

Welche Risiken sind beim Anbau von gentechnisch veränderten Apfelbäumen zu erwarten?

Henryk Flachowsky und Magda-Viola Hanke (Dresden-Pillnitz)

Der Einsatz der Gentechnik hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung für die Pflanzenzüchtung und die Züchtungsforschung gewonnen. Auch in der Obstzüchtung, hier in erster Linie beim Apfel, wurden bereits national und international zahlreiche Arbeiten auf diesem Gebiet durchgeführt. Dabei wurden in erster Linie Gene zur Erhöhung der Resistenz gegenüber den pilzlichen und bakteriellen Schaderregern des Apfelschorfes, des Echten Mehltaus und des Feuerbrandes übertragen. Zunehmend werden aber auch Gene verwendet, die einen positiven Einfluss auf die innere Nahrungsmittelqualität wie den Vitamingehalt und den Gehalt an Antioxidantien haben. Doch mit der Anwendung gentechnischer Methoden wuchsen auch die Bedenken der Verbraucher. So wurden vor allem Fragen zur Stabilität übertragener Gene, zum Risiko einer unkontrollierten Verbreitung sowie zu unvorhersehbaren Folgen für die Umwelt laut. Das Institut für Obstzüchtung der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ) in Dresden-Pillnitz führt seit rund einem Jahrzehnt zahlreiche wissenschaftliche Studien durch, deren Ergebnisse als Grundlage der Risikobewertung für den Anbau von gentechnisch veränderten Obstgehölzen herangezogen werden können.

Bleiben übertragene Gene stabil?

Im Gegensatz zu einjährigen landwirtschaftlichen Kulturpflanzen werden Obstanlagen viele Jahre genutzt. Damit müssen Bäume, die in einer solchen Anlage stehen, über einen langen Zeitraum genetisch stabil bleiben.

Aus diesem Grund wurde am Institut für Obstzüchtung in mehreren Modellversuchen untersucht, welchen Einfluss der Faktor Zeit auf die in das Apfelgenom übertragenen Gene hat. Dabei wurden Pflanzen analysiert, die unterschiedliche

Fremdgene besitzen. Zu diesen Genen gehört unter anderem das *nptII*-Gen. Dieses Gen vermittelt transgenen Pflanzen eine Resistenz gegenüber dem Antibiotikum Kanamycin. Zum anderen wurde das sogenannte *gusA*-Gen übertragen, welches Pflanzen befähigt, unter bestimmten Bedingungen einen blauen Indigofarbstoff zu bilden. Neben diesen beiden Genen wurden aber auch noch solche Gene untersucht, die eine Resistenz gegenüber Bakterien und Pilzen vermitteln.

Ein bis drei Jahre nach der Genübertragung wurden 65 Apfelpflanzen von insgesamt 14 transgenen Linien hinsichtlich ihrer genetischen Stabilität untersucht. Der

Großteil der untersuchten Pflanzen zeigte über mehrere Jahre hinweg in der in vitro-Kultur und im Gewächshaus eine stabile Genexpression. Lediglich an einzelnen Pflanzen von insgesamt drei Linien traten Instabilitäten auf (Abb. 1 und 2). An der Aufklärung der Ursachen, die für eine solche Instabilität verantwortlich sind, wird derzeit gearbeitet. Die Ergebnisse dieser Studie lassen generelle Rückschlüsse zur Stabilität von Fremdgenen bei Obstgehölzen zu. Einen größeren Einfluss als das übertragene Gen selbst haben dabei der Ort des Einbaus im Genom sowie die Anzahl und die Organisation von Genkopien an einem Genort.



Abb. 1: Langzeituntersuchungen zur Stabilität einer gentechnisch vermittelten Kanamycin-Resistenz. Dazu wurden *in vitro*-Sprosse transgener Apfelinien auf Nährmedium ohne Kanamycin kultiviert. Nach jeweils vier Wochen wurden die Sprossspitzen abgeschnitten und auf neues Medium überführt. Nach einem Zeitraum von vier Jahren wurden die Sprosse auf Kanamycinhaltigem Medium hinsichtlich ihrer Kanamycin-Resistenz getestet. Dabei starben nicht mehr transgene Sprosse ab (Pflänzchen mit brauner Blattfärbung im Bild).

