

# Forstpflanzenzüchtung auf der Überholspur

Die Züchtung von Forstbäumen ist aufgrund der teilweise sehr langen nicht-reproduktiven Phasen sehr zeitaufwändig und teuer[1]. In dieser Zeit sind eine züchterische Bewertung des Materials sowie die Durchführung von Kreuzungsschritten unmöglich. Das an der Pappel entwickelte „HighSpeed-Breeding“-Verfahren eröffnet die Möglichkeit, die Dauer eines Züchtungsprogramms erheblich zu verkürzen.

Matthias Fladung, Hans Hönicka

**F**rühblühende gentechnisch veränderte (transgene) Pflanzen werden zu Beginn des Kreuzungsprogramms mit Genotypen gekreuzt, die über ein wirtschaftlich relevantes Merkmal verfügen, um dieses in die jeweilige Kulturpflanze einzukreuzen. Nach Durchlaufen des Züchtungsprogramms werden die „Frühblühene“ wieder entfernt. Die Züchtungsprodukte des „HighSpeed-Breeding“-Verfahrens sind daher nicht-transgen und von denen der klassischen Züchtung nicht zu unterscheiden.

## „Frühe Blüte“ in Bäumen

Bei Forstbäumen ist es bisher nur in Ausnahmefällen gelungen, entweder mit kulturtechnischen Methoden oder nach Applikation von Hormonen oder Wachstumshemmern eine frühzeitige Blüte zu induzieren [3]. Zum Beispiel benötigen Pappelsämlinge fünf bis zehn Jahre, bevor sie erstmals blühen. Die Realisierung komplexer Züchtungsprogramme kann deshalb viele Jahrzehnte dauern. Daher wurde am Thünen-Institut für Forstgenetik, Großhansdorf, bereits vor über 15 Jahren damit begonnen, Gene aus verschiedenen Pflanzen, von denen eine Beteiligung an der Blütenbildung bekannt war, über genetische Transformation in die Pappel zu übertragen, um ihre Eignung zur Induktion einer frühen Blüte zu testen. Frühblühende Pappelkulturen sollten somit erzeugt und sowohl für Biosicherheitsstudien an gentechnisch veränderten Bäumen als auch für die Entwicklung eines Kreuzungsprogramms zur Verfügung stehen [5].

Bereits im Jahr 2000 konnte an gentechnisch veränderten Pappeln, die ein



Foto: Fladung

Abb. 1: Kätzchen mit weiblichen Blüten einer dreijährigen 35S::rolC transformierten Pappel

## Schneller Überblick

- „HighSpeed-Breeding“-Verfahren eröffnet die Möglichkeit, die Dauer eines Züchtungsprogramms erheblich zu verkürzen
- Blütenbildung bereits bei sechs Monate alten Pappeln
- Die resultierenden Pflanzen beinhalten nicht die gentechnische Veränderung und sind somit nicht von denen der klassischen Züchtung zu unterscheiden

Gen aus dem Bodenbakterium *Agrobacterium rhizogenes* beinhalteten, eine Blütenbildung von dreijährigen Pflanzen (Abb. 1) und damit eine deutliche Verkürzung der juvenilen Phase festgestellt werden [4]. Allerdings waren die Pflanzen in ihrem Aussehen deutlich verändert, was sich negativ auf das Wachstum und das Kreuzungsverhalten niederschlug.

Das Gen *LEAFY*, das für die Identität des Bildungsgewebes (Meristem) wichtig ist und aus *Arabidopsis thaliana* (Acker-schmalwand) isoliert wurde (und daher *AtLFY* heißt), hat in verschiedenen Pflanzenarten und in der Pappel sehr effektiv die Blühfähigkeit gefördert (Abb. 2). Sogar in der *in-vitro*-Kultur konnte bei der Pappel bereits im ersten Jahr eine Blütenbildung beobachtet werden (Abb. 2, oben rechts). Allerdings zeigten die frühblühenden *AtLFY*-transgenen Pappelkulturen unter Gewächshausbedingungen auch ein verändertes Wuchsverhalten (Abb. 2, unten links), und die Blüten waren häufig steril [5].

