### Innovation Pflanzenzüchtung

Leistungsvorhersage mittels tiefer genetischer und biologischer Markerinformationen

Thomas Altmann 25. Hülsenberger Gespräche 21. Mai 2014



### Übersicht

### > Herausforderungen für die Pflanzenzüchtung

- steigender Nahrungs- und Futtermittelbedarf
- steigende Nachfrage nach nachwachsenden Rohstoffen und Energieträgern
- begrenzte zukünftige Beiträge aus Pflanzenbau und Pflanzenschutz
- sich verändernde Umweltbedingungen
- verlangsamter Produktivitäts- / Züchtungsfortschritt mittels klassischer
   Verfahren

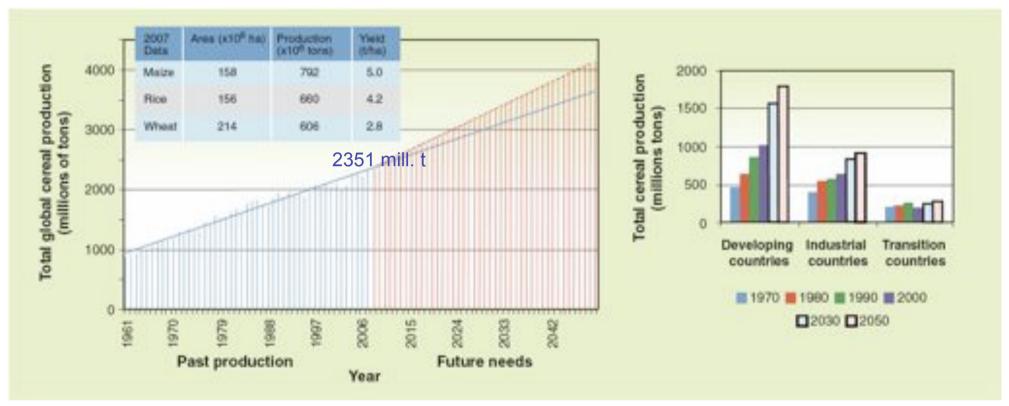
### > Innovationen in der Pflanzenzüchtung

- Beschleunigte Erzeugung neuer genetischer Varianten (Linien)
- Verbreiterung der genutzten genetischen Diversität
- Vermehrte Nutzung der Heterosis / Hybridzüchtung
- Steigerung der Selektionseffizienz
- Steigerung der Selektionskapazität

#### > Fazit

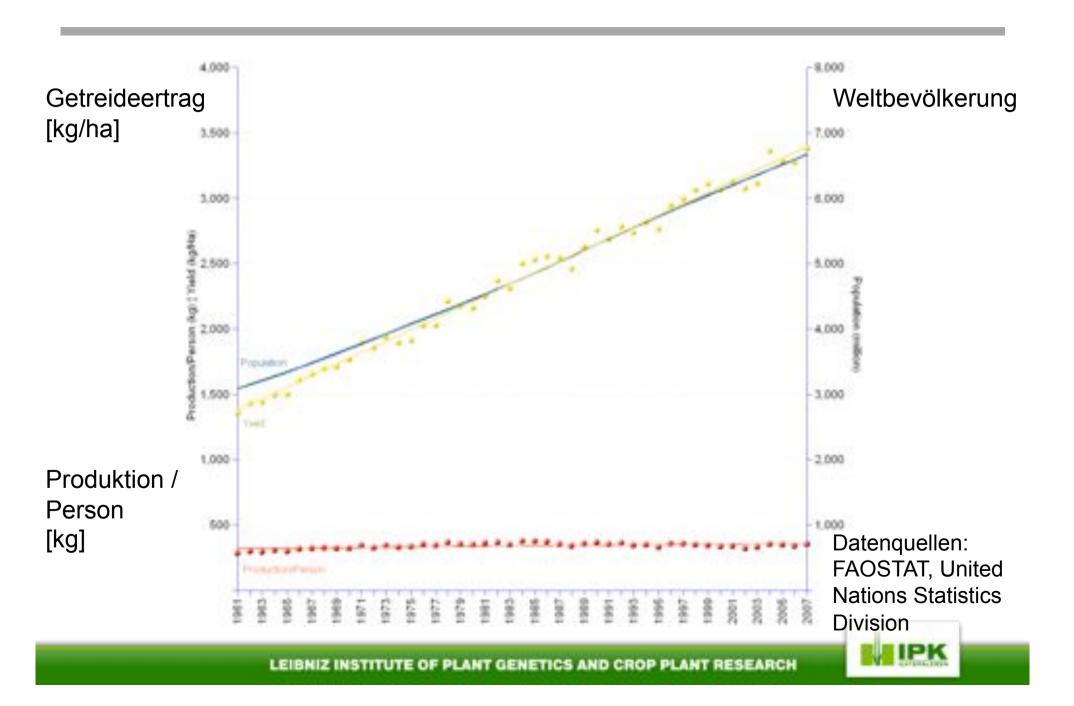


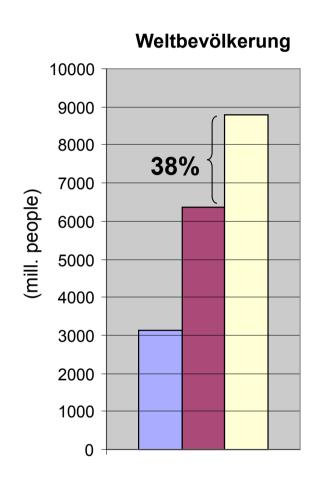
#### Weltweite Getreideproduktion (bisherige Entwicklung und prognostizierter Bedarf)

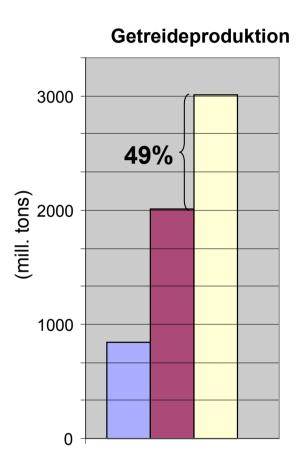


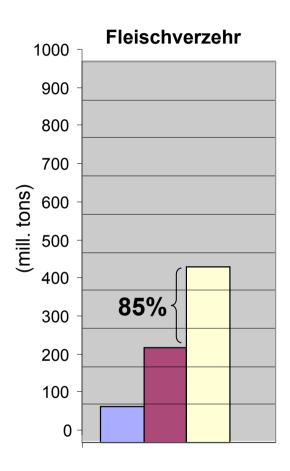
aus: M. Tester, P. Langridge (2010) Science 327, 818-822









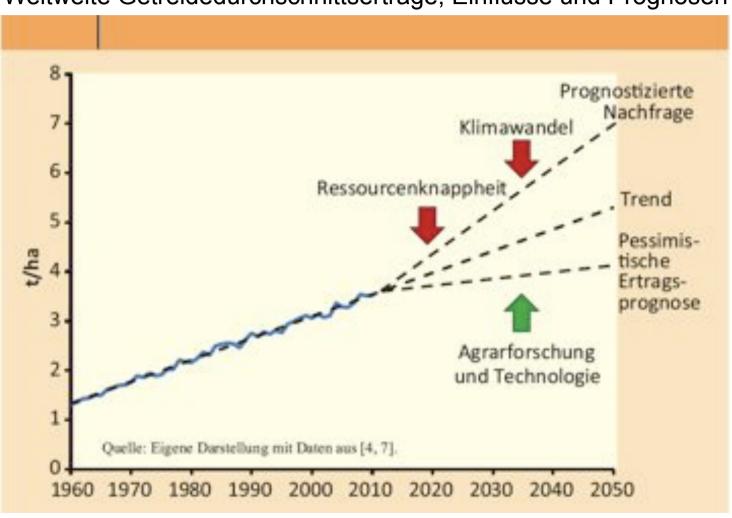


□ 1961/63 □ 2005/2007 □ 2050

Quelle: Bruinsma, 2009 FAO Expert Meeting, Rome

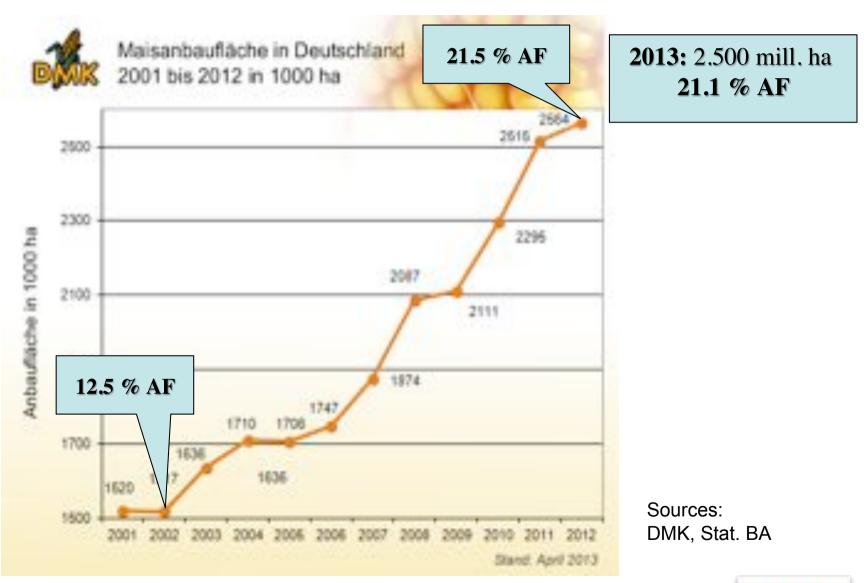


#### Weltweite Getreidedurchschnittserträge, Einflüsse und Prognosen



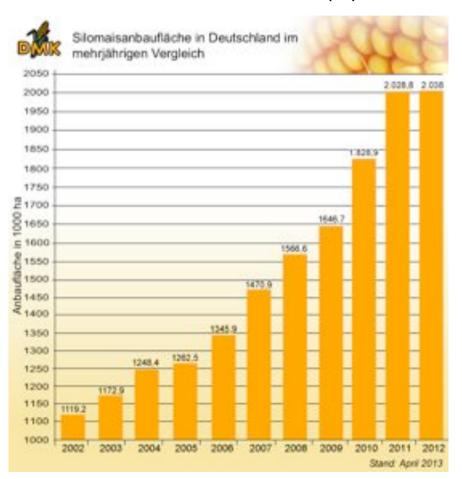
Aus: M. Qaim, W. Klümper (2013) CIUZ 47 (5), 318-326



