



Jürgen Henrich (Autor)

**Erstellung segmentspezifischer molekularer Marker
mittels Mikrodissektion und physikalische Kartierung
der Resistenz gegen Schadinsekten (*Diatraea* spp.)
bei tropischem Mais (*Zea mays* L.)**

Jürgen Henrich

**Erstellung segmentspezifischer molekularer
Marker mittels Mikrodissektion
und physikalische Kartierung der Resistenz
gegen Schadinsekten (*Diatraea* spp.) bei
tropischem Mais (*Zea mays* L.)**

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/4021>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

1. Einleitung

In tropischen und subtropischen Anbaugebieten der Erde ist Mais (*Zea mays* L.) ein wesentliches Grundnahrungsmittel der Menschen, oder spielt als Futtermittel für Hühner, Schweine und Wiederkäuer eine wichtige Rolle (CIMMYT, 1991). Doch verursachen die Larven des 'southwestern corn borer' (SWCB), *Diatraea grandiosella* Dyar, und des 'sugarcane borer' (SCB), *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), erhebliche Ernteaufälle in Ländern Zentral- und Lateinamerikas. Jährlich wird der hierdurch hervorgerufene Ertragsverlust auf über 4 Millionen Tonnen in Brasilien und eine Million Tonnen in Mexiko geschätzt, was zusammen etwa 600 Millionen US Dollar entspricht (CIMMYT, 1988).

Beide Insekten sind bezüglich ihrer Lebenszyklen und ihres Fraßverhaltens sehr ähnlich, wobei bei vergleichbaren Entwicklungsstadien der SWCB als der aggressivere anzusehen ist. Während der SWCB auf Mais als Wirtspflanze angewiesen ist, weist der SCB ein breites Wirtspflanzenspektrum auf (Zuckerrohr, Mais, Reis, Sorghum, Wildgräser) (HINDERLITER, 1983). Die adulten Tiere legen ihre Eier während des Blattschiebens auf die Blätter der Maispflanzen ab. Nach dem Schlüpfen wandern die Larven in den Blattkelch, um sich dort von Blattgewebe zu ernähren. Zur weiteren Entwicklung und Verpuppung erfolgt nach neun bis zehn Tagen das Einbohren in den Pflanzenstengel. Nach 35 bis 50 Tagen entwickelt sich die zweite Generation adulter Tiere (BOHN *et al.*, 1996). In Abhängigkeit der geographischen Lage und der regionalen Bedingungen kann der SWCB zwei bis vier Generationen pro Jahr entwickeln. In den nördlichen und südlichen Grenzen seines Ausbreitungsgebietes wurden beim SCB vier bis fünf, in den tropischen Anbaugebieten bis zu sieben Generationen pro Jahr beobachtet (KRANZ *et al.*, 1977).

Zwar bieten pflanzenbauliche Maßnahmen wie z.B. eine umfangreiche Fruchtfolge oder der Einsatz von biologischem und chemischem Pflanzenschutz Möglichkeiten zur Verminderung des Befalls, doch ist letzterer nicht nur ökologisch bedenklich, sondern birgt u.a. durch geringe oder fehlende Kenntnisse bei der Anwendung ein gesundheitliches Risiko für die Landwirte. Durch den Einsatz insektenresistenter Sorten kann die Produktivität durch Verminderung von Ertragsverlusten aufgrund von Insektenbefall, sowie der damit einhergehen-

den Reduktion oder Vermeidung der Kosten für Insektizide gesteigert werden. Es kann zwischen verschiedenen Resistenzmechanismen gegen Insektenbefall unterschieden werden: **i)** liegt keine gezielte Präferenz vor, wird die Pflanzen für Eiablage, als Unterschlupf, oder Futterquelle nicht bevorzugt; **ii)** bei Antibiosis wird die Entwicklung der fressenden Insekten durch eine erhöhte Sterberate, reduzierte Gewichtszunahme, sowie durch verlangsamte morphogenetische Entwicklung negativ beeinflusst (PANDA UND KUSH, 1995); **iii)** Toleranz beschreibt die Fähigkeit einer resistenten Pflanze, Schädigungen bis zu einem gewissen Maße zu kompensieren, und dadurch gegenüber anfälligen Pflanzen einen Überlebensvorteil zu haben (PAINTER, 1951). Tolerante Pflanzen tragen somit trotz Befall zur Ertragsbildung bei. Zur Verbesserung der Resistenz von Maispflanzen gegen SWCB und SCB konzentrieren sich die Züchtungsstrategien auf die Antibiosis (MIHM, 1989). Das Ausmaß der Antibiosis kann entweder direkt durch Untersuchung von Parametern der Insektenentwicklung, oder indirekt durch Messung oder Bonitur des Fraßschadens an den Wirtspflanzen der Insekten bestimmt werden.