Neben dem Faktor Zeit sollen nun auch andere Umweltbedingungen näher betrachtet werden. Dazu ist es aber notwendig, Freisetzungsversuche anzulegen. Bisher konnten in Deutschland solche Freisetzungsversuche noch nicht durchgeführt werden.

Über welche Distanz verbreiten sich Apfelpollen?

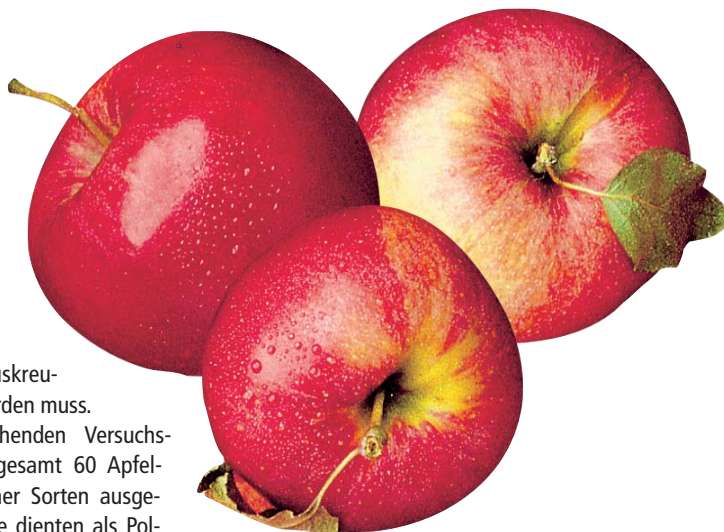
Der Apfel (*Malus x domestica* Borkh.) gehört zu den fremdbefruchtenden Arten und ist somit bei der Befruchtung auf den Pollen anderer Pflanzen der gleichen Art oder nahe verwandter Arten (z.B. Wildformen des Apfels) angewiesen. Die Bestäubung von Apfelblüten wird dabei nahezu ausschließlich von Insekten durchgeführt. Vor allem Bienen tragen den Pollen während ihres Futterfluges von einer Blüte zur anderen. Infolge des Transports von Pollen kommt es zu einer ständigen Vermischung von Erbgut unterschiedlicher Herkunft, die demzufolge auch mit Pollen gentechnisch veränderter Pflanzen möglich sein wird. Deshalb wurde am Pillnitzer Institut im Freiland eine Modellstudie mit nicht-transgenen Bäumen durchgeführt, in der geklärt werden sollte, in welchem Abstand von gentechnisch veränderten Apfelbäu-

men mit einer Auskreuzung gerechnet werden muss.

In einer bestehenden Versuchsfäche wurden insgesamt 60 Apfelbäume verschiedener Sorten ausgewählt. Diese Bäume dienten als Pollenfänger und befanden sich in unterschiedlichen Abständen zu insgesamt 15 Pollenspenderbäumen der Wildart *Malus pumila* var. *Niedzwetzkyana*. Solche Apfelwildarten werden aufgrund ihres großen Pollenangebotes in Praxisbeständen vielfach als Bestäuber eingesetzt. Die Wildart *Malus pumila* var. *Niedzwetzkyana* wurde ausgewählt, da es sich in vorangegangenen Studien gezeigt hat, dass sie in ausreichendem Maße Pollen produziert, der sich durch eine hohe Vitalität und Keimfähigkeit auszeichnet. Darüber hinaus blüht der Niedzwetzkyana-Wildapfel zu einem Zeitpunkt, an dem die meisten heimischen Apfelsorten in voller Blüte stehen. Im Rahmen künstlicher Bestäubungsversuche wurde festgestellt, dass diese Wildart in der Lage ist, mit nahezu allen bekannten Apfelsorten fertile Nachkommen zu zeugen. Der größte Vorteil des Niedzwetzkyana-Wildapfels ist aber, dass



Abb. 2: Für die Untersuchungen zur Stabilität von Fremdgenen wurden Pflanzen hergestellt, welche das *gusA*-Gen besitzen (induziert Blaufärbung). Es wurden einzelne Blätter und Sprosse gefunden, bei denen keine Fremdgenaktivität mehr nachweisbar war (weißes Blatt, unten Mitte).



sämtliche Pflanzenteile eine purpurrote Färbung aufweisen, die auch vererbt wird. Dadurch können Sämlinge, die aus einer Befruchtung mit dem Pollen dieser Wildart hervorgegangen sind, bereits im Keimpflanzenstadium von anderen Apfelpfanzentypen sehr leicht unterschieden werden. Mit Hilfe dieses ‚roten Markers‘ ist es möglich, unter den Nachkommen der Pollenfängerpflanzen solche zu identifizieren, die durch eine Befruchtung mit Pollen des Pollenspenders entstanden sind.

