

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und biologische Sicherheit¹⁾ und Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland²⁾

Potential und Bewertung von Auskreuzungen aus gentechnisch verändertem Raps

Potential and valuation of pollen-mediated gene transfer from transgenic oilseed rape

Von Antje Dietz-Pfeilstetter¹⁾, Astrid Gland-Zwinger¹⁾ und Volker Garbe²⁾

Zusammenfassung

Mit der Markteinführung gentechnisch veränderter Rapsorten und der damit verbundenen Zunahme des großflächigen Anbaus von transgenem Raps gewinnen auch Fragen der Auskreuzung auf andere Rapspflanzen und auf verwandte Unkrautpflanzen an Bedeutung. Auch wenn Isolationsdistanzen entsprechend den Bestimmungen für die Saatgutherstellung zwischen Rapsfeldern eingehalten werden, ist eine Übertragung von transgenem Pollen auf andere Rapspflanzen nicht auszuschließen. Darüber hinaus kann Raps (*Brassica napus*) aufgrund der engen genetischen Verwandtschaft mit anderen Brassicaceen auch mit einer Reihe verwandter Unkrautpflanzen interspezifische Hybriden bilden. Die Konsequenzen von Genübertragungen auf andere Pflanzen werden am Beispiel herbizidresistenter Rapspflanzen diskutiert. Durch geeignete Sorten- bzw. Fruchtfolgewardahl sowie durch Bodenbearbeitungsmaßnahmen können Probleme mit dem Auftreten von herbizidresistentem Ausfallraps minimiert werden.

Stichwörter: Transgene Pflanzen, Raps, Auskreuzung, Brassicaceen, Herbizidresistenz, Unkrautbekämpfung

Abstract

The marketing of transgenic oilseed rape varieties in connection with the increase of the cultivation area of transgenic oilseed rape emphasizes the importance of outcrossing to other rape plants and to related weeds. Even if isolation distances according to the regulations for seed production are followed, can a transfer of transgenic pollen to other oilseed rape plants not be excluded. Moreover, because of the close genetic relationship with other *Brassicaceae*, oilseed rape can form interspecific hybrids with a number of related weed plants. The consequences of gene transfer to other plants are discussed, taking herbicide resistant oilseed rape as an example. Choosing varieties and crop rotation accordingly as well as proper soil management can minimize potential problems connected with the occurrence of herbicide resistant volunteer oilseed rape.

Key words: Transgenic plants, oilseed rape, outcrossing, Brassicaceae, herbicide resistance, weed management

Einleitung

Raps (*Brassica napus*) gehört zusammen mit Mais zu den Kulturpflanzen, die in Europa am häufigsten als gentechnisch veränderte Pflanzen (GVP) in Freisetzungsexperimenten getestet

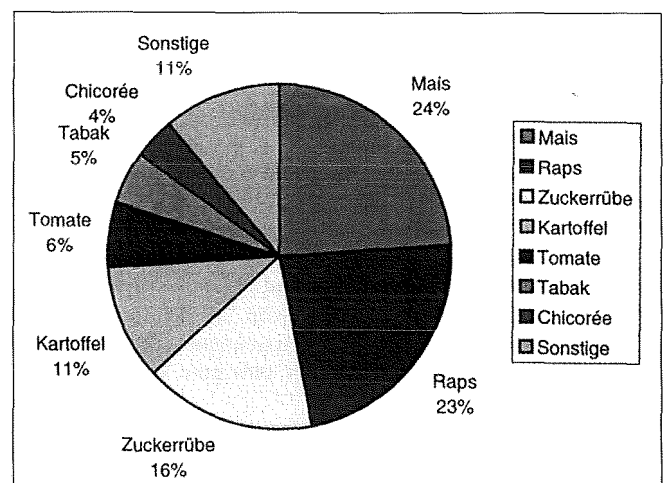


Abb. 1. Freisetzungsanträge für gentechnisch veränderte Pflanzen in der EU (aus BioSearch Datenbank der BBA, Stand: Dezember 1997).

wurden (Abb. 1). Die neuen Eigenschaften umfassen dabei vor allem Herbizidresistenz, männliche Sterilität und veränderte Ölzusammensetzung (Abb. 2). Auch unter den nach der EU-Richtlinie 90/220/EWG inverkehrgebrachten oder zum Inverkehrbringen beantragten GVP steht Raps an erster Stelle. Bereits für den unbeschränkten Anbau innerhalb der EU genehmigt sind verschiedene transgene Linien von Sommerraps, in die Gene für männliche Sterilität bzw. für die Wiederherstellung der Fertilität eingeführt wurden und die zusätzlich resistent gegen den Herbizidwirkstoff Glufosinat-ammonium sind. Darüber hinaus ist die Vermarktung weiterer herbizidresistenter Rapslinien in nächster Zeit zu erwarten. Mit der Zunahme des großflächigen Anbaus von gentechnisch verändertem Raps gewinnt die Frage des Auskreuzungspotentials an Bedeutung. Dabei sind die Konsequenzen einer Auskreuzung auf andere Rapsfelder oder auf verwandte Wildpflanzen abhängig von der eingeführten Eigenschaft. Nur wenn das neue Gen den Pflanzen einen Selektionsvorteil vermittelt, sind ökologische Veränderungen in der Wildflora denkbar.

