



Qualität von inländischem Saatmais

Daniel VALENGHI und Hans-Ruedi BOSSHARD, Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau (FAL), Reckenholz, CH-8046 Zürich

Die Erwartungen betreffend Leistungsstärke und Qualität sind bei Saatgut von Mais besonders hoch. Wir prüften die Echtheit von Hybridsaatgut aus schweizerischer Produktion im Feld durch Nachkontrollanbau und im Labor mittels isoelektrischer Fokussierung der Reserveproteine im Korn. Die Ergebnisse von 75 Saatgutposten aus den Jahren 1993 bis 1995 zeigten bei 67 Posten eine gute bis sehr gute Sortenreinheit. Die Elektrophorese erwies sich als eine schnelle und zuverlässige Methode, um die Saatgutpartien qualitativ zu beurteilen. Sie ist zurzeit nicht Bestandteil der offiziellen Anerkennungsrichtlinien, kann jedoch verwendet werden, um qualitativ schlechte Saatgutposten unmittelbar nach der Ernte zu identifizieren.

Für den Maisanbau verwenden Schweizer Landwirte ausschliesslich Saatgut von Hybridsorten. Hybridsorten vereinen erwünschte Eigenschaften von zwei oder mehreren Inzucht-Linien, welche gezielt kombiniert werden. Die Erwartungen betreffend Leistungsstärke und Qualität sind bei Hybridsaatgut besonders hoch. Wie kann überprüft werden, dass die gekauften Samen wirklich den Hybriden entsprechen, die auf der Verpackung deklariert werden? Biochemische Methoden wie die Elektrophorese erlauben es, schnell und treffsicher die Qualität des Hybridsaatgutes festzustellen. Die Elektrophorese wird zur Bestimmung von Sortenreinheit und Sortenechtheit sowohl in der Pflanzenzüchtung und der Sortenprüfung als auch in der Saatgutzertifizierung angewendet (Cook 1984). Die Auftrennung der Reserveproteine (Zeine) im Korn durch Isoelektrische Fokussierung ist in Deutschland eine gebräuchliche Methode zur Bestimmung der Saatgutqualität (Leist 1988).

Saatgutproduktion

Hybridsaatgut ist ein teures und wertvolles Produkt. Es wird durch ein ausgeklügeltes Kreuzungsverfahren zwischen zwei Elternkomponenten, dem Samenträger und dem Pollenspender gewonnen. Diese werden zur Produktion von Saatgut reihenweise angebaut. Auf vier Reihen Samenträgerpflanzen folgen zwei oder drei Reihen Pollenspenderpflanzen. Die Pollenspender werden gestaffelt gesät, damit die Verfügbarkeit an Pollen ge-

währleistet wird. Um Selbstbefruchtung zu verhindern, wird der Samenträger vor der Pollenausschüttung mechanisch kastriert. Die Befruchtung übernimmt der Pollenspender. Ob es tatsächlich zur gewünschten Befruchtung gekommen ist, bestätigt sich erst ein Jahr später im Nachkontrollanbau. Immer häufiger wird jedoch die Echtheit der Hybriden elektrophoretisch unmittelbar nach der Ernte untersucht (Abb. 1).

Echtheit der Hybriden

Die Saatgutproduktion in der Schweiz erfolgt nach offiziellen Richtlinien (Getreie-

desaatgutverordnung 1994), die unter anderem Vorschriften über die Isolation der Parzellen und den maximalen Anteil unkastrierter Pflanzen enthalten. Während der Produktion kann fremder Pollen die Kreuzung verunreinigen. Infolge unvollständiger Kastration können sich die Samenträger selbstbefruchten. Beides führt in der folgenden Generation zu unerwünschten, falschen Pflanzen, seien es Selbstungen, seien es falsche Hybriden. Anhand von Feldbesichtigungen während der Bestäubung und einem Nachbau jeder produzierten Saatgutpartie wird die Echtheit nach internationalen Regeln untersucht (OECD 1988). Der Nachbau erfolgt jedoch erst ein Jahr nach der Produktion und dient ausschliesslich der Kontrolle oder als Tatbestand im Falle einer Reklamation. Die Elektrophorese ist eine praktische und erprobte Labormethode, die Echtheit von Hybriden innert nützlicher Frist festzustellen. Meistens wird die vertraglich geregelte Mindestreinheit von 95 bis 98 % mit elektrophoretischen Analysen unmittelbar nach oder sogar vor der Ernte überprüft.



