

Markus Peter Herz

**Kartierung quantitativ vererbter
Eigenschaften einschließlich Brauqualität und
Resistenz gegen Krankheiten mit molekularen
Markern in Gerste**

2., unveränderte Auflage



Agrarwissenschaften

Zugl.: Diss., 2000

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek:

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.
Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, der Entnahme von Abbildungen, der Wiedergabe auf foto-mechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen bleiben – auch bei nur auszugsweiser Verwendung – vorbehalten.

2., unveränderte Auflage (Erstauflage 2000)
frühere Ausgabe: ISBN 978-3-89675-794-4 (2000)

Copyright © utzverlag GmbH · 2021

ISBN 978-3-8316-8522-6

Printed in EU
utzverlag GmbH, München
www.utzverlag.de

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Die Komponenten der Brauqualität und ihre Feststellung.....	2
2.2 Molekulare Marker	6
2.2.1 RFLP-Marker.....	6
2.2.2 PCR-basierte Markersysteme	7
2.2.2.1 Microsatelliten	7
2.2.2.2 AFLP-Marker	8
2.2.2.3 RAPD-Marker	10
2.2.2.4 STS-Marker	10
2.3 Quantitative Genetik und QTL-Analyse	11
2.3.1 Grundlagen der QTL-Analyse mit molekularen Markern	12
2.3.2 Statistische Methoden für die QTL-Analyse mit molekularen Markern.	13
2.3.3 Methoden zur gezielten Analyse von QTLs.....	15
2.4 Übersicht über QTL-Kartierungen mit genetischen Markern.....	18
3 MATERIAL UND METHODEN	21
3.1 Material.....	21
3.1.1 Pflanzenmaterial	21
3.1.2 Enzyme und Lösungen	21
3.1.2.1 Enzyme	21
3.1.2.2 Basislösungen	22
3.1.3 Materialien und Lösungen für einzelne Arbeitsgänge	24
3.1.3.1 Lösungen zur DNA-Isolation.....	24
3.1.3.2 Puffer für die Elektrophorese und das Blottern.....	24
3.1.3.3 Material für die Sondenmarkierung und das Hybridisieren....	24
3.1.3.4 Lösungen für die AFLP-Analyse.....	26

3.1.4 Auswahl der RFLP-Sonden.....	26
3.1.5 Auswahl der Microsatelliten.....	26
3.1.6 Oligonukleotide für die AFLP-Analyse.....	28
3.2 Methoden.....	30
3.2.1 Durchführung der Feldversuche.....	30
3.2.2 Ermittlung der Merkmalsdaten	31
3.2.3 DNA-Isolation.....	33
3.2.4 RFLP-Analyse.....	34
3.2.4.1 Erstellung der Blots	34
3.2.4.2 Isolation von Plasmid DNA.....	35
3.2.4.3 Sondenmarkierung.....	36
3.2.4.4 Hybridisation.....	37
3.2.5 Microsatelliten Analyse	38
3.2.6 Nichtradioaktive AFLP-Analyse.....	41
3.2.7 Automatische Fragmentanalyse mit Genotyper	46
3.2.7.1 Analyse von Microsatelliten.....	46
3.2.7.2 Analyse von AFLP-Fragmenten	47
3.2.8 Datenauswertung	49
3.2.8.1 Untersuchung auf gestörte Spaltung.....	49
3.2.8.2 Erstellung der Kopplungskarte	50
3.2.8.3 Überprüfung auf Normalverteilung	51
3.2.8.4 Korrelationen zwischen Merkmalen.....	51
3.2.8.5 Varianzanalyse.....	52
3.2.8.6 Berechnung der Heritabilität.....	53
3.2.8.7 QTL-Analyse	53
4 ERGEBNISSE.....	55
4.1 Genetische Kartierung	55
4.1.1 Polymorphiegrad.....	55
4.1.1.1 Microsatelliten	55
4.1.1.2 RFLP-Marker.....	55
4.1.1.3 AFLP-Marker	55
4.1.2 Untersuchung auf gestörte Spaltung.....	56