Pollenflug-Distanzen und Frequenz der Auskreuzung auf benachbarte Rapsfelder

Auch wenn Raps im Feld hauptsächlich selbstbefruchtend ist (OLSSON, 1960), findet auch in beträchtlichem Ausmaß Auskreuzung durch Insekten und Wind statt. Unter Freilandbedingungen

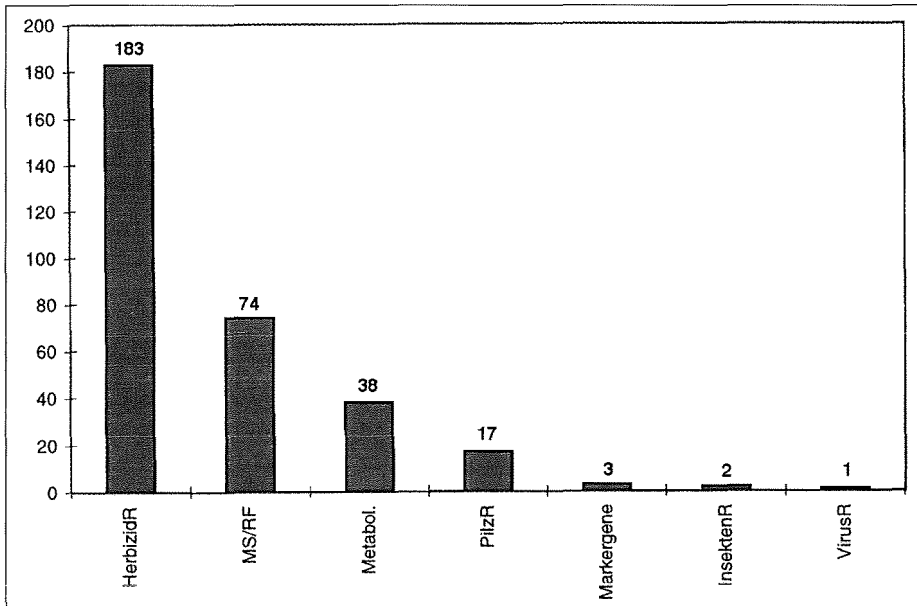


Abb. 2. Freisetzungsanträge für gentechnisch veränderten Raps in der EU; eingeführte Eigenschaften (aus Bio-Search Datenbank der BBA, Stand: Dezember 1997).

wurden Auskreuzungsraten bis zu 15 % beobachtet (HÜHN und RAKOW, 1979). Insbesondere Bienen spielen eine wichtige Rolle bei der Fremdbefruchtung (FREE, 1993). Darüber hinaus wurde auch der Wind als bedeutender Faktor für Bestäubung und guten Samenansatz identifiziert (JENKINSON and GLYNNE-JONES, 1953; WILLIAMS, 1978).

In Deutschland muß bei Raps für die Produktion von Basisaatgut eine Mindestentfernung von 200 m zu gleichzeitig Pollen abgebenden Feldbeständen derselben Art oder anderer kreuzbarer Arten eingehalten werden. Für die Herstellung von zertifiziertem Saatgut beträgt die Mindestentfernung 100 m. Dabei wird für zertifiziertes Saatgut, das für die Versorgung der Saatgutverbraucher bestimmt ist, ein Fremdbesatz von 15 Pflanzen pro 150 m² toleriert. Dadurch ist bereits impliziert, daß trotz Isolationsdistanzen zwischen verschiedenen Rapsfeldern eine Pollenverbreitung nicht auszuschließen ist.

Die in bestimmten Entfernungen von einem Feld mit gentechnisch verändertem Raps gefundenen Auskreuzungsraten sind stark abhängig von Feldgröße, Versuchsdesign und Umweltbedingungen. So wurden von SCHEFFLER et al. (1993) bei einem kleinen Feldversuch mit transgenem herbizidresistentem Raps nur sehr geringe Auskreuzungsraten beobachtet. Der Versuch war so angelegt, daß ein kreisförmiges Feld von 9 m Durchmesser, auf dem sich transgener Raps befand, bis zu einer Entfernung von 48 m in allen Richtungen von nicht-transgenen Rapspflanzen umgeben war. Dabei wurden mit zunehmender Entfernung vom transgenen Zentrum stark abnehmende Auskreuzungsraten gefunden, die in 3 m Entfernung bei 0,4 %, in 6 m Entfernung bei 0,11 % und in 47 m Entfernung nur noch bei 0,00033 % lagen. Dagegen zeigen neuere Untersuchungen zum Pollentransport und zum Auskreuzungsverhalten von *Brassica napus*, daß bei einem unbegrenzten großflächigen Anbau gentechnisch veränderter Rapspflanzen mit einer Verbreitung eingeführter Transgene auch auf weiter entfernt liegende Rapsfelder zu rechnen ist (TIMMONS et al., 1995; PFEILSTETTER et al., unveröff.). TIMMONS et al. (1995) berichten über ausreichende Pollenzahlen für die Befruchtung emaskulierter Pollenfängerpflanzen in 1,5 km Entfernung von 3 bzw. 10 Hektar großen Feldern mit transgenem Winterraps. In einer bisher unveröffentlichten, von PFEILSTETTER et al. durchgeführten Studie wurden am äußeren Rand der 8 m breiten Mantelsaat um ein ca. 1000 m² großes Feld mit herbizidresistentem transgenem Raps durchschnittlich 1 % Auskreuzung ge-

funden. An fertilen Fangpflanzen in 200 m Entfernung enthielten in Abhängigkeit von der Himmelsrichtung immerhin noch durchschnittlich 0,06 % und maximal 0,83 % der gebildeten Samen das entsprechende Herbizidresistenzgen.

Gentransfer auf verwandte Arten

Aufgrund der engen genetischen Verwandtschaft mit anderen Brassicaceen ist bei der Sicherheitsbewertung von transgenen Rapspflanzen auch eine Genübertragung auf verwandte Wild- und Kulturpflanzen zu berücksichtigen. So wurden spontane interspezifische Hybridisierungen von *Brassica napus* mit *B. rapa* syn. *B. campestris* (Rübsen), *B. juncea* (Sarepta-Senf, Brauner Senf), *B. adpressa* syn. *Hirschfeldia incana* (Grauer Bastardsenf) und *Raphanus raphanistrum* (Hederich) gefunden (JØRGENSEN and ANDERSEN, 1994; BING et al., 1991; EBER et al., 1994; SCHEFFLER and DALE, 1994). Von diesen als Wildpflanzen vorkommenden Arten werden *B. campestris* und *B. juncea* auch als Kulturpflanzen genutzt. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die mit *B. napus* verwandten Brassicaceen und deren Genomzusammensetzung.