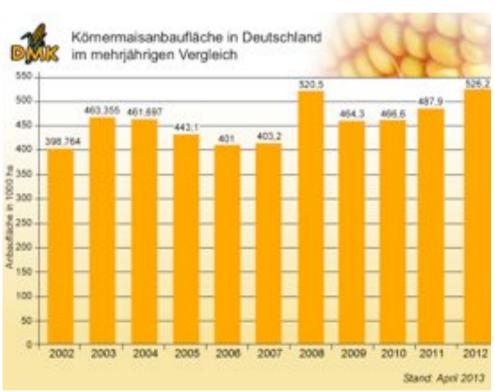




#### Anbaufläche Silomais (D)



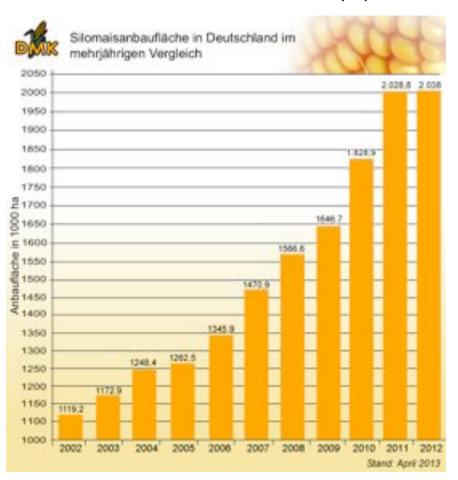
### Anbaufläche Körnermais (D)



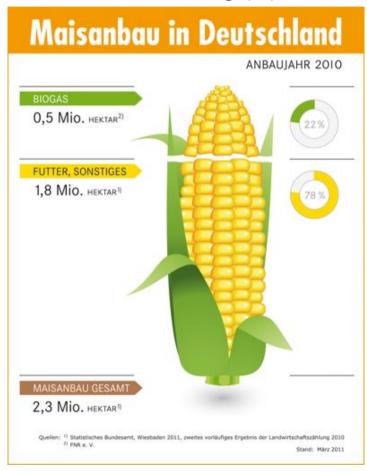
Sources: DMK, Stat. BA



#### Anbaufläche Silomais (D)



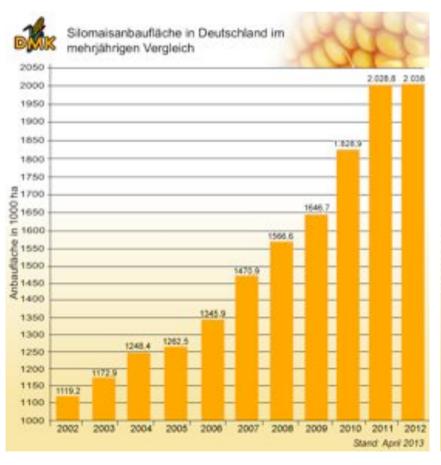
#### Maisnutzung (D)



Sources: DMK, Stat. BA, FNR



### Anbaufläche Silomais (D)

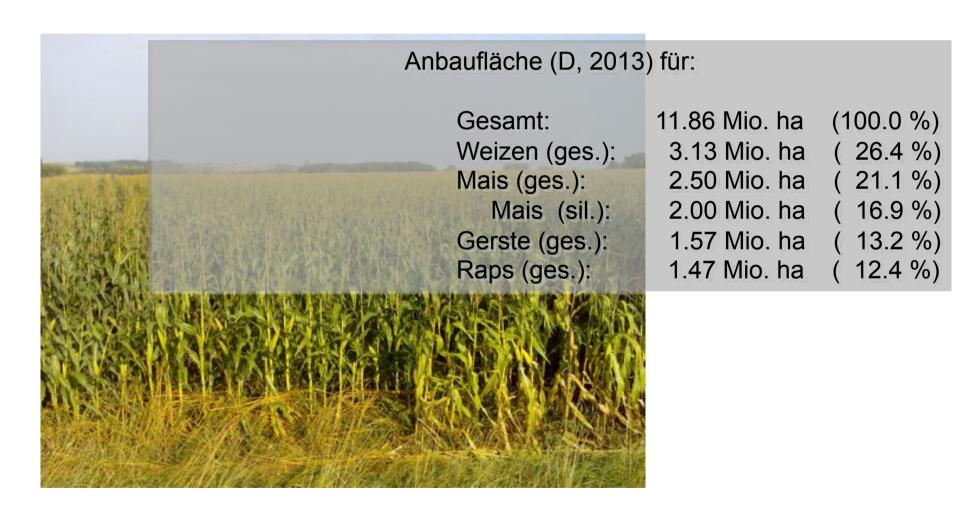


### Anzahl und durchschnittliche Leistung von Biogasanlagen (D)



Sources: DMK, Stat. BA







# Herausforderung: Begrenzte zukünftige Beiträge aus Pflanzenbau und Pflanzenschutz



Pflanzenzüchtung



Pflanzenschutz

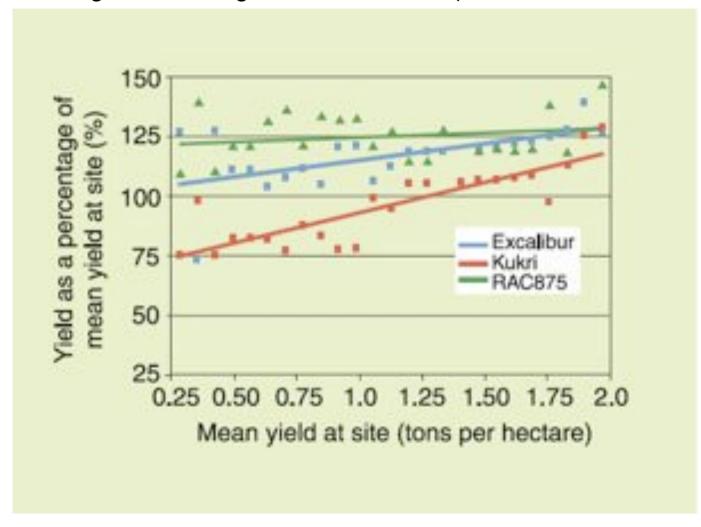


Pflanzenbau



### Herausforderung: Sich verändernde Umweltbedingungen

Weizenerträge unter heftigem Trockenstress (25 Umwelten, Australien)

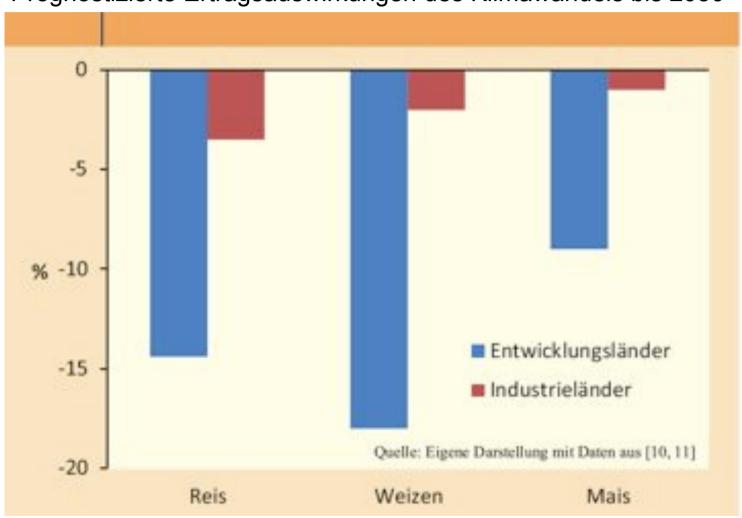


aus: M. Tester, P. Langridge (2010) Science 327, 818-822



### Herausforderung: Sich verändernde Umweltbedingungen

### Prognostizierte Ertragsauswirkungen des Klimawandels bis 2050

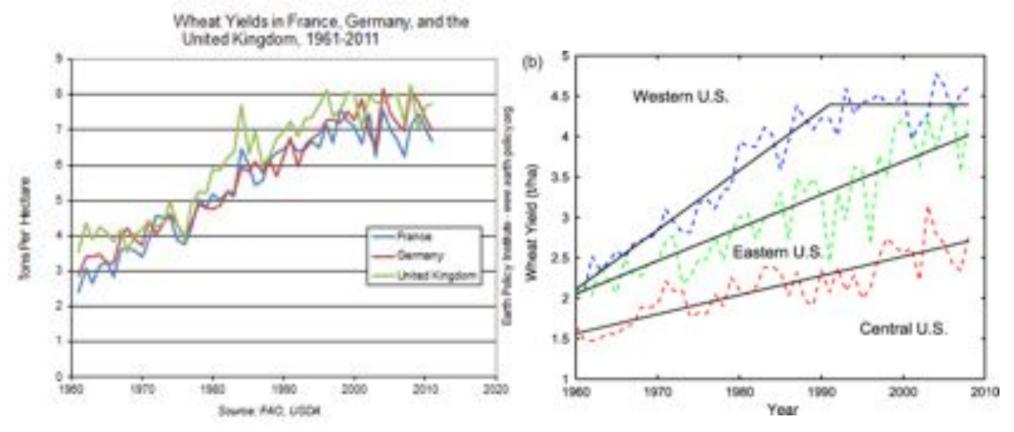


Aus: M. Qaim, W. Klümper (2013) CIUZ 47 (5), 318-326



# Herausforderung: verlangsamter Produktivitäts- / Züchtungsfortschritt mittels klassischer Verfahren

Plateau der Weizenerträge in Fr, D, UK und USA?



