

Dowideit, Kerstin; Hüskens, Alexandra

Julius Kühn-Institut, Institut für Sicherheit in der Gentechnik bei Pflanzen, Braunschweig

Kleistogamer Raps – Eine innovative Confinement-Strategie?

Cleistogamous Oilseed Rape – An innovative confinement strategy?

Zusammenfassung

Raps (*Brassica napus* L.) besitzt ein hohes Auskreuzungspotential, da Raps-Pollen durch Wind und Insekten über weite Strecken transportiert werden können. Beim Anbau von gentechnisch verändertem Raps könnten so auch neu eingeführte Gene verbreitet werden. Um den ungewollten Pollenfluss bei Raps zu unterbinden und eine Auskreuzung während des Anbaus von transgenem Raps einzuschränken, soll die Eigenschaft der Kleistogamie (Selbstbestäubung in geschlossenen Blüten) als mögliche biologische Confinement-Strategie beim Raps untersucht werden. Ziel des Projektes ist es, Informationen über die Merkmalsstabilität kleistogamer Rapslinien in unterschiedlichen Umwelten und die Zuverlässigkeit kleistogamer Rapslinien als biologische Confinement-Methode zu gewinnen. In mehrjährigen und mehrortigen Feldversuchen werden Rapspflanzen aus unterschiedlichen Entfernungen zum Pollendonator (kleistogame Rapslinie, *Clg1*) geerntet, um das Auskreuzungspotential kleistogamer Linien mittels real time PCR zu quantifizieren. Zunächst sollen *Clg1*-spezifische Primer für eine real-time PCR entwickelt und etabliert werden, mit denen die Auskreuzungsraten kleistogamer Linien in konventionelle nicht-kleistogame Sorten quantifiziert werden können. Hierfür wurden bislang zwei verschiedene Zielgene ausgewählt, die als Markergene in Frage kommen: das *fae1*-Gen und das Kleistogamie-Gen. Mutationen in den genannten Genen bedingen unterschiedliche Erucasäuregehalte in den Rapssamen (*fae1*-Gen; Cullen et al., 2008) bzw. die Ausbildung des kleistogamen Phänotyps (Kleistogamie-Gen; Genoplant, Patent FR 2923839). Die DNA-Sequenzen der ausgewählten Gene aus der kleistogamen Linie (*Clg1*; Niedrigerucasäure-Raps;) sowie von einer konventionellen Rapssorte Marcant (Hoherucasäure-Raps) wurden mittels PCR amplifiziert, kloniert und sequenziert. Anhand von Unterschieden in den DNA-Sequenzen von *Clg1* und Marcant werden verschiedene spezifische Primer für das *fae1.2*- und Kleistogamie-Gen entwickelt und auf ihre Spezifität hin getestet, um das Potential kleistogamer Linien als biologische Confinement-Strategie testen zu können.

Abstract

Oilseed rape (*Brassica napus* L.) has a high potential for out-crossing because pollen can be transported over wide distances by wind and insects. By growing genetically modified oilseed rape new introduced genes can be distributed in the environment. One simple way to restrict this unintended pollen-mediated gene flow is to ensure that the flowers do not open (cleistogamous flowers). The aim of the project is to gain information about the stability and reliability of the cleistogamous trait as a biological confinement method in oilseed rape. In perennial ring experiments at different locations in Germany oilseed rape plants grown in different distances to the pollen donor (cleistogamous line, *Clg1*) will be harvested to quantify the out-crossing potential of cleistogamous lines via real time PCR. Initially, *Clg1*-specific primer will be created and established for real-time PCR. So far, two different target genes were chosen as marker genes, the *fae1*-gene and the cleistogamy-gene. Mutations within these genes are responsible for different erucic acid contents in the seeds (*fae1*-gene; Cullen et al., 2008) or for the formation of the cleistogamous phenotype (cleistogamy-gene; Genoplant, Patent FR 2923839). The DNA-sequences of genes from the cleistogamous line (*Clg1*; low erucic acid rapeseed) as well as from the conventional oilseed rape cultivar Marcant (high erucic acid oilseed rape) were amplified via PCR, cloned and sequenced. Based on differences between DNA-sequences of *Clg1* and Marcant different specific primers for the *fae1.2*- and cleistogamous genes will be designed and tested on specificity by PCR, in order to evaluate the potential of cleistogamous oilseed rape used as a biological confinement method.