Bereits U (1935) klärte in umfassenden Untersuchungen die Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den diploiden *Brassica*-Arten *B. nigra* ($2n=2x=16$, B-Genom), *B. oleracea* ($2n=2x=18$, C-Genom), *B. rapa* ($2n=2x=20$, A-Genom) und den daraus resultierenden amphidiploiden Arten *B. carinata* ($2n=4x=34$, BC-Genom), *B. juncea* ($2n=4x=36$, AB-Genom) und *B. napus* ($2n=4x=38$, AC-Genom). MIZUSHIMA (1950) berichtete über weitere mögliche Verwandtschaftsbeziehungen zwischen diploiden Arten, z. B. *B. rapa* mit *B. adpressa* ($2n=2x=14$), *Eruca sativa* ($2n=2x=22$), *Sinapis arvensis* ($2n=2x=18$) und *Raphanus sativus* ($2n=2x=18$) sowie *B. oleracea* mit *Diplotaxis erucoides* ($2n=2x=14$), *Sinapis alba* ($2n=2x=24$), *E. sativa*, *R. sativus* und *S. arvensis*. Diese Kreuzungen wurden allerdings unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus durchgeführt und dienten ausschließlich den zytologischen Untersuchungen zur Aufklärung der genomischen Verwandtschaftsbeziehungen.

Während sowohl CHÈVRE et al. (1992) als auch EBER et al. (1994) bei ihren Untersuchungen zur spontanen Hybridisierung zwischen *B. napus* und zwei Wildarten (*B. adpressa* und *Raphanus raphanistrum*) männlich sterile Rapslinien als Mutterpflan-

Tab. 1. Botanische Bezeichnung, Trivialnamen und Chromosomenanzahl verschiedener Brassicaceen

Botanische Bezeichnung	Trivialnamen	Chromosomenanzahl mit Genombezeichnung
<i>Brassica campestris</i> syn. <i>B. rapa</i>	Rübsen, Wasserrübe	2n = 2x = 20 AA
<i>B. carinata</i>	Abessinischer Senf	2n = 4x = 34 BBCC
<i>B. juncea</i>	Sarepta-Senf, Braunsenf	2n = 4x = 36 AABB
<i>B. napus</i>	Raps, Kohlrübe	2n = 4x = 38 AACC
<i>B. nigra</i>	Schwarzer Senf	2n = 2x = 16 BB
<i>B. oleracea</i>	Kohl	2n = 2x = 18 CC
<i>Diplotaxis eruroides</i>	Doppelsame	2n = 2x = 14 D _a D _e
<i>Eruca sativa</i>	Rauke	2n = 2x = 22 EE
<i>Erucastrum gallicum</i>	Französische Hundsrauke	2n = 4x = 30
<i>Hirschfeldia incana</i> syn. <i>Brassica adpressa</i>	Graunsenf, Bastardsenf	2n = 2x = 14 A _a A _d
<i>Raphanus raphanistrum</i>	Hederich	2n = 2x = 18 R _r R _r
<i>R. sativus</i>	Rettich, Radieschen	2n = 2x = 18 RR
<i>Sinapis alba</i>	Weißer Senf	2n = 2x = 24 S _{al} S _{al}
<i>S. arvensis</i>	Ackersenf	2n = 2x = 18 S _{ar} S _{ar}

zen einsetzten, wurde für Kreuzungen mit *B. rapa* und *B. juncea* voll fertiler Raps verwendet (JØRGENSEN and ANDERSEN, 1994; BING et al., 1991). Die Kreuzungen der vier Arten mit *B. napus* erfolgte durch natürliche Bestäubung. Nur eine geringe Anzahl an Hybridsamen konnte produziert werden. Die F₁-Pflanzen waren zum überwiegenden Anteil nicht fertil, obwohl nach Rückkreuzung mit der Wildart einige Samen gebildet wurden.

Neuere Untersuchungen von LEFOL et al. (1996, 1997) sowie BARANGER et al. (1995) und CHÈVRE et al. (1997) unter Feldbedingungen bestätigten die vorstehend genannten Ergebnisse durch weitere Experimente mit *H. incana*, *R. raphanistrum* sowie *Erucastrum gallicum* (Französische Hundsrauke).

Bei den Kreuzungen zwischen männlich sterilem Raps und *H. incana* entstanden 26 spontane Hybriden und aus der reziproken Kreuzung mit *H. incana* als Mutterpflanze lediglich eine Hybridpflanze (LEFOL, 1996). Alle Hybridpflanzen waren triploid und hatten 26 Chromosomen. Die Fertilität war nur sehr gering. In den Kreuzungen mit *E. gallicum* und *R. raphanistrum* beobachteten LEFOL et al. (1997) unterschiedlich hohe Kreuzungsansätze und erhielten insgesamt vier Hybridpflanzen (Tabelle 2). In allen Fällen dienten die Wildarten als Bestäuber und die Kulturarten als Mutterpflanzen und zwar in den Kombinationen *B. napus* × *E. gallicum*, *B. napus* × *R. raphanistrum* (2 Pflanzen) und *B. rapa* × *E. gallicum*. Die Hybridpflanze aus *B. rapa* × *E. gallicum* war sehr kräftig und fertil. Pflanzen aus dieser Kreuzung könnten sich daher in natürlichen Habitaten durchsetzen. Die *B. napus* × *E. gallicum*-Hybridpflanze war zwar schwach, produzierte jedoch fertile Rückkreuzungsnachkommen mit *E. gallicum*. Die *B. napus* × *R. raphanistrum*-Hybridpflanzen waren sehr kräftig, jedoch überwiegend steril.

CHÈVRE et al. (1997) und BARANGER et al. (1995) berichteten ebenfalls über transgene Introgression in das Genom von *R. raphanistrum*. Jedoch wurden auch in diesen Untersuchungen männlich sterile Rapspflanzen als Mutterpflanzen verwendet. Erfolgreiche Einkreuzungen der Kulturart *B. napus* in die Wildart wurden daher auch hier nicht beobachtet. Die Mehrzahl der erhaltenen F₁-Hybriden war triploid und hatte die Genomszusammensetzung ACR₁ mit 28 Chromosomen.