Saatmaisproduktion in der Schweiz. Der Samenträger wird vor der Pollenausschüttung entfaht. (Foto: Mario Bertossa)

Sorten und Saatgut

Die untersuchten Saatgutpartien stammten aus schweizerischer Produktion aus den Anbaujahren 1993 bis 1995. Sie wurden während der letzten drei Jahre parallel im Nachbau und im Labor mittels Elektrophorese auf Sortenreinheit getestet. Die verwendeten Samenmuster wurden von einer Fachperson nach dem Entkörnen der Kolben gezogen. Die Muster dienten zugleich der im Rahmen der Zertifizierung üblichen Laboranalysen (Keimfähigkeit, Wassergehalt und Reinheit), dem Nachkontrollanbau und der Elektrophorese. Der Nachkontrollanbau erfolgte in Reihenparzellen. Im Feld wurden 150 bis 300 Pflanzen pro Posten beobachtet. Die Echtheit der Hybriden wurde durch die Summe der geselbsteten Samenträger und der falschen Hybriden in Prozenten ausgedrückt. Jede abweichende Pflanze zählte entweder als Selbstung des Samenträgers oder als falsche Hybride.

Die Methode für die isoelektrische Fokussierung (IEF-Elektrophorese) der Reservewproteine des Kornes der Internationalen Vereinigung für Saatgutprüfung (ISTA 1992) wurde übernommen. Die Trennung der alkohollöslichen Proteine wurde in einem ultradünnen (240 x 180 x 0,12 mm) Polyacrylamid-Gel mit einem pH von 2 bis 10 bei einer Temperatur von 10° C ausgeführt. Die Probenextrakte wurden in Anodennähe aufgetragen und in mehreren Strom-/Spannungs-/Schritten getrennt (maximale Spannung = 3000 Volt; maximale Stromstärke = 17,5 Milliampère; maximale Leistung = 35 Watt). Die Elektrophorese war jeweils nach mindestens 1747 Voltstunden beendet (ca. 90 Minuten). Die Proteinbanden wurden fixiert und mit einer Blaufärbung sichtbar gemacht.

Die Körner wurden mittels einem speziellen Gerät zeitsparend zerkleinert. Der Musterumfang enthielt üblicherweise 192 Körner, im Zweifelsfall oder bei Problemen wurde auf 384 verdoppelt.

Feld- und Laborergebnisse

Um die Ergebnisse der Elektrophorese zu beurteilen, erzeugten wir für jede Sorte ein Referenzmuster (Abb. 2 und 3). Die IEF-Elektrophorese kann nur dann verwendet werden, wenn sich die Elektropherogramme von Pollenspender und Samenträger deutlich und in einer oder mehreren Banden unterscheiden (Abb. 1). Dabei ist sowohl das Vorhandensein als auch die



Beurteilung der Sortenreinheit in Nachkontrollparzellen. Der Kolben in der Mitte gehört eindeutig zu einer falschen Pflanze. (Foto: Gabriela Brändle, FAL)

Lage der Banden ausschlaggebend. Echte Hybriden wiesen ein einheitliches Bandenmuster auf. Dieses setzte sich aus der Kombination der Bandenmuster der Eltern zusammen (Abb. 1). Eine Abweichung in einer Bande, wurde als Verunreinigung betrachtet und als Fehler bei der Saatgutproduktion gewertet (Abb. 4 und 5). Für die untersuchten Sorten waren diese Voraussetzungen mit Ausnahme der Sorten SILTO und SENATOR erfüllt. Die

Interpretation der Elektropherogramme von Dreiweg- und Doppelhybriden erwies sich als schwierig, weil Teile der Elternbanden bereits in der F1-Generation ein uneinheitliches Bild zeigten. Die Interpretation von Einfachhybriden war hingegen leichter. Die tabellarische Darstellung zeigt die beobachteten Verunreinigungen im Feld und im Labor (Tab. 1). Bei 67 der 75 untersuchten Saatgutposten lag die Verunreinigung sowohl im Feld als auch

