

Die Erfolgsgeschichte Raps geht weiter

gabi **GABI-YelLowSin: Funktionelle Genomik zur Entwicklung von gelbsamigen, Niedrig-Sinapin-Rapssorten.** Der Kreuzblütler Raps – eine vergleichsweise sehr junge Kulturpflanze – hat in den letzten Jahrzehnten als Nutzpflanze eine einzigartige, erfolgreiche Entwicklung genommen. Wenn es nach den deutschen Rapsforschern und Züchtern im GABI YelLowSin-Verbund und ihren kanadischen Forschungspartnern geht, soll diese Erfolgsstory nun mit einem neuen Kapitel fortgeschrieben werden. Dieses handelt von einer Wertsteigerung der Nebenprodukte aus der Rapsölproduktion. Im Wesentlichen geht es dabei um das proteinreiche Rapsextraktionsschrot. Unser Ziel ist es, die Zusammensetzung des wertvollen Rapsschrotes weiter zu optimieren, um daraus hochwertige Futter- und Lebensmittel herstellen zu können. Neben der klassischen Pflanzenzüchtung spielen dabei auch moderne Werkzeuge der funktionellen Genomanalyse und der Gentechnik eine wesentliche Rolle.

Rod Snowdon und Wolfgang Friedt

Eine neue Art entsteht

Als neue Pflanzenart ist der Raps (*Brassica napus*) vermutlich erst im Mittelalter durch eine spontane interspezifische Kreuzung entstanden, als neue Handelsrouten über die Seidenstrasse dazu führten, dass die Elternarten Rübsen (*Brassica rapa*, $2n=20$) aus Asien und Kohl (*Brassica oleracea*, $2n=18$) aus dem Mittelmeerraum wohl zum ersten Mal in Europa gemeinsam kultiviert wur-

den. Mithin besitzt Raps die vollständigen Genome der beiden Eltern und ist daher polyploid, genauer amphidiploid ($2n=38$). Schon bald entdeckte man, dass aus den ölhaltigen Samen der neuen, polyploiden Pflanzen ein wertvolles Samenöl gewonnen werden konnte. So wurde Raps in mittel- und nordeuropäischen Ländern, in denen andere Ölpflanzen nur schlecht gedeihen, der Hauptlieferant für Brenn- und Leuchtöl. Die Nachfrage nach

Raps: Der „große Bruder“ von *Arabidopsis* ist der wirtschaftlich bedeutendste Kreuzblütler weltweit. Die Rapsgenomforschung profitiert enorm von den Erkenntnissen der *Arabidopsis*-Forschung.



Rapsöl erhöhte sich Mitte des 19. Jahrhunderts, als belastbare Schmierstoffe für die neuen Dampfmaschinen benötigt wurden. Auch bei der Entwicklung des Automobils einige Jahrzehnte später diente das Rapsöl als wertvoller Kraftstoff. Der wird auch heute noch für geeignete Motoren verwendet, vor allem aber in Form von Biodiesel in größeren Mengen als Dieseleratz oder für die Beimischung zu fossilem Dieselmotorkraftstoff eingesetzt.

Ein neues, gesundes Speiseöl wird geschaffen

Heute ist weitgehend anerkannt, dass Rapsöl eines der gesündesten Pflanzenöle überhaupt darstellt. Unter den Speiseölen besitzt es die geringsten Anteile gesättigter Fettsäuren und eine ernährungsphysiologisch optimale Kombination der essentiellen, mehrfach ungesättigten Omega-Fettsäuren Alpha-Linolensäure (C18:3 ω -3) und Linolsäure (C18:2 ω -6). Allerdings hat das Rapsöl erst in jüngster Zeit als Speiseöl Bedeutung erlangt. Denn Ende der 1960er Jahre gelang es kanadischen Forschern, in einem umfangreichen Screening aller vorhandenen Rapsorten eine Mutante in der deutschen Sorte ‚Lihó‘ zu entdecken, bei der quasi die Erucasäure (C22:1n-9) durch Ölsäure (C18:1n-9) als Hauptfettsäure ersetzt war. Die in fast allen Kreuzblütlern vorkommende Erucasäure gibt dem Öl einen unangenehmen Geschmack, sie kann aber auch Herzschäden hervorrufen und ist daher in einem Speiseöl unerwünscht. Dagegen gilt die einfach ungesättigte Ölsäure als ernährungsphysiologisch wichtigste Komponente eines gesunden Speiseöls. Heute weiß man, dass die weitgehende Erucasäurefreiheit von Raps – die sogenannte „0-Qualität“ – durch Knockout-Mutationen in zwei Kopien des Gens Fatty Acid Elongase 1, das für die Fettsäureverlängerung in den Samen zuständig ist, hervorgerufen wurde. Inzwischen wurden auch weitere Mutanten entdeckt, die sich durch sehr hohe Gehalte an Ölsäure (>75%) und niedrige Linolensäuregehalte (<3%) auszeichnen. In Kombination ergibt sich hieraus die sogenannte „HOLLI-Qualität“ (aus High Oleic, Low Linolenic). Wegen ihrer hohen Hitze- und Oxidationsstabilität werden solche Öle besonders in der Nahrungsmittelindustrie und in der Gastronomie als Frittierfett geschätzt. In Gegensatz zu importierten Alternativen wie Palmöl benötigen HOLLI-Frittieröle keine aufwändige Fetthärtung, was zur Entstehung von gesundheitsschädlichen Transfettsäuren führen kann.

