

Biotechnologie in der Phytomedizin

Stefan Wagner¹ und Falko Feldmann²

¹ Institut für Pflanzenschutz im Gartenbau, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig (s.wagner@bba.de)

² Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e.V., Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig (dpg@bba.de)

Einleitung

Biotechnologie zählt zu den Schlüsseltechnologien des 21. Jahrhunderts und wird zukunftsweisende Perspektiven in den Bereichen Landwirtschaft, Lebensmittelherstellung, Medizin und Umwelttechnik ermöglichen.

Weltweit wurden im Jahre 2001 mehr als 2000 Mio. Euro von Biotechnologieunternehmen investiert, 70% davon entfielen auf den Privatsektor und nur 30% auf den öffentlichen Sektor (Traxler, 2004). Die finanzielle Situation der deutschen Biotechnologie-Unternehmen ist angesichts ihrer Altersstruktur (80% der Betriebe sind nach 1995 gegründet) bemerkenswert. So setzten die 480 deutschen Biotech-Unternehmen im Jahr 2005 rund 1,5 Milliarden Euro um. Dem steht ein Forschungs- und Entwicklungsbudget von rund 700 Millionen Euro gegenüber. Finanzierungsquellen für die Firmen sind Venture Capital (65% der Unternehmen) und Fördermittel von Bund, Ländern oder Kommunen (35% der Biotech-Unternehmen, BMBF, 2006).

Nahezu 10% der deutschen Biotechnologie-Unternehmen wenden biotechnologische Methoden in speziellen Bereichen der Pflanzenproduktion an. Darüber hinaus arbeitet aber ein sehr großer Teil der Unternehmen (ca. 35%) mit so genannten unspezifischen Forschungsmethoden, die bereichsübergreifend eingesetzt werden können, was auf die Interdisziplinarität und die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten der biotechnologischen Lösungen hinweist.

Sämtliche Biotech-Unternehmen, die für die Pflanzenproduktion arbeiten, wenden ihre Methoden zum Zwecke der Erzielung gesunder Pflanzen an: entweder verfolgen sie die Absicht, Pflanzenschutzaufgaben zu optimieren, oder sie arbeiten an der Verbesserung pflanzlicher Eigenschaften, die ernährungsphysiologisch genutzt werden können. Sie liegen mit ihren Tätigkeitsfeldern im direkten Interessengebiet der Phytomedizin.

Auch wenn biotechnologische Verfahren vom Menschen schon seit mehr als 8000 Jahren angewendet wurden, prägte erst 1919 der ungarische Ingenieur Karl Ereky den Begriff „Biotechnologie“ als „Summe aller Verfahren, mit denen Produkte aus Rohstoffen unter

Zuhilfenahme von Mikroorganismen erzeugt werden“. Seither wurden zahlreiche neue Definitionen veröffentlicht, um eine den heutigen modernen Technologien angemessene Beschreibung der Biotechnologie zu erhalten.

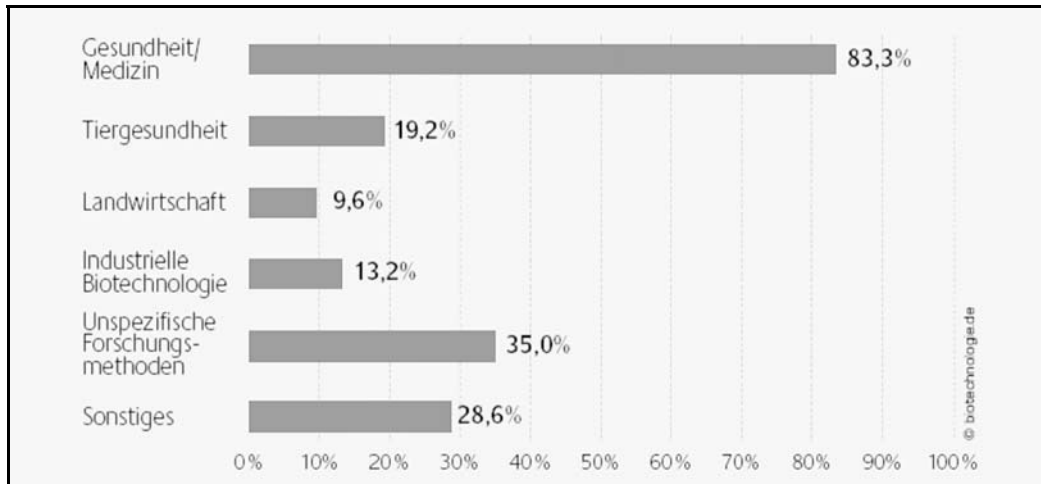


Abb. 1: Biotechnologie-Segmente, in denen deutsche Biotech-Unternehmen im Jahr 2005 tätig waren in Prozent (Mehrfachnennungen möglich; Quelle: BMBF, 2006)

