflanzen bestimmen und die entsprechenden Funktionsnetzwerke dahinter aufzuklären. Die GABI-Genoplane Datenbank bildet damit den Ausgangspunkt für innovative Züchtungsstrategien.



Abb. 1: Geographische Ursprungsorte von 24 Akzessionen der französischen Kernkollektion von *Arabidopsis thaliana*, die in diesem Projekt untersucht wurden.

GABI-BEET-PHYSICAL-MAP: Genomkartierung ermöglicht detaillierten Einblick in die Erbinformation Zuckerrübe

Britta Schulz KWS SAAT AG, Einbeck

Bernd Weisshaar Universität Bielefeld

Heinz Himmelbauer Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin

Thomas Schmidt Technische Universität Dresden

Katharina Schneider Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (GSF), München

Georg Koch Strube-Dieckmann, Nienstädt

Zuckerrüben (*Beta vulgaris*) liefern in Form von Haushaltszucker ein begehrtes Süßungsmittel und darüber hinaus wertvolle Rohstoffe für verschiedenste Industriezweige. Um die Nutzpflanzen den landwirtschaftlichen Produktionsprozessen und den Anforderungen der verarbeitenden Industrie optimal anzupassen, entwickelt die moderne Pflanzenzüchtung bestehende Sorten kontinuierlich weiter. Bei der zielgerichteten Auslese von geeigneten Pflanzen für Zuchtprogramme spielen molekulare Marker eine wichtige Rolle: Mit ihrer Hilfe lassen sich agronomisch wichtige Eigenschaften mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit frühzeitig vorhersagen. Die Weiterentwicklung eines markergestützten Selektionsverfahrens wird durch detaillierte Kenntnisse über das Zuckerrüben-genom unterstützt. Entsprechendes strukturelles Grundlagenwissen schafft das GABI-Projekt „BEET Physical Map“, das in einem Forschungsverbund aus Industrieunternehmen, Universitäten und Forschungsinstituten bearbeitet wird. Ziel ist es, eine physikalische Genomkarte der Zuckerrübe (*Beta vulgaris*) zu erstellen, welche die genaue Position, Reihenfolge und Verteilung von DNA-Segmenten auf den verschiedenen Chromosomen aufzeigt. Während der ersten GABI-Projektphase wur-

den in einem Vorläuferprojekt bereits wichtige Voraussetzungen bereitgestellt.

Die GABI-Wissenschaftler haben zunächst Sequenzinformationen (EST) aus cDNAs – klonierten, vervielfältigten Kopien von DNA-Abschnitten – erzeugt und sich im Genom häufig wiederholende (repetitive) Elemente identifiziert. Diese bekannten Sequenzen nutzten die Forscher als Marker zur relativen Positionsbestimmung der vorhandenen ESTs im Zuckerrüben-genom (genetische Kartierung). Parallel dazu wurden vergleichsweise große dann-Abschnitte in stabile BAC-Vektoren eingebaut (BAC = bacterial artificial chromosome) und so eine BAC-Bank für die Zuckerrübe erstellt.

Diese BAC-Bank nutzen die Wissenschaftler derzeit im zweiten Projektabschnitt, um eine physikalische Kartierung des Zuckerrüben-genoms durchzuführen. Dabei setzen sie die BAC-Klone, die zuvor mit Sonden aus cDNA (EST-Sequenzen) und BAC-Enden hybridisiert werden, wie Puzzleteilchen in der richtigen Reihenfolge zusammen. Identische Sequenzen überlappen sich dabei. Diese zusammenhängenden Bereiche werden contiguous DNA region oder contigs genannt. Um eine Verbindung zur genetischen Karte zu schaffen und eine Orientierung der contigs zu ermöglichen, wird ein

Teil der Sonden genetisch kartiert.

Bislang haben die GABI-Forscher aus den vorhandenen EST-Sequenzen bereits zirka 9.000 Sonden abgeleitet und hybridisiert, weitere sind in Bearbeitung. Aus geeigneten Sequenzen wurden erste Marker-Assays entwickelt. Nach Ermittlung ihres genetische Fingerabdrucks in einer spaltenden Zuckerrüben Population können diese als Positionsmarker dienen. Insgesamt 2.000 Marker werden so auf der genetischen Karte verankert. Die komplexen Daten führen die Wissenschaftler dann mit Bioinformatikwerkzeugen zu einer physikalischen Karte zusammen.

Letztendlich lassen sich auf diese Weise die BAC-Klone entlang der Chromosomen anordnen und mit der genetischen Karte verbinden. Dies ermöglicht in Zukunft eine gezielte Bearbeitung einzelner Regionen des Zuckerrüben-genoms, wie etwa bei der kartengestützten Klonierung von Genen oder der Entwicklung von molekularen Markern zur Auswahl von Pflanzen mit erwünschten Eigenschaften in Zuchtprogrammen. Die physikalische Karte ist zudem eine wichtige molekularbiologische Grundlage für die vollständige Aufklärung des Zuckerrüben-genoms.



Fig. 1: Zuckerrüben nach der Ernte in der Miete am Feldrand.

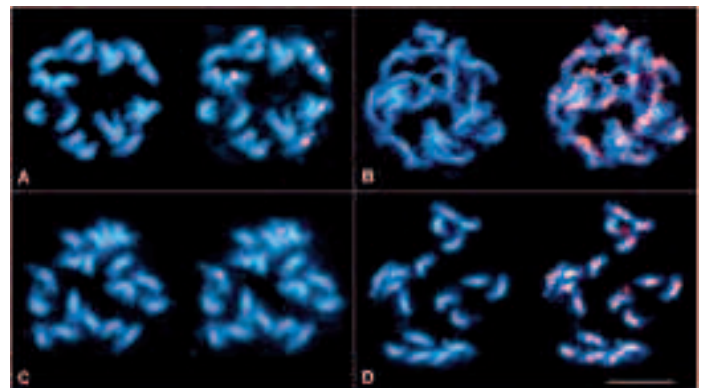


Fig. 2: Ein Blick in den Zellkern der Zuckerrübe. Chromosomen in Metaphase und Prophase sind mit dem Fluorochrom DAPI gefärbt. Die roten Signale zeigen die Lokalisation von unterschiedlichen repetitiven Elementen.

GABI-KAT: Mutantensammlung für die funktionelle Genomforschung bei *Arabidopsis thaliana*

Bernd Weisshaar Universität Bielefeld/Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln
Mario Rosso, Yong Li und Heinz Saedler Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln

Die funktionelle Genomforschung befasst sich mit der Aufklärung der Wirkmechanismen von Genen. Hierzu nutzen viele Wissenschaftler die gerichtete Mutagenese – das jeweils interessante Gen wird gezielt durch Einbau eines komplementären DNA-Stücks ausgeschaltet. Diese Methode, die so genannte homologe Rekombination, ist bei höheren Pflanzen – im Unterschied zu vielen anderen Organismen – leider nicht einsetzbar. Daher behelfen sich Pflanzen-genomforscher, indem sie ganze Mutantenkollektionen herstellen, die so groß sind, dass sie rein statistisch Pflanzen mit Veränderungen in jedem Gen enthalten. Hierbei kommt die Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) zum Einsatz, deren Genom bereits seit dem Jahr 2000 vollständig aufgeklärt ist. Die drei größten dieser Mutantensammlungen für *A. thaliana* umfassen derzeit jeweils etwa 100.000 Linien.

Die Mutationen werden durch Einbau von bekannten Stücken aus der DNA des Bodenbakteriums *Agrobacterium tumefaciens* in das Genom der Pflanzen ausgelöst, wobei die Einfügungen (Insertionen) unabhängig voneinander sind und in jeder einzelnen Pflanze eine andere Position im Genom treffen. Ausgehend von den bekannten DNA-Sequenzen können die flankierenden Regionen durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vervielfältigt werden. Dabei wird jeweils ein Teil der inserierten DNA und einen Teil der angrenzenden genomischen Sequenz erfasst. Die Position der Insertionsstelle im Genom einer bestimmten Pflanzenlinie kann anschließend durch Vergleich der erhaltenen Sequenz mit der des bekannten Genoms der Ackerschmalwand abgeleitet werden. Auf Basis dieser Daten wiederum ist es dann möglich, mittels bioinformatischer Me-

thoden vorherzusagen, in welchem Gen die Insertion liegt.

Wenn Genomforscher mithilfe von Mutantenlinien pflanzliche Gene funktionell charakterisieren wollen, muss der schnelle Zugang zu genau den Pflanzen möglich sein, in denen das gewünschte Gen ausgeschaltet ist. Daher charakterisieren Wissenschaftler der Universität Bielefeld und des Max-Planck-Instituts in Köln im Rahmen des GABI-KAT-Projekts eine Population von mehr als 93.000 Insertionslinien, indem sie die Insertionsorte im Genom sequenzieren. Die Sequenzen werden weltweit zugänglich gemacht und in internationale Sequenzdatenbanken eingestellt (EMBLdb, GenBank). Derzeit gibt es dort bereits zirka 109.500 Sequenzeinträge aus GABI-KAT. Damit stellt das Projekt die größte T-DNA Insertionslinien-Population in Europa und die zweitgrößte der Welt bereit. Die enthaltenen Daten werden von den GABI-Forschern ausgewertet, aufbereitet und in einer Datenbank gesammelt.

Die GABI-KAT-Datenbank ist im Internet unter www.gabi-kat.de verfügbar. Hunderte von Wissenschaftlern greifen jeden Monat auf den Datenbestand zu und suchen nach Mutantenlinien für ihre Forschungsvorhaben. Diese Linien, beziehungsweise vermehrte Samen der bestätigten Linien, können dann über das Internet bestellt werden. Zudem sind inzwischen auch Sequenzdaten zu den entsprechenden Linien abrufbar, die genaue Aussage über die molekulare Struktur des Insertionsortes erlauben und den Nutzern damit die Arbeit zusätzlich erleichtern.

Um die GABI-KAT Population langfristig zu sichern, werden die Linien an eine internationale Stammsammlung in Nottingham (UK)



Abb.: Anzucht von *Arabidopsis*-Pflanzen im Gewächshaus. Im Vordergrund befinden sich junge Pflänzchen. Fortgeschrittenere Wachstumsstadien sind in der Mitte des Bildes und im Hintergrund zu erkennen. Um die Samenernte von Einzelpflanzen zu erleichtern, werden die Pflanzen an Stangen gebunden.

abgegeben. Dort sind bereits mehr als 58.000 Samentütchen von GABI-KAT verfügbar. Die breite Nutzung der GABI-KAT Datenbank spiegelt sich bislang auch in mehr als 95 Veröffentlichungen in Fachzeitschriften wider, die auf Experimenten mit den ausgelieferten Linien beruhen. Weitere, interessante Ergebnisse sind in den kommenden Jahren zu erwarten.

GABI-AB-QTL: Ertragreicher, widerstandsfähiger, schmackhafter: Weizen durch Kreuzung mit seinen wilden Vorfahren verbessern

Klaus Pillen *Forscherguppe für Gerstengenetik, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln*
Jens Léon *Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Universität Bonn*

Weizen wird auf allen Kontinenten angebaut und in vielen Ländern als Brotgetreide genutzt. Zudem hat er eine große Bedeutung in der Tiermast erlangt. So liegt Weizen im weltweiten Vergleich mit anderen Getreidesorten auch nach Mais auf Platz zwei, was das Anbauvolumen betrifft. Seine weitere züchterische Verbesserung ist demnach von hohem wirtschaftlichem Interesse. Das GABI-WHEAT-Projekt unter der wissenschaftlichen Leitung von Dr. Klaus Pillen vom Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln und Prof. Dr. Jens Léon von der Universität Bonn zielt darauf ab, die Qualität und die Leistungsfähigkeit deutscher Weizensorten zu steigern. Das Projekt wird in enger Kooperation mit insgesamt sieben deutschen Pflanzenzüchtfirmen durchgeführt.

Im Rahmen des Projekts kommt ein aus den USA übernommenes Verfahren zur Anwendung: die so genannte AB-QTL-Analyse (Advanced Backcross Quantitative Trait Locus Analysis). Hierbei kreuzten die Forscher vorteilhafte Gene der wilden Vorfahren des Weizens in das deutsche Elitezuchtmaterial ein (advanced backcross) und spürten die Genorte (Loci) auf, die die Merkmale Qualität und Leistungsfähigkeit beeinflussen.

Zudem arbeitet das GABI-WHEAT-Team daran, die genetische Diversität der modernen Weizensorten durch Einkreuzen von neuen Genen zu erweitern. Ob ein Kreuzungsprodukt eine bestimmte Eigenschaft vom „wildem“ oder aber vom „kultivierten“ Elternteil geerbt hat, lässt sich nur dann entscheiden, wenn die zugrunde liegenden Gene eindeutig den jeweiligen Eltern zugeordnet werden können. Deshalb ist es notwendig, alle für die Kreuzungsexperimente vorgesehenen Eltern anhand charakteristischer DNA-Regionen auf den Chromosomen zu markieren. Als Marker eignen sich so genannte Mikrosatelliten, deren Gensequenzen bei Wild- beziehungsweise Kultureltern in

unterschiedlichen Ausprägungen (Allelen) vorliegen können. Dabei handelt es sich um kurze, nicht kodierende Sequenzen, die im Genom eines Organismus oft wiederholt werden – in der Regel an der gleichen Stelle.

Bisher wurden mehr als 300 DNA-Marker getestet und zugleich rund 800 Rückkreuzungslinien aufgebaut. Diese hat das GABI-WHEAT-Team in der nächsten Projektphase mit Hilfe der DNA-Marker daraufhin untersucht, welche Chromosomensegmente der Wildart sie enthalten. Parallel wurden an der Universität Bonn und in den Pflanzenzüchtfirmen die Leistungsfähigkeit der Kreuzungslinien auf die Eigenschaftskomplexe Ertrag, Qualität, wie zum Beispiel Proteingehalt und Backvolumen, Widerstandsfähigkeit gegen pilzliche Krankheitserreger und Stresstoleranz untersucht.

Die Forschergruppe konnte mit Hilfe der Marker bereits einige Wildartgene lokalisieren, die mit signifikanter Häufigkeit gemeinsam mit einem der zuvor erfassten Merkmale auftreten. Darunter befinden sich etwa Gene, die den Ertrag in einzelnen Rückkreuzungslinien steigern, sowie Gene, die die Resistenz gegen Braunrost oder den Proteingehalt im Weizenkorn erhöhen können.

Die etablierten Marker sowie vorteilhaften Rückkreuzungsindividuen werden nachfolgend den Industriepartnern für die Entwicklung von neuen, besseren Weizensorten zur Verfügung gestellt. Darüber hinaus lassen sich die selektierten Pflanzen zur molekularen Aufklärung der Genfunktionen nutzen – ein Erkenntnisgewinn, der die Züchtung neuer Sorten maßgeblich unterstützen und beschleunigen könnte.



Abb. 1: BU wird noch ergänzt

GABI-METABOLOMICS: Pflanzliche Stoffwechselveränderungen identifizieren und für die Pflanzenzüchtung zugänglich machen

Edda von Roepenack-Lahaye, Christoph Boettcher, Dierk Scheel und Stephan Clemens

Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie, Halle

Pflanzen sind in ihrer Umwelt ständig wechselnden Bedingungen ausgesetzt wie etwa Kälte, Hitze, Trockenheit, Schatten, hohen Salzkonzentration, Schwermetallbelastungen im Boden oder einer Vielzahl von verschiedenen Schädlingen. Da Pflanzen eine sessile Lebensform darstellen und sich einer für sie feindlichen Umwelt nicht einfach entziehen können, haben sie im Laufe der Evolution Strategien entwickelt, um die jeweiligen Stresssituationen zu bewältigen. So bilden Pflanzen unter anderem so genannte sekundäre Inhaltsstoffe (Metaboliten) wie beispielsweise Bitterstoffe, um Fraßfeinde abzuwehren, Pigmente als Schutzschilde bei extremer Sonneneinstrahlung oder giftige Substanzen, die das Wachstum von bakteriellen oder pilzlichen Schädlingen hemmen. Viele dieser Substanzen sind gerade in den letzten Jahren ins Licht der Öffentlichkeit getreten, da sie gesundheitsfördernde Eigenschaften besitzen, etwa die anticancerogenen Glukosinolate aus Broccoli.

Pflanzen sind dabei in der Lage, eine wahre Fülle von den verschiedensten pflanzlichen Sekundärmetaboliten zu produzieren. So können sie flexibel auf unterschiedlichste Stresssituationen reagieren und ihr Überleben sichern. Dies wird auch deutlich, wenn man das Genom der ersten komplett sequenzierten Pflanze, der Ackerschmalwand *Arabidopsis thaliana*, betrachtet. Circa fünf bis zehn Prozent der vorhergesagten 25.500 Gene sind im Sekundärstoffwechsel involviert.

Verschiedene methodische Ansätze sind notwendig, um qualitative und quantitative Veränderungen im Pflanzenmetabolom unter wechselnden Umweltbedingungen zu untersuchen. Diese verschiedenen methodischen Ansätze werden unter dem Begriff Metabolomics oder Metabolic Profiling, das oft synonym verwendet wird, zusammengefasst. Metabolomics liefert eine Momentaufnahme beziehungsweise einen Schnappschuss der Metabolitenzusammensetzung eines biologischen Systems.

Damit die durch Stress ausgelösten Veränderungen im Stoffwechsel künftig gezielt untersucht und für die Pflanzenzüchtung nutzbar gemacht werden können, haben Forscher am Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie (IPB) in Halle im Rahmen von GABI-METABOLOMICS eine neue Profiling-Plattform etabliert, mit deren Hilfe ein Großteil der Sekundärmetaboliten gemessen werden kann. Die Wissenschaftler am IPB nutzen hierfür eine LC-MS basierte Analytik, die im Rahmen von Gabi 1 entwickelt worden ist. Sie kombiniert zwei bewährte Trenn- beziehungsweise Analyseverfahren: Die Flüssigchromatographie (LC) und die Massenspektrometrie (MS). Damit ist es nicht nur möglich, Stoffwechselprodukte im großen Maßstab quantitativ zu erfassen, sondern vielmehr auch einzelne Signalmoleküle und Stressantworten zu identifizieren.

Im Rahmen der zweiten Projektphase ist es den Forschern gelungen, die Plattform entschei-

dend weiterzuentwickeln. Die Methode, zunächst auf Basis des Stoffwechselprofils von *Arabidopsis thaliana* konzipiert, steht jetzt zur Untersuchung von verschiedensten Pflanzenarten zur Verfügung. Damit können Pflanzenzüchter das enorme Potenzial der Metabolomics nutzen, um wirtschaftlich bedeutende Kulturarten wie etwa Raps gezielt zu verbessern. Tools zur statistischen Datenauswertung und die Etablierung von Datenbanken erweitern das Leistungsspektrum zusätzlich. Nicht zuletzt sorgt das „Upgrade“ auch bei der Saatgutanalytik für Fortschritt, da sich verschiedene Sorten jetzt auch auf Basis kleinster Stoffwechseldetails voneinander unterscheiden lassen.



Abb. 1: LC-MS-Untersuchung von zwei *Arabidopsis thaliana* Linien. Im Vergleich zum Wildtyp (WT) weist die *tt-5*-Linie eine Blockade im Flavonoidstoffwechsel auf. Die Analyse der Verwandtschaftsgrade (HCA) zeigt eine deutliche Trennung der Saatgutchargen (Abb. rechts). Dies ist größtenteils auf das fast vollständige Fehlen von Kämpferol und seiner Derivate (siehe Struktur) in der Mutantenlinie zurückzuführen.

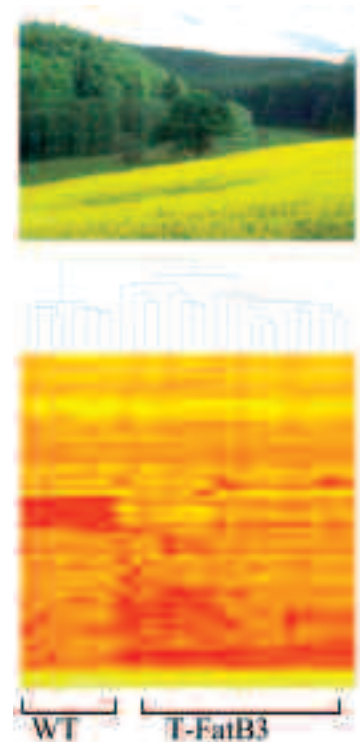


Abb. 2: LC-MS-Profilung von Rapsamen.

Die verschiedenen Konzentrationen der circa 300 detektierten Massensignale wurden parallel für die Ursprungslinie (WT) und die *FatB3*-Transformanten aufgetragen. Weiß zeigt Areale von hohen, rot von niedrigen Konzentrationen an.

GABI-TILL: Zentrale Plattform zur funktionalen Untersuchung von Leitgenen in Feldfrüchten mit Hilfe der TILLING-Technologie

Thomas Altmann und Georg Stropen Universität Potsdam

Sven Gottwald und Nils Stein Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben

Uwe Hohmann und Christian Jung Christian-Albrechts-Universität Kiel

Daniela Holtgräwe und Bernd Weisshaar Universität Bielefeld

John Lunn und Mark Stitt Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Potsdam-Golm

Eine zentrale Aufgabe der Pflanzengenomforschung ist es, Struktur und Funktion von Schlüsselgenen, die agronomisch relevante Eigenschaften regulieren, in Nutzpflanzen aufzuklären. Da die Genome der bestehenden Feldfrüchte in der Regel sehr komplex sind, nutzen Molekularbiologen hierzu Modell- und Referenzorganismen mit übersichtlicher Erbinformation und weiteren günstigen Eigenschaften wie etwa kurzen Generationszeiten, die die Forschung deutlich erleichtern und beschleunigen. Ziel ist es, die Ergebnisse nachfolgend auf Nutzpflanzen zu überführen. Es fehlen jedoch wichtige Voraussetzungen zur effizienten Prüfung der Übertragbarkeit, da die DNA-Sequenzen der Nutzpflanzengenome nicht vollständig aufgeklärt und vor allem nicht genügend Mutanten vorhanden sind, anhand derer die Genfunktionen getestet und analysiert werden können.

