

InterNutrition POINT

Aktuelles zur grünen Biotechnologie

Nr. 187
Oktober 2017

Inhalt

- Konsumenten-Nutzen: Glutenreduzierter Weizen dank CRISPR/Cas9.. S. 1*
Evolution im Labor: Auf dem Weg zum Super-Reis S. 2
Schutz vor Pflanzenkrankheiten: Lr34 – das Schweizer Taschenmesser unter den Resistenzgenen S. 4
Nachhaltigkeit: Resistenzen von Schadinsekten gegen Biotech-Nutzpflanzen – und was man dagegen machen kann S. 5

Konsumenten -Nutzen



Knuspriges Gebäck aus Brotgetreide – nicht alle vertragen es

Quelle: © [Can Stock Photo / ajafoto](#)

Glutenreduzierter Weizen dank CRISPR/Cas9

Der Duft von frisch gebackenen Brötchen beim Bäcker, der Anblick eines goldenen Zopfs direkt aus dem eigenen Backofen gehört für viele zum Wochenend-Zmorge. Doch nicht für alle sind Backwaren aus den klassischen Brotgetreiden wie Weizen, Roggen und Dinkel ein ungetrübter Genuss. Etwa 1% der Bevölkerung haben eine Zöliakie, eine Unverträglichkeit des Verdauungssystems für das Kleber-Eiweiss Gluten, das in fast allen einheimischen Getreidesorten vorkommt. Durch eine bewusste, glutenfreie Ernährung ist jedoch ein beschwerdefreies Leben möglich.

Das klassische Brotmehl kann für viele Anwendungen auch durch Mehl aus Mais, Reis, Lupinen oder anderen Körnern ersetzt werden, die von Natur aus kein Gluten enthalten. Die Nachfrage nach Gluten-freien Produkten ist gross: in einer aktuellen Umfrage bei 23'000 Konsumentinnen und Konsumenten aus 17 Ländern von fünf Kontinenten gaben mehr als ein Viertel aller Befragten an, dass dieser Punkt für sie beim Einkauf von Lebensmitteln sehr wichtig ist.

Gluten ist ein Gemisch verschiedener Eiweisse mit klebrig-elastischen Eigenschaften, die im Teig ein Netzwerk bilden und so ermöglichen, dass Brotteig locker aufgeht. Tatsächlich ist nur ein Teil der Gluten-Eiweisse für Zöliakie-Patienten problematisch. Diese werden allgemein in Getreide als Prolamine bezeichnet, bei Weizen als Gliadin. Schon lange haben Züchter versucht, Weizen mit stark reduziertem Gliadin-Gehalt durch klassische Kreuzungen oder ungerichtete Erbgut-Veränderungen (Mutagenese) zu erzeugen, bisher allerdings vergeblich. Das Problem: Weizen verfügt über 45 verschiedene, einander sehr ähnliche Gliadin-Gene. Alle diese zugleich durch eine ungerichtete Mutagenese auszuschalten gleicht einem Lotto-Spiel mit sehr schlechten Chancen.

Francisco Barro Losada vom Institut für nachhaltige Landwirtschaft der Universität Córdoba zeigt jetzt mit Kolleginnen und Kollegen aus Spanien und den USA, dass sich CRISPR/Cas9, das Wunder-Werkzeug zur gezielten Erbgut-Veränderung («Genome Editing»), auch dazu einsetzen lässt, Weizen mit deutlich reduziertem Gliadin-Gehalt zu erzeugen. Sie programmierten die CRISPR/Cas9 Erbgut-Schere so, dass sie einen Abschnitt erkennt, der allen Weizen-Gliadin-Genen gemeinsam ist, und dort einen Schnitt einfügt. Dadurch wird in vielen Fällen das Zielgen inaktiviert, da bei der Reparatur des Schnitts durch die pflanzeigenen Mechanismen Fehler

entstehen können.