Über vier Generationen unter Freilandbedingungen durchgeführte Rückkreuzungen dieser Hybriden mit *R. raphanistrum* führten zu einer fortschreitenden Reduzierung der Chromosomenzahl, die mit ansteigender Fertilität korreliert war. Allerdings nahm mit fortschreitender Reduktion der Chromosomenzahl und Angleichung des Genoms an das *R. raphanistrum*-

Tab. 2. Natürliche Kreuzungen zwischen *Brassica napus* und anderen Brassicaceen

Elternkombination (♀ × ♂)	F ₁ -Hybridpflanzen	F ₂ - oder BC ₁ -Nachkommenschaft	Zitat
<i>Brassica napus</i> × <i>B. adpressa</i> ^{a, b}	600 Samen/m ²	?	LEFOL et al. 1991
<i>B. napus</i> × <i>B. adpressa</i> ^{a, b}	512 Samen/m ² (92,1% Keimung)	ja	EBER et al. 1994
<i>B. napus</i> × <i>Hirschfeldia incana</i> ^{a, b}	26	13	LEFOL et al. 1996
<i>B. napus</i> × <i>Erucastrum gallicum</i> ^g	1	ja	LEFOL et al. 1997
<i>B. napus</i> × <i>R. raphanistrum</i> ^{a, b}	7434 Samen/m ² (59,3% Keimung)	ja	EBER et al. 1994
<i>B. napus</i> × <i>R. raphanistrum</i> ^{a, b}	3429 ^h	ja	BARANGER et al. 1995
<i>B. napus</i> × <i>R. raphanistrum</i> ^g	2	ja	LEFOL et al. 1997
<i>B. napus</i> × <i>B. juncea</i> ^{a, c}	5	?	BING et al. 1991
<i>B. napus</i> × <i>B. rapa</i> ^{a, e}	21	?	BING et al. 1991
<i>B. napus</i> × <i>B. campestris</i> ^a	865	416	MIKKELSEN et al. 1996
<i>B. campestris</i> × <i>B. napus</i> ^a			
<i>B. rapa</i> × <i>B. napus</i> ^{a, f}	21	?	BING et al. 1991
<i>B. rapa</i> × <i>E. gallicum</i> ^g	1	ja	LEFOL et al. 1997
<i>B. rapa</i> × <i>R. raphanistrum</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997
<i>B. juncea</i> × <i>B. napus</i> ^{a, d}	204	?	BING et al. 1991
<i>B. juncea</i> × <i>E. gallicum</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997
<i>B. juncea</i> × <i>R. raphanistrum</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997
<i>E. gallicum</i> × <i>B. napus</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997
<i>E. gallicum</i> × <i>B. juncea</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997
<i>E. gallicum</i> × <i>B. rapa</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997
<i>H. incana</i> × <i>B. napus</i> ^{a, b}	1	ja	LEFOL et al. 1996
<i>R. raphanistrum</i> × <i>B. napus</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997
<i>R. raphanistrum</i> × <i>B. juncea</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997
<i>R. raphanistrum</i> × <i>B. rapa</i> ^g	0	?	LEFOL et al. 1997

Details zu den Kreuzungen: ^aoffene Bestäubung im Freiland, ^bweibliche Elternpflanze männlich steril, ^cAnzahl bestäubter Pflanzen = 469, ^dAnzahl bestäubter Pflanzen = 6208, ^eAnzahl bestäubter Pflanzen = 790, ^fAnzahl bestäubter Pflanzen = 2129, ^gmanuelle Bestäubung nach Kastration, ^hPflanzen, die anhand der Chromosomenzusammensetzung als Hybriden identifiziert wurden

Genom auch das Ausmaß der Vererbung des Basta®-Resistenzgens ab.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die Kreuzungen von *B. napus* mit *E. gallicum* bzw. *R. raphanistrum* wegen ihrer geringen Wüchsigkeit bzw. hochgradigen Sterilität keine große Bedeutung zu haben scheinen. Es ist jedoch zu bedenken, daß Rückkreuzungen der Hybriden mit *E. gallicum* bzw. *R. raphanistrum* durchaus ernstzunehmen sein könnten.

Kontrollierte Bestäubungen wurden von METZ et al. (1997) mit zwei transgenen Phosphinothricin-(PPT-)resistenten *B. napus*-Linien und zwei verschiedenen *B. rapa*-Herkünften durchgeführt. Ihre Befunde zeigten, daß interspezifische Kreuzungen und Rückkreuzungen der transgenen *B. napus*-Linien mit *B. rapa* relativ leicht stattfinden und daher ein Genfluß in *B. rapa* nicht vermeidbar zu sein scheint. Selbstungen der F₁-Pflanzen erbrachten keinen Samenansatz. Die erste Rückkreuzungsgeneration (BC₁) spaltete für das Merkmal PPT-Resistenz bei den Nachkommen einer der beiden *B. napus*-Linien erwartungsgemäß in 1:1 resistent zu sensitiv, im Fall der anderen *B. napus*-Linie dagegen waren nur 26 % der Nachkommen PPT-resistent. Weitere Rückkreuzungen dieser zweiten *B. napus*-Linie führten zu einem immer höheren Anteil sensitiver Pflanzen, und in der BC₄ wurden nur noch 9 % resistente Pflanzen gefunden. METZ et al. (1997) unterstützen mit diesen Befunden die Hypothese von MIKKELSEN et al. (1996). Der Einbau des PPT-Resistenzgens kann entweder in Chromosomen des A-Genoms (*B. rapa*) oder des C-Genoms (*B. oleracea*) erfolgt sein. Von diesem Einbau hängt die Transmissionsrate des Gens in den Rückkreuzungsnachkommenschaften ab. Aufgrund ihrer Untersuchungsergebnisse vermuten METZ et al. (1997), daß das PPT-Resistenzgen im Fall der zweiten *B. napus*-Linie in das C-Genom eingebaut worden war und daher nur zur geringfügigen Übertragung in *B. rapa* führte. Damit wäre dann auch eine Übertragung in *B. juncea* eingeschränkt.

