

Aus dem Institut für
Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik
der Universität Hohenheim
Fachgebiet: Angewandte Genetik und Pflanzenzüchtung
Prof. Dr. A.E. Melchinger

**GENETIC DIVERSITY IN ELITE LINES AND LANDRACES
OF CIMMYT SPRING BREAD WHEAT
AND HYBRID PERFORMANCE OF CROSSES AMONG
ELITE GERMPLASM**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Agrarwissenschaften
vorgelegt der
Fakultät für Agrarwissenschaften
der Universität Hohenheim

Von Dipl. Agr. Biol.
Susanne Dreisigacker
aus Birkweiler

Stuttgart-Hohenheim
2004

7 SUMMARY

Wheat (*Triticum aestivum*) is one of the major cereals in the world. During the past years, the world consumption of wheat increased up to nearly 600 million tones, whereas wheat production continuously decreased. Due to land limitations, new production gains must be achieved from improved plant management systems as well as from the development of high yielding varieties. The International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) employs different strategies to enhance yield potential in wheat especially for developing countries. For instance, the wheat breeding program focuses on defined mega-environments (MEs), assuming similar growing conditions in certain countries. In the search for useful alleles, breeders often turn back to wild relatives of wheat stored in the CIMMYT seed bank. With the production of synthetic hexaploid bread wheat (SHWs), characteristics from *T. durum* and *T. tauschii* can be combined and via backcrossing incorporated into modern breeding materials. Wheat landraces (LCs) are an additional reservoir of resistances to pests and diseases as well as for environmental adaptation. The production of wheat hybrids is seen as a further option to improve yield potential. A considerable amount of genetic diversity among the materials is a prerequisite for all strategies. Due to the worldwide importance of CIMMYT wheat varieties, they represent a suitable source to examine different breeding strategies in wheat.

The main objective of our research was to determine the genetic diversity in modern wheat breeding materials and genetic resources at CIMMYT. Specific research questions were: (i) Is the systematic breeding targeted for different MEs reflected in the genetic diversity among breeding lines (Experiment 1)? (ii) Does the production of SHWs (Experiment 2) and the use of LCs (Experiment 3) enhance the genetic variation in modern breeding materials? (iii) Does the development of hybrids represent an option to improve yield potential in wheat (Experiment 4)? (iv) Is it possible to predict levels of heterosis with the determination of genetic distance (GD) among hybrid parents (Experiment 4)? (v) Do genomic and EST- derived SSRs differ in the measurement of genetic diversity (Experiments 1 to 3)? (vi) Are GD values based on SSRs correlated with the coefficient of parentage (COP) (Experiments 1 and 4)?

In Experiment 1, a total of 68 CIMMYT advanced breeding lines was analyzed with 99 SSRs, of which 51 were EST- and 46 genomic derived SSRs. A high level of genetic

diversity ($\overline{GD} = 0.41$) was observed among the breeding lines. The majority of variation (91%) was detected among lines targeted to one specific ME, which indicates a broad genetic base of the current CIMMYT breeding materials. Principal coordinate analysis (PCoA) could clearly separate the lines, but they clustered independently from their target MEs. Main explanations are: (i) alleles were selected that provide fitness to several MEs, (ii) adaptation depends only on a small number of genes that were not detected with the SSRs applied, or (iii) too few cycles of selection were considered to separate the germplasm.

In Experiment 2, a total of 11 SHWs, 7 recurrent parent lines, and 13 families of backcross-derived lines (SBLs) were analyzed with 90 SSRs. The SHWs clustered far from the SBLs and the recurrent parents in the cluster analyses and PCoA, and formed a distinct germplasm pool with high allelic variation. Two families of SBLs were tested for a selective advantage of the SHW alleles. Six SSRs revealed non-Mendelian inheritance, indicating that the genomic region of SHWs was actively selected for. Thus, the production of SHWs provides a promising approach for the enhancement of genetic variation in modern breeding materials.

In Experiment 3, seed bank accessions of 36 LCs from different countries and a total of 119 accessions from nine LCs populations collected in Turkey and Mexico were analysed with 44 and 76 SSRs, respectively. Both LC materials revealed high allelic variation ($\overline{GD} = 0.69$ and 0.54). The 36 LC accessions could not be separated according to their continent of origin. Furthermore, an unexpected relationship was observed between the Chilean LC "Trigo africano" and the Nigerian LCs "Dikwa". All of the nine LC populations could be discriminated except for two Turkish LCs collected from the same location. In accordance with previous studies, considerable genetic variation was observed within the LC populations. Our results contributed substantially to the characterization of the LCs and generated important knowledge for the management of seed bank accessions.

