

**Trends and levels of genetic diversity in CIMMYT
wheat germplasm and Omani landraces evaluated
by using SSR markers and pedigree data**

Pingzhi Zhang

VERLAG GRAUER · Beuren · Stuttgart · 2004

7. Summary

Genetic variation is an essential prerequisite for plant genetic improvement. PCR-based SSRs provide a powerful tool to detect genetic diversity in highly-inbred, widely cultivated wheat. CIMMYT wheats have had a great impact on wheat breeding and cultivation in developing countries, and therefore are an excellent source to study the changes of genetic diversity during international breeding efforts.

The overall objective of the present study was the application of SSR markers to determine temporary trends in genetic diversity of CIMMYT spring bread wheat. The technical objectives were to (1) assess the changes in genetic diversity of CIMMYT modern wheat cultivars (MWCs) released since 1950, (2) investigate evidence of genetic erosion, (3) detect the diversity within and among advanced lines targeted to different mega-environments (MEs), (4) evaluate the use of genomic and EST-derived SSRs to determine levels of diversity, (5) compare estimates of genetic distance based on SSRs to the coefficient of parentage (COP), (6) assess the SSR diversity present in CIMMYT synthetic hexaploid wheats (SHWs) and their synthetic backcross-derived lines (SBLs) and compare this variation with the allelic variation found in their respective parents, (7) test the selective advantage of SHW alleles in SBL families, (8) study the genetic diversity and relationships within and among Omani wheat landrace cultivars (LCs), and (9) trace the possible geographic origin of Omani LCs.

A comparative analysis revealed that the standardized average number of alleles (N_a), relative loss of gene diversity (ΔH) and the number of unique alleles decreased during domestication from *T. tauschii* to LCs and again during the transition from LCs to MWCs. This evidence supports the hypothesis that genetic bottlenecks have occurred in cultivation of wheat.

Multiple regression analysis of Rogers' distance (RD) and 1-COP of 123 MWCs revealed that significant genetic diversity changes have occurred during the past 50 years of international efforts in wheat breeding. Both values decreased from period 1 (1950-1965) to period 4 (1982-1989), followed by an increase in period 5 (1990-1997). Genetic erosion was mainly due to (a) release of large numbers of semi-dwarf MWCs and (b) few leading MWCs grown over a large area. The increase in period 5 indicates that yield increase via plant breeding does not necessarily lead to a loss of genetic diversity.

The ME strategy applied by CIMMYT contributed to an increase in genetic diversity in recent years, because a high level of diversity was conserved in MEs ($H_T = 0.47$). Genetic diversity among MEs was small ($G_{ST} = 0.09$), perhaps because selection based on ME adaptation

has not been practiced long enough, because common germplasm has been used for different MEs, or because the same genes confer fitness to several MEs.

Correlations (r) between RD and 1-COP estimates were significant both for MEs (0.43) and MWCs (0.48). This low correlation is presumably attributable to the unrealistic assumptions in calculation of COP, such as lack of selection and drift.

SHWs introduced genetic diversity from *T. tauschii* and can be easily crossed with bread wheat to produce SBLs. The H_T value for SHWs was 0.50 based on all SSRs, and 0.70 for the D genome, which is higher than the corresponding values of MWCs and MEs. Cluster analysis separated SHWs from bread wheats. These results suggest that SHWs comprise a distant germplasm pool with high allele variation for bread wheat improvement. The high genetic diversity ($H_T = 0.47$) and high genetic differentiation ($G_{ST} = 0.40$) in SBLs suggest that they successfully combine diversity from their two parents. Thus, cultivars released from these SBLs should be more diverse than previously developed CIMMYT cultivars and advanced lines.

A test for selective advantage carried out in two SBL families (G and H) showed non-Mendelian inheritance of alleles favoring the SHW parent for six markers. This suggests that these genomic regions are being actively selected for. Further studies, e.g. association mapping, may link these SSR markers to specific traits, which can then be used in marker-assisted selection (MAS).

Comparable levels of genetic diversity was found in three Omani bread wheat LCs ($H_T = 0.37$) and three durum wheat LCs ($H_T = 0.46$). All LCs were distinct from each other. Genetic diversity was mainly distributed within rather than between landraces, indicating high heterogeneity among individual plants. This provides a genetic buffer for adaptation of LCs to different environments. A joint cluster analysis indicated that Omani bread wheat LCs might be related to Pakistani LCs. Further efforts to analyze more LCs from Pakistan, India and Iran could lead to a more definitive answer regarding the geographic origin of Omani wheat LCs.

In this study, PCR-based SSR markers were used to study molecular genetic variation within and among MEs and LCs, the transmittance of alleles from alien germplasm pools (SHWs, SBLs) and dynamics of genetic diversity in CIMMYT MWCs. Their abundance, co-dominant nature, high allelic variation, even distribution across the genome, and suitability for high through-put make SSR markers at present the most appropriate molecular marker system for genetic diversity assessment in wheat. For a future design of breeding programs, the breeders in CIMMYT, as well as their partners from developing countries can benefit from the knowledge gained in this study about changes of molecular diversity, and introgression of exotic alleles into CIMMYT wheat germplasm.

