

Endbericht

Zuwendungsempfänger:

Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK)

KWS LOCHOW GmbH

NORDSAAT Saatzeitgesellschaft mit beschränkter Haftung

LIMAGRAIN GmbH

Saatzeit Bauer GmbH & Co. KG

Strube D&S GmbH

Förderkennzeichen:

2818401A18

Vorhabensbezeichnung: HYFLOR - Erforschung der Genetik der Blühbiologie bei Weizen

zur effektiven Erzeugung von Hybridweizen

Laufzeit des Vorhabens:

01.10.2019 – 30.09.2024

Berichtszeitraum:

Endbericht

Inhaltsverzeichnis	Seite
I. Kurze Darstellung	
1. Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie der wissenschaftliche und technische Stand an den angeknüpft wurde	01
2. Ablauf des Vorhabens	01
3. Wesentliche Ergebnisse sowie ggf. Zusammenarbeit mit anderen Stellen	02
II. Eingehende Darstellung	
1. Verwendung der Zuwendung	03
2. Wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	22
3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	22
4. Voraussichtlichen Nutzen im Sinne des Verwertungsplans	23
5. Bekanntgewordener Fortschritt bei anderen Stellen	23
6. Veröffentlichungen der Ergebnisse	23
III. Erfolgskontrollbericht	
1. Wissenschaftlich-technische Ergebnis des Vorhabens, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen	24
2. Fortschreibung des Verwertungsplans	26
3. Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben	27
4. Einhaltung der Kosten- und Zeitplanung	27
IV. Literatur	24

I. Kurze Darstellung

1. Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie der wissenschaftliche und technische Stand an den angeknüpft wurde

Eine der zentralen Herausforderungen der Landwirtschaft ist es, Nahrungs- und Futtermittel stabil und ausreichend in Zeiten des Klimawandels zu produzieren, was hohe Anforderung an Sorten stellt. Weizenhybriden nutzen im Gegensatz zu Linien den Heterosiseffekt. Dies erhöht den Ertrag um 10%, erleichtert die Resistenzzüchtung bei Genen mit dominanten Effekten und verdoppelt die Ertragsstabilität. Trotz dieser Vorteile fristen Weizenhybriden in Deutschland bisher eher ein Nischendasein mit eingeschränkter Marktpenetranz. Der wesentliche Flaschenhals liegt in den hohen Kosten bei der Hybridsaatgutproduktion und in dem geringeren rekurrentem Selektionserfolg. Im Rahmen des Projektvorhabens HYFLOR sollten daher die Grundlagen geschaffen werden, um (1) die Bestäubungsleistung und Rezeptivität als zentrale Eigenschaften einer kostengünstigen Hybridsaatgutproduktion zu verbessern und (2) Methoden zu entwickeln, um die Komplementarität von Elternlinien wissenschaftsbasiert zu erhöhen.

Es gab einige Initiativen zur Entwicklung kostengünstiger Hybridsysteme und zur Markteinführung von Hybridsorten bei Weizen. Mit der notwendigen Nachhaltigkeit von geschätzten F&E-Aufwendungen von mindestens 15 Jahren wurde die Herausforderung bisher nicht angegangen. Weizenhybridsorten werden derzeit auf weniger als 1% der weltweiten Anbaufläche verwendet. Alle Hybridsorten in Deutschland werden auf der Grundlage von Gametoziden produziert. Bemühungen, cytoplasmatisch männliche Sterilitätsmechanismen zu nutzen, waren bisher nicht erfolgreich. Darüber hinaus ist ein besseres Verständnis der Eigenschaften sehr guter Vater- und Mutterlinien in der Hybridzüchtung erforderlich, um den Saatgutansatz bei der Erzeugung von Hybriden genetisch zu verbessern. Für eine optimale Nutzung der Heterosis ist es wichtig, die Genwirkungsweise der heterotischen QTL zu kennen. Bei Weizen ist das Wissen darüber jedoch sehr rudimentär. Dies hat verschiedene Gründe, wie z.B. die fehlende Implementierung eines geeigneten quantitativen genetischen Modells oder die Verfügbarkeit von geeigneten Ansätzen, um den Beitrag der Interaktion zwischen Genen abschätzen zu können.

2. Ablauf des Vorhabens

Die Arbeiten des Verbundprojektes gliedern sich in vier Arbeitspakete (AP): (AP1) Phänotypische und molekulare Vorhersage der Bestäubungsleistung. (AP2) Phänotypische und molekulare Vorhersage der Rezeptivität. (AP3) Genetische Komplementarität für Stresstoleranz gegenüber biotischen und abiotischen Schadeinflüssen. (AP4) Reziproke rekurrente genomische Selektion. Die Feldversuche zur Genetik der Bestäubungsleistung in der Hybridproduktion in WP1 sind mit drei verschiedenen Gruppen an Genotypen durchgeführt worden. Die Gruppen sind zeitlich gestaffelt bearbeitet worden. Zu Beginn des Projektes wurde eine Popu-

lation von doppelhaploiden Linien (DHs) aus der Kreuzung der Weizenlinien *Piko* und *Hermann* über 2 Jahre bearbeitet. Im 3. Jahr wurde eine Population von 150 DHs aus 5 Kreuzungen und im darauffolgenden Jahr eine Population von 150 DHs aus weiteren 5 Kreuzungen bearbeitet. Die DHs sind als Väter in Kreuzungsblöcken geprüft worden, und der Saatgutansatz auf der Mutterparzelle wurde neben möglichen indirekten Merkmalen erfasst. Die Felddaten sind kuratiert und die Heritabilitäten und adjustierten Mittelwerte der Bestäubungsleistung und potenzieller indirekter Merkmale geschätzt worden. Die phänotypischen Daten wurden mit genomischen Daten kombiniert, die genetische Architektur der Bestäubungsleistung untersucht und Vorhersagemodelle der Bestäubungsleistung entwickelt. Unter kontrollierten Bedingungen wurden detaillierte Analysen durchgeführt, um Komponenten des Merkmals Bestäubungsleistung zu identifizieren und zugrundeliegende Kandidatengene vorzuschlagen. In WP2 wurde von genetisch diversen Mutterlinien und DHs der Kreuzung zwischen *Partner* und *Benchmark* die Rezeptivität in der Hybridsaatgutproduktion unter Verwendung von Gametoziden bzw. cytoplasmatisch-männlicher Sterilität (CMS) untersucht. Die Linien wurden zusätzlich genotypisiert und die genetische Architektur der Rezeptivität erforscht. Mit ausgewählten Linien erfolgte eine vertiefte molekulare und genomische Studie der Rezeptivität mit dem Ziel, indirekte Merkmale bzw. relevante Gene zu identifizieren. Die in WP1 erzeugten Hybriden wurden im Rahmen von WP3 in Feldversuchen evaluiert und die Eltern genotypisiert. Die phänotypischen Daten wurden aufbereitet und für Kartierungsstudien verwendet. Zur Untersuchung heterotischer Effekte wurde ein für diese Populationen geeignetes quantitatives genetisches Modell verwendet. Neben Dominanzeffekten wurden auch epistatische Interaktionen berücksichtigt. In WP4 wurde ein reziprokes rekurrentes genomisches Selektionsprogramm umgesetzt, das auf Arbeiten des Projekts ZUCHTWERT (FKZ 0315945D) und HYWHEAT (FKZ 0315945D) aufbaute. Hybriden der unterschiedlichen Selektionsstufen wurden in Feldversuchen getestet und der Selektionsgewinn evaluiert.

3. Wesentliche Ergebnisse sowie ggf. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Untersuchungen zeigten, dass die phänotypische Variation sowohl der Bestäubungsleistung als auch der Rezeptivität durch eine Vielzahl von Genen und deren Interaktion mit der Umwelt beeinflusst wird. Für die Bestäubungsleistung wurde ein Quantitativer Trait Locus (QTL) auf Chromosom 1B identifiziert, der 21,3% der beobachteten phänotypischen Variation erklärt und somit für die markergestützte Selektion genutzt werden kann. Die Ergebnisse zeigen auch, dass Heterosis bei Weizen hauptsächlich durch Interaktionen zwischen Genen und nicht durch Interaktionen zwischen Allelen innerhalb eines Gens beeinflusst wird. Dies erschwert die gezielte Selektion auf Komplementarität erheblich. Die oben genannten Forschungsarbeiten wurden in intensiver Zusammenarbeit mit einem internationalen Hybridweizen-Konsortium unter der Leitung von Prof. Stephen Baenziger durchgeführt.

II. Eingehende Darstellung

1. Verwendung der Zuwendung

Phänotypische und molekulare Vorhersage der Bestäubungsleistung.

Die Entwicklung eines phänotypischen und molekularen Vorhersagemodells ist im Folgenden am Beispiel der Kreuzung zwischen den Linien *Piko* und *Hermann* ausführlich erläutert. Anschließend werden die Ergebnisse der beiden anderen Genotypengruppen kurz dargestellt. Das verwendete Feldversuchsdesign ist in Abbildung 1 dargestellt. Die DH-Linien wurden zusammen mit den Eltern *Piko* und *Hermann* in Feldversuchen in den Vegetationsperioden 2019/2020 und 2020/2021 an drei Standorten geprüft. In jeder der sechs Umwelten, die sich aus der Kombination von Standorten und Jahren ergaben, wurden die Linien in Kreuzungsblöcken nach einem nicht wiederholten Alpha-Gitter-Design angeordnet. Jeder Kreuzungsblock bestand aus den beiden Mutterlinien *Piko* und *Hermann*, die auf beiden Seiten von derselben DH-Linie flankiert waren, die als Vaterlinie für eine maximale Pollenversorgung diente (Abbildung 1A). Jeder Kreuzungsblock wurde entweder durch CMS-Roggen, CMS-Gerste oder eine früh blühende Triticalelinie isoliert, um Polleneintrag zwischen benachbarten Kreuzungsblöcken zu verhindern. Als Kontrolle wurden Kreuzungsblöcke mit *Piko* und *Hermann* als Vaterlinien zufällig auf 10 unvollständige Blöcke in jeder Umgebung verteilt.

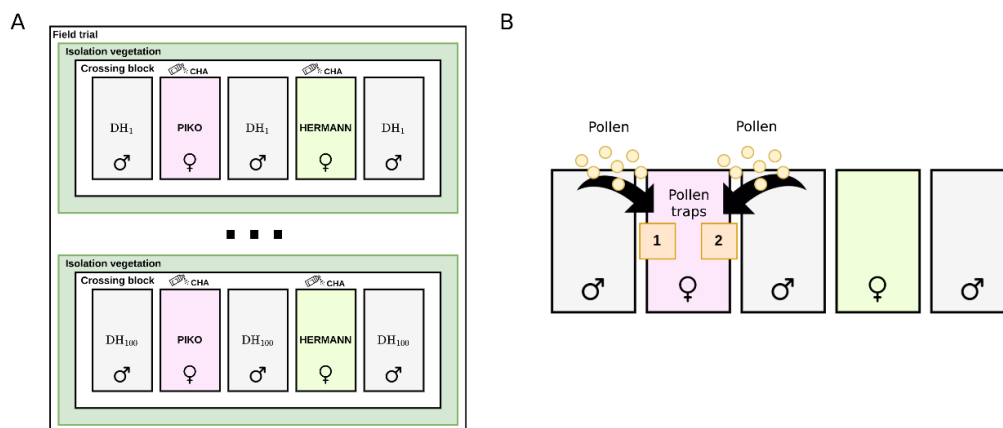


Abbildung 1. Darstellung des Feldversuchsdesigns. A. Die Mutterlinien (♀, PIKO und HERMANN) wurden mit chemischen Hybridisierungsmitteln (CHA) sterilisiert. B. Schematische Darstellung der Pollenfallen.

Folgende Merkmale wurden in den Feldversuchen erfasst: Pflanzenlänge (PL), PH-Unterschiede zwischen Mutter- und Vaterlinien (PHD), Ährenschieben (HD), HD-Unterschiede zwischen Mutter- und Vaterlinien (HDD), Blühbeginn (FT_{begin}), -ende (FT_{end}), -dauer (FT_{dur}), Blühsynchronisation zwischen Mutter- und Vaterlinien (N_{f|m}), Maximum (VAEX_{max}), Mittelwert (VAEX_{mean}) und akkumulierte visuelle Antherenextrusion (VAEX) (VAEX_{sum}), die Summe von VAEX während der synchronen Blüte zwischen Mutter- und Vaterlinien (VAEX_{Eff}), der Kornertrag für Vater- (GY_m, kg ha⁻¹) und Mutterlinien (GY_f, g m⁻²), das Tausendkorngewicht (TGW, g) für Vater- (TGW_f) und Mutterlinien (TGW_m), der Samenansatz der Mutterlinien (SeedSet), die

mittlere (PC_{mean}), die maximale (PC_{max}) und die akkumulierte Pollenzahl (PC_{sum}). Für die Erfassung von PC wurden in jedem Kreuzungsblock zwei Pollenfallen in der Parzelle mit den Mutterlinien aufgestellt (Abbildung 1B).

Die Mutterlinien in Wohldde und Hadmersleben wurden mit Croisor®100 (ASUR Plant Breeding SAS, Frankreich), einem kommerziellen Gametozid (CHA), das den Wirkstoff Sintofen [1-(4-Chlorphenyl)-5-(2-methoxyethoxy)-4-oxo-1,4-dihydrocinnolin-3-carbonsäure] enthält, behandelt. Im Gegensatz dazu wurde in Verneuil-l'Étang das zu Forschungszwecken verwendete CHA „WL84811“, das Azetidin-3-carbonsäure als aktives Molekül enthält, angewendet. Die Sterilität wurde bewertet, indem bis zu 33 Ähren pro Parzelle direkt nach der CHA-Behandlung eingetütet wurden, um nach der Ernte die Wirksamkeit des CHAs zu bewerten. Hierzu wurde die Anzahl der Körner ermittelt. Ein Schwellenwert von 4,3 Körnern wurde verwendet (Abbildung 2), um selbstfertile Linien zu identifizieren und von den nachfolgenden Analysen auszuschließen. Insgesamt überschritten 11 % aller mit CHA behandelten Parzellen diesen Schwellenwert und wurden aus dem kuratierten Datensatz ausgeschlossen.