Letztere Lücke schließt das GABI-TILL Projekt, das von Forschern der Universität Potsdam,

des Leibniz-Instituts für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung in Gatersleben, der Christian-Albrechts-Universität Kiel, der Universität Bielefeld und des Max-Planck-Instituts für Molekulare Pflanzenphysiologie in Potsdam-Golm bearbeitet wird. Das Team wendet dabei die so genannte TILLING-Technologie an, mit deren Hilfe sich gezielt Mutationen in einem ausgewählten Gen identifizieren lassen. Dazu wird ein spezielles Enzym eingesetzt, eine Endonuklease, die Fehlpaarungen in der Sequenz erkennt und die DNA an der veränderten Stelle spaltet. Die Forscher bearbeiten dabei die Kulturpflanzen Gerste und Zuckerrübe. Als Referenzorganismus diente die Ackerschmalwand *Arabidopsis thaliana*. Zunächst wurden Mutantenpopulationen der Pflanzenarten erzeugt, die TILLING-Technologie dafür eingerichtet und Durchmusterungen nach Mutationen in bestimmten Genen ausgeführt. Besondere Vorteile dieses Verfahrens sind neben der gezielten Identifizierung von Genmutationen seine univer-

selle Anwendbarkeit auf alle Arten von Organismen, die große Vielfalt induzierter Genveränderungen und die unmittelbare Nutzung von Allelen (Genvarianten) mit vorteilhaften Einflüssen auf die Merkmalsausprägung in der Züchtung.

Anhand einer Arabidopsis-TILLING-Population von rund 6.500 Linien hat das GABI-TILL-Team die Methodik getestet und als Screening-Plattform etabliert. Bislang konnten insgesamt 134 Mutationen in 11 Genen identifiziert werden. Darunter befinden sich zwei Gene, die Enzyme des Saccharose- und Stärkestoffwechsels codieren und deren Aktivität bei Gerste und Zuckerrübe qualitätsbestimmend ist.

Für die Gerste (Abb. 1) haben die Forscher nach Mutagenese eine TILLING-Population von zirka 9.000 Linien aufgebaut, die nicht nur nach Genmutationen, sondern zusätzlich auch nach auffälligen Merkmalsveränderungen durchmustert wurde. In 1.800 analysierten Linien zeigten sich für 4 Gene jeweils 3 bis 4 Mutationen.

Bei einjährigen Zuckerrüben konnten in der erstellten Mutantenpopulation eine Reihe nicht schossender Mutanten identifiziert werden. Insgesamt zeigten 6,7 Prozent von insgesamt 11.219 untersuchten Pflanzen der zweiten Mutantengeneration eine veränderte Merkmalsausprägung. Für die weitere Analyse bislang sechs Kandidatengene mit Relevanz zur Blütenbildung werden und nachfolgend erste Mutationen identifiziert werden.

Alle Informationen zu den in diesem Verbundprojekt erstellten TILLING-Plattformen und die Durchmusterungsergebnisse werden in einer zentralen Datenbank gesammelt und zugänglich gemacht. Mit der Plattform ist es künftig möglich, den steigenden Bedarf an Kulturpflanzensorten mit spezifisch optimierten Eigenschaften durch die Fortschritte der Pflanzengenomforschung an Referenzorganismen effizient zu nutzen und in die Anwendung bei Nutzpflanzen zu überführen. Weiterführende Informationen sind unter www.gabi-till.de verfügbar.



Abb. 1: Aufbau der Gersten-TILLING-Population

Entwicklung und Differenzierung

GABI-ARABIDO-SEED: Wie steuern Transkriptionsfaktoren die Samenentwicklung bei Pflanzen?

Gudrun Mönke, Tran My Linh, Udo Conrad, Urs Hähnel, Lothar Altschmied, Michaela Mohr, Ivo Grosse, Astrid Vorwieger und Helmut Bäumlein
 Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Gatersleben
Bernd Weisshaar und Prisca Viehöver Universität Bielefeld

Die Entstehung von Samen, die der Ernährung, dem Schutz und der Verbreitung der Folgegeneration dienen, hat wesentlich zum evolutionären Erfolg der Samenpflanzen beigetragen. Die Samen von Kulturpflanzen, insbesondere der Getreide, bilden aber auch die wesentliche Grundlage für die Ernährung von derzeit mehr als sechs Milliarden Menschen. Gleichzeitig lassen sich aus ihnen nachwachsende Rohstoffe sowie nachhaltige Energieträger für die produzierende Industrie gewinnen. Daher arbeiten Genomforscher mit Hochdruck daran, die genetischen Regulationsmechanismen, die die Samenentwicklung steuern, zu verstehen.

Die Samenentwicklung erfordert den koordinierten Ablauf von vielen, komplexen Einzelprozessen (siehe Kasten). Dabei müssen die Aktivitäten von mehr als 25.000 einzelnen Genen, die das Genom von höheren Pflanzen umfasst, räumlich und zeitlich präzise reguliert werden. Obwohl an derartigen Regulationsprozessen vielfältige Mechanismen und Moleküle beteiligt sind, kommt den so genannten Transkriptionsfaktoren eine Schlüsselrolle zu. Diese Proteine entfalten ihre regulatorische Wirkung, indem sie an spezifische DNA-Stellen in den Startsequenzen der regulierten Zielgene binden und so zum Start der Transkription (Ablese der DNA) beitragen. Nahezu 2.000 verschiedene Transkriptionsfaktoren sind heute allein in der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* bekannt.

Allerdings sind nur wenige davon funktionell im Detail charakterisiert. Zudem ist ihr Zusammenspiel in regulatorischen Netzwerken noch weitgehend unbekannt.

Hier setzt das Forschungsprojekt GABI-ARABIDOSEED an, indem es die molekularen Vorgänge bei der Transkription in *Arabidopsis* detailliert untersucht. Das Forschungsvorhaben wird im trinationalen Verbund von Arbeitsgruppen aus Frankreich, Spanien und Deutschland bearbeitet. Dabei konzentrieren sich die Wissenschaftler auf vier Bereiche:

- Charakterisierung von Pflanzen, bei denen ausgewählte Transkriptionsfaktor-Gene defekt sind (Mutanten),
- Identifizierung von Zielgenen wichtiger Transkriptionsfaktoren durch Chromatin-

Immunpräzipitation, bei der erfolgte Protein-DNA-Bindungen durch Fixierung mit Formaldehyd festgehalten werden können,

- Analyse der Biodiversität (biologische Vielfalt) quantitativer Merkmale und Identifizierung regulatorischer Genombereiche sowie
- Entwicklung von Datenbanken und Software zur Integration, Analyse und Visualisierung der gewonnenen Daten.

Die im Projektverlauf erarbeiteten molekularbiologischen Grundlagen der Samenentwicklung sind wertvolle Ressourcen für die weitere Erhöhung der Produktivität von Nutzpflanzen hinsichtlich des Ertrags, der Nahrungsqualität und der industriellen Verwertbarkeit.

Die pflanzliche Samenentwicklung

Als Fortpflanzungsorgane bestehen Samen aus einer Vielzahl von verschiedenen Geweben mit unterschiedlicher genetischer Basis. Nach der für höhere Pflanzen charakteristischen doppelten Befruchtung von Ei- und Zentralzelle entwickelten sich aus dem Fusionsprodukt der pflanzliche Embryo und das als Nährgewebe dienende Endosperm. Während der Samenentwicklung werden große Mengen an Speicherstoffen produziert, wobei je nach Pflanzenart Proteine, Stärke oder Öle dominieren. Die abschließende Reifung umfasst Entwicklungs- und Differenzierungsprozesse, die zur Samenruhe beziehungsweise Dormanz, einer reversiblen Unterbrechung der Wachstumsprozesse, und zur Austrocknungstoleranz aller beteiligten Samengewebe führen.

GABI-MAIZE-TF: Vom Modellorganismus zur Nutzpflanze: Wie übertragbar sind Daten aus dem Modellsystem Ackerschmalwand auf Nutzpflanzen wie etwa Mais?

Wolfgang Werr Institut für Entwicklungsbiologie, Universität zu Köln

Alfons Gierl Lehrstuhl für Genetik, Wissenschaftszentrum Weihenstephan der Technischen Universität (TU) München, Freising

Peter Rogowsky Laboratoire Reproduction et Développement des Plantes (RDP), Ecole normale supérieure ENS de Lyon, France

Pascual Perez BIOGEMMA, Gene Function and Maize Traits Group, Aubière/France

Xavier Sarda BIOGEMMA Plant Genomics Group, Évry/France

Die Pflanzenwelt zeichnet sich durch eine Vielfalt an Formen und eine große Zahl von Arten aus. Nur wenige davon sind als Nutzpflanzen kultiviert. Die drei weltweit wichtigsten Kulturarten Reis, Weizen und Mais stammen alle aus der Familie der Süßgräser. Für die Züchtung neuer, verbesserter Sorten ist es wichtig, neben äußerlichen Merkmalen auch die gesamte genetische Basis dieser Pflanzen zu kennen. Für derartige Forschungen nutzten Molekularbiologinnen als Modellorganismus die Ackerschmalwand *Arabidopsis thaliana*, aus der Familie der Kreuzblütler. Denn zum einen ist das Arabidopsis-Genom schon seit einigen Jahren komplett aufgeschlüsselt. Darüber hinaus weist die Ackerschmalwand viele vorteilhafte Eigenschaften auf, die es ermöglichen haben, an ihr grundlegende Prinzipien der Pflanzenentwicklung oder -physiologie aufzuklären.

Offen ist jedoch die Frage, in wie weit sich die dabei erarbeiteten Erkenntnisse auf entfernte Pflanzenspezies übertragen lassen. Eine Fülle an bekannten Genomsequenzinformation erlaubt es heute, die stammesgeschichtliche Entwicklung von Pflanzen zu rekonstruieren und die nächstverwandten Gene in verschiedenen Spezies zu identifizieren. Fraglich bleibt, ob verwandte Sequenz auch ähnliche Funktion bedeutet. Eine Antwort darauf liefert das GABI-Projekt „MAIZE-TF“, das Wissenschaftler der Universität Köln und der TU München in Kooperation mit französischen Forschern bearbeiten. Das Team vergleicht Arabidopsis- und Maispflanzen, beides Organismen mit guten genetischen Ressourcen und untersucht hierzu Mutanten mit Funktionsverlusten sowie die

daraus resultierenden phänotypischen Veränderungen. Dabei stehen Transkriptionsfaktoren im Mittelpunkt. Diese initiieren unter anderem das Ablesen der DNA und spielen so eine zentrale Rolle in den regulatorischen Netzwerken während der Umsetzung der genetischen Information in Proteine.

In einem ersten Ansatz haben die GABI-Forscher bekannte Informationen über Transkriptionsfaktoren aus *Arabidopsis* genutzt, um korrespondierende, samenspezifisch ausgeprägte Gene in Mais zu identifizieren. Darüber hinaus wurden genetisch definierte Schlüsselgene untersucht, die in *Arabidopsis* Musterbildungsprozesse während der Samenentwicklung steuern. Hervorzuheben ist, dass diese Prozesse in Ackerschmalwand und Mais unterschiedlich ablaufen. Etwa nutzen beide unterschiedliche Gewebe zur Nährstoffspeicherung.

Über beide Verfahren wurden Kandidaten mit korrespondierenden Genfunktionen identifiziert und anhand ihres zellulären Expressionsmusters eine mögliche Verwandtschaft geprüft. Ausgewählte Gene haben die Forscher anschließend selektiv ausgeschaltet und somit bewusst einen Funktionsverlust erzeugt. Spezielle Marker ermöglichen es, transgene von nicht-transgenen Körnern zu unterscheiden (Abb. 1). Verglichen wurden dabei Histologie (Gewebestrukturen), Transkriptom (Gesamtheit aller zu einem bestimmten Zeitpunkt in einer Zelle abgelesenen Gene beziehungsweise deren RNA-Abschriften) und Metabolom (Gesamtheit der charakteristischen Stoffwechseleigenschaften einer Zelle zu einem bestimmten Zeitpunkt).

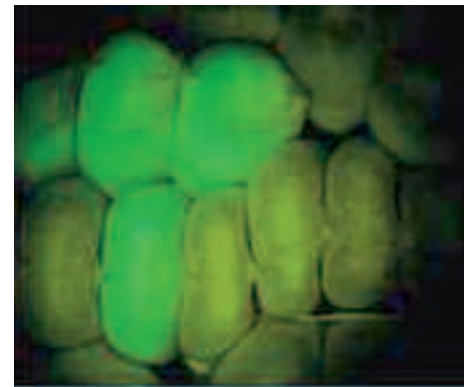


Abb. 1: Stück eines unreifen Maiskolbens
Transgene, grün fluoreszierende Körner liegen neben untransformierten Körnern, die als Referenz dienen.

Die durchgeführten Versuche ergaben: Auf der Ebene der Proteinsequenz sind Verwandtschaften zwischen den Arten gut erhalten und deuten auf ein gemeinsames Vorläufergen hin. Jedoch sind, was die Funktion betrifft, selbst grundlegende Netzwerke – etwa bei der Regulation der Stammzellhomöostase – stark verändert. Meist sind nur Teilfunktionen konserviert und übertragbar. Daher wird es schwierig sein, Erkenntnisse vom Modellsystem *Arabidopsis* auf entfernte Pflanzenspezies direkt zu übertragen. Aber trotzdem sind die gewonnenen Erkenntnisse wertvoll: Sie eröffnen durch Erfassung von evolutionärer Vielfalt die Möglichkeit, allgemeine Prinzipien bei der Artbildung nachzuvollziehen, die unter anderem für die Pflanzenzüchtung wertvolle Ansatzpunkte liefern.

GABI-REGULATOR: Identifizierung regulatorischer Abschnitte in Startsequenzen von Genen

George Coupland und Franziska Turck Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln

Detlef Weigel Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie, Tübingen

Javier Paz Ares Centro Nacional de Biotecnología, Madrid

Pilar Carbonero Ciudad Universitaria, Madrid

Vincent Colot und Alain Lechary Unité de Recherche en Génomique Végétale, Evry

Der Weg vom Gen bis zum Merkmal, wie etwa die Bestimmung des Blühzeitpunktes bei Pflanzen, umfasst mehrere Teilschritte, die jeweils von komplexen Regulationsnetzwerken koordiniert werden. Genomforscher, wie etwa die Mitarbeiter von zahlreichen GABI-Projekten arbeiten daran, die beteiligten Regulatoren zu identifizieren und so das Wissen um die Grundmechanismen des pflanzlichen Lebens zu vervollständigen.

Das GABI-REGULATOR-Team beschäftigt sich in diesem Zusammenhang mit Regulationsmechanismen auf Ebene der Transkription – ein Vorgang, bei dem die im Zellkern enthaltene DNA abgelesen und die enthaltene genetische Information in Boten-RNA umgeschrieben wird. Damit das ausführende Enzym, die so genannte RNA-Polymerase, weiß, wo ein Gen beginnt, liegen vor den kodierenden Bereichen so genannte Promotoren, die das Enzym erkennen kann. Zudem weisen Promotoren Bindestellen für regulierende Faktoren auf, die ihre Funktion aktivieren oder hemmen, sprich das Ablesen der DNA steuern. Diese Abschnitte werden als „cis“-Elemente bezeichnet.

Ziel von GABI-REGULATOR ist es, neue regulatorische Sequenzen in Promotoren zu identifizieren, die für die Expression von Genen mit agronomischer Bedeutung relevant sind.

Außerdem werden im Rahmen des Projektes DNA-bindende Proteine identifiziert, die in der Lage sind, diese regulatorischen „cis“-Elemente spezifisch zu erkennen. Dabei untersuchen die Forscher unterschiedliche Genklassen, denen entweder eine Rolle in der Blühinduktion, der Keimfähigkeit oder in der Genantwort auf Phosphatmangel zugeschrieben wird.

Dabei machen es sich die GABI-Wissenschaftler zu Nutze, dass cis-Elemente im Laufe der Evolution stärker erhalten sein sollten als nicht-regulatorische Sequenzen. Durch systematischen Sequenzvergleich der Promotoren verwandter Gene in verschiedenen Arten von Kreuzblütlergewächsen (*Brassicaceae*) können demnach überproportional konservierte phylogenetische (stammesgeschichtliche) „Schatten“ innerhalb dieser DNA-Abschnitte detektiert werden. Welche Mechanismen diese hyperkonservierten Sequenzen bei der korrekten Expression der durch sie regulierten Gene im Detail entfalten, wird mit Hilfe transgener Linien der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) validiert. Dabei steuern die Promotoren das Ablesen eines leicht nachweisbaren Reportergens. Um gezielt die Bedeutung der phylogenetischen Schatten zu untersuchen, werden nur diese durch Sequenzaustausch verändert. Wenn sich die Menge an nachweisbaren Report-

tern ändert, lässt sich daraus schließen, dass die Schatten eine regulierende Rolle spielen.

Im nächsten Schritt sollen DNA-bindende Proteine, die in der Lage sind, funktionale cis-Elemente zu erkennen, durch systematische Hefe-1-Hybrid Screens identifiziert werden. Zu diesem Zweck wird eine Hefeklonbank erstellt, in der möglichst viele der geschätzten 2.000 Arabidopsisproteine mit DNA-Bindungseigenschaften mit einer die Transkription aktivierenden Domäne verbunden und in vielen Einzelkopien exprimiert werden. In einer zweiten Klonbank werden die durch den phylogenetischen Ansatz aufgezeigten cis-Elemente vor einen kurzen Promoter eingefügt, der die Expression eines Reporter-Gens in der Hefe kontrolliert. Beide Banken können durch Fusion von Hefen mit einfachem Chromosomensatz in hohem Durchsatz vereint und nach kompatiblen Interaktionen durchsucht werden.

Zuletzt gilt es dann, die identifizierten DNA-bindende Proteine hinsichtlich ihrer biologischen Relevanz und der Anzahl der möglichen Zielgene zu prüfen. Die Ergebnisse der verschiedenen Versuchsansätze werden dann zusammengeführt und können so zu einem tieferen Verständnis regulatorischer Netzwerke beitragen, die bei der Genexpression aktiv sind.

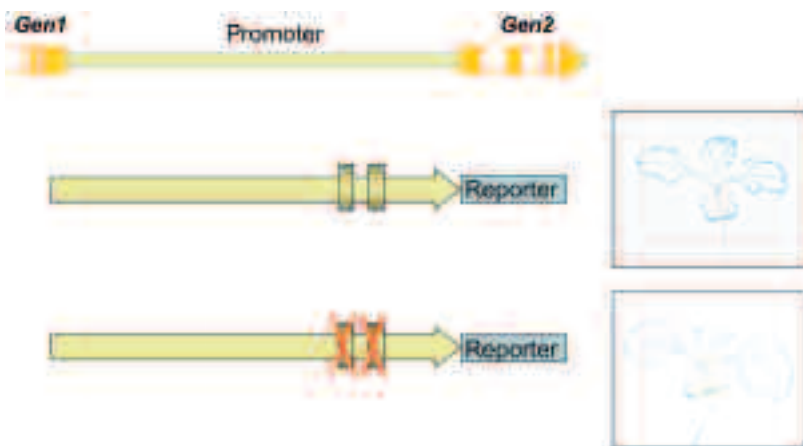


Abb. 1: Einsatz von Reporter-Genen in der Genomforschung.

Gene liegen aneinandergereiht auf der DNA, zwischen den Genen befinden sich die Promotoren. Mit gentechnischen Methoden können Promotoren aus ihrem Kontext herausgenommen werden und vor ein neues Gen gesetzt werden. Hierbei handelt es sich um ein Reporter-Gen, dessen Ableseprodukt durch eine Farbreaktion leicht nachzuweisen ist. Gewebe, in denen das Gen abgelesen wird, erscheinen in blauer Farbe (siehe dazu oberes Pflanzenbild). Bei der unteren Pflanze wurden gezielt zwei phylogenetische Schatten zerstört, dadurch zeigt die Pflanze keine blaue Färbung. Im gezeigten Beispiel wird der Promoter des Gens „Flowering Locus T“ analysiert, das eine entscheidende Rolle bei der Bestimmung des Blühzeitpunktes spielt.

GABI-SEED: Genetische Grundlagen komplexer agronomischer Merkmale im Getreidekorn entschlüsseln

Ulrich Wobus, Hans-Peter Mock, Christoph Pietsch, Volodymyr Radchuk, Marion Röder, Falk Schreiber, Udo Seiffert, Nese Sreenivasulu, Marc Strickert, Winfriede Weschke and Katja Witzel
Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Gatersleben

Getreide bilden die Nahrungsgrundlage eines Großteils der Menschheit und sind damit unsere wichtigsten Nutzpflanzen. Schon vor etwa 10.000 Jahren haben unsere Vorfahren erste züchterische Maßnahmen an Pflanzen unternommen, indem sie gezielt Exemplare mit vorteilhaften Eigenschaften auswählten. Die Interessen des Menschen – leichte Aussaat, leichte Ernte und höherer Ertrag – lösten die natürliche Selektion ab: so entstanden Kulturpflanzen. Aber erst nach der Wiederentdeckung der Mendelschen Regeln Anfang des vergangenen Jahrhunderts setzte eine systematische, wissenschaftlich gestützte Pflanzenzüchtung ein, die enorme Erfolge erzielte. Dennoch sind bis heute die genetischen Grundlagen vieler agronomischer wichtiger Merkmale und die Wege vom Gen zum Merkmal unbekannt.

