

# Gentechnik und unser tägliches Brot

## Traditionelle und gentechnische Nutzung der Biodiversität von Wildgräsern in der Weizenzüchtung<sup>1</sup>

Beat Keller, Zürich

### Zusammenfassung

Die Verbesserung der Resistenz gegen Krankheiten ist in der Weizenzüchtung ein zentrales Zuchtziel. Viele der gewünschten Resistenzen gegen pilzliche und virale Krankheitserreger sind im Genpool des Weizens nicht vorhanden. Oft werden jedoch solche Gene in Wildgräsern gefunden, die mit Weizen verwandt sind. Mit sexuellen Kreuzungen und cytogenetischen Methoden ist es seit längerer Zeit möglich, Resistenzgene aus verschiedenen Wildgräsern in den Weizen einzukreuzen. Bei diesen Einkreuzungen werden grosse Chromosomenstücke aus dem Wildgras in den Weizen übertragen. Auf diesen grossen Fragmenten liegen sehr viele Gene, die neben der gewünschten Krankheitsresistenz oft auch zu unerwünschten, für moderne Sorten negativen Merkmalen führen. Deshalb wurde bis heute nur ein sehr kleiner Teil der im Genpool der Wildgräser vorhandenen Eigenschaften in kommerziellen Sorten genutzt. Um die genetische Diversität von Resistenzgenen in den Wildgräsern für die Weizenzüchtung in grösserem Umfang nutzen zu können, müssten die Gene mit gentechnischen Methoden isoliert und damit von anderen Wildgrasgenen getrennt werden. Die Fortschritte in der Charakterisierung von Resistenzgenen in Getreide werden kurz am Beispiel von Reis und Weizen beschrieben. In den nächsten Jahren ist die Isolation einer grösseren Zahl von Resistenzgenen aus Wildgräsern und auch aus Weizen selber zu erwarten.

### *Traditional and molecular use of the biodiversity of wild grasses for wheat breeding*

*The improvement of disease resistance is one of the most important goals in wheat breeding. Many of the desired resistances against fungal and viral pathogens are not present in the wheat gene pool. However, such genes are often found in wild grasses which are related to wheat. It is possible to transfer resistance genes from a number of wild grasses into wheat by sexual crosses and cytogenetic methods. In these introgressions, large chromosomal fragments are transferred from the wild grasses into wheat. Besides the desired resistance gene, there is a large number of additional genes on these fragments which often result in undesired traits in modern wheat varieties. Therefore, only a small number of the useful traits present in the gene pool of wild grasses has been introduced into commercial wheat varieties. To use the genetic diversity of resistance genes of wild grasses to a larger extent in wheat breeding, the genes will have to be isolated with molecular methods to allow the separation from other genes of the wild grass. The progress in the characterisation of resistance genes in small grain cereals is briefly described for rice and wheat. In the next years, we can expect the isolation of a larger number of resistance genes from wheat and its related grasses.*

### 1 EINLEITUNG

Die Landwirtschaft sieht sich heute global mit schwierigen Aufgaben konfrontiert. In den weniger entwickelten Ländern Südostasiens, Afrikas und z. T. Südamerikas muss die Produktivität gesteigert werden. Dies kann nur durch eine nach-

haltige Entwicklung geschehen, d. h. die stark wachsende Bevölkerung in diesen Regionen muss ernährt werden, ohne dass dabei künftigen Generationen die Lebensgrundlagen zerstört werden. Die Erfahrungen in den Industrieländern zeigen, dass eine Intensivierung der Landwirtschaft durch

<sup>1</sup> Nach der Antrittsvorlesung vom 24. Juni 1996 als Privatdozent an der Abteilung für Biologie der ETH Zürich.

den Einsatz chemischer Hilfsstoffe und durch starke Mechanisierung zwar enorme Produktivitätssteigerungen bringt, dass dabei aber die Umwelt grossen Schaden nehmen kann. Diese Art von Landwirtschaft ist alles andere als nachhaltig, und es wäre eine falsche Strategie, den weltweit steigenden Bedarf nach Nahrungsmitteln durch eine Intensivierung in diesem Sinne decken zu wollen.

Besonders in Europa hat in den letzten Jahren in der Landwirtschaft ein Umdenken stattgefunden. Auch in der Schweiz hat sich die aktuelle Agrarpolitik markant geändert. Zunehmend werden nachhaltige Produktionssysteme wie Biolandbau und integrierte Produktion gefördert. Die veränderten Anforderungen an die Landwirtschaft schlagen sich auch in einer neuen Gewichtung innerhalb der landwirtschaftlichen Forschung nieder. Im Bereich Pflanzenbau gewinnen die Gebiete Agrarökologie und Resistenzzüchtung zunehmend an Bedeutung. Eine der wichtigsten Strategien zur Reduktion des Einsatzes von chemischen Hilfsstoffen ist die Züchtung von robusten, standortangepassten Sorten mit Resistenzen gegen Krankheiten und Schädlinge. Neben der Reduktion des Pestizideinsatzes können damit grosse Verluste auf dem Feld verhindert und ein Beitrag zur Ernährungssicherung geleistet werden.