aus: L.R. Brown (2012) Earth Policy Institute aus: M. Lin, P. Huybers (2012) Env. Res. Lett. 7, 024016



### Übersicht

### > Herausforderungen für die Pflanzenzüchtung

- steigender Nahrungs- und Futtermittelbedarf
- steigende Nachfrage nach nachwachsenden Rohstoffen und Energieträgern
- begrenzte zukünftige Beiträge aus Pflanzenbau und Pflanzenschutz
- sich verändernde Umweltbedingungen
- verlangsamter Produktivitäts- / Züchtungsfortschritt mittels klassischer Verfahren

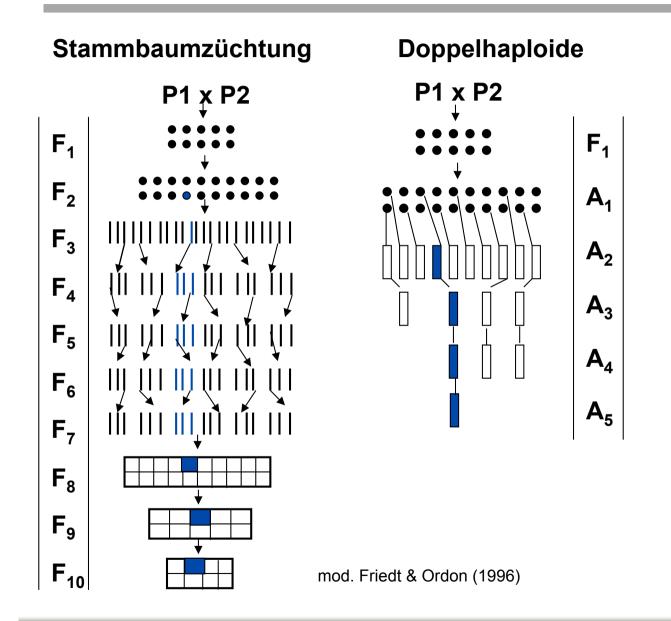
### > Innovationen in der Pflanzenzüchtung

- Beschleunigte Erzeugung neuer genetischer Varianten (Linien)
- Verbreiterung der genutzten genetischen Diversität
- Vermehrte Nutzung der Heterosis / Hybridzüchtung
- Steigerung der Selektionseffizienz
- Steigerung der Selektionskapazität

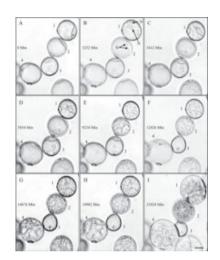
#### > Fazit



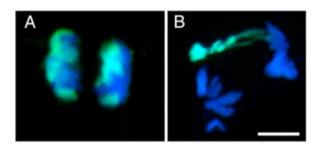
# Innovation: Beschleunigte Erzeugung neuer genetischer Varianten (Linien)



#### **Technologieentwicklung**



Mikrosporenregenration
Gentransfer
(Daghma et al. J. Exp. Bot. 2012)



Chromosomeneliminierung (Sanei et al. PNAS 2011)

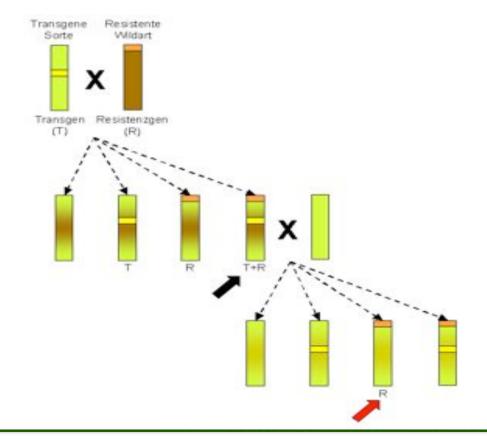
ARCH IPI

# Innovation: Beschleunigte Erzeugung neuer genetischer Varianten (Linien)

Kontrolle der Blüte (Verkürzung der juvenilen Phase) bei mehrjährigen Pflanzen z.B. Bäumen

#### u.a. durch:

- RNAi-vermittelte PTGS des "vegetative maintenance factors" MdTFL1 (Apfel)
- Überexpression von BpMADS4, einem Blüten induzierenden Transkriptionsfaktor aus Birke
- Überexpression von FT homologen (Florigen)





Apfelblüte an 1-jähriger Pflanze

Endprodukt: Neues Resistenzgen in Sortenhintergrund ohne Transgen

Aus: Flachowsky H. et al., Plant Breed. 128 (2009)

Identifizierung, Lokalisierung und Marker-gestützte Introgression vorteilhafter Gene/
Allele aus exotischem Material



Identifizierung, Lokalisierung und Marker-gestützte Introgression vorteilhafter Gene/
Allele aus exotischem Material

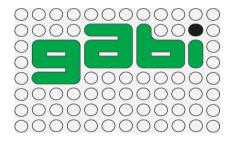
#### Approach 1

Identification and transfer of positive alleles for chilling tolerance into late, chilling sensitive materials with high biomass production

#### **GABI-ENERGY**

Enhancing Biomass Yield in Maize for Biogas Production





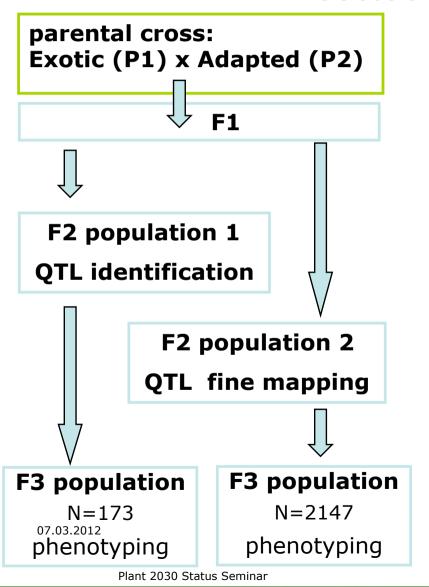


#### Approach 2

Identification and transfer of positive alleles for late flowering (= prolonged vegetative growth resulting in higher biomass yield) into adapted materials

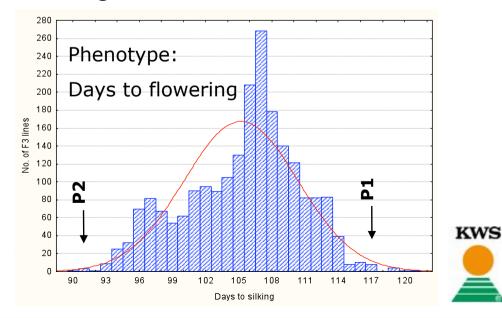


Identifizierung, Lokalisierung und Marker-gestützte Introgression vorteilhafter Gene/ Allele aus exotischem Material

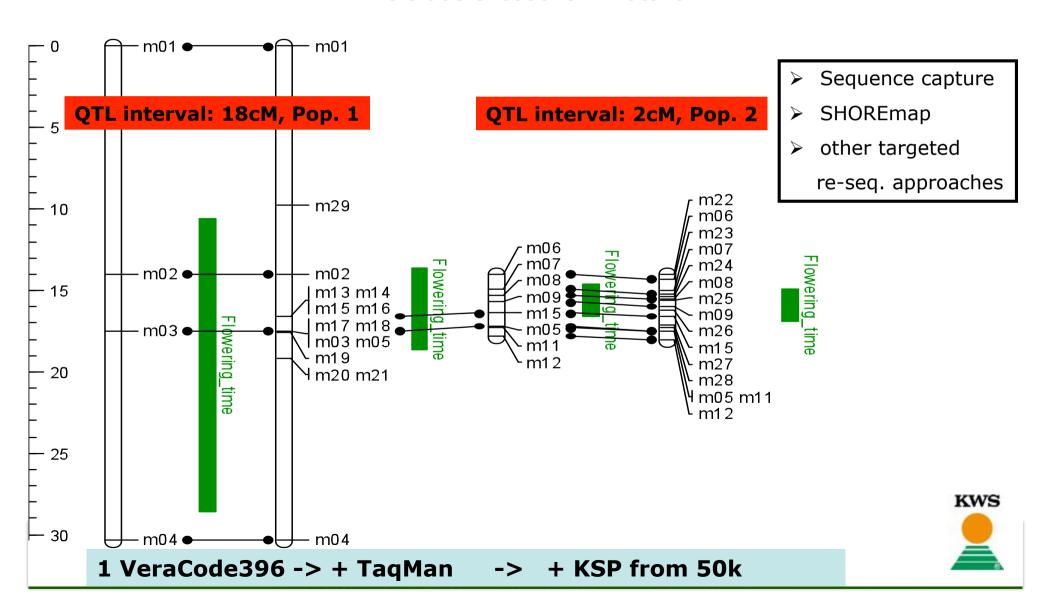


**Exotic (P1):** BC1-derived homozygous line of P2 carrying the exotic donor fragment



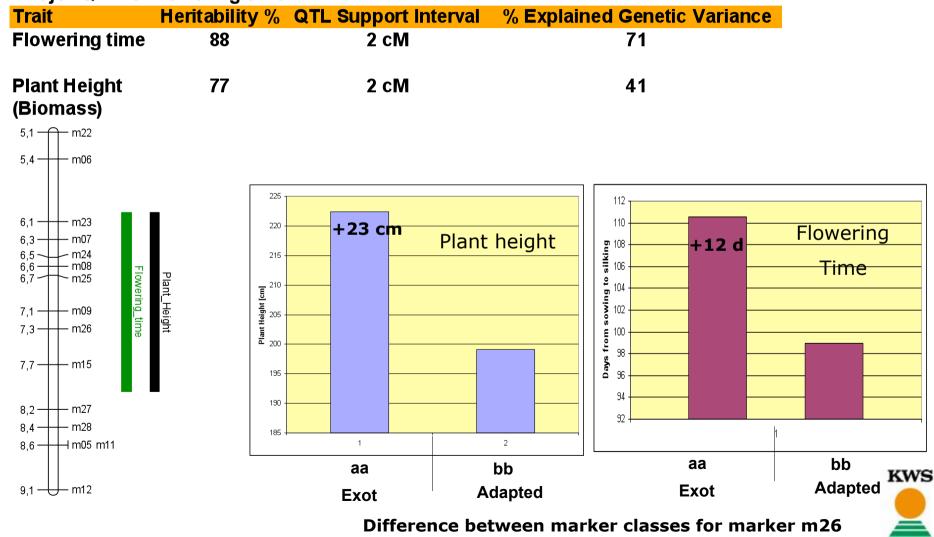


Identifizierung, Lokalisierung und Marker-gestützte Introgression vorteilhafter Gene/ Allele aus exotischem Material



