

Transgene dürre- und salztolerante Pflanzen

Florianne Koechlin, Blauen-Institut; Zusammenfassung und Ergänzung der Gentechnik-Nachrichten Spezial 15, „Transgene dürre- und salztolerante Pflanzen“, Öko-Institut eV., Feb. 2004 (www.oeko.de)

I. Einleitung

Das Wasserangebot ist weltweit der wichtigste landwirtschaftliche Produktionsfaktor. In Zukunft wird deshalb Wasser der limitierende Faktor für eine Erhöhung der Nahrungsmittelproduktion sein. Mindestens 70% des weltweiten Wasserverbrauchs entfällt derzeit auf die landwirtschaftliche Produktion. (Inocencio et al. 2003)

Vor allem in einigen südlichen Entwicklungsländern herrscht Wasserknappheit. Die fortschreitende Inanspruchnahme der Grundwasserleiter, steigende Konkurrenz um Wasserressourcen und die Klimaerwärmung werden in Zukunft weiter zunehmen. Ständiger Wassermangel und häufige auftretende Dürreperioden bedrohen besonders die Kapazität des afrikanischen Kontinents, seine Bevölkerung ausreichend zu ernähren.

Unter **Versalzung** versteht man die Anreicherung von wasserlöslichen Salzen im Boden. Neben natürlichen Bodenversalzungen führt v.a. die Bewässerung landwirtschaftlicher Nutzflächen in ariden Gebieten zur Versalzung: Mehr Wasser verdunstet; das darin enthaltene Salz bleibt im Boden. Versalzung landwirtschaftlicher Nutzflächen durch Bewässerung nimmt derzeit stetig zu. (Lewis 2002)

Hohe Salzgehalte im Boden, ob nun anthropogen verursacht oder natürlich vorkommend, sind bei etwa einem Drittel der globalen Anbauflächen für schlechte Wachstumsbedingungen und geringe Erträge verantwortlich (ca. 491 Millionen ha). Weltweit sind schätzungsweise ein Viertel der bewässerten Flächen von Versalzungsschäden betroffen. (Lewis 2002) Dies entspricht einer Fläche von mehr als 60 Millionen Hektar. (Blumwald 2001)

Eine Erhöhung des Salzgehaltes im Boden führt nicht nur zu direkten Schädigungen der Pflanzen, sondern auch zu einer Erhöhung des pH-Wertes im Boden. Doch nur wenige Nutzpflanzen gedeihen auf alkalischen Böden gut. Eine drastische Verringerung des Artenspektrums durch hohe Salzgehalte im Boden trägt indirekt zur Verschlechterung des Bodengefüges bei.

Abiotischer Stress, insbesondere Wassermangel und hohe Salzgehalte, sind ein komplexes morphologisches und physiologisches Phänomen in Pflanzen. Wassermangel bewirkt bei Pflanzen auch einen „osmotischen Stress“: Der Wasserhaushalt zwischen Zellen und Umgebung wird gestört. Wasser wird aus der Zelle geschieden. Das strapaziert Zellmembrane und Makromoleküle. Bei versalzten Böden wird zudem die Wasseraufnahme gestört. (Holmberg & Bülow 1998)

II. Schutzmechanismen gegenüber Wassermangel und hohem Salzgehalt

Der Kenntnisstand über die komplexen physiologischen und biochemischen Mechanismen, die bei Pflanzen zu Toleranzen gegen über abiotischen Stressfaktoren führen, ist nach wie vor gering. Entsprechende Eigenschaften beruhen meistens auf einer Vielzahl von Genen und komplexen Regulationsmechanismen.

Morphologische Schutzmechanismen

Im Laufe der Evolution haben sich Pflanzen entwickelt, die zumindest zeitweise extremen Wassermangel ertragen können. Diese Pflanzen können durch bestimmte Einrichtungen die Wasserabgabe an die Umgebung reduzieren. (Strasburger 2002; Nultsch 2001)

- Sie verfügen meist über ein tiefes Wurzelsystem.
- Sie können meist die Spaltöffnungen auf der Blattunterseite auch bei Tageslicht verschliessen, so dass weniger Wasser verdunstet.
- Oberirdische Pflanzenteile sind oft mit einer dünnen Cutinschicht (wachsähnliche Substanz) überzogen. Das vermindert die Transpiration.