Im Herbst 2003 und 2004 wurden in der beschriebenen Apfelanlage Früchte der Pollenfängerpflanzen geerntet und die Samen dieser Früchte zur Aussaat gebracht (Abb. 3). Über den Anteil rotlaubiger Sämlinge war es möglich, die Pollentransportrate sowie die Entfernung des Pollentransportes zu bestimmen. Dabei wurde festgestellt, dass der Anteil rotlaubiger Sämlinge



Abb. 3: Sämlinge, angezogen aus den Kernen der Früchte verschiedener Apfelsorten, die als Pollenfängerpflanzen dienten. Sämlinge mit rötlich gefärbten Laubblättern (Pfeil) stammen aus einer Befruchtung mit Pollen der rotlaubigen Apfelwildart *Malus pumila* var. *Niedzwetzkyana*.

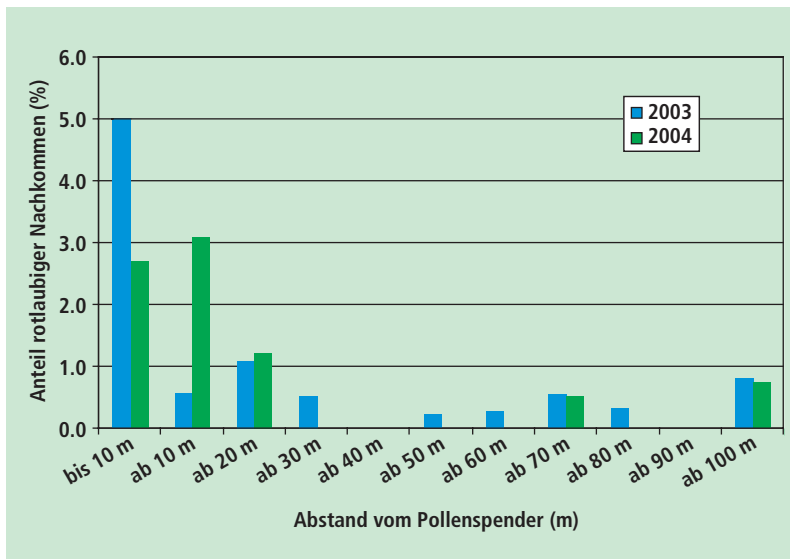


Abb. 4: Anteil rotlaubiger Nachkommen aus freier Abblüte eines Bestandes verschiedener Apfelsorten in Abhängigkeit von der Entfernung zum Pollenspender *Malus pumila* var. *Niedzwetzkyana*. Insgesamt wurden 11.797 Samen untersucht.

im Bereich von 5–10 m im Umkreis der Pollenspenderbäume am größten war. Mit zunehmender Entfernung ging dieser Anteil jedoch unter 1 % zurück (Abb. 4). Vereinzelt konnten Auskreuzungen noch in Entfernungen bis 100 m nachgewiesen werden.

Besonderen Einfluss auf die Höhe der Auskreuzung hat dabei die Richtung des Bienenfluges. Diese hängt von verschiedenen Umweltbedingungen ab, wie dem Standort des Bienenvagens, der Windrichtung und der -stärke. Wie Untersuchungen zum Sammelverhalten der Bienen belegen, sammeln Bienen meistens in der Nähe des Bienenvolkes und beschränken sich dabei auf eine Fläche von ca. 10 m², wenn dort genügend Nektar verfügbar ist.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass eine Auskreuzung durch Bienen prinzipiell auch über größere Distanzen möglich ist. Zur Minimierung des Auskreuzungsrisikos empfehlen sich deshalb Mantelpflanzungen bzw. Sicherheitsabstände von mindestens 25–30 m Breite. Damit ist es möglich, das Risiko einer Auskreuzung deutlich zu reduzieren. Ganz auszuschließen ist es jedoch nicht.

Windbestäubung

Zwar wird der Apfel vorwiegend von Insekten bestäubt, jedoch ist eine Übertragung von Pollen durch den Wind nicht gänzlich ausgeschlossen. Ob eine solche

Windbestäubung tatsächlich stattfindet, hängt in erster Linie davon ab, wie weit Apfelpollen durch den Wind transportiert werden kann.