## 2 GENETIK DES WEIZENS

### 2.1 Entwicklung der genetischen Diversität in Weizen seit Beginn der Kultivierung

Weizen und Reis sind die zwei wichtigsten landwirtschaftlichen Kulturpflanzen der Erde. Mit einer Weltproduktion von ungefähr 550 Millionen Tonnen (etwa 100 kg pro Kopf der Weltbevölkerung und Jahr) trägt Weizen entscheidend zur Welternährung bei. Die heute angebauten Sorten sind das Produkt von jahrtausendelanger Selektion und Züchtung. Verglichen mit den verwandten Wildgräsern ist die genetische Vielfalt im heute angebauten Weizen relativ gering. Domestizierung und Züchtung haben zu einer starken Verbesserung des Weizens für den landwirtschaftlichen Anbau geführt, aber eben auch die Vielfalt eingeschränkt. Besonders für Krankheitsresistenzen ist gegen gewisse Pathogene keine gute natürliche Resistenz im gesamten Zuchtmaterial von Weizen vorhanden. Oft ist es möglich, solche Resistenzen in verwandten Wildpflanzen zu finden und in Weizen einzukreuzen (s. unten). Zwei Beispiele sollen dies illustrieren:

- Die Halmbruchkrankheit wird durch das pilzliche Pathogen *Pseudocercospora herpotrichoides* verursacht und führt in gemässigten und feuchten Regionen zu Ertrags-

und Qualitätseinbussen. Es gibt keine effiziente Resistenz gegen diesen Pilz in Weizen. Hingegen ist das Wildgras *Triticum ventricosum* (= *Aegilops ventricosa*) sehr resistent. Es ist gelungen, diese Resistenz in Weizen einzukreuzen. Es wird geschätzt, dass dieses eine Resistenzgen allein in den U.S.A. Weizen im Wert von 50 Millionen Dollar pro Jahr rettet (WORLD CONSERVATION MONITORING CENTRE, 1992).

- Gegen das Gerstengelverzweigungsvirus, das in zunehmenden Masse auch Weizen befällt, gibt es im Weizenpool gar keine Resistenz. In internationaler Zusammenarbeit laufen Projekte zum Einkreuzen einer Resistenz aus dem Wildgras *Thinopyrum intermedium*.

Trotz der zunehmenden Suche nach neuen Resistenzquellen in Wildgräsern sind bis jetzt nur ganz wenige Gene aus Wildarten praktisch genutzt worden. Auf die Gründe dafür soll weiter unten eingegangen werden.

### 2.2 Das Weizengenom und der Ursprung von Weizen

Brotweizen (*Triticum aestivum*) gehört zur Tribus<sup>1</sup> *Triticeae*. Den *Triticeae* werden 18 verschiedene Gattungen zugeordnet (HOFFMANN et al., 1985). Darunter fallen die Gattungen *Triticum* (dazu gehört auch die früher selbständige Gattung *Aegilops*), *Secale* (Roggen) und *Agropyron* (Quecke). Weizen ist hexaploid, d. h. er besitzt drei vollständige Genome, das A-, B- und D-Genom. Jedes dieser Genome stammt aus einem diploiden Wildgras. Der hexaploide Weizen ist spontan, vor wahrscheinlich etwa 10 000 Jahren, aus einer Hybridisierung von drei solchen Wildgräsern entstanden (Abb. 1). Dies bedeutet, dass viele diploide oder tetraploide Wildgräser mit Weizen nahe verwandt sind und es zum Teil mit einfachen Kreuzungen möglich ist, Eigenschaften aus diesen Wildgräsern in Weizen einzukreuzen. Dies gilt besonders für Einkorn (*T. monococcum*, Donor des A-Genoms) und *T. tauschii* (früher *Aegilops squarrosa*), den Donor des D-Genoms von Weizen (Abb. 2 und 3). Je nach Schwierigkeit, sexuelle Kreuzungen mit Weizen zu machen, unterscheidet man in der Weizenzüchtung drei verschiedene Genpools, die zur Einkreuzung neuer Eigenschaften genutzt werden können (Abb. 4).

Zum primären Genpool gehören alle hexaploiden Weizenlinien, alte Landsorten sowie der Dinkel, der auch ein hexaploides Genom besitzt. Ebenfalls dazu gehören die tetraploiden Durumweizen (*T. durum*, aus dem v. a. Teigwaren gemacht werden) sowie deren Wildformen (*T. dicoccoides*).

<sup>1</sup> Zwischen Gattung und Familie stehende Kategorie der botanischen Systematik.