Ähnlich wie in der Medizin bedarf es deshalb auch in der Züchtung umfangreicher Detailkenntnisse, um Probleme an der Wurzel zu packen. Die moderne Genomforschung und darauf aufbauende Methoden ermöglichen es heute, genetisch-biochemische Netzwerke zu entschlüsseln, die komplexen agronomischen Merkmalen zugrunde liegen. Komplexe Merkmale wie Tausendkorngewicht, Körner pro Ähre oder gar Ertrag werden von mehreren bis vielen Genen bestimmt, die an unterschiedlichen Orten im Genom liegen (Quantitative Trait Loci oder QTLs) und mit molekularen Markern genetisch lokalisiert (kartiert) werden können. Interessanterweise lassen sich auch einfache Merkmale wie die Häufigkeit einer RNA oder eines Proteins mit entsprechenden Methoden bearbeiten. Dieser Ansatz wird als „Genetical Genomics“ bezeichnet. Hier setzt das Projekt GABI SEED 2 an und führt verschiedenste Kompetenzen des Leibniz-Instituts für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben zusammen.

Zunächst wird die Häufigkeit von nahezu 12.000 Gen-Transkripten mit bekannter Sequenz während der Entwicklung des Gerstenkorns sowie die hunderter Proteine im rei-

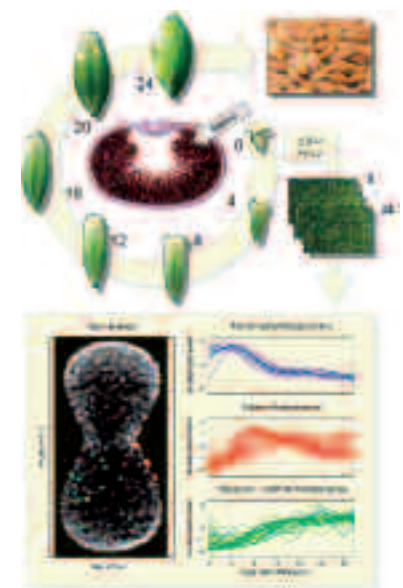
fen Korn ermittelt. Als Versuchspflanzen dienen mehrere Dutzend unterschiedliche Introgressionslinien der Sommergerstensorte Brenda, in deren Genom jeweils ein kurzes Stück durch einen entsprechenden Sequenzabschnitt eines Wildgerstengenoms (Introgression) ausgetauscht ist. Dadurch ergeben sich Unterschiede zwischen den Linien im Expressionsniveau von Transkripten und Proteinen, deren verursachende Genomabschnitte als Expressions-QTLs (eQTLs) oder Protein-QTLs (pQTLs) lokalisiert werden können. Sie sollten erwartungsgemäß im Introgressionssegment liegen und häufig mit dem Kodierungsort des jeweiligen Transkripts, also dem Gen, zusammen fallen, können aber auch Regulatorgene betreffen, die entfernt vom Strukturgen steuern wirken. Im Vergleich der Lokalisation von Strukturgenen, von eQTLs, pQTLs und QTLs agronomischer Merkmale im Gerstengenom lassen sich Kandidatengene ermitteln, deren ursächliche Verknüpfung mit dem Merkmal weiter zu prüfen ist.

Bislang konnten im Rahmen von GABI SEED erste Cluster Genen identifiziert werden, die gemeinsam während der Gerstenkornentwicklung reguliert wurden. Daraus ergeben

sich neue Erkenntnisse über die Funktion von Transkriptionsfaktoren – Proteine, die an der Einleitung der Transkription von Genen in Boten-RNA beteiligt sind. Auch die spezifische Rolle pflanzlicher Hormone im Prozess der Merkmalsausprägung ist detailliert ablesbar. Besonders auffallend ist, dass sich die verschiedenen Linien vornehmlich in RNAs unterscheiden, die an der Speicherstoffanhäufung im Korn beteiligt sind. QTL-Analysen von zirka 47.000 Expressionsprofilen ergaben in einem ersten Versuch über 1300 signifikante eQTLs, von denen bislang rund 700 in einem zweiten Versuch bestätigt werden konnten. Die quantitative Analyse von löslichen Eiweißen aus dem reifen Korn lieferte mehr als 1.500 distinkte Proteine, von denen bereits 90 Prozent identifiziert werden konnten. Im Durchschnitt unterscheiden sich davon 20 bis 30 zwischen den einzelnen Introgressionslinien.

Die vorgestellten experimentellen Ansätze liefern die Grundlage für eine wissenschaftsbasierte molekulare Züchtung und werden via „smart breeding“ (clevere Züchtung) und biotechnologische Methoden zu neuen, leistungsfähigen Getreidesorten führen.

Abb. 1: Genetische Analyse bedeutender Stoffwechselprozesse während der Gerstenkornentwicklung. Der Zeitraum direkt nach Beginn der Blüte (Tag 0) bis zum Erntezeitpunkt (nach Tag 24) ist für das Studium wesentlicher Speicherprozesse im Gerstenkorn von besonderem Interesse, da hier beispielsweise nutzbare Stärke im Gerstensamen angereichert wird. Der mit dem Pfeil ‚Stärke‘ versehene Querschnitt einer eingefärbten Getreidefrucht verdeutlicht den Anteil des Speichergewebes in einem Korn am Tag 16. Im darunter abgebildeten Gen-Browser sind erste Analyseergebnisse dargestellt. Die farblich hervorgehobenen Regionen sind den rechts daneben stehenden funktionalen Expressionsmustern mit ihren spezifischen Zeitverläufen zugeordnet. Mit derartigen Daten kann eine systematische Identifizierung von Schlüsselprozessen im wachsenden Gerstenkorn erfolgen.



GABI-RYE-BARLEY-DIVERSITY: Von der Genomik zur genetischen Diversität: Zusammenhang zwischen genetischer Vielfalt und Merkmalsvariationen bei Getreide

Silke Stracke, Grit Haseneyer und Andreas Graner

Leibniz Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben

Sascha Sauer *Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin*

Hartwig H. Geiger und Grit Haseneyer, Hans-Peter Piepho

Universität Hohenheim, Institut für Pflanzenbau und Grünland, Stuttgart

Christian Paul *FAL Institut für Pflanzenbau und Grünlandwirtschaft, Braunschweig*

Alain Charcosset, Letizia Camus-Kulandaivelu, Jean-Baptiste Veyrieras, Michel Rousset, Domenica Manicacci, Isabelle Bonnin, Julien Cornoullier

INRA - UPS - INAPG - CNRS, Station de Génétique Végétale, Ferme du Moulon Gif sur Yvette, Frankreich

Dominique Brunel und Céline Dupuits *INRA - CNG, Evry cedex, Frankreich*

Gilles Charmet und Catherine Ravel *INRA Clermont-Ferrand, Frankreich*

Brigitte Courtois und Monique Deu *CIRAD-Biotrop, Montpellier, Frankreich*

Pierre Dubreuil und Alain Murigneux *Biogemma, Aubière, Frankreich*

Wichtige Ansatzpunkte bei der Züchtung von leistungsfähigen Getreidesorten sind Merkmale wie Blüh- und Reifezeitpunkt, Wuchshöhe und Kornqualitätsparameter, die Ertrag und Nährwert beeinflussen. Diese Merkmale werden durch Gene des reproduktiven Wachstums reguliert. Diese Gene beziehungsweise zunächst potenzielle Kandidaten aufzuspüren und zu untersuchen, ist Aufgabe der Genomforschung. Im Rahmen einer Kooperation zwischen GABI-Wissenschaftlern und Mitarbeitern unter dem Dach des entsprechenden französischen Forschungsprogramms Génoplante steht die Identifizierung derartiger Kandidatengene bei landwirtschaftlich wichtigen Getreidesorten. Darüber hinaus werden Verfahren zur Analyse und züchterischen Nutzung von Marker-Merkmalsskorrelationen entwickelt und etabliert. Mit Markern lassen sich bestimmte Stellen des Genoms nachweisen und so Gene lokalisieren, die an der Regulierung eines untersuchten Merkmals beteiligt sind. Von GABI-Seite sind Forscher des Leibniz Instituts für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben, des Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin, der Universität Hohenheim sowie drei Industriepartner in

das Projekt eingebunden.

Schwerpunkt der aktuellen GABI-Géno- plante-Kooperation ist es, die Nukleotiddiversität – Variationen der DNA-Bausteine – ausgewählter Kandidatengene zu bestimmen und die Assoziation zwischen Sequenz- und Merkmalsvariationen bei verschiedenen Getreidearten zu analysieren. Im deutschen Projektteil werden federführend Gerste und Roggen bearbeitet. Komplementär werden vom französischen Projektpartner Reis, Mais, Weizen und Sorghum untersucht.

Für Gerste haben die GABI-Wissenschaftler zunächst ein Testsortiment aus 150 Sorten und Stämmen der beteiligten Züchterfirmen sowie 225 weltweit verbreiteten Herkünften aus der so genannten „Barley Core Collection“ und der Gaterslebener Genbankkollektion zusammengestellt. Die Evaluierung der Pflanzen hinsichtlich Ährenschieben, Tausendkorngewicht, Pflanzenhöhe, Rohprotein- und Stärkegehalt im Korn ergab, dass die durch die genetische Basis beeinflusste Variation (Diversität) in den Merkmalsausprägungen hoch ist. Dabei wies das weltweite Genbanksortiment eine höhere Diversität als das Zuchtmaterial auf. Im Sequenzpolymorphismus beziehungs-

weise der Sequenzvariation der Kandidatengene spiegelte sich der gefundene Unterschied wider. Nach weiterer Analyse der Merkmale sowie der genetischen Basis können dann im Rahmen von vergleichenden Assoziationsstudien vorteilhafte Zustandsformen der an der Merkmalsausprägung beteiligten Gene (Allele) identifiziert werden.

Das Roggensortiment umfasst je 75 Genotypen (Gesamtheit der genetischen Information) aus zwei Populationssorten, 160 Linien aktueller Kreuzungsprogramme sowie 66 Genbankherkünfte. Basierend auf den zuvor ermittelten Gensequenzinformation von Gerste identifizieren die GABI-Forscher hier gezielt die entsprechenden Kandidatengene bei Roggen und führen anschließend vergleichende Diversitätsstudien durch.

Die französischen Projektpartner identifizieren im Rahmen ihrer Forschungsarbeiten ebenfalls funktional entsprechende Kandidatengene und analysieren ihre genetische Variation. Somit wird durch das Projekt erstmals eine umfangreiche und vor allem artübergreifende Datenbasis für Genombereiche geschaffen, die für die Pflanzenzüchtung und -produktion von besonderem Interesse sind.

Stressantworten

GABI-DILEMA: Variationen von pflanzlichen Resistenzmerkmalen als Basis für die Züchtung krankheitsresistenter Sorten nutzen

Jane Parker and Michael Bartsch Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln

Trotz der modernen Pflanzenschutzpraxis geht ein Großteil der weltweiten Ernte aufgrund von Krankheiten und weiteren Schadeinwirkungen verloren. Deshalb arbeitet die Pflanzenzüchtung intensiv daran, krankheitsresistente Nutzpflanzen zu erzeugen. Dabei ist es zunächst wichtig, die komplexen genetischen Vorgänge zu verstehen, die in der Natur zur Ausbildung von Resistenzen führen. Bekannt ist, dass Pflanzen als Antwort auf einen Pathogenangriff eine zelluläre Reprogrammierung einleiten, die zur Ausbildung einer Breitspektrum-Resistenz führt. Die Mechanismen, mit denen Pflanzen bestimmte Krankheitserreger erkennen und abwehren, wurden in der Vergangenheit erfolgreich erforscht. Weitgehend unerforscht sind hingegen Resistenzmerkmale, die durch Rekombination – ein Vorgang, bei dem genetisches Material neu kombiniert wird – innerhalb einer Art erzeugt werden können. Diese Umorganisation kann zu neuen, vorteilhaften Merkmalskombinationen führen. Rekombinationsvorgänge finden in der Natur zufällig statt. Sie tragen zur genetischen Vielfalt (Diversität) innerhalb einer Population und damit auch zu ihrer Anpassungsfähigkeit bei.

Das Potenzial dieser durch Rekombination entstandenen Resistenzmerkmale zu erschließen, ist Ziel des GABI-DILEMA-Projekts. Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts (MPI) für Züchtungsforschung in Köln erforschen hierzu die Variation der Resistenzphänotypen (äußerlichen Resistenzmerkmale) in der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand). Dazu haben sie ausgewählte, geographisch definierte Linien, Populationen von rekombinanten Inzuchtlinien (RILs) und Mutanten mit defekter Pathogenabwehr auf ihre Resistenz gegenüber verschiedenen Typen von Krankheitserregern untersucht. Arabidopsislinien beziehungsweise Populationen, die eine signifikante Veränderung des Resistenzphänotyps gegenüber bakteriellen und pilzlichen Pathogenen aufwiesen, wurden nachfolgend einer detaillierten genetischen Charakterisierung unterzogen.

Parallel dazu haben die MPI-Forscher bei Mutanten mit einer defekten Resistenzsignal-kette die Aktivierung der Erbinformation auf mRNA-Ebene (Genexpression) analysiert. Expressionsprofile während eines Pathogenangriffs zeigten ihnen an, welche Gene in dieser Situation aktiv sind (Abb. 1). Auf dieser Basis

konnten neue Regulatoren der pflanzliche Immunantwort identifiziert werden.

Entscheidend für ein tiefergehendes Verständnis der vernetzten Signalketten ist es zudem, regulatorische Vorgänge nach der Proteinsynthese (Translation) einzubeziehen. Konkret untersuchten die Forscher die Ubiquitylierung und Sumoylierung auf Basis von Ubiquitin und SUMO – beides Substanzen, die die Funktionsweise von Eiweißbausteinen modifizieren können. Dazu wurde ein Versuchsansatz entwickelt, der die Charakterisierung von SUMO-konjugierenden (anlagernden) und SUMO-dekonjugierenden (abspaltenden) Enzymen in Arabidopsis ermöglichte. Zudem wurden die posttranslationalen Modifikationen und intermolekulare Assoziationen von zentralen Regulatoren der Pflanzenimmunität bearbeitet. Zum Schluss hat das GABI-DILEMA-Team alle gewonnenen Daten aus den Bereichen Genexpression, Translation, posttranslationale Modifikation und regulatorische Proteinaktivität integriert. Damit sind umfangreiche Ressourcen für die Entwicklung neuer, biotechnologischer Ansätze zur Kontrolle von Pflanzenkrankheiten geschaffen.

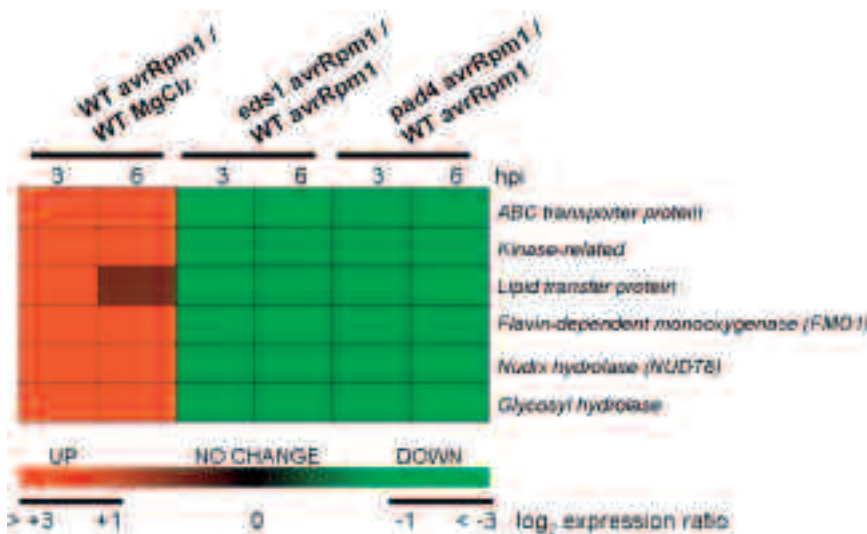


Abb. 1: Immunantwort verschiedener Arabidopsislinien – Wildtyp sowie EDS1- und PAD4-Mutanten – auf Befall mit *Pseudomonas syringae*, der das Avirulenzgen *avrRpm1* exprimiert. Die Expressionsanalyse offenbarte eine Gruppe von sechs Genen, deren Expressionslevel von EDS1 und PAD4 abhängig ist. Rot zeigt eine erhöhte, grün eine gesenkte Expressionsrate an. EDS1 gilt als zentraler Regulator bei der Pathogenabwehr und bindet dabei an PAD4 als signalgebenden Partner. In weiterführenden Untersuchungen konnte die Flavin-Monooxygenase als positiver Regulator und die Nudix-Hydrolase als negativer Regulator der pflanzlichen Immunantwort identifiziert werden.

GABI-AGROTEC: Genetische Mechanismen bei der Abwehr von Fusariumpilzen in Getreidezellen liefern Grundlagen zur gezielten Verbesserung der Krankheitsresistenz

Uwe Sonnewald und Sophia Biemelt Institut für Biologie, Universität Erlangen-Nürnberg

Wilhelm Schäfer und Frank J. Maier Molecular Phytopathology and Genetics, Biocenter Klein Flottbek, Universität Hamburg

Die Belastung landwirtschaftlicher Erzeugnisse mit Mykotoxinen (Schimmelpilzgiften) stellt heutzutage ein weltweites Problem dar. Die Food and Agricultural Organization (FAO) der Vereinten Nationen schätzt, dass mehr als ein Viertel der landwirtschaftlichen Produktion mit den für Tier und Mensch bereits in geringen Dosen giftigen Substanzen kontaminiert ist. Im mitteleuropäischen Feldanbau haben vor allem die Schimmelpilzarten *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum* wirtschaftliche Bedeutung. Sie sind die häufigsten Erreger der so genannten Ährenfusariose bei Getreide sowie der Stängel- und Kolbenfäule bei Mais. Insbesondere wichtige Nutzpflanzen wie Weizen, Gerste und Mais werden durch Fusariumpilzbefall mit Mykotoxinen belastet, die dann über Lebens- und Futtermittel zu Mensch und Tier gelangen.

Über klassische Züchtungsmethoden konnten bis dato keine Fusarium-resistenten Getreidesorten erzeugt werden. Chemischer Pflanzenschutz hat sich bei der Bekämpfung von Fusariumpilzen ebenso als nicht ausreichend effektiv erwiesen. Daher konzentriert sich das GABI-Agrotec-Projekt darauf, bislang unbekannte Abwehrmechanismen von Getreide-

depflanzen gegenüber Fusariumpilzen zu identifizieren und der Pflanzenzüchtung zugänglich zu machen. Dazu haben Forscher der Universität Gießen in diesem Rahmen mithilfe molekularbiologischer Methoden Zellen von Weizen- und Gerstpflanzen untersucht, die zuvor mit toxinproduzierenden und toxfreien Stämmen von *Fusarium graminearum* infiziert worden waren.

Um das Wachstum der Pathogene im Wirtsgewebe leichter verfolgen zu können, wurden die Pilze mit dem grün fluoreszierenden Protein (GFP) markiert. Mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie, die bei hoher Auflösung die räumliche Darstellung von Objekten ermöglicht, wurde die Infektion einzelner Kornanlagen, aber auch ganzer Ähren von Weizen und Gerste durch den Pilz untersucht. Beim Befall der Kornanlagen konnte kein Unterschied zwischen toxinproduzierenden und toxfreien Stämmen beobachtet werden. Allerdings lieferten die Versuche ein anderes, hoch interessantes Ergebnis: Die Mutation des MLO-Gens der Gerste, die eine vollständige rassenunspezifische Resistenz gegenüber dem biotrophen (auf lebende Wirtszellen angewiesenen) Gersten-

mehltaupilz zur Folge hat, führt in der Interaktion mit *F. graminearum*, der sich von totem Gewebe ernährt (nekrotroph), zu einer erhöhten Anfälligkeit.

Bei der Ausbreitung von *F. graminearum* innerhalb ganzer Ähren zeigten sich erhebliche Unterschiede zwischen Weizen und Gerste. In Gerste wanderte der Pilz von einer Kornanlage zur nächsten primär an der Oberfläche der Ährenspindel (Rachis), der Hauptachse der Ähre, entlang. Dabei fand die Wanderung unabhängig von der Produktion von Mykotoxinen statt. In Weizen wuchs der Pilz ausschließlich innerhalb des Rachisgewebes. Diese Form der Ausbreitung fand allerdings nur bei der Produktion von Mykotoxinen statt, da die Weizenpflanze bei einem toxfreien *F. graminearum* in der Lage war, diesen durch die massive Auflagerung von zusätzlichem Zellwandmaterial am Eintritt in die Ährenspindel zu hindern.

Jetzt gilt es, die Mechanismen und Gene, die an diesem effektiven Abwehrmechanismus beteiligt sind, zu identifizieren und zu analysieren. Das Wissen um ihre Regulation eröffnet einen vielversprechenden Ansatz zur erfolgreichen Bekämpfung der Fusariumpilze.

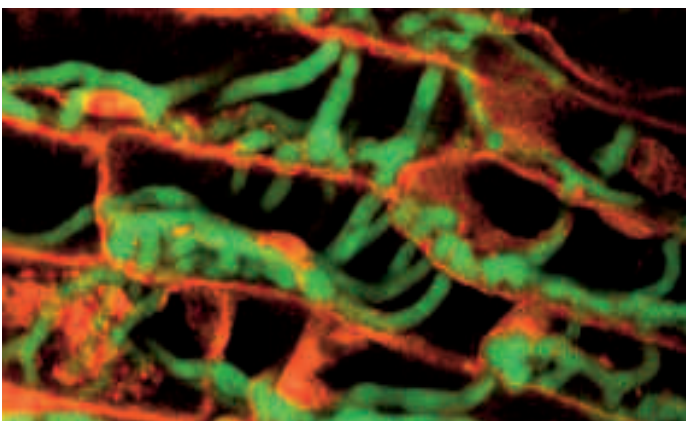


Abb. 1: Infektion der Gerstensorte "Ingrid" mit toxfreiem, GFP-ausprägendem *F. graminearum*. Das Bild zeigt einen Ausschnitt der äußersten Schicht der Fruchtschale (Epikarp) 48 Stunden nach Infektionsbeginn. Die grün fluoreszierenden Strukturen markieren den massiven Pilzbefall.