So wurde von der Europäischen Föderation Biotechnologie (EFB) Ende der 70er Jahre eine allgemein akzeptierte Definition gegeben, die die Biotechnologie anwendungsorientiert beschrieb. Auf ihre Anwendungsbereiche bezogen wird die Biotechnologie in fünf Bereiche eingeteilt:

- "Grüne" Biotechnologie (landwirtschaftliche Anwendung, einschließlich gentechnischer Veränderung von Pflanzen und Mikroorganismen)
- "Rote" Biotechnologie (medizinisch-pharmazeutisch u.a. Herstellung von Therapeutika und Diagnostika),
- "Blaue" Biotechnologie (Herstellung von Nahrungsmittelzusätzen aus dem Meer)
- "Weiße" Biotechnologie (biotechnologisch-basierte Produkte und Industrie-Prozesse – z.B. in der Chemie-, Textil- oder Lebensmittelindustrie)
- "Graue" Biotechnologie (biotechnologische Prozesse im Bereich der Abfallwirtschaft sowie in Kläranlagen oder Dekontamination von Böden).

Die Biotechnologie ist damit eine typische Querschnittstechnologie, die in viele forschungsorientierte Felder hineinreicht und bildet über phytomedizinische Aspekte hinausreichend zahlreiche Facetten mit Bezug zur Medizin, zur Chemie, zur Physik, zur Informationstechnologie und zu den Materialwissenschaften.

Wir verwenden hier die 1989 von der OECD modifizierte Definition, die drei Bereiche,

die *klassische Biotechnologie*, die *moderne Biotechnologie* und die *molekulare Biotechnologie/Gentechnik*, unterscheidet (BMBF, 2001). In unserer Übersicht über biotechnologische Anwendungsbeispiele in der Phytomedizin stellen wir einerseits Methoden und Verfahren des Forschungs- und Entwicklungsbereiches (F&E) vor, andererseits bereits eingeführte biotechnologische Produkte, seien es Waren oder Dienstleistungen, oder komplexere biotechnologische Prozesse, d.h. marktfähige Verfahren, bei denen mehrere biotechnologische Produkte und Verfahren zur Anwendung kommen. Unser Anspruch ist nicht die Beschreibung einzelner Verfahren, sondern die Darstellung eines Spektrums der Möglichkeiten für die Phytomedizin. Wir verweisen für Details auf entsprechende Originalpublikationen.

Klassische Biotechnologie in der Phytomedizin

Zur klassischen Biotechnologie werden im Wesentlichen Verfahrensmethoden gezählt, die eine technische Produktion von Mikroorganismen, aber auch höheren Organismen wie Insekten oder Nematoden beinhalten. Dabei ist die Bedeutung von klassisch nicht gleichzusetzen mit unmodern, sondern die Bezeichnung zielt auf die bewährte Nutzung von Produktionsmethoden hin. Verbesserte Kenntnisse im Bereich der Bioverfahrenstechnik ermöglichen die großtechnische Produktion von Mikroorganismen und/oder ihrer Stoffwechselprodukte. Grundlegende Forschungsarbeiten über die Biologie von Schaderregern und deren Wechselwirkungen mit der Umwelt münden hier in die biotechnologische Produktion. Der biologische Pflanzenschutz oder der Pflanzenschutz mit Naturstoffen sind prominente Beispiele. Es kommen die Mikroorganismen selbst zum Einsatz oder von Mikroorganismen und Pflanzen gebildete Stoffwechselprodukte.

Besonders im Hinblick auf einen nachhaltigen **biologische Pflanzenschutz** findet der Einsatz von Antagonisten in der Schädlingskontrolle zunehmend Eingang in die Praxis speziell im Gartenbau (Ehlers, 2006; Richter et al. 2006). Die Kontrolle von Schädlingen kann durch tierische Antagonisten (z.B. *Trichogramma* spp., *Chrysoperla* spp. oder *Amblyseius* spp.), pilzliche Antagonisten (z.B. *Trichoderma* spp., *Hirsutella rhossiliensis*, *Gliocladium catenulatum*, *Paecilomyces lilacinus*) und anderen mikrobiellen Antagonisten (z.B. *Pseudomonas* spp., *Bacillus subtilis*, *Serratia* spp., *Xenorhabdus bovienii*) erfolgen.