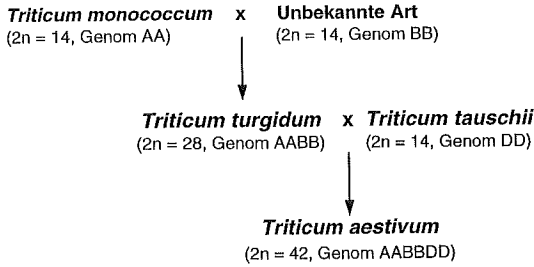


Abb. 1. Die Entstehung des hexaploiden Brotweizens (*Triticum aestivum*) aus drei diploiden Wildgräsern in zwei Allopolyploidisierungsschritten (1. Einkorn mit Genom AA x unbekanntes Art mit Genom BB ergab die allotetraploide Art *T. turgidum* oder Rauhweizen mit dem Genom AABB aus der Emmerreihe, zu der auch der Hartweizen *T. durum* gehört; 2. durch Hybridisierung mit dem Wildgras *T. tauschii* mit Genom DD entstand die allohexaploide Art *T. aestivum*, zu der auch der Dinkel *T. spelta* gehört). Diese spontane Hybridisierung geschah wahrscheinlich vor etwa 10 000 Jahren.

Fig. 1. Origin of the hexaploid bread wheat from three diploid wild grasses. This spontaneous hybridisation probably occurred around 10,000 years ago.

Die tetraploiden Weizen besitzen das Genom AABB. Innerhalb des primären Genpools können zur Genübertragung normale Kreuzungen gemacht werden. Zum sekundären Genpool gehören polyploide Spezies, in denen mindestens ein Genom identisch ist mit einem der drei Genome von Weizen. *T. ventricosum*, der Donor eines wichtigen Resistenzgens gegen die Halmbruchkrankheit in Weizen, hat zum Beispiel die Genomzusammensetzung DDMM, wobei das DD Genom mit dem Weizengenom rekombinieren kann. Zum tertiären Genpool gehören andere Gattungen der Tribus *Triticeae* wie zum Beispiel die Gattung *Agropyron*, aus der wichtige Resistenzgene gegen Braunrost, z. B. das Gen *Lr24*, in Weizen eingekreuzt wurden. Das Einkreuzen von Eigenschaften aus dem tertiären Genpool in den Weizen ist mit

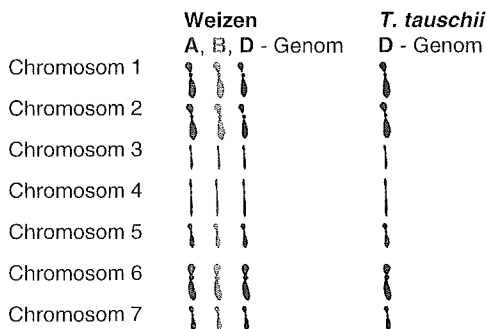


Abb. 2. Schematische Darstellung der Genome von Brotweizen und dem Wildgras *T. tauschii* (Spender des D-Genoms).

Fig. 2. Schematic representation of the genomes of wheat and the donor of the D genome, the wild grass *T. tauschii*.

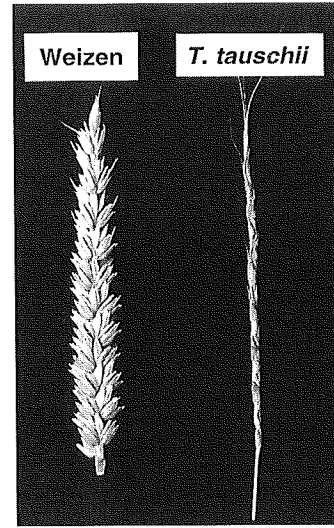


Abb. 3. Vergleich einer hexaploiden modernen Weizensorte (links) mit dem diploiden *T. tauschii* (rechts). *T. tauschii* ist nicht domestiziert; er besitzt z. B. eine sehr spindelbrüchige Ähre, die nach der Reifung in kleine Teile zerfällt und dadurch im Pelz von Tieren optimal verbreitet werden kann.

Fig. 3. Comparison of a modern hexaploid wheat variety (left) with the donor of the D genome in wheat, *T. tauschii* (right). *T. tauschii* is not domesticated, e.g. it has a very brittle rachis which guarantees an optimal seed dispersal after ripening.

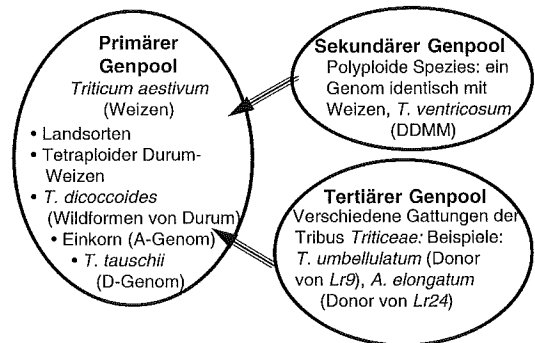


Abb. 4. Die verschiedenen genetischen Ressourcen, die für die Weizenzüchtung genutzt werden, können in drei Kategorien (Genpools) eingeordnet werden.