4.2 Erstellung der Kopplungskarte.....	57
4.3 Auswertung der Merkmalsdaten	60
4.3.1 Überblick über die Merkmalsausprägung.....	60
4.3.2 Auswertung agronomischer Merkmale.....	62
4.3.2.1 Halmknicken (brk)	62
4.3.2.2 Verzwerfung (dwf)	63
4.3.2.3 Ährenknicken (ebr).....	64
4.3.2.4 Fasergehalt (fbr).....	65
4.3.2.5 Ertragsparameter	66
4.3.2.6 Zeitpunkt des Ährenschiebens (hdm, hdj)	68
4.3.2.7 Lagerneigung (ldg)	70
4.3.2.8 Halmänge (lng)	72
4.3.2.9 Wassergehalt im Korn (mst)	74
4.3.2.10 Reifezeitpunkt (rpg).....	75
4.3.2.11 Blattflecken (spt).....	76
4.3.2.12 Stärkegehalt (src).....	77
4.3.2.13 Tausendkorngewicht (tgw)	78
4.3.3 Auswertung von Resistenz gegen Krankheiten.....	80
4.3.3.1 Resistenz gegen echten Mehltau (<i>Erysiphe graminis</i>) (pml)	80
4.3.3.2 Befall mit <i>Rhynchosporium secalis</i> (rhy)	82
4.3.3.3 Befall mit Netzflecken (nbl).....	83
4.3.4 Auswertung der Merkmale für Malzqualität	84
4.3.4.1 Vergleich der verschiedenen Mälzungsverfahren.....	84
4.3.4.2 Endvergärungsgrad (apt)	86
4.3.4.3 Kochfarbe (col)	87
4.3.4.4 Extraktendifferenz (dex)	88
4.3.4.5 Feinextraktgehalt (fex, mex).....	89
4.3.4.6 Friabilimeter (frb)	91
4.3.4.7 Beta-Glucangehalt in der Würze (gwr)	92
4.3.4.8 Kolbachindex (kix, kiw).....	93
4.3.4.9 Mahlwiderstand (mem, men)	95
4.3.4.10 Löslicher Stickstoff (sln, nwr).....	97
4.3.4.11 Der pH-Wert (phw)	99

4.3.4.12 Kornproteingehalt (prt, prb)	100
4.3.4.13 Malzproteingehalt (prm, pro)	102
4.3.4.14 Unmodifiziertes Korn (umg).....	104
4.3.4.15 Viskosität der Würze (vis, viw).....	105
4.3.4.16 Wassergehalt im Korn (wrk).....	107
4.3.4.17 Wassergehalt im Malz (wrm).....	108
4.3.4.18 Korngrößenanteil über 2,5 mm (x25).....	109
4.3.4.19 Korngrößenanteil über 2,8 mm (x28).....	111
4.3.4.20 Hektolitergewicht (hlw)	114
4.3.5 Korrelationen von Malzqualität und agronomischen Merkmalen	115
4.4 QTL- Kartierung	115
4.4.1 Kartierung von QTLs für agronomische Eigenschaften.....	115
4.4.1.1 Halmknicken.....	115
4.4.1.2 Verzwerfung	116
4.4.1.3 Korngrößenanteil >2,2 mm.....	117
4.4.1.4 Wassergehalt im Korn	117
4.4.1.5 Zeitpunkt des Ährenschiebens	118
4.4.1.6 Ertragsparameter	119
4.4.1.7 Lagerneigung	120
4.4.1.8 Hälmlänge	120
4.4.1.9 Stärkegehalt	121
4.4.1.10 Tausendkorngewicht	122
4.4.2 Resistenz gegen Krankheiten	123
4.4.2.1 Befall mit Mehltau.....	123
4.4.2.2 Befall mit <i>Rhynchosporium secalis</i>	124
4.4.2.3 Befall mit Netzflecken.....	124
4.4.2.4 Blattflecken.....	124
4.4.3 Kartierung von QTLs für Malzqualitätseigenschaften.....	125
4.4.3.1 Parameter der Kornanalyse.....	125
4.4.3.2 Proteolytische Parameter	127
4.4.3.3 Cytolytische Parameter	129
4.4.3.4 Amyloytische Parameter	131
4.4.4 Nicht kartierte Merkmale	132

