Transgene Tomaten aus der Grundlagenforschung – unbeabsichtigte phänotypische Reaktionen auf ein Markergen

Ruth Richter, Agnes Schätzl, Johannes Wirz

Summary

Developmental dynamics and morphology of tomatoes harbouring a GUS-gene from E.coli under constitutive expression were assessed phenotypically on a macroscopic level. In contrast to the hypothesis, that the genetically modified (GM) plants would be unaffected with the exception of the desired trait, a number of non-target effects could be observed and shown to be specific for the expression level of the inserted gene. The analysis included temporal patterns of growth and fruit ripening, parameters of leaf and infrutescence architecture, fruit quality and composition. The results reveal that the plants of each line respond as a whole to the inserted construct. Some of the characters deviating with respect to the non modified controls must be considered to be detrimental in agronomic production. The demonstrated multiple unintended effects on plant performance suggest the urgency of a case by case evaluation in the risk assessment of genetically modified cultivars, including investigations from the genomic up to the macroscopic level.

Zusammenfassung

Entwicklungsdynamik und Morphologie von Tomaten, in die das GUS-Markergen eingeführt worden war, wurden auf makroskopischer Ebene untersucht. Entgegen der Annahme, dass das Konstrukt neben seiner Markerfunktion trotz konstitutiver Expression die Pflanzenentwicklung nicht beeinflusst (Nullhypothese), zeigten sich bei verschiedenen Linien je nach Expressionsniveau des Fremdgens in zahlreichen Merkmalen Abweichungen von der nicht modifizierten Ausgangssorte. Verglichen wurden zeitliche Muster in Wachstum und Fruchtreife und Parameter der Architektur von Blättern und Fruchtständen. Die Ergebnisse legen nahe, dass die Pflanzen jeder Variante auf die Einführung des gleichen Konstruktes in unterschiedlicher Weise ganzheitlich reagieren. Einige der abweichenden Merkmale wurden in Bezug auf ihre agronomische Verwendung als ungünstig bewertet. Das Auftreten vielfältiger nicht beabsichtigter Effekte in der phänotypischen Entwicklung der verschiedenen Varianten weist darauf hin, dass bei der Risikoabschätzung von gentechnisch veränderten Kulturpflanzen jede transformierte Linie von Fall zu Fall beurteilt werden sollte. Erforderlich ist neben Untersuchungen der Veränderungen auf der Genomebene auch die Evaluation des Phänotyps auf verschiedenen Ebenen bis hin zu makroskopischen Eigenschaften.

Einleitung

«Vom Genotyp zum Phänotyp: Ein komplexes Problem» war der Titel eines Kurzbeitrags im Fachmagazin *Science* im Frühling 2010. In der Studie

wurden die Genome zweier Hefelinien verglichen. Obwohl diese genetisch fast identisch waren, stellte man fest, dass in den beiden Linien verschiedene Subsets von Genen überlebensnotwendig waren. Untersucht wurden die Zelllinien nach dem einfachen Kriterium «Tot oder lebendig?». Das Beispiel aus der Welt der Einzeller vermittelt eine Ahnung davon, wie weit der Weg ist von der Feststellung, dass ein Gen an einem differenzierteren phänotypischen Merkmal in einem komplexeren Organismus beteiligt ist, zu einem Verständnis davon, *wie* diese Beteiligung realisiert wird. Gene, die als ein Stück DNA definiert sind, sind keine Mikroeinheiten des Phänotyps, sondern Entwicklungsressourcen, die verschiedenste Rollen in der Entwicklung des Organismus spielen[1]. Die Untersuchung der komplexen funktionalen Wege, auf denen dies geschieht – pathways genannt – beschäftigt einen Grossteil der Biologen. In der Grundlagenforschung wurden dafür Instrumente entwickelt, die es ermöglichen, die Expression bestimmter Gene im Organismus zu verfolgen. Dazu gehört der Einsatz eines Reporter- oder Marker-Gens aus E. coli, das das Eiweiss Glucuronidase (GUS) codiert. Gewebe, in denen dieses Gen exprimiert ist, verfärben sich unter Zusatz eines Reagens. Wird das GUS-Gen in ein Genkonstrukt eingebaut, dient es in erfolgreich transformierten Zellen oder Pflanzen als Marker, der erlaubt, die Expression des Konstruktes zu verfolgen. Mit dieser Strategie wurde beispielsweise die Expression eines Resistenzgens in Geweben von Samen, Wurzeln und Leitbündeln bei Tomaten in verschiedenen Entwicklungsstadien lokalisiert (*Mes et al.*, 2000).

Aus ähnlichen Versuchen stellte M. Haring von der Universität Amsterdam Samen von nicht transformierten Ausgangssorten und verschiedenen Linien, in die das GUS-Gen eingeführt worden war, für Untersuchungen am Phänotyp zur Verfügung. Die Ausgangsfrage war, ob auf der makroskopischen Ebene morphologische und entwicklungsdynamische Reaktionen der Pflanzen auf die Einführung des Fremdgens zu beobachten seien. M. Haring hielt es für unwahrscheinlich, dass die Pflanzen sich phänotypisch von ihrer Ausgangssorte unterscheiden, da GUS im Stoffwechsel der Tomate nach bisherigem Kenntnisstand keine Rolle spielt.

In dieser Studie werden verschiedene Varianten der Expression des Genkonstruktes verglichen. Ob die aus der genetischen Modifikation resultierenden Unterschiede auf die Zellregeneration, genomische Interaktionen im Zusammenhang mit dem Einbauort, den Einfluss der Architektur des

1 Dieser Gedanke wurde von *L. Moss* (2008) differenziert entwickelt.