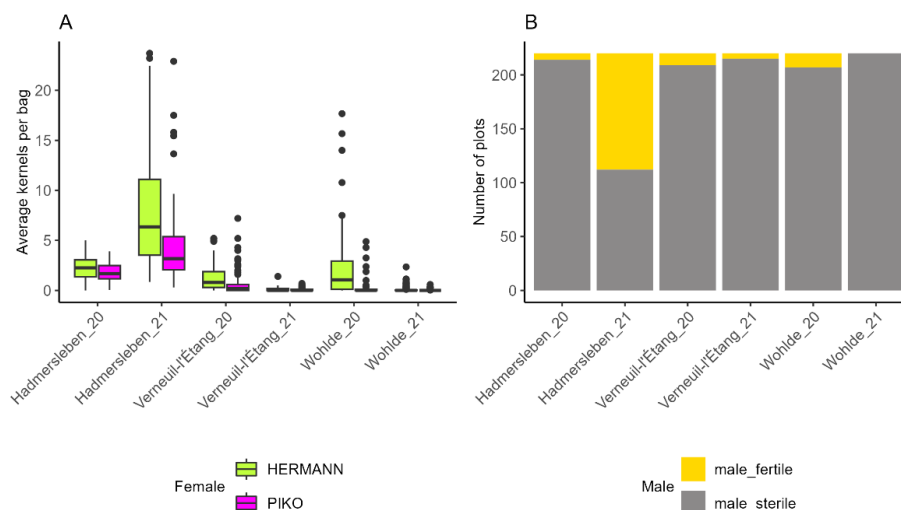


Abbildung 2. Bewertung der Sterilität der Parzellen der Mutterlinien. A. Durchschnittliche Anzahl Körner je Tüte für Hermann und Piko in jeder geprüften Umgebung. B. Anzahl Parzellen, die als männlich steril befunden wurden, und Anzahl Parzellen, die als männlich fertil eingestuft wurden, entsprechend dem Schwellenwert von 4,3 Körnern je Tüte.

Die Analyse der phänotypischen Daten zeigten eine große Variation für die Merkmale der Vaterlinien (Tabelle 1). PH_m , TGW_m , FT_{begin} und HD_m wiesen hohe Heritabilitäten zwischen 0,80 und 0,98 auf, was darauf hindeutet, dass diese Merkmale hauptsächlich durch genetische Faktoren bestimmt und nicht stark durch Umwelteinflüsse beeinflusst werden. Sie können daher in Zuchtprogrammen effektiv selektiert werden. Die Heritabilitäten für Merkmale im Zusammenhang mit PC und VAEX waren niedriger und lagen zwischen 0,23 und 0,59. Die niedrigeren Heritabilitäten können auf mehrere Umweltfaktoren zurückgeführt werden, einschließlich Unterschiede in den Phänotypisierungsbedingungen. Die geschätzte genotypische Varianz

war für alle Merkmale mit Ausnahme von PC_{max} signifikant größer als Null, was auf eine erhebliche genetische Variabilität für die untersuchten Merkmale hinweist.

Tabelle 1. Zusammenfassende Statistiken für in den Vaterlinien erfassten Merkmale. Die zusammenfassenden Statistiken enthalten für jedes Merkmal den Minimalwert (min), den Mittelwert und den Maximalwert (max) sowie den Variationskoeffizienten (CV) der DH-Linien sowie von Piko und Hermann. Zusätzlich wurden die Varianzkomponenten der Genotypen (σ^2_g) und der Restfehler (σ^2_e) sowie die geschätzte Heritabilität (H) über verschiedene Umwelten für die gesamte bewertete Population berechnet.

Parameter	VAEX_{max}	VAEX_{sum}	VAEX_{mean}	PC_{max}	PC_{mean}	PC_{sum}	PH_m
PIKO	5.7	17.2	3.0	108.9	44.5	1,310.3	96.3
HERMANN	6.2	20.5	3.3	103.2	38.0	1,131.0	95.1
DH lines min	5.0	16.4	2.7	77.1	29.8	897.9	81.1
DH lines mean	6.1	21.5	3.5	113.9	42.1	1,253.1	96.6
DH lines max	6.9	26.5	4.2	157.7	56.2	1,682.5	109.8
DH lines CV	5.7	10.4	7.6	14.2	9.2	9.6	7.9
σ^2_g	0.08***	3.08***	0.03***	53.16	3.78*	4,814.48**	66.47***
σ^2_e	0.43	10.53	0.22	1,087.81	58.05	50,121.73	8.82
H	0.53	0.59	0.44	0.23	0.28	0.36	0.98
Trait	HD_m	FT_{begin}	FT_{end}	FT_{dur}	GY_m	TGW_m	
PIKO	156.7	156.8	166.4	9.6	5,408.6	40.6	
HERMANN	156.2	155.9	166.0	10.1	6,371.8	45.6	
DH lines min	152.9	154.1	164.7	8.8	4,779.4	35.9	
DH lines mean	155.9	156.0	166.2	10.2	5,628.9	42.1	
DH lines max	158.4	157.8	167.3	11.7	6,447.8	49.2	
DH lines CV	0.6	0.5	0.3	5.5	6.1	7.0	
σ^2_g	0.66***	0.52***	0.17***	-	51,955.89**	9.21***	
σ^2_e	0.49	0.70	0.74	-	287,186.04	2.91	
H	0.80	0.82	0.53	-	0.42	0.90	

, **, * Signifikant von Null verschieden mit P-Werten < 0.05, 0.01, and 0.001.*

Die Merkmale, die die Interaktion zwischen Vater- und Mutterlinien betreffen, wiesen ebenfalls eine signifikante phänotypische Variation in den verschiedenen Umwelten auf (Tabelle 2). Die geschätzte genotypische Varianz aufgrund der Vaterlinien (σ^2_m) war für alle Merkmale signifikant größer als Null ($P < 0,001$), während keine signifikante Varianz aufgrund der Interaktion zwischen Vater- und Mutterlinien beobachtet wurde. Die Heritabilitäten lagen zwischen 0,28 für $VAEX_{Eff}$ und 0,96 für PHD. Im Gegensatz zu den niedrigen Heritabilitäten, die für die Pollenmerkmale beobachtet wurden, ist es bemerkenswert, dass das Merkmal PC_{Eff} eine Heritabilität von 0,57 aufwies. Heritabilitäten von 0,30, 0,71 und 0,74 wurden für TGW_f , GY_f und SeedSet festgestellt.

Die phänotypischen Korrelationen zwischen den Merkmalen variierten zwischen -0,71 und 0,96, wobei die stärkste Korrelation zwischen PC_{mean} und PC_{sum} beobachtet wurde. $VAEX_{max}$, $VAEX_{sum}$ und $VAEX_{mean}$ zeigten hochsignifikante Korrelationen untereinander, waren jedoch negativ mit SeedSet korreliert. Überraschenderweise wiesen PC-bezogene Merkmale keine

Assoziation mit VAEX auf. PC_{sum} und PC_{mean} zeigten jedoch eine geringe, aber signifikante Korrelation (p -Wert $< 0,05$) mit SeedSet. FT_{begin} , FT_{end} und HD_m zeigten hohe und signifikante Korrelationen (p -Wert $< 0,001$) mit SeedSet. Für Merkmale, die auf der Interaktion zwischen Vater- und Mutterlinien basieren, wurden Korrelationen zwischen $-0,69$ und $0,99$ beobachtet. Die Differenz im Ährenschieben (HDD) und die Blühsynchronisation (N_{flm}) zeigten eine mäßig negative Korrelation. Letztere zeigte wiederum eine signifikante Korrelation von $0,49$ (p -Wert $< 0,001$) mit SeedSet, was auf die Bedeutung synchronisierter Blütentage bei der Hybridproduktion hinweist. Darüber hinaus unterstreicht die starke positive Korrelation zwischen PC_{Eff} und PC_{sum} ($0,63$, p -Wert $< 0,001$) die Bedeutung von PC_{sum} als Schlüsselmerkmal für die Auswahl überlegener Vaterlinien unter Berücksichtigung des Ausmaßes der Pollenversorgung während der Stigmaempfänglichkeit. SeedSet zeigte entgegengesetzte Assoziationen mit GY_f und TGW_f mit starken positiven ($0,99$, p -Wert $< 0,001$) und negativen ($-0,69$, p -Wert $< 0,001$) Korrelationen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Auswahl der Vaterlinien auf der Grundlage der Blütezeit und der Pollensumme den Samenansatz bei der Erzeugung von Hybriden erheblich verbessern könnte.

Tabelle 2. Zusammenfassende Statistiken für Merkmale, die von der Interaktion zwischen Vater- und Mutterlinien abhängen. Für jedes Merkmal umfassen die zusammenfassenden Statistiken die Variationskoeffizienten (CV), die Mindest- (min), Mittel- und Höchstwerte (max), die Varianzkomponenten der Vaterlinien (σ_m^2), die Varianzkomponenten aufgrund der Interaktion (σ_{mf}^2) und die Restfehler (σ_e^2) sowie die geschätzte Heritabilität (H) über die Umwelten. Die Merkmale akkumulierte Pollenzahl (PC_{Eff}) und visuelle Antherenextrusion ($VAEX_{Eff}$) wurde für die relevanten Blühfenster berechnet. N_{flm} ist die Anzahl überlappender Blütentage.

Parameter	PH _D	HD _D	VAEX _{Eff}	PC _{Eff}	N _{flm}	GY _f	TGW _f	SeedSet
PIKO	5.6	0.0	15.3	483.1	8	3,930.2	45.8	8,319.0
HERMANN	3.1	0.7	17.8	335.4	8	3,185.1	47.8	6,424.6
DH lines min	-9.5	-1.7	12.9	233.6	6	2,268.3	45.3	4,624.4
DH lines mean	6.4	0.9	18.0	405.8	7.7	3,261.5	47.1	6,806.6
DH lines max	19.3	3.8	25.0	608.4	9	4,066.9	48.1	9,021.5
DH lines CV	122.2	109.2	10.9	19.3	8.1	10.3	1.2	11.5
σ_m^2	68.38***	0.91***	1.45***	3,805.79***	-	134,851.85***	0.40***	729,122.00***
σ_{mf}^2	1.56×10^{-6}	4.91×10^{-8}	1.76×10^{-6}	1.36×10^{-3}	-	0.03	5.40×10^{-7}	0.15
σ_e^2	15.44	0.48	17.37	13,455.74	-	318,733.11	5.34	1,435,048.58
H	0.96	0.84	0.28	0.57	-	0.71	0.30	0.74

* , ** , *** Signifikant von Null verschieden mit P-Werten < 0.05 , 0.01 , and 0.001 .

Tabelle 3. Prozentuale erklärte Variation auf SeedSet (partielles R^2) der geschätzten Haupteffekte des Blühbeginns (FT_{begin}), der Blühdauer (FT_{dur}), der Pollenzahl (PC_{sum}), des Kornertrags (GY_m) und der Pflanzenlänge (PH_m) der Vaterlinien und ihrer signifikanten Interaktionen.

Source of variation	Estimate	Sum of squares	R^2 (%)
FT_{begin}	881.19 ($g\ g^{-1}\ m^{-2}$) / day	24,076,325.84	44.74***
FT_{dur}	1,053.87 ($g\ g^{-1}\ m^{-2}$) / day	3,104,691.87	5.77**
PC_{sum}	0.36 ($g\ g^{-1}\ m^{-2}$) / count	657,617.90	1.22
GY_m	-2.25 ($g\ g^{-1}\ m^{-2}$) / $kg\ ha^{-1}$	4,497.30	0.01
PH_m	-110.43 ($g\ g^{-1}\ m^{-2}$) / cm	1,075,094.94	2.00
$GY_m \times PH_m$	0.02 ($g\ g^{-1}\ m^{-2}$) / ($kg\ ha^{-1}\ cm$)	285,285.28	0.53

Als nächstes wurden die Auswirkungen der Merkmale der Vaterlinien auf das SeedSet mittels Modellselektion untersucht. Es ist bemerkenswert, dass ein verzögerter FT_{begin} einen signifikanten Zusammenhang mit einem erhöhten SeedSet aufweist, der 44,74 % der Variation ausmacht (p-Wert < 0,001, Tabelle 3). In diesem Zusammenhang erwies sich auch FT_{dur} als entscheidender Faktor für die Maximierung des SeedSets mit einem positiven Effekt, der 5,77 % der Variation erklärte (p-Wert < 0,01). Das ausgewählte Modell zeigte, dass die ausgewählten Merkmale zusammen 54,27 % der phänotypischen Variation in SeedSet ausmachten. Insgesamt wurden 43 signifikante Marker-Merkmal-Assoziationen festgestellt. Bemerkenswert ist, dass ein einzelner Marker auf Chromosom 1B signifikant mit SeedSet assoziiert war (Abbildung 3). Das *Piko*-Allel des Markers *AX-158531952* brachte einen signifikanten Vorteil bei der Erhöhung von SeedSet. Die DHs, die dieses Allel trugen, hatten ein durchschnittliches SeedSet von $7138,2 \text{ g g}^{-1} \text{ m}^{-2}$, während die anderen DHs ein durchschnittliches SeedSet von $6418,4 \text{ g g}^{-1} \text{ m}^{-2}$ aufwiesen. *AX-544158531952* erklärt 21,3 % der beobachteten phänotypischen Variation und ist somit ein interessanter Marker für die Marker-gestützte Selektion.