In Experiment 4, a total of 112 wheat hybrids and their 22 parental lines were evaluated at two locations in Mexico for grain yield, plant height, days to flowering and maturity. The level of heterosis varied between -15.3% and 14.1%, but was generally too low to compensate the high costs of hybrid seed production. The correlations between mid-parent values and hybrid performance, as well as between parental line *per se* performance and general combining ability were significant ($P < 0.01$) for all traits, and particularly

high for grain yield ($r = 0.86$ and 0.91). PCoA based on 113 SSR markers revealed three groups of parents. However, the correlations of GDs and COPs with the heterosis values were negative and not significant. Thus, the prospects of large-scale cultivation of hybrid wheat in developing countries are low.

The correlations between GDs and COP in Experiments 1 and 3 were generally significant but low. This can be explained by unrealistic assumptions in the calculation of COPs, which ignore the effects of selection and genetic drift. Similarly to genomic SSRs, EST-SSRs did not reflect functional diversity. The latter revealed a lower degree of polymorphism than genomic SSRs in all experiments, but the allele designation was simpler and more reliable.

Across all experiments, our study demonstrates that plant breeding does not inevitably lead to a loss of genetic diversity. We confirmed that CIMMYT's breeding strategies contributed to a successful increase in genetic variation. These results provide useful information to wheat breeders in CIMMYT and other national programs, regarding the use of wild relatives and landraces for the enhancement of the genetic base of wheat germplasm. In addition, our research provides a base of knowledge for future association studies, identification of useful alleles, and their use in marker-assisted selection.

8 ZUSAMMENFASSUNG

Weizen (*Triticum aestivum*) ist eine der wichtigsten Getreidearten der Welt. Während in den letzten Jahren der Weizenverbrauch weltweit auf knapp 600 Mio. t anstieg, ist die Produktion rückläufig. Ein erneuter Produktionszuwachs kann angesichts weltweit limitierter Anbauflächen nur über verbesserte Anbauverfahren und die Züchtung verbesserter Weizensorten erfolgen. Mit verschiedenen Strategien versucht das Internationale Institut für Mais und Weizenzüchtung (CIMMYT) in Mexiko das Ertragspotential des Weizens speziell in Entwicklungsländern zu erhöhen. Aufgrund der in vielen dieser Länder vergleichbaren Anbaubedingungen züchtet das Weizenprogramm u.a. für definierte Makro-Umwelten (MEs). Auf der Suche nach wertvollen Allelen greifen die CIMMYT-Züchter häufig auf Wildtypen in der Genbank zurück. Mit der Erzeugung von synthetischen Weizen (SHWs) werden Eigenschaften von *T. durum* und *T. tauschii* kombiniert und anschließend mittels Rückkreuzungen in modernes Zuchtmaterial von *T. aestivum* eingebracht. Landrassen (LCs) stellen ein zusätzliches Reservoir für Resistenzen und verbesserte Umwelanpassung dar. Die Züchtung von Hybridweizen wird als weitere Option zur Erhöhung des Ertragspotentials angesehen. Die genetische Diversität im Ausgangsmaterial ist gleichermaßen wichtig für alle diese Züchtungsstrategien. Aufgrund seiner weltweiten Bedeutung stellt das Weizenmaterial des CIMMYT eine ausgezeichnete Quelle zur Untersuchung der verschiedenen Optionen für die Weizenzüchtung dar.

Hauptzielsetzung der vorliegenden Studie war die Erforschung der genetischen Diversität in aktuellem Zuchtmaterial und genetischen Ressourcen des CIMMYT. Im Einzelnen wurden folgende Fragestellungen bearbeitet: (1) Spiegelt sich die systematische Züchtung für verschiedene MEs in der genetischen Diversität zwischen Weizenlinien wieder (Experiment 1)? (2) Kann durch die Erzeugung von SHWs (Experiment 2) bzw. die Nutzung von LCs (Experiment 3) eine Erweiterung der genetischen Variation in modernem Zuchtmaterial erreicht werden? (3) Welche Möglichkeiten zur Anhebung des Ertragspotentials bietet die Erzeugung von Hybriden (Experiment 4)? (4) Inwieweit kann mit der Bestimmung genetischer Distanzen (GD) zwischen Elternlinien die Heterosis in Weizenhybriden vorausgesagt werden (Experiment 4)? (5) Zeigen genomische und EST-abgeleitete SSRs Unterschiede in der Bestimmung genetischer Diversität (Experimente 1 bis 4)? (6) Ist die genetischer Diversität, berechnet anhand von SSRs, mit dem Abstammungskoeffizienten (COP) korreliert (Experimente 1 und 3)?