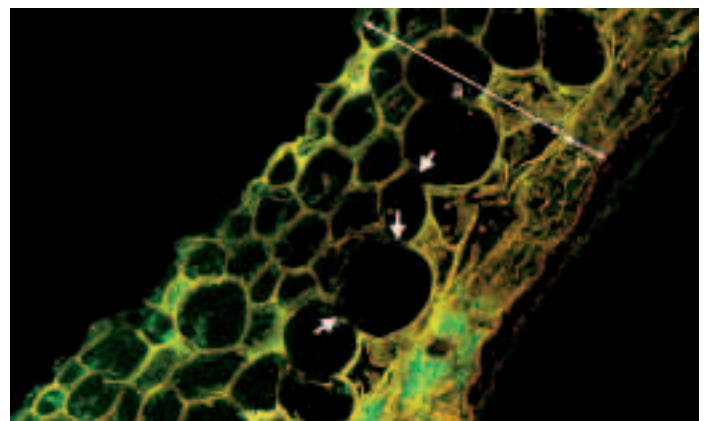


Abb. 2: Infektion einer Gerstenlinie, bei der eine Mutation am MLO-Gen vorliegt, mit toxfreiem *F. graminearum*. Die Abbildung zeigt die äußere und innere Fruchtwand (Perikarp) 72 Stunden nach Infektionsbeginn. Die Pfeile markieren den beginnenden Zellwandabbau, der durch die Mutation des MLO Gens begünstigt wird.

PRO-GABI: Pflanzliche Abwehrmechanismen gegen Pilzbefall gezielt einschalten

Jochen Kumlehn und Patrick Schweizer Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Gatersleben
Gregor Langen Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie, Giessen
Stéphane Bieri und Tom Wetjen BASF Plant Science GmbH, Limburgerhof

Pilzkrankheiten wie *Septoria*-Blattdürre, Blatt- und Spelzenbräune, Mehltau, Ährenfusariose und Roste (Abb. 1) verursachen jedes Jahr enorme wirtschaftliche Schäden. Sie beeinträchtigen dabei insbesondere Qualität und Ertrag der Getreideernte – trotz Einsatz konventioneller Pflanzenschutzmaßnahmen. Aus diesem Grund arbeiten Molekularbiologen mit Hochdruck daran, pilzresistente Getreidepflanzen zu entwickeln, die sich selbst ausreichend gegen Schaderreger zur Wehr setzen können.

Bei der Erzeugung von resistenten Nutzpflanzen spielen Promotoren eine wichtige Rolle. Es handelt sich dabei um DNA-Bereiche, welche die Umsetzung der genetischen Information in Proteine (Expression) zeitlich und räumlich kontrollieren. Sie aktivieren beispielsweise nur Abwehr-Gene in einem bestimmten Gewebe oder an Stellen mit Pathogenbefall. Die kontrollierte Expression der Pilzabwehr ist entscheidend, um den Energiehaushalt der

Pflanze zu schonen und damit die agronomische Leistung (den Ertrag) nicht zu beeinträchtigen. Somit stellen wirksame Promotoren ein wichtiges Handwerkszeug für die Entwicklung von pilzresistenten Getreidesorten dar. Forscher der BASF Plant Science GmbH in Limburgerhof haben es sich zusammen mit Wissenschaftler von der Universität Gießen und vom Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben zur Aufgabe gemacht, im Rahmen des Projekts Pro-GABI entsprechende Ressourcen für Weizen und Gerste bereitzustellen.

Da die Erreger von Pilzkrankheiten sehr unterschiedliche Infektionsmechanismen haben, hat das Pro-GABI-Team verschiedene Promotoren-Typen aufgespürt. So befällt der Mehltau (*Blumeria graminis*) etwa ausschließlich die oberste Schicht (Epidermis) der Blätter und ernährt sich von lebenden Zellen. Der Erreger der Ährenfusariose (*Fusarium graminearum*) hin-

gegen dringt vorzugsweise über die Spelzen (Hüllblätter der Blüte) ein und lebt von totem Gewebe. Dementsprechend haben die Forscher unter anderem nach Epidermis-spezifischen und Pilz-induzierbaren Promotoren (Abb. 2) sowie Spelzen-spezifischen Sequenzen gesucht.

Zur Identifizierung der Promotorregionen hat das Pro-GABI-Team mehrere Strategien verfolgt. Bei Expressionsstudien im Modellsystem Gerste wurde beispielsweise die Stärke der Expression von Genen in unterschiedlichen Blattgeweben mit und ohne Pilzbefall verglichen. Gene, die ausschließlich bei Pilzbefall aktiv sind, kamen in die nächste Runde: Ihre Promotorregionen wurden isoliert. Diese Sequenzen haben die Forscher nachfolgend zusammen mit dem β -Glucuronidase-Reportergen (GUS) in Weizen oder Gerste als Transgen eingebracht. Das GUS-Protein macht die erfolgreiche Expression sichtbar, indem es direkt vor Ort einen zugegebenen Farbstoff in ein blaues Pigment umwandelt. Bei Pilzbefall ist die Blaufärbung von Pflanzenzellen ein Maß für die Promotorspezifität (Abbildung 2). Auf diese Weise sind bereits zahlreiche, vielversprechende Sequenzen entdeckt worden.

Die bisher aussichtsreichsten Promotoren werden – kombiniert mit bekannten Pilzresistenzgenen – eingesetzt, um die pflanzliche Abwehr gegen Schadpilze am richtigen Ort und zur richtigen Zeit gezielt zu stärken. Letztendlich lassen sich so effektive Promotoren für die Getreidezüchtung entwickeln.

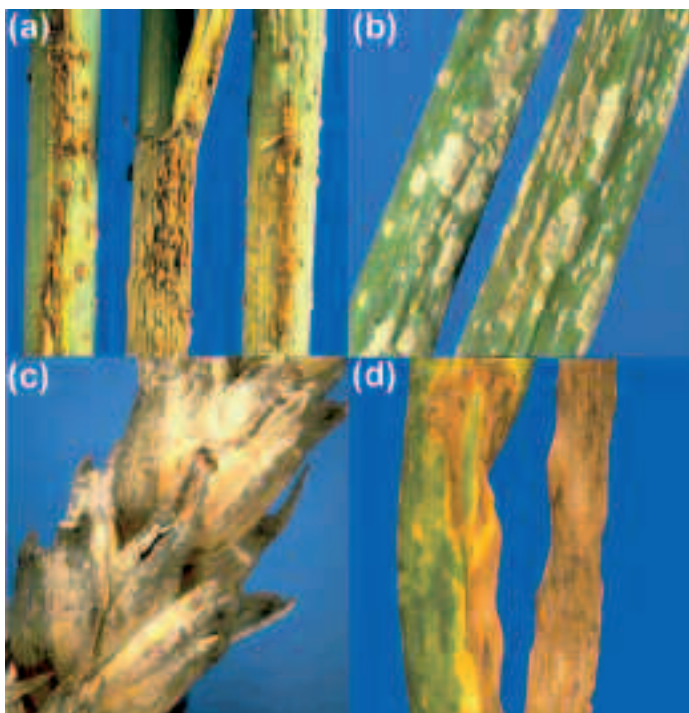


Abb. 1: Bedeutende Pilzkrankheiten des Weizens: (a) Schwarzrost, (b) Mehltau, (c) Ährenfusariose und (d) Septoria-Blattdürre.



Abb. 2: Starke, pathogen-induzierte Expression des GUS-Reporters in der Epidermis eines Gerstenblatts, kontrolliert durch einen im Rahmen von Pro-GABI neu identifizierten Promotor. Das Blatt wurde mit einer Schablone bedeckt und die unbedeckten Bereiche mit Mehltau (Engl. mildew) infiziert.

GABI-LIGNIN-METABOLIC-PATHWAY: Funktion von pflanzlichem Lignin: Besteht ein Zusammenhang zwischen Ligningehalt und Krankheitsresistenz?

Nikolaus L. Schlaich und Clarissa Masur Institut Biolll, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule (RWTH) Aachen

Harald Keller INRA, UIPMSV, Plant-Microbe Interactions and Plant Health, Antibes/France

Dominique Roby Laboratoire de Biologie Moléculaire des Relations Plantes-Microorganismes, UMR CNRS/INRA, Castanet-Tolosan/France

Caroline Levis Phytopathologie et Méthodologies de détection, INRA-Versailles, France

Lise Jouanin Biologie Cellulaire, INRA-Versailles, France

Lignin (lat. Lignum = Holz) ist nach Cellulose die zweithäufigste organische Substanz auf der Erde. Dabei handelt es sich um ein so genanntes Polymer, das aus drei verschiedenen Lignol-Einzelbausteinen (den Monomeren S, G und H) zu einem hochvariablen Netzwerk zusammengesetzt ist. In die pflanzliche Zellwand eingelagert, bewirkt Lignin die Verholzung der Zellen. Dank dieser Verstärkung können Landpflanzen aufrecht wachsen und in ihrem Inneren effizient Wasser und Nährstoffe transportieren. Zudem wird angenommen, dass Lignin zur Wundheilung und zur Abwehr von Krankheitserregern beiträgt.

Während Lignin für Pflanzen also vielfältige, wichtige Aufgaben übernimmt, ist es in der verarbeitenden Industrie als Pflanzeninhaltsstoff eher unerwünscht. Futtermittel und Papier produzierende Unternehmen fordern Pflanzen, die einen reduzierten, beziehungsweise veränderten Ligningehalt aufweisen. Das Polymer erschwert die Cellulosegewinnung beziehungsweise erhöht den Energieaufwand und Chemikalienbedarf bei der Papierherstellung und verringert die Verwertbarkeit der Pflanzen als Futtermittel. Beispielsweise könnte eine um zehn Prozent bessere Verdaubarkeit von Futterpflanzen die jährliche Milch- und Fleischproduktion in den USA um circa 350 Millionen US-Dollar erhöhen. Deshalb hat sowohl die Futtermittel- als auch die Papierindustrie ein starkes Interesse an Pflanzen mit reduziertem Ligningehalt. Die Herstellung solcher Pflanzen ist mit gentechnologischen Methoden möglich. Jedoch ist es unerlässlich, vorab zu prüfen, ob Lignin tatsächlich eine Rolle bei der Krankheitsresistenz spielt. Wenn ja, wären Pflanzen bei reduziertem Gehalt womöglich anfälliger gegenüber Krankheitserregern – dies könnte sich negativ auf den Ertrag auswirken.

Die detaillierte Erforschung von Auswirkungen auf Veränderungen im pflanzlichen

Ligninstoffwechsel auf die Krankheitsanfälligkeit ist Gegenstand des GABI-Projektes „LIGNIN METABOLIC PATHWAY“, das von Wissenschaftlern der RWTH Aachen gemeinsam mit französischen Partnern durchgeführt wird. Zur Herstellung von Lignin muss die Pflanze zuerst die Monolignol-Bausteine aus der Aminosäure Phenylalanin synthetisieren. Hierzu werden bis zu elf verschiedene Enzyme benötigt. Um die Auswirkung von Veränderungen in diesen Genen auf die Krankheitsanfälligkeit aufzuklären, arbeiten die GABI-Forscher mit Linien der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*), bei denen diese Enzyme keine Funktion zeigen (Abb. 1, linke Seite) und die somit Veränderungen im Ligningehalt aufweisen müssten.

Nach mehr als zwei Jahren bi-nationaler Zusammenarbeit lassen sich die untersuchten Pflan-

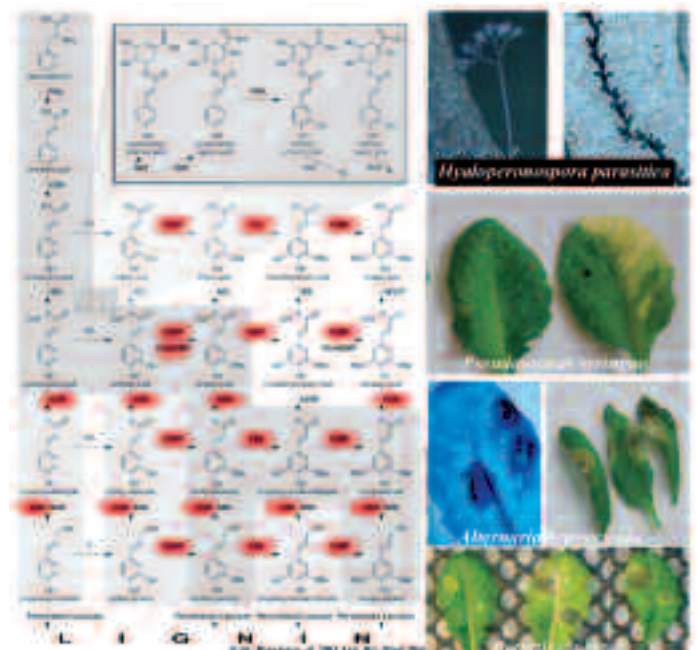
zenlinien folgendermaßen charakterisieren:

- Kaum Veränderungen in Ligningehalt und/oder -zusammensetzung und veränderte Antwort auf Pathogeninfektionen
- Deutliche Veränderungen in Ligningehalt und/oder -zusammensetzung und kaum veränderte Pathogenantwort
- Deutliche Veränderungen in Ligningehalt und/oder -zusammensetzung und höherer Anfälligkeit gegen gewisse Pathogene

Diese Ergebnisse erlauben folgendes Fazit: Es ist gelungen, spezifische Veränderungen im Ligningehalt und -zusammensetzung hervorzurufen, ohne dabei die Pathogenresistenz zu beeinflussen. Die besondere genetische Ausstattung der entsprechenden Pflanzenlinien kann – nach weiterer Prüfung – genutzt werden, um für die Futtermittel- und Papierindustrie pflanzliche Rohstoffe nach Maß zu züchten.

Abb. 1: Ligninbiosynthese und Schadsymptome Links ist der Monolignol-Biosyntheseweg dargestellt.

Die Enzyme, von denen Mutanten analysiert wurden, sind dabei rot unterlegt. Die Abbildungen daneben zeigen Symptome, die durch verschiedene Erreger an Pflanzen hervorgerufen werden.



GABI-CORE-GRAPE-GENE: Natürliche genetische Vielfalt der Weinrebe für die Züchtung von pilzresistenten Sorten erschließen

Gisela Neuhaus, Rudolf Eibach, Erika Maul, Reinhard Töpfer und Eva Zyprian

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen

Pilzkrankungen, vor allem Grauschimmel sowie Echter und Falscher Mehltau, lassen sich in deutschen Weinbergen mit Pflanzenschutzmitteln nur schwer unter Kontrolle halten. Pilzbefall verringert nicht nur den Ertrag der Rebstöcke, sondern führt zu deutlichen Einbußen der Weinqualität. Daher ist die Entwicklung qualitativ hochwertiger, pilzresistenter Rebsorten ein wichtiges Ziel in der heutigen Pflanzenzüchtung. Im Rahmen des trilateralen GABI-Projekts CORE-GRAPE-GENE haben Mitarbeiter am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, das zur Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ) in Siebeldingen gehört, hierfür die Erschließung neuer genetischer Quellen begonnen.

Die BAZ-Mitarbeiter untersuchen mit molekularbiologischen Methoden, wie Pilzresistenz bei der Rebe genetisch gesteuert wird beziehungsweise, welchen Einfluss potenzielle Kandidaten-Gene auf die Ausprägung von Pilzresistenzen haben. Dabei nutzen sie Assoziati-

onsstudien, um herauszufinden, ob potenzielle Kandidaten-Gene mit der Eigenschaft Pilzresistenz in Zusammenhang stehen. Zudem werden Diversitätsstudien durchgeführt, um Aufschluss über die Variabilität der ausgewählten Gene beziehungsweise deren verschiedene Zustandsformen zu erhalten.

Ziel des Forschungsvorhabens war zunächst, eine europäische Reben-Kernkollektion aufzubauen, die eine möglichst hohe phänotypische (sichtbare Merkmale betreffende) und allelische (unterschiedliche Zustandsformen eines Gens betreffende) Diversität bei gleichzeitig minimaler Individuenzahl aufweist.

Anhand von Befallshebungen zur Mehltauresistenz haben die BAZ-Mitarbeiter ein Startsortiment mit 357 resistenten Rebenherkünften ausgewählt. Im nächsten Schritt haben die Forscher – parallel zur Erfassung der äußerlichen Merkmale – die genetische Ausstattung der verschiedenen Rebentypen analysiert. Dabei zeigte sich, dass das Sortiment eine brei-

te genetische Basis bietet – im Durchschnitt existieren 37 unterschiedliche Varianten oder Allele für die untersuchten DNA-Sequenzen (Abb. 1). Nachfolgend haben die BAZ-Mitarbeiter die ursprüngliche Auswahl gezielt so komprimiert, dass eine aus 135 Reben bestehende Kernkollektion mit 99 Prozent der genetischen Vielfalt des Ursprungssortiments entstanden ist (Abb. 2).

Basierend auf diesem Genpool ist jetzt die effiziente Analyse der allelischen Varianten von Kandidatengenomen für Mehltauresistenz möglich. Dadurch lassen sich molekularbiologische Unterschiede auf kleinster Ebene beschreiben – etwa das Ausmaß, indem die kleinsten Bausteine der allelischen Sequenzen, die so genannten Nukleotide, in ihrer Zusammensetzung variieren. Die vollständig charakterisierte Rebenkernkollektion bildet dann eine wertvolle genetische Basis für die Züchtung von pilzresistenten Reben.

Anzahl beobachteter Allel-Längen pro SSR

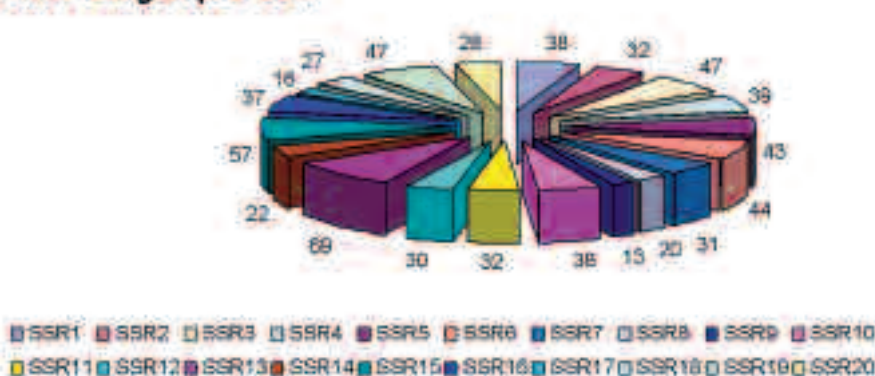


Abb. 1: Allelische Diversität an 20 untersuchten Genorten (loci). Dargestellt ist die Anzahl der verschiedenen Allel-Längen pro analysiertem Locus im ursprünglichen Set von 357 Rebenherkünften.

Verschiedene Größen von Core Sets in Relation zu ihrer allelischen Diversität

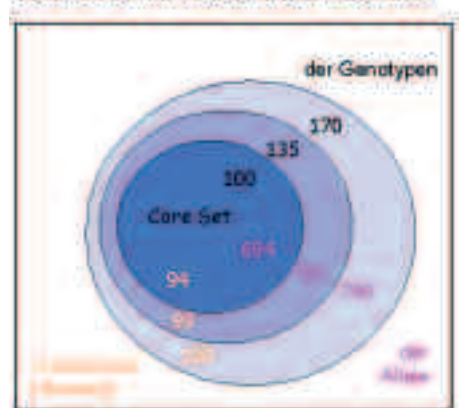


Abb. 2: Konstruktion der Rebenkernkollektion. Basierend auf der allelischen Diversität von 357 Herkünften mit Resistenz gegenüber Mehltauerkrankungen wurde geeignete Reben ausgewählt. Die Anzahl der Genotypen ist in Relation zur korrespondierenden Abdeckung der allelischen Diversität dargestellt.

GABI-DIGENFOR: Wie lassen sich Waldbäume besser an den Klimawandel anpassen?

Barbara Vornam, Oliver Gailing und Reiner Finkeldey

Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Georg-August-Universität

Bäume sind langlebige Organismen. Über mehrere Jahrzehnte hinweg müssen sie sich mit dem einmal vorhandenen Genbestand in ihrer Umwelt behaupten. Schnell wechselnde klimatische Bedingungen haben dabei großen Einfluss auf ihr Wachstum und ihre Entwicklung. Zudem trägt die im Vergleich zu krautigen Pflanzen deutlich niedrigere Reproduktionsrate dazu bei, dass sich Bäume nur schlecht an den Klimawandel und weitere Umweltstressfaktoren anpassen können. Deshalb ist es ein wichtiges Ziel der Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, die genetische Diversität (Vielfalt) von Waldbäumen zu erhalten und gleichzeitig die genetischen Mechanismen zu erforschen, die die Anpassungsfähigkeit der Bäume regulieren.