- Pflanzen können sich vor Verdunstung schützen, indem die transpirierenden Oberflächen im Verhältnis zum Gesamtvolumen der Pflanze reduziert werden. Dies wird zum Beispiel erreicht, indem Pflanzen zu Beginn einer Trockenzeit Blätter abwerfen.
- Viele Pflanzen können im Gewebe Wasser speichern (Succulenten).
- Pflanzen mit einer hohen Salztoleranz können oft den Salzgehalt in den Zellen erhöhen, so dass zwischen „innen“ und „ausen“ ein Gleichgewicht besteht.
- Einige salztolerante Pflanzen scheiden nachts über spezielle Drüsen das Salz aus. Pflanzen wie Tamarisken, die in Salzwüsten gedeihen, erscheinen dann tagsüber von ausgeschiedenen Salzkristallen wie grau bestäubt. (Lewis 2002)

Physiologische Schutzmechanismen

Die Antworten von Pflanzen auf abiotischen Stress wie Wassermangel und versalzten Böden finden auf molekularer, zellulärer und physiologischer Ebene statt. (Krishna 2002) Die Pflanzenzellen können Ionen exportieren oder den Eintritt bestimmter Ionen verhindern. Auch Zellwandänderungen (höhere Flexibilität), osmotische Anpassungsmechanismen und die Bildung von Substanzen, die die Stabilität von Membranen und Makromolekülen erhöhen können (Osmoprotektion), schützen die Pflanzenzellen bei Wassermangel. Zudem haben Pflanzenzellen Enzymsysteme, die Zwischenprodukte von Sauerstoffradikalen beseitigen können. Eine recht verbreitete Strategie der Pflanzen, um bei Versalzung negativen Auswirkungen von überhöhten Salz-Konzentrationen zu entgehen, ist die Ablagerung von Natrium-Ionen in den Zellvakuolen – die damit quasi als Abfalleimer dienen.

III. Forschungsaktivitäten zu transgenen dürre- und salztoleranten Pflanzen

Die Stresstoleranz bei Pflanzen beruht in der Regel auf einem Zusammenspiel eines ganzen Netzwerks von unterschiedlichen Genen. Die meisten der bisherigen gentechnischen Forschungsansätze setzen jeweils an einzelnen Komponenten dieser komplexen Eigenschaften an (Schmitz & Schütte 2000). Die Wissenschaft geht davon aus, dass nur die Übertragung von mehreren Stressantworten in eine Pflanze die Möglichkeit darstellt, wirklich hochgradig stresstolerante Pflanzen herzustellen. Als ein Schlüsselfaktor wird das Wissen um die regulativen Gene angesehen, die die komplexen Genantworten auf abiotischen Stress in den Pflanzen koordinieren. Bei Dürreperioden werden oftmals die gleichen Gene aktiv wie bei erhöhten Salzwerten im Boden oder bei Frost. Dies lässt auf die Existenz ähnlicher Reaktionsmechanismen auf unterschiedliche Stressfaktoren schließen.

Allgemein können die Produkte der Gene, die durch abiotischen Stress aktiviert werden, in zwei Kategorien eingeteilt werden. Zur ersten Gruppe gehören Proteine, von denen eine direkte Wirkung ausgeht (**funktionale Proteine**). Andere Proteine sind indirekt beteiligt und haben eine regulative Funktion bei der Weitergabe von Signalen und der Aktivierung bestimmter Gene (**regulative Proteine**). (Yamaguchi-Shinozaki et al 2002)

Die Anzahl und der Koordinationsmechanismus der Gene, die bei abiotischem Stress bei Pflanzen aktiviert werden, ist bisher noch weitgehend unbekannt. Auch die biochemischen Funktionsmechanismen von Substanzen, die die Pflanzen während abiotischem Stress schützen, sind nicht bekannt.

Die bisherigen Forschungsergebnisse an transgenen stresstoleranten Pflanzen basieren fast alle ausschließlich auf Gewächshausversuchen, die nicht einfach auf die Bedingungen im Freiland übertragen werden können. Mit einer Marktreife der ersten transgenen stresstoleranten Sorten kann frühestens in fünf bis zehn Jahren gerechnet werden. Freisetzungsversuche werden bisher nur in sehr geringem Umfang durchgeführt. (Potthof 2003)

Einige ausgewählte Forschungsansätze und -ergebnisse:

Funktionale Proteine:

Osmoprotektoren: Proteine, die osmotisch wirksame Eigenschaften haben und dadurch die Pflanze vor Austrocknung schützen. Dazu gehören Glycin Betain, Mannitol, Trehalose und Fructane. Bei einigen Versuchen konnte gezeigt werden, dass transgene Pflanzen mit einem Gen zur Produktion eines Os-

moprotektors eine erhöhte Dürre- oder Salztoleranz zeigten. (Yamaguchi-Shinozaki et al 2002; Datta 2002; Hanson 1998; Wu&Garg 2003)

