

Quantifizierung von insektenübertragbaren Viren in transgenen und nicht-transgenen Pflanzen – am Beispiel von Wheat dwarf virus (WDV) bei Getreide und Potato virus Y (PVY) bei Kartoffel

Drechsler, N.1*, Hühnlein, A.2*, Thieme, T.1, Habekuß, A.3, Schliephake, E.3, Schubert, J.4

1 BTL Bio-Test Labor Sagerheide GmbH, *gefördert mit Mitteln des BMBF (03WKBN05A)

2 JKI, Informationszentrum und Bibliothek

3 JKI, Institut für Resistenzzüchtung und Stresstoleranz

4 JKI, Institut für Sicherheit in der Gentechnik bei Pflanzen

Die gentechnische Veränderung einer Pflanze kann zu erwarteten und unerwarteten Änderungen in der Reaktion der Pflanze auf pflanzenpathogene Viren oder im Nahrungsverhalten der sie besiedelnden Virusvektoren wie Aphiden und Zikaden führen. Änderungen der Resistenz gegen Viren oder in der Virusaufnahmemenge von Vektoren sind daher sensitive Indikatoren für Änderungen im pflanzlichen Stoffwechsel. Um diese Änderungen in den Untersuchungsobjekten, gentechnisch veränderter (GV) Sommerweizen (Uni Zürich) und GV-Kartoffeln (Uni Rostock), quantitativ zu erfassen, wurden sehr empfindliche Realtime-PCR-Verfahren für den Nachweis der wirtschaftlich bedeutsamen Viren *Wheat dwarf virus* (WDV) und *Potato virus Y* (PVY) entwickelt. Der quantitative Nachweis ist für beide Viren sowohl in der Pflanze als auch in Vektoren möglich.

Zur Bewertung der biologischen Relevanz der in transgenen Pflanzen ermittelten Viruskopienzahlen, wurde in die Experimente eine Auswahl konventioneller Sorten einbezogen. An diesen wurden für beide Viren untere und obere Schwellenwerte (Anzahl ermittelter Viruspartikel) ermittelt. Eine Unterschreitung des unteren Schwellenwertes ist gleichbedeutend mit erhöhter Resistenz bzw. verringerter Aufnahme von Viruspartikeln und stellt keinen negativen Effekt der Transgenität bzgl. der Virusresistenz dar. Sie ist jedoch als negativ hinsichtlich möglicher Toxizität der Pflanzen für Insekten zu bewerten. Dagegen deutet eine Überschreitung des oberen Schwellenwertes auf eine erhöhte Anfälligkeit für das getestete Virus und/oder auf eine gesteigerte Attraktivität der Wirtsflanze für die Vektoren hin und ist negativ zu bewerten.

Die Getreidepflanzen für die Quantifizierung von WDV wurden aus Saatgut angezogen und bei 22-24 °C am Tag und 18 °C in der Nacht im Gewächshaus aufgestellt. Pro Pflanze wurden 4 virustragende Zikaden aufgesetzt, nach 5 weiteren Tagen abgesammelt und eventuell zurückbleibende Larven mit einem Insektizid abgetötet. Es erfolgten zwei Probenahmen: nach zwei und nach sechs Wochen. Die DNA der Proben wurde extrahiert und für die real-time-PCR verwendet.

Für die Experimente mit PVY wurden *in-vitro*-Pflanzen in Substrat getopft und bei 22 -24 °C am Tag und 18 °C in der Nacht aufgestellt. Die Inokulation der Pflanzen erfolgte mechanisch durch Abreibung mit PVY-haltigem Tabaksaft. Die Probenahme erfolgte 14 Tage nach Inokulation. Anschließend wurden die Proben durch RNA-Extraktion aufgeschlossen und mit Hilfe der RT-realtime-PCR auf deren PVY-Gehalt untersucht.

Die Untersuchungen zeigten, dass die transgenen Linien die für die konventionellen Sorten bestimmten Schwellenwerte nicht überschreiten und innerhalb der natürlichen Schwankungsbreite der Viruskopienzahl liegen. Allerdings ließ sich in einem Fall (GV-Kartoffel - Cyanophycin – Infektion mit PVY^NWilga) eine erhöhte Virusanfälligkeit gegenüber der isogenen Linie nachweisen.

Neben dem quantitativen Nachweis von WDV und PVY stehen Realtime-PCR-Verfahren auch für zwei Luteoviren - *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) in Getreide und *Potato leafroll virus* (PLRV) in Kartoffel sowie das Geminivirus *Barley dwarf virus* (BDV) zur Verfügung.