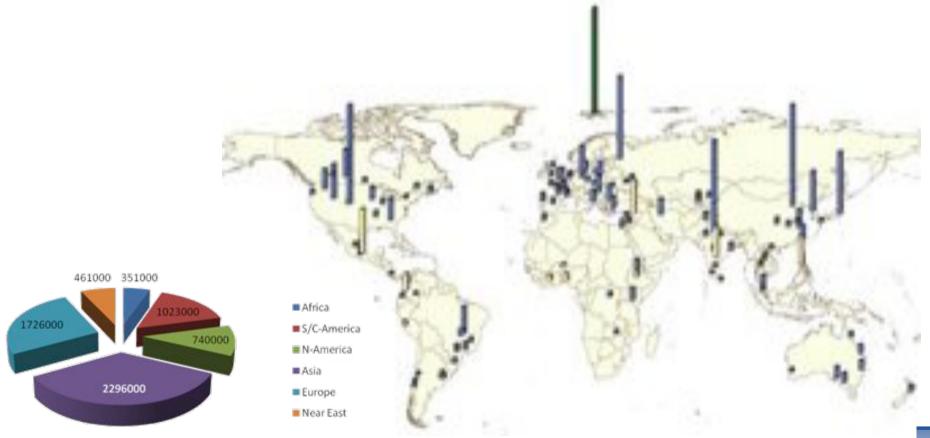
Identifizierung, Lokalisierung und Marker-gestützte Introgression vorteilhafter Gene/ Allele aus exotischem Material

1 Major QTL for flowering time



### Effiziente Erschließung und Nutzung von Genbankressourcen

1.750 Genbanken weltweit, 7.4 Millionen Akzessionen 130 Genbanken halten jeweils mehr als 10.000 Akzessionen







### Effiziente Erschließung und Nutzung von Genbankressourcen

Diversität des Genbankmaterials, z.B. Gerste

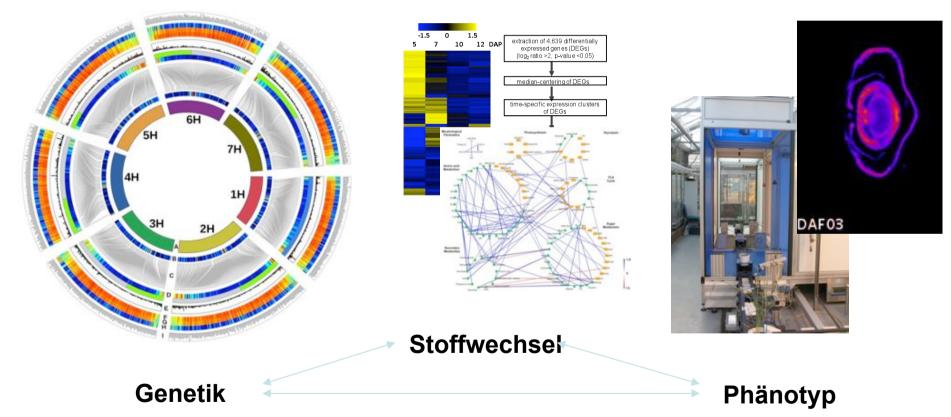


Gerste IPK-Genbankakzessionen; Fotos: H. Knüpffer, 2008



### Wissensbasierte gezielte genetische Modifikation

Ertragspotential Qualität Nachwachsende Rohstoffe Stresstoleranz Krankheitsresistenz Inhaltsstoffe Erneuerbare Energien Nährstoffeffizienz Phytofarming



Aufklärung genetischer Ursachen und molekularer Mechanismen der Merkmalsausprägung

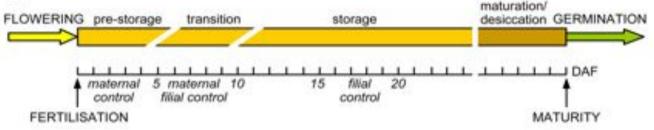
#### Wissensbasierte gezielte genetische Modifikation

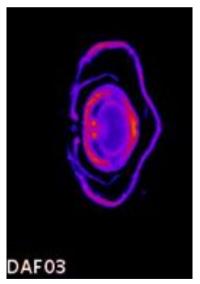
- ➤ **Gentechnische Veränderungen** zur gezielte Veränderung endogener Genfunktionen bzw. Einführung zusätzlicher Genfunktionen in Pflanzen:
  - Modulation der Aktivität und/oder Funktion arteigener (endogener) Gene;
  - Einführung von Genen / Genfunktionen eng verwandter Arten;
  - Einführung artfremder Gene / Genfunktionen;
  - Einbringung neuer bzw. modifizierter Gene;
  - **präziser Austausch / Ersatz** von Genen in Pflanzengenomen bzw. Einfügen von Genen an vorbestimmter Position
  - **Etablierung** neuartiger Stoffwechsel-, Reaktions- oder Entwicklungswege/ -prozesse
  - multiple Genveränderungen durch künstliche Pflanzenchromosomen

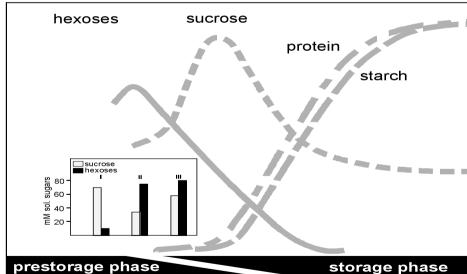


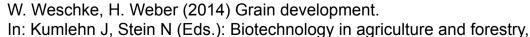
### Wissensbasierte gentechnische Modifikation

Entwicklung und Füllung des Weizenkorns

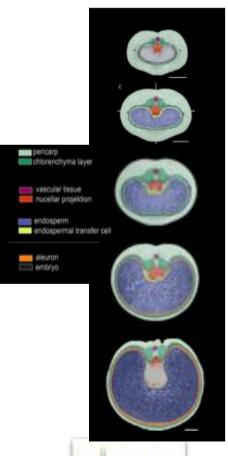






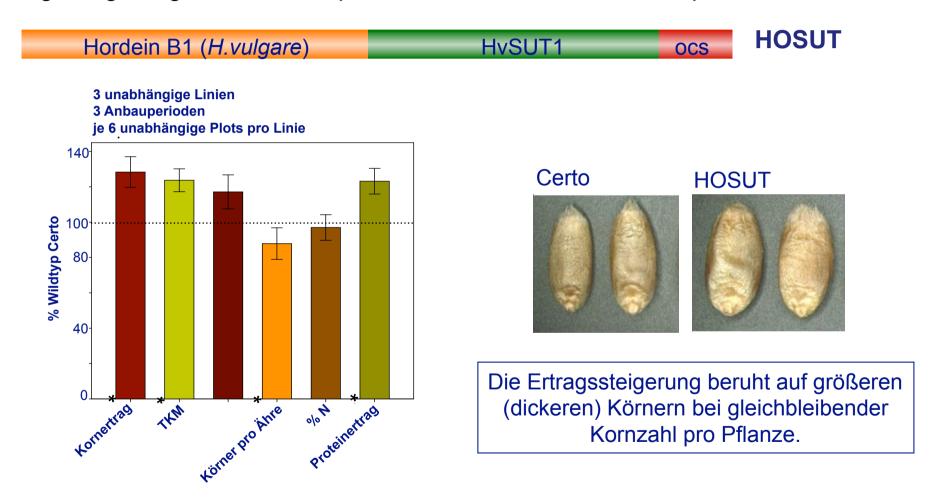


Biotechnological approaches to barley improvement.



#### Wissensbasierte gezielte genetische Modifikation

Ertragssteigerung durch Überexpression eines Saccharosetransporters aus Gerste



I. Sallbach et al. (2014) J. Cereal Sci. (2014) dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2014.01.017; W. Weschke et al., unveröffentlicht

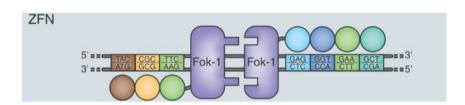


#### Wissensbasierte gezielte genetische Modifikation

- ➤ **Gentechnische Veränderungen** zur gezielte Veränderung endogener Genfunktionen bzw. Einführung zusätzlicher Genfunktionen in Pflanzen:
  - Modulation der Aktivität und/oder Funktion arteigener (endogener) Gene;
  - Einführung von Genen / Genfunktionen eng verwandter Arten;
  - Einführung artfremder Gene / Genfunktionen;
  - Einbringung neuer bzw. modifizierter Gene;
  - **präziser Austausch / Ersatz** von Genen in Pflanzengenomen bzw. Einfügen von Genen an vorbestimmter Position
  - **Etablierung** neuartiger Stoffwechsel-, Reaktions- oder Entwicklungswege/ -prozesse
  - multiple Genveränderungen durch künstliche Pflanzenchromosomen
- > Gerichtete / gezielte Modifikation oder Mutagenese ("Neue Techniken"):
  - Transkriptionelles `Gene Silencing´ durch RNA-vermittelte DNA-Methylierung;
  - Oligonukleotid-vermittelte Mutagenese;
  - Einsatz **Sequenz-spezifischer Nukleasen** (site-directed nuclases SDN)

