

Markerunterstützte Selektion im Forstbereich: theoretisch, praktisch, zukünftig?

Eva Maria Sehr Austrian Institute of Technology GmbH (AT)*
Silvia Fluch Austrian Institute of Technology GmbH (AT)

Die Züchtung von Bäumen mit gewünschten Eigenschaften erfordert nach wie vor viel Zeit und Geduld, da viele Merkmale erst im Erwachsenenstadium sichtbar werden. Mithilfe neuer Verfahren aus der Molekularbiologie, zum Beispiel durch markerunterstützte Selektion, liesse sich dieser Züchtungszyklus künftig erheblich verkürzen.

doi: 10.3188/szf.2016.0341

* Konrad-Lorenz-Strasse 24, AT-3430 Tulln, E-Mail eva-maria.sehr@ait.ac.at



Abb 1 Sämlingsversuch zur Selektion trockenresistenter Fichtenherkünfte.

Ergebnisse dieser Kreuzungen schwer steuerbar –, und es braucht noch mehrere Runden von Sämlingstests und neuerlicher Plusbaumauswahl, um tatsächlich verbessertes Saatgut zu erhalten. Da viele phänotypische Merkmale erst in ausgewachsenen Bäumen sichtbar werden, erfordert eine solche Selektionszüchtung viel Zeit und Geduld – und dauert oft über mehrere Baumgenerationen. Mithilfe neuer Verfahren aus der Molekularbiologie, zum Beispiel durch markerunterstützte Selektion (MAS; engl.: marker assisted selection), lässt sich dieser Züchtungszyklus erheblich verkürzen.

Seit der Domestikation von Wildpflanzen in der Jungsteinzeit spielt die Pflanzenzüchtung eine bedeutende Rolle für den Menschen. In jener Zeit entstand die sogenannte Auslese- oder Selektionszüchtung: Vor allem jene Individuen, welche mit gewünschten Eigenschaften (hoher Ertrag, höhere Widerstandsfähigkeit, Resistenz gegenüber Krankheiten) ausgestattet waren, wurden ausgewählt und weitervermehrt. Eine solche oft über Jahrhunderte dauernde Auslese führte vor allem in der Landwirtschaft zur Entwicklung von Landrassen, die gut an lokale Umweltbedingungen angepasst sind.

Im Gegensatz zu Getreide und anderen landwirtschaftlich genutzten Pflanzen begann die gezielte Selektion und Zucht von Forstpflanzen erst Anfang des 20. Jahrhunderts (Abbildung 1). Dies ist nicht weiter verwunderlich, war doch bis dahin genügend Naturwald vorhanden,

der für verschiedenste Produkte, von Tierfutter über Feuerholz bis hin zum Holz für Schiffsbau, genutzt werden konnte. Bis heute konzentriert sich die Züchtung im Forstbereich vor allem auf die klassische Form der Selektionszüchtung. Hierbei werden die Elternbäume mit den gewünschten Eigenschaften (Plusbäume) oft aus natürlichen Populationen, zumeist aber aus zugelassenen Saatgutbeständen ausgewählt. Das Saatgut dieser Plusbäume oder ihre klonalen Triebe werden dann direkt zur Begründung von weiteren Beständen sowie von Samenplantagen verwendet. Saatgutmaterial aus solchen Samenplantagen gilt bereits als verbessertes Samenmaterial, da es die Eigenschaften der ausgewählten Plusbäume in sich vereint. Allerdings erfolgt die Kombination der Eigenschaften zumeist durch eine offene Bestäubung zwischen den Individuen der Samenplantage – daher sind die