Schutzfaktoren der Makromoleküle

Sogenannte LEA-Proteine (late embryogenesis abundant proteins) und Chaperone (Proteine, die bei Hitzestress gebildet werden) schützen Makromolekülen wie Enzymen, Lipiden und mRNA vor Austrocknung beteiligt. Durch die Übertragung eines LEA-Protein Gens in Reis konnte eine erhöhte Toleranz gegen über Wassermangel und Salz erreicht werden. (Xu et al 1996; Datta 2002)

Proteine der Zellmembran

Kanalproteine und andere Transportproteine in der Zellwand regeln den Wasserdruck der Pflanzenzellen (osmotischer Druck). US Forscher Eduardo Blumwald hat ein Protein der Zellmembran (sog. AtNHX1) bei Tomaten untersucht und dessen Expression gentechnisch gesteigert. So konnte eine erhöhte Salztoleranz erreicht werden. Die transgenen Tomaten können das Salz in den Zellvakuolen der Blätter speichern, während die Salzkonzentration der Früchte niedrig bleibt.

Entgegen der weit verbreiteten Annahme, dass eine Stresstoleranz bei Pflanzen nur durch die Veränderung mehrerer Charaktereigenschaften erreicht werden kann, wurde hier durch Veränderung nur eines einzigen Charakterzugs eine hochgradige Salztoleranz erreicht. (Moffat 2002; Zamg & Blumward 2001)

Detoxifikationsenzyme

Verschiedene abiotische Stressfaktoren wie intensive Sonneneinstrahlung, Hitze oder Wassermangel führen in den Pflanzenzellen zur Produktion von reaktiven Sauerstoffverbindungen (z.B. Peroxide, Superoxide). Diese sind toxisch. Verschiedene Enzyme sind an der Beseitigung toxischer Zwischenprodukte von reaktivem Sauerstoff beteiligt und schützen somit die Zellen. In Freilandversuchen wurden transgene Baumwollpflanzen mit dem Gen für die Produktion des Enzyms Ascorbatperoxidase (APX) getestet. Auf trockenen Standorten zeigten die transgenen Pflanzen gegen über den herkömmlichen Pflanzen deutlich höhere Erträge. (Moffat 2002) An der Universität in Bonn wurde ein weiteres Gen entdeckt, das für ein Detoxifikationsenzym kodiert.

Regulative Proteine:

Transkriptionsfaktoren

Transkriptionsfaktoren spielen bei der Regulierung der DNA eine Rolle. Bei Tomaten wurden etwa 20 Erbanlagen für solche Hitzestress-Transkriptionsfaktoren gefunden. Dies bedeutet, dass die Antwort auf schädliche Umwelteinflüsse über ein ausserordentlich feines Regelwerk gesteuert wird. Solch ein Regelwerk bedingt eine übergeordnete Koordination. (Wandtner 2002)

IV. Forschungsaktivitäten zu dürre- und salztoleranten Pflanzen – ohne Gentechnik

Weltweit existiert eine Vielzahl von so genannten Landsorten (farmers' varieties) die einen hohen Grad an Toleranz gegen ungünstige Umweltbedingungen wie Wassermangel oder versalzten Böden aufweisen. Sie wurden von indigenen Bauern und Bäuerinnen über Jahrhunderte gezüchtet.

Obwohl im Zuge der Intensivierung der Landwirtschaft und der Grünen Revolution unzählige traditionelle Sorten verloren gegangen sind, gibt es immer noch viele wertvolle Sorten in der Landwirtschaft () oder in Saatgutbanken ().

Neue Züchtungsverfahren haben in den letzten Jahren zusätzliche grosse Fortschritte erbracht. Dabei wurde das grosse molekularbiologische Wissen um Pflanzengenome genutzt, etwa zur Entwicklung molekularer Markertechnologien: Pflanzen werden auf klassische Weise gezüchtet und mit genetischen Markern auf bestimmte Eigenschaften getestet. Markertechnologien erlauben eine zielgerichtete Identifikation von erwünschten Charaktereigenschaften des Kreuzungsmaterials; erwartet wird auch eine Beschleunigung der Züchtungsarbeit. Transgene Pflanzen entstehen dabei keine.