Bisher gibt es dazu noch sehr wenig Information. Aus diesem Grund wurde im Frühjahr 2005 am Institut ein Versuch angelegt, mit dessen Hilfe die maximale Transportdistanz von Apfelpollen durch den Wind bestimmt werden sollte. Für diesen Versuch wurde am 2. Mai 2005 (Zeitpunkt der Vollblüte bei Apfel) ein einzelner Apfelbaum von ca. 1,5 m Höhe in einem Pflanztopf inmitten einer freien Fläche von ca. 60 x 200 m aufgestellt. In allen vier Himmelsrichtungen rund um diesen Baum wurden Pollenfallen in Abständen von 2 m bis 20 m aufgehängt. Bei diesen Pollenfallen handelte es sich um beschichtete Objektträger mit einer klebrigen Glycerin-gelatineoberfläche, an der in der Luft befindliche Pollen hängen bleiben sollten. Diese Objektträger wurden nach sechs Stunden eingesammelt und unter dem Mikroskop nach Apfelpollen abgesucht.

Werden die Blüten eines konventionellen Apfelbaums von gentechnisch veränderten Pollen befruchtet, ist das Fruchtfleisch der Äpfel nicht verändert. Lediglich die Kerne sind transgen.

Die meisten Apfelpollen wurden dabei in einem Radius von 6 m rund um den Baum gefunden. Unterschiede zwischen den einzelnen Himmelsrichtungen waren in diesem Bereich nicht zu finden. Mit zunehmender Entfernung (6–20 m) wurden nur noch vereinzelte Pollenkörner gefunden. Dabei war der Anteil an Pollen in nördlicher Richtung vom Baum am größten. Da der Wind an diesem Tag mit einer Stärke von 3 bis 4 aus südlicher Richtung kam, ist dieses Ergebnis wenig verwunderlich. Es ist jedoch nicht klar, ob solche einzelnen Pollenkörner überhaupt zu einer erfolgreichen Befruchtung führen können. Eine Auskreuzung durch Wind über eine Distanz von mehr als 20 m ist eher unwahrscheinlich. Auch zur Verhinderung einer Windauskreuzung sind Mantelpflanzungen und Sicherheitsabstände zu empfehlen. Eine Breite von 25–30 m sollte ausreichen, um dieses Risiko zu unterbinden.

Ist eine Auskreuzung durch Samen möglich?

Eine Auskreuzung ist prinzipiell auch über die Samen von Früchten transgener Pflanzen denkbar. Die Früchte fallen auf den Boden und werden anschließend von Tieren gefressen, die dann die Samen (z.B. die Apfelkerne) über ihren Kot verbreiten. Dieser Weg der Ausbreitung ist unter den in Europa herrschenden Bedingungen einer bewirtschafteten Obstanlage nahezu ausgeschlossen. Der Apfelbaum wird nicht über Samen, sondern vegetativ durch Pfropfung vermehrt. Die Samen spielen deshalb für die Erhaltung und Vermehrung



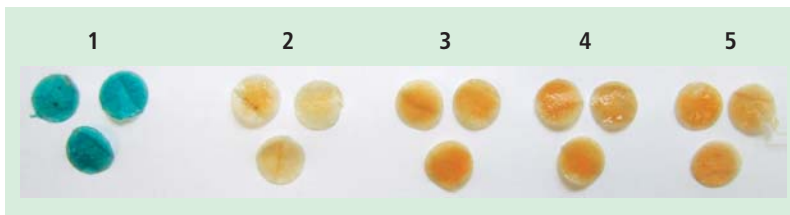


Abb. 5: Die Aktivität des *gusA* Gens, welches zu einer Blaufärbung von gentechnisch verändertem Gewebe führt, konnte nur an Blättern der transgenen Wurzelunterlage (1) nachgewiesen werden. An den Blättern der aufgepfropften nicht-transgenen Apfelsorte (Proben 2-5) war keine Blaufärbung und damit auch kein Fremdgenprodukt nachweisbar.

von Obstsorten keine Rolle. Des Weiteren werden die Früchte in bestehenden Obstanlagen in der Regel abgeerntet bzw. aus phytosanitären Gründen aufgesammelt. Sollten dennoch Samen von heruntergefallenen Früchten in den Boden gelangen, so finden diese aufgrund der intensiven Bearbeitung innerhalb der Obstanlagen keine geeigneten Entwicklungsbedingungen.