Von verschiedenen Firmen sind inzwischen Bioinsektizide auf der Basis entomopathogener Pilze vor allem der Gattungen *Beauveria*, *Metharhizium* und *Verticillium* entwickelt worden. Auch Viren können zur biologischen Schädlingsbekämpfung eingesetzt werden. Im ökologischen Obstbau zum Beispiel wird mit großem Erfolg zur Bekämpfung des Apfelwicklers das Apfelwickler-Granulosevirus (CpGV) ausgebracht. Gegen die Kohleulenraupen (*Mamestra brassicae*) wird mit einem eulenpathogenen Baculovirus (MbMNPV) vorgegangen (Cory et al., 2005). Der Einsatz erfolgt direkt oder nach einer biotechnologisch entwickelten Formulierung der Organismen. Abhängig von ihrer Einstufung als Pflanzenschutzmittel können die

wirksamen Organismen oder die von ihnen produzierten Stoffe einem dem chemischen Pflanzenschutz vergleichbaren Zulassungsverfahren unterliegen. Eine detaillierte Prüfung wird auch bei der Verwendung von Pflanzenstärkungsmitteln angestrebt (www.bvl.bund.de).

Im Bereich des **biologisch-chemischen Pflanzenschutzes** ist das bekannteste Produkt das Bt-Toxin von *Bacillus thuringiensis*. Präparate des Bt-Bakteriums (Sporen und Proteinkristalle) werden als Bioinsektizide seit 40 Jahren vor allem im ökologischen Landbau, Gartenbau und Forst eingesetzt (Schuler *et al.* 1998). Das Bakterium produziert ein Toxin, das auf bestimmte Fraßinsekten wie Schmetterlingsraupen giftig wirkt, andere Lebewesen jedoch nicht schädigt. Ein weiteres sehr wirksames Bioinsektizid sind Extrakte verschiedener Pflanzenteile des Neembaumes (*Azadirachta indica*). Sie werden als natürlicher Fraßhemmer und Insektizid im Pflanzenschutz eingesetzt werden um in zunehmendem Maße zur Abwehr von Schadinsekten wie z.B. Motten und zur Bekämpfung von Milben, sowie in der Garten- und Landwirtschaft eingesetzt. Während der letzten 20 Jahre wurden viele wissenschaftliche Untersuchungen zur Erforschung der biochemischen und pharmakologischen Wirkungen von Neem durchgeführt (Schmutterer 1995).

Weitere Naturstoffe bilden wichtige Grundlagen für den chemischen Pflanzenschutz. So werden pilzliche Naturstoffe - z.B. Strobilurine – als Leitsubstanzen verwendet und die Wirkstoffe synthetisch verändert, um ihre Wirkung zu erhöhen. Pyrethrum-Extrakte, von denen Pyrethroide abgeleitet werden, finden als Insektizide eingesetzt werden Verwendung. Die Wirkstoffe Avermectin gegen Spinnmilben und Spinosad gegen Lepidopterenarten werden als Naturstoffe ohne synthetische Veränderung direkt eingesetzt (Stetter & Lieb 2000).

Die Nutzung von biotechnologisch hergestellten Pheromonen erfolgt z.B. gegen den Borkenkäfer (*Scolytidae*), den Traubenwickler (*Eupoecilia spec.*, *Lobesia spec.*), den Kartoffelkäfer (*Leptinotarsa decemlineata*) oder die Kastanienminiermotte (*Cameraria ohridella*). Dabei wird das Pheromon in Verwirrtechnik oder in Verbindung mit einem Insektizid mittels Attract-and-Kill Strategie angewandt (Meyhöfer *et al.* 2006).

An der Grenze zwischen chemischem und biologischem Pflanzenschutz steht die **Resistenzinduktion** von Pflanzen (Stahl *et al.* 2006). Von Chester (1933) bereits als pflanzliche „Immunisierung“ für den Pflanzenschutz nutzbringend beschrieben, wurde das Prinzip erst heute durch die verbesserten biotechnologischen Untersuchungsmethoden und die Zunahme der Kenntnisse von Wirt-Parasit-Interaktionen nutzbar und fand Eingang in den modernen Pflanzenschutz.