Einige ausgewählte Forschungsansätze und -ergebnisse:

Die indische Research Foundation for Science, Technology and Natural Resource Policy hat ein **Sortenregister** von dürre- und salztoleranten Reissorten in Indien erstellt. Im kleinen indischen Bundesstaat

West Bengalen gibt es gemäss dem Register 78 Reissorten, die an trockene Bedingungen angepasst sind. In Kerala, einem anderen indischen Bundesstaat, gibt es rund 40 dürreretolerante Reissorten. Auch salztolerante Reissorten sind noch in vielen Regionen Indiens weit verbreitet. Die Bäuerinnen und Bauern im indischen Uttaranchal kultivieren derzeit noch 54 dürreretoleranten Reissorten. Die Sorten können nur erhalten bleiben, wenn sie weiterhin angebaut und auch konsumiert werden. (Mishra 2002)

WissenschaftlerInnen des Nationalen Forschungszentrums für Gentechnik in Bangkok haben salztolerante Reissorten entdeckt. Diese wurden im Rahmen einer Überprüfung indigener Reissorten einer thailändischen **Saatgutbank** gefunden. Diese Saatgutbank umfasst rund 7'000 verschiedene Sorten. 230 davon wurden in einem Laborversuch auf ihre Salzverträglichkeit hin geprüft. Die Pflanzen wurden mit Wasser begossen, das 2-3% Natriumchlorid enthielt. Das entspricht fast dem Salzgehalt von Meerwasser. Vier der geprüften Reissorten überlebten unter diesen Bedingungen und wurden für weitere Versuche ausselektiert. (Gentechnik-Nachrichten 30, Oeko-Institut)

2001 hat das Südafrikanische Landwirtschaftsministerium eine neue **Maissorte (ZM521)** zugelassen, die unter trockenen Bedingungen bis zu 50% höhere Erträge erbringt, als die in Südafrika von Kleinbauern traditionell angebauten Sorten. Diese Sorte wurde von WissenschaftlerInnen und Wissenschaftlern des CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research) und südafrikanischen AgrarwissenschaftlerInnen und Agrarwissenschaftlern entwickelt. Die neue Maissorte Zm521 wurde speziell auf die Eigenschaft hin gezüchtet, auch auf nährstoffarmen Böden und bei Dürresituationen ausreichende Erträge zu erzielen. Die Maissorte ZM521 wird kommerziell angeboten.

In Australien wurde eine neue **Weizensorte mit hoher Wassereffizienz** gezüchtet. Diese Sorte, die ohne die Anwendung gentechnischer Verfahren gezüchtet wurde, kann gegenüber vergleichbaren Weizensorten unter trockenen Bedingungen einen Mehrertrag von bis zu 10% erbringen. Dies resultiert aus einem effizienteren Austausch von atmosphärischem Kohlendioxid und Wasser bei der Photosynthese. Zugleich besitzt die Sorte auch einen hohen Grad an Widerstandsfähigkeit gegen über allen wichtigen Getreidekrankheiten und liefert eine gute Qualität des Erntegutes. Diese neue Sorte mit den Namen Drysdale semi-dwarf wurde mit einer neuen Züchtungsmethode geschaffen. Verwendet wurde ein bisher nicht genutztes Messkriterium für die Erkennung von Genen durch charakteristische Kohlenstoffisotope. Die Weizensorte Drysdale wird bereits kommerziell angeboten.¹

In Indien wurden zwei **dürreretolerante Kichererbsensorten** gezüchtet. Diese Kichererbsen wurden unter Anwendung von klassischen Züchtungsmethoden entwickelt. Das indische Institut ICRISAT war an der Züchtung beteiligt. Als weiterer Lösungsansatz wurden von ICRISAT Kichererbsensorten eingeführt, die in **nur 85-100 Tagen reifen**. Dadurch sind sie nicht von der in Indien jährliche eintretenden Dürre am Ende der Ackerbausaison betroffen.²

Präexposition: Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass Pflanzen in normalerweise letalen Salzkonzentrationen und in Dürre überleben können, wenn ihre Wurzeln zu Beginn des Wachstums niedrigen Konzentrationen von Salz oder Trockenheit ausgesetzt wurden. Die Pflanzen „lernen“, mit diesen Konditionen umzugehen. (Zhong & Dvorak 1995; Amzallag et al 1990)

V. Schlussbemerkung

Dürre- und Salztoleranz sind komplex gesteuerte Eigenschaften von Pflanzen, an denen viele verschiedene Gene beteiligt sind. Ob transgene Pflanzen in Zukunft einen grossen Beitrag zur Bekämpfung von Hunger leisten können, ist aufgrund des monokausalen Ansatzes und der gegebenen Risiken (z.B. Gentransfer: Erzeugung von dürrere- und salztoleranten Wildkräutern) umstritten.³

Es wurden bereits transgene dürrere- und salztolerante Pflanzen entwickelt, doch es gibt noch keine anbaufähigen Sorten. Die meisten Versuchsergebnisse beruhen auf Untersuchungen im Gewächshaus. Einige wenige transgene Pflanzen werden im Freiland getestet. Gentechnisch veränderte stresstolerante Pflanzen werden das Anwendungsstadium voraussichtlich frühestens in fünf bis zehn Jahren erreicht haben.