Resistenz gegen *Diatraea* spp. wurde in Maisgenotypen der karibischen Inseln (ELIAS, 1970) und in verschiedenen Populationen des Internationalen Mais- und Weizenforschungsinstitutes (CIMMYT), Mexiko, identifiziert (MIHM, 1985; MIHM *et al.*, 1991). Diese Resistenzeigenschaften, mit vorwiegend additiven Geneffekten, werden polygenisch vererbt (SCOTT UND DAVIES, 1978; HINDERLITER, 1983).

Die züchterischen Verbesserung von aktuellem Zuchtmaterial bezüglich quantitativ vererbter Resistenzeigenschaften ist durch verschiedene Strategien möglich. Hierbei beschreiben Methoden der direkten Selektion die Evaluierung des Resistenzniveaus der Genotypen durch Bestimmung der Antibiosis. Stehen hierfür natürliche Befallsstandorte nicht, oder nicht ausreichend zur Verfügung, bedient man sich der Möglichkeit einer künstlichen Infestierung. Hierzu werden Insekten angezogen, deren Larven im entsprechenden Entwicklungsstadium der Pflanze gezielt ausgebracht werden. Die damit verbundenen Probleme - arbeits- und zeitintensive Prüftechniken, sowie phytosanitäre Maßnahmen - können durch eine marker-gestützte Selektion ('*marker-assisted selection*'- MAS) als indirekte Selektionsmethode umgangen werden. Mit Hilfe molekularer Marker erfolgt eine Selektion auf genomische Regionen, die eine Insektenresistenz signifikant verbessern, ohne andere agronomisch wichtige Merkmale negativ zu beeinflussen (BOHN *et al.*, 1996; HOISINGTON *et al.*, 1996).

Voraussetzung für eine MAS ist die Lokalisation der beteiligten Gene, bzw. quantitativen Merkmalsloci (*'quantitative trait loci'* - QTL). Durch die Entwicklung molekularer Marker, wie z.B. die Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLPs), wurde es möglich, komplexe, quantitativ vererbte Merkmale in ihre einzelnen Faktoren einzuteilen. In jüngster Zeit wurden quantitative Merkmalsloci für Resistenz gegen SWCB und SCB kartiert (BOHN *et al.*, 1996, 1997 a, b; BOHN, 1998; GROH *et al.*, 1998 a, b; KHAIRALLAH *et al.*, 1998), wodurch die Grundlage für eine MAS für Zünslerresistenz bei tropischem Mais gelegt wurde.

Bei diesen QTL-Kartierungsstudien wurden, je nach Kartierungspopulation (Ki3 × CML139, oder CML131 × CML67) und zugrundeliegendem Merkmal, eine unterschiedliche Anzahl von QTL mit unterschiedlich starken Effekten gefunden. Diese waren über das gesamte Genom verteilt. Die Autoren fanden eine gute Übereinstimmung der QTL Positionen für SWCB und SCB-Resistenz in der Kreuzung CML131 × CML67. Dies führte zu der Schlußfolgerung, daß die Resistenzen gegen beide Schadinsekten weitgehend die gleiche genetische Basis besitzen, wodurch eine MAS auf diese Genomregionen die Resistenzeigenschaften für beide Schädlinge verbessern würde.