Es gelang ihnen so, Weizenpflanzen mit Veränderungen in bis zu 35 der insgesamt 45 vorhandenen Gliadin-Gene zu erhalten. Das vorübergehend eingebaute CRISPR/Cas9 Gen-Konstrukt konnte in den folgenden Pflanzengenerationen wieder herausgekreuzt werden. So entstanden transgen-freie Weizenpflanzen ohne artfremde DNA. Eine biochemische Analyse der Weizenkörner zeigte, dass der Gehalt an immun-reaktivem Gluten, ein Mass für die Wirkung auf Zöliakie-Patienten, um bis zu 85% reduziert war. Die Forscher gehen davon aus, dass sie die Gliadin-Produktion dieser Pflanzen durch eine zweite «Genome Editing»-Runde zur Ausschaltung der verbleibenden aktiven Gliadin-Gene weiter deutlich senken können. Damit scheint die Produktion von transgen-freien Weizensorten mit stark reduziertem Gliadin-Gehalt, die auch von Personen mit Gluten-Unverträglichkeit problemlos genossen werden können, in greifbare Nähe gerückt.

Schon im Jahr 2010 hatte die Forschergruppe um Francisco Barro Losada über die Produktion Gliadin-reduzierter Weizenlinien berichtet (siehe [POINT 115, 05/2011](#)). Sie erreichten damals sehr ähnliche Resultate, aber mit einem anderen technischen Ansatz. Sie verwendeten dabei die RNAi-Technologie, bei der die einzelnen Gliadin-Gene unverändert gelassen werden, aber ihre Ablesung durch Einbau eines speziellen "antisense"-Genkonstrukts gestört wird. Allerdings funktioniert dieser Unterdrückungs-Mechanismus möglicherweise nicht unter allen Umständen, ausserdem tragen diese Pflanzen ein künstlich eingebautes Gen-Fragment, sind also gentechnisch verändert und unterliegen so den strengen Gentechnik-Bestimmungen in Europa.

Die jetzt beschriebenen, mit CRISPR/Cas9 erzeugten Gliadin-reduzierten Weizenlinien dagegen sollten unter allen Umständen stabil sein. Sie tragen auch keine fremde DNA, sondern nur kleine Genveränderungen, die so auch in der Natur spontan entstehen können. Ob derartige Produkte des «Genome Editing» als gentechnisch veränderte Organismen (GVO) gelten sollen ist daher unklar, und wird in Europa aktuell intensiv diskutiert. Eine Einstufung als GMO würde viele Konsumenten in ein Dilemma bringen: wie eingangs beschrieben ist Gluten-Freiheit laut der globalen GfK-Umfrage für viele ein erstrebtes Entscheidungs-Kriterium beim Einkauf. Allerdings ist auch die Skepsis gegenüber GMO-Zutaten in Lebensmitteln bei Konsumenten weit verbreitet, wie die gleiche Studie zeigt. Möglicherweise können hier praktische Erfahrungen zu einer Entscheidung beitragen: bereits jetzt laufen in Mexiko und Spanien Versuche mit kleinen Gruppen von Zöliakie-Patienten und den neuen, Gluten-reduzierten Weizenlinien, die vorläufigen Resultate werden als vielversprechend beschrieben.

Quellen: Susana Sánchez-León et al. 2017, [Low-gluten, non-transgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9](#), Plant Biotechnology Journal (in press 18.09.2017, DOI:10.1111/pbi.1283); [Genetically modified wheat used to make coeliac-friendly bread](#), New Scientist, 26.09.2017; [Global Studies - Decision factors on what to eat and drink](#), GfK, Oktober 2017