Die Vererbungslehre als Grundlage der MAS

Jede Ausprägung einer Pflanze ist in ihrem Erbgut, ihrer DNS (Desoxyribonukleinsäure; engl.: DNA), mittels der vier Bausteine, der Nukleotide Adenin (A), Thymin (T), Guanin (G) und Cytosin (C), festgeschrieben und wird nach bestimmten Regeln an ihre Nachkommen weitergegeben. Die grundlegenden Mechanismen der Vererbung bestimmter Merkmale wurden von Gregor Mendel aufgrund von Kreuzungsexperimenten mit Erbsen beschrieben (Mendel 1866). Dies war einer der ersten wissenschaftlichen Beweise in der Pflanzenforschung, dass ein bestimmter Phänotyp (= äussere Erscheinungsform) an einen bestimmten Genotyp (= Kombination der Erbinformation) gekoppelt ist. Dadurch war es möglich, gezielt Neukombinationen von Merkmalen in der Folgegeneration unter Beachtung der sogenann-

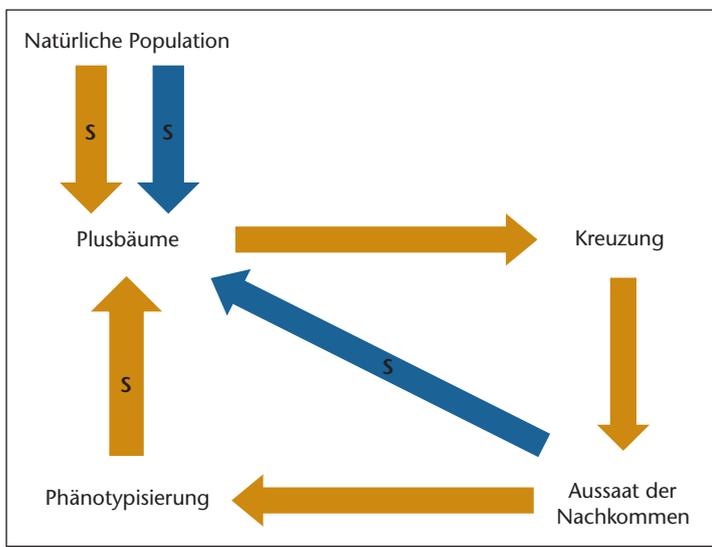


Abb 2 Zyklus der traditionellen Selektionszucht bei Forstpflanzen (gelb). Die markerunterstützte Selektion (blau) erlaubt die gezieltere Auswahl von Plusbäumen und den Verzicht auf die Phänotypisierung. S: Selektionsschritt.

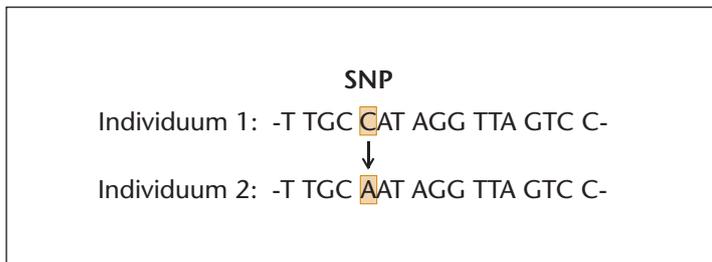


Abb 3 Beim Einzelnukleotid-Polymorphismus (engl.: single-nucleotide polymorphism, SNP) unterscheidet sich Individuum 1 von Individuum 2 innerhalb eines DNS-Abschnittes nur in einem Basenpaar.

ten mendelschen Regeln in der Züchtung umzusetzen. Eine wichtige Erkenntnis von Mendel war die Rekombination des Erbgutes. Hierbei gibt jeder Elternteil nur eine Hälfte seines Erbgutes an die Folgeneration weiter, wodurch es in den Nachkommen zu einer Vermischung der ursprünglichen Eigenschaften der Eltern kommt. Mit diesen Erkenntnissen begründete er die klassische Genetik (Vererbungslehre) und legte den Grundstein zur Kombinations- und Hybridzüchtung, wie sie heute in der Landwirtschaft angewendet wird.

