

Biomasse-Veränderungen in Pappelhybriden durch CRISPR/Cas9-vermittelte Knockouts

Tobias Brüggemann, Matthias Fladung

Thünen-Institut für Forstgenetik, Arbeitsbereich Genomforschung

Sieker Landstraße 2, 22927 Großhansdorf

tobias.brueggemann@thuenen.de

Durch die beschlossene Energiewende, die eine Reduktion der Treibhausgas-Emission und das Auslaufen der Atomenergie beinhaltet, gewinnen nachwachsende Energiequellen zunehmend an Bedeutung. Biomasse, die gut lagerbar und bei Bedarf abrufbar ist, sorgt für einen zuverlässigen Energiemix. Zur Biomasseproduktion sind schnellwachsende Baumarten wie Pappeln besonders geeignet, die sich auf Grenzertragsstandorten kultivieren lassen und deren Holz thermisch zur Energiegewinnung verwertet werden kann.

Aufgrund der langen Generationszeiten können biotechnologische Ansätze an der Verbesserung von Pappelhybriden mitwirken und die klassische Forstpflanzenzüchtung unterstützen. Zur optimierten Biomasseproduktion wurden insgesamt sieben Gene ausgewählt und überexprimiert bzw. herunterreguliert.

Phänotypische Veränderungen wurden u.a. durch *PCBER1* erzielt, eine Oxidoreduktase aus der Lignan-Biosynthese. Ein Knockdown des Gens führte zu bis zu 38% gesteigertem Höhenwachstum, während die Überexpression von *PCBER1* den Anteil an Ethanol-extraktstoffen, in denen auch Lignane inbegriffen sind, signifikant erhöht war.

Die Überexpression des Transkriptionsfaktors *SCL7* führte zu signifikant gesteigertem Cellulosegehalt in den transgenen Pappeln. Eine möglicherweise vermittelte Salztoleranz durch *SCL7* wird derzeit untersucht.

Einen besonders starken Einfluss auf die Biomassebildung zeigte die Überexpression der zwei Gene *SOCI* und *FUL*, die einen bekannten Einfluss auf die Blütenbildung haben. Doppeltransgene Pflanzen, die *SOCI* und *FUL* überexprimieren, zeigten eine deutlich reduzierte Biomassebildung. Einfache Knockdown-Ansätze führten zu keinen Biomasseveränderungen, da wahrscheinlich insgesamt fünf paraloge Gene die Funktion von *SOCI* und *FUL* kompensieren können. Als neue Knockout-Methode wurde CRISPR/Cas9 für die Pappel etabliert. Mit vier unterschiedlichen guideRNAs wurden die fünf Paraloge als Targets definiert, deren Knockouts eine Biomassesteigerung bewirken sollen. Durch Sequenzierungen konnte eine hohe Editierungsrate nachgewiesen werden. Zur Phänotypisierung werden die produzierten Pappeln derzeit im Gewächshaus kultiviert.