Fig. 4. The different genetic resources used for wheat breeding can be grouped in three gene pools.

einfacher sexueller Kreuzung nicht mehr möglich (Abb. 5). Oft sterben die aus der Kreuzung entstandenen F1 Embryonen ab, oder die F1 Pflanzen sind nicht fertil. Werden F1 Embryonen aber bald nach der Befruchtung auf ein künstliches Nährmedium gebracht (embryo rescue), so überleben sie, und die nachfolgenden Generationen sind dann lebensfähig. Da die Chromosomen aus Wildgräsern des tertiären Genpools und aus dem Weizen sich in der Meiose nicht

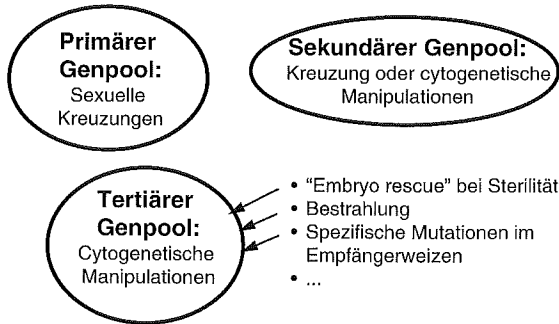


Abb. 5. Je nach Verwandtschaftsgrad mit dem hexaploiden Brotweizen werden unterschiedliche Methoden zur Einkreuzung von Erbmaterial aus Wildgräsern gebraucht. Für Einkreuzungen aus dem tertiären Genpool braucht es cytogenetische Methoden. Diese haben jedoch nichts mit Gentechnik zu tun.

Fig. 5. Depending on the genetic relationship of the hexaploid bread wheat and the gene donor, different techniques have to be used for the introgression of new genetic material from wild grasses. For introgressions from the tertiary gene pool, cytogenetic techniques have to be used. These methods are not related to gene technology.

paaren, braucht es zur definitiven Integration von neuem Erbmaterial ins Weizen genom noch einen weiteren Schritt: Die Rekombination zwischen den sich nicht paarenden Chromosomen kann z. B. durch Bestrahlung mit  $\gamma$ -Strahlen erzwungen werden. Zudem gibt es eine Weizenmutante, die eine erhöhte Paarungsfrequenz zwischen Chromosomen verschiedener Genome aufweist. Mit diesen cytogenetischen «Tricks» (diese haben nichts mit Gentechnik zu tun) gelingt es, ganze Chromosomenstücke aus Wildgräsern ins Weizen genom zu integrieren und damit neue Weizensorten mit der eingekreuzten Eigenschaft zu schaffen. An einem Beispiel soll dies näher erläutert werden.

### 3 DAS BRAUNROSTRESISTENZGEN *Lr24* AUS *AGROPYRON ELONGATUM* IN WEIZEN

Braunrost ist sowohl in der Schweiz wie auch weltweit eine der problematischsten Krankheiten von Weizen. Das Resistenzgen *Lr24* (*Lr* steht für leaf rust, den englischen Ausdruck für Braunrost) aus *Agropyron elongatum* ist in Europa gegen alle Rassen des Braunrostpathogens (*Puccinia recondita*) wirksam. Es ist deshalb für die Weizenzüchtung interessant, dieses Gen in neuen Weizensorten zu haben.

Eine Einkreuzung von *Lr24* in den Weizen gelang schon vor längerer Zeit in den U.S.A. Wir haben den in Weizen eingekreuzten *Agropyron*-Chromosomenabschnitt molekularbiologisch untersucht und dabei festgestellt, dass in den untersuchten Weizenlinien genetisch gesehen mehr als die Hälfte des langen Arms von Chromosom 3D aus *Agropyron*

stammt (Abb. 6) (SCHACHERMAYR et al., 1995). JIANG et al. (1994) haben gezeigt, dass physikalisch etwa ein Viertel von Chromosom 3DL aus *Agropyron* stammt. Physikalische und genetische Grössen im Genom stimmen in Weizen nicht überein, weil die Rekombinationsfrequenzen nicht überall im Genom identisch sind.

Die beiden Resultate zeigen, dass ein sehr grosses Stück des Wildgras-Chromosoms in den Weizenlinien vorhanden ist, die das *Lr24* Gen tragen. Diese Daten haben auch klar gemacht, dass das eingekreuzte Chromosomenstück nach dem ursprünglichen Rekombinationsereignis bei Weiterzüchtungen im Weizen nicht mehr rekombiniert. Das bedeutet, dass der Weizenzüchter, der in diesem Fall nur am *Lr24* Resistenzgen aus *Agropyron* interessiert ist, schätzungsweise

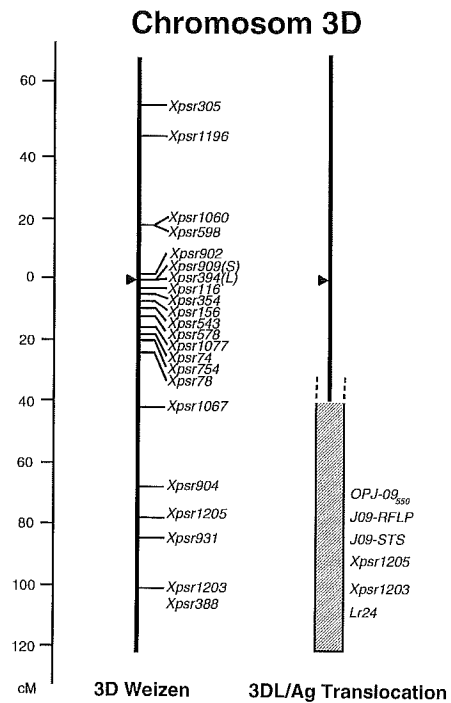


Abb. 6. Darstellung des Chromosoms 3D von Weizen und des eingekreuzten Chromosomenstücks aus *Agropyron elongatum* mit dem *Lr24* Braunrostresistenzgen. Ganz links ist die genetische Distanz in centiMorgan (cM) angegeben. In der Mitte ist die genetische Karte mit einigen Markern auf diesem Chromosom gezeigt. Rechts ist die Grösse des eingekreuzten *A. elongatum*-Segments in der genetischen Karte eingezeichnet. Der Pfeil gibt die Position des Zentromers an.