Aufgrund der Tatsache, dass der Genotyp eines Individuums den Phänotyp bestimmt, ist es also durch die Analyse von bestimmten Abschnitten der DNS, sogenannten molekularen Markern, möglich, auf bestimmte phänotypische Eigenschaften zu schliessen. Da diese Analyse bereits in jungen Pflanzen erfolgen kann, ohne auf die eigentliche phänotypische Ausprägung im Erwachsenenstadium warten zu müssen, kann der züchterische Zeitaufwand der Selektion extrem verringert werden (Abbildung 2). So können bereits vor der Kreuzung die geeigneten Eltern ausgewählt und bald nach der Kreuzung die jungen Keimlinge mit der gewünschten Eigenschaftskombination mithilfe von molekulargenetischen Methoden bestimmt und ausgewählt werden. Dieser

Prozess wird auch als Präzisionszucht oder SMART breeding (engl.: selection with markers and advanced reproductive technologies) bezeichnet.

Was sind molekulare Marker?

Ein molekularer Marker, oft auch Markerregion genannt, ist nichts anderes als ein bestimmter DNS-Abschnitt, der in verschiedenen Ausprägungen (sog. Allelen) auftritt, dessen Ort im Genom (= Gesamtheit des Erbmaterials eines Individuums) bekannt ist und dessen Allele jeweils an eine bestimmte Eigenschaft der Pflanze gekoppelt sind. Solche Markerregionen können sich entweder in Genen (= funktionelle DNS-Abschnitte, die Informationen über den Phänotyp, z.B. über Resistenzeigenschaften, enthalten) oder aber auch in nicht kodierenden Regionen des Genoms finden, also in jenen Bereichen, die zwischen den Genen liegen und die somit nicht für die Produktion von Proteinen verantwortlich sind. Jedoch muss eine starke Kopplung der Markerregion mit einem Gen vorliegen, damit man die Region für die Pflanzenzucht verwenden kann. Solche Markerregionen sind zum Beispiel durch eine Punktmutation (Einzelnukleotid-Polymorphismus; engl.: single-nucleotide polymorphism, SNP) gekennzeichnet, wo sich die DNS-Sequenz zwischen zwei

untersuchten Individuen nur durch ein Nukleotid, das jedoch ausschlaggebend für deren spezifischen Phänotyp ist, unterscheidet (Abbildung 3).

Die wichtigste Voraussetzung für einen molekularen Marker ist die Verbindung zu einem funktionellen Gen, welches die phänotypische Ausprägung hervorruft. Wenn zum Beispiel ein Allel eines Markers immer nur bei besonders trocken tolerantanten Bäumen auftritt, nicht aber bei trockenheitsempfindlichen, dann ist dieses Allel der molekulare Marker für Trockentoleranz (vgl. Rellstab et al 2016, dieses Heft). Die Kopplung bedeutet, dass der molekulare Marker und das Gen, das für die Eigenschaft zuständig ist, im Genom örtlich so nahe beieinander liegen, dass sie immer gemeinsam vererbt werden. Im Idealfall befindet sich der Marker aber direkt innerhalb des Gens, sodass er dem Ziel-Gen entspricht. In beiden Fällen ist es möglich, vom Vorhandensein einer Markervariante auf das Vorhandensein des Ziel-Gens und der damit verbundenen Eigenschaft zu schliessen (Abbildung 4).

Anwendung molekularer Marker in der Praxis

Obwohl die MAS in der Landwirtschaft schon häufig zur Anwendung kommt, steckt diese bei Forstpflanzen noch in den Kinderschuhen. Die Grundlage der MAS ist das Wissen um die Korrelation einer oder mehrerer DNS-Sequenzvarianten mit einer bestimmten phänotypischen Eigenschaft. Die Schwierigkeit, bei Forstpflanzen solche Korrelationen zu finden, liegt einerseits in der Grösse des Genoms und andererseits im Umstand begründet, dass man viele aufeinanderfolgende Generationen aus kontrollierten Kreuzungsversuchen benötigt, um Korrelationen zwischen Markern und einem Phänotyp zu errechnen. Die Fichte zum Beispiel hat ein 6-mal so grosses Genom wie der Mensch, wobei die Anzahl der Gene ähnlich der des Menschen ist (ca. 28 000). Dies bedeutet, dass das Genom viel Füllmaterial beinhaltet, das zum Grossteil aus Pseudogenen (= DNS-Abschnitte, die wie ein Gen aufgebaut sind, jedoch nicht als Vorlage für ein funktionales Protein dienen) und grossen, sich wiederholenden DNS-Abschnitten besteht (Nystedt et al 2013). Somit ist das Auffinden von einzelnen Genen, aber auch von Markerregionen allein durch die Grösse des Genoms erschwert.