Neben den genomischen Verwandtschaftsbeziehungen gibt es eine Reihe von Faktoren, die eine erfolgreiche Hybridisierung unter Feldbedingungen beeinflussen: der Abstand zwischen den potentiellen Kreuzungspartnern (transgener *B. napus* und verwandte Wildarten), Kreuzungsrichtung, Blühtermin und -dauer, Pollenverbreitung (Wind, Insekten), Genotypenabhängigkeit und Umweltbedingungen.

Geographische Verbreitung von Brassicaceen

Der Schwarze Senf (*B. nigra*) wird bereits seit Jahrtausenden genutzt. Ursprünglich wurde er hauptsächlich in Kleinasien angebaut. Mittlerweile ist er aber in ganz Europa, Afrika und Asien verbreitet. Neuere Untersuchungen lassen die Vermutung zu, daß China das Ursprungszentrum des B-Genoms (*B. nigra*) sein könnte (QUIROS, 1995).

Wildformen der zweiten *Brassica*-Grundart *B. oleracea* (C-Genom) wurden in Nordfrankreich und England gefunden. Allerdings existiert auch für diese Art ein weiteres Genzentrum in China. Eine große Mannigfaltigkeit an Kohlformen (z. B. Weißkohl, Grünkohl, Rosenkohl, Brokkoli, Kohlrabi, Marktammkohl) sind in verschiedenen Regionen Europas seit ca. zweitausend Jahren domestiziert worden.

Variabilitätszentren der dritten Grundart *B. rapa* oder *B. campestris* (A-Genom) finden sich in Asien, im Mittelmeergebiet und Nordwesteuropa (SCHRÖDER-LEMBKE, 1976). REINER et al. (1995) berichten über Funde von *B. campestris*-Wildformen in Österreich. Die Domestikation von *B. rapa* erfolgte nach verschiedenen Nutzungszielen, z. B. Öltypen (Rübsen) in Europa, Indien, Zentralasien und Afghanistan; Rübenformen (Wasser- oder Stoppelrübe, Teltower Rübchen) in Europa und Gemüsety-

pen (Chinakohl) in China und Japan (QUIROS, 1995). Winterrüben wurde früher häufig in Europa angebaut, insbesondere in Osteuropa (SCHRÖDER-LEMBKE, 1976), während in Indien und Kanada nur die Sommerform genutzt wird.

Die Verbreitungsgebiete von *B. carinata* (BC-Genom) der amphidiploiden Art aus der Kreuzung von *B. nigra* und *B. oleracea* sind hauptsächlich Nordostafrika und Äthiopien.

Die älteste der drei amphidiploiden *Brassica*-Arten ist *B. juncea* (AB-Genom). Zur Ölnutzung wird diese hauptsächlich in Indien angebaut. In den letzten Jahren hat sie jedoch in Kanada und den USA als Alternative zum Rapsanbau an Bedeutung gewonnen. In Europa wird *B. juncea* vorwiegend als Gewürzpflanze (Senf) und auch als Zwischenfrucht angebaut.

Der Winterraps (*B. napus*), die dritte amphidiploide *Brassica*-Art (AC-Genom) hat als Ölpflanze in Europa große Bedeutung erlangt. Zusätzlich wird *B. napus* auch als Gemüseform (Kohl- oder Steckrübe) sowie als Zwischenfrucht genutzt. In Kanada wird aufgrund der klimatischen Verhältnisse nur Sommerraps (Canola) angebaut.

Konsequenzen eines Gentransfers

Die Konsequenzen eines Pollen-vermittelten Gentransfers sollen am Beispiel von herbizidresistentem Raps diskutiert werden. Die Übertragung von Herbizidresistenzgenen über größere Entfernungen hinweg und auf verwandte Unkrautarten spielt in der öffentlichen Diskussion eine große Rolle. Häufig wird ein Szenario der Ausbreitung von schwer bekämpfbaren, herbizidresistenten „Superunkräutern“ gezeichnet (u. a. COGHLAN, 1995).

Daß durch Herbizidresistenzgene bzw. durch deren Übertragung in verwandte Unkräuter die Fitness und der Unkrautcharakter der Pflanzen nicht generell erhöht wird, ist wiederholt gezeigt worden (CRAWLEY et al., 1993; KAREIVA et al., 1996). Jedoch kann unter bestimmten Umständen die Unkrautbekämpfung erschwert sein. Zwei Übertragungswege von Herbizidresistenzgenen mit möglichen Folgen für die Unkrautbekämpfung sind für Raps anzunehmen:

- a) auf benachbarte Rapsfelder
- b) auf verwandte Unkrautarten

Brassica napus kann als Ausfallraps in allen nachfolgenden Kulturen einer Fruchtfolge auftreten. Durch die Wahl entsprechend selektiver Herbizide ist die Bekämpfung in Kulturen wie Getreide, Zuckerrüben, Mais und Kartoffeln aber möglich. Um Ausfallraps auch in herbizidresistenten Zuckerrüben- und Maiskulturen erfolgreich mit dem entsprechenden Komplementärherbizid bekämpfen zu können, sollte daher in der Fruchtfolge keine Rapsorte mit Resistenz gegen das gleiche Herbizid angebaut worden sein. Dies ist durch entsprechende Sorten- oder Fruchtfolgewahl grundsätzlich möglich, erfordert aber einen zusätzlichen organisatorischen Aufwand.

Ein besonderer Fall liegt jedoch vor, wenn ein Herbizidresistenzgen auf benachbarte Felder in nicht-resistente Rapspflanzen oder in Raps, der bereits resistent ist gegen ein anderes Herbizid, eingekreuzt wird. Dann nämlich könnte in den Folgekulturen Durchwuchsraps auflaufen, dessen tatsächliche Resistenzeigenschaften dem Landwirt nicht bekannt sind. Ist die Folgekultur Getreide, so wird derartige Unkrautraps durch die meisten Getreideherbizide gut bekämpft. Werden jedoch anschließend Zuckerrüben, die das gleiche Herbizidresistenzgen enthalten, angebaut, so sind veränderte Bekämpfungsstrategien erforderlich. Um die Entstehung von mehrfach resistentem Ausfallraps zu verhindern, wird von THILL (1996) vorgeschlagen, in einer Region nicht Sorten einer Kulturart mit unterschiedlichen Herbizidresistenzen anzubauen. Ein derartiges Vorgehen scheint allerdings in

der landwirtschaftlichen Praxis kaum flächendeckend durchsetzbar zu sein.