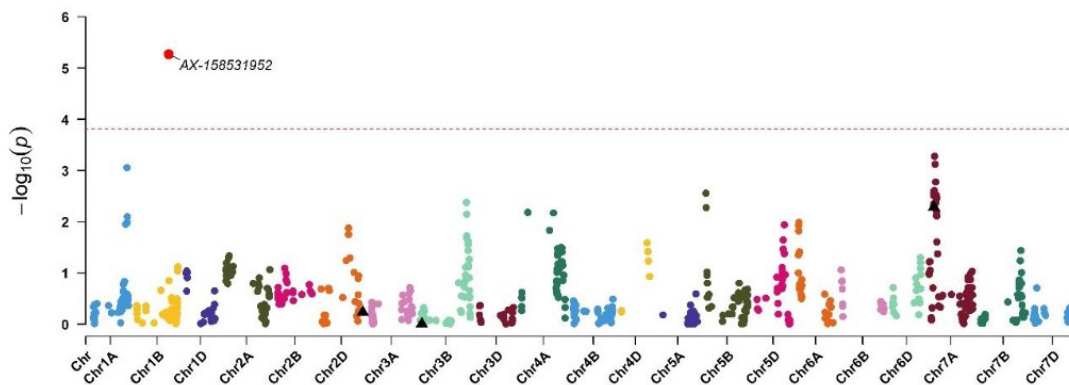


Abbildung 3. Manhattan-Diagramm für die SeedSet-QTL-Analyse ($\text{g g}^{-1} \text{ m}^{-2}$) in einer Population doppelhaploider Linien (DHs) aus der Kreuzung zwischen *Piko* und *Hermann*. Die DHs wurden als Vaterlinien für die Erzeugung von Hybridsaatgut verwendet.

Tabelle 4. Varianzkomponenten der Genotypen (σ_m^2) und Residualfehler (σ_e^2) sowie die über die Standorte (Umgebungen) geschätzte Heritabilität (H^2).

Serie	Merkmal	σ_m^2	σ_e^2	H^2
I	VAEX _{mean}	0.13	0.13	0.74
	VAEX _{max}	0.65	0.76	0.71
	VAEX _{sum}	103.16	123.85	0.71
	PC _{sum}	4061.74	4955.55	0.71
	PC _{mean}	26.70	42.66	0.65
	PHD	82.93	65.34	0.79
	HDD	2.66	7.15	0.52
II	VAEX _{mean}	0.97	0.77	0.72
	VAEX _{max}	8.15	7.55	0.68
	VAEX _{sum}	0.10	0.25	0.45
	PH _m	64.30	30.62	0.86

HD _m	2.72	1.47	0.84
Flow _{beg}	2.61	1.28	0.86
Flow _{end}	1.93	0.83	0.87
TKG _m	6.26	4.45	0.74
Yield _m	0.0001	0.0009	0.16

Die beiden Serien von Mehrlinienkreuzungen (Serie I und II; je 150 DHs) wurden jeweils an drei Orten in den Anbaujahren 2021/2022 und 2022/2023 auf den Saatgutertrag in der Hybridproduktion untersucht. Die Datenkuration erfolgte auf der Grundlage einer Sterilitätskontrolle. Daten von Mutterlinien mit mehr als 4 Körner und mit fehlender Blühsynchronisation wurden aussortiert. Die Datenanalyse ergab hohe Heritabilitäten für die meisten Merkmale gemessen an den männlichen Linien (Tabelle 4). Ein Modell, das die Interaktion zwischen ♀ und ♂ Merkmalen einschließt, wurde für die Merkmale angepasst, die auf den Mutterlinien erfasst wurden. Die Heritabilitäten (H^2) lagen bei nahezu Null (Tabelle 5). Diese Ergebnisse lassen sich durch sehr hohe Interaktionseffekte zwischen Genotypen und Umwelten erklären.

Tabelle 5. Varianzkomponenten der Vaterlinien (σ^2_m) der Interaktion zwischen Vater- und Mutterlinien (σ^2_{mxf}), des Residualfehler (σ^2_e) sowie die über die Standorte geschätzte Heritabilität (H^2).

Serie	Merkmal	σ^2_m	σ^2_{mxf}	σ^2_e	H^2
I	TKG _f	1.19	0.00	12.26	0.16
	Yield _f	0.00	0.00	8558.06	0.00
	SeedSet	0.62	0.62	6099821.2	0.00
II	TKG _f	0.00	0.00	9.64	0.00
	Yield _f	0.00	0.00	0.01	0.00
	SeedSet	0.44	0.44	4341564	0.00

Um die Feinheiten ihrer transkriptionellen Regulation und deren plausible Auswirkungen auf den Kornansatz bei Hybridweizen aufzudecken führten wir RNAseq-Analysen von sich entwickelnden Antheren und Ovarien bei Piko und Hermann in drei Stadien durch, nämlich i.) grüne Antheren (GA), ii.) gelbe Antheren (YA) und iii.) in Antheren nach der Dehiszenz (Tabelle 6).

Tabelle 6. Einzelheiten der Probenahme für die Transkriptom-Sequenzierung

Genotyp	Gewebe	Entwicklungsstadium
Piko	Antheren	Grüne Antheren (2 Wiederholungen), Gelbe Antheren (3 Wiederholungen) & Dehiszenz der Antheren (2 Wiederholungen)
	Ovarien	Grüne Antheren (2 Wiederholungen), Gelbe Antheren (3 Wiederholungen) & Dehiszenz der Antheren (2 Wiederholungen)
Hermann	Antheren	Grüne Antheren (1 Wiederholung), Gelbe Antheren (2 Wiederholungen) & Dehiszenz der Antheren (2 Wiederholungen)
	Ovarien	Grüne Antheren (1 Wiederholung), Gelbe Antheren (2 Wiederholungen) & Dehiszenz der Antheren (2 Wiederholungen)

Die RNAseq-Datenanalyse wurde mit dem Galaxy Europe Server (<https://usegalaxy.eu/>) durchgeführt. Zunächst wurde fastp zum Ausfiltern von Reads geringer Qualität (Phred-Score

≤15) und zum Trimmen von Adaptersequenzen verwendet (Chen et al., 2018). Dieser Schritt ist von entscheidender Bedeutung, um die Integrität des Datensatzes zu gewährleisten, indem unzuverlässige Messwerte eliminiert werden, die nachgelagerte Analysen beeinträchtigen könnten. Anschließend unterstützte das Tool Salmon Quant die Lesezählung und die Bestimmung der Transkripte pro Million (TPM) (Patro et al., 2017), wobei Chinese Spring 2.1 als Referenztranskriptom verwendet wurde. Darüber hinaus wurde DESeq2 verwendet, um differenziell exprimierte Gene mit den Kriterien: \log_2 fold change ≥ 1 , Benjamini-Hochberg FDR-bereinigte P-Werte $< 0,05$ (Love et al., 2014; Benjamini und Hochberg 1995) zu identifizieren. Schließlich wurden ShinyGO 0.80 (<http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>) und gProfiler (<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>) für die Analyse der Gen-Ontologie (GO) verwendet.

Hier stellen wir die Ergebnisse für die Transkriptome der Antheren von Piko und Hermann aus dem YA-Stadium vor. Es wurde festgestellt, dass Gene, die mit der „Energieproduktion“ in Verbindung stehen, wie ATP-Synthese und Zuckerstoffwechsel, in Piko signifikant hochreguliert wurden (Abbildung 4A). Dies deutet auf eine potenzielle Verbesserung der Energieresourcenallokation in Piko während dieser Entwicklungsphase hin. Umgekehrt wurden Gene, die mit der „Energienutzung“ in Verbindung gebracht werden, einschließlich solcher, die an der DNA-Replikation, Transkription und Translation beteiligt sind, in Piko im Vergleich zu Hermann stark herunterreguliert (Abbildung 4B). Diese Ergebnisse deuten auf eine deutliche Divergenz der Stoffwechselwege zwischen den beiden Sorten hin, was eine weitere Untersuchung darüber rechtfertigt, wie sich diese Unterschiede auf die Architektur der männlichen Merkmale im Hinblick auf den Kornansatz von Hybridweizen auswirken.

Im Fall der Ovarien bei YA stellten wir fest, dass Gene, die mit der Chromatinorganisation zusammenhängen, unterschiedlich exprimiert wurden (einige wurden hochreguliert, während andere herunterreguliert wurden) (Abbildung 5). Interessanterweise wird ein Gen, das für die Untereinheit des SDG-Histon-Methyltransferase-Komplexes (TraesCS5B02G128800) kodiert, nur in Hermann-Ovarien bei YA spezifisch exprimiert (Abbildung 5C). Zuvor hatten Untersuchungen zu Mutationen im *Arabidopsis* *SDG2* Gen die Entwicklung von Gametophyten beeinträchtigt (Berr et al., 2010). Dies wirft kritische Fragen hinsichtlich der Rolle dieses Gens bei der Entwicklung der Gametophyten von Weizen und seiner Bedeutung für die Produktion von Hybridkörnern auf und legt nahe, dass weitere Studien erforderlich sind, um seine funktionelle Bedeutung zu klären.

Insgesamt unterstreichen unsere Ergebnisse die Komplexität der Genexpressionsregulierung und heben Schlüsselwege hervor, die die Bildung von Hybridkörnern bei Weizen beeinflussen können. Die zukünftige weitere Erforschung dieser genetischen und metabolischen Pfade über verschiedene Entwicklungsstadien hinweg wird entscheidend sein, um unser Verständnis der Merkmalsarchitektur von geeigneten Vater- und Mutterlinien zu verbessern, insbesondere im Zusammenhang mit der Verbesserung der Produktionsstrategien für Hybridweizen.

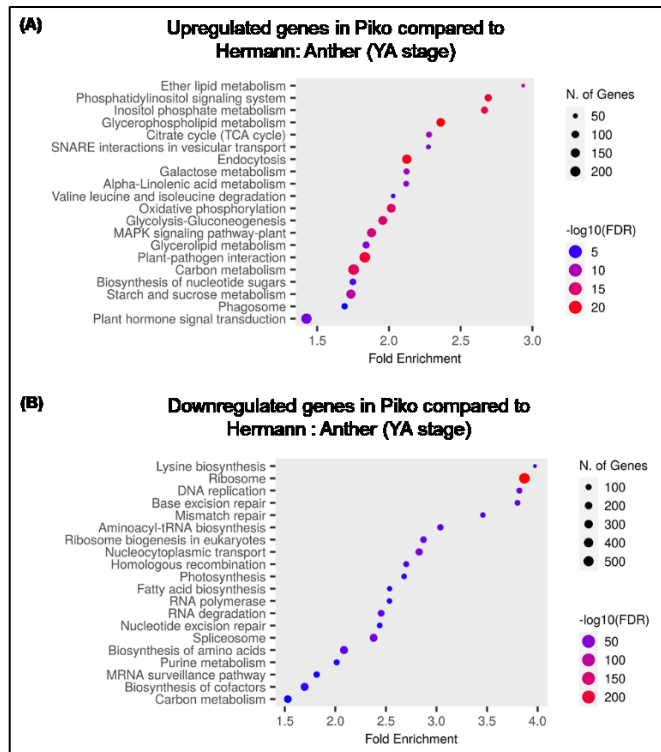


Abbildung 4. Transkriptom der Antheren: Gene Ontology (GO) Analyse von (A). hochregulierten und (B). herunterregulierten Genen in Piko im Vergleich zu Hermann bei YA (Antherentranskriptom).

(A) Upregulated genes in Piko compared to Hermann: Ovary (YA stage)

ID	Source	Term ID	Term Name	Padj (query_1)
1	GO:MF	GO:0043531	ADP binding	6.765×10^{-11}
2	GO:MF	GO:0030527	structural constituent of chromatin	2.583×10^{-6}
3	GO:MF	GO:0046982	protein heterodimerization activity	3.471×10^{-6}
4	GO:MF	GO:0001166	nucleotide binding	2.327×10^{-5}
5	GO:BP	GO:0006952	defense response	2.477×10^{-6}
6	GO:BP	GO:0071824	protein-DNA complex organization	2.901×10^{-4}
7	GO:CC	GO:0032993	protein-DNA complex	5.185×10^{-12}
8	GO:CC	GO:0009506	plasmodesma	2.543×10^{-2}
9	GO:CC	GO:0005773	vacuole	4.655×10^{-2}
10	GO:CC	GO:0031981	nuclear lumen	4.602×10^{-2}

(B) Downregulated genes in Piko compared to Hermann: Ovary (YA stage)

ID	Source	Term ID	Term Name	Padj (query_1)
1	GO:MF	GO:0046982	protein heterodimerization activity	7.600×10^{-3}
2	GO:MF	GO:0030527	structural constituent of chromatin	1.839×10^{-2}
3	GO:CC	GO:0005634	nucleus	1.586×10^{-3}
4	GO:CC	GO:0048188	Set1C/COMPASS complex	7.393×10^{-3}
5	GO:CC	GO:0000786	nucleosome	8.244×10^{-2}

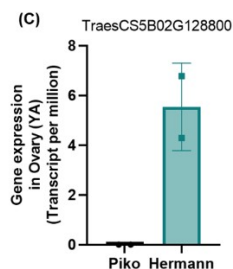


Abbildung 5. Transkriptome der Ovarien: Gene Ontology (GO) Analyse von (A). hochregulierten und (B). herunterregulierten Genen in Piko im Vergleich zu Hermann bei YA (Transkriptome der Ovarien). (C) TraesCS5B02G128800 kodiert für eine Untereinheit des SDG-Histon-Methyltransferase-Komplexes (SDG: SET-Domänengruppe), die nur im Transkriptom der Ovarien von Hermann YA exprimiert wird.

Phänotypische und molekulare Vorhersage der Rezeptivität.