Glucosinolatarme Sorten: Entstehung einer Ölpflanze mit globaler Bedeutung

Der großflächige Anbau einer Ölpflanze lohnt sich grundsätzlich nur, wenn auch die Rückstände der Ölgewinnung als Tierfutter

oder Proteinlieferant für die Lebensmittelindustrie verwendet werden können. Wie in den nahe verwandten Senfarten enthalten allerdings die Samen von Raps auch senftypische Geschmacksstoffe, die so genannten Glucosinolate (Senfölglykoside). In Tierfuttermischungen können diese Ursache einer geringen Futterakzeptanz sein und auch Stoffwechselerkrankungen verursachen. Erneut gelang es aber kanadischen Forschern durch chemische Analysen in Form der polnischen Sorte ‚Bronowski‘ eine wertvolle Mutante zu identifizieren – diesmal mit geringem Samenglucosinolatgehalt. In einem internationalen Rückkreuzungsprogramm wurde dieses polygenische Merkmal in ertragreiches, erucasäurefreies Zuchtmaterial übertragen. Als Ergebnis entstand 1974 die erste erucasäurefreie, glucosinolatarme Sorte.

In Kanada wurde sogar ein neuer Markenname für die dortigen Sommerrapsorten mit dieser „00-Qualität“ erfunden: Aus Canadian oil, low acid wurde Canola. Wegen der längeren Vegetationsperiode und somit längeren Züchtungsdauer des hierzulande überwiegend angebauten Winterrapses dauerte es zwar noch mehrere Jahre, bis die ersten 00-Sorten 1986 in Deutschland auf dem Markt kamen. Aber seitdem ist die Anbaufläche von Raps hierzulande stetig gestiegen, von damals ca. 200.000 ha auf heute 1,5 Mio. ha. Dieser Anbauboom liegt nicht nur am hochwertigen Produkt, sondern auch an der besonders positiven Wirkung von Raps in der landwirtschaftlichen Fruchtfolge: Nach Raps als Vorfrucht erzielen nachfolgende Getreidefrüchte unter anderem wegen der guten Bodendurchwurzelung und Nährstoffanreicherung höhere Erträge.

Als nächster Schritt: Tofu aus Rapsprotein?

Mit der stetig wachsenden Nachfrage nach Rapsöl fallen immer größere Mengen an Rapsextraktionsschrot an. Dieses enthält zwar ein sehr wertvolles Protein, das wegen seines Gehaltes an essentiellen Aminosäuren und Mineralien dem Sojaprotein mindestens gleichwertig ist. Im Gegensatz zum Sojaprodukt liegen neben den Glucosinolaten im Rapschrot aber auch eine Reihe unerwünschter Phenolsäuren und kondensierter Tannine vor, welche die Qualität des Schrotes als Tierfutter (insbesondere für Hühner und Schweine) mindern und zudem die Proteinaufreinigung für eine Nutzung in der Humanernährung erschweren. Der Großteil dieser Substanzen kommt in den Samenschalen vor, so dass ein reduzierter Schalenanteil den Wert der Rapsaat als Futtermittel oder Proteinquelle wesentlich steigern könnte. Gleichzeitig nimmt bei dünnchaligem Raps der Embryo proportional einen höheren Teil des Samens ein, so dass der absolute Gehalt an Öl plus Protein

Erst seit ein paar Jahrzehnten prägen die leuchtend gelben Rapsfelder die Frühjahrslandschaft Deutschlands so markant. Deutsche und kanadische Forscher wollen mit Hilfe funktionaler Genomik und Biotechnologie-gestützter Züchtung den hohen Wert von Raps in der Futtermittel- und Nahrungsmittelindustrie noch weiter steigern.

deutlich erhöht werden kann. Würden solche hellen Rapsamen auch noch frei von bitter schmeckenden Sinapinsäuren sein, so hätte man nach der Ölextraktion künftig ein hochwertiges Produkt, das nicht allein hervorragend als Tierfutter abzusetzen wäre, sondern auch als einheimische Proteinquelle für die Lebensmittelindustrie genutzt werden könnte – möglicherweise auch in Form von Tofu aus Raps!