Herbizidresistenter Ausfallraps kann auch nach mehreren Fruchtfolgegenerationen noch unerwartet Probleme bei der Bekämpfung verursachen. Rapssamen besitzen zwar nur eine gering ausgeprägte primäre Dormanz, werden sie jedoch in tiefere Bodenschichten verlagert, entwickeln sie eine sekundäre Dormanz, die eine Überdauerung über mehrere Jahre im Boden ermöglicht. Gelangen diese Samen durch eine Bodenbearbeitung in oberflächennahe Schichten, ist eine spätere Keimung möglich (FUCHS, 1989; SCHLINK, 1989; PEKRUN et al., 1997; SCHLINK, 1998). Um die Problematik des Auftretens von herbizidresistentem Ausfallraps in nachfolgenden Fruchtfolgegliedern zu verringern, ist es daher erforderlich, eine angepaßte Bodenbearbeitung durchzuführen. Hierbei sind nach der Ernte des Raps Maßnahmen zu ergreifen, die sein Auskeimen ermöglichen, ohne eine Verlagerung der Samen in tiefere Bodenschichten zu verursachen. Untersuchungen von PEKRUN et al. (1996) zeigen, daß durch eine Verzögerung der Stoppelbearbeitung die Ausbildung einer sekundären Dormanz des Raps reduziert und damit die Überdauerungsrate im Boden vermindert werden kann. Eine um vier Wochen verzögerte Stoppelbearbeitung verringerte die Überdauerungsrate von Ausfallraps auf einen Wert nahe null Prozent.

Auch die Bodenbearbeitung zur Folgefrucht kann zur Verminderung des Auftretens von Ausfallraps in den folgenden Fruchtfolgegliedern beitragen. Untersuchungen von SIEVERT und GARBE (unveröffentlicht) zeigen, daß bei einer Direktsaat Ausfallraps in der Folgekultur im Vergleich zu einer Bodenbearbeitung mit dem Pflug oder dem Grubber verstärkt auftritt. Nach einer effektiven Bekämpfung in dieser Kultur, in der Regel Getreide, ist dann jedoch das Auftreten von Ausfallraps bei einer Direktsaat in den darauf folgenden Fruchtfolgegliedern nur noch sehr gering. Wird dagegen eine wendende Bodenbearbeitung mit dem Pflug oder eine Bearbeitung mit dem Grubber durchgeführt, tritt Ausfallraps auch in den folgenden Fruchtfolgegliedern in erheblichem Maß auf. Die Einbindung einer angepaßten Bodenbearbeitung in Kombination mit einer entsprechenden Herbizidstrategie kann daher das Risiko des Verschleppens von herbizidresistentem Ausfallraps in folgende Fruchtfolgeglieder in erheblichem Maße verringern. Ein vollständiger Ausschluß dieses Risikos ist aber trotz des zusätzlichen organisatorischen Aufwands nicht zu erreichen.

Das Risiko des verstärkten Auftretens von herbizidresistentem Ausfallraps in einer Fruchtfolge läßt sich weiterhin dadurch vermindern, daß die Anbaupause zwischen den Raps-Fruchtfolgegliedern möglichst weit gewählt wird. Voraussetzung dafür ist, daß die Bekämpfung des herbizidresistenten Ausfallraps in den anderen Fruchtfolgegliedern effektiv erfolgt, und somit für diese Fälle die Schadensschwelle von Null gilt.

Von den oben genannten, mit *B. napus* unter natürlichen Bedingungen kreuzbaren Brassicaceen haben in Mitteleuropa allenfalls *B. rapa* und *R. raphanistrum* eine gewisse Bedeutung als Ackerunkräuter. *B. rapa* kommt in Europa verwildert in Getreide und Blattfrüchten kühler Gebiete vor (HANF, 1984). An der Häufigkeit des Auftretens und der Bekämpfbarkeit dieser Unkräuter wird sich durch die Einkreuzung eines Herbizidresistenzgens voraussichtlich nicht viel ändern. Durch die Herbizidresistenz-Eigenschaft wird die Fitness der Pflanzen nicht erhöht, so daß kein verstärktes Auftreten der Unkräuter zu erwarten ist. Die Bekämpfung in Getreide wird weiterhin durch die gängigen Getreideherbizide möglich sein. In herbizidresistentem Raps wäre lediglich die durch die Anwendung des Komplementärherbizids zunächst verbesserte Bekämpfbarkeit dieser *B. napus* verwandten Arten auf Dauer nicht mehr gewährleistet. In anderen herbi-

zidresistenten Kulturen wie beispielsweise Zuckerrüben jedoch kann es zu einem ähnlichen Szenario wie im Fall von herbizidresistentem Ausfallraps kommen, indem selektive Herbizide zusätzlich appliziert werden müßten.

B. juncea und *Hirschfeldia incana* kommen in den Ackerbaukulturen Mitteleuropas nur selten vor. Es ist daher nicht zu erwarten, daß ohnehin nur vereinzelt erfolgende Hybridisierungen mit *B. napus* zu einer Introgression von Herbizidresistenzgenen in diese Wildpflanzen führen wird.

Auch wenn im Fall der Herbizidresistenz durch Auskreuzungen auf verwandte Unkräuter von Raps keine negativen ökologischen Auswirkungen zu erwarten sind, so könnte es bei der Einführung von Eigenschaften, die die Fitness der Pflanzen erhöhen, durch Gentransfer auf Unkrautpflanzen wie Hederich durchaus zu negativen Konsequenzen für die Unkrautbekämpfung und für naturnahe Ökosysteme kommen (KAREIVA et al., 1994). So wurde kürzlich von STEWART et al. (1997) für transgenen Raps, der ein Endotoxin-Gen aus *Bacillus thuringiensis* (Bt *cryIAC*) enthielt, unter Insektenbefall (Kohlschabe, *Plutella xylostella*) eine erhöhte Fitness bezüglich Überleben und Vermehrung festgestellt. Eine Fall-zu-Fall-Bewertung der Auswirkungen von Auskreuzungen aus Raps ist daher vorzunehmen, wenn ein großflächiger Anbau im Zuge des Inverkehrbringens von gentechnisch verändertem Raps zu erwarten ist.