Eine Population von 100 Elitelinien wurde auf ihre Rezeptivität als Mutterlinien in der Hybrid-saatgutproduktion getestet. Um eine ausreichende Pollenverfügbarkeit während der gesamten Blütezeit zu gewährleisten, wurde eine Saatgutmischung aus den Vaterlinien *Piko* und *KWS Ferrum* verwendet, die sich durch hervorragende Bestäubungseigenschaften auszeichnen und einen breiten Blühzeitraum abdecken. Die Linien wurden in Feldversuchen in Böhnshausen, Wohlde und Estrées-Saint-Denis getestet. Um unkontrollierte Auskreuzungen zu vermeiden und eine gezielte Fremdbestäubung zu gewährleisten, wurden ♂ und ♀ Parzellen nebeneinander in einem Kreuzungsblock ausgesät, der von isolierenden männlich sterilen Roggenpflanzen umgeben war. Die Mutterlinien wurden mit dem CHA Croisor® 100 behandelt und die Sterilität wurde wie für AP1 beschrieben kontrolliert. Die Rezeptivität wurde als das von jeder fremdbefruchtenden ♀ Parzelle geerntete Korngewicht quantifiziert. Darüber hinaus wurden während der Wachstumsperiode weitere Merkmale, die möglicherweise die Variation des Hybridsamenertrags beeinflussen, an der mit CHA behandelten Population erfasst wie das Datum des Ährenschiebens (HD), der Blühzeitpunkt (FT), Beginn der Blüte (FT_{begin}), Ende der Blüte (FT_{end}), Blühdauer (FT_{dur}) oder Pflanzenlänge (PH).

In den Experimenten war für die Rezeptivität die Varianzkomponente der Umwelt 4,6-mal größer als die der Genotypen (Tabelle 7). Dieser große Einfluss der Umwelt auf die Rezeptivität spiegelte sich auch in dem signifikanten mittleren Umweltunterschied ($\Delta = 384,53 \text{ g m}^{-2}$, P-Wert <0,001) zwischen Böhnshausen 2021 und Böhnshausen 2020 wider. Die Varianz der Genotypen war 1,8-mal größer als ihre Interaktion mit der Umwelt. Der starke genotypische Effekt wurde auch durch die hohe Heritabilität von $H^2 = 0,77$ belegt. Darüber hinaus spiegelte sich die quantitative Natur der Rezeptivität in der Verteilung der adjustierten Mittelwerte Werte wider, die über die Umgebungen hinweg geschätzt wurden.

Tabelle 7. Zusammenfassende Statistik der unterschiedlichen Merkmale inklusive Mindest-, Median-, Mittel- und Höchstwert, Varianzkomponenten von Umgebungen (σ^2_E), Genotypen (σ^2_G), deren Interaktionen ($\sigma^2_{G \times E}$) und Restfehler (σ^2_e) sowie die über Umgebungen geschätzte Heritabilität (H^2).

Parameter	Rezeptivität	Ertrag	HD	FT _{begin}	FT _{dur}	FT _{end}	PH
Min	300.57	737.21	142.62	148.01	3.55	156.07	66.21
Median	533.80	844.95	147.88	155.60	5.93	161.17	81.08
Mean	528.79	844.71	147.60	154.98	6.09	161.08	80.76
Max	746.17	930.56	151.20	161.01	11.06	166.04	93.76
σ^2_G	6153.08***	591.45***	3.04***	5.99***	0.43	1.68***	28.37***
σ^2_E	28560.90**	39443.8***	56.34*	8.47	2.45	2.02**	45.67***
$\sigma^2_{G \times E}$	3480.44***	1189.16**	0.11*	1.01**	0.42	0.67	14.61***
σ^2_e	5276.94	1564.57	1.67	1.73	1.75	1.43	6.45
H^2	0.77	0.47	0.90	0.83	0.32	0.65	0.85

Die möglich indirekten Merkmale Ertrag der unbehandelten Mutterlinie, HD , FT_{begin} , FT_{dur} , FT_{end} , und PH wurden parallel zur Rezeptivität ausgewertet. Die Heritabilität der Merkmale variierte zwischen 0,32 für die FT_{dur} und 0,90 für HD (Tabelle 7). Wir verwendeten die möglichen indirekten Merkmale, um ein Vorhersagemodell durch statistische Modellauswahl für die Rezeptivität zu entwickeln (Tabelle 8). Das ausgewählte Modell erklärte 29% der phänotypischen Variation der Rezeptivität. Unter den signifikanten Komponenten war die FT -Dauer mit 13,51 % erklärter Variation der Rezeptivität am bedeutsamsten. Darüber hinaus waren die Interaktionseffekte zwischen FT mit der FT_{Dauer} und mit HD signifikant und erklärten 5,75 % bzw. 8,2 % der Variation der Rezeptivität.

Tabelle 8. Prozentualer Anteil der erklärten Variation der Rezeptivität und Signifikanz der geschätzten Haupteffekte möglicher indirekten Merkmale.

Merkmal	Effekt	Quadratsumme	R^2 (%)	Signifikanz
FT_{dur}	$156.8 \text{ g m}^{-2} \text{ day}^{-1}$	115,860	13.51	***
FT_{begin}	$1038 \text{ g m}^{-2} \text{ day}^{-1}$	10,839	1.26	
HD	$1065 \text{ g m}^{-2} \text{ day}^{-1}$	3010	0.35	
$FT_{\text{dur}} \times FT_{\text{begin}}$	$-1.052 \text{ g m}^{-2} \text{ day}^{-2}$	49,317	5.75	**
$FT_{\text{begin}} \times HD$	$-6.933 \text{ g m}^{-2} \text{ day}^{-2}$	70,293	8.2	**
Residuals		608,121	70.92	

Die 100 diversen Mutterlinien wurden für 70000 genomweite SNP-Marker des Illumina Infinium Chip-Arrays genotypisiert. Nach der Qualitätskontrolle wurden 10194 hochwertige polymorphe Marker aus dem SNP-Array mit verfügbaren Positionen, die auf RefSeq V1.0 von Chinese Spring abgebildet sind, für die nachfolgende Analyse beibehalten. Zur Untersuchung der Populationsstruktur wurde eine Hauptkoordinatenanalyse durchgeführt (Abbildung 6). Die erste und zweite Koordinate erklärte 10,25 % bzw. 7,72 % der gesamten molekularen Variation, aber es wurden keine genetisch unterschiedlichen Subpopulationen beobachtet.

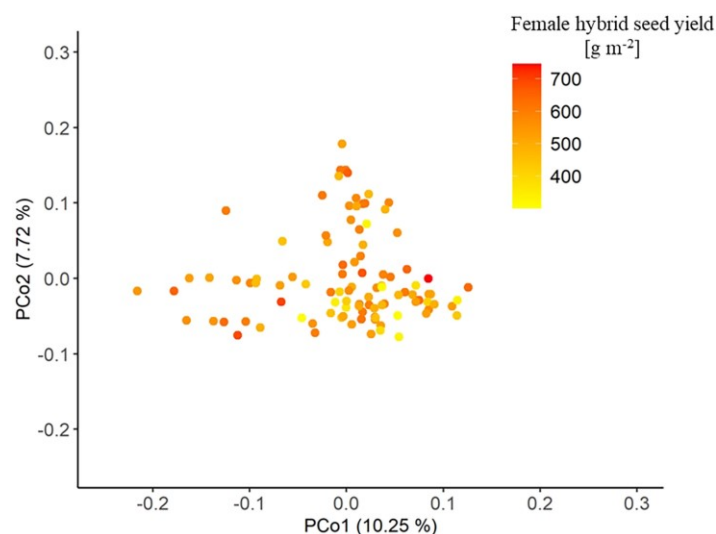


Abbildung 6. Hauptkoordinatenanalyse der 100 diversen Weizenlinien.

Ein linear gemischtes Modell wurde verwendet und die Verwandtschaftsmatrix zwischen den 100 Linien berücksichtigt, um für falsch positive Assoziationen in der Assoziationskartierung zu korrigieren. In der genomweiten Assoziationskartierung wurden jedoch keine signifikanten QTL ($P\text{-Wert} \geq 0,05$) für die beobachtete Variation der Rezeptivität gefunden (Abbildung 7). Im Gegensatz dazu wurden für PH und phänologische Merkmale einige signifikante QTL-Assoziationen in unserer untersuchten Population festgestellt. Für PH wurden zwei signifikante Marker im distalen Bereich des langen Arms von Chromosom 5A gefunden, die bis zu 23,26% der phänotypischen Variation erklären. Wir gehen davon aus, dass diese identifizierten Signale auf Chromosom 5A höchstwahrscheinlich dem Zwergwuchsgen *Rht9* entsprechen. Darüber hinaus wurden insgesamt sieben signifikante Marker-Merkmal-Assoziationen für Blühmerkmale auf Chromosomengruppe 2 Blühmerkmale kartiert. Diese signifikanten Marker erklärten bis zu 36,95% der Variation eines einzelnen Blühmerkmals und lagen in Regionen bereits bekannter Blühgene, wie z.B. *Ppd-1*. Da PH und Blühmerkmale in der Literatur als Merkmale mittlerer bis geringer Komplexität beschrieben werden, deuten ihre kontrastierenden Assoziationskartierungsergebnisse mit denen für die Rezeptivität auf eine komplexere quantitative genetische Architektur hin, die dem letzteren Merkmal zugrunde liegt.

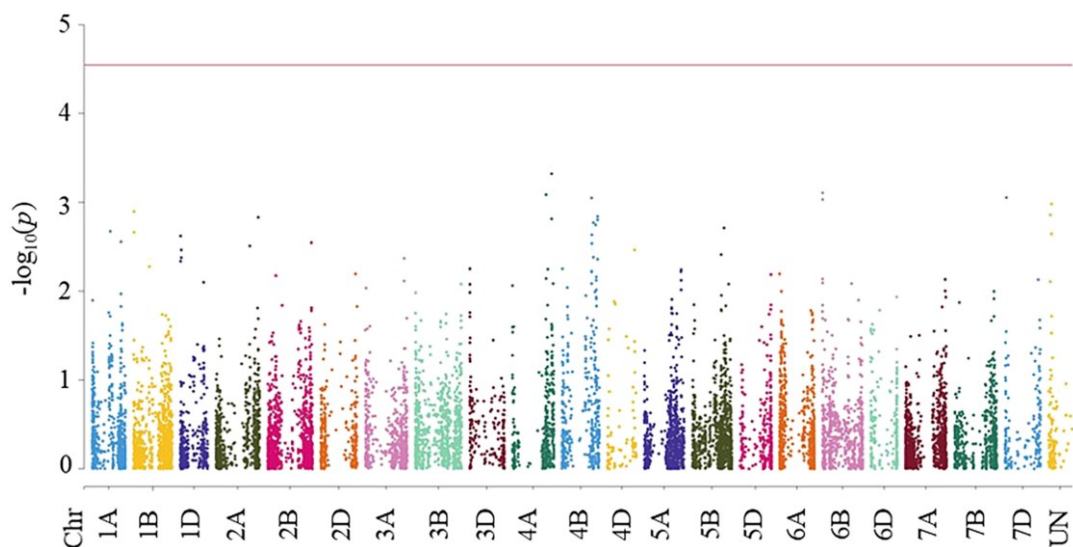


Abbildung 7. Manhattan-Plot einer genomweiten Assoziationsanalyse für die Rezeptivität in einer Population von 100 Weizenlinien.

Die reguläre Blüte/Selbstbestäubung bei Weizen findet nur innerhalb der Blüten statt, was im Allgemeinen der Zeitpunkt der Antheren-Dehiszenz ist (Vries, 1974; Pickett, 1993). Während der Dehiszenz der Antheren wird lebensfähiger Pollen freigesetzt und landet auf der Narbe zur Selbstbestäubung. Dann beginnt sich das Blüten zu öffnen und bleibt für eine kurze Zeit offen, während die Antheren in der Regel herausgedrückt werden. Das sichtbare Austreiben der Staubbeutel wird durch die Verlängerung der Staubfäden der Staubblätter begünstigt, während das Anschwellen der Lodicula Lemma und Palea auseinander drückt. Nach einigen Minuten kollabieren die Lodicula in der Regel, und das Blüten schließt sich wieder,

was bei Wildtypen oder unbehandelten Pflanzen als das Ende der „Blüte“ angesehen wird (Vries, 1974; Pickett, 1993). Die Kornentwicklung wird dann eingeleitet. Unter den Bedingungen der Hybridweizenproduktion mit CHAs oder CMS ist der Blühprozess in männlich-sterilen, Mutterlinien verändert und kann daher im Wesentlichen in zwei Phasen der Blütchenöffnung unterteilt werden. Die „erste Öffnung“ ähnelt der Phase des Öffnens der Blüte, die auf dem Anschwellen und dem Zusammenfallen der Lodicula beruht, wie wir sie bei normal fruchtbaren Weizenblütchen sehen. In den meisten Fällen ist die erste Öffnungsphase jedoch zu kurz, um ausreichende Möglichkeiten für eine Fremdbestäubung zu bieten. Wenn die Bestäubung während der ersten Phase fehlschlägt, wird in der Regel ein natürlicher, eingebauter Mechanismus zur Rettung der Blütchen ausgelöst, die so genannte „zweite Öffnung“, bei der das Ovarium anschwillt und sich vergrößert. Infolgedessen öffnen sich die Blütchen erneut; dieses Mal dauert die Öffnung jedoch einige Tage an und bietet mehrere Gelegenheiten zur Fremdbestäubung (Hoshikawa, 1960; Okada et al., 2018; Millan-Blanquez et al., 2022).