Biotechnologie und Genomforschung trifft die praktische Pflanzenzüchtung

Ein neues, ehrgeiziges Ziel der Rapszüchtung heißt daher YelLowSin – für "Yellow seed, Low Sinapine rapeseed/canola." Um dieses Ziel zu erreichen, benötigt die klassische Pflanzenzüchtung jedoch massive biotechnologische Hilfestellung. Das liegt in erster Linie daran, dass der Züchter zunächst die notwendige genetische Variation in seiner Pflanzenart schaffen muss, bevor er überhaupt mit Erfolg auf ein gegebenes Merkmal selektieren kann. Bei Raps kommen aber normalerweise keine gelben Formen vor, und Sinapin-freie Mutanten sind sogar in der gesamten Kreuzblütler-Familie unbekannt. Im Falle der Hellsamigkeit stehen zumindest andere *Brassica*-Arten als Gen-Donoren zur Verfügung, unter anderem auch die Ur-Eltern von Raps – Kohl und Rübsen. Hier kann man im Labor die natürliche Kreuzung nachvollziehen und mit Hilfe der so genannten Embryo-Rescue-Methode Artkreuzungen herstellen, wie sie zur Entstehung der Spezies Raps führte. Auch aus anderen engen Verwandten von Raps kann man orthologe Gene durch interspezifische Kreuzungen übertragen. So konnten entsprechende Samenfarbgene in neue *B. napus*-Formen überführt werden. Da solche Artbastarde auch auf natürliche Weise entstehen können, sind sie keine gentechnisch veränderten Organismen.

Von Hochleistungsrapssorten sind solche „resynthetisierten“ Zuchtlinien allerdings noch sehr weit entfernt. Darüber hinaus ist die Samenfarbe in Raps ein komplexes und umweltempfindliches Merkmal, was die Selektion in Pflanzennachkommenschaften zusätzlich erschwert. Daher werden im YelLowSin-Verbund neben Hochdurchsatz-Selektionstechniken – wie der Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) zur nicht-destruktiven Charakterisierung von Zuchtlinien bzgl. deren nutritiven und antinutritiven Inhaltsstoffen – auch funktionelle Genomik-Werkzeuge entwickelt, um die wichtigsten beteiligten Gene zu identifizieren und züchterisch zu nutzen. Im Falle der Sinapinsäuren zum Beispiel werden Gene des Phenylpropanoid-Biosyntheseweges mittels doppelsträngiger RNA-Interferenz herunterreguliert und die Effekte auf die Biosynthese der unerwünschten Komponenten im Samen unter-

sucht. Stellt sich heraus, dass ein ausgeschaltetes Gen oder eine Kombination von Genen die erwünschte Reduktion hervorbringt, so können mutagenisierte Populationen von gelbem Raps mittels TILLING (Targeting induced local lesions in genomes) nach Knockout-Mutanten dieser Gene durchsucht werden. Identifizierte Mutanten werden dann für die Züchtung von YelLowSin-Sorten genutzt.

Arabidopsis als Modellpflanze, die dem Raps besonders nahe steht

Unter den bedeutenden Kulturpflanzen sind die *Brassica*-Arten die nächsten Verwandten des Modellkreuzblütlers *Arabidopsis* (Acker-schmalwand). Somit profitiert die Forschung des relativ großen und komplexen Rapsgenoms enorm von den vorhandenen Kenntnissen des Modellgenoms. Beispielsweise sind Target-Gene für die Sinapin-Regulierung in *Arabidopsis* schon bekannt. Die relevanten *B. napus*-Orthologe (meist liegen mehrere Genkopien im polyploiden Rapsgenom vor) können aus Expressed Sequence Tag (EST) Sequenzdatenbanken abgeleitet werden. Für *B. napus* liegen inzwischen mehrere hunderttausend Samen-exprimierte ESTs vor, die überwiegend aus Arbeiten der kanadischen Kooperationspartner des YelLowSin-Verbundes stammen. Darunter finden sich auch orthologe Rapssequenzen für zahlreiche *transparent testa*-Gene, die in *Arabidopsis* durch dünnere, weniger stark gefärbte Samenschalen ausgeprägt sind – analog zum erwünschten Merkmal in Raps. Im YelLowSin-Vorhaben werden die *B. napus*-Kopien solcher interessanter Gene durch genetische Kartierung anhand der EST-Sequenzen, ggf. mit Hilfe einer *B. napus*-Genombibliothek, im Rapsgenom lokalisiert und deren Positionen mit denen wichtiger Quantitative Trait Loci (QTL) für Samenfarbe und unerwünschte Sameninhaltsstoffe verglichen. Findet man Zusammenhänge, werden die entsprechenden Genombereiche mittels vergleichender Genomanalyse genauer untersucht. Dabei kommt jedoch zusätzliche Hilfe von anderer Seite.