Literatur

- BARANGER, A., A. M. CHÈVRE, F. EBER, M. RENARD, 1995: Effect of oilseed rape genotype on the spontaneous hybridization rate with a weedy species: an assessment of transgene dispersal. *Theor. Appl. Genet.* **91**, 956–963.
- BING, D. J., R. K. DOWNEY, G. F. W. RAKOW, 1991: Potential of gene transfer among oilseed *Brassica* and their weedy relatives. Groupe Consultatif International de Recherche sur la Colza GCIRC. 8th International Rapeseed Congress 4, 1022–1027.
- CHÈVRE, A. M., F. EBER, A. BARANGER, M. RENARD, 1997: Gene flow from transgenic crops. *Nature* **389**, 924.
- CHÈVRE, A. M., M. RENARD, F. EBER, P. VALLÉE, M. DESCHAMPS, M. C. KERLAN, 1992: Study of spontaneous hybridization between male-sterile rapeseed and weeds. 13th EUCARPIA Congress pp 67–68.
- COGHLAN, A., 1995: Far-flung pollen raises spectre of superweed. *New Scientist* 11. November 1995.
- CRAWLEY, M. J., R. S. HAILS, M. REES, D. KOHN, J. BUXTON, 1993: Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature* **363**, 620–623.
- EBER, F., A. M. CHÈVRE, A. BARANGER, P. VALLÉE, X. TANGUY, M. RENARD, 1994: Spontaneous hybridization between a male-sterile oilseed rape and two weeds. *Theor. Appl. Genet.* **88**, 362–368.
- FREE, J. B., 1993: *Insect Pollination of crops* (2nd edition). Academic Press, London.
- FUCHS, H. 1987: Wie lange bleiben Raps-Samen im Ackerboden lebensfähig? *RAPS* 5. Jg. (3), 140–141.
- HANF, M. 1984: Ackerunkräuter Europas mit ihren Keimlingen und Samen. BASF Aktiengesellschaft, Ludwigshafen (Hrsg.). BLV Verlagsgesellschaft mbH, München.
- HÜHN, M., G. RAKOW, 1979: Einige experimentelle Ergebnisse zur Fremdbefruchtungsrate bei Winterraps (*Brassica napus oleifera*) in Abhängigkeit von Sorte und Abstand. *Z. Pflanzenzüchtg.* **83**, 289–307.
- JØRGENSEN, R. B., B. ANDERSEN, 1994: Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (Brassicaceae): a risk of growing genetically modified oilseed rape. *Am. J. Bot.* **81**, 1620–1626.
- JENKINSON, J. D., G. D. GLYNNE-JONES, 1953: Observations on the pollination of oil rape and broccoli. *Bee World* **34**, 173–177.
- KAREIVA, P., W. MORRIS, C. M. JACOBI, 1994: Studying and managing the risk of cross-fertilization between transgenic crops and wild relatives. *Molecular Ecology* **3**, 15–21.
- KAREIVA, P., I. M. PARKER, M. PASCUAL, 1996: Can we use experiments and models in predicting the invasiveness of genetically engineered organisms? *Ecology* **77**, 1670–1675.
- KERLAN, M. C., A. M. CHÈVRE, F. EBER, 1993: Interspecific hybrids between a transgenic rapeseed (*Brassica napus*) and related species: cytogenetical characterization and detection of the transgene. *Genome* **36**, 1099–1106.
- LEFOL, E., V. DANILLOU, H. DARMENCY, M. C. KERLAN, P. VALLÉE, A. M. CHÈVRE, M. RENARD, 1991: Escape of engineered genes from rapeseed

to wild *Brassicaceae*. In: Proc. Brighton Crop Protection Conference (Weeds), Farnham, UK: British Crop Protection Council, Vol. 3, 1049–1056.

LEFOL, E., A. FLEURY, H. DARMENCY, 1996: Gene dispersal from transgenic crops. 2. Hybridization between oilseed rape and the wild hoary mustard. *Sex. Plant Reprod.* **9**, 189–196.

LEFOL, E., G. SÉGUIN-SWARTZ, K. DOWNEY, 1997: Sexual hybridisation in crosses of cultivated *Brassica* species with the crucifers *Erucastrum gallicum* and *Raphanus raphanistrum*: Potential for gene introgression. *Euphytica* **95**, 127–139.

METZ, P. L. J., E. JACOBSEN, J. P. NAP, A. PEREIRA, W. J. STIEKEMA, 1997: The impact on biosafety of the phosphinothricin-tolerance transgene in inter-specific *B. rapa* × *B. napus* hybrids and their successive backcrosses. *Theor. Appl. Genet.* **95**, 442–450.

MIKKELSEN, T. R., B. ANDERSEN, R. B. JØRGENSEN, 1996: The risk of crop transgene spread. *Nature* **380**, 31.

MIZUSHIMA, U., 1950: Karyogenetic studies of species and genus hybrids in the tribe *Brassicaceae* of *Cruciferae*. *Tohoku J. Agr. Res.* **1**, 1–14.

OLSSON, G., 1960: Self-incompatibility and outcrossing in rape and white mustard. *Hereditas* **46**, 241–252.

PEKRUN, C., P. W. LANE, P. J. W. LUTMAN, 1997: Unkrauttraps – the story so far. *Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss.* **10**, 115–116.

PEKRUN, C., P. J. W. LUTMAN, P. W. LANE, 1996: Zur Biologie und Bekämpfung von Unkrauttraps. *Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss.* **9**, 83–84.

PETERSEN, J., K. HURLE, 1998: Einführung von herbizidresistenten Sorten: Konsequenzen für die Unkrautbekämpfung. *Z. PflKrankh. PflSchutz, Sonderh. XVI*, 365–372.