8. Zusammenfassung

Genetische Variation ist die Voraussetzung für eine Verbesserung von Genotypen in der Pflanzenzüchtung. Gegenstand der vorliegenden Studie war die Analyse der genetischen Diversität in CIMMYT Sommerweizen basierend auf SSR Markern. Dabei wurden (1) die Veränderung der genetischen Diversität in Elitelinien über 50 Jahre Züchtung, (2) die mögliche genetische Verarmung während der Domestikation und beim Übergang von Landrassen zu modernen Elitelinien, (3) die Diversität von Elitelinien, welche an verschiedene Umwelten (ME) adaptiert waren, (4) die Unterschiede zwischen genomischen und EST- abgeleiteten SSRs, (5) der Zusammenhang genetischer Distanzen basierend auf SSRs und dem Abstammungskoeffizienten (COP), (6) die molekulare Diversität von synthetischen CIMMYT Weizenlinien (SHWs) und deren mit verschiedenen Weizen rückgekreuzten Linien (SBLs), (7) der mögliche selektive Vorteil der SHW-Allele in den SBL-Familien, (8) die Diversität innerhalb und zwischen Weizenlandrassen (LCs) aus Oman und (9) die Möglichkeit den geographischen Ursprung der omanischen LCs anhand genetischer Vergleiche zurückzuverfolgen untersucht.

Insgesamt 123 historische Elitelinien (MWC) der letzten 50 Jahre wurden in fünf Zeitspannen eingeteilt. Die Regressionen der Roger's Distanzen und 1-COP Werte mit den Zeitspannen zeigten einen Diversitätsverlust von Zeitspanne 1 (1950-1965) zu Zeitspanne 4 (1982-1989), gefolgt von einer Verbreiterung der Diversität. Der Abwärtstrend kann mit der Beschränkung der Züchtung auf wenige Kurzstrohsorten in den 60er Jahren erklärt werden. Der Anstieg in Zeitspanne 5, der mit dem verstärkten Einkreuzen genetischer Ressourcen begründet werden kann, zeigt, dass die Ertragssteigerung durch Pflanzenzüchtung nicht notwendigerweise zu einem Verlust von genetischer Diversität führen muß.

Wir beobachteten eine Reduktion der durchschnittlichen Allele (N_a) und einzigartiger Allele von den Wildtypen des Weizen (*T. tauschii*) über LCs zu MWCs, sowie einen relativen Verlust der Diversität (ΔH). Diese Resultate stützen die Hypothese, dass ein genetischer Flaschenhalseffekt in der Evolution des Weizens aufgetreten ist.

Bei Weizenlinien des aktuellen Zuchtprogramms des CIMMYT's (ME), die speziell für verschiedene Umwelten gezüchtet wurden, konnte ein hohes Niveau an genetischer Diversität ($H_T = 0,47$) innerhalb von Züchtungsmaterialmaterial einer Umwelt gefunden werden. Allerdings

war die genetische Diversität zwischen Weizenlinien aus verschiedenen Umwelten gering ($G_{ST} = 0,09$). Dieses Ergebnis belegt die Breite des CIMMYT Weizenmaterials.

Die Korrelation (r) zwischen RD und 1-COP war signifikant sowohl bei den historischen als auch bei den aktuellen Linien (MWCs: $r = 0,48$ und MEs: $r = 0,43$). Die relativ niedrigen Korrelationen sind auf den Annahmen der Abwesenheit von Selektion und genetischer Drift bei der Schätzung des COPs zurückzuführen.

SHWs stellen eine Möglichkeit dar, genetische Diversität von *T. tauschii* über Rückkreuzungen mit kommerziellen Weizenlinien für die moderne Züchtung zur Verfügung zu stellen. Die hohe genetische Diversität innerhalb ($H_T = 0,47$) sowie zwischen ($G_{ST} = 0,40$) den SBLs zeigen, dass die Diversität beider Eltern (SHWs und rekurrente Eltern) erfolgreich kombiniert wurde. Die genetische Diversität (H_T) berechnet aus den Allelfrequenzen der SSR-Marker war für die SHWs 0,50 bzw. für das D Genom 0,70. Beide Werte waren damit höher als bei den historischen und modernen Linien. Eine Clusteranalyse trennte die SHWs klar von den rekurrenten Weizenlinien ab. Unsere Ergebnisse zeigen, dass SHWs ein Genpool mit neuen Allelen darstellen, die im Zuchtmaterial nicht oder nur in geringer Frequenz vorhanden sind. Bei zwei Familien wurde der selektive Vorteil der SHW-Allele untersucht. Dabei wurden sechs Marker detektiert, die keine Mendelsche Vererbung aufzeigen. Eine mögliche Erklärung ist, dass diese Allele bzw. geographischen Regionen stark selektiert wurden. In fortführenden Studien kann nun untersucht werden, ob diese Marker mit agronomisch wichtigen Merkmalen assoziiert sind.

Trotz der klaren Divergenz der einzelnen LCs aus dem Oman, lag der überwiegende Anteil genetischer Varianz innerhalb der LCs. Dieses belegt die hohe Anpassungsfähigkeit von LCs an wechselnde Umweltbedingungen. Eine Clusteranalyse der LCs aus dem Oman und Pakistan deutet auf die Verwandtschaft der beiden Gruppen hin. Weitere Analysen mit einer höheren Anzahl von LCs aus Pakistan, Indien und Iran sind notwendig, um die Verwandtschaftsverhältnisse der LCs eindeutig zu charakterisieren und somit den möglichen geographischen Ursprung der LCs aus dem Oman aufzuklären.

In dieser Studie wurde die Entwicklung der genetischen Variation in CIMMYT MWCs über fünfzig Jahre Züchtung beschrieben. Ferner konnte die genetische Diversität innerhalb und zwischen MEs, LCs, SHWs, und SBLs dargestellt werden. Die hohe Anzahl verfügbarer polymorpher SSRs, deren co-dominante Natur, die gleichmäßige Verteilung über das ganze Weizen genom und die Eignung zur automatischen und schnellen Amplifizierung machen SSR-Marker zu dem zur Zeit optimalsten Markersystem in der Weizenzüchtung.