

Genetisch neuer Winterweizen - Strategien zur Erhöhung des Kornproteingehaltes

N. WEICHERT, A. VARSHNEY, H. WEICHERT, T. PERIASAMY,
U. WOBUS, R. SCHACHSCHNEIDER und W. WESCHKE

Einleitung

Ein seit langem in der Getreidezüchtung bestehendes Problem ist die negative Korrelation zwischen Kornproteingehalt und Ertrag, der hauptsächlich durch den Stärkegehalt der Körner repräsentiert wird. Trotz langjähriger intensiver Bemühungen ist auf klassisch-züchterischem Wege bisher keine grundlegende Lösung dieses Problems gefunden worden. In einer intensiven, seit 1999 geführten Diskussion zwischen Molekularphysiologen des Leibniz-Instituts für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung Gatersleben (IPK) und Züchtern der Nordsaat Saatucht GmbH Böhnshausen (Nordsaat) wurde entschieden, am IPK mittels der Grünen Gentechnik dem Winterweizen genetisch neue Eigenschaften zu verleihen, die dem sich entwickelnden Korn die Möglichkeit bieten, Kohlenstoff- und Stickstoffbausteine in höheren Mengen einzutransportieren.

Im ersten Projektteil sollten aus einer transformierbaren Winterweizensorte homozygote „Basislinien“ geschaffen werden, die Grundvoraussetzungen für eine erhöhte Speicherstoffakkumulation während der Samenentwicklung besitzen. Im zweiten Projektteil war geplant, die neue genetische Information der Basislinien in Kreuzungen mit Hochleistungsstämmen zu kombinieren. Aus diesen Kreuzungen sollten durch Anwendung der Doppelhaploiden-Technik (DH-Technik) innerhalb kurzer Zeit zahlreiche homozygote transgene Linien entstehen. Im Vergleich mit den Hochleistungssorten sollte sich zeigen, ob die Grüne Gentechnik dem Winterweizen mit züchterischen Mitteln nicht zu erreichende genetisch neue Eigenschaften verleiht, auf deren Grundlage die oben genannte negative Korrelation durchbrochen werden kann.

Die homozygoten Basislinien

Mittels ballistischer Transformation (1) wurden die Basislinien XAP, SUTAP und HOSUT geschaffen. Sämtliche Linien enthalten eine Kopie des jeweiligen Transgens im homozygoten Zustand. Die Strukturgene (kodieren für Saccharose- und Aminosäure-Transporter) und auch die Steuerelemente (Promotoren), verantwortlich für die Aktivität der Strukturgene in unterschiedlichen Teilen des Samens während der Samenentwicklung, entstammen den Nutzpflanzen Ackerbohne und Gerste. Die physische Präsenz der neuen genetischen Information im Genom des Winterweizens und ihre stabile Vererbung im homozygoten Zustand wurde mittels Southernblot- und Nachkommenschafts-Analyse über mehrere Generationen nachgewiesen. Die homozygoten Basislinien sind phänotypisch normal und zu 100% fertil. Überraschenderweise zeigen die Linien XAP und SUTAP eine deutlich verfrühte Blüte, ein neues agronomisches Merkmal, das wahrscheinlich auf die Aktivität der neuen genetischen Information auch in den vegetativen Organen zurückzuführen ist. Das Blühverhalten der Linie HOSUT ist vergleichbar mit dem des genetisch nicht veränderten Winterweizens.

Mittels qRT (quantitative real time) PCR wurde nachgewiesen, dass die neue genetische Information im Genom des Winterweizens in das Genprodukt mRNA umgeschrieben wird. Alle Genprodukte sind deutlich nachweisbar.