Koreanischer Chinakohl hilft der Rapsgenomforschung

Zwar liegt die vollständige Genomsequenz von *B. napus* noch nicht vor, aber ein internationales Konsortium (allerdings bisher ohne deutsche Beteiligung) arbeitet momentan an der Sequenzierung einer koreanischen Chinakohlart. Wie Rübsen gehört Chinakohl der A-Genom-Spezies *B. rapa* an. Da das *B. rapa*-Genom in Raps fast vollständig enthalten ist und mit dem C-Genom sehr große Ähnlichkeit besitzt, stellt die Chinakohl-Genomsequenz



Die Samenschale von Raps beinhaltet normalerweise viele phenolische Inhaltsstoffe. Dazu gehören antinutritive Phenolsäuren und dunkle Tannine, die den Wert von Rapsschrot als Futtermittel mindern und die Extraktion von Rapsprotein für die Nahrungsindustrie erschweren. Mit dünn-schaligen, braun- oder gelbsamigen Rapsformen lässt sich die Menge dieser unerwünschten Substanzen bei gleichzeitiger Erhöhung des Öl- und Proteinanteiles wesentlich reduzieren.

heute schon eine weitere wichtige Ressource für die Rapsgenomforschung dar. Viele der *B. rapa*-Sequenzdaten werden schon während des Sequenzierungsprojektes veröffentlicht (siehe www.brassica.info/). Durch Computer-gestützte Vergleiche der Arabidopsis-Genomsequenz mit *B. rapa*-Genombereichen, in denen Samenfarbe-gekoppelte Sequenzmarker vorkommen, können syntänische Arabidopsis-Genombereiche nach potentiellen Kandidatengenen für Samenfarbe und assoziierte Merkmale abgesehen werden. Auf diese Weise ist es YelLowSin-Forschern gelungen, einen wichtigen QTL für Samenfarbe-assozierte antinutritive Sameninhaltsstoffe mit dem korrespondierenden Genombereich in Arabidopsis abzugleichen und aussichtsreiche Kandidatengene zu identifizieren. Aus der entsprechenden Region konnten ebenfalls zahlreiche neue, QTL-gekoppelte Marker entwickelt werden, die fortan in Marker-gestützten Zuchtprogrammen der YelLowSin-Partner eingesetzt werden können. Ein bisschen Glück gehört allerdings auch dazu: Erstens entstammt die Samenfarbe in deutschen Gelbsamigkeitsquellen dem A-Genom. Und zweitens befindet sich unter den A-Genom-Chromosomenbereichen, in denen bereits eine gute Genomabdeckung durch das Sequenzierungskonsortium erreicht wurde, ausgerechnet der Chromosomenabschnitt, in dem Schlüsselgene für die wichtigsten samenfarbe-assozierte Inhaltsstoffe vermutet werden. Somit ist der YelLowSin-Verbund optimistisch, dass in absehbarer Zeit die Bezeichnung „gelber Raps“ nicht nur in der Blüte, sondern auch nach der Samenernte seine Berechtigung haben könnte.

Partner im GABI-YelLowSin-Verbund

- Justus-Liebig-Universität Gießen, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung (wissenschaftliche Koordination)
- Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie, Abteilung Sekundärstoffwechsel
- Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Lehrstuhl Pflanzenzüchtung
- Norddeutsche Pflanzenzucht H.-G. Lembke KG (wirtschaftliche Koordination)
- Deutsche Saatveredelung AG
- KWS Saat AG
- Saaten-Union Resistenzlabor GmbH

Das YelLowSin-Vorhaben wird in Zusammenarbeit mit dem kanadischen Verbundprojekt "Designing Oilseeds for Tomorrow's Markets" (<http://www.dotm.ca/>) durchgeführt.

Kontaktangaben der Autoren

Justus-Liebig-Universität Gießen,
IFZ – Interdisziplinäres Forschungszentrum
für biologische Grundlagen der Umweltsicherung,
Professur für Pflanzenzüchtung
Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392 Gießen
E-Mail: Rod.Snowdon@agrar.uni-giessen.de
E-Mail: Wolfgang.Friedt@agrar.uni-giessen.de

GENOMXPRESSPORTAL

- Kostenloses Abo der Druckausgabe
- Alle bisherigen Ausgaben und Sonderhefte als PDF
- Umfangreiche Suchfunktion im Archiv
- Informationen zu den Netzwerken

www.genomxpress.de