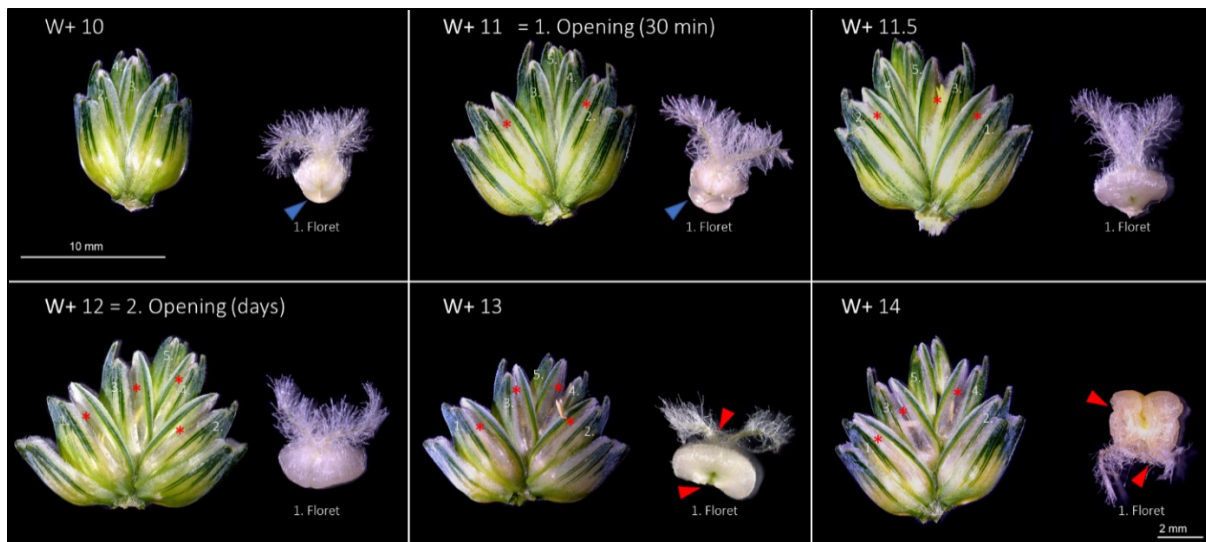


Abbildung 8. Erweiterte Waddington-Skala (W+) mit Präparaten von Ährchen und deren Ovarien aus den ersten Blütchen. W+ Skala in Ährchen und Ovarien: W+10 mit vollständig geschlossenen Blütchen. Ovarium mit weit gespreizter Narbe und nicht gequollenen Lodicula (mit blauem Pfeil gekennzeichnet); W+11 mit Öffnung des ersten Blütchens und des zweiten Blütchens (mit rotem Sternchen gekennzeichnet). Ovarium mit weit gespreizter Narbe und geschwollener Lodicula (mit blauem Pfeil gekennzeichnet); W+11.5 mit Öffnung der äußeren Blütchen und größerer Öffnung des dritten Blütchens (Beginn der „zweiten Öffnung“). Ovarium mit weit gespreizter Narbe, degenerierten Lodicula und Beginn des wachsenden Fruchtknotens; W+12 mit Blütchenöffnung in allen Blütchen ('zweite Öffnung'). Ovarium hat noch eine intakte Narbe und der Fruchtknoten ist stark vergrößert; W+13 mit Öffnung in allen Blütchen und der innere Blütenwinkel kann größer sein ('zweite Öffnung' Ende). Das Ovarium wird flach und erhält winzige Einkerbungen, die Narbe wird kleiner (mit roten Pfeilen gekennzeichnet); W+14 mit sich schließenden Blütchen und Farbwechsel von grün zu gelb. Das Ovarium schrumpft stärker; die Narbengröße ist stark degeneriert (mit roten Pfeilen gekennzeichnet).

Wir entwickelten eine erweiterte Waddington-Skala (W+), um die Dauer der „zweiten Öffnung“ zu verfolgen (Abbildung 8). Eine detaillierte phänotypische Charakterisierung ergab, dass Benchmark eine längere Dauer der „zweiten Öffnung“ aufwies als Partner (Abbildung 9A), was

schließlich zu einem höheren Kornansatz bei Benchmark führte, wenn die Sorte fremdbestäubt wurde (Abbildung 9B).

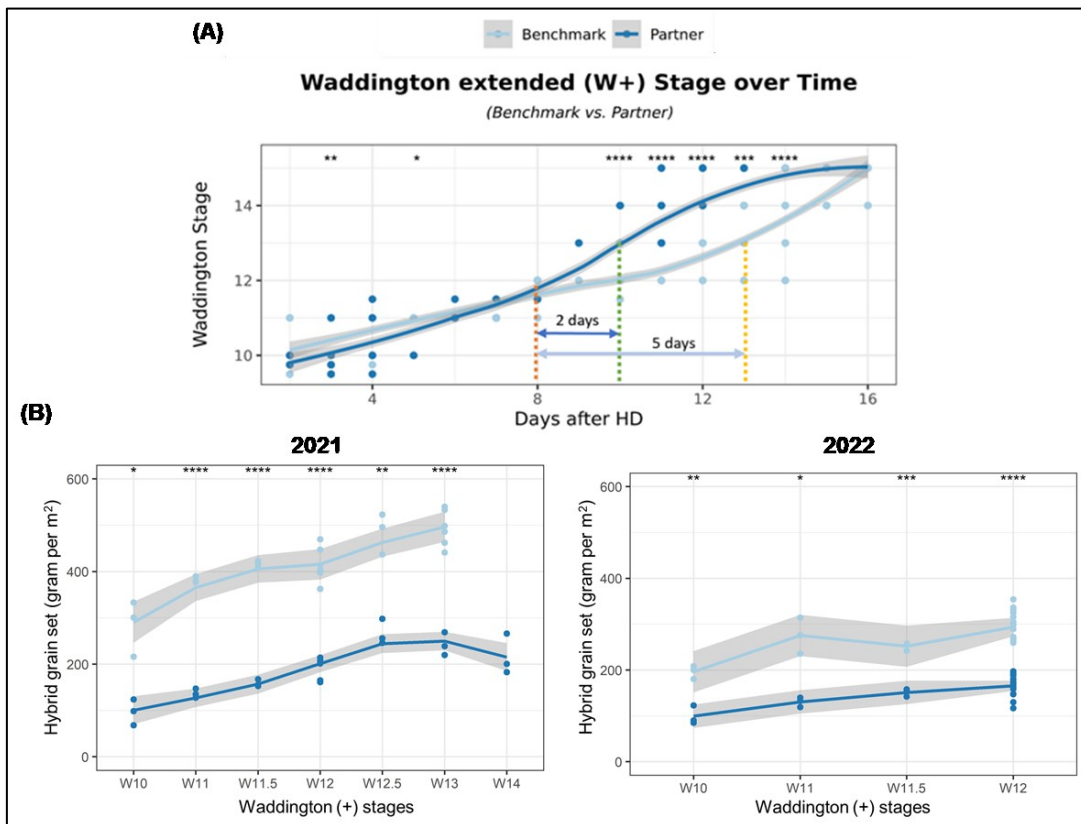


Abbildung 9. Leistung von Benchmark gegenüber Partner. (A) Längere „zweite Öffnung“ bei Benchmark im Vergleich zu Partner. Benchmark und Partner wurden im Gewächshaus angebaut, manuell emaskuliert und dann pro Tag nach dem Ährenschiebedatum phänotypisiert. W+ Stadien in Tagen nach dem Ährenschiebedatum (HD) für die Genotypen Benchmark und Partner unter Gewächshausbedingungen. Die kritische Phase vom Beginn der 'zweiten Öffnung' (W+11,5) bis zum Ende der 'zweiten Öffnung' (W+13) ist durch eine gestrichelte schwarze Linie gekennzeichnet. (B) Höherer Hybridkornansatz bei Benchmark-Pflanzen im Feldanbau im Vergleich zu Partner. *: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,01$; *: $p \leq 0,001$; ****: $p \leq 0,0001$.**

Neben einer längeren Dauer der zweiten Öffnung wies Benchmark auch einen größeren Ährchenöffnungswinkel auf (Abbildung 10). Es ist möglich, dass diese beiden Faktoren gemeinsam zu seinem höheren Hybridkornansatz beitragen. Um diesen Aspekt weiter zu untersuchen, haben wir den Ährenöffnungswinkel bei 88 DH-Linien (Benchmark \times Partner), die 2023 bei KWS in Wohlde angebaut wurden, phänotypisiert. Kurz gesagt, wurden für jede Linie drei Ährchen um den Zeitpunkt der zweiten Öffnung (W11,5 bis W12) gesammelt, woraufhin drei Ährchen aus der Mitte jedes Ährchens herausgeschnitten wurden. Die Bilder der Ährchen wurden mit einem Stereomikroskop (Stemi 2000-c, Carl Zeiss Micro-Imaging, GmbH, Deutschland) aufgenommen. Anschließend wurde mit der Zeiss axiovision Software der Öffnungswinkel der Ährchen gemessen. Wir fanden eine signifikante Variation des Öffnungswinkels, die von

39,21° bis 92,10° reichte (Abbildung 10C), was letztendlich die genetische Kartierung erleichtern könnte.

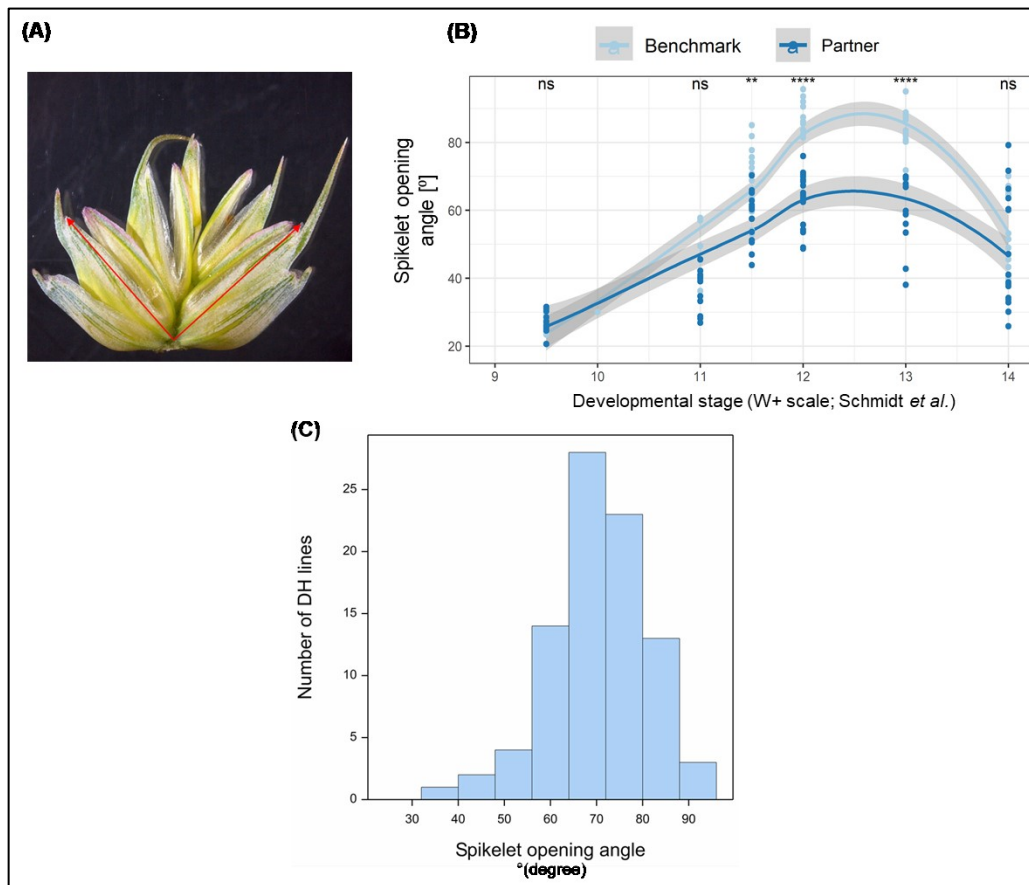


Abbildung 10. Ährchenöffnungswinkel während der „zweiten Öffnung“ und seine plausible Auswirkung auf den Hybridkornansatz. (A) Ein repräsentatives Bild, das die Messung des Ährchenöffnungswinkels zeigt. (B) Bemerkenswerterweise hatte Benchmark, der einen höheren Hybridkornansatz aufwies, einen größeren Ährchenöffnungswinkel während der „zweiten Öffnung“ als Partner. (C) Innerhalb der DH-Population (angebaut bei KWS, Wohlde im Jahr 2023) wurde eine beträchtliche Vielfalt für den Ährchenöffnungswinkel beobachtet, was auf einen Spielraum für die QTL-Kartierung schließen lässt.

In Anbetracht der Bedeutung der „zweiten Öffnung“ für den Kornansatz bei Weizenhybriden ist es von entscheidender Bedeutung, die genetischen Grundlagen dieses noch wenig erforschten Merkmals zu entschlüsseln. Um dies zu erreichen, entwickeln wir derzeit eine Bibliothek von Introgressionslinien (IL), d.h. ein Panel von Linien, die kleine Fragmente des 'Partner'-Genoms im 'Benchmark-Hintergrund' tragen. Die IL-Bibliothek soll bei der Feinkartierung von QTLs mit großen/kleinen Effekten helfen, kann aber auch unabhängig davon gescreent werden, um interessante Einblicke in die Genetik der Hybridleistung zu erhalten. Zunächst wurden Partner und Benchmark gekreuzt, um F₁-Pflanzen zu entwickeln, die wiederum mit Benchmark rückgekreuzt wurden, um schließlich eine BC₂-F₂-Population mit 72 Individuen zu entwickeln.