5 DISKUSSION.....	141
5.1 Genetische Kartierung.....	141
5.1.1 Analyse nicht radioaktiv markierter DNA-Fragmente	141
5.1.2 Polymorphiegrad und schiefe Spaltung.....	142
5.2 Die Ausprägung der Merkmale in der Population und den Eltern	144
5.2.1 Abweichungen vom Mittel der Eltern.....	144
5.2.2 Korrelationen zwischen Merkmalen	145
5.2.3 Die Ausprägung von Merkmalen in verschiedenen Umwelten	146
5.2.4 Einflüsse qualitativer Loci auf die Merkmalsausprägung.....	148
5.3 Die Güte der Kartierung quantitativer Merkmale.....	152
5.4 Gemeinsamkeiten zwischen kartierten QTLs	155
5.4.1 Agronomische Merkmale.....	156
5.4.2 Merkmale für Malzqualität.....	161
5.5 Weitere Anwendung von QTL-Karten.....	166
6 ZUSAMMENFASSUNG	171
7 LITERATURVERZEICHNIS	174
8 ANHANG	190
8.1 Verzeichnis der Chemikalien	190
8.2 Auf Polymorphie untersuchte RFLP-Sonden.....	191
8.3 Darstellung der zur Micromälzung eingesetzten Verfahren	193
8.4 Übersicht über die Spaltung der Markerallele.....	193
8.5 Korrelationen von agronomischen Merkmalen zu Malzqualität.....	196
8.6 Verteilung der Allelklassen der kartierten Marker über die Chromosomen ...	197
8.7 LOD-Werte über den Chromosomenverlauf	200
8.8 Abkürzungsverzeichnis.....	207

1 Einleitung

Neben der Verbesserung qualitativer Merkmale wie Resistenzeigenschaften oder bestimmter morphologischer Ausprägungen hat in der Pflanzenzüchtung die Anpassung von Sorten an bestimmte Umweltbedingungen und Qualitätsbedürfnisse seit jeher große Bedeutung. Die meisten agronomischen Eigenschaften und Qualitätsmerkmale zeigen allerdings eine kontinuierliche Merkmalsausprägung, und damit quantitative Vererbung.

Die Aufklärung der genetischen Basis derartiger Eigenschaften in Kulturpflanzen verspricht sowohl eine Erleichterung der Selektion durch genetische Marker als auch ein besseres Verständnis der Expressions- und Regulationsmechanismen von Genen. Für Gerste (*Hordeum vulgare L.*) existieren über vierzig Studien, in denen QTLs analysiert und Versuche zur Marker gestützten Selektion durchgeführt wurden. Die meisten Autoren setzten zur Erstellung der Kopplungskarten die gut untersuchten RFLP-Marker ein. Deren Nachteil für eine Verbreitung in der praktischen Pflanzenzüchtung ist jedoch der große experimentelle Aufwand.

Durch die Entwicklung von Markertechniken, die durch ihre leichte Handhabung auf der Grundlage von PCR und nicht radioaktiven Markierungsmethoden auch in großem Maßstab effektiv einsetzbar sind, wird der Pflanzenzüchtung die Möglichkeit geboten, auf breiter Basis Selektion mit molekularen Markern anzuwenden. Der Fortschritt der Datenverarbeitung ermöglicht zusätzlich, die Markerinformationen mit speziellen Computerprogrammen auszuwerten und weiter zu verrechnen.

Besonders für die Analyse der Brauqualität von Gerste sind Verfahren notwendig, welche sehr kostenintensiv sind und eine große Menge an Saatgut erfordern, so dass diese Analysen erst relativ spät im Züchtungsgang genutzt werden können. Gerade für solche Merkmale wäre eine Marker gestützte Selektion von Vorteil.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu zeigen, dass durch die Anwendung von fluoreszenzmarkierten PCR-Merkern und computergestützter Auswertung eine effektive Genomkartierung möglich ist. Durch die Lokalisierung von QTLs für agronomische Merkmale und Qualitätseigenschaften sowie von Resistzenzen gegen Krankheiten sollte ein Überblick über die Verteilung von Einflussfaktoren auf quantitative Merkmale im Gerstengenom gegeben und der Vergleich mit anderen Ergebnissen ermöglicht werden. Die Analyse über verschiedene Umwelten sollte Rückschlüsse auf die Wechselwirkungen zwischen Genotyp und Umwelt ermöglichen.