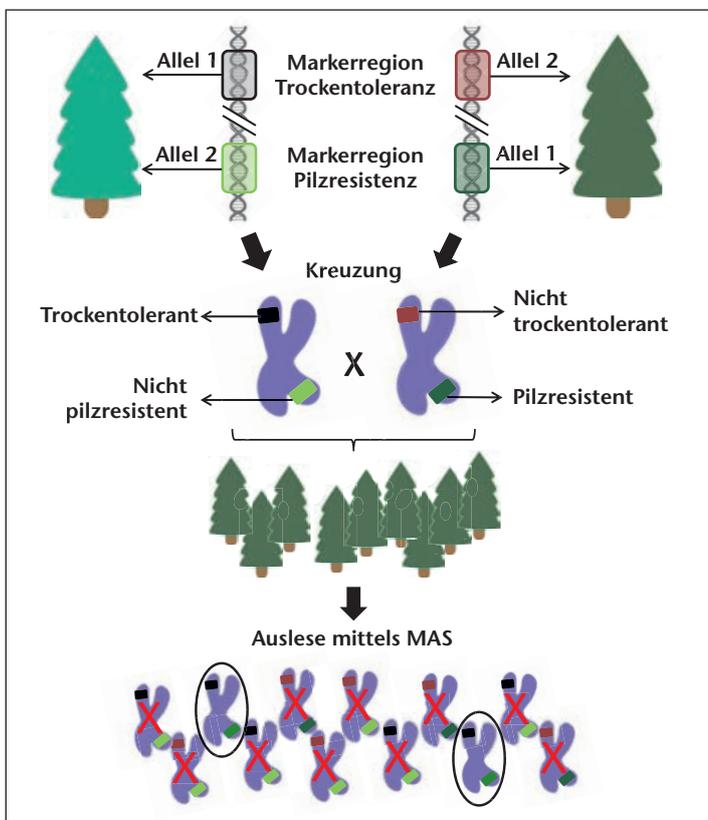


Abb 4 Schematische Darstellung von molekularen Markern, ihren unterschiedlichen Ausprägungen basierend auf der DNS-Sequenz (Allel 1 und Allel 2) sowie ihrer möglichen Anwendung in der forstlichen Züchtung zur Auslese in einem Bestand.

Bildquelle: Fotolia

Eine weitere Herausforderung liegt in der komplexen Natur biologischer Abläufe. So sind oft mehrere Gene oder gar Gennetzwerke für eine bestimmte phänotypische Ausprägung zuständig. Entsprechend ist der Effekt eines einzelnen Gens auf den Phänotyp gering – auch bei solchen, wo sich der SNP innerhalb des Ziel-Gens befindet. Vor allem wenn es sich um quantitative Merkmale (mit kontinuierlich variierender Ausprägung) wie Wuchskraft, Form oder Holzqualität handelt, wirken mehrere Gene auf diesen Phänotyp.

Bei Arten mit bekannten Genomen hilft eine neue Methode, mit der durch eine sogenannte genomweite Assoziationsstudie (GWAS; engl.: genome-wide association study) viele Phänotyp-Marker-Korrelationen charakterisiert werden können. Einer der wesentlichen Vorteile der GWAS ist die Zeitersparnis, da auch nicht verwandte Individuen grosser Populationen in die Analyse einbezogen werden können und somit langwierige Kreuzungsversuche grösstenteils entfallen.