Im Rahmen des trinationalen GABI-Verbundprojektes DIGENFOR sind Wissenschaftler des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Universität Göttingen diesem Ziel jetzt ein gutes Stück näher gekommen. Sie untersuchten dabei das Anpassungsverhalten der Traubeneiche (*Quercus petraea*) und der maritimen Kiefer (*Pinus pinaster*). Auf Basis umfangreicher molekularbiologischer Untersuchungen konnte zunächst ein Pool an Kandidatengenomen mit adaptiver Bedeutung bereitgestellt werden. Daraus wählten die Wissenschaftler je Baumart 35 DNA-Abschnitte aus, die bei der Traubeneiche an der Austriebsphä-

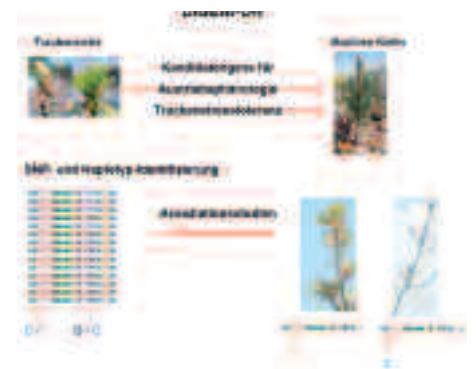
nologie und bei der maritimen Kiefer an der Austriebsphänologie sowie der Toleranz gegen Trockenstress beteiligt sind.

Im nächsten Schritt hat das Team diese Gene in natürlichen Baumpopulationen analysiert. Weiterhin wurden für Kiefer Provenienz-Nachkommenschaftstests angelegt. Hierzu wurden Halbgeschwisterfamilien von Mutterbäumen unterschiedlicher Standorte ausgepflanzt, um so den genetischen Einfluss auf bestimmte phänotypische Merkmale zu bestimmen (Assoziationstests). Diese Nachkommenschaftstests der Kiefer wurden in Frankreich – Standort mit guten Bedingungen – und Spanien – Standort mit trockenen und stressreichen Bedingungen – durchgeführt. Die phänotypischen (physiologischen) Merkmale der Bäume wurden dabei regelmäßig erfasst. Sowohl für Trockenbiomasse als auch für Höhen- und Durchmesserzuwachs stellten die Wissenschaftler signifikante Unterschiede zwischen den Populationen und auch zwischen den Familien fest (Tab. 1). Insgesamt zeigten alle untersuchten phänotypischen Merkmale, dass sie einer genetischen Kontrolle unterliegen.

Bei der Traubeneiche haben die Forscher zusätzlich auch das Austriebsverhalten entlang eines Höhengradienten in den natürlichen Populationen ermittelt. Im Vergleich zu ähnlichen Untersuchungen bei anderen Baumarten stellten sie eine wesentlich höhere Variation

zwischen und innerhalb von Populationen fest.

Da bei beiden Arten die betrachteten phänotypischen Merkmale genetisch reguliert werden, sind somit gute Voraussetzungen für weitere Assoziationsstudien geschaffen (Abb. 1). In der Praxis können die Ergebnisse des Projektes dann beispielsweise in forstlichen Konservierungsprogrammen genutzt werden. Da im Projekt der Zusammenhang zwischen Genen mit adaptiver Bedeutung und physiologischen Merkmalen erfasst wurde, ist es künftig auch möglich, gefährdete, wirtschaftlich und ökologisch bedeutende Baumtypen rechtzeitig zu erhalten. Darüber hat das DIGENFOR-Team im Rahmen der Forschungsarbeiten die Grundlagen für die Bewertung der adaptiven Diversität bei weiteren Pflanzenarten gelegt. Bestes Beispiel: Die hier für die maritime Kiefernart ermittelten Ergebnisse lassen sich etwa auf die in Deutschland heimische Kiefernart *Pinus sylvestris* übertragen.



Tab. 1: Varianzanalyse verschiedener phänotypischer Merkmale in Nachkommenschaften der maritimen Kiefer (*P. pinaster*).

Merkmal	Population	Varianzanalyse	
		Familien innerhalb von Populationen	Block (Wiederholungen der Aussaaten)
Trockenbiomasse	0,064	0,319	0,044
Höhe	0,135	0,144	0,077
Durchmesser	0,097	0,195	nicht signifikant

Beispielsweise erklären sowohl die Populationen als auch die Familien innerhalb der Populationen für den Höhenzuwachs 13,5 beziehungsweise 14,4 Prozent der Variation in Relation zur Gesamtvariation, sprich dieses Merkmal wird auch genetisch kontrolliert.

Abb. 1: Schematische Darstellung des GABI-DIGENFOR-Forschungsvorhabens. SNPs oder „single nucleotide polymorphisms“ sind Variationen einzelner Bausteine in der DNA-Sequenz. Da diese schnell und einfach zu bestimmen sind, werden sie vielfach für genomische Analysen herangezogen. Der Haplotyp beschreibt spezifische Zustandsformen von Genen (Allele), die durch die Abfolge mehrerer solcher SNPs entlang eines einzelnen Chromosoms definiert sind. Durch Vergleich von „gestressten“ und toleranten Bäumen lassen sich derartige Punktmutationen identifizieren.

GABI-COOL: Aus der Wärme in die Kälte – Züchtung kältetoleranter Maissorten

Milena Ouzunova, Thomas Presterl, Walter Schmidt und Günter Strittmatter KWS SAAT AG, Einbeck

Karin Ernst, Nino Baliashvili und Peter Westhoff Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Evelyn M. Möller, Katinka Wilde und Hartwig H. Geiger Universität Hohenheim, Stuttgart

Fabien Poree, Oliver Bläsing und Mark Stitt Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Potsdam-Golm

Im Rahmen des GABI-COOL Projektes zielen Forscher der Universitäten Düsseldorf und Hohenheim und des Max-Planck-Instituts in Golm gemeinsam mit der KWS SAAT AG darauf ab, dem Mais seine Vorliebe für die Wärme abzugewöhnen. Damit könnten künftig neue Regionen für die Produktion der wichtigen Nutzpflanze erschlossen werden. Mais wird heute weltweit angebaut und ist in vielen Ländern Grundnahrungsmittel. In Europa und Nordamerika hat er insbesondere Bedeutung als Tierfuttermittel erlangt.

Doch nicht überall wächst Mais nur bei warmen Temperaturen. In den Anden beispielsweise wird Mais von Kleinbauern bis über 3.000 Meter Höhe angebaut. Dies zeigt, dass es offensichtlich auch bei einer ursprünglich aus Zentralamerika stammenden Pflanze wenn nicht kälteliebende, so doch die Kälte tolerierende Genotypen existieren. Bei kühlen Frühjahrstemperaturen im nördlichen Mitteleuropa

von 5 bis 16 Grad Celsius reagieren bestehende Maissorten mit verlangsamer Keimung und einem gehemmten Jugendwachstum. Ertragsverluste und verringerte Futterqualität auf Grund der verzögerten Abreife sind die Folgen. Der späte Bestandesschluss erhöht die Konkurrenz durch Unkräuter, die Erosionsgefahr sowie die Auswaschung von Nährstoffen. Hier wären also kältetolerante Sorten von deutlichem Vorteil. Jedoch: Die erwähnten Landrassen aus den Anden haben nur eine geringe Ertragsleistung und kommen daher für einen kommerziellen Anbau nicht in Frage. Nur eine kältetolerante Elite-Maissorte kann den Bauern auch in kühlen Jahren einen hohen Ertrag ermöglichen. Für die Züchtung solcher Sorten hat GABI-COOL entscheidende molekularbiologische Grundlagen geschaffen.

Als Ausgangspunkt standen zwei Maislinien zur Verfügung, die sich in ihrer Kältetoleranz deutlich unterscheiden. Zunächst wurden mit-

tels Genexpressionsanalyse diejenigen Kandidatengene für die Eigenschaft Kältetoleranz identifiziert und mittels eigens entwickelter molekularer Markern festgestellt, wo genau sie sich auf den Chromosomen befinden. Auch Gene, von denen bereits durch Forschung an anderen Pflanzen bekannt war, dass sie bei Kältetestress eine Rolle spielen, wurden kartiert. Parallel dazu wurden in umfangreichen Feldversuchen an kalten und warmen Standorten das Jugendwachstum und der Ertrag der beiden Linien erfasst. Die chromosomalen Abschnitte, in denen diese phänotypischen Eigenschaften beeinflusst werden, wurden ebenfalls kartiert (QTL = quantitative trait loci). Zwei Regionen erwiesen sich dabei als besonders viel versprechend. Es zeigte sich nachfolgend, dass die potenziellen Kühletoleranz-Gene nicht in diesen QTL-Regionen liegen, sondern über das gesamte Genom verstreut vorkommen. Jedoch liegen in beiden QTL Regionen andere Gene, die an der Ausprägung der Kühletoleranz beteiligt sind. Denn die Übertragung der QTL-Regionen aus kältetoleranten in kühlempfindliche Pflanzen sorgte für ein besseres Jugendwachstum.

Diese Gene sollen kloniert werden und ihr Einfluss auf die Ausprägung der Kühletoleranz verifiziert werden. Zur Klonierung wird auf die existierenden BAC-Banken (BAC = bacterial artificial chromosome) des Maisgenoms zurückgegriffen. Eine physikalische Zuordnung der Gene in den QTL-Regionen zu bestimmten BAC-Klonen ist möglich, weil zwischenzeitlich von amerikanischen Kollegen anhand der BACs eine erste vorläufige physikalische Karte des Maisgenoms erstellt wurde und die Sequenzen der Gene mit Hilfe eines bioinformatischen Ansatzes entsprechenden Gruppen von BACs zugeordnet werden konnten. Der Positionsvergleich zwischen der genetischen GABI-Karte und der physikalischen BAC-Karte sowie die Zuordnung der Gene zu bestimmten Gruppen von BACs ermöglicht eine zielgerichtete kartenbasierende Klonierungsstrategie.



Abb. 1: Deutlicher Wachstumsunterschied zwischen kältetoleranten (links) und dem kühlesensitiven Maissorten (rechts).

Qualität und Ertrag

GABI-EVAST: Evaluation der Kraft von AssoziationsTests im Vergleich zur QTL-Kartierung

Thomas Altmann, Maria v. Korff und Hanna Witucka-Wall Universität Potsdam

Britta Schulz KWS Saat AG, Einbeck

Mark Stitt und Ronan Sulpice Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Potsdam-Golm

Pflanzen bauen aus Kohlenstoff und Stickstoff lebenswichtige Betriebs- und Speicherstoffe wie Zucker und Stärke, beziehungsweise Aminosäuren und Proteine auf. Für die Produktivität von Kulturpflanzen wie Zuckerrüben, aus denen derzeit etwa die Hälfte des weltweit produzierten Zuckers sowie nachwachsende Rohstoffe gewonnen werden, ist der Kohlenstoff-Stickstoff-Metabolismus demnach von fundamentaler Bedeutung. Er ist sowohl wichtig für das vegetative Pflanzenwachstum wie etwa die Bildung von Blättern, Stängeln und Wurzeln sowie das generative Wachstum, das die Bildung von Organen für die Fortpflanzung (Blüten und Samen) beinhaltet, als auch für die Anhäufung von Speicherstoffen in Ernteorganen. Während die physiologischen Reaktionen des Zuckerstoffwechsels und der Stärkebildung, die für diese Stoffwechselwege nötigen Gene und die Eigenschaften der durch sie codierten Enzyme sehr gut bekannt sind, fehlen weitgehend Informationen zu den regulierenden Faktoren. Insbesondere gesucht sind Parameter, die die Stoffwechselleistungen an den durch Pflanzenwachstum sowie durch Bildung und Reifung von Speicherorganen entstehenden Bedarf anpassen. Die Wechselwirkungen im Kohlenstoff-Stickstoff-Metabolismus sind noch weitaus komplizierter und wenig ist bisher über die Regulation der beteiligten Enzyme und die übergeordneten Regulationsnetzwerke bekannt.

Bislang wurden überwiegend physiologische Reaktionen auf geänderte Umweltbedingungen beziehungsweise veränderte Aktivitäten der beteiligten Gene herangezogen, um Stoffwechselregulationen zu analysieren. Im Rahmen des GABI-EVAST-Projektes haben Forscher der Universität Potsdam, dem Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie in Potsdam-Golm und der KWS Saat AG, Einbeck, die natürliche genetische Diversität (Vielfalt) als Ausgangspunkt für derartige Untersuchungen nutzbar gemacht. Das Projektteam hat eine große Kollektion von 435 Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*)-Linien sowohl genotypisch (auf Ebene der Erbinformation) als

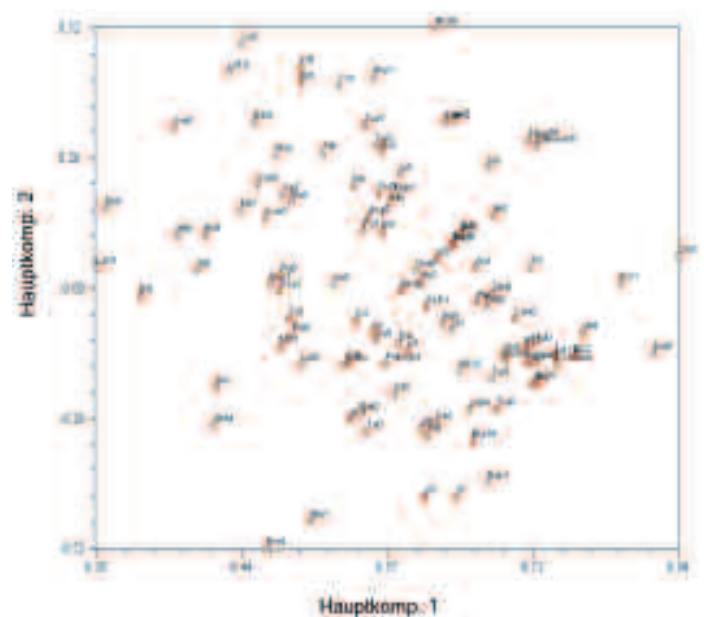
auch phänotypisch (physiologische, äußere Merkmale) detailliert untersucht. Die erhaltenen Genotyp- und Phänotypdaten nutzen die Forscher, um Assoziationsstudien und QTL-Kartierungen auszuführen. Mit einer QTL-Kartierung (Quantitative Trait Loci) lassen sich durch Einsatz von geeigneten Markern die Positionen von Genen (Genorte) erfassen, die die Ausprägung eines bestimmten Merkmals beeinflussen. Im Rahmen von Assoziationsstudien wird im Vergleich einer großen Zahl von Pflanzenlinien, die sich in bestimmten Eigenschaften unterscheiden, die genetische Basis für eine bestimmten Eigenschaft ermittelt.

Neben der genetischen Charakterisierung haben die GABI-EVAST-Forscher Stoffwechseleigenschaften sowie eine große Zahl von Enzymaktivitäten messtechnisch bestimmt. Konkret wurden die Pflanzen im Versuch auf ihre Biomasseakkumulation (Abb. 1), die Gehalte an Zuckern, Stärke, Aminosäuren, organischen Säuren, Protein und Chlorophyll und auf bis zu 40 Enzymaktivitäten untersucht. Auffällige Zusammenhänge zeigten sich zwischen hohem Wachstum sowie niedrigen Stärke- und Metabolitgehalten bei hohen

Enzymaktivitäten (Abb. 2) und umgekehrt. Daraus lässt sich ableiten, dass schnelles Wachstum mit hohen Stoffflüssen einhergeht, die sich in hohen Enzymaktivitäten und in eher niedrigen Gehalten an Metaboliten äußern.

Auf Basis der erhaltenen Daten prüft das Team an der Ackerschmalwand *Arabidopsis thaliana*, dem klassischen Modellorganismus der Genomforschung, die Anwendbarkeit von genomweiten Assoziationstests und vergleicht sie mit dem Potenzial der QTL-Analysen. Letztendlich werden im Rahmen des Projektes Genomregionen identifiziert, die Gene mit wichtigen Funktionen für den Ablauf oder die Regulation von Primärstoffwechselreaktionen beinhalten und diese Prozesse mit dem Pflanzenwachstum koppeln. Die Anwendung der bei *Arabidopsis* etablierten Verfahren und Techniken wird bereits bei Zuckerrüben geprüft mit dem Ziel, die Regulation metabolischer Merkmale mit hoher wirtschaftlicher Bedeutung wie etwa den Saccharose-Gehalt bei dieser Kulturpflanze zu verstehen und bei der Pflanzenzüchtung gewinnbringend einsetzen zu können.

Abb. 1: Variation der Größe (Biomasse) von 113 natürlichen Arabidopsis thaliana Herkünften bei Wachstum unter kontrollierten Bedingungen. Gezeigt ist das mittlere Frischgewicht pro Pflanze (Blattrosette, +/- Standardfehler) nach fünfwöchigem Wachstum unter Kurztag-bedingungen (8 Std. Licht, 16 Std. Dunkelheit).



GABI-SUGAR-BEET-SEED: Saatgutqualität bei Zuckerrüben verbessern: Mit Hilfe von Markern Qualitätsprofile von Saatgutpartien erstellen

Juliane Meinhard, Andreas Menze und Uwe Fischer KWS SAAT AG, Einbeck

Elena Pestsova und Peter Westhoff Institut für Entwicklungs- und Molekularbiologie der Pflanzen, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Julie Catusse, Claudette Job und Dominique Job, CNRS/BayerCropScience joint laboratory (UMR2847), Lyon/France

Die Produktion von qualitativ hochwertigem Saatgut, insbesondere im Hinblick auf Keimqualität und Triebkraft, ist ein vorrangiges Ziel für jeden Saatgutproduzenten. Dies gilt auch für das Saatgut der Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.), einer Nutzpflanze mit hoher ökonomischer Bedeutung (Abb. 1). Ihr Anbau erfolgt weltweit in gemäßigten und subtropischen Regionen. Nahezu die Hälfte des derzeit weltweit produzierten Zuckers wird aus ihren verdickten Wurzeln gewonnen.

Die Saatgutqualität ist ein komplexes Merkmal, das in seiner Ausprägung von vielen Faktoren (genetischen und umweltbedingten Parametern) beeinflusst wird. Verluste an Keimqualität

können beispielsweise während aller Phasen des Produktionsprozesses auftreten, etwa während der Vermehrung, der Aufbereitung und auch während der Lagerung. Um Saatgutpartien in Bezug auf ihr Qualitätspotenzial besser charakterisieren zu können, arbeiten Forscher der Universität Düsseldorf und des CNRS/BayerCropScience joint laboratory (UMR2847) zusammen mit der KWS SAAT AG in Einbeck im Rahmen des bilateralen Kooperationsprojekts „SUGAR BEET SEED“ an der Identifizierung geeigneter Marker für dieses Merkmal.

Um potenzielle Marker zu identifizieren, wenden die Wissenschaftler Verfahren der Genexpressionsanalyse an. Dabei wird der gesam-

te Prozess vom Ablesen der Gene, dem Umschreiben der DNA in Boten-RNA (Transkription) bis hin zur Synthese der codierten Proteine untersucht, um geeignete Kandidaten sowohl auf Ebene des Transkriptoms als auch des Proteoms zu erfassen.

Dazu analysierte das GABI-GENOPLANTE-Team zunächst den Keimungsprozess einer unter normalen Bedingungen angekeimten Saatgutprobe (ungekeimte Samen; frühe, mittlere und späte Keimstadien), um einen „Referenzzustand“ zu beschreiben. Im nächsten Schritt haben die Forscher Versuche mit Proben durchgeführt, deren Keimqualität beziehungsweise Triebkraft durch Alterungs- und/oder Vorkeimungsverfahren negativ beziehungsweise positiv verändert wurde. Ebenfalls untersucht wurden Samen, die unter speziellen Stressbedingungen angekeimt wurden.

Durch den Vergleich mit den Referenzdaten lassen sich diejenigen Faktoren identifizieren, die mit den jeweiligen Veränderungen des Qualitätszustandes korreliert sind. Diese Kandidaten werden dann tiefergreifender untersucht – anhand von zusätzlichen Saatgutproben, die eine entsprechende, natürliche Variation in ihrem Qualitätspotenzial aufweisen.

Bisher haben die Forscher im laufenden Projekt etwa **1000** samen- beziehungsweise keimungsspezifische Proteine sowie rund **3.000 EST-Sequenzen** näher charakterisiert. Die vergleichende Analyse dieser Daten liefert grundlegend neue Erkenntnisse über die molekularen Mechanismen, die zur Ausbildung einer neuen Zuckerrübenpflanze führen. Somit ermöglicht es das GABI-GENOPLANTE Kooperationsprojekt „SUGAR BEET SEED“ letztendlich, Verfahren zur Saatgutproduktion und Saatgutvorbehandlung entscheidend zu optimieren.



Abb. 1: Keimender Zuckerrübensamen.

GABI-COMPARATIVE-GENOMICS: Wertvolles Rapsprotein für die menschliche Ernährung erschließen

Bettina Kah und Bernd Weisshaar Lehrstuhl für Genomforschung, Universität Bielefeld

Rod Snowdon Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I, Justus-Liebig-Universität Gießen

Gunhild Leckband Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Holtsee

Milena Ouzunova KWS SAAT AG, Einbeck

Raps (*Brassica napus*) gehört zusammen mit Soja und Ölpalme zu den weltweit wichtigsten Ölpflanzen. In Deutschland stammt mehr als die Hälfte des Pflanzenöls aus dem gelbblühenden Kreuzblütlergewächs. Es dient einerseits als Speiseöl, findet aber zunehmend auch Verwendung in der Herstellung von technischen Produkten wie Rapssäuremethylester (Biodiesel), einer wichtigen Quelle für regenerative Energie. Der nach der Ölgewinnung zurückbleibende Pressrückstand enthält sehr hochwertige Proteine, die auch für die menschliche Ernährung geeignet wären. Ein hoher Rohfaseranteil und der Gehalt an bitter schmeckenden, kondensierten Tanninen verhindern jedoch die Verwendung des Presskuchens als Nahrungsmittel. Die Tannine, pflanzliche Inhaltsstoffe aus der Klasse der Flavonoide, sind für die dunkle Färbung des Rapssamens verantwortlich (Abb. 1). Ein wichtiges Ziel der Rapszüchtung ist es daher, den Tanningehalt der Samen zu reduzieren, um das Rapsprotein für die menschliche Ernährung zu erschließen. Im Rahmen des Projektes GABI-CompGen haben Wissenschaftler der Universität Bielefeld zusammen mit Mitarbeitern des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der

Justus-Liebig-Universität Gießen sowie der Norddeutschen Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG in Holtsee und KWS SAAT AG in Einbeck in Kooperation mit mehreren Arbeitsgruppen aus Frankreich, die von Dr. Loic Lepiniec koordiniert wurden, die methodischen Grundlagen geschaffen, um gezielt Sorten mit reduziertem Tanningehalt zu züchten.