Evolution im Labor

Auf dem Weg zum Super-Reis

Weltweit hängen etwa 3 Milliarden Menschen für ihre tägliche Ernährung von Reis ab. Aufgrund des Bevölkerungswachstums und der zunehmenden Urbanisierung steigt die von der Landwirtschaft geforderte Produktivität stark an: die gleiche Fläche, die im Jahr 2010 genug Reis für die Ernährung

von 27 Menschen produzierte, wird 2050 schon Reis für 43 Menschen erzeugen müssen. Der aktuelle züchterische Fortschritt ermöglicht eine jährliche Ertragssteigerung von etwa 1% – deutlich zu wenig, um das hochgesteckte Ziel zu erreichen. Da liegt es nahe, dass manche Forscher die Strategie der kleinen Schritte hinter sich lassen, und den Griff nach den Sternen wagen. Wäre es denkbar, Reissorten zu entwickeln, die auf einen Schlag einen Mehrertrag von 50% ermöglichen? Das klingt zunächst schwer vorstellbar. Das von der Bill und Melinda Gates-Stiftung im Rahmen der «Grand Challenges of the 21st Century» unterstützte C4-Reis-Projekt, in dem Wissenschaftler aus 12 Instituten in acht Ländern zusammenarbeiten, strebt die Entwicklung derartiger Reis-Hochertragsorten für Kleinbauern an. Sie wollen dazu die Photosynthese-Eigenschaften von Reis, mit denen die Pflanzen Sonnenenergie zur Fixierung von Kohlendioxyds aus der Luft und zur Produktion von Biomasse nutzen, grundsätzlich umbauen.

Nur drei Prozent aller Pflanzenarten verwenden für die Photosynthese den sogenannten C4-Stoffwechselweg. Dieser zeichnet sich durch eine effizientere Kohlendioxyd-Bindung auch bei trockenen Bedingungen aus, und durch eine wirksamere Nutzung der Sonnenenergie. So tragen die wenigen C4-Pflanzenarten, wie z. B. Mais, Zuckerrohr und Hirse, zu einem Viertel zur gesamten Photosyntheseleistung aller Pflanzen weltweit bei. C4-Pflanzen unterscheiden sich von den viel verbreiteteren C3-Pflanzen, zu denen auch Reis gehört, durch eine veränderte Blattstruktur, die eine biochemische Arbeitsteilung zwischen verschiedenen Zelltypen ermöglicht. Dabei sind die Leitbündel in den Blättern kranzförmig von zwei Schichten spezialisierter Zellen, den Bündelscheidenzellen und den Mesophyllzellen, umgeben («Kranz-Morphologie»). Ausserdem unterscheiden sich C3- und C4 Stoffwechselwege in einigen wichtigen Schlüsselenzymen.

Bei diesen grossen Unterschieden würde man erwarten, dass es nur sehr schwer möglich ist, den Stoffwechseltyp einer Pflanze zu ändern, und dass hierzu sehr viele Einzelschritte notwendig sind. Allerdings zeigt eine Analyse der existierenden C4-Pflanzen, dass der C4 Stoffwechseltyp im Lauf der Evolution etwa 60 Mal unabhängig voneinander aus C3-Vorläufern entstanden ist. Ganz so schwierig scheint es daher nicht zu sein – und das nährt die Hoffnung der Forscher, auch Reis von einer C3- in eine C4 Pflanze umwandeln zu können und so seine Produktivität enorm steigern zu können.

Ein wichtiges Kennzeichen von C4-Pflanzen ist das gehäufte, kranzförmige Vorkommen von Chloroplasten, den grünen Zell-Organellen in denen die Sonnenenergie eingefangen und in chemische Energie umgewandelt wird, rund um die Leitbündel in den Blättern. Es war bekannt, dass die Überproduktion eines bestimmten Reis-Regulatorgens (*OsGLK1*) in Reissämlingen zu einer derartigen Chloroplasten-Anhäufung um die Leitbündel führt, die allerdings in älteren Pflanzen verloren geht. In einer aktuellen Veröffentlichung beschreiben Forscher des C4-Reis-Projekts, dass die Überproduktion entsprechender Gene aus Mais (*ZmGLK1* oder *ZmG2*) in transgenen Reispflanzen eine kranzförmige Anhäufung von Chloroplasten in Reispflanzen rund um die Leitbündel bewirkt. Dabei war nicht die Anzahl, aber die Grösse der Chloroplasten deutlich erhöht. Auch die Aktivität wichtiger Photosynthese-Enzyme in diesen Zellen stieg an. Unter dem Elektronenmikroskop wurde sichtbar, dass das Volumen der Mitochondrien, den Organellen die als Zell-Kraftwerke dienen, und die Zahl der Verbindungen zwischen den Zellen (Plasmodesmata) rund um die Leitbündel deutlich höher lagen.