Was bedeutet dies nun in der forstlichen Praxis? Ob die aus einer Kreuzung hervorgegangenen Jungbäume mit einer bestimmten Eigenschaft ausgestattet sind, die möglicherweise erst im adulten Stadium – somit in 20 Jahren oder später – zum Tragen kommt, kann heute durch die Analyse von gekoppelten mole-

kularen Markern frühzeitig bestimmt werden, ohne dass man auf die Ausprägung des Merkmals per se warten muss. Kennt man mehrere, mit bestimmten Eigenschaften korrelierte molekulare Marker, dann kann man die Individuen auf das gleichzeitige Vorhandensein verschiedener Eigenschaften hin überprüfen und somit das volle Potenzial von MAS nutzen (Abbildung 4). Nur jene Bäume, welche den/die Marker und damit höchstwahrscheinlich auch die gekoppelten Gene mit den gewünschten Eigenschaften aufweisen, werden weiter aufgezogen und vermehrt. Durch die MAS lassen sich somit die Zeit und auch der ökonomische Aufwand für die Auswahl derjenigen Bäume mit den gewünschten Eigenschaften deutlich reduzieren.

Ausblick

Die Vorteile der MAS liegen klar auf der Hand: Ihre Anwendung erspart viel Zeit und Geld, da aufwendige Phänotypisierungen entfallen, die Selektion schon im Sämlingsstadium erfolgen kann und basierend auf ihrem Genotyp einzelne Individuen mit den gewünschten Eigenschaften ausgewählt und direkt für die weitere Zucht verwendet werden können. Da die MAS im Forstbereich noch eine sehr junge Methode ist, stellt sie nach wie vor eine grosse Herausforderung dar. In naher

Zukunft wird noch viel in die Erforschung und Validierung von Gen-Phänotyp-Korrelationen investiert, womit weitere molekulare Marker charakterisiert werden können. Auch die Entschlüsselung gesamter Genome, wie bei Fichte, Eiche oder Pappel bereits erfolgt, trägt weiter zum Verständnis der komplexen Zusammenhänge zwischen DNS-Varianten und der phänotypischen Ausprägung von Eigenschaften bei Forstpflanzen bei. So wird die wissenschaftliche Grundlage zur Anwendung der MAS im Forstbereich weiter ausgebaut und der Weg der MAS in die Praxis geebnet. ■

Literatur

- MENDEL G (1866) Versuche über Pflanzenhybriden, Verhandlungen des naturforschenden Vereins. Brünn: Georg Gastl's Buchdruckerei.
- NYSTEDT B, STREET NR, WETTERBOM A, ZUCOLO A, LIN YC ET AL (2013) The Norway spruce genome sequence and conifer genome evolution. *Nature* 497: 579–584.
- RELLSTAB C, PLUESS AR, GUGERLI F (2016) Lokale Anpassung bei Waldbaumarten: genetische Prozesse und Bedeutung im Klimawandel. *Schweiz Z Forstwes* 167: 333–340. doi: 10.3188/szf.2016.0333

La sélection assistée par marqueurs dans le domaine forestier: théorique, pratique, future?

Afin d'accélérer la culture d'arbres présentant les caractéristiques souhaitées (rendement élevé, meilleure résistance, résistance aux maladies), il est nécessaire d'appliquer de nouvelles méthodes de biologie moléculaire telles que la sélection assistée par marqueurs (SAM). Celle-ci est basée sur le fait qu'un aspect particulier (phénotype) est couplé à une combinaison héréditaire particulière (génotype) et est hérité conformément à certaines règles. A travers l'analyse des génotypes, en utilisant notamment les marqueurs moléculaires, nous pouvons déterminer très rapidement la présence d'une expression souhaitée déjà au stade juvénile. Tous les procédés de sélection sont accélérés, ce qui induira une réduction du cycle de culture. Malgré ces avantages, l'application de la SAM dans le secteur forestier en est encore à ses premiers balbutiements. Seul un élargissement des connaissances scientifiques de base dans un avenir proche pourrait permettre l'utilisation de la SAM dans la pratique.