Auch außerhalb der obstbaulich genutzten Flächen ist eine solche ‚Auswilderung‘ unwahrscheinlich, da Apfelbäume in unserer genutzten Kulturlandschaft kaum Aufwuchsmöglichkeiten haben.

Käme es, zum Beispiel durch unzureichende Sicherheitsmaßnahmen (Mantelpflanzungen etc.), zu einer unerwünschten Übertragung von gentechnisch verändertem Pollen auf die Apfelblüten in einer benachbarten Obstanlage, so würden im Ergebnis Früchte entstehen, deren Samen verändertes Erbgut enthielten. Das Fruchtfleisch des Apfels entwickelt sich jedoch aus dem Blütenboden, welcher aus rein mütterlichem, unverändertem Gewebe besteht. Damit wären sowohl das Fruchtfleisch als auch die Schale völlig unverän-

dert. Von Belang wäre dieser Fall lediglich für solche Verbraucher, die den Apfel mit samt dem Kerngehäuse essen.

Ist ein Gentransport innerhalb der Pflanze möglich?

Der Apfel wird normalerweise in Form einer Pfropfkombination, bestehend aus zwei unterschiedlichen Genotypen, angebaut. Der erste Genotyp dient als Wurzelunterlage, die an den Standort angepasst ist. Die Unterlage bestimmt den Wuchs des Baumes. Auf diese Wurzelunterlage wird ein zweiter Genotyp, die Kultursorte, veredelt. Dabei handelt es sich in der Regel um Edelsorten, die den Baum in die Lage versetzen, hochwertige Früchte in einer ausreichenden Menge zu produzieren. Diese Art der Kultivierung trifft sowohl für konventionelle als auch für gentechnisch modifizierte Apfelbäume gleichermaßen zu.

Sollten transgene Sorten in ferner Zukunft Eingang in den Obstbau finden, dann ist es nicht zwangsläufig der Fall,

dass beide Veredlungspartner (Unterlage und Edelreis) gentechnisch verändert sind. Deshalb stellt sich hier die Frage, inwieweit fremde Gene oder deren Produkte (z.B. Eiweiße) von dem transgenen in den nicht-transgenen Teil des Baumes transportiert werden können.

Um dies abzuklären, wurden im Gewächshaus gentechnisch veränderte Apfelbäume mit unterschiedlichen Veredlungsvarianten hergestellt. Der transgene Genotyp wurde entweder als Wurzelunterlage oder als Edelsorte benutzt. Nach ein bzw. zwei Jahren wurde der jeweils gentechnisch unveränderte Teil des Baumes auf das Vorkommen der Fremdgene bzw. deren Produkte untersucht (Beispiel in Abb. 5). Im Rahmen dieser Studie wurden insgesamt vier Gene, die mithilfe von drei Genkonstrukten übertragen worden waren, geprüft. Dabei handelte es sich um die bereits beschriebenen Gene *nptII* und *gusA* sowie um das Lysozym-Gen T4L des Bakteriophagen T4 und das für eine Exopolysaccharid-Depolymerase kodierende *dpo*-Gen des Bakteriophagen Ea1h. Für diese Gene konnte ein solcher Transport in den nicht-transgenen Teil des Baumes nicht nachgewiesen werden.



Dr. Henryk Flachowsky und
Dir. u. Prof. Dr. Magda-Viola
Hanke, Bundesanstalt für
Züchtungsforschung an
Kulturpflanzen, Institut für Obst-
züchtung, Pillnitzer Platz 2, 01326 Dres-
den. E-Mail: h.flachowsky@bafz.de

Den beschriebenen Forschungsarbeiten liegen Projekte zugrunde, die durch den Freistaat Sachsen (Sächsisches Staatsministerium für Umwelt und Landwirtschaft) sowie durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) langjährig finanziell gefördert worden sind. An den Arbeiten waren folgende Mitarbeiter beteiligt: Stefanie Reim, Marko Riedel, Andreas Peil. Wir danken auch den zahlreichen Studentinnen und Studenten der TU Dresden und der Hochschule für Technik und Wirtschaft Dresden für die in den Praktikumssemestern geleistete Arbeit.