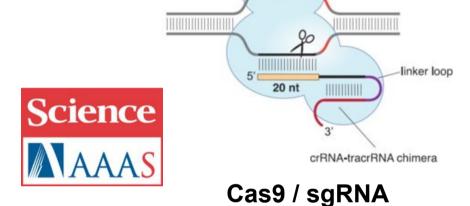


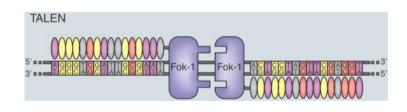
#### **SDN - Technologie**

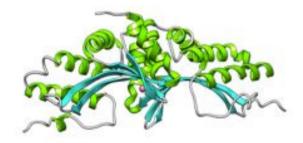


Zinc-finger nucleases









Meganucleases

<u>Transcription activator-like effector nucleases</u> (TALENs)

Nature Methods 9 (2012); doudna.berkeley.edu

### **SDN - Technologie**

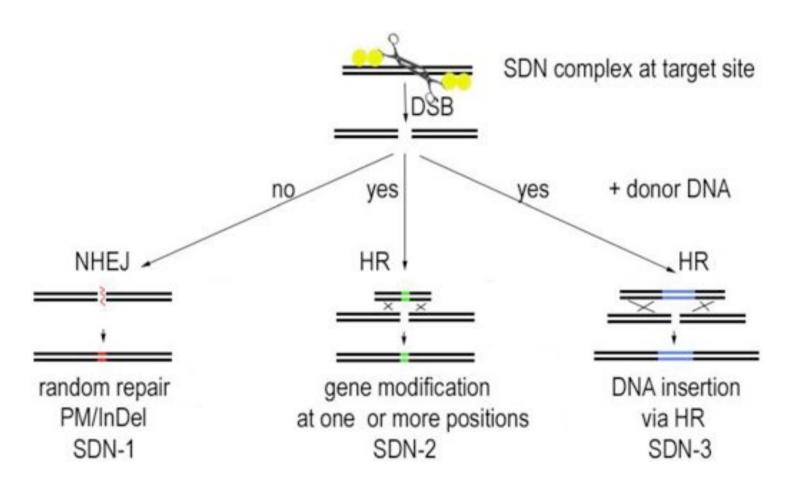
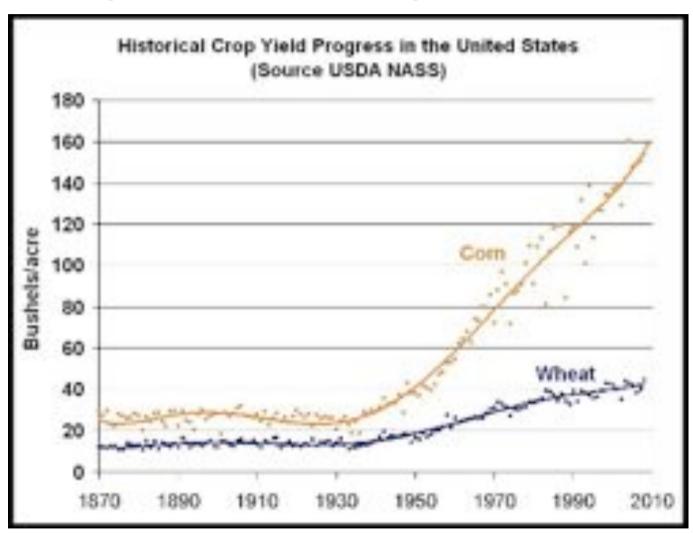


Bild: EFSA Journal 10(10), 2012; vereinfacht

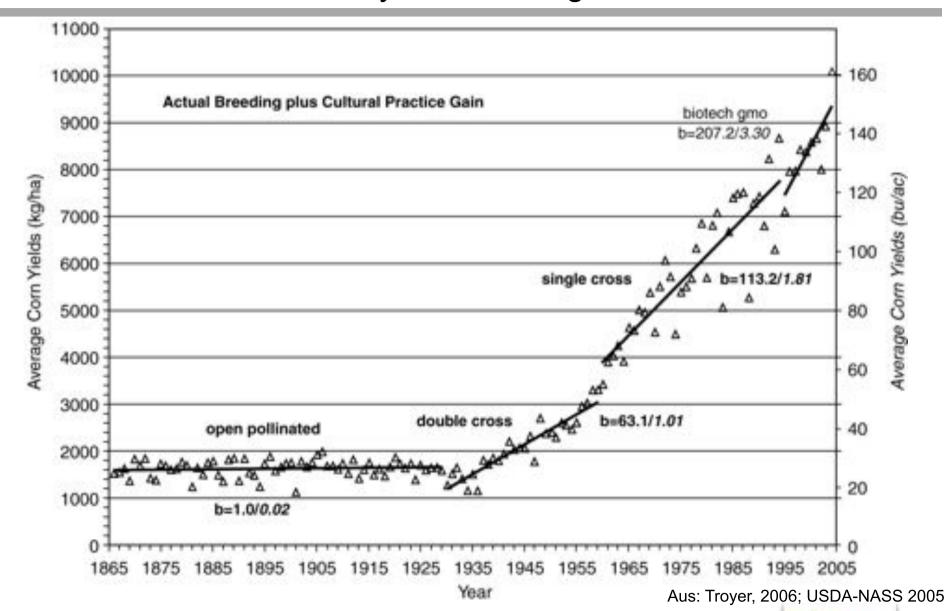
# Innovation: Vermehrte Nutzung der Heterosis / Hybridzüchtung

Entwicklung der Mais und Weizenerträge in den USA (1870 – 2010)

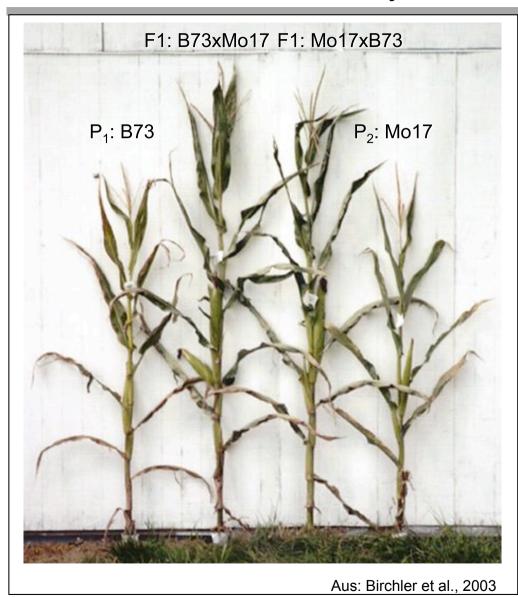


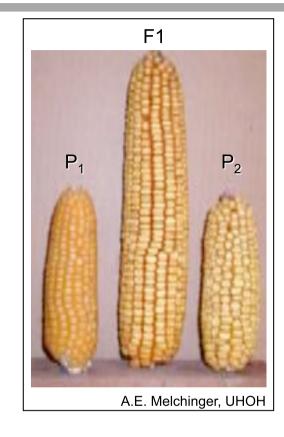


# Innovation: Vermehrte Nutzung der Heterosis / Hybridzüchtung



# Innovation: Vermehrte Nutzung der Heterosis / Hybridzüchtung





Heterosis: Gesteigerte Größe, Ertrag, Fertilität und/oder Stresstoleranz von Kreuzungsnachkommen gegenüber ihren Eltern

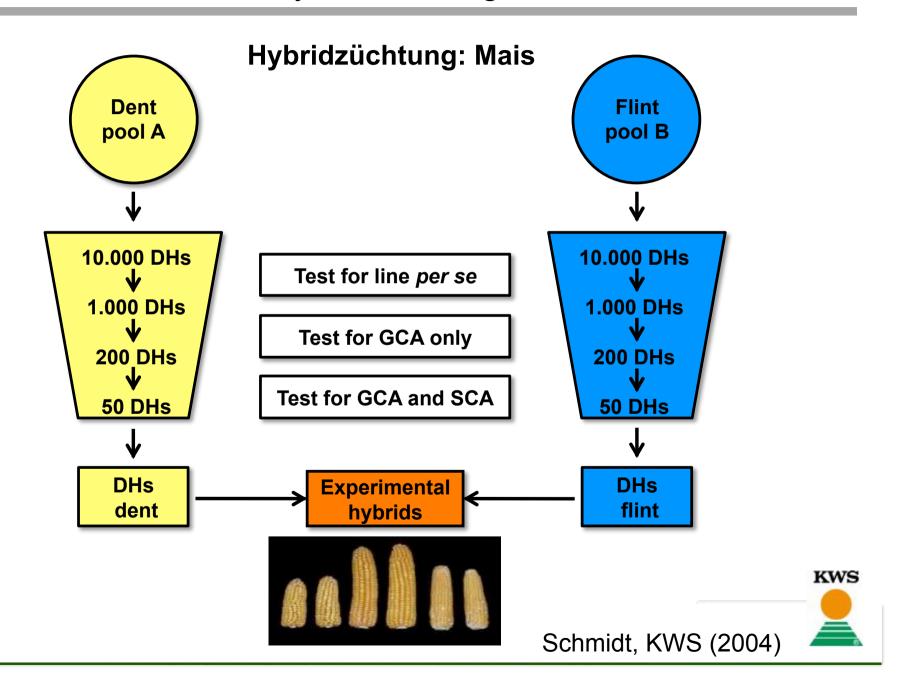




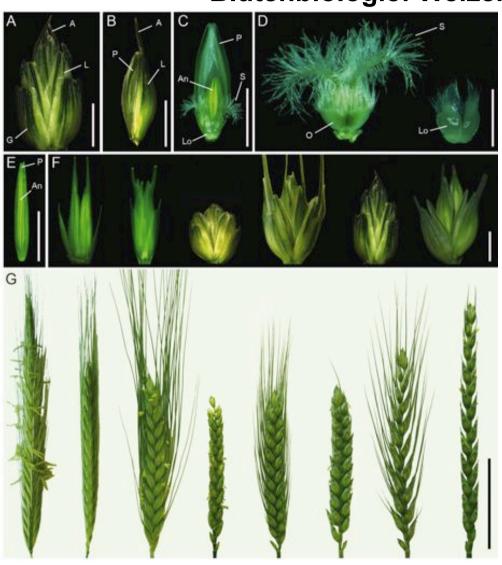
Pflanzenart	Heterosis (%)				
	Ertrag	Pflanzenhöhe			
Mais	222	74			
Roggen	287	36			
Hirse	62	15			
Sonnenblume	135	17			
Zuckerrübe	107	-			
Raps	45	-1			
Fababohne	51	25			
Weizen	9	-3			
Gerste	8	6			
Reis	56	-			