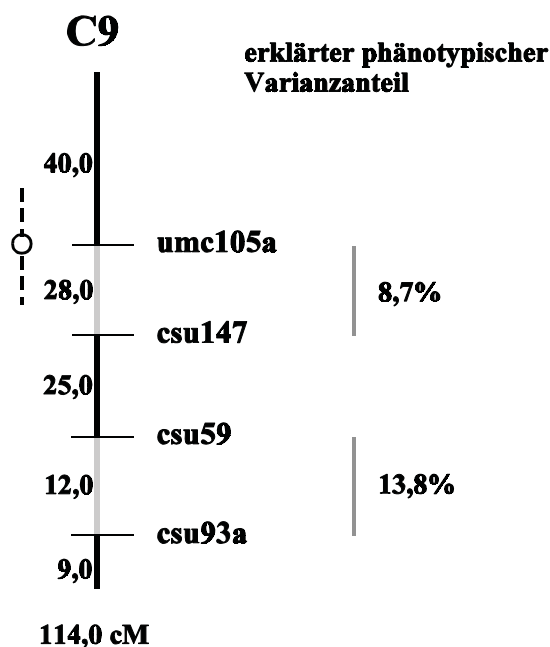


Abbildung 1: QTL für Resistenz gegen *Diatraea saccharalis* F. auf Maischromosom 9. Angabe der genetischen Distanz [cM], sowie des hierdurch erklärten phänotypischen Varianzanteil [%]. Nach Bohn, *et al.* (1996)

Ein Vergleich zwischen den QTL-Kartierungsexperimenten zeigte, daß auf Chromosom 9 QTL lokalisiert sind, die einen großen Effekt auf die Resistenz haben (Abbildung 1). Der Abstand der flankierenden Marker dieser QTL variierte zwischen 6,6 und 28 cM. Der erklärte phänotypische Varianzanteil der QTL-Regionen auf Chromosom 9 an der Resistenz gegen SWCB und SCB (Bonitur der Blattfraßresistenz) lag im Bereich zwischen 5,6 und 25% bei der Kreuzung Ki3 × CML139, bzw. 8,1 und 30,8% bei der Kreuzung CML131 × CML67 (BOHN *et al.* 1996, 1997 b). Aufgrund der großen Effekte auf das Resistenzniveau läßt dies die Vermutung zu, daß es sich hier eventuell um Hauptgene handeln könnte.

Eine Erhöhung der Markerdichte durch Hinzufügen polymorpher Marker im Bereich kartierter QTL für Zünslerresistenz wäre in mehrerlei Hinsicht vorteilhaft. Bei zukünftigen genetischen Kartierungen können zusätzliche molekulare Sonden zu einer Verminderung des teilweise noch großen Abstandes flankierender molekularer Marker beitragen. Dies ist für eine effizientere MAS, insbesondere im Hinblick auf eine Reduktion der Übertragung unerwünschter flankierender Genombereiche (*'linkage drag'* -STAM UND ZEVEN, 1981), aber auch zur Verminderung der Wahrscheinlichkeit doppelter Rekombinationen zwischen weit auseinanderliegenden flankierenden Markerorten wichtig. ALPERT UND TANKSLEY (1996) haben gezeigt, daß eine Isolierung von einzelnen QTL bei Tomate durch *'map based cloning'* (ORKIN, 1986; GOODFELLOW, 1986 und 1987) möglich ist. Hierfür ist jedoch eine sehr enge physikalische Kopplung flankierender molekularer Marker mit dem quantitativen Zielgen erforderlich (LEYSER UND CHANG, 1996). Für eine mögliche Isolierung von Genen für Zünslerresistenz bei Mais, zur Übertragung in anfälliges Zuchtmaterial mit biotechnologischen Ansätzen, kann eine hohe Markerdichte im Bereich der bereits kartierten QTL auf Chromosom 9 einen Beitrag leisten.

In zahlreichen Arbeiten wurde gezeigt, daß das Verhältnis zwischen genetischer und physikalischer Distanz von molekularen Markern in Abhängigkeit des Organismus und der Chromosomenregion sehr unterschiedlich sein kann (DVORAK *et al.*, 1984; SEARS, 1984; SNAPE *et al.*, 1985; DVORAK UND APELS, 1986; CURTIS UND LUKASZEWSKI, 1991; BROWN UND SUNDARESAN, 1991; LUKASZEWSKI UND CURTIS, 1993; HOHMANN *et al.*, 1994; CIVARDI *et al.*, 1994). Es ist deshalb nicht möglich, aufgrund genetischer Kartierungsdaten Aufschluß über die physikalische Anordnung und Ausdehnung betreffender Genomregionen zu erhalten. Hierzu wäre eine physikalische Kartierung der molekularen Marker notwendig.