Reife Samen aller Basislinien wurden über mehrere Generationen und von Pflanzen geerntet, die unter unterschiedlichen äußeren Bedingungen (Gewächshaus, Phytokammer) angezogen wurden. In aufeinanderfolgenden Generationen und unter unterschiedlichen Bedingun-

gen zeigte sich, dass der Gehalt an Gesamt-Stickstoff in allen transgenen Linien signifikant um bis zu 40% (Linie XAP) erhöht ist, wobei keine Verringerung des Gesamt-Kohlenstoffgehalts nachgewiesen werden konnte. Auch der Gehalt an Gesamtprotein ist deutlich gegenüber dem gentechnisch nicht veränderten Winterweizen erhöht (bis zu 30%, Linie HOSUT). Allerdings ist der Stärkegehalt in allen Linien geringfügig aber signifikant niedriger. Überraschenderweise zeigte sich, dass die Erhöhung des Proteingehaltes in den Linien XAP und SUTAP unter unterschiedlichen Anbaubedingungen und zwischen den Generationen schwankte, während der Proteingehalt in der Linie HOSUT stabil um etwa 20 - 30% erhöht war.

Die homozygoten Basislinien zeigen folgende agronomisch relevante Merkmale: (1) Verfrühung der Blüte und instabile, aber gravierende Erhöhung des Proteingehaltes (Linie XAP) und (2) keine Veränderung des Blühverhaltens, aber stabile Erhöhung des Proteingehaltes (Linie HOSUT). Es wurde entschieden, diese Merkmale durch Kreuzung der Basislinien miteinander zu kombinieren (*Abbildung 1*). Die heterozygoten Kreuzungsnachkommen werden zur Zeit mittels DH-Technik in den homozygoten Zustand überführt.

Die Analyse ertragsrelevanter Parameter der transgenen Basislinien zeigte einen mit dem genetisch nicht veränderten Winterweizen vergleichbaren bzw. geringfügig erhöhten Kornertrag/ Pflanze in den Linien SUTAP und XAP. In der Linie HOSUT war der Kornertrag/ Pflanze signifikant erniedrigt. Der Proteintrag/ Pflanze war jedoch in allen Linien erhöht. Allerdings wurden diese Ergebnisse unter „künstlichen“ Bedingungen (optimale Lichtverhältnisse, aus-

Autoren: Nicola WEICHERT, Alok VARSHNEY, Heiko WEICHERT, Theriappan PERIASAMY, Ulrich WOBUS und Winfriede WESCHKE, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Corrensstraße 3, D-06466 GATERSLEBEN; Ralf SCHACHSCHNEIDER, Nordsaat Saatucht GmbH, D-38895 BÖHNSHAUSEN



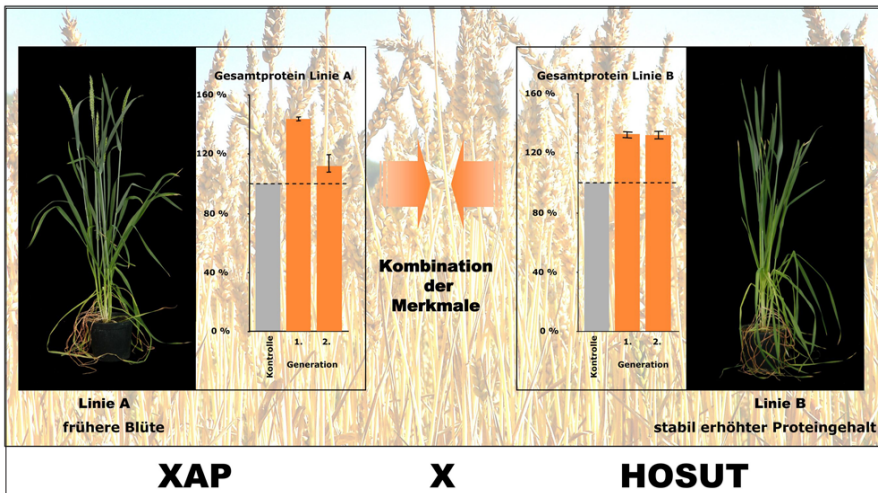


Abbildung 1: Kreuzung der Linien XAP und HOSUT zur Kombination der agro-nomisch relevanten Merkmale „frühere Blüte und instabile Erhöhung des Proteingehaltes“ und „stabile Erhöhung des Proteingehaltes“.

reichende Versorgung mit Wasser und Dünger, vor allem Stickstoffdünger) erreicht und bedürfen dringend einer Bestätigung unter „natürlichen“ Bedingungen (im Freiland).