In Experiment 1 wurden 68 Hochleistungslinien mit 99 SSR Markern untersucht, von denen 51 EST- und 46 genomische SSRs waren. Es wurde ein hohes Ausmaß an genetischer Diversität ermittelt ($\overline{GD} = 0,41$). Der Hauptteil der genetischen Variation (91%) wurde innerhalb der für MEs gezüchteten Linien gefunden, was auf eine außerordentliche Breite des CIMMYT-Zuchtmaterials hinweist. In der Hauptkoordinatenanalyse (PCoA) gruppieren die Linien unabhängig von ihrer Anpassung an fünf MEs. Mögliche Ursachen dafür sind: (a) Es wurden Allele selektiert, welche hohe Fitness in mehreren MEs bewirken; (b) die für die Anpassung verantwortlichen Allele wurden nicht mit den untersuchten SSRs erfasst; (c) die Selektion auf Anpassung an die MEs erstreckte sich über zu wenige Selektionszyklen.

In Experiment 2 wurden 11 SHWs, 7 rekurrente Elternlinien (BWs) und 13 davon abgeleitete Familien von Rückkreuzungslinien (SBLs) mit 90 SSRs untersucht. Anhand einer Clusteranalyse und PCoA konnten die SHWs eindeutig von den SBLs sowie BWs getrennt werden. Sie stellen somit einen eigenständigen Pool an Genmaterial mit hoher Allelvariation dar. Zwei SBL-Familien wurden auf einen selektiven Vorteil der SHW-Allele getestet. Sechs SSRs zeigten dabei eine signifikante Abweichung von den unter Mendelscher Vererbung erwarteten Genfrequenzen, was auf eine gerichtete Selektion der SHW-Allele schließen lässt. Die Erzeugung von SHWs bietet somit ein Potential zur Erweiterung der genetischen Variation in modernem Zuchtmaterial.

In Experiment 3 wurden Akzessionen von 36 LC aus verschiedenen Ländern sowie 119 Akzessionen von neun LC-Populationen aus der Türkei und Mexiko mit 76 bzw. 44 SSRs analysiert. Beide Materialgruppen zeigten ein hohes Maß an genetischer Diversität ($\overline{GD} = 0,69$ bzw. $0,54$). Die 36 LCs konnten nicht entsprechend ihren Ursprungskontinenten getrennt werden. Zudem wurde eine bisher unbekannt Beziehung zwischen einer chilenischen und nigerianischen LC aufgedeckt. Mit Ausnahme zweier türkischer LC-Populationen konnten alle neun untersuchten LCs differenziert werden. Der Großteil der genetischen Variation wurde jedoch innerhalb der LC-Populationen ermittelt. Die Ergebnisse dieses Experiments leisteten somit einen wesentlichen Beitrag zur Charakterisierung der LCs und führten zu wichtigen Erkenntnissen für das künftige Management von Genbank-Akzessionen.

In Experiment 4 wurden 112 Weizenhybriden sowie deren Elternlinien in zwei mexikanischen Umwelten für Ertrag, Wuchshöhe, Blütezeit und Reife evaluiert. Die

Heterosiswerte für Ertrag schwankten zwischen -15,3% und 14,1% und waren im Durchschnitt zu niedrig, um die höheren Produktionskosten für das Hybridsaatgut zu amortisieren. Die Korrelationen zwischen Elternmittel und Hybridleistung sowie Eigenleistung und Testkreuzungsleistung der Hybrideltern waren signifikant und für alle Merkmale inklusive Ertrag sehr hoch ($r = 0,86$ bzw. $0,91$). Mit Hilfe von 113 SSRs konnten die Elternlinien in drei Gruppen eingeteilt werden. Die Korrelation zwischen GD und Heterosis war jedoch niedrig und nicht signifikant. Nach diesem Ergebnis sind die Aussichten für den potentiellen Erfolg von Hybridweizen in Entwicklungsländern als gering einzustufen.

In Experiment 1 und 4 waren die Korrelationen zwischen den GD und COP-Werten signifikant aber niedrig. Dies beruht vermutlich auf unrealistischen Annahmen bei der Berechnung des COP, da hierbei Selektion und genetische Drift ignoriert werden. Im Vergleich zu genomischen SSRs spiegelten auch EST-SSRs keine funktionelle Diversität wieder. Die EST-SSRs waren in allen Experimenten weniger polymorph, jedoch einfacher auszuwerten als die genomischen SSRs.

Über alle Experimente hinweg zeigt unsere Studie, dass Pflanzenzüchtung nicht notwendigerweise zum Verlust genetischer Variation führen muss. Sie belegt, dass die am CIMMYT verfolgten Strategien erfolgreich zu einer Verbreiterung der genetischen Variation beitragen. Die Ergebnisse geben den Weizenzüchtern am CIMMYT und in nationalen Zuchtprogrammen wertvolle Hinweise zur Nutzung von Wildarten bzw. Landsorten für die Erweiterung der genetischen Basis bei Weizen. Außerdem bieten sie eine Basis für künftige Assoziationskartierungsstudien zur Identifizierung von wertvollen Allelen und deren Nutzung im Rahmen der marker-gestützten Selektion.