Bislang war keine gezielte Züchtung möglich, da das Merkmal Tanningehalt durch mehrere Gene bestimmt wird, über die im Raps nur wenig bekannt ist. Daher nutzen die GABI-Wissenschaftler für ihre Versuche die Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*), wie Raps eine Pflanze aus der Familie der Kreuzblütler, deren Genom bereits seit 2000 vollständig sequenziert ist. Für diese Modellpflanze sind zahlreiche Mutanten bekannt, die aufgrund von Defekten in der Biosynthese von Flavonoiden keine braunen Samen mehr produzieren. Die in den Mutanten defekten Gene kodieren entweder für Enzyme, die für die Bildung der Flavonoide benötigt werden, oder für Regulatoren des Stoffwechselweges. Bedingt durch die enge Verwandtschaft von Ackerschmalwand und Raps weisen Gene mit gleicher Funktion in bei-

den Arten sehr hohe Sequenzidentitäten auf.

Daher nutzt das GABI-CompGen-Team vergleichende Untersuchungen, um die bekannten Gene der Flavonoidsynthese aus der Ackerschmalwand im etwa zehnmal so großen Rapsgenom zu identifizieren. Nach Sequenzierung dieser Kandidatengene erfassen die Forscher Sequenzunterschiede zwischen gelb- und schwarzsamigen Linien, die dann die Entwicklung von genetischen Markern erlauben. Derartige Marker vereinfachen die konventionelle Pflanzenzüchtung enorm. Denn mit ihrer Hilfe lassen sich gerade bei komplexen Merkmalen, die stark von Umwelteinflüssen abhängen oder durch mehr als ein Gen vererbt werden, die erwünschten Eigenschaften früh in der Entwicklung der Pflanze eindeutig feststellen. Somit können geeignete Pflanzen im Züchtungsprozess deutlich schneller ausgelesen werden.

Im Rahmen von GABI-CompGen konnten bereits mehrere Gene des Flavonoid-Biosyntheseweges in Raps isoliert, kartiert und auf ihre Funktion hin untersucht werden. Dies stellt ein wichtiges Hilfsmittel auf dem Weg zur Züchtung von gelbsamigen Rapsorten dar, die als wertvolle Proteinquelle dienen können.

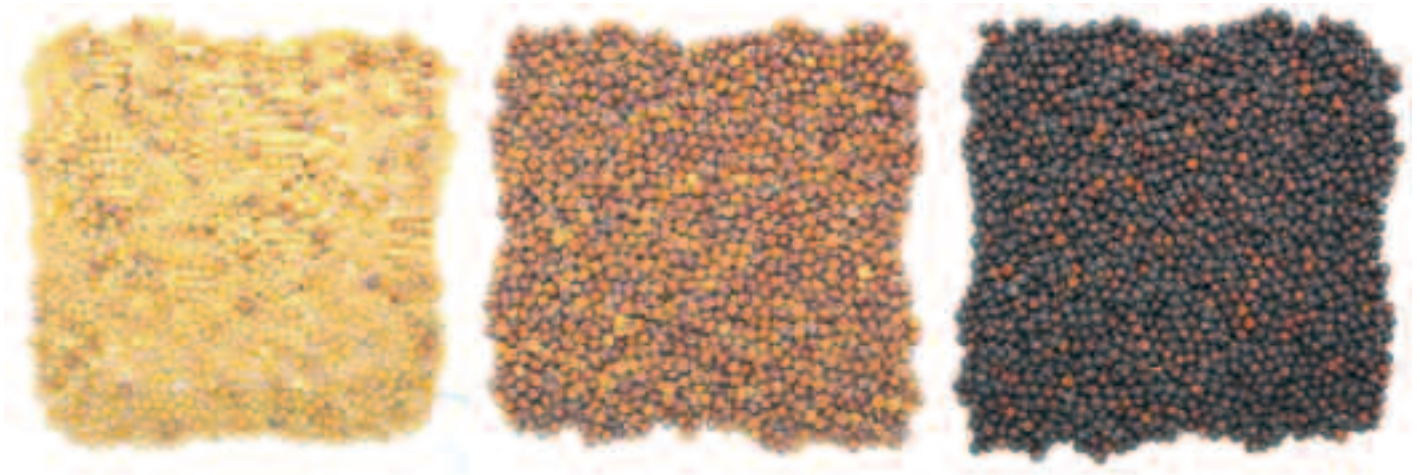


Abb. 1: Rapssamen mit unterschiedlicher Färbung. Die Samen stammen von einzelnen Winter-Ölraps-Linien aus der Kreuzung zweier Zuchtlinien der Universität Gießen: Als „Eltern“ dienten 25629-3 (gelbsamiger Elter) und K26-96 (schwarzsamiger Elter).

GABI-BRIDGE: Die Brücke von Sequenz zu Ölgehalt und Resistenz: DNA-Unterschiede kontrollieren agronomisch wichtige Merkmale bei Raps

Wolfgang Ecke und Martin Lange Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzenzüchtung, Georg-August-Universität Göttingen

Renate Schmidt, Katrin Bach und Eva Dietrich Max-Planck-Institut für molekulare Pflanzenphysiologie, Golm

Rod Snowdon und Katrin Link Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Justus-Liebig-Universität Gießen

Milena Ouzunova und Frank Breuer KWS SAAT AG, Einbeck

Dieter Stelling und Detlef Hauska Deutsche Saatveredelung AG, Lippstadt

Gunhild Leckband und Felix Dreyer Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Hohenlieth

Jutta Detering und Peter Duchscherer RAPS GbR, Grundhof

Werner Horn und Stine Tuvesson SW Seed Hadmersleben GmbH, Hadmersleben

Raps (*Brassica napus*) ist hierzulande die wichtigste und weltweit eine der bedeutendsten Ölpflanzen. Das aus den Samen gewonnene Öl findet als Speiseöl in der menschlichen Ernährung und als Rohstoff in industriellen Prozessen Anwendung, wohingegen das Rapsschrot als Tierfuttermittel dient. Dass Raps für Mensch und Tier überhaupt erschlossen werden konnte, ist der Pflanzenzüchtung zu verdanken, die aus den heutigen Kultursorten die ernährungsphysiologisch problematische Erucasäure entfernt und den Gehalt an bitter schmeckenden Glucosinolaten (Senfölglycosiden) gesenkt hat.

Um die vorhandenen Rapsorten im Hinblick auf Ertrag, wertvolle Inhaltsstoffe und Standortanpassung immer weiter zu optimieren, ist es wichtig, die vorhandene genetische Vielfalt (Diversität) besser zu nutzen. Deshalb haben die an GABI-BRIDGE beteiligten Zuchtunternehmen Norddeutsche Pflanzenzucht, Deutsche Saatveredelung, Saat-zucht Hadmersleben, Raps GbR und KWS SAAT AG sowie als wissenschaftliche Partner Mitarbeiter der Universität Göttingen, Universität Giessen und des Max-Planck-Instituts Golm die genetische Diversität in Raps erforscht. Das Ausgangsmaterial bildeten aktuelle Winterrapsorten sowie verwandte genetische Ressourcen, wie sie in alten Landsorten oder klimatisch nicht ange-

passten Herkünften vorliegen, sowie in verwandten Arten.

Untersucht wurden dabei Kandidaten-Gene für die agronomisch bedeutenden Merkmale Ölgehalt und Krankheitsresistenz (Abb. 1) bei verschiedenen Genotypen. Da *Brassica napus* eine polyploide Pflanze ist, die viele Chromosomensätze in ihren Zellen trägt, wurden zunächst für jedes Kandidaten-Gen zwischen drei und neun Genkopien identifiziert, isoliert und sequenziert. Anschließend ermittelte das Projektteam die allelische Diversität der einzelnen Genkopien, sprich die verschiedenen Zustandsformen der Gene, hervorgerufen durch geringfügige Änderungen in der DNA-Sequenz (Abb. 2). Es zeigte sich, dass die allelische Diversität im aktuellen Winterrapsortiment

sehr eingeschränkt ist. Verwandte genetische Ressourcen weisen dagegen eine deutlich breitere allelische Variation auf und können somit zur gezielten Erweiterung der genetischen Diversität von Winterraps eingesetzt werden.

Nachfolgend prüften die Wissenschaftler, ob die identifizierte allelische Variation der Raps-DNA mit den Merkmalen Ölgehalt und Resistenz korreliert. Für beide Eigenschaften konnten Sequenzabschnitte auf den Kandidaten-Genen gefunden werden, die zu einer signifikanten Verbesserung beitragen, etwa einer Steigerung des Ölgehalts um ein bis zwei Prozent. Die Identifizierung dieser Schlüsselstellen im Rapsgenom kann die Züchtung von optimierten Sorten künftig entscheidend voranbringen.



Abb. 1: Schadensbild der Wurzel in verschiedenen *Brassica napus* Genotypen bei *Phoma lingam*-Befall. V.l.n.r. stetig steigender Befall. Rechte Pflanze ist tot.

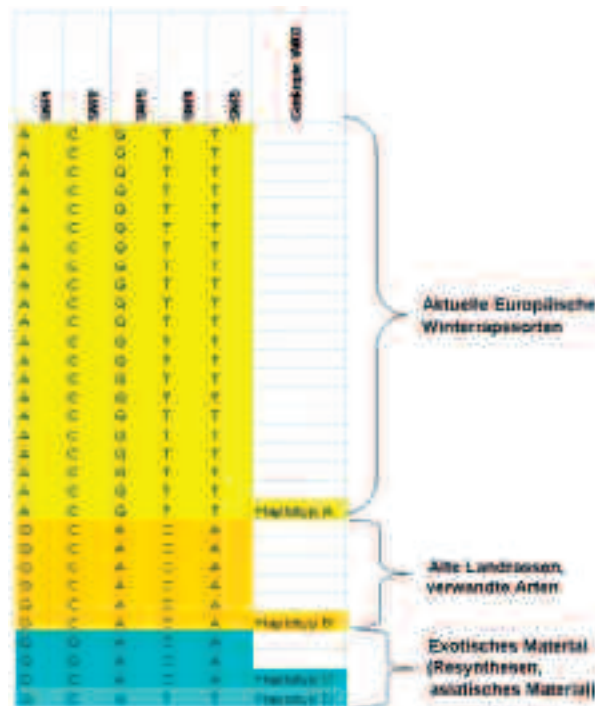


Abb.2: Vergleichende Sequenzierung verschiedenster Genotypen für einen Kandidatengenlokus. An fünf Genpositionen konnte Variation gezeigt werden, die eine Trennung in drei Klassen ermöglicht.

GABI-MALT: Entwicklung von molekularen Markern zur gezielten Auswahl von Gerstensorten mit hoher Brauqualität

Sabine Mikolajewski, Kerstin Krumnacker, Günther Schweizer und Markus Herz

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Freising-Weihenstephan

Pro Kopf haben die Deutschen im Jahr 2005 durchschnittlich 142,7 Liter Bier konsumiert, so die Angaben des Deutschen Brauer-Bundes e.V. Das reicht im internationalen Vergleich für Platz drei. Damit der Gerstensaft auch weiterhin so gut schmeckt, sorgt die Pflanzenzüchtung dafür, dass der Brauwirtschaft hochwertige Zutaten zur Verfügung stehen. Ein wichtiges Zuchtziel ist dabei die Erhöhung der Malzqualität von Gerste. Diese wird durch ein komplexes Zusammenspiel von zwölf einzelnen Qualitätskomponenten bestimmt. Ebenso komplex ist auch die Vererbung der Gene, die hinter der Malzqualität stehen. Für die Braugerstenzüchtung kommt erschwerend hinzu, dass erst in späten Generationen genügend Körner vorhanden sind, um in einer Kleinvermälzung die Qualität des Zuchtmaterials abschätzen und geeignete Pflanzen für weitere Züchtungsschritte selektieren zu können.

Durch den Einsatz molekularer Marker ist hingegen eine Frühselektion des Zuchtmaterials möglich. Als besonders vielversprechend haben sich in der Praxis auf Expressionsebene abgeleitete, funktionelle Marker erwiesen. Dabei handelt es sich um DNA-Fragmente, die innerhalb codierender Genombereiche lokalisiert sind. Wissenschaftler der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) in Freising-Weihenstephan nutzen im Rahmen des Verbundprojektes GABI-MALT die so genannte cDNA-AFLP-Technik, um damit zu definierten Zeitpunkten der Kleinvermälzung vergleichende Profile der aktiven Gene (Transkriptionsprofile) zu generieren. Anhand der differenziellen cDNAs lassen sich dabei Kandidatengene für die Malzqualität von Gerste identifizieren und nachfolgend diagnostische, funktionelle Marker für die Anwendung in der Züchtung ableiten. Zwei auf dieser Basis hergestellte Selektionsmarker HvHSC70/PstI und c6_24 demonstrieren den Erfolg dieser Strategie.

Für die Entwicklung der Marker haben die LfL-Mitarbeiter zunächst zwei Gerstensorten gekreuzt, die sich in einer Reihe von Malzqualitätsparametern unterscheiden. Zu den bedeutenden DNA-Stücken, die bei Eltern und Nachkommen unterschiedlich waren, zählte etwa

ein dem Hitzeschockprotein HSP70 homologes cDNA-Fragment. Überwiegend als Stressprotein bekannt, ist HSP70 aber auch nachweislich bei der Samenkeimung und damit letztendlich auch während der Vermälzung aktiv. Sequenzanalysen ergaben, dass ein einzelner Basenaustausch in der Abfolge der Erbinformation für die Variation verantwortlich ist. Dieser Basenaustausch sorgt dafür, dass das HSP70 cDNA-Fragment von einem Enzym gespalten beziehungsweise nicht gespalten werden kann. Der zweite Marker mit der Bezeichnung c6_24, dessen genetische Funktion noch unbekannt

ist, basiert hingegen allein auf dem Erkennen von Größenunterschieden.

Beide Marker sind inzwischen von den Lfl-Wissenschaftlern bis zur Anwendungsreife perfektioniert und können in der Praxis eingesetzt werden. Werden Sorten mit diesen Markern selektiert, wie das Netzdiagramm (Abb. 1) für ein Set von 30 verschiedenen Gerstenherkünften der Bayerischen Landessortenversuche aus 20 Jahren veranschaulicht, ist eine Verbesserung von drei wichtigen Qualitätsparametern um bis zu sieben Prozent möglich, verglichen mit dem Mittelwert aus allen Sorten.

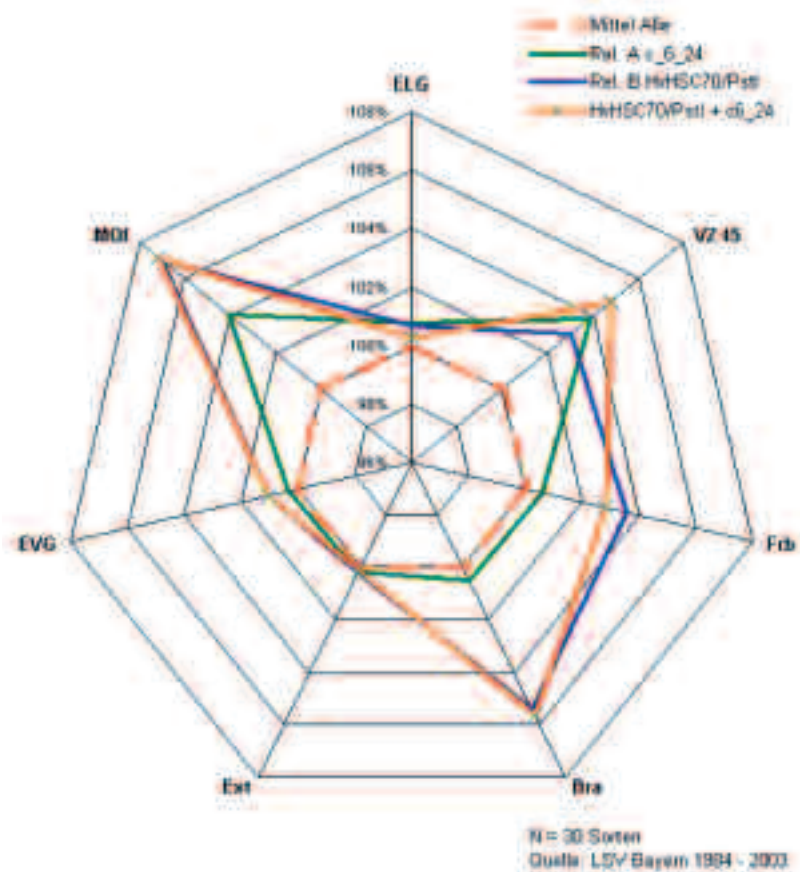


Abbildung 1: Einsatz von molekularen Markern, die aus der Analyse der Genexpression abgeleitet wurden, in der Praxis: Ergebnisse der Bayerischen Landessortenversuche mit verschiedenen Gerstenherkünften. Die Abbildung zeigt die relative Veränderung des Mittelwertes einzelner Malzqualitätsparameter der mit den Markern selektierten Sorten gegenüber dem Mittel über alle Sorten. (Malzqualitätsparameter ELG: Eiweißlösungsgrad; VZ45: Maß für die Enzymausstattung; Maße für die Malzmürbigkeit Frb: Friabilimeter und Bra: Brabender; Ext: Extraktgehalt; EVG: Endvergärungsgrad; MQI: Malzqualitätsindex.)

GABI-MALT: Molekularbiologische Analyse von Kandidatengenen für Malzqualität bei Gerste

Inge Matthies und Marion Röder Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Gatersleben
Jutta Förster SAATEN-UNION Resistenzlabor GmbH, Leopoldshöhe

Die unterschiedlichen Teilprojekte im Rahmen von GABI-MALT beschäftigen sich mit der Erhöhung der Malz- und Brauqualität von Gerste. Denn dabei handelt es sich neben dem Ertrag um die agronomisch wichtigste Eigenschaft in der Sommergerstenzüchtung. Beide Merkmalskomplexe werden quantitativ vererbt, d.h. durch mehrere Gene an die nächste Generation weitergegeben. Eine Analyse auf Ebene der genetischen Rekombination, bei der die Erbinformation neu zusammengestellt wird, ist somit nur sehr begrenzt möglich.

Daher hat ein Forscherteam des Leibniz-Instituts für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben in Zusammenarbeit mit der SAATEN-UNION Resistenzlabor GmbH im Rahmen von GABI-MALT einen alternativen Weg zur Analyse von Kandidatengenen für die Malzqualität erarbeitet. Zunächst wurden malzqualitätsbezogene Kandidatengene identifiziert und nachfolgend die verschiedenen Varianten (allelische Diversität) dieser DNA-Stücke untersucht. Der Einfluss der vorhandenen genetischen Unterschiede auf die Brauqualität wird in einem Sortiment von verschiedenen Braugerstensorten untersucht. Letztendlich haben die Forscher die Sequenzunterschiede von 60 Kandidatengenen aus einem Set von 72 Gerstensorten durch die Detektion von so genannten „single nucleotide polymorphisms“ (SNP) und Insertionen-Deletionen (INDELs) analysiert und deren Bezug zu entscheidenden Malzparametern in Gerste untersucht. Dabei handelt es sich jeweils um kleine Variationen der Erbinformation, die im ersten Fall den Austausch eines Bausteins in der DNA-Abfolge und im zweiten Fall den Einbau beziehungsweise Verlust eines solchen Nucleotids bezeichnen. Veränderte Genprodukte oder veränderte Genaktivitäten sind die Folge.

Für einige, besonders interessante SNPs und INDELs hat das Forscherteam molekulare Marker für zwei häufig genutzte Methoden – Pyrosequenzierung und CAPS (cleaved ampli-

fied polymorphic sequence) – entwickelt und im Hochdurchsatzverfahren an weiteren 300 Sorten getestet. Durch Korrelation der erhaltenen molekulargenetischen Daten mit den sortenspezifischen Malzeigenschaften konnten die kausalen Zusammenhänge zwischen Genotyp (gesamte genetische Ausstattung) und Phänotyp (Summe der physiologischen, äußeren Merkmale) erforscht werden. Dazu wurde eine umfangreiche Datenbank mit circa 120 relevanten Malzparametern, sowie mit allen in diesem Projekt erhaltenen molekularen Daten angelegt, so dass umfangreiche Assoziationsstudien durchführbar sind. Signifikante Beziehungen von Haplotypen (Summe der Sequenzunterschiede) einiger Kandidatengene zu be-

stimmten Malzqualitätsmerkmalen sind in Abbildung 1 dargestellt. Dabei konnte gezeigt werden, wie hoch der genetische Beitrag zu einem Malzmerkmal sein kann, was nicht nur für Züchter, sondern auch für die Brauereiwirtschaft wichtige Grundlageninformation ist.

Die in diesem GABI-MALT-Teilprojekt erhaltenen Ergebnisse tragen entscheidend dazu bei, die Struktur und Funktion der an der Ausprägung der Brau- und Malzqualität von Gerste beteiligten Gene sowie ihrer Einbindung in verschiedene Stoffwechselwege zu verstehen. Durch Entwicklung neuer Gerstensorten mit verbesserten physiologischen Leistungen wird eine weitere Optimierung des Mälzungsprozesses ermöglicht.