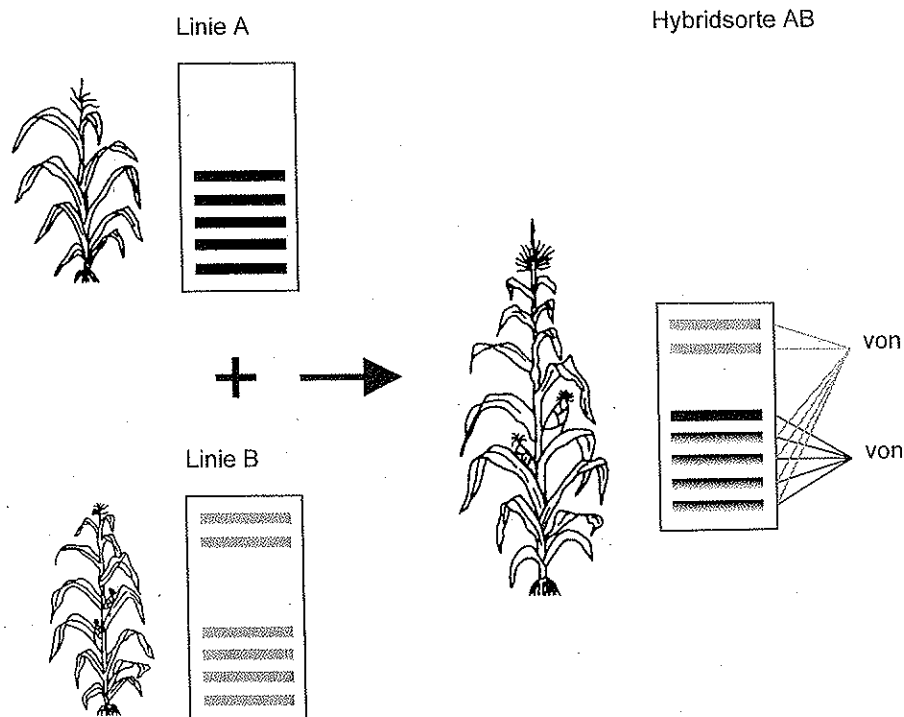


Abb. 1. Schema der Hybridproduktion von Mais und Kombination der Banden der Elektropherogramme.

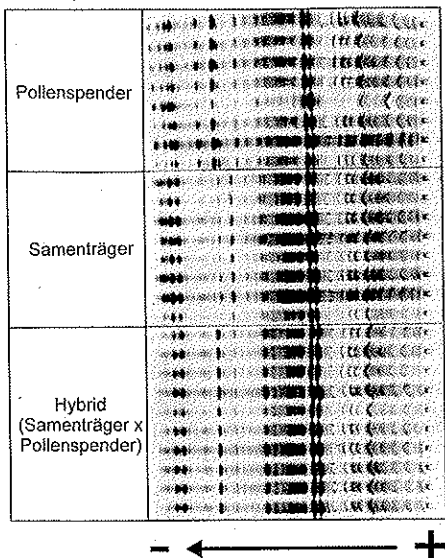


Abb. 2. Elektropherogramm (Referenzmuster) der Sorte Magister.

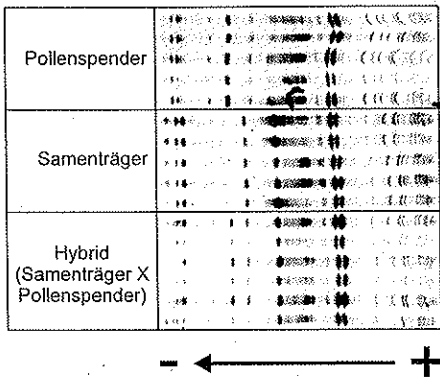


Abb. 3. Elektropherogramm (Referenzmuster) der Sorte DK 250.

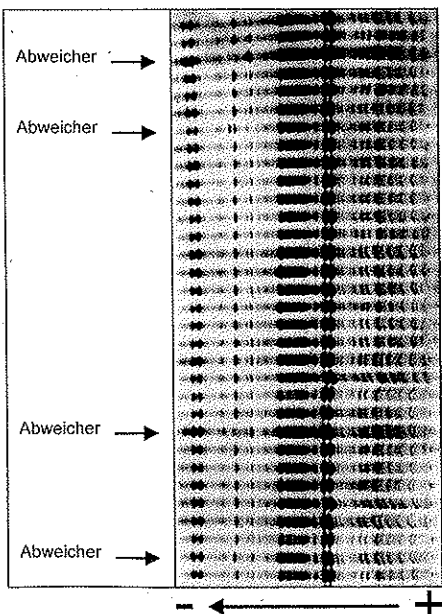


Abb. 4. Auszug des Elektropherogramms der Sorte Magister mit typischen Abweicher.

