



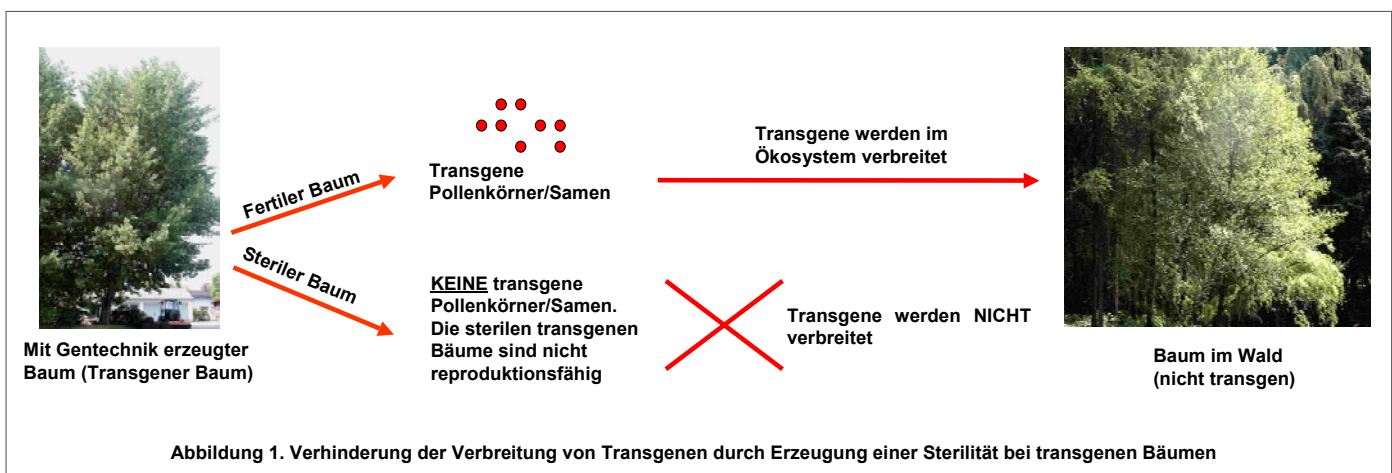
## Evaluierung von Strategien zur Verhinderung der Verbreitung von Transgenen in Waldökosystemen

Dr. Hans Hönicka, PD Dr. Matthias Fladung

BFH, Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Sieker Land Str. 2, D-22927 Grosshansdorf

Förderkennzeichen 0312638

Die Anwendung gentechnischer Methoden bei langlebigen Forstpflanzen ist für eine schnelle und effiziente Entwicklung verbesserter Linien besonders attraktiv. Da in heimischen Waldökosystemen eine freie Kreuzbarkeit zwischen gentechnisch veränderten und nicht gentechnisch veränderten Bäumen angenommen werden muss, ist eine Verbreitung der gentechnisch übertragenen Gene (Transgene) in diesen Ökosystemen zu erwarten ("vertikaler Genfluss"). Eine mögliche Strategie zur Verhinderung dieses vertikalen Genflusses bei gleichzeitiger Nutzung der Gentechnik ist die Induktion einer männlichen und/oder weiblichen Sterilität bei den transgenen Bäumen (Abbildung 1). Die Sterilitätsgene *Barnase* aus *Bacillus amyloliquefaciens* und Stilben-Synthase aus *Vitis vinifera* sind in krautigen Pflanzen bereits erfolgreich getestet worden. Darüber hinaus ist es sehr wichtig, eine Stabilität der gentechnisch-induzierten Sterilität zu gewährleisten. Da Bäume aber in der Regel ein sehr hohes individuelles Alter erreichen können, müssen einige grundlegende Fragen zur Regulation und Stabilität/Instabilität von gentechnisch übertragenen Genen geklärt werden. Gentechnisch veränderte Bäume werden in einigen Jahren einer kommerziellen Anwendung zur Verfügung stehen. Die Nutzung neuer Technologien, nicht nur der Gentechnik, sollte jedoch nur nach einer umfangreichen Sicherheitsforschung erfolgen. Dieses Projekt soll einen Beitrag dazu leisten, die bereits an krautigen Pflanzen getesteten Sterilitätsmechanismen bei transgenen frühblühenden sowie an normal-blühenden Zitterpappeln zu überprüfen.