Chromosome	Position (bp)	Benchmark	Partner	NIL24_1_1	NIL24_1_10	NIL24_1_12	NIL3_1_15	NIL40_1_1	NIL40_1_2	NIL36_1_14	NIL36_1_17	NIL36_1_18	NIL88_1_4	NIL38_1_1	NIL78_1_4	NIL78_1_11	NIL3_1_5	NIL38_1_8	NIL3_1_9	NIL20_1_1	NIL20_1_2	NIL20_1_3	NIL65_2_2	NIL75_1_10	NIL38_1_10	NIL38_1_11	NIL38_2_1	NIL38_2_4	NIL38_3_1	NIL20_1_5	NIL83_1_18	NIL38_3_2	NIL44_1_2	NIL44_1_3	NIL44_1_4					
1A	462434828	A	B	H	H	H	H	H	H	H	H	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A		
1A	464793640	A	B	A	A	A	H	H	H	H	H	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	464810371	A	B	A	A	A	H	H	H	H	H	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	466609379	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	472168981	A	B	A	A	A	A	H	H	H	H	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	474197602	A	B	A	A	A	A	H	H	H	H	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	482966284	A	B	A	A	A	A	H	H	H	H	H	B	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	484328492	A	B	A	A	A	A	H	H	H	H	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	484328569	A	B	A	A	A	A	H	H	H	H	H	B	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	486339519	A	B	A	A	A	A	H	H	H	H	H	B	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	488069595	A	B	A	A	A	A	H	H	H	H	H	B	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	490414377	A	B	A	A	A	A	A	H	H	H	B	H	B	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	492623650	A	B	A	A	A	A	A	H	H	H	B	H	B	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	496304609	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	H	H	B	H	B	H	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	498401697	A	B	A	A	A	A	A	H	H	H	B	H	B	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	506992251	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	508641198	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	508725939	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	510284293	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	512872373	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	514138011	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	516373233	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	517102292	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	519816912	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	H	B	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	532918743	A	B	A	A	A	H	A	A	A	A	A	B	H	B	A	A	H	A	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	533141036	A	B	A	A	A	H	A	A	A	A	A	B	H	B	A	A	H	A	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	551904900	A	B	A	A	A	A	H	A	A	A	A	A	H	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	H	H	H	H	A	A	B	H	A	A	A	A	
1A	576638139	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	H	H	H	H	A	A	B	A	B	H	H	H	H	
1A	578015832	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1A	580432372	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1A	584072314	A	B	A	A	A	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	587360525	A	B	A	A	A	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	H	B	A	B	H	H	H	H	H		
1A	589630947	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
1A	591154381	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	H	H	H	A	A	A	A	A	A	H	B	A	B	H	H	H	H	H		
1A	593537061	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	H	H	H	A	A	A	A	A	A	H	B	A	B	H	H	H	H	H		

Abbildung 11. Benchmark-Partner-Introgressionsbibliothek. Ein repräsentatives Bild, das Partner-Introgressionen in Chr 1AL zeigt. Wir haben eine IL-Bibliothek aus 1028 Linien erstellt, die zusammen den Großteil des Benchmark-Genoms mit kleinen Fragmenten von Partner-Introgressionen sättigen. A: Benchmark-Allel; H: Heterozygot; B: Partner-Allel.

Darunter befanden sich etwa 28 Linien mit mehr als 80 % Benchmark-Genom, was dem erwarteten Segregationsverhältnis sehr nahekommt. Diese 28 Linien wurden separat mit Benchmark rückgekreuzt, um eine BC3F1-Population mit 1029 Linien zu entwickeln. Alle diese Linien wurden mit dem 7K-Array für Weizen (TraitGenetics, Deutschland) genotypisiert, um die Introgressionsmuster der Partner im Benchmark-Hintergrund zu verfolgen. Die genomweite Analyse zeigte, dass der Großteil des Benchmark-Genoms mit Partner-Introgressionen gesättigt war (repräsentative Ergebnisse des Chromosomenarms 1AL sind in Abbildung 11 dargestellt). Insgesamt haben alle diese 1029 ILs überwiegend Benchmark-Genom (>90% in 339 Linien, 80-90% in 596 Linien und 72,46-80% in 94 Linien) mit kleinen genomischen Fragmenten von Partner.

Wir haben jedoch auch insgesamt vier Stellen identifiziert, an denen Introgressionen von Partner fehlten (Abbildung 12). Es wurden zusätzliche Kreuzungen mit Partner durchgeführt, um Introgressionen in diesen Chromosomensegmenten zu erzeugen. Darüber hinaus wird die gesamte BC3F1-Population durch Selbstbefruchtung vermehrt (derzeit wird die BC₃-F₂-Population kultiviert), um eine IL-Bibliothek für die künftige Funktionsgenetikforschung zu entwickeln.

Chr 4A					Chr 6B				
Marker	Chromosome	Position	NILUP_1_10	NILUP_1_14	Marker	Chromosome	Position	NILUP_1_10	NILUP_1_14
AX-158524672	4A	594282643	A	A	BS00029434_51	6B	4518607	h	h
AX-89714548	4A	596508617	h	h	AX-158566602	6B	6298017	h	h
AX-94991765	4A	603066996	h	h	AX-158566677	6B	8042730	h	h
AX-94439386	4A	604102274	h	h	AX-158566565	6B	9179386	h	h
AX-158581587	4A	613699096	h	h	w SNP_CAP12_c1388_706924	6B	15133843	h	h
AX-94469815	4A	617289956	h	h	AX-158529465	6B	19541625	A	A
AX-158558374	4A	710743711	h	A	AX-158624659	6B	25806152	h	h
BS00039811_51	4A	713120013	-	A	AX-94387236	6B	28007322	A	A
AX-158581596	4A	718603894	A	A	AX-158539373	6B	30294979	A	A
w SNP_Ex_c10955_17794520	4A	742377586	h	A	AX-108908097	6B	33589972	A	A
w SNP_Ex_c8976_14964359	4A	742554496	h	A	AX-158543471	6B	36231715	A	A
					AX-158566608	6B	38878845	A	A
					AX-158624836	6B	41769028	A	A
					BS00110417_51	6B	44204482	A	A
					AX-158559487	6B	45776950	A	A
					AX-94523488	6B	51348002	A	A
					BS00074183_51	6B	54419447	A	A
					AX-109495285	6B	55647740	A	A

Chr 5D					Chr 6D				
Marker	Chromosome	Position	NILUP_1_10	NILUP_1_14	Marker	Chromosome	Position	NILUP_1_10	NILUP_1_14
AX-94916991	5D	3609888	A	A	AX-89430214	6D	451784312	A	A
BS00064714_51	5D	22859700	A	A	Excalibur_c63713_871	6D	456558608	A	A
AX-94583123	5D	121173395	A	A	AX-95070805	6D	463072954	A	A
AX-94892575	5D	338665336	A	A	Kukri_rep_c103186_134	6D	465208584	A	A
AX-94976637	5D	371270942	A	A	GENE-3965_551	6D	467092578	A	A

Abbildung 12. Fehlenden Introgressionen im Partner-Genom. Orange hervorgehobene Regionen zeigen die fehlenden Introgressionen von Partner an den entsprechenden Stellen. Zusätzliche Kreuzungen mit Partner werden dazu beitragen, Introgressionen in diesen Chromosomenabschnitten zu erzeugen. A: Benchmark-Allel; H: Heterozygot; B: Partner-Allel.

Genetische Komplementarität für Stresstoleranz.

Die DHs aus den Kreuzungen von AP1 und die damit erstellten Hybriden wurden in Feldversuchen für Ertrag und weitere Merkmale getestet. Die 3 Materialgruppen, DHs, DH × *Elter1* und DH × *Elter2*, entsprechen einem North Carolina III Design, das für die Heterosisforschung sehr geeignet ist. Die Ergebnisse der Untersuchung der Komplementarität sind im Folgenden exemplarisch für die Kreuzung zwischen den Linien *Piko* und *Hermann* dargestellt.

Nach einem Qualitätscheck und Kuratation wurden die Daten der Feldversuche der beiden Versuchsjahre mittels linear gemischter Modelle verrechnet. Die Schätzung der Varianzkomponenten wurde für jede der 3 Serien (DH, DH × *Hermann*, DH × *Piko*) durchgeführt (Tabelle 9). Die genetischen Varianzen waren bis auf eine einzige Ausnahme (Ährenschieben in der Serie DH × *Piko*) signifikant von Null verschieden. Die Heritabilitäten waren für die DHs sehr hoch und für die Serien der Hybriden moderat bis hoch. Die Ergebnisse untermauern die hohe Qualität der Feldversuche innerhalb von Arbeitspaket 3, zeigen aber auch die Notwendigkeit von mehrartigen Versuchen auf.

In einem nächsten Schritt wurden die phänotypischen Daten mit den genomischen Daten integriert. Für die Kodierung der genomischen Daten verwendeten wir die F_2 -Metrik, die eine orthogonale Zerlegung der einzelnen genetischen Effekte erlaubt. Hierbei ist der Erwartungswert des QTL-Scans für den Kontrast $Z_2 = H_1$ (Serie der Hybriden mit Elter 1) - H_2 (Serie der Hybriden mit Elter 2) von großem Interesse, da dieser den heterotischen Effekt eines QTL abbildet. Die Erwartungswerte der heterotischen Effekte entsprechen dem Beitrag eines QTL

zur Heterosis über den Dominanzeffekt und die kumulativen additiven \times additiven epistatischen Interaktionseffekte des QTL mit dem genetischen Hintergrund. Im QTL-Scan konnten wir einen signifikanten Beitrag des Rht-B1 Locus detektieren (Abbildung 13). In weiterführenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass der Beitrag des Rht-B1 Locus hauptsächlich von seinen epistatischen Interaktionen abhängt und weniger vom Dominanzeffekt

Tabelle 9. Schätzung der Varianzkomponenten (G = Genotyp; E = Umwelt, e = Residuen) und der Heritabilitäten des mehrortigen Feldversuchs für DHs der Kreuzung Piko \times Hermann (DH), und ihren Kreuzungen mit den beiden Elternlinien.

Quelle der Variation	Ährenschieben	Pflanzenlänge	Kornertrag
DH			
σ_G^2	1.15***	30.20***	0.06***
$\sigma_{G \times E}^2$	0.26***	3.33***	0.08***
Heritabilität	0.85	0.96	0.69
DH \times Hermann			
σ_G^2	0.21***	8.63***	0.01**
$\sigma_{G \times E}^2$	0.23***	1.65***	0.04***
Heritabilität	0.53	0.88	0.38
DH \times Piko			
σ_G^2	0.04	2.94***	0.01**
$\sigma_{G \times E}^2$	0.00	1.56***	0.03***
Heritabilität	0.23	0.73	0.39
σ_E^2	25.15***	77.95***	2.24***
σ_e^2	1.04	10.21	0.10

*, **, *** Schätzwerte sind mit $P < 0,05$, $P < 0,01$, und $P < 0,001$ von Null verschieden.

Für die QTL-Analyse der DHs der 10 Kreuzungen (Serie I und II AP1) und ihrer Hybriden wurde die F_∞ -Metrik verwendet. Für die Population der 300 DHs und ihrer 600 Hybriden wurden in einem ersten Schritt die Heterosiswerte geschätzt. In einem zweiten Schritt prüften wir auf das Vorhandensein von heterotischen QTLs unter Berücksichtigung von Dominanzeffekten und paarweisen epistatischen Interaktionseffekten.

In Abbildung 14 sind die Ergebnisse beispielhaft für die Resistenz gegen Gelbrost dargestellt. Interessanterweise gibt es für die meisten heterotischen QTLs einen korrespondierenden QTL mit signifikantem Dominanzeffekt. Somit ist eine Selektion auf Komplementarität mit diagnostischen Markern möglich.

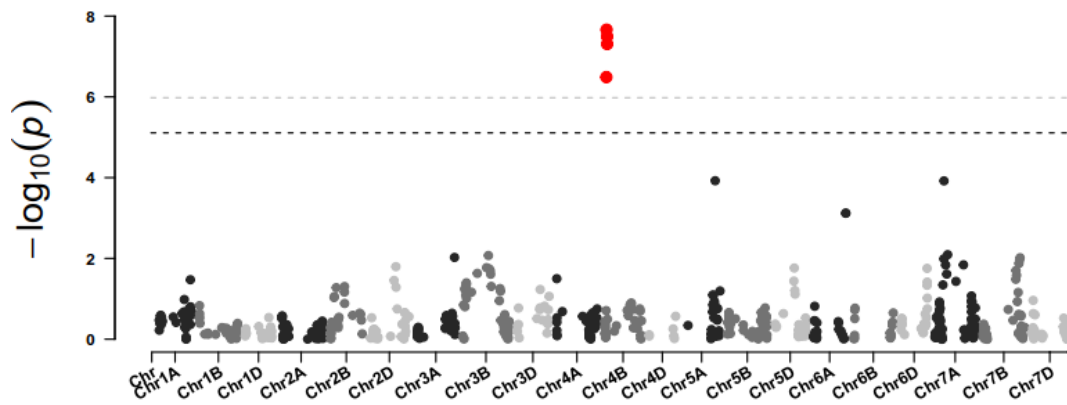


Abbildung 13: QTL-Scan für den Kontrast Z_2 in der Triple-Testcross-Population der Kreuzung Piko \times Hermann für Kornertag.