Fig. 6. Chromosome 3D of wheat and the introgressed chromosome segment from *Agropyron elongatum* carrying the *Lr24* leaf rust resistance gene. On the left, the genetic distance is given in centiMorgan (cM). In the middle, the genetic map with some of the mapped markers is shown. On the right, the size of the introgressed segment from *A. elongatum* is indicated in the genetic map. The arrow shows the position of the centromere.

noch mehrere hundert zusätzliche Gene aus *Agropyron* in seinen Weizenlinien hat.

Oft sind diese Gene unproblematisch. Es gibt jedoch auch viele Beispiele, bei denen diese Gene zu unerwünschten Eigenschaften in den neuen Weizenlinien führen. Zu den bekanntesten solcher problematischer Eigenschaften gehören Ertragsreduktionen oder eine gelbe Färbung im Endosperm, die zu unerwünschtem gelbem Mehl führt (im Fall des *Lr19* Resistenzgens, das auch aus *A. elongatum* eingekreuzt wurde). Die Grösse der eingekreuzten Fragmente und die damit miteingebrachten negativen Eigenschaften sind hauptverantwortlich dafür, dass bis jetzt nur einige wenige von vielen hundert Einkreuzungen von Resistenzgenen aus Wildgräsern zu Weizensorten geführt haben, die grossflächig angebaut werden. Eine der wichtigen Ausnahmen ist die Einkreuzung des Halmbbruchresistenzgens aus *Aegilops ventricosa*. Sowohl in Europa wie in den USA sind Sorten mit diesem Gen grossflächig im Anbau.

#### 4 DIE NUTZUNG DER BIODIVERSITÄT DURCH DIE GENTECHNIK

Bis heute steht die Nutzung der vorhandenen genetischen Diversität in Wildgräsern wegen der oben beschriebenen praktischen Probleme noch ganz am Anfang. Die gegenwärtige Situation ist in Abb. 7 schematisch dargestellt. Das Chromosomenstück des Wildgrases, z. B. mit dem gewünschten Gen *Lr24*, ist mit dem Einkreuzen von zusätzlichen, für den Pflanzenzüchter unerwünschten Eigenschaften verbunden. Die effiziente Nutzung des *Lr24* Gens wird erst möglich sein, wenn es gelingt, das Resistenzgen aus der Umgebung des Wildgras-Chromosoms zu isolieren und als einzelnes Gen in den Weizen einzubringen (transformieren<sup>2</sup>). Dies gilt für viele weitere Gene, die für züchterisch interessante Eigenschaften verantwortlich sind, aber im Moment in Weizen nur als grosse Chromosomentranslokationen mit negativen Begleiterscheinungen vorhanden sind und nicht zu anbaubaren Sorten führen.

Für die Pflanzenzüchtung und die Ernährungssicherung weltweit ist es deshalb sehr wichtig, dass die Isolation und Nutzung dieser genetischen Ressourcen aus Wildarten in den nächsten Jahren möglich wird. Die agronomisch interessanten Gene in den Wildgräsern und ihre Nutzung in der Weizenzüchtung ist damit ein gutes Beispiel für die Verknüpfung von Biotechnologie und genetischer Diversität, wie sie im

<sup>2</sup> Transformation ist die genetische Veränderung von Zelleigenschaften durch die Übertragung von DNA.

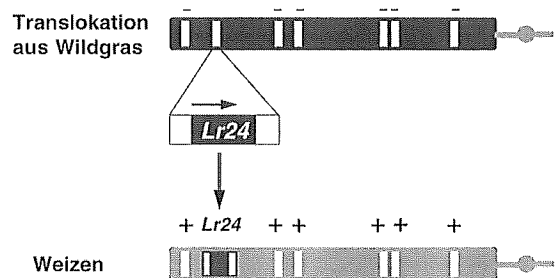


Abb. 7. Vergleich der gegenwärtigen Strategie zum Einkreuzen von Wildgrasgenen in Weizen mit traditionellen Techniken (oben) und die geplante Anwendung der Gentechnologie (unten) am Beispiel des *Lr24* Braunrostresistenzgens. In der gegenwärtigen Anwendung werden grosse Chromosomenstücke eingekreuzt, die neben dem gewünschten Resistenzgen zusätzlich negative Erbmerkmale tragen (-). Die Isolation des Resistenzgens ergäbe eine Trennung des Gens von diesen negativen Erbmerkmalen. Das isolierte Gen könnte dann in genetisch optimierte Weizensorten transformiert werden. Diese Sorten haben bereits die positiven Allele (+) agronomisch wichtiger Eigenschaften. Die Einführung des Resistenzgens *Lr24* würde damit diese Sorte spezifisch für Braunrostresistenz verbessern, ohne andere Eigenschaften zu verschlechtern.