Zusammengenommen führte also die Überproduktion eines einzigen Mais-Gens in den Reispflanzen zu verschiedenen anatomischen und biochemischen Veränderungen, die denen in C4 Pflanzen ähneln. Eine Untersuchung der Photosynthese-Aktivität der transgenen Reispflanzen ergab jedoch keinen deutlichen Unterschied, da für einen wirksamen C4 Stoffwechsel noch wichtige Schlüsselenzyme fehlen. Erstaunlicherweise hatte die Veränderung der Organellenverteilung und der Anatomie in den Pflanzen aber auch keine nachteilige Auswirkung auf das Wachstum und die Fitness der Pflanzen. Mit einem einzigen Schritt konnten so Reispflanzen in verschiedenen Aspekten deutlich in Richtung C4-Pflanzen verschoben werden. Die Forscher spekulieren, dass möglicherweise nur wenige weitere Schritte erforderlich sind, um im Labor die in der Natur vielfach erfolgte Evolution von C3- zu C4 Pflanzen bei Reis nachzuvollziehen.

Forschungsleiterin Jane Langdale, Professorin der Universität Oxford, erklärte dazu: «Das ist ein wirklich ermutigendes Resultat. Die Herausforderung ist jetzt, darauf aufzubauen und die richtigen Gene zu finden, die man beeinflussen muss um die noch fehlenden Schritte zu vervollständigen. Möglicherweise können diese folgenden Schritte auch durch das Zufügen von je nur einem einzelnen Gen rekapituliert werden».

Quellen: Peng Wang et al. 2017, [Re-creation of a Key Step in the Evolutionary Switch from C3 to C4 Leaf Anatomy](#), Current Biology (in press, online 19.10.2017, DOI: [10.1016/j.cub.2017.09.040](#)); [Breakthrough in efforts to 'supercharge' rice and reduce world hunger](#), Oxford University News, 19.10.2017; [The C4 Rice Project Website, c4rice.com](#)

Schutz vor Pflanzenkrankheiten

Lr34 – das Schweizer Taschenmesser unter den Resistenzgenen

Das Lr34-Resistenzgen schützt Weizen gegen von ganz unterschiedlichen Pilzen ausgelöste Erkrankungen wie Braunrost, Gelbrost, Schwarzrost und Mehltau. Seit über 100 Jahren wird es in Zuchtprogrammen eingesetzt, die vermittelte Resistenz wurde bisher noch nicht durchbrochen. Damit gehört Lr34 zu den dauerhaften Resistenzgenen. Es wirkt jedoch nicht nur in Weizen. Durch seine gentechnische Übertragung in Gerste und Reis (siehe [POINT Nr. 166, 11-2015](#)) und Mais ([POINT 177, 11-2016](#)) konnte ebenfalls die Pflanzen-Abwehrkraft gegen verschiedenartige Erreger verbessert werden. Jetzt haben Forscher aus Australien und China, zusammen Simon Krattinger und Beat Keller von der Universität Zürich, untersucht ob das Lr34-Gen aus Weizen auch Hirse gegen Pilzerkrankungen schützt.

