

Die 2009 geprüften CMS-Maishybriden stellen (mit Einschränkungen) ein geeignetes Instrument zur Auskreuzungskontrolle dar. Für die Nutzung als Confinement-Methode, beim Anbau von PMPs und PMIs sollten sie mit anderen Confinement-Methoden wie z. B. geringe Isolationsabstände, Mantelsaaten aus Mais oder Hanf, kombiniert werden.

40-5 - Dowideit, K.; Hüsken, A.  
Julius Kühn-Institut

### **Kleistogamer Raps als biologische Confinement-Strategie – Kann eine Auskreuzung über den Pollen unterbunden werden?**

Cleistogamous oilseed rape as a biological confinement strategy – Is it possible to prevent out-crossing through pollen?

Beim Anbau von Raps (*Brassica napus* L.) können Rapspollen durch Wind und Insekten auch über weite Distanzen transportiert werden. Das daraus resultierende hohe Auskreuzungspotential könnte bei der Kultivierung von gentechnisch verändertem Raps zu einer Verbreitung von neu eingeführten Genen führen. Um den ungewollten Pollenfluss zu unterbinden und eine Auskreuzung während des Anbaus von transgenem Raps einzuschränken, soll die Eigenschaft der Kleistogamie (Selbstbestäubung in geschlossenen Blüten) als mögliche biologische Confinement-Strategie beim Raps untersucht werden. Kleistogamie kommt beim Raps natürlicherweise nicht vor. Im INRA (National Institute for Agronomic Research, Rennes) wurde jedoch durch chemisch induzierte Mutation ein kleistogamer Rapsgenotyp erzeugt und patentiert. Diese Rapslinie weist einen durchschnittlichen Anteil von 94 % geschlossenen Blüten auf (Leflon et al, 2010).

In Feldversuchen sollen nun Erkenntnisse über die Merkmalsstabilität kleistogamer Rapslinien in unterschiedlichen Umwelten gewonnen und die Zuverlässigkeit kleistogamer Rapslinien als biologische Confinement-Methode überprüft werden. Im Rahmen des BMBF-Verbundprojektes „Entwicklung und Überprüfung von Confinement-Strategien für Raps“ wurden im Jahr 2009 Feldversuche in zwei Umwelten (Braunschweig (BS)-Völkenrode und Hohenheim) unter praxisüblicher Bewirtschaftung durchgeführt. Als Pollenquelle (Donor) wurde ein 0,25 Hektar großes Feld mit kleistogamem Raps (CLG) angebaut, an das in Windrichtung ein 0,25 Hektar großer Schlag mit nicht-kleistogamem Raps der Linie 'Marcant' als Pollenempfänger (Rezipient) angeschlossen war. An beiden Standorten lag eine Blühsynchronität zwischen Donor- und Rezipientenschlag vor. Dadurch war die Möglichkeit für eine Fremdbestäubung und somit eine Auskreuzung von CLG-Pollen in den 'Marcant'-Plot gegeben. Zum Erntezeitpunkt wurden auf beiden Versuchsflächen aus dem Rezipientenfeld ('Marcant') die Haupttriebe offen abgeblühter Rapspflanzen in jeweils 8 unterschiedlichen Distanzen zum Donorfeld (0 m, 3 m, 4,5 m, 6 m, 12,5 m, 25 m, 36 m und 50 m) geerntet, um die Samen für spätere molekularbiologische Untersuchungen zu gewinnen. Der Nachweis soll mittels des im Folgenden beschriebenen PCR-Verfahrens erfolgen.

Der kleistogame Phänotyp wird bedingt durch eine Mutation im Clg-Gen. Es handelt sich um eine Punktmutation, die zu einem Austausch einer Aminosäure in der Proteinsequenz führt (Lu et al. 2009). Die Clg-Mutation kann durch ein in Frankreich patentiertes Nachweisverfahren detektiert werden (Patent-Nr. 2923839), bei dem eine PCR mit einem anschließenden Restriktionsverdau kombiniert wird. Die Unterscheidung zwischen dem mutierten Genotypen (CLG) und dem Wild-Genotypen ('Marcant') beruht darauf, dass durch die Punktmutation im Clg-Gen von CLG eine Restriktionsschnittstelle entsteht. In den Clg-Gensequenzen von 'Marcant' ist diese Schnittstelle nicht vorhanden. Daher können die PCR-Produkte von CLG nach einem Verdau aufgrund des Längenunterschieds von ca. 20 bp im Agarosegel identifiziert werden. Dieses qualitative PCR-Nachweisverfahren soll genutzt werden, um in einem sog. Subsampling Verfahren die Auskreuzungsrate von CLG in den 'Marcant'-Plot zu ermitteln. Da im Versuch im 'Marcant'-Plot mit geringen Auskreuzungsraten gerechnet wird (bedingt durch die reduzierte Pollenemission im CLG-Plot), muss bei der Anwendung dieser Methode gewährleistet sein, dass auch in Samenproben mit einem geringen Anteil an ausgekreuzten Samen und somit einer geringen Anzahl an Clg-Genkopien aus CLG eine eindeutige Detektion möglich ist. Eine Anpassung der Methode und Bestimmung von Nachweisgrenzen ist daher genauso erforderlich wie die Erstellung von geeigneten Prüfplänen für das Subsampling Verfahren.

#### Literatur

- [1] Leflon, M., Hüsken, A., Njontie, C., Kightley, S., Pendergrast, D., Pierre, J., Renard, M., Pinochet, X. (2010) Stability of the cleistogamous trait during the flowering period of oilseed rape. *Plant Breeding* 129: 13-18.
- [2] Lu, Y. H.; Delourme, R.; Chalhoub, B.; Piel, N.; Falentin, C.; Renard, M.; Belcram, H. (2009) Producing a cleistogamous plant comprises inhibiting expression of the Clg1 gene. Patent FR 2923839.