Fig. 7. Comparison of the current strategy to introgress genes from wild grasses into wheat (top) and the planned application of gene technology (bottom) with the *Lr24* leaf rust resistance gene as an example. With the current techniques, large chromosomal segments carrying the desired resistance gene as well as negative traits (-) for wheat breeding are introgressed into wheat. Isolation of the resistance gene would separate it from these negative traits. The isolated gene could then be transformed into genetically optimized wheat varieties that already carry positive alleles (+) for agronomically important traits. The introduction of the *Lr24* resistance gene would therefore improve these varieties specifically for leaf rust resistance, without compromising other properties.

Übereinkommen über die biologische Vielfalt (Konferenz von Rio im Jahr 1992) gemacht wurde. Im folgenden soll kurz gezeigt werden, wie weit die Forschung auf der gentechnischen Seite zur Isolation von Resistenzgenen aus Getreide schon entwickelt ist.

#### 5 DAS ERSTE KRANKHEITSRESISTENZGEN AUS EINEM GETREIDE: DAS *Xa-21*-GEN GEGEN *Xanthomonas*-BAKTERIEN IN REIS

Vor einem Jahr wurde das erste Resistenzgen gegen eine bakterielle Krankheit (bacterial leaf blight) aus Reis isoliert (SONG et al., 1995). Die Aminosäuresequenz zeigte, dass das Proteinprodukt des Gens *Xa-21* eine rezeptorähnliche Proteinkinase (RPK; WALKER, 1994) darstellt. Das Protein ist schematisch in Abb. 8a dargestellt. RPK-Proteine haben eine extrazelluläre Domäne, die ausserhalb der Zelle liegt und wie eine Antenne Signale aus der Umwelt wahrnehmen kann. Auf der Innenseite der Zelle liegt eine Kinase-Domäne, eine

Proteinstruktur, die sich selber oder andere Proteine phosphorylieren kann (Anfügen einer Phosphatgruppe). Phosphorylierung reguliert die Aktivität verschiedenster Proteine in allen Lebewesen. Sie ist ein wesentlicher Kontrollmechanismus für die Aktivität von Proteinen und die Regulierung von zellulären Funktionen. Der äussere und der innere Teil des RPK-Proteins wird verbunden durch eine Proteinsequenz, die durch die Zellmembran führt. Rezeptorähnliche Protein-kinasen wurden in vielen Organismen charakterisiert (HUNTER & LINDBERG, 1994).

Das Reisgen *Xa-21* ist das erste isolierte pflanzliche Resistenzgen, das für ein solches Protein kodiert. Die Lokalisation des Proteins in der Zellmembran mit intra- und extrazellulären Proteinsequenzen sowie einer Kinase als Regulationsdomäne legen ein Arbeitsmodell nahe, wie das *Xa-21*-Protein die Resistenz vermitteln könnte. Das Modell ist in Abb. 8b dargestellt. In diesem bildet das Pathogen ein Produkt, das spezifisch vom *Xa-21*-Protein erkannt wird (der sog. Ligand). Die Erkennung erfolgt durch die extrazelluläre Domäne. Das Erkennungssignal wird auf noch unbekannte Art durch die Zellmembran ins Zellinnere übermittelt und aktiviert dort die Proteinkinase. Dies löst anschliessend die

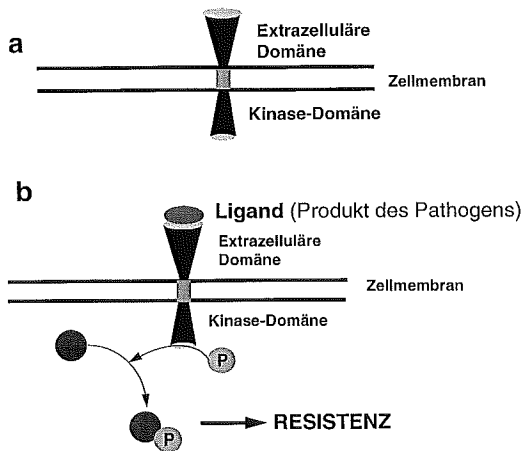


Abb. 8. (a) Hypothetische Struktur des Genprodukts des *Xa-21* Resistenzgens aus Reis. (b) Modell für die Wirkung von *Xa-21*. Auf der Aussenseite der Zelle wird ein Produkt des Pathogens (Ligand) erkannt. Diese Erkennung löst auf der Innenseite eine Aktivierung der Kinase aus. Die Phosphorylierung von einem oder mehreren Zielproteinen aktiviert weitere Schritte, die zum schnellen Zelltod führen und damit dem Pilz die Weiterverbreitung verunmöglichen.

Fig. 8. (a) Hypothetical structure of the product of the *Xa-21* resistance gene of rice. (b) Model for the action of *Xa-21*. On the outer side of the cell a product of the pathogen, the ligand, is recognized. This recognition activates the kinase domain of the protein. The phosphorylation of one or more target proteins activates further steps which finally result in rapid cell death and thus stop further proliferation of the pathogen.

