

eines solchen Schwellenwertes eine wichtige Weichenstellung für die Koexistenz. Im EU-geförderten Forschungsverbund Co-Extra ("GM and non-GM supply chains: their Co-Existence and Traceability") werden im Teilprojekt 1 "Biological approaches for gene flow mitigation" umfangreiche Feldversuche (9 Wiederholungen a 168 m² in zwei Jahren) zu den Konsequenzen von unterschiedlichen GV-Saatgutbeimengungen (0,3 %, 0,5 %, 1 % Bt-Mais-Samen (PR39V17)) in Weißmaissaatgutpartien (DSP 17007) auf die Einkreuzungsrate im Erntegut durchgeführt. Darüber hinaus wurden verschiedene GV-Detektionmethoden (visuelle Detektion und quantitative PCR) auf ihre Vergleichbarkeit hin überprüft. Die visuelle GVO-Detektion (% GV-Samen) ergab im Durchschnitt GV-Gehalte von 0,24 %, 0,47 % und 0,80 % (Standardabweichungen: 0,11, 0,13 bzw. 0,22) im Erntegut. Die Variation des GV-Gehaltes im Erntegut hängt stark von der Blühsynchronität zwischen GV- und Nicht-GV-Pflanzen, von der Heterogenität des Feldbestandes, dem Standort und den klimatischen Bedingungen während der Blühperiode ab. Die Ergebnisse der real time PCR (% GV-DNA) stimmen weitestgehend ($R^2 = 0,82$) mit den Ergebnissen der visuellen Detektion (% GV-Samen) überein, wenn auch die real time PCR konsistent niedrigere Werte lieferte. Die Steigung der Regressionskurve beträgt 0,4, der Erwartungswert liegt bei 0,5. Eine mögliche Erklärung für die Abweichung vom Erwartungswert ist, dass das verwendete Referenzmaterial (ERM-BF413f) für die Herstellung der Standardkurven das Transgen hemizygot maternal trägt, während die Ernteproben das Transgen hemizygot paternal tragen. Dies führt zu einer permanenten Unterschätzung des GV-Gehaltes in den Ernteproben. Des Weiteren wird das verwendete Referenzmaterial über Massenanteile (% GV-Gewicht) hergestellt, indem GV-haltiges Mehl mit Nicht-GV-Mehl vermischt wird. Die % GV-Massenanteile reflektierten die %-GV-DNA Gehalte in den als Standard verwendeten Proben nicht akkurat. Diese beschriebenen Unsicherheiten in der GV-Analyse beim Mais zeigen, dass die Verwendung von homozygotem GV-Referenzmaterial bzw. die Verwendung von Plasmiden als Referenzmaterial zu verlässlicheren Ergebnissen führt und zukünftig angestrebt werden sollte.

04-7-Kopertekh, L.¹⁾; Broer, I.¹⁾; Schieman, J.²⁾

¹⁾ Universität Rostock, Agrar- und Umwelt-wissenschaftliche Fakultät, Institut für Landnutzung

²⁾ Julius Kühn-Institut, Institut für Sicherheit in der Gentechnik bei Pflanzen

Entwicklungsspezifische Eliminierung von Markergenen aus transgenen Pflanzen

Während einer Pflanzentransformation wird ein Markergen benötigt, um transformierte Pflanzen zu erhalten. Nach der Selektion ist die Anwesenheit des Transformationsmarkers überflüssig und er kann mittels sequenzspezifischer Rekombination aus dem Pflanzengenom eliminiert werden.

Um markergenfreie Tabak- und Raps-Pflanzen zu erzeugen, wurde die Cre-Rekombinase unter der Kontrolle eines samenspezifischen Napin-Promotors entwicklungspezifisch exprimiert. Zuerst wurde das bar-Markergen von zwei Rekombinationssequenzen flankiert und zusammen mit dem cre-Gen -in Tabak und Raps transformiert. Die markergenfreien Pflanzen konnten in der ersten Nachkommenschaft der untersuchten Tabak- und Raps-Linien detektiert werden. Der Wegfall des bar-Markergens wurde durch PCR-Amplifikation unter Verwendung von Primern außerhalb der lox-Sequenzen und Sequenzanalyse des Amplifikationsproduktes bestätigt. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass der samenspezifische Napin-Promotor für eine funktionsfähige Cre-Expression in Tabak und Raps geeignet ist. Markergenfreie Tabak- und Raps-Pflanzen konnten durch entwicklungspezifische Expression der Cre-Rekombinase ohne sexuelle Kreuzung erzeugt werden.

Dieses Verfahren sollte generell für die Eliminierung von Markergenen aus generativ propagierten transgenen Kulturpflanzen anwendbar sein.