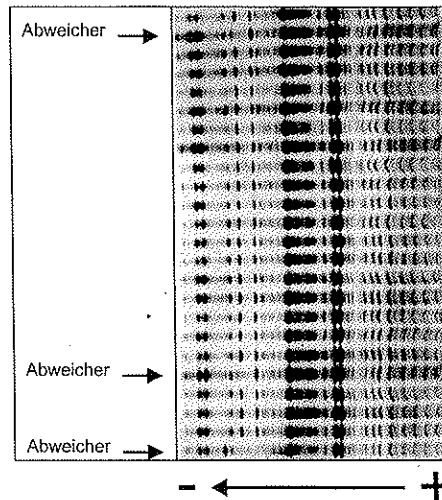


Abb. 5. Auszug des Elektropherogramms der Sorte DK 250 mit typischen Abweicher.

im Labor unter der üblich angewendeten Toleranzgrenze von 5 %. Bei zehn Posten lagen die Laborergebnisse über dieser Grenze. Im Feld trat dies jedoch nur einmal, bei Postennummer 21, auf. Diese Unterschiede entstehen möglicherweise, weil nicht lebensfähige Körner oder sehr schwache Pflanzen im Feld nicht beurteilt werden können, im Labor aber als Abweicher identifiziert werden. Die Ergebnisse im Feld entsprachen jedoch in den meisten Fällen denjenigen im Labor. Die Sorte AVISO wies im Labor bei allen getesteten Posten deutlich mehr Verunreinigungen auf als im Feld. Auch bei den zwei Einfachhybriden DK 250 und MAGISTER trat dies bei den Posten Nummer 27, 28 und 29 auf.

Folgerungen und Ausblick

Die Bestimmung der Echtheit von Hybriden mittels der IEF-Elektrophorese war für die meisten untersuchten Hybriden möglich. Allgemein können folgende Vorteile der Elektrophorese gegenüber der herkömmlichen Feldmethode im Nachkontrollanbau erwähnt werden:

- Die Ergebnisse liegen unmittelbar nach der Ernte vor.
- Die Sortenidentität wird in allen Körnern erfasst und nicht durch den Feldaufgang beeinflusst.
- Die Kornzahl einer Stichprobe kann, unter Berücksichtigung der Kosten, erhöht und der Versuch bei Zweifeln wiederholt werden.
- Die Ausprägung der Banden ist genetisch verankert und wird weder von der Witterung noch von der Umwelt beeinflusst.

Die Interpretation der Echtheit der Hybriden ist einfach und weniger subjektiv als die Beurteilung im Feld. Um die IEF-Elektrophorese verwenden zu können, müssen die Hybridkomponenten aufgrund der Bandenmuster unterscheidbar sein. Dies war bei zwei Sorten nicht der Fall. Für solche Sorten eignet sich diese Methode nicht. Andere Methoden wie die Elektrophorese der Isoenzyme könnten in solchen Fällen Anwendung finden. Diese werden vor allem bei der Sortenprüfung zur Unterscheidung der Hybridkomponenten angewendet (Bourgoin-Greneche und Lallemand 1993). Die Homogenität der Bandenmuster ist eine weitere Voraussetzung für die korrekte Interpretation der Ergebnisse. Bei Doppel- und Dreiweghybriden zeigten die Elektropherogramme bereits eine Variation in der F1-Generation und erschwerten damit die Interpretation des Bandenmusters. Die Elektrophorese ist zurzeit nicht Bestandteil der offiziellen Anerkennungsrichtlinien. Diese basieren auf traditionellen Kriterien wie die Feldbesichtigung und die Keimfähigkeit im Labor. Die Ergebnisse der Elektrophorese dienen hingegen bereits heute, um jene Posten zu identifizieren, welche mehr als 5 % Verunreinigungen aufweisen. Dadurch könnte der Nachkontrollanbau gezielt durchgeführt und reduziert werden.