Resistenzreaktion aus. Auch wenn der beschriebene Ablauf im Moment nur eine Arbeitshypothese ist, stimmt er immerhin mit allen bisherigen genetischen und physiologischen Erkenntnissen über Pflanzen-Pathogen-Interaktionen in vielen Wirt-Pathogen-Systemen überein. Diese Interaktionen beruhen oft auf einer spezifischen Erkennung des Pathogens durch die Pflanze. Nur wenn diese Erkennung stattfinden kann, wird die Resistenzreaktion ausgelöst.

Die spezifische Erkennung löst einen aktiven Abwehrmechanismus aus: Die Zellen in der Nähe der Infektionsstelle sterben so schnell ab, dass die Weiterverbreitung des Pilzes, der auf lebendes Wirtsgewebe angewiesen ist, gestoppt wird (Abb. 9, links). Das Pathogen kann sich jedoch durch eine Mutation so verändern, dass es vom Resistenzgenprodukt nicht mehr erkannt werden kann und die spezifische Abwehrreaktion der Pflanze nicht mehr ausgelöst wird. Damit wird die Pflanze anfällig für die spezifische Pathogenrasse II, und das Pathogen kann sich ungehindert ausbreiten (Abb. 9, rechts).

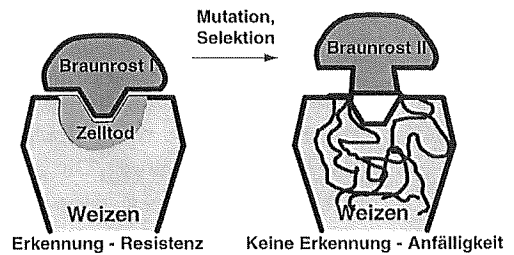


Abb. 9. Die spezifische Erkennung des Braunrostpathogens durch Weizen ist die Basis der sogenannten hypersensitiven Resistenz. Die Erkennung führt zum schnellen Zelltod an der Infektionsstelle. Dadurch wird das weitere Wachstum des auf lebendes Gewebe angewiesenen Pathogens verhindert. Durch Mutation kann sich das Pathogen der Erkennung durch gewisse Resistenzgene entziehen; der Pilz kann sich dann ungehindert weiter ausbreiten.

Fig. 9. Specific recognition of the leaf rust pathogen by wheat is the basis for the so called hypersensitive resistance. Recognition of the pathogen results in a rapid cell death at the infection site. The further growth of the pathogen which depends on living tissue is stopped. The pathogen can evade certain resistance genes by mutation. The fungus can then grow on the plant unrestrictedly.

## 6 DAS BRAUNROST-RESISTENZGEN *Lr10* IN WEIZEN

In unserer Forschungsgruppe sind wir daran interessiert, Resistenzgene gegen pilzliche Krankheiten in Weizen zu isolieren. Zu weltweit bedeutenden Ertragsausfällen tragen Pilzkrankheiten wie Braunrost, Schwarzrost, Gelbrost, Mehltau und Halmbruch, aber auch Insekten wie gewisse Fliegenarten, Blattläuse und Käferlarven bei. Einzelne Resistenzgene

spielen v. a. in der Züchtung auf Braunrostresistenz eine wichtige Rolle (KELLER et al., 1995). Als das erste pflanzliche Resistenzgen im Jahr 1993 aus der Tomate isoliert wurde (MARTIN et al., 1993), haben wir auf diesen Erkenntnissen aufbauend ein Projekt zur Isolation des Braunrostresistenzgens *Lr10* aus Weizen gestartet. Dieses Gen liegt auf dem kurzen Arm von Chromosom 1A, nahe beim Telomer, dem Ende des Chromosoms (Abb. 10a). Wir haben vor kurzem das erste Gen isoliert, das im chromosomalen Locus von *Lr10* liegt. Ob es sich dabei bereits um das Resistenzgen selber oder aber nur um ein sehr nahe gelegenes, anderes Gen handelt, ist im Moment noch nicht bekannt. Wir nennen dieses Gen *Lrk10* (für: leaf rust resistance gene related receptor-like kinase). Das LRK10-Protein hat eine äusserst interessante Struktur: Es besitzt wie das Xa-21-Protein eine extrazelluläre Domäne und eine intrazelluläre Kinasedomäne (Abb. 10b). Auch hier scheint es sich also um eine Rezeptor-kinase zu handeln. Die Ähnlichkeit von *Lrk10* mit dem Resistenzgen *Xa-21* gibt berechnete Hoffnung, dass wir bald das erste Krankheitsresistenzgen in Weizen isolieren können.