Die Induktion von Resistenz greift auf die natürlich vorhandenen Abwehrmechanismen anfälliger Pflanzen zurück und aktiviert sie, ohne dass Veränderungen am Genom vorgenommen werden müssen. Grundsätzlich lassen sich zwei Kategorien der induzierten Resistenz unterscheiden (Pieterse & van Loon 1999). Zum einen ist dies die systemisch erworbene Resistenz („Systemic Acquired Resistance“, SAR), die durch Chemikalien

oder nekrotisierende Mikroorganismen ausgelöst wird. Zum anderen die „induzierte systemische Resistenz“ (ISR), die durch die Besiedlung der Rhizosphäre mit so genannten wachstumsfördernden Rhizobakterien (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) oder arbuskulärer Mykorrhiza aktiviert wird (Feldmann & Lieberei, 1991; Durrant & Dong 2004). Durch Aktivierung von Abwehrmechanismen der Pflanze werden die Infektionsmechanismen der Pathogene gehemmt und damit Ertrags- und Qualitätsverluste vermieden. Die induzierte Resistenz breitet sich systemisch in der Pflanze aus und bietet auch nicht behandelten Pflanzenteilen Schutz. Die dafür notwendige Signalweiterleitung und die Signalstoffe sind Gegenstand zahlreicher Forschungsarbeiten. So werden im Zuge einer SAR in Modellorganismen wie *Arabidopsis*, *Nicotiana* oder *Lycopersicum* die Signalketten unter Beteiligung von Salicylsäure (SA) aktiviert. Demgegenüber erfolgt die Signalleitung nach Aktivierung im Sinne einer ISR nicht über Salicylsäure sondern vermutlich über Jasmonsäure und/oder Ethylen (Conrath *et al.* 2002). Zu den aktivierten Abwehrmechanismen gehören die „hypersensitiven Reaktionen (HR)“ und die lokale Verstärkung der Zellwände. Daneben wird die Synthese verschiedener Proteine aktiviert, wie etwa die pathogen-stimulierten PR-Proteine, Phytoalexine oder weitere am Aufbau von Abwehrreaktionen beteiligte Proteine, wie z.B. die Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL) (Pieterse & van Loon 1999).

Die Übertragung dieser Erkenntnisse aus der Grundlagenforschung in die industrielle Praxis mündete in die Produktion von biotechnologisch hergestellten biologischen **Pflanzenstärkungsmitteln** (z.B. Bion® bzw. Oryzemat®) und wird in der Symbiontentechnologie genutzt (z.B. INOQ®). Hier werden natürliche, zumeist mutualistisch oder assoziiert mit den Nutzpflanzen zusammenlebende Mikroorganismen in Fermentern oder *in vivo* Systemen massenvermehrt (Feldmann und Grotkass 2002) und dort eingesetzt, wo sie kulturtechnisch bedingt im Defizit vorkommen (Feldmann 1998). Eine Fülle von Produkten und Verfahren, die für spezielle Einsatzbereiche entwickelt wurden, sind international auf dem Markt (von Alten *et. al.* 2002).

Die permanente Expression der Aktivatorsubstanz in der Pflanze durch den Einbau der zur Synthese notwendigen Gene ergäbe möglicherweise ein erweitertes Schutzspektrum (sofern es zu keiner Schädigung in einem fortgeschrittenen Wachstumsstadium kommt, wie bei einer direkten Applikation). Derartige Arbeiten sind unter anderem Bestandteil der modernen Biotechnologie.

Moderne Biotechnologie in der Phytomedizin

Die moderne Biotechnologie stellt die Verbindung von klassischen Methoden mit der Weiterentwicklung der Molekularbiologie bzw. der Gentechnik dar. Gentechnik wird oft fälschlicherweise mit Biotechnologie gleichgesetzt. Als Gesamtheit aller Methoden und Verfahren zur Isolierung, Erforschung, Veränderung und Übertragung von Erbmaterial stellt sie lediglich ein Teilgebiet der modernen Biotechnologie dar.

Besonders deutlich wird diese Verknüpfung von klassischer und moderner

Biotechnologie am Beispiel der **modernen Pflanzenzüchtung**. Pflanzenzüchtung ist der Grundstein für wirtschaftliche und umweltschonende Wirtschaftsweise in der Landwirtschaft und integraler Bestandteil phytomedizinischer Strategien.