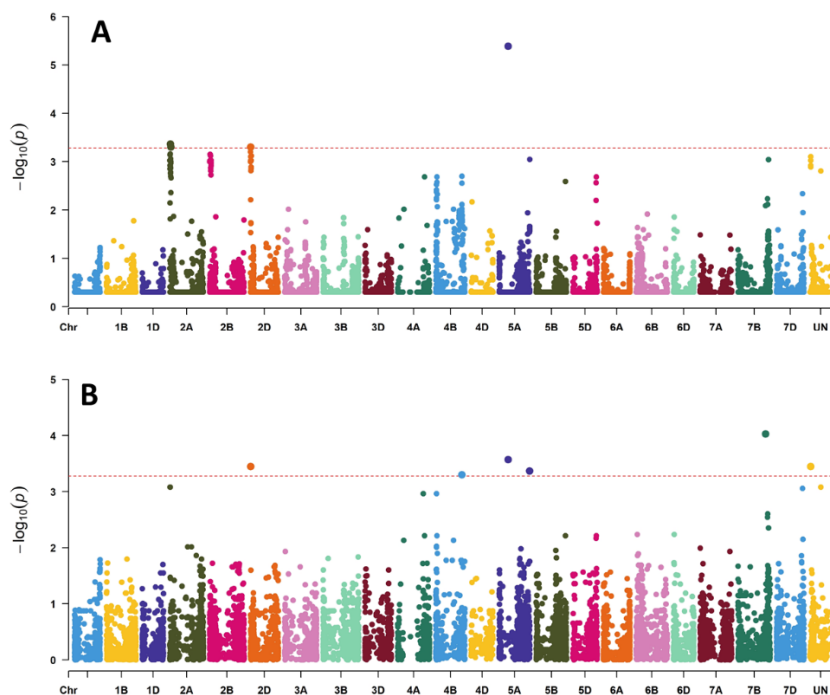


Abbildung 14: Scan für heterotische QTL (A) und für Dominanzeffekte (B) in Serie I für Resistenz gegenüber Gelbrost.

Reziproke rekurrente genomische Selektion.

Im HYWHEAT- und ZUCHTWERT-Projekt wurde ein reziprokes rekurrentes genomische Selektionsprogramm umgesetzt. Hierbei wurden 20 Mutterlinien mit den höchsten generellen Kombinationseignungen ausgewählt, gekreuzt, über mehrere Zyklen genomisch selektiert, genetisch fixiert und wiederum genomisch selektiert. Die Hybriden des C_0 - (30 F1 aus den Kreuzungen von: 3 ♂-Linien \times 20 ♀-Linien), C_1 - (155 F1 aus den Kreuzungen von: 3 ♂-Linien \times 71 ♀-Linien), C_2 - (130 F1 aus den Kreuzungen von: 3 ♂-Linien \times 50 ♀-Linien) und C_3 -Zyklus (130 F1 aus den Kreuzungen von: 3 ♂-Linien \times 50 ♀-Linien) wurden in HYFLOR an 6 Umwelten für Kornertag sowie weitere Merkmale wie Krankheitsresistenzen evaluiert. Im Rahmen der Auswertung wurden die phänotypischen Daten auf Qualität geprüft und kuratiert. Die Wiederholbarkeiten waren für das Zielmerkmal Kornertag moderat bis hoch. Im nächsten Schritt wurde

ein linear gemischtes Modell für die Varianzanalyse und die Schätzung der genotypischen Werte der unterschiedlichen Prüfglieder verwendet. Die genotypischen Varianzen waren sowohl für die Hybride als auch Linien signifikant unterschiedlich von null ($P < 0.01$, Tabelle 10).

Tabelle 10. Schätzung der Varianzkomponenten (G = Genotyp; GCA = Allgemeine Kombinationseignung; SCA = Spezifischen Kombinationseignung; E = Umwelt) und der Heritabilitäten (h^2).

Varianzkomponente	Ertrag
<i>Linien</i>	
σ^2_G	0,14***
$\sigma^2_{G \times E}$	0,10***
h^2	0,82
<i>Hybriden</i>	
σ^2_{GCA}	0,04***
σ^2_{SCA}	0,01***
$\sigma^2_{GCA_M \times E}$	0,05***
$\sigma^2_{GCA_F \times E}$	0,03***
$\sigma^2_{SCA \times E}$	0,01*
σ^2_e	0,08
h^2	0,59

Als nächster Schritt wurden die Felddaten mit den Ertragsdaten, auf denen die Kalibrationen der genomweiten Vorhersagemodelle beruhen, kombiniert. Die adjustierten Mittelwerte der Einzelortwerte wurden mit einem linear gemischten Modell verrechnet und die Interaktionseffekte der allgemeinen Kombinationsfähigkeiten der Linien des C_0 -Zyklus mit den Einzelumwelten geschätzt. Die Matrix der Interaktionseffekte bildete nun die Grundlage für eine Cluster- und Hauptkomponentenanalyse (Abbildung 15). In beiden Analysen werden die breite Diversität der Umwelten und ein starker Einfluss der Jahre auf die Interaktionseffekte der allgemeinen Kombinationsfähigkeiten mit den Einzelumwelten deutlich.

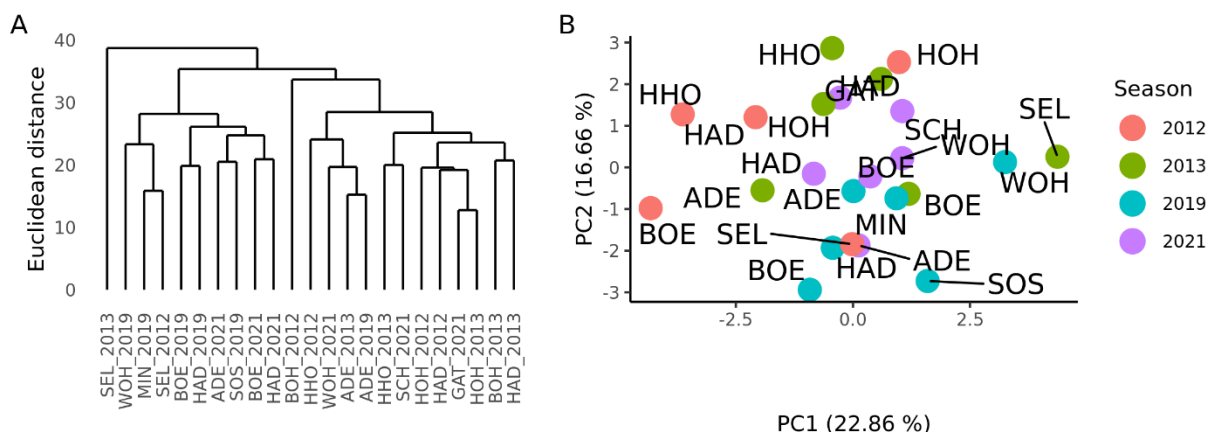


Abbildung 15: Cluster- (A) und Hauptkomponentenanalyse (B) basierend auf den Interaktionseffekten zwischen den allgemeinen Kombinationsfähigkeiten der Ursprungslinien des C_0 -Zyklus mit den Einzelumwelten.

Betrachtet man nun den Mittelwert der 4 Selektionszyklen, so zeigt sich, dass der Mittelwert der Population weitgehend konstant bleibt (Abbildung 16). Eine der Erklärungen dafür sind ausgeprägte Wechselwirkungen der allgemeinen Kombinationseignungseffekte mit den Jahren. Interessanterweise erhöht sich aber das 3. Quartil deutlich von C₀ zu C₁ und C₂ und fällt dann leicht zu C₃ ab, mit einem Wert, der allerdings immer noch erhöht ist im Vergleich zu C₀. Da eines der Ziele der Pflanzenzüchtung darin besteht, überlegene Genotypen zu identifizieren, kann dies als Erfolgskriterium interpretiert werden.

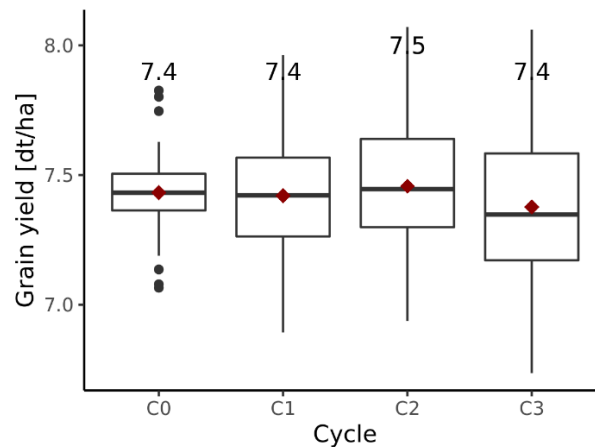


Abbildung 16. Ertragsleistung der Hybriden des C₀- (3 ♂-Linien × 20 ♀-Linien), C₁-(3 ♂-Linien × 71 ♀-Linien), C₂- (3 ♂-Linien × 50 ♀-Linien) und C₃-Zyklus (3 ♂-Linien × 50 ♀-Linien).

2. Wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Beschreibung	Plan in EUR	Aufwand in EUR
0812 Wissenschaftler	610,593.70	613,092.07
0817 Angestellte	231,587.00	248,744.79
0822 Beschäftigungsentgelte	64,094.78	28,401.66
0835 Verbrauchsmaterial	75,428.74	79,118.56
0843 Dienstreisen	103,214.12	105,557.48
0846 Investitionen mehr als 400 €	20,692.46	7,009.00
0861 Summe	1,105,610.80	1,081,923.56

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die Hybridweizenzüchtung birgt ein enormes Potenzial, um den Herausforderungen einer nachhaltigen Ertragssteigerung im Zeichen des Klimawandels zu begegnen. Die Etablierung der Hybridweizenzüchtung ist jedoch eine Herausforderung und ohne die Unterstützung des BMEL/BLE nur schwer zu realisieren. Im Projekt HYFLOR wurden an den Grundlagen für eine kostengünstige Produktion von Hybridweizen geforscht und Methoden zur wissenschaftlichen Erhöhung der Komplementarität zwischen Elternlinien untersucht. Bei vielen Versuchen und Analyseansätzen wurde Neuland betreten. Die bisherigen Publikationen belegen die Angemessenheit der geleisteten Arbeit.

4. Voraussichtlichen Nutzen im Sinne des Verwertungsplans

Im Projekt HYFLOR wurden Nachwuchswissenschaftlerinnen und Nachwuchswissenschaftler auf dem Gebiet der Züchtung ausgebildet, die nun ihre Expertise in Unternehmen einbringen. Die im Projekt HYFLOR bearbeiteten Fragestellungen haben bereits zu wissenschaftlichen Veröffentlichungen in renommierten referierten Fachzeitschriften geführt. Weitere Manuskripte wurden auf Basis der einzigartigen Versuchsdesigns erstellt. Diese werden entweder in Kürze eingereicht oder befinden sich bereits in der Begutachtung. Durch die umfangreiche Förderung konnten die beteiligten Gruppen ihre wissenschaftliche und wirtschaftliche Spitzenstellung auf dem Gebiet der Hybridweizenzüchtung weiter ausbauen. So konnten die wissenschaftlichen Partner ein weiteres Projekt der Deutschen Forschungsgemeinschaft in diesem Bereich erfolgreich einwerben. Der Wissenstransfer zu den indirekten Merkmalen Bestäubungsleistung und Rezeptivität wurde durch die enge Zusammenarbeit zwischen den Partnern aus Wissenschaft und Wirtschaft erfolgreich umgesetzt.

5. Bekanntgewordener Fortschritt bei anderen Stellen

Das HYFLOR-Konsortium arbeitete an vorderster Front der Hybridweizenforschung und konnte daher nur begrenzt auf relevante Fortschritte anderer Stellen zurückgreifen. Die Arbeiten an einem alternativen Hybridmechanismus, einem genetischen Sterilitätsmechanismus in Verbindung mit einer Farbsortierung der Körner, stellen einen interessanten Fortschritt dar, um die Hybridweizenzüchtung großflächiger umzusetzen.

6. Veröffentlichungen der Ergebnisse

Bereits publiziert:

- Kumar, D. 2022. Physiological and quantitative genetic analysis of wheat pollen viability and pollen number. Masterarbeit CIHEAM Mediterranean Agronomic Institute of Zaragoza (IAMZ), Spain.
- Rembe, M., J.C. Reif, E. Ebmeyer, P. Thorwarth, V. Korzun, J. Schacht, P.H.G. Boeven, E. Kazman, N. Philipp, S. Kollers, N. Pfeiffer, C.F.H. Longin, N. Hartwig, M. Gils, and Y. Zhao. 2021. Reciprocal recurrent genomic selection is impacted by genotype-by-environment interactions. *Front. Plant Science* <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.703419>.
- Schmidt, C., V. Hinterberger, N. Philipp, J.C. Reif, and T. Schnurbusch. 2024., Hybrid grain production in wheat benefits from synchronized flowering and high female flower receptivity, *Journal of Experimental Botany* *erae430*, <https://doi.org/10.1093/jxb/erae430>
- Schneider, J. 2020. Die Eignung von Elitelinien für die Hybridsaatgutproduktion und als Tester in Kreuzungen mit pflanzengenetischen Ressourcen. Masterarbeit an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Schneider, J., V. Hinterberger, M. Spiller, T. Moittié, M. Gils, M. Wolf, J.C. Reif, and A.W. Schulthess. 2024. First insights into the quantitative genetic composition of the female seed yield for an efficient hybrid seed production in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breeding* <https://doi.org/10.1111/pbr.13160>.
- Wäsch, C. 2022. Impact of male floral traits on seed set in hybrid wheat production. Masterarbeit an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Warnecke, G. 2020. Auswahl von doppelten haploiden Linien aus der Kreuzung Piko mal Hermann für weitere Studien zur Identifizierung exzellenter Bestäubungslinien in der Hybridzüchtung. Masterarbeit an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

Im Begutachtungsprozess:

- Zapata, S.L., A.W. Schulthess, S. El Hanafi, R.H. Schmidt, V. Hinterberger, G. Li, P.H.G. Boeven, J. Chu, M. Gils, Y. Jiang, N. Philipp, V. Pierrick, M. Spiller, J.C. Reif. Disentangling the genetic architecture of key traits for wheat hybrid seed production. *Journal of Experimental Botany*. In review.