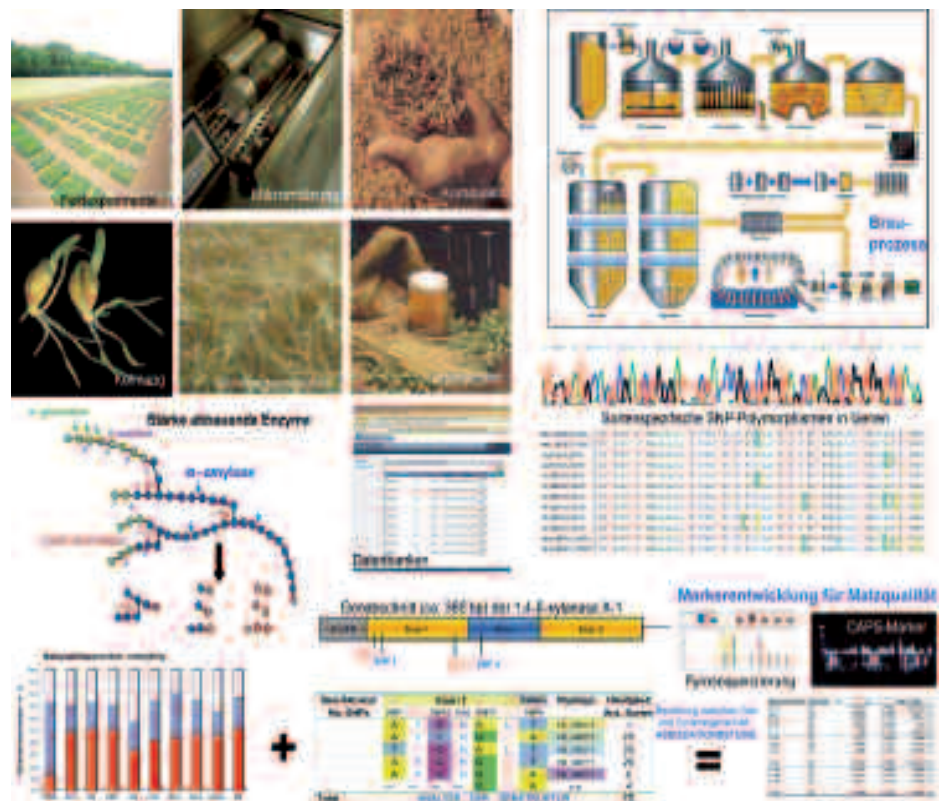


Abbildung 1: Die Beziehung von genetischen und phänotypischen Eigenschaften der Gerste, welche die Brauqualität bestimmen, und deren Erforschung ist ein komplexer Prozess.

GABI-MALT: Zurück zu den genetischen Ursprüngen – Gerstenmalz durch die Kreuzung mit wilden Gersten verbessern

Klaus Pillen *Forscherguppe für Gerstengenetik, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (MPIZ)*

Bereits seit Jahrtausenden kommt Malz bei der Bierproduktion zum Einsatz. Dabei wird heute überwiegend Gerste als Rohstoff genutzt. Das beim Vermälzen des Getreides entstehende Gerstenmalz verleiht dem Bier Geschmacksfülle und Farbe. Während des Mälzvorgangs schließen natürlicherweise in Gerstenpflanzen vorkommende Enzyme, so genannte Amylasen, die im Getreidekorn enthaltene Stärke auf und überführen diese in vergärbare Zucker. Die Pflanzenzüchtung sorgt dafür, der Malzindustrie besonders hochwertige Gerstensorten mit optimaler Zusammensetzung an Inhaltsstoffen zur Verfügung zu stellen, aus denen sich große Mengen Malz gewinnen lassen. Hierzu wurde im Rahmen eines GABI-MALT-Teilprojekts (Selektion und Evaluation eines kompletten Sets von Wildgerste-Introgressionslinien (ILs)) neue Grundlagen geschaffen.

Das Forschungsvorhaben unter der wissenschaftlichen Leitung von Dr. Klaus Pillen vom Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (MPIZ) in Köln hatte sich zum Ziel gesetzt, die Qualität und die Leistungsfähigkeit deutscher Gerstensorten zu steigern. Im Zuge der Forschungstätigkeit hat das Team vom MPIZ Köln in Kooperation mit drei deutschen Pflanzenzüchtfirmen die genetische Vielfalt von ursprünglichen Gerstensorten erschlossen, um die heute genutzten Kulturarten gezielt weiter zu optimieren. Dabei haben die Wissenschaftler mit Rückkreuzungslinien gearbeitet, die im Vorläuferprojekt GABI-DIVERSITY durch Kreuzung von deutschen Elitegerstensorten mit verwandten Wildgersten aufgebaut worden waren. Dabei konnten bereits Genorte auf den Gerstenchromosomen lokalisiert werden, welche an der Weitergabe der verschiedenen Komponenten der Malzqualität beteiligt sind, wie etwa Proteingehalt und Alpha-Amylaseaktivität des Gerstenkorns sowie Extraktgehalt der Bierwürze. Zudem wurden auch vorteilhafte

Gene der verwandten Wildgerste identifiziert, die, den Ansprüchen der Malzindustrie entsprechend, den Proteingehalt im Gerstenkorn reduzieren oder den für die Bierproduktion wichtigen Extraktgehalt steigern konnten.

Das GABI-MALT-Team arbeitet nun daran, diese Gen-Effekte in reinerbigen Nachkommen zu bestätigen und anschließend für die Züchtung von neuen, hochwertigen Braugersten zu nutzen. Die Wissenschaftler bauten auf Basis der im Vorläuferprojekt gezüchteten Gerstenvarianten eine systematische Kollektion von so genannten Introgressionslinien auf. Kennzeichen der Linien ist, dass sie jeweils ein kurzes Chromosomenstück der Wildgerste in sich tragen. Dazu wurden die bei GABI-DIVERSITY entwickelten Rückkreuzungslinien erneut mit der Kulturgerste gekreuzt und anschließend mit den diagnostischen DNA-Markern auf die

Anwesenheit von Chromosomensegmenten der Wildgerste hin selektiert. Ein erster Satz von 39 Introgressionslinien wird bereits vermehrt. Diese Linien werden dieses Jahr in Kooperation mit den beteiligten Züchterfirmen auf die vorausgesagten Effekte hin überprüft. Diejenigen Introgressionslinien, die nachweislich vorteilhafte Geneffekte aufweisen, bieten das Potenzial, im Rahmen von Zuchtprogrammen neue, in der Malzqualität wie im Ertrag verbesserte Sorten, zu erzeugen.

Zugleich eröffnen die erzeugten Introgressionslinien die Möglichkeit, weitere Genfunktionen sowie die genetische Regulation von agronomisch bedeutenden Pflanzeigenschaften aufzuklären. GABI-MALT-Teilprojekt 2 ist somit ein lebendiges Beispiel für den direkten Know-how-Transfer aus der akademischen Forschung in die industrielle Praxis.



GABI-CHIPS: Assoziations-Kartierung als Basis für gezielte Züchtung von verbesserten Kartoffelchips-Sorten

Christiane Gebhardt und Li Li Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln
Jens Lübeck und Josef Strahwald Saka-Ragis Pflanzenzucht GbR, Windeby
Eckart Tacke Bioplant, Ebstorf
Hans-Reinhard Hofferbert BNA, Ebstorf
Holger Junghans NORIKA GmbH, Groß Lüsewitz

Während der Verzehr an Speisekartoffeln immer weiter abnimmt, erfreuen sich Kartoffeln in verarbeiteter Form, insbesondere Chips oder Pommes Frites, steigender Beliebtheit. Die Qualität dieser Produkte hängt nicht zuletzt von den Eigenschaften der Rohware ab. Wie Kartoffelchips aussehen und schmecken – darüber entscheidet unter anderem der Zuckergehalt der Knollen. Denn beim Frittieren der Kartoffelscheiben bilden Trauben- und Fruchtzucker mit Aminosäuren in der so genannten Bräunungs- oder Maillard-Reaktion schwarz-braune Polyphenole (Abb. 1), die für Farbe und Geschmack des Produkts abträglich sind. Je höher daher der Trauben- und Fruchtzuckergehalt in den Knollen ist, desto schlechter ist eine Kartoffelsorte für die Chipsherstellung geeignet.

Bestimmt wird die Eigenschaft „Chipseignung“ beziehungsweise „Zuckergehalt der Knollen“ durch natürliche genetische Variation – das heißt durch kleine Unterschiede in den DNA-Sequenzen verschiedener Kartoffelsorten – und durch Umweltfaktoren wie etwa die Lagertemperatur. Werden Kartoffeln bei Kühlschranktemperaturen gelagert, erhöht sich der Zuckergehalt (Kälteverzuckerung). Daher spielt dieses Merkmal schon bei der Züchtung neuer Kartoffelsorten eine sehr wichtige Rolle. Ziel ist es, Sorten mit möglichst niedrigem Zuckergehalt, auch nach längerer Lagerung im Kühlhaus, zu erzeugen. Doch können neue Kartoffelvarianten erst dann zuverlässig auf ihre ‚Chipseignung‘ geprüft werden, wenn durch fortlaufende Vermehrung genügend Knollen zum „Frittieren auf Probe“ vorhanden sind. Das dauert in der Regel mehrere Jahre.

Deutlich schneller und wirksamer könnte die Züchtung neuer Chipskartoffeln künftig mit einer Frühdiagnose-Methode vonstatten gehen, die Wissenschaftlerinnen am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln zusammen mit Kartoffelzüchtern entwickeln. Das Verfahren nutzt genetische Marker, um Kandidaten mit verbesserter Chipseignung auszulesen. Genetische Marker bestehen heute aus dem Nachweis spezifischer DNA-Stücke im Erbgut eines Organismus.

Die besten diagnostischen Marker für ein Merkmal basieren auf den Allelen derjenigen Gene, die das Merkmal kontrollieren. Allele sind verschiedene Ausprägungen eines Gens – beim Menschen etwa ist das Gen für „Blutgruppe“ in den Ausführungen A, B und 0 vorhanden. Solche Varianten in der Erbinformation galt es auch bei der Kartoffel zu finden. Dabei setzte das Forscherteam bei den Genen an, die den Zuckerstoffwechsel in den Knollen regulieren. Sie untersuchten, ob die natürliche DNA-Variation bestimmter Kandidatengene in einer Population von 243 Kartoffelsorten und Zuchtklonen mit der Chipseignung assoziiert ist. Für zehn Kandidatengene ist dieser Nachweis bereits gelungen. Eines dieser Gene trägt beispielweise den Bauplan für das Zucker spaltende Enzym Invertase. Für bestimmte Invertase-Allele konnten daraufhin geeignete diagnosti-

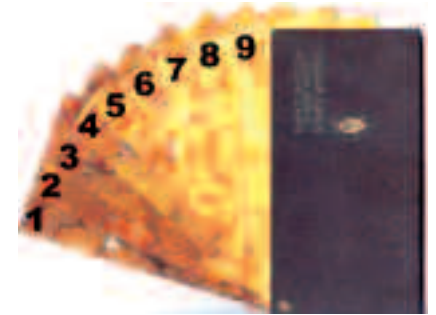


Abb. 1: Die ‚Wageninger Farbskala‘ zur Bestimmung der Chipsfarbe.

sche PCR (polymerase chain reaction/Polymerase Kettenreaktion) Marker entwickelt werden (Abb. 2).

Die neue, Marker-gestützte Diagnostik ist somit ein wertvolles Werkzeug, um geeignete Kartoffelvarianten aufgrund bestimmter genetischer Merkmale zu identifizieren. Hierfür genügen kleinste Probenmengen. Mehrjährige Vermehrungsphasen für den „Frittiertest“ könnten demnach künftig entfallen und neue Sorten für leckere und gesunde Chips und Pommes schneller zu den Verbrauchern gelangen. Zudem wurde im GABI-CHIPS Projekt ein wichtiger wissenschaftlicher Meilenstein bei der Aufklärung der molekularen Basis komplexer Merkmale in Nutzpflanzen erreicht.



Abb 2: PCR Marker für ein spezifisches Allel der Invertase. Kartoffeln, die dieses Allel besitzen, haben im Durchschnitt eine etwas hellere Chipsfarbe.

Glossar

Allel

Ein Allel eines Gens ist die unterschiedliche Form oder Variante dieses Gens. Unterscheidet sich ein Gen beispielsweise an einem Punkt der Sequenz, spricht man von zwei verschiedenen Allelen desselben Gens.

Amylasen

Die Amylasen sind Enzyme im Tier- und Pflanzenreich, die Stärke (Amylose) in einfache Zucker spalten können. In Pflanzen sind diese Enzyme wichtig um den Speicherstoff Stärke wieder in verfügbare Einfach- und Doppelzucker (Mono- und Disaccharide) umzuwandeln.

Austriebsphänologie

Die Austriebsphänologie beschreibt das Austriebsverhalten der Bäume im Laufe der Jahreszeiten.

BAC, BAC-Banken

Das Kürzel BAC steht für „bacterial artificial chromosome“ und bezeichnet große ringförmige DNA-Stränge, die einem Bakterien-Chromosom ähnlich sind. Mit Hilfe dieser DNA-Fragmente ist es möglich, große Abschnitte fremder DNA in Bakterien zu „archivieren“, liegt eine Vielzahl solcher Bakterien mit unterschiedlichen DNA-Sequenzen vor, spricht man von BAC-Banken.

Boten-RNA

Die Boten-RNA, auch als mRNA bezeichnet, ist die Abschrift eines Gens, aufgrund deren Vorlage die Proteine (Eiweiße) hergestellt werden.

Braunrost

Der Braunrost ist eine durch den Braunpilz (*Puccinia recondite*) hervorgerufene Getreidekrankheit.

cDNA

Wird die Boten-RNA von dem Enzym „Reverse Transkriptase“ wieder in eine DNA umgeschrieben, spricht man von einer cDNA, der so genannten „complementary DNA“.

Derivat

Ein Derivat ist ein Abkömmling einer chemischen Verbindung, der sich durch eine bestimmte geringfügige Veränderung im Molekül von der Ausgangsverbindung unterscheidet.

EST-Sequenzen

Die EST-Sequenzen („expressed Sequence Tag“) sind kurze Sequenzabschnitte, die Teile der Boten-RNAs sind. Diese können repräsentativ als Markierung („Tag“) für die entsprechende Boten-RNA nachgewiesen werden.

Evaluierung

Die Evaluierung, oft auch als Evaluation bezeichnet, ist der Sammelbegriff für die Beschreibung, Analyse und Bewertung von Prozessen und Organisationseinheiten.

Flavonoide

Die große Stoffgruppe der Flavonoide (etwa 6500 Stoffe) zählt zu den sekundären Pflanzenstoffen. Flavonoide sind wasserlösliche Verbindungen, die wie die Tannine zu den Polyphenolen gehören und zahlreiche Funktionen im pflanzlichen Stoffwechsel bekleiden.

Genotyp

Der Genotyp bezeichnet die Art eines oder mehrerer Allele einer genetischen Organisationseinheit. Im Gegensatz zum Phänotyp können genotypische Merkmale in der Regel nur mit molekularbiologischen Methoden nachgewiesen werden.

Glucosinolate

Die Glucosinolate, auch Senfölglykoside genannt, sind schwefel- und stickstoffhaltige sekundäre Pflanzenstoffe und werden aus Aminosäuren synthetisiert. Sie kommen vor allem in Senf (daher der Name), Rettich, Kresse und Kohl vor und sind dort für den bitteren Geschmack verantwortlich.

Habitus

Der Habitus eines Lebewesens ist die Erscheinungsform, beziehungsweise das äußere Wesen des entsprechenden Organismus.

Haplotyp

Als Haplotyp bezeichnet man die Gesamtheit aller Allele einer genetischen Einheit, also beispielsweise eines Chromosoms oder eines Genoms.

Homöostase

Die Homöostase bezeichnet die Selbstregulierung in der Physiologie eines Lebewesens, sie ist ein grundlegendes Funktionsprinzip der lebenden Organismen. Diese Selbstregulierung findet in der Physiologie des Organismus oder eines Teiles desselben fortlaufend statt.

Kartierung

Unter Kartierung versteht man die physikalische oder genetische Darstellung von bestimmten funktionalen Abschnitten der DNA auf den Chromosomen.

Klon

Ein Klon ist eine genetisch identische Kopie eines Lebewesens. Klone können auf gentechnischem Weg erzeugt werden („klonieren“), dies ist jedoch ein natürlicher Vorgang, der bei der ungeschlechtlichen Vermehrung wie der Teilung von Bakterienzellen vorkommt.

Korrelation

Eine Korrelation beschreibt den Zusammenhang zwischen zwei Variablen.

Metabolite

Als Metabolite bezeichnet man Stoffwechselprodukte, die in der Zelle vorkommen oder gebildet werden.

Metabolom

Das Metabolom bezeichnet die Gesamtheit aller Stoffwechselprodukte (Metabolite), die in einer Zelle oder einem Organismus zu einem bestimmten Zeitpunkt oder unter einer gewissen Bedingung vorkommen. Mithilfe der Technik, der so genannten Metabolomics versucht man diese Gesamtheit zu erfassen und zu beschreiben.

Mikroarray

Eine Zusammenstellung und Immobilisierung von sehr vielen DNA-Fragmenten (DNA-Mikroarray) oder Proteinen (Protein-Mikroarray) in Form eines Rasters (Array) auf sehr kleiner Fläche. Durch diese Arrays können mehrere Millionen Moleküle auf einmal analysiert werden.

miRNA

Die miRNAs (mikro-RNAs) sind eine Untergruppe der kleinen RNAs, die an der Regulierung der Genexpression beteiligt sind. Dabei können sie die Translation verhindern oder die Boten-RNA für einen Abbau markieren.

Mitochondrien

Die Mitochondrien sind kleine Organellen in der Zelle, die für die Energiegewinnung nötig sind. Unter Sauerstoffverbrauch wird hier ATP hergestellt, das die Energie für fast alle Prozesse in der Zelle liefert.

molekulare Marker

Molekulare Marker sind bestimmte Sequenzunterschiede zweier unterschiedlicher DNAs, die bekannt und nachweisbar sind. Dies kann beispielsweise der Unterschied in einem einzelnen Nukleotid (SNP, „single nucleotide polymorphism“) oder das Fehlen ganzer Sequenzabschnitte (Indel, „Insertion/Deletion“) sein.

mRNA

Die mRNA, auch als Boten-RNA bezeichnet, ist die Abschrift eines Gens, aufgrund deren Vorlage die Proteine (Eiweiße) hergestellt werden.

organoleptisch

Als organoleptische Eigenschaften werden solche bezeichnet, die mit den Sinnen oder Sinnesorganen registriert werden können (Geruch, Geschmack etc.). Die Bewertung dieser Eigenschaften ist von der jeweiligen Person abhängig.

Pathogene

Als Pathogene bezeichnet man Krankheitserreger im Allgemeinen. Es können Viren, Bakterien, Pilze oder auch andere Parasiten sein.

PCR

Mit der Abkürzung „PCR“ bezeichnet man die sogenannte Polymerase-Kettenreaktion, eine Methode, mit der bestimmte DNA-Abschnitte „im Reagenzglas“ nahezu unbegrenzt vervielfacht werden können. Neben der reinen Vermehrung von DNA-Sequenzen ist die PCR aufgrund ihrer Sequenzspezifität bestens für diagnostische Anwendungen geeignet.

Phänologie

Die Phänologie ist die Lehre von jahreszeitlich bedingten, periodisch wiederkehrenden Erscheinungen in der Natur. Aufgrund der Entwicklungsstadien bestimmter Pflanzen (Phänologische Zeigerpflanzen) wird das Phänologische Jahr in zehn Jahreszeiten eingeteilt.

Phänotyp, phänotypische Merkmale

Alle phänotypischen Merkmale zeigen sich in der Ausprägung eines Gens, sind also sicht- oder direkt messbar. Typische Beispiele sind etwa die Blütenfarbe oder das Wachstum. Im Gegensatz dazu können genotypische Merkmale nur mit molekularbiologischen Methoden nachgewiesen werden.

Plastiden

Plastiden sind Organellen in der Zelle, die der Ort der Photosynthese (Chloroplasten) sein können, aber auch die Aufgabe der Speicherung, zum Beispiel für Stärke (Amyloplasten), annehmen.

Promotoren

Die Promotoren sind regulierende Sequenzen eines Gens, die das Ableasen der Gene steuern. Hier binden die Polymerasen, die das Gen ablesen, sowie zahlreiche regulatorisch wirkende Proteine.

Proteom

Das Proteom fasst die Gesamtheit aller Proteine (Eiweiße) einer Zelle oder eines Organismus zu einem bestimmten Zeitpunkt oder unter einer gewissen Bedingung zusammen. Mithilfe der „Proteomics“ versucht man diese Gesamtheit zu erfassen und zu beschreiben.

QTL

Die QTLs („quantitative trait loci“) sind bestimmte Abschnitte des Genoms einer Pflanze, die für eine quantitative Eigenschaft der Pflanze, wie beispielsweise die Größe oder die Anzahl an Samen, verantwortlich ist. Solche QTLs werden durch genetische Verfahren ermittelt.

Rückkreuzung

Die Rückkreuzung ist ein genetisches Verfahren zur Analyse von Genotypen, die nach einer Kreuzung nicht direkt erkennbar (rezessiv) sind. Durch die Kreuzung mit einem der Genotypen der Eltern kann auf diese Weise herausgefunden werden, ob die entsprechende Linie rein- oder mischerbig war.

sekundäre Pflanzenstoffe, Sekundärstoffwechsel

Zu den sekundären Pflanzenstoffen zählen alle chemischen Verbindungen, die nicht im aufbauenden (anabolen) oder abbauenden (katabolen) Energiestoffwechsel, sondern im so genannten Sekundärstoffwechsel der Pflanze hergestellt werden.

sessile Lebensformen

Lebensformen, die nicht die Fähigkeit besitzen ihren Aufenthaltsort zu wechseln, oder diese Fähigkeit im Laufe ihrer Entwicklung oder der Evolution verloren haben, bezeichnet man als „sessil“. Typische Vertreter der sessilen Lebensformen sind die Pflanzen.

siRNAs

Die siRNAs (small interfering RNAs) können durch die Markierung von Boten-RNAs deren Abbau auslösen. Außerdem spielen sie eine Rolle bei der Regulation der Transkription von Boten-RNAs selbst.