In den letzten Jahrzehnten kamen biotechnologische Züchtungsverfahren zu den klassischen Verfahren (Kreuzung mit anschließender Selektion) hinzu: *Mutationszüchtung*, *Zell-* und *Gewebekultur* sowie *Protoplastenfusion*. Sie führten zu vielen genetischen Veränderungen, die bei entsprechender Eignung in neue Sorten übernommen wurden (Diekmann *et al.* 1999).

Die *molekulare Charakterisierung* von Ausgangslinien und des Zuchtmaterials stellt ein weiteres Hauptgebiet der biotechnologischen Züchtungsforschung dar. Die Entwicklung von molekularen Markern in den letzten Jahren ergänzen die bislang verwendeten morphologischen und biochemischen Marker. Der Erforschung und Entwicklung molekularer Marker für die Identifikation von wertvollen Eigenschaften (z.B. Resistenzen) kommt eine besondere Bedeutung zu. In einigen Zuchtprogrammen werden Marker für monogen wie auch für polygen vererbte Eigenschaften eingesetzt und dadurch die Wahl von Kreuzungskombinationen verbessert und die Effizienz in der Selektion gesteigert (Wehling 2000). Die molekularen Analysemethoden zur Identifizierung von Genen bzw. deren Produkten stellen einen großen Fortschritt dar und werden in Zukunft zu unentbehrlichen Routinemethoden in der Züchtung werden.

Meristemkulturen, *Doppelhaploide* aus der Antheren- oder Mikrosporenkultur, *Embryokultur*, *Protoplasten-* und *Einzelzellkultur*, *Zellfusionen* und *Somaklone* (Trigiano und Gray, 2004) sind biotechnologische, nicht-gentechnische Verfahren, die aber auf ihre Weise zu genetischer Veränderung führen. Einige dieser Verfahren sind sehr geeignet, die Sorten für den ökologischen Landbau zu erzeugen. Die Pflanzenzüchtung hat durch die Entwicklung von ertragreicheren Sorten also bereits einen sehr wertvollen Beitrag zu einer nachhaltigeren Landwirtschaft geleistet. Es ist davon auszugehen, dass die physiologischen Grenzen der Züchtung auf Ertrag und Krankheitsresistenz bei weitem noch nicht erreicht sind.

Die Züchtung mit Hilfe gentechnischer Verfahren erweitert die genetische Basis für Neukombinationen mit Genen, die nicht durch konventionelle Kreuzung übertragen werden können oder nicht an unerwünschte Gene gekoppelt sind. Die Gentechnik als Methode der modernen Biotechnologie kann in diesem Zusammenhang als Weiterentwicklung der seit Jahrtausenden bestehenden und kontinuierlich weiterentwickelten Züchtungs- und Produktionsverfahren bezeichnet werden (www.bafz.de). Der Unterschied zur traditionellen Züchtung liegt darin, dass die Änderungen rascher und effizienter herbeigeführt werden können.

Die optimale Integration von Genen im Akzeptorgenom, die stabile Expression und die unveränderte Weitergabe an die nächsten Generationen sind wichtige Forderungen an die gentechnischen Verfahren (Ryschka *et al.* 2000). Das Potenzial einer gezielten Unterstützung der Sortenproduktion für die nachhaltige Landwirtschaft durch die Gentechnik ist groß, doch bedarf deren Anwendung einer sorgfältigen Begleitung mit

entsprechenden Entscheidungsgrundlagen, welche die geforderten Kriterien erfüllen.

Die erste transgene Pflanze wurde 1983 entwickelt. Amerikanischen Forschern gelang es, ein Antibiotikaresistenz-Gen aus einem Bakterium auf eine Tabakpflanze zu übertragen. In Deutschland wurden 1989 die ersten gentechnisch veränderten Pflanzen am Max-Planck-Institut in Köln freigesetzt. Es handelte sich um Petunien, deren Blütenfarbe verändert worden war. Vier Jahre später wurden mit virusresistenten Zuckerrüben die ersten gentechnisch veränderten Nutzpflanzen in Deutschland freigesetzt, die zukünftig im Nahrungsmittelbereich an Bedeutung gewinnen könnten. 1994 wurde in den USA mit der FlavrSavr-Tomate erstmals ein gentechnisch veränderter Organismus als Lebensmittel für die Vermarktung zugelassen. Mittlerweile sind auch Mais, Sojabohne, Raps u.a. Kulturpflanzen in der Landwirtschaft weltweit eingesetzt worden (Saedler & Schuchert, 2001). Die Veränderungen des Pflanzengenoms zielen neben Ertragskomponenten hauptsächlich auf phytomedizinisch relevante Aspekte des Pflanzenschutzes wie Fraßschutz (Mooser, 2006), Resistenz gegen pilzliche Krankheiten (Stahl et al, 2006) und Viren (Varrelmann, 2006) oder Herbizidtoleranz (Märlander und v. Tiedemann, 2006) ab.