Hirse ist das weltweit fünft-häufigst angebaute Getreide, und dient vor allem in den gemäßigten Tropen als Lebens- und Futtermittel. Die Pflanzen sind relativ unempfindlich gegen Trockenheit und haben einen hohen Ertrag, werden jedoch durch verschiedene Schadpilze bedroht, die Rostkrankheit und Anthraknose auslösen. Beide Krankheiten können Ertragsverluste von mehr als 50% verursachen.

Das Lr34-Gen aus Weizen, zusammen mit seinen natürlichen Steuerelementen (Promotor/Terminator), wurde durch Beschuss mit Mikropartikeln in Hirsezellen übertragen. Daraus regenerierte transgene Hirsepflanzen zeigten nach Infektion mit den entsprechenden Erregern tatsächlich eine bessere Resistenz gegen Rost und Anthraknose. Das Weizen-Resistenzgen ist also auch in Hirse aktiv, und zwar gegen Erreger mit unterschiedlichen Infektionszyklen. Es weist damit eine erstaunliche Vielseitigkeit auf, viele andere Resistenzgene sind in ihrer Wirkung hochspezifisch für ganz bestimmte Erreger und Pflanzenarten.

Quelle: Wendelin Schnippenkoetter et al. 2017, [The wheat Lr34 multipathogen resistance gene confers resistance to anthracnose and rust in sorghum](#), Plant Biotechnology Journal 15:1387–1396

Nachhaltigkeit

Resistenzen von Schadinsekten gegen Biotech-Nutzpflanzen – und was man dagegen machen kann

Die Natur ist anpassungsfähig. Bei allen Bekämpfungs-Strategien gegen schädliche Insekten stellt sich die Frage: wie lange dauert es, bis sich die Schädlinge daran angepasst haben, und z.B. gegen einen insektiziden Wirkstoff unempfindlich werden? Und was kann man machen, um Schädlinge möglichst langfristig und nachhaltig unter Kontrolle zu halten?

Für gentechnisch veränderte Nutzpflanzen gibt es zu diesen Fragen mittlerweile einen enormen Erfahrungsschatz. Im Jahr 2016 bauten Landwirte weltweit auf 98 Mio. ha transgene insektenresistente Mais-, Baumwoll- und Sojasorten an, in den letzten zwei Jahrzehnten zusammengenommen wurden solche Pflanzen auf insgesamt über 800 Mio. ha angepflanzt. Bruce E. Tabashnik und Yves Carrière, weltweit anerkannte Experten für Resistenzen bei Insekten, haben jetzt eine globale Bestandsaufnahme vorgelegt und daraus Empfehlungen abgeleitet.

Nachdem insektenresistente Pflanzen seit dem Jahr 1996 grossflächig angebaut wurden, wurden im Jahr 2005 weltweit drei Fälle beschrieben in denen Schadinsekten resistent gegen den Schutzmechanismus der Pflanzen geworden waren. 2016, nachdem die gesamte Anbaufläche für insektenresistente Pflanzen deutlich zugenommen hatte, lag die Zahl von im Feld beobachteten Resistenzen mit nachteiligen Auswirkungen in der Praxis bei 16. In allen Fällen waren Insekten gegen das verbreitet in transgenen Pflanzen produzierte insektizide Bt-Eiweiss resistent geworden. In drei Fällen wurde eine leichte Zunahme der Resistenz beobachtet, die noch keine praktische Auswirkung hat, sich aber in den nächsten Jahren vermutlich zu einer vollen Resistenz weiterentwickeln wird. Dem stehen 17 Fälle gegenüber, für die die Insektenresistenz lange Zeit – teilweise fast zwei Jahrzehnte lang – bis heute gehalten hat.