LITERATUR

Bourgoin-Greneche M. and Lallemand J., 1993. Electrophoresis and its application to the description of varieties. GEVES, Paris.

Cook R.J., 1984. The characterisation and identification of crop cultivars by electrophoresis. *Electrophoresis* 5, 59-72.

Getreidesaatgutverordnung, 1994. Verordnung über die Produktion und das Inverkehrbringen von Getreidesaatgut vom 23.12.1994, Eidgenössisches Volkswirtschaftsdepartement, Bern.

ISTA, Handbook of variety testing, 1992. Electrophoresis test. The International Seed Testing Association (ISTA), P.O. Box 412, CH-8046 Zurich.

Leist N., 1988. Nachweis der genetischen Qualität bei Saatmais mittels Elektrophorese. VDLUFA-Schriftenreihe 28, Kongressband, Teil II, 617-632.

OECD, 1988. Scheme for the Varietal Certification of Maize Seed Moving in International Trade. Organisation for Economic Co-Operation and Development, 2, rue André-Pascal, 75775 Paris Cedex 16.

Tab. 1. Verunreinigungen in Hybridsaatgutposten von 1993 bis 1995
(DC=Doppelhybriden, SC=Einfachhybriden, TC=Dreiweghybriden)

Sorte	Hybridtyp	Posten Nummer	Saatproben Feldanbau		IEF (*) - Elektrophorese	
			Anzahl Pflanzen	Total falsche Pflanzen in %	Anzahl Pflanzen	Total falsche Pflanzen in %
ATLET	DC	1	198	1,5	188	2,7
ATLET	DC	2	202	2,5	192	2,1
ATLET	DC	3	203	2,0	192	4,2
CORSO	SC	6	256	2,3	200	3,0
CORSO	SC	7	242	2,9	200	0,0
CORSO	SC	8	195	2,6	192	3,6
CORSO	SC	9	194	2,6	192	1,0
CORSO	SC	10	194	0,0	192	0,0
CORSO	SC	11	205	0,5	192	1,0
DK 250	SC	12	297	0,3	200	2,0
DK 250	SC	13	281	0,0	200	1,0
DK 250	SC	14	271	0,4	200	1,0
DK 250	SC	15	287	0,0	200	2,0
DK 250	SC	16	200	3,0	192	2,6
DK 250	SC	17	199	2,0	192	1,6
DK 250	SC	18	189	2,1	191	2,6
DK 250	SC	19	195	3,1	381	5,2
DK 250	SC	20	198	1,5	384	5,5
DK 250	SC	21	207	6,3	384	5,5
DK 250	SC	22	212	0,0	192	1,0
DK 250	SC	23	206	1,0	192	0,5
DK 250	SC	24	238	1,3	192	1,0
DK 250	SC	27	183	2,2	381	11,3
MAGISTER	SC	28	188	1,6	192	5,2
MAGISTER	SC	29	171	3,5	189	11,6
MAGISTER	SC	30	160	4,4	384	2,9
MAGISTER	SC	31	169	3,6	383	3,9
MAGISTER	SC	32	163	1,8	192	0,5
MAGISTER	SC	33	170	1,2	384	4,7
MAGISTER	SC	34	131	4,6	192	2,1
MAGISTER	SC	35	194	3,1	192	1,6
MONA	SC	36	309	1,0	200	0,5
MONA	SC	37	306	0,3	200	0,5
MONA	SC	38	191	1,0	191	0,5
MONA	SC	39	212	0,9	191	1,0
MONA	SC	40	210	1,4	192	1,0
MONA	SC	41	204	1,5	185	1,1
MONA	SC	42	202	2,0	186	1,6
MONA	SC	43	197	0,5	191	0,5
MONA	SC	44	202	0,5	191	1,0
MONA	SC	45	199	0,5	192	0,5
MONA	SC	46	177	1,1	190	1,1
MONA	SC	47	232	1,3	192	0,5
MONA	SC	48	155	2,6	192	0,5
MONA	SC	49	224	1,3	191	0,0
MONA	SC	50	143	0,7	191	0,0
MONA	SC	51	180	1,7	192	1,0
MONA	SC	52	191	2,6	384	0,8
AVISO	TC	55	288	1,7	100	2,0
AVISO	TC	56	196	1,0	191	4,2
AVISO	TC	57	203	1,5	384	7,3
AVISO	TC	58	202	1,5	192	3,6
AVISO	TC	59	196	0,0	192	2,1
LG 11	TC	60	302	1,0	200	1,0
LG 11	TC	61	291	1,4	200	1,5
LG 11	TC	62	320	0,3	200	0,0
LG 11	TC	63	296	0,7	200	1,5
LG 11	TC	64	297	0,0	200	5,0
LG 11	TC	65	197	0,0	192	4,7
LG 11	TC	66	203	0,0	192	2,1
LG 11	TC	67	203	0,0	192	1,0
LG 2253	TC	68	225	0,9	192	2,1
LG 2253	TC	69	229	1,7	192	0,0
LG 2253	TC	70	191	0,0	191	0,5
LG 2253	TC	73	183	1,6	192	0,0
LG 2253	TC	74	169	1,8	192	0,0
LG 2253	TC	75	169	1,2	192	0,0
LG 2253	TC	76	150	2,0	192	0,5
LG 2253	TC	77	187	0,5	192	0,0
LG 2253	TC	78	156	1,3	192	0,0
LG 2253	TC	79	140	2,1	192	0,0
LG 2253	TC	80	205	2,0	192	0,0
SILEX 170	TC	81	154	2,6	200	1,0
SILEX 170	TC	82	152	0,7	200	0,5
SILEX 170	TC	83	201	1,5	200	0,5