Eine Reduzierung der nicht-reproduktiven Phase ohne Auswirkung auf das normale Wachstum der Pflanzen konnte mit dem Gen „*FLOWERING LOCUS T*“, das ebenfalls aus *A. thaliana* (*AtFT*) stammt, unter Kontrolle eines hitzeinduzierbaren Promotors (HSP) erreicht werden. Diese Genkombination förderte reproduzierbar bereits im ersten Jahr die Blütenbildung sowohl in männlichen als auch in weiblichen Pappelkulturen. Die Kultivierung der Pflanzen bei Temperaturen von 40°C führte zur Aktivierung des *AtFT*-Gens, wobei das FT-Protein die Bildung von Pappelkätzchen förderte (Abb. 3). Bei diesen frühblühenden Bäumen war es dann weltweit zum ersten Mal möglich,



Abb. 2: Männliche Blüte einer 35S::AtLFY-transformierten Pappel. Oben rechts: in-vitro mit Einzelblüte; unten links: kleinwüchsige Pflanze



Abb. 3: Zehn Monate alte, blühende HSP::AtFT-transformierte Pappel

erfolgreich Kreuzungen an gentechnisch veränderten Forstgehölzen durchzuführen und die Mendelsche Aufspaltung des gentechnisch übertragenen Gens auch für die reine und Hybridpappel zu zeigen [7]. Allerdings erwies sich die Frequenz der Bildung von fertilen Blüten bei bis zu 4 % der Pflanzen als sehr niedrig.

### Steigerung der Blüheffizienz

Daher wurde in weiteren Versuchen getestet, welchen Einfluss die Temperatur und die Photoperiode auf die Blütenbildung und -fertilität haben [6]. Die Ergebnisse haben eindeutig belegt, dass die Temperatur und nicht die Photoperiode der Schlüsselfaktor für die Entwicklung fertiler Blüten in frühblühenden transgenen Pappeln darstellt.

Fertile Blüten konnten nur nach einer über mehrere Wochen andauernden Kältebehandlung erhalten werden, die sich direkt an die Hitzebehandlung zur Aktivierung des *AtFT*-Gens anschloss, egal, ob die Pflanzen unter Lang- oder Kurztag gehalten wurden. Wurde an die Hitzebehandlung keine Kältebehandlung angeschlossen, sondern nur die Tageslänge variiert, wurden keine fertilen Blüten erhalten. Die Fertilität der weiblichen und

männlichen Blüten wurde mit erfolgreich durchgeführten Kreuzungen in beiden Richtungen belegt.

Das beschriebene System erlaubt eine äußerst schnelle und zuverlässige Bildung fertiler Blüten in mehr als 70 % der behandelten Pflanzen. Unabhängig von der

Jahreszeit kann damit die vegetative Phase von Pappeln von normalerweise sechs bis zehn Jahren auf sechs bis zehn Monate verkürzt werden. Damit können im Frühjahr aus Samen gekeimte Sämlinge im gleichen Jahr zur Blüte gebracht und erneut gekreuzt werden.