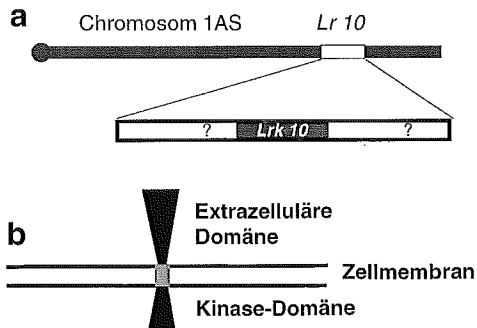


Abb. 10. (a) Genetische Lokalisation des *Lr10* Braunrostresistenzgens auf dem Chromosom 1AS in Weizen. Das isolierte *Lrk10* Gen liegt am gleichen genetischen Ort im Chromosom wie das Resistenzgen *Lr10*. Damit ist *Lrk10* ein Kandidat für das Resistenzgen selber. (b) Schematische Darstellung der Struktur des LRK10-Proteins. Die Struktur ist charakteristisch für rezeptorähnliche Protein-kinasen, die mit spezifischen Erkennungsmechanismen und Signalübermittlung zu tun haben.

Fig. 10. (a) Genetic localisation of the *Lr10* leaf rust resistance gene on chromosome 1AS in wheat. The isolated gene *Lrk10* is located at the same locus on the chromosome as the resistance gene *Lr10*. Thus, *Lrk10* is a candidate for being the resistance gene itself. (b) Schematic representation of the structure of the LRK10 protein. The structure is characteristic for receptor-like protein kinases which are involved in specific recognition and signal transduction.

## 7 AUSBLICK

Die beobachteten Ähnlichkeiten (Homologien) zwischen Resistenzgenen in verschiedenen Pflanzenarten (DANGL, 1995;

STASKAWICZ et al., 1995) lassen erhoffen, dass wir bald die Möglichkeit haben werden, Resistenzgene aus den Wildgräsern gezielt zu isolieren, sie in Weizen einzubringen und dadurch die Resistenz von Weizen gegen verschiedene Pathogene entscheidend verbessern zu können. Damit wird die effiziente Nutzung der biologischen Diversität im Getreide erst ermöglicht.

Wir sind überzeugt davon, dass diese gentechnischen Anwendungen einen relevanten Beitrag für eine ökologischere Produktion leisten können. Zusätzlich werden resistenterer Sorten auch zur Ernährungssicherheit (höhere und vor allem auch stabilere Erträge) in den Entwicklungsländern beitragen.

## 8 DANK

Ich möchte allen Mitgliedern der Forschungsgruppe Biotechnologie für Ihre Mitarbeit an dem hier beschriebenen Projekt danken. Ich möchte mich auch bei Annette Guignard für die Hilfe bei den Abbildungen bedanken. Die beschriebenen Arbeiten in unserer Arbeitsgruppe werden unterstützt durch das Schwerpunktprogramm Biotechnologie des Schweizerischen Nationalfonds.

## 9 LITERATUR

- DANGL, J. 1995. Pièce de résistance: novel classes of plant disease resistance genes. - *Cell* 80, 363-366.
- HOFFMANN, W., MUDRA, A. & PLARRE, W. 1985. Lehrbuch der Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Band 2. Spezieller Teil. - Paul Parey, Berlin, 434 pp.
- HUNTER, T. & LINDBERG, R.A. 1994. Receptor protein-tyrosine kinases. In: «Protein Kinases», J.R. WOODGETT (ed.), pp. 177-211. - IRL Press, Oxford, 273 pp.
- JIANG, J., FRIEBE, B. & GILL, B. 1994. Recent advances in alien gene transfer in wheat. - *Euphytica* 73, 199-212.
- KELLER, B., MESSMER, M., FEUILLET, C., WINZELER, H., WINZELER, M. & SCHACHERMAYR, G. 1995. Molekulare Marker in der Weizenzüchtung. - *Agrarforschung* 2, 17-20.
- MARTIN, G.B., BROMMONSCHENKEL, S.H., CHUNWONGSE, J., FRARY, A., GANAL, M.W., SPIVEY, R., WU, T., EARLE, E.D. & TANKSLEY, S.D. 1993. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. - *Science* 262, 1432-1436.
- SCHACHERMAYR, G.M., MESSMER, M.M., FEUILLET, C., WINZELER, H., WINZELER, M. & KELLER, B. 1995. Identification of molecular markers linked to the *Agropyrum elongatum*-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat. - *Theor. Appl. Genet.* 90, 982-990.
- SONG, W.-Y., WANG, G.-L., CHEN, L.-L., KIM, H.-S., PI, L.-Y., HOLSTEN, T., GARDNER, J., WANG, B., ZHAI, W.-X., ZHU, L.-H.,

FAUQUET, C. & RONALD, P. 1995. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa-21*. - *Science* 270, 1804-1806.

STASKAWICZ, B.J., AUSUBEL, F.M., BAKER, B.J., ELLIS, J.G. & JONES, J.D.G. 1995. Molecular genetics of plant disease resistance. - *Science* 268, 661-667.

WALKER, J.C. 1994. Structure and function of the receptor-like protein kinases of higher plants. - *Plant Mol. Biol.* 26, 1599-1609.

WORLD CONSERVATION MONITORING CENTRE, 1992. Global biodiversity: Status of the earth's living resources. - Chapman and Hall, London, 585 pp.

PD Dr. Beat Keller, Sektion Resistenz- und Qualitätszüchtung, Eidg. Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau (FAL), Reckenholzstrasse 191, CH-8046 Zürich