Nach: Geiger, 1990; Becker, 1993





#### Blütenbiologie: Weizen, Triticeae



Fertilitätskontrolle zur Hybridsaatgut-Erzeugung:

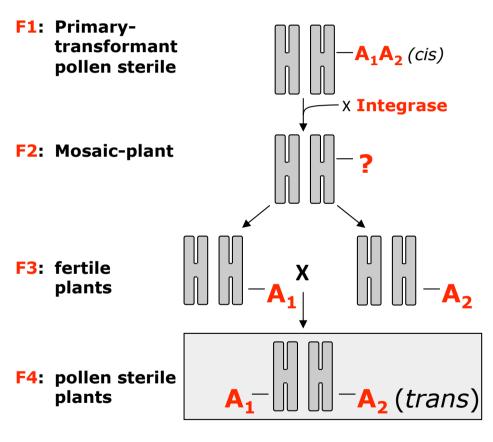
- Gametozideinsatz (chemical hybridizing agents, CHAs)
- Cytoplasmatische männliche Sterilität (cms)
- Selbstinkompatibilität?
- Nukleäre / genische männliche Sterilität
- Transgen-vermittelte m\u00e4nnliche
   Sterilit\u00e4t

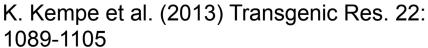
R. Whitford et al., (2013) J. Exp. Bot. 64: 5411-5428

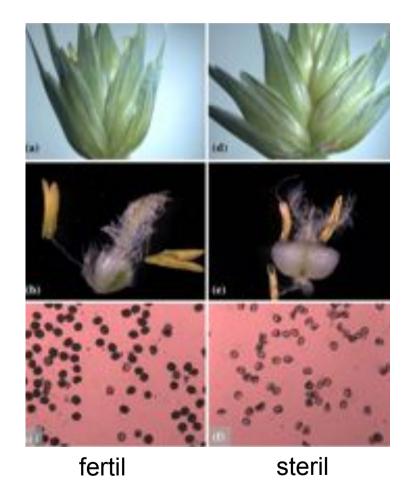


#### Transgen-vermittelte männliche Sterilität bei Weizen:

"Gespaltener Gen-Ansatz" ("split gene approach")



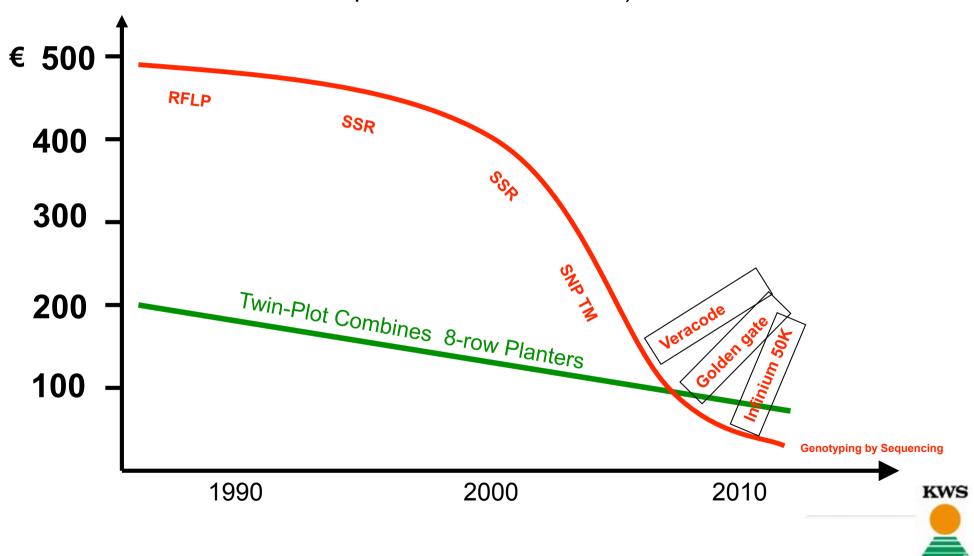


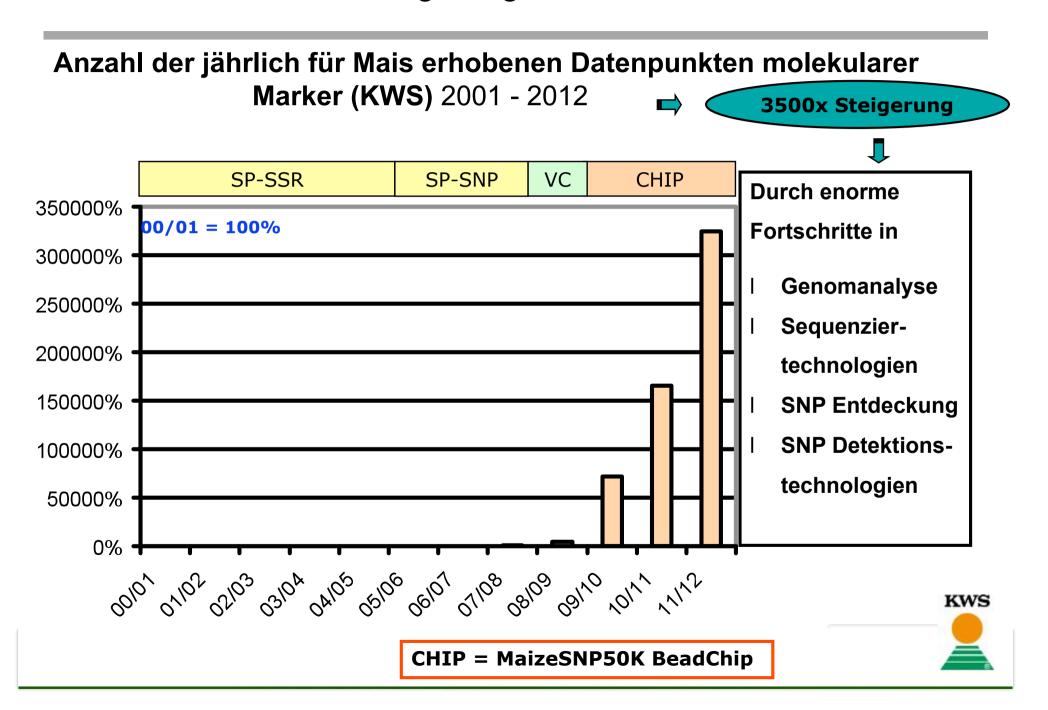




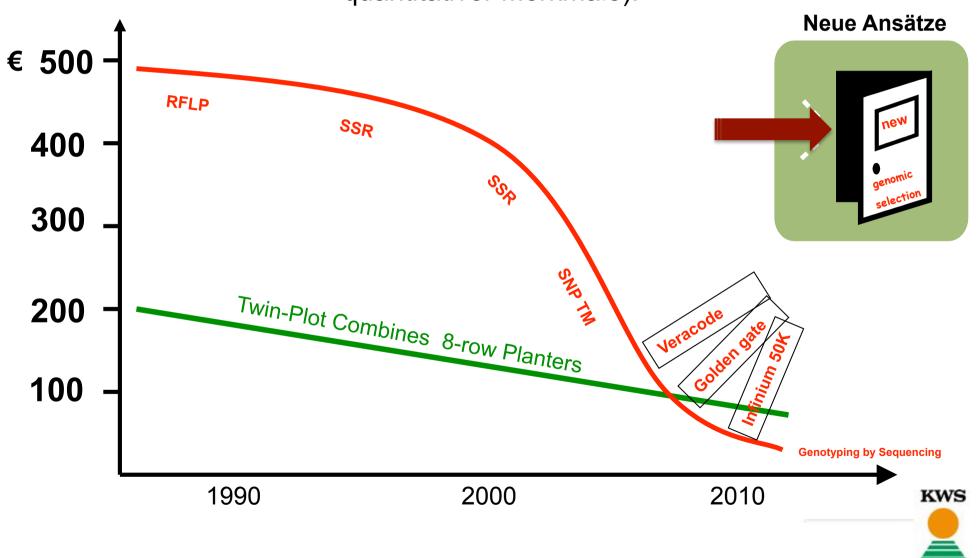


Kosten für die Evaluierung einer Hybride bzgl. Ertrag (oder anderer quantitativer Merkmale):





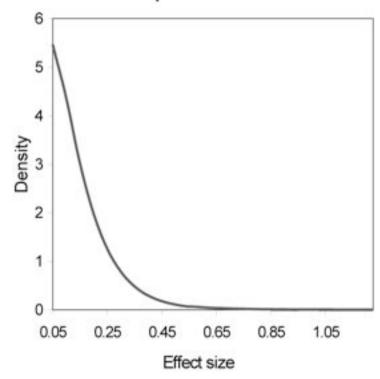
Kosten für die Evaluierung einer Hybride bzgl. Ertrag (oder anderer quantitativer Merkmale):



#### Prinzip der genomischen Selektion:

Steigerung des Anteils der erklärten genotypischen Varianz durch die Berücksichtigung von QTLs (Markern) mit kleinen und mittleren Effekten

Distribution of genetic effects for a quantitative trait



Marker profiles of diverse panel of lines (Z)

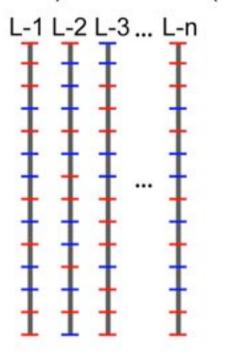


Abb.: J.C. Reif



#### Prinzip der genomischen Selektion:

Vorhersage des genotypischen Wertes an Hand eines trainierten Modells auf Basis der kompletten Markerdaten einer Linien / eines Individuums