QUIROS, C. F., 1995: *Brassica* diversity and wide hybridization. Proc. 9th Int. Rapeseed Congress, Cambridge, UK, Vol. 4, 1057–1062.

REINER, H., W. HÖLZNER, R. EBERMANN, 1995: The development of turnip-type and oilseed-type *Brassica rapa* crops from the wild-type in Europe – an overview of botanical, historical and linguistic facts. Proc. 9th Int. Rapeseed Congress, Cambridge, UK, Vol. 4, 1066–1069.

SCHIEFFLER, J. A., R. PARKINSON, P. J. DALE, 1993: Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*). *Transgenic Res.* **2**, 356–364.

SCHIEFFLER, J. A., P. J. DALE, 1994: Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) to related species. *Transgenic Research* **3**, 263–278.

SCHLINK, S., 1989: Keimruhe von Körnertraps (*Brassica napus* L.) in Abhängigkeit von Sorte, Jahr und Tiefenlage im Boden. *Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss.* **2**, 129–132.

SCHLINK, S., 1998: 10 years survival of rape seed (*Brassica napus* L.) in soil. *Z. PflKrankh. PflSchutz, Sonderh. XVI*, 169–172.

SCHRÖDER-LEMBKE, G., 1976: Die Entwicklung des Raps- und Rübsenanbaus in der deutschen Landwirtschaft. *Z. für Agrargeschichte und Agrarsoziologie* **24**, 145–160.

STEWART, Jr, C. N., N. ALL, P. L. RAYMER, S. RAMACHANDRAN, 1997: Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. *Molecular Ecology* **6**, 773–779.

THILL, D. C. 1996: Managing the spread of herbicide resistance. In: S. O. Duke (Ed.) *Herbicide resistant crops*. CRC Press, Inc., Lewis Publishers, Boca Raton.

TIMMONS, A. M., E. T. O'BRIEN, Y. M. CHARTERS, S. J. DUBBELS, M. J. WILKINSON, 1995: Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica* **85**, 417–423.

U, N., 1935: Genome-analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jpn. J. Genet.* **7**, 389–452.

WILLIAMS, I. H., 1978: The pollination requirements of swede rape (*Brassica napus* L.) and of turnip rape (*Brassica campestris* L.). *J. Agric. Sci. Camb.* **91**, 343–348.

Kontaktanschrift: Dr. Antje Dietz-Pfeilstetter, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und biologische Sicherheit, Messweg 11/12, D-38104 Braunschweig

MITTEILUNGEN

Bericht von der Tagung der Sektion Pathologie der Europäischen Gesellschaft für Kartoffelforschung (EAPR)

vom 31. 3. bis 4. 4. 1998 in Umea, Schweden

1 Übersicht

Programmschwerpunkte waren folgende:

1. Bakterielle und pilzliche Quarantänekrankheiten der Kartoffel
 2. Krankheiten der Knolle, die den Pflanzgutwert bzw. die Verwendung als Speiseware beeinträchtigen
- 39 Teilnehmer aus 12 Ländern leisteten 30 aktive Beiträge als Vortrag oder Poster zu Schaderregern, die überwiegend nicht zu den wichtigsten bei der Kartoffel gehören. Durch sich verändernde Formen der Warenpräsentation (gewaschene Knollen im Handel) gewinnen *Helminthosporium solani* (Silberschorf), *Streptomyces* sp. (Schorf), *Rhizoctonia solani* (Pocken) und *Polyscytatum pustulans* (Tüpfelfleckenkrankheit) an Bedeutung. Zu enge Fruchtfolgen bzw. Monokultur mit zwei Ernten im Jahr und jährlicher Bodendesinfektion (Formaldehyd) z. B. in Israel fördern diese Erreger ebenfalls. Als Quarantänekrankheiten erfordern Ringfäule (*Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*) und die Schleimkrankheit (*Ralstonia solanacearum*) einen sehr hohen Testaufwand und einschneidende Maßnahmen.

2 Zu einzelnen Erregern wird folgendes zusammenfassend hervorgehoben

Clavibacter michiganensis ssp. *sepedonicus*

Der Erreger der Ringfäule spielte in 5 Vorträgen eine Rolle. Das kanadische Untersuchungssystem mit 11 Teststationen nutzt konsequent nur biochemische Nachweisverfahren: Der monoklonale ELISA ist der erste Schritt. Bei Befall folgen Immunfluoreszenztest, PCR und als letzte Sicherheit In-situ-Hybridisation (DE BOER). Während in Schweden der Erreger im Pflanzgut nicht vorkam, fand sich wiederholt Befall in Speiseware nach Pflanzgutimport (NORDIN). Finnische Untersuchungen laufen nach dänischer Methodik. In Frankreich wurde 1997 Befall bei „Indira“ und „Elkana“ festgestellt (DUVAUCHELLE).

Ralstonia solanacearum

In Frankreich fand man Befall bei Importen aus Nordafrika (DUVAUCHELLE). Der Biotest mit der Eierfrucht ist bei 25 °C sicherer als mit Tomate (PERSSON). Die Nachweisgrenze von 10⁶ Bakterien/ml für PCR sowie ELISA und 10⁵ für den Fluoreszenztest wurde durch Vorschalten einer Anreicherungskultur auf SMSA auf 10³ bzw. 10⁴ gesenkt (LE REAUX).

Phytophthora infestans

Es gab 1996 und 1997 starke Indizien für bodenbürtigen *Phytophthora*-Befall aus Oosporen in einem Versuch mit Monokultur von Kartoffeln in Schweden. Starker Befall trat bereits 3 Wochen nach dem Pflanzen auf. Oosporen wurden in Stengeln und Blättern gefunden (STRÖMBERG). Bisherige Erfahrungen mit der NegFry-Prognose führten zur Einsparung von bis zu 50 % des Fungizidaufwandes (ANDERSON). Die Empfehlung einer internationalen Gruppe zur Durchführung der Feldprüfung auf Krautfäuleresistenz lauten: mindestens 2 Jahre an mindestens 1 Ort je Klon 3–6 Wiederholungen mit mindestens 5 Pflanzen