Tannine

Die Tannine, auch als Gerbstoffe bezeichnet, gehören einer Gruppe von polyphenolischen Verbindungen an, die sich von der Gallussäure ableiten. Sie kommen unter anderem in den Schalen und Kernen von Weintrauben vor und sind für einen „pelzigen“ Geschmack im Rotwein verantwortlich.

transgene Organismen

Unter transgenen Organismen versteht man durch den Einsatz gentechnischer Methoden veränderte Organismen.

Transkription

Die Transkription ist der Prozess in dem ein Gen von einem Enzym, einer so genannten Polymerase, von der DNA in die Boten-RNA umgeschrieben wird. Nur diese Boten-RNA kann als Vorlage für die Synthese des entsprechenden Proteins dienen.

Transkriptom

Das Transkriptom fasst die Gesamtheit aller Boten-RNAs, die in einer Zelle oder einem Organismus zu einem bestimmten Zeitpunkt oder unter einer gewissen Bedingung vorkommen, zusammen. Mit Hilfe der „Transcriptomics“ versucht man diese Gesamtheit zu erfassen und zu beschreiben. Dazu werden oft Mikroarrays eingesetzt.

Translation

Die Translation beschreibt den Vorgang der Proteinsynthese. Als Vorlage wird eine Kopie der Boten-RNA benötigt, nach deren Vorbild die einzelnen Aminosäuren zu dem entsprechenden Protein zusammengesetzt werden.

Vakuole

Die Vakuolen sind große, mit Flüssigkeit gefüllte Räume in den Pflanzenzellen. Sie dienen zur Stabilisierung der Zelle durch inneren Druck und als Speicherorgan für Wasser und Nährstoffe.

Hybridisierung (Molekularbiologie)

Der Vorgang der Hybridisierung bezeichnet in der Molekularbiologie eine Technik, bei der aus zwei einzelsträngigen Nukleinsäuren (DNA oder RNA) ein Doppelstrang gebildet wird. Da die Zusammenlagerung der beiden Stränge sequenzspezifisch ist, eignet sich diese Technik zum Nachweis von Sequenzen, indem man eine bekannte Sequenz als „Sonde“ verwendet.

Science Digest

Diese und weitere Meldungen aus der Welt der Forschung finden Sie im Internet unter www.gabi.de

Widerstand im Teebaumöl

Wird Teebaumöl in zu niedrigen Konzentrationen angewandt, fördert dies bei Bakterien die Bildung von Resistenzen gegen Antibiotika. Davor warnen Wissenschaftler, die im Labor die Wirkung des beliebten antibakteriellen pflanzlichen Mittels auf Erreger wie Staphylokokken, Kolibakterien und Salmonellen untersucht haben. Ist das Teebaumöl zu stark verdünnt, kann es die Bakterien nicht abtöten, aktiviert jedoch die Abwehrmechanismen der Erreger. Das macht die Mikroben schließlich widerstandsfähiger gegen Antibiotika. Die Wissenschaftler setzten in ihrer Studie Kulturen von Kolibakterien, Staphylokokken und Salmonellen 72 Stunden lang Teebaumöl in Konzentrationen von 0,1 und 0,25 Prozent aus. Diese

sehr niedrigen Dosen reichten bei weitem nicht aus, um die Bakterien abzutöten. Sie setzten jedoch die Empfindlichkeit der Mikroben gegenüber Antibiotika im Vergleich zu unbehandelten Bakterienkulturen merklich herab, ergab die weitere Analyse. Wer also regelmäßig Teebaumöl in niedrigen Konzentrationen beispielsweise auf die Haut auftrage, könnte dadurch Bakterien heranzüchten, die sich nicht mehr wirkungsvoll mit Antibiotika behandeln lassen, warnen die Wissenschaftler. Sie empfehlen daher, Teebaumöl nicht in Konzentrationen von unter vier Prozent anzuwenden. Dann sei gewährleistet, dass die Bakterien durch die Inhaltsstoffe auch abgetötet werden und der Bildung resistenter Erreger nicht Vorschub geleistet wird, erklären die Mikrobiologen. Tee-

baumöl ist ein pflanzliches Mittel, das Bakterien sehr wirksam abtöten kann. Es wird als Konzentrat in Fläschchen verkauft und bei Infektionen der Haut meist verdünnt aufgetragen. Das ätherische Öl ist auch in zahlreichen Hautcremes, Shampoos, Pflegemitteln, Badezusätzen und Mundwassern enthalten.

Quelle: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; BdW 19.02.2007

Steinzeit-Chili

Die frühen Bewohner Mittel- und Südamerikas bauten schon vor über 6.000 Jahren Chilischoten an, um ihre Speisen zu würzen: Auf Mühlsteinen dieser Zeit fanden amerikanische Wissenschaftler stärkehaltige Körnchen der scharfen Paprikapflanze. Chili ist damit eines

der ältesten Lebensmittel Amerikas, und die Menschen kultivierten es, bevor sie die Töpferei kannten. Pflanzen speichern Stärke in Form kleiner Körnchen, die sie in ihren Zellen ansammeln. Unter dem Mikroskop können Wissenschaftler diese Körnchen verschiedener Pflanzen unterscheiden. Dies gelingt auch mit so genannten mikrofossilen Stärkekörnern, also solchen, die Tausende von Jahren alt sind. Denn während die Pflanzen selbst zersetzt werden, bleiben die Stärkekörner unter optimalen Bedingungen im Boden oder in kleinen Ritzen und Vertiefungen von Mühlsteinen oder Tonscherben erhalten. Bei archäologischen Ausgrabungen in Venezuela entdeckten Wissenschaftler ein bisher unbekanntes mikrofossiles Stärkekorn, das sie durch Vergleiche mit heutigen Stärkekornformen als solches der kultivierten Chilischote identifizieren konnte. Bei weiteren Untersuchungen fanden die Forscher insgesamt sieben Ausgrabungsstellen zwischen dem Bahamas-Archipel und den südperuanischen Anden mikrofossile Chili-Stärkekörner, die sich von jenen des wilden Chilis unterscheiden. Die ältesten davon entdeckten sie in Südwest-Ecuador, sie sind 6.100 Jahre alt. Die Archäologen wiesen Chili oft gemeinsam mit Mais und Maniok nach, einer in Südamerika weit verbreiteten Nutzpflanze mit stärkehaltigen Wurzeln, sowie manchmal auch mit Kürbis, Bohnen und Palmfrüchten. Die Forscher vermuten daher, dass die Menschen damals mit diesen Zutaten Suppen und Eintöpfe zubereiteten. Bisher wurde die Züchtung von Chilis den mittel- und südamerikanischen Kulturvölkern der Inka und Azteken zugesprochen. Die neuen Funde zeigten nun jedoch, dass schon deren Vorfahren Chilis anbauten und für eine raffinierte und anspruchsvolle Küche verwendeten, schreiben Perry und ihre Kollegen. Als Kolumbus die neue Welt entdeckte, waren Chilischoten dort eine der häufigsten Kulturpflanzen. Die europäischen Seefahrer brachten die farbigen Früchte ab dem 15. Jahrhundert in die ganze Welt.

Quelle: *Science* Bd. 315, S. 986; *BdW* 16.02.2007

Helicobacter mag kein Olivenöl

Olivenöl kann den Krankheitskeim *Helicobacter pylori*, der Magengeschwüre verursacht, im Zaum halten. Darauf deuten Labortests hin. Bestimmte biologisch aktive Substanzen im Pflanzenöl überdauern das Säurebad des Magens und greifen die Bakterien an. Da *Helicobacter* in manchen Fällen gegen Antibiotika

resistent ist, könnten die im Olivenöl gefundenen Substanzen aus der Gruppe der Phenole zu neuen Therapien führen. Die Ergebnisse müssen allerdings noch in klinischen Tests an Patienten überprüft werden, schreiben die Forscher. Die Wissenschaftler untersuchten die Bestandteile von gewöhnlichem natives Olivenöl aus dem Supermarkt auf ihre biologische Wirkung auf den Krankheitskeim *Helicobacter*. Dabei hatten sie es besonders auf Stoffe aus der Gruppe der Phenole abgesehen. Aus anderen Untersuchungen ist bekannt, dass diese etwa in Wein, Teeblättern und anderen Pflanzenprodukten enthaltenen Stoffe eine bakterienhemmende Wirkung haben. Im Salzsäurebad beobachteten die Forscher zunächst, dass die Olivenölphenole den extremen Bedingungen des Magens über Stunden trotzen können. Auch hinzugegebene Magenenzyme wie etwa Pepsin spalteten die Phenole nicht auf. In Zellkulturen bestimmten die Forscher dann die Wirkung der verschiedenen Phenole auf *Helicobacter*. Nur eine Substanz mit dem Namen Ty-EDA konnte die Bakterien abtöten, zeigte die Auswertung. Wie dies genau geschieht, wissen die Forscher allerdings nicht. Das wirksame Phenol Ty-EDA zeigte eine antibakterielle Wirkung gegen acht verschiedene Stämme von *Helicobacter*. Einige dieser Stämme waren schon resistent gegen Antibiotika. Die Forscher wollen daher in Tests mit Patienten untersuchen, ob sich diese Effekte auch unter realen Bedingungen einstellen. Schätzungen zufolge ist *Helicobacter* schon in zehn bis dreißig Prozent der Krankheitsfälle gegen Medikamente resistent. Das Bakterium kann zu Magenschleimhautentzündungen, Magengeschwüren und auch Magenkrebs führen.

Quelle: *Agricultural and Food Chemistry*, Bd. 55, S. 680; *BdW* 10.02.2007

Dreier-Lebensgemeinschaft macht Pflanze und Pilz hitzeresistent

Eine amerikanische Süßgrasart verdankt einer ungewöhnlichen Dreierbeziehung, dass ihr Hitze nichts anhaben kann: In und an ihren Wurzeln lebt ein Schimmelpilz, der wiederum ein Virus beherbergt, haben amerikanische Botaniker entdeckt. Nur wenn alle drei zusammen arbeiten, können Pflanze und Pilz längere Zeit Temperaturen von 65 Grad Celsius überleben. Weder Pilz und Virus alleine noch Pflanze und Pilz ohne Virus sind hingegen in der Lage,

mehr als 38 Grad auszuhalten. Wie genau das Virus allerdings seine Hitzeschutzwirkung bewerkstelligt, wissen die Forscher noch nicht. Das Teamwork zwischen dem Pilz aus der Gattung *Curvularia* und dem Gras *Dichanthelium lanuginosum*, das unter anderem im vulkanisch aktiven Yellowstone-Nationalpark wächst, hatten Forscher bereits vor knapp fünf Jahren entdeckt. Damals zeigte sich, dass die beiden nur zusammen der zum Teil beträchtlichen Hitze im Erdboden des Nationalparks trotzen können, während jeder für sich eingeht. Doch offenbar ist diese Zweierbeziehung nur ein Teil der Strategie: Als die Forscher nun das Erbgut des Pilzes untersuchten, stießen sie auf eine Erbmaterialvariante, die typisch für Viren ist. Tatsächlich zeigte eine genauere Analyse, dass die Pilze von einem bislang unbekanntem Virus befallen waren und dass es dieses Virus war, das für die Widerstandsfähigkeit der Pflanze-Pilz-Wohngemeinschaft verantwortlich zeichnet. Als die Forscher nämlich das CThTV getaufte Virus aus den Pilzen entfernten, war es mit der Hitzeempfindlichkeit von Pilz und Pflanze vorbei. Wurden die Schimmelpilze dagegen erneut mit dem Erreger infiziert, erlangten sie ihre alte Robustheit zurück. Obwohl die Pilz-Viren-Kombination bisher nur bei dem Süßgras entdeckt wurde, scheint sie ihre Hitzeschutzwirkung auch auf andere Pflanzen übertragen zu können. So konnten auch Tomatenpflanzen, die normalerweise nicht besonders hitzestabil sind, in Zusammenarbeit mit Pilz und Virus ähnliche Temperaturen aushalten wie das Yellowstone-Gras. Wie auch immer also der Schutzeffekt des Virus und damit des infizierten Pilzes funktioniert, er verwendet auf jeden Fall einen universellen Mechanismus, der bei verschiedenen Pflanzen funktioniert, erklären die Forscher. Sie wollen nun herausfinden, welchem Trick der Erreger seine kühlende Wirkung verdankt.

Quelle: *Science*, Bd. 315, S. 513; *BdW* 26.01.2007

Naturtrüber Apfelsaft ist gesünder

Apfelsaft ist nicht gleich Apfelsaft: Die naturtrübe Variante enthält fünfmal so viel gesundheitsfördernde Stoffe wie ihr klarer Abkömmling, haben polnische Forscher entdeckt. Diese Polyphenole beugen als Antioxidantien Krankheiten wie Krebs oder Herzerkrankungen vor. Neben der Verarbeitung ist jedoch auch die Apfelsorte entscheidend. Die Wissenschaftler verglichen die Apfelsorten Ida-

red und Champion, aus denen sie klaren und trüben Saft pressen ließen. Für die Herstellung des klaren Saftes wurde der frische Presssaft zusätzlich mit dem Enzym Pektinase behandelt, das die Zuckerverbindungen in den Zellenwänden, die Polysaccharide, aufbricht. Die groben Bestandteile wurden anschließend durch Zentrifugation entfernt. Durch diese Prozedur, die auch bei der Herstellung des kommerziellen Saftes angewandt wird, geht ein großer Teil der gesunden Polyphenole im Saft verloren, fanden die Forscher heraus. Im klaren Saft aus den Champion-Äpfeln wiesen sie 34 Prozent weniger Polyphenole nach als in der trüben Variante, bei den Idareds war die Einbuße mit 48 Prozent noch höher. Auch im direkten Vergleich schnitten die Champions besser ab: Sowohl der klare als auch der naturtrübe Saft hatten einen mehr als doppelt so hohen Polyphenolgehalt als der entsprechende Idared-Saft. Um die Folgen dieser Unterschiede auf die gesundheitsfördernde Wirkung der Säfte abzuschätzen, analysierten die Forscher, wie gut die Säfte den schädigenden Effekt stark reaktiver Verbindungen, den so genannten freien Radikalen, abfedern konnten. Dazu mischten sie die Getränke mit einer bestimmten Radikalverbindung und maßen, ob und wie lange die Säfte die Radikale auffangen konnten. Der naturtrübe Champion-Saft fing die Radikale fast eineinhalbmal besser ab als der klare Saft, der trübe Idared-Saft wirkte fast doppelt so gut wie sein geklärter Gegenpart. Vor allem die Procyanidine trugen zum Entschärfen der Radikale bei, entdeckten die Wissenschaftler. Ausgerechnet diese Verbindungen litten aber besonders unter der Umwandlung in puren Saft: Nach der Klärung enthielt der Idared-Saft mehr als fünfmal weniger Procyanidine als zuvor. Vor allem diesen Verbindungen schreiben die Autoren der Studie aber einen positiven Effekt auf die Gesundheit zu. Wer seiner Gesundheit etwas Gutes tun will, sollte lieber naturtrüben Apfelsaft trinken, schließen sie.

Quelle: Journal of the Science of Food and Agriculture, DOI:10.1002/jfsa.2707; BdW 15.01.2007

Bisher unbekannte Pflanzengruppe im Meer

Der Stammbaum der Pflanzen hat einen neuen Ast: die Picobiliphyta. Diese winzigen Algen sind Einzeller, haben eine ovale Form und leben im Ozean, hat ein internationales Forscherteam entdeckt. Die Forscher stießen in Wasserproben aus dem Nordatlantik, dem Arktischen Ozean und dem Mittelmeer auf die bislang unbekannte Algengruppe. Sie kamen den Organismen durch Genanalysen auf die Spur. Die in den Algen gefundenen Gensequenzen ließen sich keiner bisher bekannten Organismengruppe zuordnen. Außerdem identifizierten die Forscher in den Algen charakteristische rote Pigmente, so genannte Phycobiliproteine. Das sind Farbstoffe, die unter anderem in Rotalgen vorkommen. Bei der neu entdeckten Algengruppe befinden sich die Pigmente in den Organellen, in denen die Photosynthese stattfindet. Dies war bisher von keiner Algenart bekannt. Die Forscher schlossen daraus, dass sie auf einen völlig neuen Stamm gestoßen waren. In Anspielung auf ihre geringe Größe (etwa zwei mal sechs Mikrometer) und die Pigmente nannten sie die Algen Picobiliphyta. Noch ist unklar, welche ökologische Rolle die Mini-Algen im Meer spielen, da die Forscher die Einzeller bislang noch nicht kultivieren konnten. Die Picobiliphyta scheinen jedoch in den gemäßigten Zonen der Weltmeere relativ weit verbreitet zu sein. Die Forscher identifizierten anhand des Erbmaterials bislang drei Untergruppen. Die Picobiliphyta machten unter ähnlich kleinen Planktonalgen, dem so genannten Picoplankton, knapp zwei Prozent aus. In Wasserproben stießen die Wissenschaftler auf bis zu 80 Zellen der Picobiliphyta pro Milliliter. Die Verwandtschaftsverhältnisse der neuen Algengruppe sind ebenfalls noch unbekannt. Die Picobiliphyta sind so eigenartig, dass es sich, taxonomisch gesehen, um einen neuen Stamm handeln muss. Womöglich sind die Mini-Algen verwandt mit anderen einzelligen Pflanzen, die nur in Symbiose mit größeren Organismen vorkommen. Der unerwartete Fund elektrisiert die Mikrobiologen. In den Meeren gibt es noch viel zu entdecken, insbesondere mit molekularbiologischen Methoden, schlussfolgern die Forscher folgerichtig.

Quelle: Science, Bd. 315 S. 252; BdW 13.01.2007

Rückkehr zu den inneren Werten

Ein Gen aus der Urform des Weizens soll das Getreide weltweit nährstoffhaltiger machen. Amerikanische und israelische Forscher isolierten dieses Gen nun aus dem Urweizen, dem Wilden Emmer, und fanden heraus, dass es die Reife des Weizens beschleunigt. Dadurch bilden sich die Blätter frühzeitiger zurück, und Proteine, Zink und Eisen daraus sammeln sich im Korn an, bevor die Ernte beginnt. Jede heutige Weizenart besitzt zwar dieses Gen, es ist jedoch meist inaktiv. Durch Züchtungsprogramme soll das alte Gen nun wiedereingeführt werden und so zur Besserung der Nährstoffversorgung beitragen, hoffen die Forscher. Landwirte begannen bereits vor mehr als 10.000 Jahren, die Urform des Weizens für eine verbesserte Nahrungsvorsorgung durch Züchtung zu verändern. Die Forscherteams untersuchten die so entstandenen heutigen Weizenlinien, die für Pasta und Brot produziert werden, und fanden bei allen eine defekte Kopie des besagten Gens. Durch die Züchtungen muss das Gen mutiert sein, schließen sie. Das Gen, das die Forscher GPC-B1 nennen, trägt zur Bildung eines Eiweißes bei, das die Alterung der Pflanze ankurbelt und den Transport von Proteinen, Zink und Eisen von den Blättern zu den reifenden Körnern beschleunigt. Um diese Funktion zu bestätigen, stellten die Wissenschaftler Weizenlinien her, in denen alle Gene, die mit der Produktion dieses Proteins zusammenhängen, ausgeschaltet wurden. Diese modifizierten Pflanzen reiften erst mehrere Wochen später und wiesen bis zu dreißig Prozent weniger Nährstoffe in den Körnern auf als Kontrollpflanzen, womit die Forscher die Wirkung des Gens GPC-B1 bestätigt sahen. Die Wiedereinführung des Gens in die heutigen Linien könnte den Gehalt an Proteinen, Zink und Eisen im kommerziell produzierten Weizen deutlich erhöhen. Nach Schätzungen der Welt-Gesundheits-Organisation (WHO) seien derzeit zwei Millionen Menschen mit Zink und Eisen unterversorgt, und 160 Millionen Kinder unter fünf Jahren nähmen nicht genug Proteine zu sich. Die Forscher betonen, dass der Weizen mit dem erhöhten Gehalt an Nährstoffen durch Kreuzungen wiederhergestellt werden kann und daher keiner Biotechnologie bedarf. Allerdings könne die Wirkung bei jeder Linie und jedem Boden anders ausfallen.

Quelle: Science, Bd. 314, S. 1298; BdW 27.11.2006

gefördert durch:



Genomanalyse
im biologischen
System Pflanze

Impressum

GenomXPress Sonderausgabe · März 2007

Herausgeber

Die wissenschaftliche Koordinierungsstelle des
deutschen Pflanzengenomprogramms (GABI)

Redaktion

Dr. Jens Freitag · Dr. Saskia Dombrowski
Matthias Arlt · Nadine Stolz
GABI Geschäftsstelle · c/o Max-Planck-Institut
für Molekulare Pflanzenphysiologie
Am Mühlberg 1 · 14476 Golm
Tel 0331-567-8301 · Fax 0331-56789-8301
freitag@mpimp-golm.mpg.de

Redaktionelle Unterstützung

Genius GmbH · www.genius.de

Der Inhalt von namentlich gezeichneten Artikeln
liegt in Verantwortung des jeweiligen Autors.

ISBN 978-3-00-019953-0

Dieser Newsletter wird aus Mitteln des BMBF gefördert.
Layout & Satz: Dirk Biermann, biermann@potsdam.de
Druck: GS Druck und Medien GmbH Potsdam