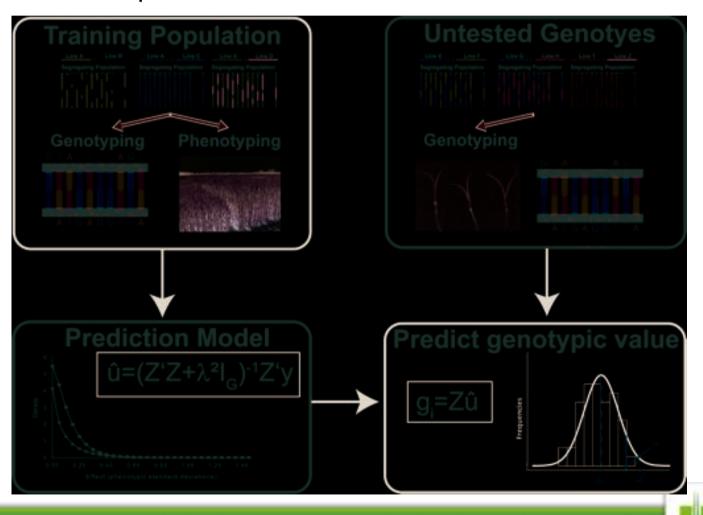


Abb.:

# Erhöhte Vorhersagegenauigkeit durch genomische Selektion (gegenüber Assoziationskartierungsdaten):

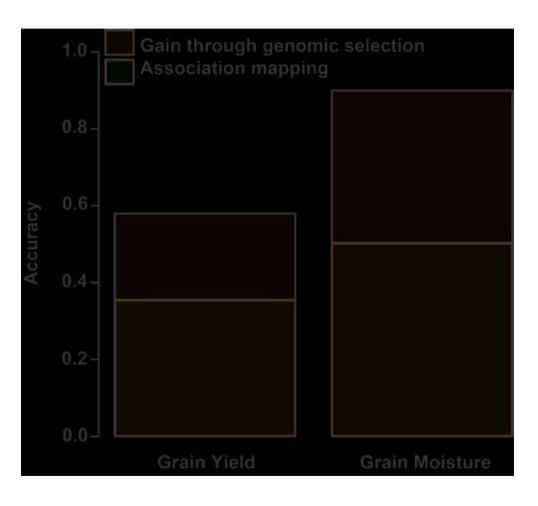
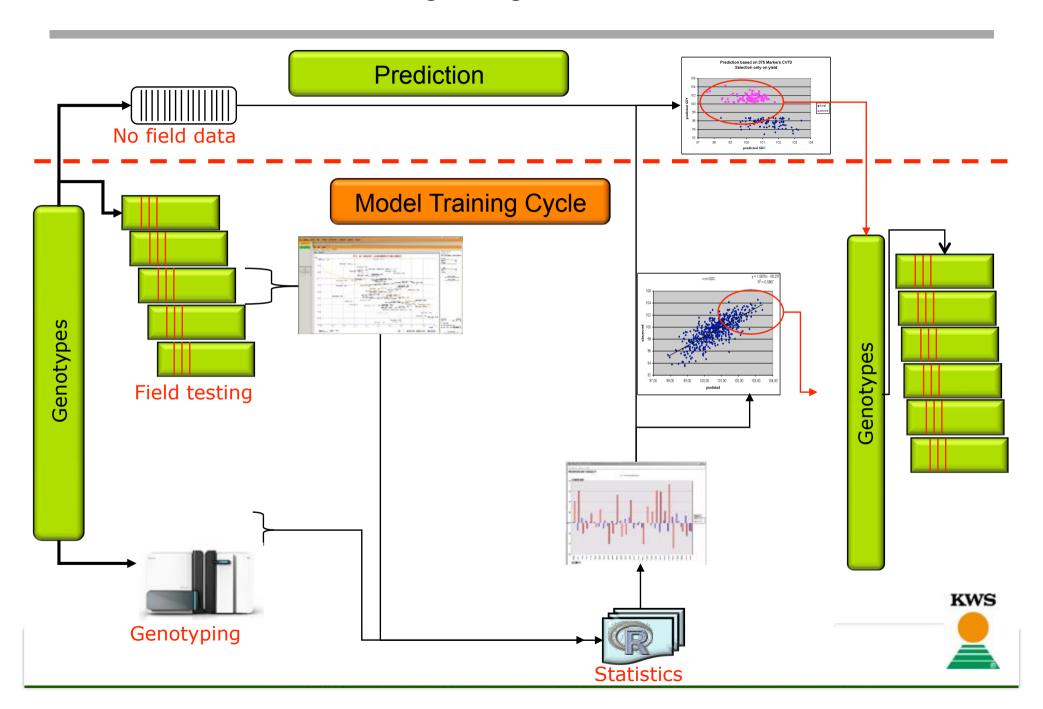
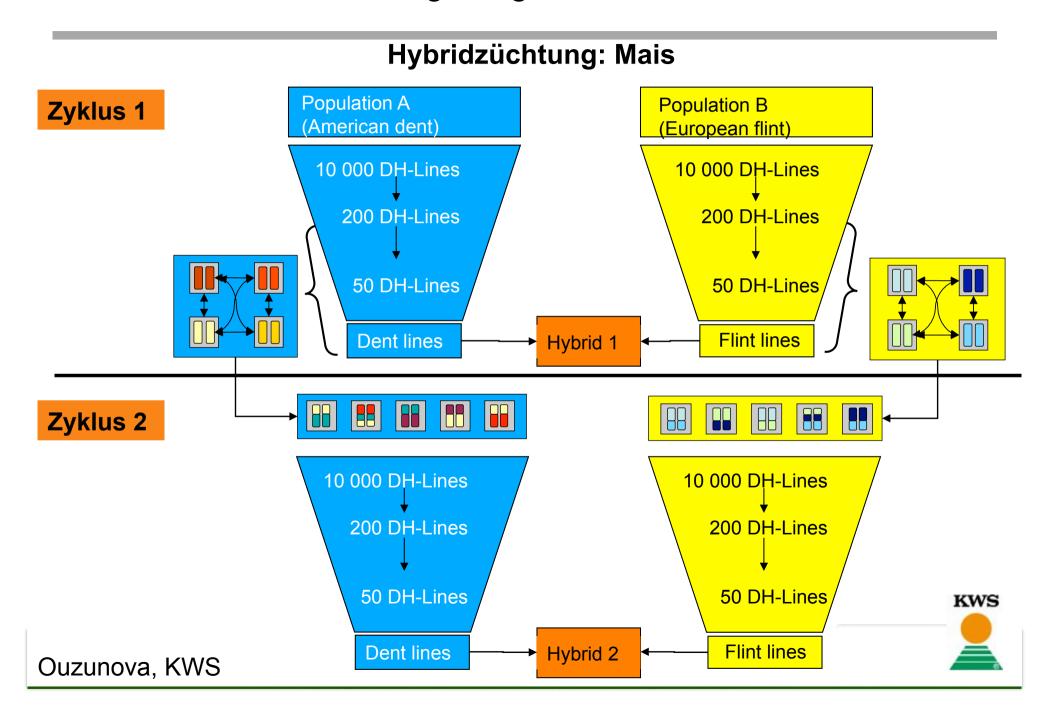


Abb.: J.C. Reif

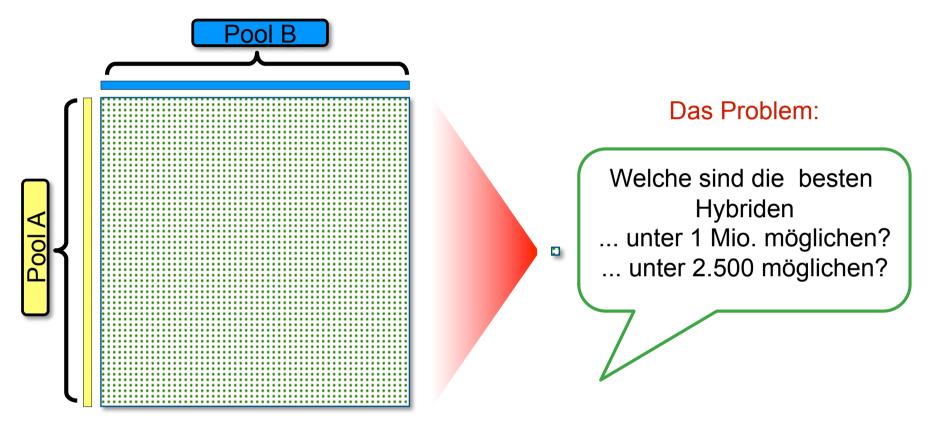
Zhao et al. 2013







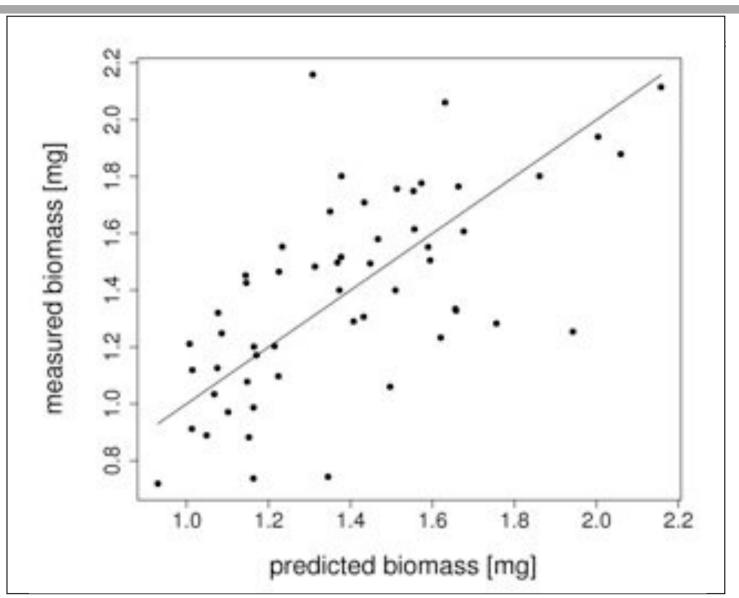
#### Effiziente DH-Erzeugung: Bedarf der Hybridleistungsvorhersage



- 1.000 x 1.000 lines (after *per se* selection)
  50 x 50 lines (after GCA selection)
- = 1 mio. potential hybrids
- = 2.500 potential hybrids
- → Basis for selection of experimental hybrids

CC: 0.73 (multiplicative model) p ca. 4 x 10<sup>-65</sup>!!