Dies ermöglicht interessante Vergleiche. So entwickelte der Rote Baumwollkapselwurm *Pectinophora gossypiella*, ein Kleinschmetterling, in Indien bereits nach sechs Jahren eine Resistenz gegen Bt-Baumwolle. In den USA wird eine vergleichbare Baumwollart bereits seit über zwei Jahrzehnten angebaut, ohne dass der Baumwollkapselwurm dort Resistenzen entwickelt hätte. In den USA bestehen strenge Vorschriften dazu, nur einen Teil der gesamten Anbaufläche mit Bt-Sorten zu bestellen. Die so verbleibenden Refugien mit konventionellen, nicht gentechnisch veränderten Sorten senken den Evolutionsdruck auf die Anpassung, und verzögern so die Resistenzentwicklung deutlich. Auch in Indien bestehen ähnliche Vorschriften, allerdings werden sie in der Praxis oft nicht eingehalten.

Neben der Refugien-Strategie ist auch die Produktion einer ausreichend hohen Dosis der insektiziden Wirksubstanz in den Pflanzen wichtig, um so auch Insekten mit nur leicht erhöhter Resistenz zuverlässig abzutöten. In fast allen Beispielen für Resistenzentwicklung im Feld wurde dieser Punkt vernachlässigt.

Weitere vorbeugende Massnahmen gegen eine Resistenzentwicklung ist die Verwendung mehrerer Wirk-Substanzen in einer Pflanze (Pyramiden- oder Stapelbildung), da so eine gleichzeitige Resistenzentstehung weniger wahr-

scheinlich ist. Auch die Einführung neuartiger Wirkprinzipien, wie der insektiziden Vip-Eiweisse (noch keine Resistenzen beschrieben) oder von RNAi (noch nicht im grossflächigen kommerziellen Anbau) kann Resistenzentwicklung und -Ausbreitung bremsen.

Daten aus 11 Beobachtungs-Jahren in China zeigen, dass dort eine bereits aufgetretene Resistenz des roten Baumwollkapselwurms gegen Bt-Baumwolle sogar wieder zurückgedrängt werden konnte, indem ein Gemisch aus insektenresistenten und -empfindlichen Pflanzen angebaut wurde (siehe auch [Point Nr. 184, Juni 2017](#)).

Es existieren also eine Reihe von Strategien, mit denen sich die Resistenzeigenschaften insektenresistenter Pflanzen möglichst lange und nachhaltig nutzen lassen, und zahlreiche Beispiele, die belegen dass dieses auch in der Praxis über viele Jahre funktioniert. Bei zukünftigen Anwendungen sollte jedoch ein verstärktes Augenmerk auf Massnahmen zur Reduktion der Resistenzentwicklung, wie der Einhaltung der Refugien-Pläne, gelegt werden. Die grösste Dauerhaftigkeit kann erreicht werden, wenn biotechnologisch vermittelte Insektenresistenz mit anderen Massnahmen der Schädlingskontrolle im integrierten Pflanzenschutz eingesetzt wird. Das Wissen zu diesen Massnahmen ist jetzt vorhanden – jetzt kommt es gemäss den Autoren Tabashnik und Carrière vor allem auf den Willen an, dieses Wissen in der Praxis einzusetzen.

Quellen: Bruce E. Tabashnik & Yves Carrière 2017, [Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability](#), Nature Biotechnology 35:926-935; [Research Shows Pest Resistance to Biotech Crops Is Surging](#), University of Arizona News, 11.10.2017

Kontakt und Impressum



POINT erscheint monatlich in elektronischer Form ([Archiv](#) der vorherigen Ausgaben). Der Newsletter fasst aktuelle Meldungen aus Forschung und Anwendung rund um die grüne Biotechnologie zusammen. Für ein kostenloses Abonnement können Sie sich per [e-mail](#) an – und abmelden. Wir freuen uns auf Ihre Fragen und Anregungen!

Text und Redaktion: [Jan Lucht](#)

scienceindustries, Postfach, CH-8021 Zürich

Telefon: 044 368 17 63

e-mail: jan.lucht@scienceindustries.ch

Eine Initiative von **scienceINDUSTRIES**
S W I T Z E R L A N D