### VERSUCHSBESCHREIBUNG

Die Transformation der Pappeln erfolgt mit Hilfe von Agrobakterien und verschiedenen Genkonstrukten („Frühblüogene“ und „Sterilitätsgene“). Um den Zeitraum bis zur Blüte zu verkürzen, wurden als Ausgangsmaterial transgene Linien der Zitterpappeln verwendet, die bereits nach ein bis drei Jahren blühen, anstatt der acht Jahren (oder mehr) üblich für Pappeln. Darüber hinaus werden Ansätze überprüft, mit zusätzlichen blüteinduzierenden Genen (*Leafy*, *BpMADS4*, *roIC*, *roID*) bzw. durch die Behandlung von Pappeln mit verschiedenen Wachstumsregulatoren/Wachstumshemmern eine frühe Blüte bei Pappeln zu induzieren. Die frühe Blüte wird eine schnellere Untersuchung der Sterilitätskonstrukte ermöglichen.

Durch Übertragung verschiedener Sterilitätsgenkonstrukte in transgene frühblühende bzw. in nicht-transgene Kontrollpflanzen sollen verschiedene Sterilitätsstrategien getestet werden. Die Konstrukte tragen gewebespezifische Steuerelemente (Promotoren). Die hierfür verwendeten Promotoren (PTA29, CGPDHC, *BpMADS1*) bewirken nur in bestimmten Pflanzenteilen eine Genexpression (Gene: *Barnase*, *Vst1*) die Sterilität verursacht, beispielsweise im Pollen, in der Narbe oder dort, wo die Pollenbildung stattfindet, in den Pollensäcken (Tapetum).

### ERGEBNISSTAND

• Herstellung frühblühender Pappeln: Transformationen mit den „Frühblüogenen“ (35S::*Leafy*, 35S::*BpMADS4*, 35S::*roID*) wurden erfolgreich durchgeführt. Die resultierenden transgenen Linien wurden ins Gewächshaus überführt. Die Förderung der Blühfähigkeit, die ursprünglich mit 35S::*roIC* geplant war, wurde durch den Ansatz des 35S::*Leafy*-Konstrukt eindeutig verbessert. Die 35S::*Leafy* transgenen Pappeln haben bereits nach zwei bis zwölf Monaten geblüht (siehe Abbildung 2), anstatt der drei bis vier Jahren üblich für die *roIC* transgenen Pappellinien und die mindestens acht Jahre üblich für nicht-transgene Pappeln.

• Herstellung steriler Pappeln (frühblühend / normalblühend): Die Transformationsexperimente mit verschiedenen Sterilitätsgenen (PTA29::*Barnase*, PTA29::*Vst1*, CGPDHC::*Barnase*, CGPDHC::*Vst1*, *BpMADS1*::*Barnase*) haben bereits eine große Anzahl transgener Linien hervorgebracht. Ein Teil dieser Pflanzen wurde ins Gewächshaus überführt. Zwei frühblühende Linien (eine 35S::*roIC*- und eine 35S::*Leafy*-Linie) wurden *in vitro* vermehrt und für die Erzeugung frühblühend-steriler Linien angesetzt. PCR und Southern-Blot-Tests haben bereits die gentechnische Veränderung der erzeugten doppeltransgenen Linien bestätigt.



Abbildung 2. Frühblühende Linien von Pappeln (mit 35S::*Leafy*): Weibliche (linkes Foto) und männliche (rechtes Foto) Pappeln. Pfeile zeigen Blüten *in vitro*.