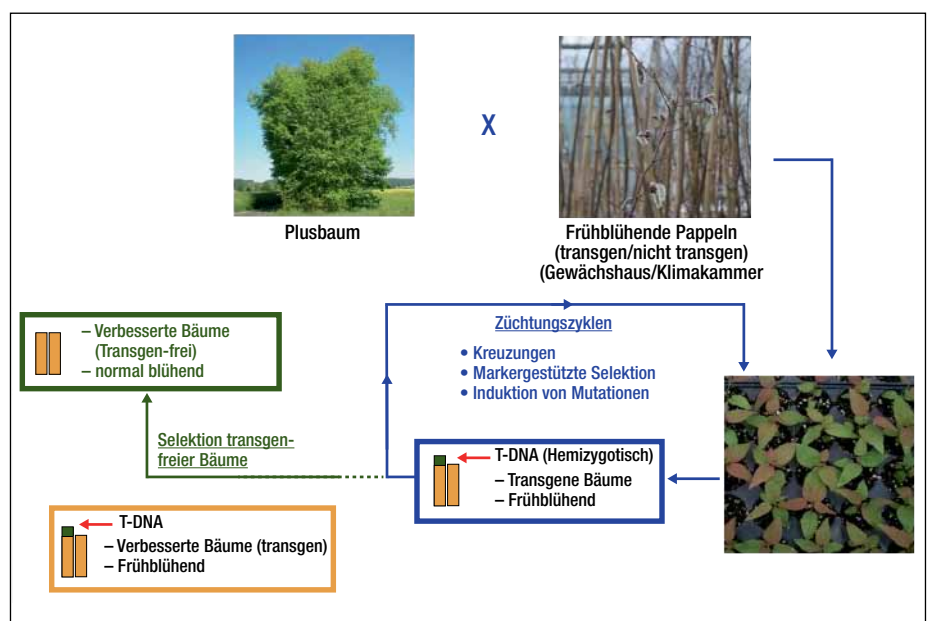


Abb. 4: Schema des „HighSpeed-Breeding“-Verfahrens. Der Ansatz von frühblühenden Bäumen erhöht das Potenzial von Kreuzungen für die Forstpflanzenzüchtung. Damit wird die Generationszeit von ein bis drei Jahrzehnten auf weniger als ein Jahr verkürzt.

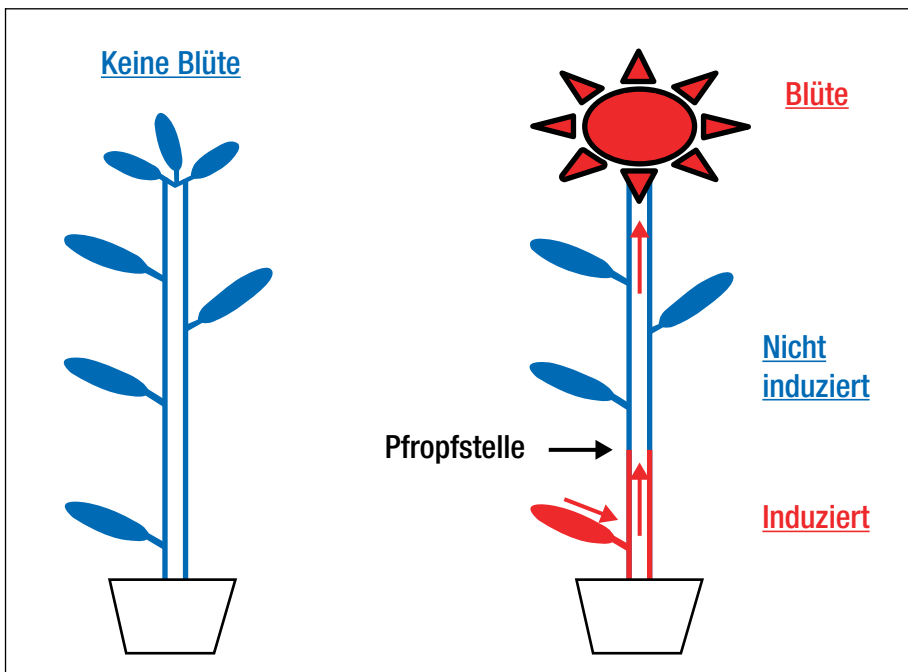


Abb. 5: Schematische Darstellung zur Einwanderung des in der Pfropfunterlage gebildeten Blühsignals durch die Pfropfstelle hindurch in das Pfropfreis. Dort induziert das Signal die Bildung von Blüten, ohne dass die Pflanzen gentechnisch verändert sind.

### Anwendung des Verfahrens

Die vorgestellte Methodik eröffnet für die Pappel die Möglichkeit, komplexe Züchtungsprogramme innerhalb weniger Jahre zu realisieren (Abb. 4). So könnte zunächst ein männlicher oder weiblicher Pappelmodellklon, der bereits das Frühblühgen *AtFT* trägt, zur Blüte angeregt und mit einem Pappelklon gekreuzt werden, der als einzukreuzendes Merkmal beispielsweise über eine Resistenz gegen einen Schaderreger verfügt. Gebildete Samen können zur Keimung ausgelegt werden. Die Sämlinge werden angezogen und mit molekularen Markern in einfach durchzuführenden Tests im Labor auf Anwesenheit des Frühblühgens und des eingekreuzten Merkmals untersucht. Zusätzlich können Methoden des „Next Generation Sequencing“ (NGS) zur Abschätzung des genetischen Hintergrunds des Modellpappelklons eingesetzt und ungeeignete

Sämlinge entfernt werden („Smart Breeding“ [2]). Nach fünf bis sechs Monaten werden die verbliebenen Sämlinge durch eine Hitze- und anschließende Kältebehandlung zur Bildung fertiler Blüten angeregt. Dieser Zyklus kann beliebig oft wiederholt werden, sodass weitere Kreuzungsschritte innerhalb weniger Jahre realisiert werden können, bis mittels „Smart Breeding“ und Phänotypisierung die gewünschte Eigenschaftskombination in nicht mehr *AtFT*-transgenen Sämlingen identifiziert wurde. Im Ergebnis erhält man eine Zuchtpopulation der x-ten Generation, die nach Eliminierung des *AtFT*-Gens nicht mehr gentechnisch verändert ist.