Auch bei klassischen Züchtungsmethoden ist es schwierig, nur einzelne Merkmale der Pflanzen zu verändern. (Holmberg & Bülow 1998) Doch durch jahrhundertlange Züchtungsarbeit ist bereits eine Vielzahl von Landsorten entwickelt worden, die die gewünschten Eigenschaften in regional angepassten Varietäten aufweisen. Da scheinen Erfolge wahrscheinlicher. Neue dürrere- und salztolerante Sorten sind bereits auf dem Markt.

¹ <http://www.gene.ch/genet/2002/Oct/msg00046.html>

² <http://www.gene.ch/genet/2000/May/msg00027.html>

³ http://www.transgen.de/dgg/Proto_runde2/DP_Sonnewald_vanAken.pdf

Quellen

- AMZALLAG G.N., LERNER H.R., POLJAKOFF-MAYBER A. (1990) Induction of Increased Salt Tolerance in *Sorghum bicolor* by NaCl Pretreatment. *J.of Exp.Botany*, 41, 222, S.29
- DATTA, S. K. (2002). Recent developments in transgenics for abiotic stress tolerance in rice. JIRCAS Working Report 2002.
- HANSON, A. D. (1998). Metabolic Engineering of Crops for Drought and Salt Tolerance. NRI research highlights, United States Department of Agriculture.
- HOLMBERG, N. & BUELOW, L. (1998). Improving stress tolerance by gene transfer. *Trends in plant science* 3 (2).
- HU, Z.-M. (2003). Salt tolerance transferred from wild triticeae species into wheat. ISB news report, February 2003
- INOCENCIO, A.; SALLY, H.; MERREY, D. J. (2003). Innovative approaches to agricultural water use for improving food security in sub-saharan Africa. Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute.
- KRISHNA, P. J. (2002). Enhanced resistance to water deficit stress in transgenic tomatoes. ISB News Report, December 2002.
- LEWIS, R. (2002). Using transgenesis to create salt-tolerant plants. *The Scientist*, march 2002
- MISHRA, S. (2002). Genetically engineered rice? Take a look at farmers' varieties. *Hindustan Times*, India, December 12.
- MOFFAT, A. S. (2002). Finding new ways to protect drought-stricken plants. *Science Magazine*, May 2002.
- N.N. (2002B). Agnet Mitteilung, Stand 4. Januar. <http://www.plant.uoguelph.ca/safefood/archives/agnet-archives.htm>
- NULTSCH, W. (2001). *Allgemeine Botanik*. 11. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- WANDTNER, R. (2002). Stressbewältigung bei Tomaten. *FAZ*, 15. Juli, Nr. 136, S. 48, Feuilleton.
- PILON-SMITH, E.; EBSKAMP, M.; PAUL, M.; JEUKEN, M.; WEISBEEK, P.
- SMEEKENS, S. (1995). Improved Performance of Transgenic Fructan-Accumulating Tobacco under Drought Stress. *Plant Physiology* 107.
- POTTHOF, C. (2003). schriftliche Mitteilung. Gen-ethisches Netzwerk, Berlin.
- SCHMITZ, G. & SCHUETTE, G. (2000). *Plants resistant against abiotic stress*. University of Hamburg
- STRASBURGER, E. (2002). *Lehrbuch der Botanik*. 35. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.
- WU, R. & GARG, A. (2003). Engineering rice plants with trehalose-producing genes improves tolerance to drought, salt and low temperature. ISB News Report, February 2003.
- XU, D. ET AL. (1996). Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant Physiology* 110.
- YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; KASUGA, M.; LIU, Q.; NAKASHIMA, K.; SAKUMA, Y.; ABE, H.; SHINWARI, Z. K.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K. (2002). Biological mechanisms of drought stress response. JIRCAS Working Report 2002.
- ZHANG, H.-X. & BLUMWALD, E. (2001). Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature Biotechnology* 19.
- ZHONG, G.Y. & DVORAK J. (1995), *Theor.Appl. Genet* 90, S. 229.