Median correlation between predicted and true dry weights (determined via cross validation using PLS): 0.58 ± 0.06





#### **GABI-ENERGY:** Biomass production in maize – genomics guided breeding of energy maize and a systems-oriented analysis.

















# Analysis of 300 diverse Dent inbred lines and 600 hybrids thereof (300 Dents x 2 F1 Flint testers):

**Hybrid field trials:** 2 years, 3 locations,

evaluation of 7 biomass / bioenergy traits

**Inbred field trial:** 1 year, 1 location, 2 repl.

early biomass (FW), EV, FF, PH, DMY, DMC

metabolite profiles

#### Glasshouse cultivation (95 inbreds, 95 hybrids $(xT_1)$ :

3 exp. w. 4 rep. each

early biomass (FW, DW), PH (mult. t.-p.`s)

metabolite profiles

transcript profiles (selected inbreds and hybrids)

**Genotyping:** SNP50

aCGH (34 + 13 lines)

# Metabolite profiling of leaf samples of young field grown plants (@4 WAS):

Sampling (300 inbred lines):

600 plots (2 replications)

10 plants sampled per plot (5 cm mid section of 3<sup>rd</sup> leaf) leaf samples rapidly frozen in dry ice

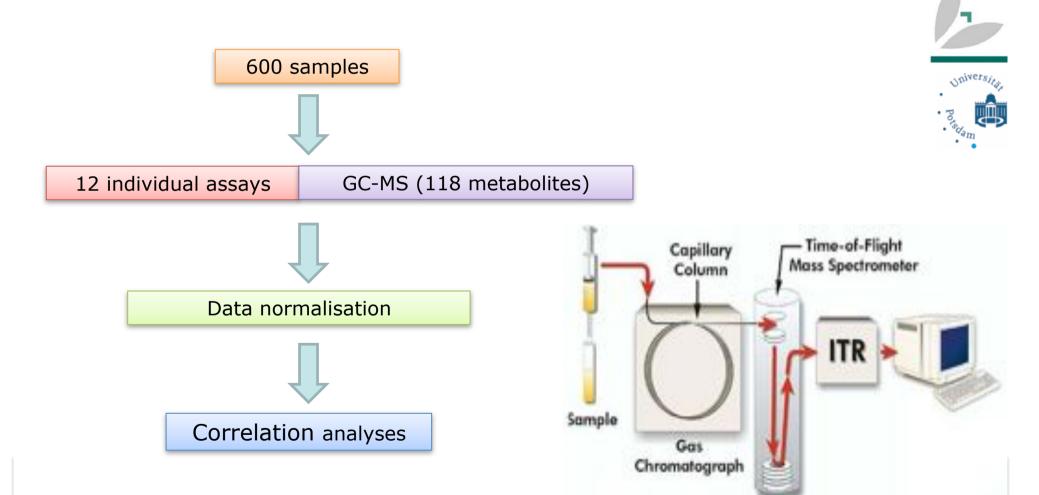
6000 leaf samples taken by 35 persons in 69 min.!





#### Metabolite profiling of leaf samples of young field grown plants:

Sample processing and analysis



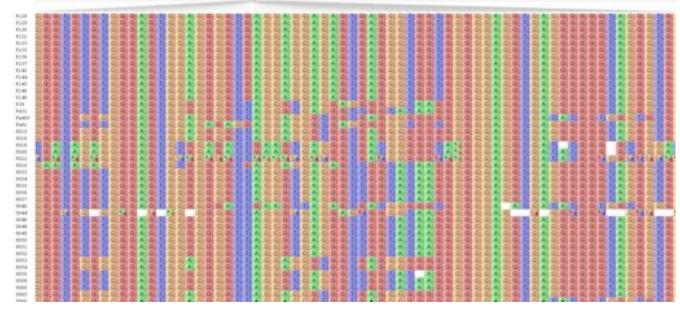
Riedelsheimer, Czedik-Eysenberg, Lisec, et al., Nat. Genet. (2012)

#### **Genotyping of inbred lines**

Genotype data:

Illumina MaizeSNP50 Infinium HD iSelect bead array SNP data of 299 inbred lines chromosome 1 (7,746 SNP markers)





Riedelsheimer, Czedik-Eysenberg, Lisec, et al., Nat. Genet. (2012)



#### **Trait Prediction:**

Prediction of GCA for dry matter yield and 6 other agronomic traits applying whole-genome- and metabolome-based methods on SNP data and metabolite profiles of inbred lines

GCA	h <sub>GCA</sub>	w <sub>M</sub> <sup>2</sup> -	SNPs			Metabolites		
			$r_{(\hat{y},y)}$	$\Gamma(\hat{g},g)$	s.d.	$r_{(\hat{y},y)}$	$r_{(\hat{\mathbf{g}},\mathbf{g})}$	s.d.
Dry matter yield	0.89	0.73	0.74	0.78	0.07	0.48	0.60	0.11
Plant height	0.95	0.72	0.70	0.72	0.06	0.52	0.63	0.10
Dry matter concentration	0.96	0.72	0.78	0.80	0.07	0.66	0.79	0.06
Female flowering	0.98	0.71	0.80	0.81	0.06	0.67	0.80	0.07
Starch content	0.93	0.73	0.70	0.73	0.07	0.59	0.71	0.07
Sugar content	0.94	0.74	0.69	0.72	0.06	0.55	0.67	0.09
Lignin content	0.82	0.73	0.72	0.80	0.05	0.50	0.64	0.10

Predictive abilities  $r_{(i,y)}$  and prediction accuracies  $r_{(i,g)}$  averaged over all cross-validation runs and their s.d. are shown for models using either SNPs or metabolites. Heritabilities of the predicted traits  $(h_{GCA}^2)$  are given as well as the repeatabilities of the used metabolic profile  $(w_{ij}^2)$  calculated as the weighted sum of the repeatabilities of the individual metabolites.

Riedelsheimer, Czedik-Eysenberg, Lisec, et al., Nat. Genet. (2012)

### Innovation: Steigerung der Selektionskapazität

Sensor-basierte automatisierte Phänotypisierung (Fernerkundung) **RGB/CIR: NDVI** Multispectral Imaging (A) Thermal Imaging Hyperspectral Imaging Aus: J.L. Araus, J.E. Cairns (2014) TIPS19(1), 52-61

## Innovation Pflanzenzüchtung – Fazit

- ➤ Enorme Herausforderungen für die Pflanzenzüchtung in den kommenden Jahrzehnten
- Rasante technologische Entwicklungen (Genomforschung; molekulare / systembiolgische Pflanzenforschung; Phänotypisierung; Bioinformatik)
- Massive Verbreiterung des für die Pflanzenzüchtung verfügbaren Spektrums an Methoden und Verfahren
- ➤ Erfordernis der (Weiter-)Entwicklung und Nutzung aller einsetzbarer Techniken und entsprechender menschlicher Ressourcen
- Chance zur Diversifizierung (breitere Vielfalt) mit lokaler / regionaler Anpassung / Optimierung

#### Dank an...

... Milena Quzunova (KWS); Jens Lübeck (GSA, Solana Res.); Andreas Graner, Winfriede Weschke, Jochen C. Reif (IPK) für die Überlassung von Darstellungen,

### ... frühere und aktuelle Arbeitsgruppenmitglieder,

Andrea Apelt
Sibille Bettermann

Martina Becher Michaela Frnst

Iris Fischer

Monika Gottowik

Corina Gryczka

Hea-Jung Jeon

**Astrid Junker** 

Anke Kalkbrenner

Beatrice Knüpfer

Manuela Kretschmann

Peggy Lange

**Rotraud Losse** 

Doreen Mäker

Cindy Marona

Rhonda Meyer

Marion Michaelis

Moses Muraya

Alexandra Rech

**David Riewe** 

Katrin Seehaus

Sabine Struckmeyer

Melanie Teltow

Otto Törjék

**Gunda Wehrstedt** 

Kathleen Weigelt-Fischer

Hanna Witucka-Wall

Monique Zeh





#### ... Kooperationspartner,

Änne Eckhart Oliver Fiehn

Jan Lisec

Yariy Brotman Michael Méret Susann Irgang

**Lothar Willmitzer** 

Ronan Sulpice

Angelika Czedik-Eysenberg

Anna Fils

Armin Schlereth

Yves Gibon

**Mark Stitt** 

Matthias Steinfath Tanja Gärtner

Abdelhalim Larhlimi + Greenteam

Sandra Andorf

Kirsten Feher

Joachim Selbig

MPI-MP / UP, Golm

Karin Köhl

... und Förderorganisationen:





SPP Heterosis in **Plants** 

Michael Seifert Svetlana Friedel

Ingo Mücke Alexander Entzian Dijun Chen

**Christian Klukas** 

Anke Müller Julia Hildebrandt **Enk Geyer** 

IPK Gatersleben

Christian Riedelsheimer

Christoph Grieder Frank Technow **Tobias Schrag** 

Albrecht E. Melchinger

**Hans-Peter Piepho** 

**Uni Hohenheim** 

Milena Ouzunova

Carsten Knaak

**KWS Saat AG** 

Delphine van Inghelandt

Benjamin Stich

**Pascal Flament** 

Limagrain GmbH

**Uli Schurr** 

**Achim Walter** 

Hanno Scharr

FZ Jülich

Pat Schnable ISU, Ames