Genetisch neues (transgenes) Ausgangsmaterial

Um genetisch neues (transgenes) Ausgangsmaterial von Winterweizen für den „proof of principle“ und für eine eventuelle spätere züchterische Nutzung zu entwickeln, wurden fünf homozygote transgene Basislinien des IPK mit sieben der „besten“ Stämme aus dem Zuchtprogramm der Nordsaat gekreuzt. Aus den 35 Kreuzungen resultierten etwa 700 F1-Pflanzen für die DH-Produktion. Von 7000 haploiden Laborpflanzen überlebten 5325 die Vernalisation und Colchizinierung. Der PCR-Analyse an den Jungpflanzen zufolge enthielten 2445 Pflanzen die transgene genetische Information. Das entspricht etwa 50%, was ein weiteres Zeichen dafür ist, dass die neue genetische Information in allen Basislinien stabil vererbt wird. Nur diese Pflanzen wurden in Gewächshäusern zur Reife gebracht. Infolge der nur in dieser Phase bei der DH-Erzeugung auftretenden Fertilitätsstörungen bildeten

nur 1058 reife Pflanzen auch keimfähige Körner aus. Somit wurden 1058 transgene DH-Linien geschaffen, die Kandidaten für eine Freisetzung sind.

Der transgene Zuchtgarten und die Freisetzung

Dank der oben beschriebenen Projekte wurden in 5 1/2 Jahren die Voraussetzungen für die Freisetzung eines transgenen Winterweizen-Zuchtgartens geschaffen. Laut Planung werden 2006/2007 816 transgene Linien gemeinsam mit den Basislinien auf dem Gelände des IPK freigesetzt. Es soll geprüft werden, ob die positiven Eigenschaften der transgenen Basislinien durch Kreuzung auf Hochleistungsstämme übertragen werden können, ob sie sich auch unter Freilandbedingungen ausprägen und ob sie auf die folgenden Generationen übertragen werden. An diesem Beispiel soll die Frage beantwortet werden, ob fremde genetische Information dem Winterweizen genom neue, züchterisch nutzbare Potenzen verleihen kann. Der Freisetzungsantrag lag Ende April 2006 der zuständigen Behörde vor. Da gegen den Antrag keine wissenschaftlichen und juristischen Bedenken geltend gemacht werden konnten, erteilte das Bundesamt

für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) am 23.11.2006 die Genehmigung zur Freisetzung. Damit wurde der Weg zur Beantwortung einer grundlegenden Frage von Wissenschaft und Züchtung frei.

Fazit

Das Gemeinschaftsprojekt zwischen IPK und Nordsaat soll folgende für die pflanzliche Gentechnik und für Züchtungsunternehmen gleichermaßen bedeutende Frage beantworten: Ist die wissenschaftsbasierte Veränderung pflanzlicher Genome mit Hilfe der Gentechnik ein Mittel zur Lösung langjähriger züchterischer Probleme, und kann sie deshalb generell im klassischen Züchtungsprozess nutzbringend verwendet werden? In diesem Sinne betrachten die Kooperationspartner das Winterweizenprojekt als „proof of principle“ und - bei positivem Ergebnis - als Anfang eines gemeinsamen Weges zwischen klassischer Züchtung und Grüner Gentechnik.

Danksagung

Wir danken Jochen KUMLEHN für die Betreuung der Winterweizen-Transformation, Angela STEGMANN, Elsa FESSEL und Gabriele EINERT für die exzellente technische Assistenz sowie Frau HOLLDORF und Frau DALITZ für die Durchführung der Kreuzungen und der DH-Produktion. Unser besonderer Dank gilt Hans WEBER für eine Vielzahl fachlicher Ideen. Die Projekte wurden gefördert vom BMBF im Rahmen der Initiative Innoplanta.

Literatur

VASIL, V., A.M. CASTILLO, M.E. FROMM and I.K. VASIL, 1992: Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus. *Biotechnology* 10, 667-674.