Schulz-Witte, Jonathan¹; Schulz, Hartwig¹; Ulrich, Detlef¹; Kammerer, Dietmar R.²; Carle, Reinhold², Nothnagel, Thomas³

¹ Julius Kühn-Institut, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Quedlinburg; ² Universität Hohenheim, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, Lehrstuhl für Lebensmittel pflanzlicher Herkunft, Stuttgart; ³ Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, Quedlinburg

Evaluation genetischer Ressourcen von *Daucus carota* L. als Quelle gesundheitsfördernder Inhaltsstoffe

Evaluation of *Daucus carota* L. genetic resources as a source of health promoting compounds

Zusammenfassung

DFG-/MNiSW-Forschungsprojekt: Ziel des internationalen DFG-/MNiSW-Forschungsprojektes ist die Evaluation der genetischen Variabilität von *Daucus carota* L. im Hinblick auf gesundheitsfördernde Inhaltsstoffe. Hierzu werden von den Projektpartnern in Krakow und in Quedlinburg verschiedenfarbige Möhren, bei denen hohe Gehalte an gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen zu erwarten sind, produziert und das Inhaltsstoffspektrum

analysiert. Zusätzlich werden in einer weiteren Studie *Daucus*-Wildtypen angebaut und auf die bitteren Polyacetylene untersucht. Den Polyacetylenen werden insbesondere im Bereich der Krebsprävention positive Wirkungen zugeschrieben. Bei der Analyse auf wertgebende Inhaltsstoffe wird vor allem der Gehalt von Carotinoiden, Polyacetylenen, Anthocyanen sowie flüchtigen Inhaltsstoffen und das antioxidative Potential untersucht. Zur Komplettierung der erhobenen Daten sowie zur Erstellung einer genetischen Karte von *Daucus carota* L. entwickeln die polnischen Projektpartner molekulare Marker, durch deren Verwendung ein besseres Verständnis der Polyacetylen-Biosynthese sowie deren Regulation erreicht werden soll. Die technologischen Möglichkeiten bei der Extraktion und Aufkonzentration von Polyacetylenen aus *Daucus carota* L. erforscht die Universität Hohenheim durch Extraktionsversuche im Pilotmaßstab. Die Versuche sollen Aufschluss darüber geben, ob die extractive Abreicherung von Polyacetylenen bei Lebensmitteln auf der einen Seite und die Aufkonzentration von Polyacetylenen für Verwendung in der Pharmaindustrie auf der anderen Seite wirtschaftlich realisierbar sind. Zum Projektende sollen die Ergebnisse der agronomischen Versuchen, die auf Basis molekularer Marker-Techniken erhalten wurden, mit den Ergebnissen aus der chemischen Inhaltsstoffanalytik korreliert werden. Auf diese Weise sollen zum einen neuere Erkenntnisse gewonnen werden, inwieweit eine kommerzielle Nutzung unterschiedlicher *Daucus*-Typen als neuartige Rohstoffe für die Gewinnung von gesundheitsfördernden Pflanzenextrakten (besonders Polyacetylenen) infrage kommen. Zum anderen sollen speziell diejenigen *Daucus*-Typen gefunden werden, die sich am besten für die Verarbeitung in der Lebensmittelindustrie eignen.

Abstract

DFG-/MNiSW-project: The aim of the international DFG-/MNiSW-project is the evaluation of the genetic variability of carrots with special focus on their profile of valuable compounds especially health promoting substances. Therefore, cultivated carrot genotypes adapted to cultivation conditions in Europe with various root colours and high amounts of health-beneficial compounds such as carotene, lutein, lycopene, anthocyanins, and various volatile compounds will be selected by the project partners in Krakow and Quedlinburg. Furthermore, wild carrot genotypes, accumulating polyacetylenes known for their anticancer properties will be cultivated in Quedlinburg for subsequent chemical characterisation. All carrot samples will be analysed for the individual carotenoid and polyacetylene profile and in addition selected genotypes will be analysed for their anthocyanin content by HPLC and HPLC-MS. Volatile substances will be measured by using GC-MS method. In order to complete the existing genetic map of *Daucus carota* L. and to get a better understanding of the biosynthesis pathways the Polish partners will identify molecular markers for most of the carrot genotypes. To create economical methods for the adsorptive recovery of these pharmacologically active compounds the University of Hohenheim will perform adsorption trials in their pilot plant. These processes may be also applied for the debittering of carrot-derived products, such as juice and purée. Adsorptive binding of the bitter principles (polyacetylenes) lead to minimal economic losses for the carrot processors. Another scope is to extract the health promoting compounds for possible applications in the pharmaceutical industry. The results of agronomical trials combined with chemical analyses and molecular markers will be evaluated statistically to provide necessary information about the suitability of *Daucus* resources as a novel source for health promoting compounds under the cultivation conditions in Central Europe.