Eine faszinierende Erweiterung des oben beschriebenen Ansatzes der Anwendung der frühen Blüte könnte die Pfropfung von züchterisch interessanten Pappelklonen, die beispielsweise untereinander gekreuzt werden sollen, auf frühblühende *AtFT*-Gen-transgene Unterlagen darstellen. Die Idee ist, dass nach Anwendung der Hitze- und anschließenden Kältebehandlung in den Unterlagen das blühinduzierende Signal gebildet und über die Pfropfstelle in das jeweilige Pfropfreis transportiert wird (Abb. 5). Dort sollte das blühinduzierende Signal seine Wirkung entfalten und die Bildung fertiler Blüten induzie-

ren, die für Kreuzungen zur Verfügung stehen würden. Das gentechnische Verfahren wird somit lediglich zur Verkürzung der nicht-reproduktiven Phase der Bäume auf sechs bis zehn Monate genutzt. Die resultierenden Pflanzen des „HighSpeed-Breeding“-Verfahrens beinhalten nicht die gentechnische Veränderung und sind somit nicht von denen der klassischen Züchtung zu unterscheiden.

### Komplexe Züchtungsprogramme bei der Pappel?

Damit ist das „HighSpeed-Breeding“-Verfahren, das auf der Verwendung von transgenen Pflanzen mit verkürzter Jugendphase beruht, für eine komplexe Pappelzüchtung in Hinblick auf das Einkreuzen von verschiedenen Resistenzen gegen Pilze oder Insekten von außerordentlichem Interesse.

So sind bei der Pappel bisher über 650 Pilzarten bekannt, von denen der Blatt- oder Pappelrost (*Melampsora spp.*) die bekannteste und ökonomisch wichtigste Erkrankung ist. Aber auch eine Vielzahl von Insekten ist bekannt, die einen erheblichen Schaden an Pappeln verursachen, die bis zum Absterben der Bäume führen können. Gerade im Hinblick auf die mit dem Klimawandel prognostizierte Temperaturerhöhung und damit verbunden längeren Trockenperioden könnten für die Pappel diese Schaderreger zum Existenzproblem werden. Auch könnten völlig neue Pathogene nach Deutschland einwandern, gegen die die in Mitteleuropa heimischen Pappelarten zwar anfällig sind, im Genpool aber von beispielsweise asiatischen Pappelarten Resistenzgene existieren. Das Einkreuzen dieser oder die Kombination verschiedener Resistenzgene ist in einem relativ kurzen Zeitraum mittels klassischer Forstpflanzenzüchtung bei den gegebenen Verhältnissen langer nicht-reproduktiven Phasen von Bäumen praktisch unmöglich.

### Literaturhinweise:

- [1] FLACHOWSKY, H.; HANKE, M.V.; PEIL, A.; STRAUSS, S.H.; FLADUNG, M. (2009): Plant Breeding 128, S. 217-226. [2] FLADUNG, M.; GEBHARDT, K. (2010): Forst- und Holz 65, S. 37-40. [3] FLADUNG, M.; HOENICKA, H. (2004): Gesunde Pflanzen 56, S. 195-200. [4] FLADUNG, M.; NOWITZKI, O.; ZIEGENHAGEN, B.; KUMAR, S. (2003): Trees 17, S. 412-416. [5] HOENICKA, H.; FLADUNG, M. (2006): Silvae Genetica 55, S. 285-291. [6] HOENICKA, H.; LEHNHARDT, D.; BRIONES, V.; NILSSON, O.; FLADUNG, M. (im Druck): Tree Physiology. [7] HOENICKA, H.; LEHNHARDT, D.; NILSSON, O.; HANELT, D.; FLADUNG, M. (2014): Plant Biotechnology Journal 12, S. 1066-1074.

Matthias Fladung,  
matthias.fladung@ti.bund.de,  
ist Leiter des Arbeitsbereiches  
Genomforschung und stellv.  
Institutsleiter des Thünen-Institut  
für Forstgenetik. Hans Hönicka ist  
wissenschaftlicher Mitarbeiter im  
selben Institut.