III. Erfolgskontrollbericht

1. Wissenschaftlich-technische Ergebnis des Vorhabens, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen

Aufbau eines Referenzdatensatzes für die Bestäubungseignung in Weizen. Im HYFLOR Projekt wurden für doppelthaploide Linien aus unterschiedlichen Kreuzungen ein Referenzdatensatz für die Bestäubungseignung aufgebaut. Dazu wurden die DH Linien in Kreuzungsblöcken an kontrastierenden Umwelten auf ihre Bestäubungseignung getestet. Für die Sterilisation der Mutterlinien wurden dabei zwei unterschiedliche CHA eingesetzt. Die Ergebnisse der Feldversuche zeigen deutlich, dass die Bestäubungseignung bei Weizen ein komplexes, stark umweltabhängiges Merkmal ist. Daher war der umfassende gemeinschaftliche Ansatz über Züchtungsunternehmen und wissenschaftliche Partner so relevant. Ein praktisch relevantes Nebenereignis war die sehr gute Eignung von wüchsigen CMS-Getreiden für die Isolation zwischen unterschiedlichen Vaterlinien.

Vorhersagemodell für die Bestäubungseignung. Mit den indirekten Merkmalen, die wir in den Versuchen zur Bestäubungseignung erhoben haben, haben wir ein phänotypisches Vorhersagemodell entwickelt. Dabei spielen Parameter wie Blühbeginn und Blühende, Pflanzlänge, aber auch die Pollenzahl eine Rolle. In den QTL-Analysen konnten wir Marker mit diagnostischem Wert für die Bestäubungseignung finden. Diese können nach Validierung in Hybridzuchtprogramme integriert werden.

Transkriptome der sich entwickelnden Antheren und Ovarien. Die Analyse des Transkriptoms der Antheren und Ovarien von Piko und Hermann ergab, dass Gene, die mit der „Energieproduktion“ zusammenhängen, wie ATP-Synthese und Zuckerstoffwechsel, bei Piko deutlich hochreguliert waren, während Gene, die mit der „Energienutzung“ zusammenhängen, wie DNA-Replikation, Transkription und Translation, bei Piko im Vergleich zu Hermann stark herunterreguliert waren. Wir spekulieren, dass eine solche Transkriptom-Umprogrammierung dazu führen könnte, dass die Piko-Antheren relativ mehr austreiben als die Hermann-Antheren, was zum Erfolg von Piko als besserem männlichen Elternteil für die Hybridweizenproduktion beiträgt. Was das Transkriptom der Ovarien betrifft, so wird ein Gen, das für die Untereinheit des SDG-Histon-Methyltransferase-Komplexes (TraesCS5B02G128800) kodiert, nur im Hermann-Ovarium spezifisch exprimiert. In der Vergangenheit zeigten Mutationen in Arabidopsis SDG2 eine gestörte Entwicklung der Gametophyten (Berr et al., 2010). Seine Rolle bei der Entwicklung der Gametophyten von Weizen und seine Bedeutung für die Hybridkornproduktion müssen jedoch noch weiter untersucht werden.

Indirekte Merkmale zur Erforschung der Rezeptivität. Wir fanden heraus, dass die Synchronisierung der Blüte in Kombination mit einer möglichst langen zeitlichen Überlappung den größten positiven Effekt auf die Hybridkornproduktion hatte. Um die Rezeptivität besser beurteilen

zu können, haben wir eine neue Phänotypisierungsskala für männlich-sterile Weizenblüten entwickelt, die die floralen Grundlagen für eine effektive Fremdbestäubung liefert. Die Anwendung dieser Skala in unseren Feld- und Gewächshausversuchen zeigte, dass die leistungsfähigeren Mutterlinien länger in der pollenempfänglichen Phase blieben. Eine detaillierte phänotypische Charakterisierung ergab, dass Benchmark eine längere Dauer der zweiten Öffnung aufwies als Partner, was bei der Fremdbestäubung zu einem höheren Kornansatz bei Benchmark führte. Erwartungsgemäß wurde innerhalb der Benchmark × Partner DH-Population eine signifikante Diversität für den Ährchenöffnungswinkel beobachtet, was auf die Eignung dieses Merkmals für eine QTL-Kartierung weist. Darüber hinaus haben wir eine Introgressionsbibliothek 'Benchmark-Partner' entwickelt, die aus einer Reihe von Linien mit kleinen Fragmenten von Partner-Introgressionen im Benchmark-Hintergrund besteht. Diese Ressource hat das Potenzial, in Zukunft funktionelle genetische Analysen zu erleichtern.

Aufbau eines Referenzdatensatzes für die Rezeptivität in Weizen. Im Projekt HYFLOR wurde ein Referenzdatensatz für die Rezeptivität von 100 diversen Linien aus verschiedenen Kreuzungen erstellt. Dazu wurden die Linien in Kreuzungsblöcken in kontrastierenden Umwelten auf ihre Rezeptivität getestet. Für die Sterilisation der Linien wurden wiederum CHA verwendet. Als Vaterlinien wurden zwei Sorten mit hoher Bestäubungsleistung und breitem Blühfenster verwendet. Die Ergebnisse der Feldversuche zeigen deutlich, dass die Rezeptivität wie die Bestäubungseignung bei Weizen ein komplexes, stark umweltabhängiges Merkmal ist. Um eine möglichst breite Aussagekraft zu erhalten, haben wir einen Subdatensatz an Linien im sterilen CMS-Hintergrund auf seine Rezeptivität getestet.

Vorhersagemodell für die Rezeptivität. Mit den indirekten Merkmalen, die wir in den Versuchen zur Rezeptivität erhoben haben, entwickelten wir ein phänotypisches Vorhersagemodell (siehe Teil II). In den QTL-Analysen der Kreuzung Benchmark × Partner konnten wir Marker mit diagnostischem Wert für die Rezeptivität finden. Diese Informationen sollen im Folgenden in Hybridzuchtprogramme der Züchtungsunternehmen integriert werden.

Quantitativ-genetischer Rahmen für die Zerlegung der genetischen Architektur von Heterosis in Mehrlinienkreuzungen. Die implementierte Zerlegung der genetischen Architektur der Heterosis in Mehrlinienkreuzungen basiert auf der sogenannten F_{∞} Metrik und berücksichtigt neben den Dominanzeffekten auch die Hälfte der kumulativen digenischen epistatischen Interaktionseffekte des jeweiligen QTLs mit allen anderen Markern. Die Kartierung der heterotischen QTL basiert nicht auf der Analyse der einzelnen Komponenten, sondern fußt auf einem direkten Test des heterotischen Effekts eines QTL.

Kartierung heterotischer QTL. Wir haben den oben beschriebenen quantitativ-genetischen Rahmen verwendet, um heterotische QTL bei Weizen zu identifizieren. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Ertragsheterosis bei Weizen hauptsächlich durch epistatische Interaktionen

und nicht von Dominanzeffekten verursacht wird. Dies gilt sowohl für die untersuchte biparentale Kreuzung Piko × Hermann als auch für die verwendeten Mehrlinienkreuzungen. Die systematische Nutzung epistatischer Interaktionseffekte ist schwieriger als die von Dominanzeffekten.

Potenzial der rekurrenten genomischen Selektion. Die routinemäßige Anwendung der rekurrenten genomischen Selektion hat das Potenzial, die Hybridzüchtung bei Selbstbefruchtern zu revolutionieren. Die genomische Selektion in HYFLOR basiert auf Vorhersagemodellen, die für eine Trainingspopulation entwickelt wurden, die in den Jahren 2012 und 2013 in umfangreichen Feldversuchen getestet wurde. Die Ergebnisse der genomischen Selektion zeigen deutlich das Potenzial, aber auch die Herausforderungen. Die genomische Selektion anhand historischer Daten basiert auf der Annahme, dass die Varianz der Interaktionseffekte zwischen Genotyp und Umwelt ungerichtet ist. In unseren Versuchen beobachteten wir Interaktionseffekte, die eine gerichtete Veränderung der Umwelten nahelegt. Diese gesammelten Erfahrungen sind auch für die Linienzüchtung von großer Bedeutung und weisen auf die möglichen Vorteile hin, umfassende Daten für die Kalibrierung von Trainingspopulationen zu verwenden.

2. Fortschreibung des Verwertungsplans

1. Angestrebte Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und bereits erteilte Schutzrechte		
Lfd. Nr.	Konkrete Verwertung	Zeithorizont
1.1	Die prädiktiven Merkmale für Bestäubungsleistung und Rezeptivität werden auf die Möglichkeit auf Schutzrechtsanmeldungen geprüft. Ist diese erfolgreich sollen nach ökonomischer Bewertung weitere Schritte wie Patentierung erfolgen.	2 Jahre nach Projektende

2. Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende		
Lfd. Nr.	Konkrete Verwertung	Zeithorizont
2.1	-	-

3. Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende		
Lfd. Nr.	Konkrete Verwertung	Zeithorizont
3.1	Die im Projekt HYFLOR bearbeiteten Fragestellungen erlauben exzellente wissenschaftliche Veröffentlichungen in Fachjournalen. Damit wird die Konkurrenzfähigkeit der beiden beteiligten wissenschaftlichen Arbeitsgruppen gesteigert, was die Chancen erhöht, bei weiteren Ausschreibungen auf nationaler und internationaler Ebene im Bereich der Hybridweizenzüchtung erfolgreich zu sein.	1 Jahr nach Projektende

4. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit		
Lfd. Nr.	Nächste Phase / nächste Schritte	Zeithorizont
4.1	Die Forschungsergebnisse im Bereich der Hybridzüchtungsmethodik bieten hervorragende Voraussetzungen, um neue Projektideen in diesem Bereich zu formulieren und Fördermittel auf nationaler und internationaler Ebene zu beantragen.	2 Jahre nach Projektende
4.2	Basierend auf den Projektergebnissen werden weitere Abschluss- und Promotionsarbeiten entwickelt.	1 Jahr nach Projektende

3. Angaben zu Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Alle durchgeführten Arbeiten führten zu Lösungen.

4. Angaben über die Einhaltung der Ausgaben- und der Zeitplanung

Die Zeitplanung des Gesamtantrages wurde eingehalten. Die Ausgabenplanung des Gesamtantrages wurden aufgrund verzögerter Einstellungen leicht unterschritten.

Öffentlichkeitswirksame Projektdarstellung (in deutscher und englischer Sprache)

Eine große Herausforderung für die Landwirtschaft ist die stabile Produktion von Nahrungs- und Futtermitteln unter den Bedingungen des Klimawandels. Weizenhybriden nutzen den Heterosis-Effekt, der den Ertrag um 10 % steigern kann und die Resistenzzüchtung erleichtert. Trotz dieser Vorteile sind Hybride bei Weizen bisher nur Nischenprodukte, vor allem wegen der hohen Kosten für Hybridsaatgut und der langsamen Selektion komplementärer Elternlinien. Im Projekt HYFLOR wurden die genetischen Grundlagen erarbeitet, um die Bestäubungsleistung und Rezeptivität von Weizen zu verbessern und damit die Hybridsaatgutproduktion zu optimieren. Darüber hinaus wurden Strategien entwickelt, um die Komplementarität zwischen Weizenlinien systematisch zu verbessern. Der Transfer der Ergebnisse wird durch die enge Einbindung der beteiligten Unternehmen sichergestellt und trägt dazu bei, die Züchtung von Weizenhybriden attraktiver zu gestalten, um den zukünftigen Herausforderungen des Klimawandels zu begegnen.

A major challenge for agriculture is the stable production of food and feed under conditions of climate change. Wheat hybrids exploit the heterosis effect, increasing yield by up to 10% and facilitating resistance breeding. Despite these advantages, wheat hybrids have remained niche products, mainly due to the high cost of hybrid seed and the slow selection of complementary parent lines. The HYFLOR project developed the genetic basis for improving the pollination performance and receptivity of wheat, thereby optimizing hybrid seed production. It also developed strategies to systematically improve complementarity between wheat lines. The close involvement of the participating companies ensures the transfer of results and helps to make wheat hybrid breeding more attractive to meet the future challenges of climate change.

Literatur

1. Benjamini Y, Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate—a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B Statistical Methodology* 57, 289–300.
2. Berr A, McCallum EJ, Menard R, Meyer D, Fuchs J, Dong A, Shen WH. 2010. Arabidopsis SET DOMAIN GROUP2 is required for H3K4 trimethylation and is crucial for both sporophyte and gametophyte development. *The Plant Cell* 22, 3232-3248.
3. Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. 2018. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34, i884–i890.
4. Hoshikawa K. 1960. Studies on the Reopen Floret in Wheat. *Japanese Journal of Crop Science* 29, 103-106.
5. Love MI, Huber W, Anders S. 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology* 15, 1–21.
6. Millan-Blanquez M, Hartley M, Bird N, Manes Y, Uauy C, Boden SA. 2022. A scalable phenotyping approach for female floral organ development and senescence in the absence of pollination in wheat. *Development* 149.
7. Okada T, Jayasinghe J, Nansamba M, Baes M, Warner P, Kouidri A, Correia D, Nguyen V, Whitford R, Baumann U. 2018. Unfertilized ovary pushes wheat flower open for cross-pollination. *Journal of Experimental Botany* 69, 399-412.
8. Patro R, Duggal G, Love MI, Irizarry RA, Kingsford C. 2017. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression. *Nature Methods* 14, 417–419.
9. Pickett AA. 1993. Hybrid Wheat - Results and Problems. In: G. Röbbelen WEW, ed. *Advances in Plant Breeding - Supplements to Journal of Plant Breeding*, Paul Parey Scientific Publisher Berlin and Hamburg.
10. Schmidt C, Hinterberger V, Philipp N, Reif JC, Schnurbusch T. 2024. Hybrid grain production in wheat benefits from synchronized flowering and high female flower receptivity. *Journal of Experimental Botany* doi.org/10.1093/jxb/erae430
11. Vries APD. 1974. Some aspects of cross-pollination in wheat (*Triticum aestivum* L.). 4. Seed set on male sterile plants as influenced by distance from the pollen source, pollinator: Male sterile ratio and width of the male sterile strip. *Euphytica* 23, 601 - 622.