(*)IEF = Isoelektrische Fokussierung der Reserveproteine des Kornes

RÉSUMÉ

Qualité des semences de maïs produites en Suisse

Haut rendement et bonne qualité sont les exigences requises pour des semences hybrides de maïs. La pureté variétale d'hybrides produits en Suisse entre 1993 et 1995 a été analysée dans des parcelles de contrôle cultural et au laboratoire par électrophorèse des protéines de réserve (zeïne). Les résultats de 67 des 75 lots de semences analysés ont montré une pureté génétique bonne à excellente. L'électrophorèse s'est révélée être une méthode rapide et précise pour l'analyse de la pureté variétale des lots de semences. Pour deux variétés, cette méthode n'a pas pu être utilisée car les bandes électrophorétiques ne présentaient pas l'hétérogénéité nécessaire. L'électrophorèse ne fait pas partie des analyses de qualité dans le cadre de la certification officielle des semences, mais elle peut néanmoins être utilisée pour détecter des lots qualitativement insuffisants dès la récolte.

SUMMARY

Quality of Swiss maize seeds

High yield and excellent quality are crucial in seed production of maize. The genetic purity of hybrid seed, produced in Switzerland during 1993 - 1995, has been tested in traditional growing trials and in the laboratory using isoelectric focusing of seed prolamins (zeins). 67 of 75 tested seed lots have shown good to very good genetic purity. Electrophoresis allows for rapid and dependable quality assessment of seed lots. Two varieties did not show the required heterogeneity in banding patterns, so electrophoresis of zeins could not be used for differentiation. Quality analyses with electrophoresis is still not part of 'official seed rules'. The method may however be used to identify seed lots with insufficient quality after harvest.

KEY WORDS: electrophoresis, isoelectric focusing, maize, seed production, hybrids, genetic purity

RIASSUNTO

Qualità del mais da seme svizzero

Forte resa e alta qualità sono le aspettative richieste al mais da seme ibrido. La purezza genetica di semi prodotti in Svizzera negli anni 1993 - 1995 è stata controllata sia tramite controlli in campo, che tramite l'elettroforesi delle proteine di riserva del grano (zeine). In 67 delle 75 partite analizzate, la purezza genetica degli ibridi può essere considerata da buona a ottima. L'elettroforesi si è rivelata un metodo veloce e sicuro per l'analisi della purezza degli ibridi. In due varietà la caratterizzazione elettroforetica delle proteine di riserva non è stata possibile perchè le bande proteiche non mostravano l'eterogeneità necessaria. L'elettroforesi non fa parte delle analisi richieste nel quadro della regolamentazione ufficiale delle sementi. Essa può però essere utilizzata per eliminare partite di sementi con caratteristiche qualitative insufficienti già sin dopo il raccolto.