Etwa 40 Gene, die Resistenzen gegen **Fraßinsekten** bewirken, wurden inzwischen in Kulturpflanzen übertragen (www.biosicherheit.de). Die bekanntesten Beispiele sind Gene aus dem Bakterium *Bacillus thuringiensis*, so genannte Bt-Gene. Zehn Gene, die für verschiedene Endotoxinproteine kodieren und gegen Schadinsekten selektiv wirksam sind, wurden in Kulturpflanzen eingebaut, um der Pflanze zu ermöglichen, selbst den Wirkstoff zu produzieren und sich so vor Insektenfraß zu schützen: Im Maisanbau, vornehmlich der wärmeren Lagen, verursacht die Raupe des Maiszünslers (*Ostrinia nubilalis*) zum Teil hohe Ertragseinbußen von bis zu 30%. Die Raupe bohrt sich rasch in den Stängel und ist dann nur schwer mit Insektiziden zu bekämpfen. Bt-Maissorten zeigten neben geringeren Ertragseinbußen durch Fraß der Zünslerraupe auch einen verminderten Befall mit Schadpilzen, die über verletztes Gewebe in die Maispflanze eindringen und gesundheitsschädliche Giftstoffe (Mykotoxine) wie Fumonisin produzieren. Mais- und Baumwollsorten, die Bt-Gene zum Schutz vor Fraßinsekten tragen, werden in den USA und einigen anderen Ländern außerhalb Europas großflächig kultiviert. Besonders bei Baumwolle konnte durch den Anbau von Bt-Sorten die Anzahl an Insektizidbehandlungen gegen die wirtschaftlich bedeutendsten Schädlinge Baumwollkapselwurm (*Helicoverpa zea*), Roter Kapselwurm (*Pectinophora gossypiella*) sowie Baumwolleule (*Heliothis virescens*) deutlich vermindert werden.

Neben den Bt-Genen gibt es noch weitere Gene, welche in Pflanzen eingebaut wurden und zu einer Insektenresistenz führen können. Hier bilden die Protease-Inhibitoren (PI) die wichtigste Gruppe. Protease-Inhibitoren sind pflanzeneigene Gene, welche die Proteasen von verschiedenen Insekten hemmen, nicht jedoch die pflanzeneigenen (Blatter & Wolfe 1995).

Zur Abwehr von **Pilzkrankheiten** (Anke und Thines, 2006) erprobt man u.a. den Einsatz von Chitinasen, da diese Enzyme in der Lage sind, die Polysaccharide der pilzlichen

Zellwand abzubauen. Sie greifen die in die Pflanzenzelle eindringende Pilzhyphe an und hemmen das Wachstum des Pilzes. Chitinasen und Glucanasen gehören daher in Pflanzen zu den 'pathogenesis-related' (PR) Proteinen, welche bei Pilzbefall induziert werden. Dieser pflanzeigene Abwehrmechanismus wird häufig jedoch nur in ungenügenden Mengen oder zu spät exprimiert. Wird die Konzentration durch Einbau der entsprechenden Gene erhöht, kann ein Schutz der Pflanzen gegen gewisse Pilze erreicht werden (Schulze-Lefert & Panstruga 2003).

Als Beispiele transgener Pflanzen gegen Pilzbefall sind Gerste gegen Fusarium-Befall zur Vermeidung von Mykotoxinen oder Raps gegen *Rhizoctonia solani* zu nennen.

Gene für so genannte Osmotine, die Pilzmembranen zerstören können, wurden in Tomaten, Kartoffel und Tabak gefunden. Erste Versuche mit diesen Genen erfolgten z.B. gegen *Phytophthora infestans*, dem Erreger der Kraut- und Knollenfäule, wobei es zu einer langsameren Ausbildung von Krankheitssymptomen. Ein anderer Ansatz beruht auf der Nutzung eines so genannten Ribonucleasogens, das die vom Pilz befallene Zelle durch Abbau der RNA absterben lässt und so eine weitere Ausbreitung des Pilzes verhindern soll (Zhu *et al.* 1996). Ziel dieser Ansätze mit pilzresistenten Sorten ist eine deutliche Reduktion des Fungizideinsatzes.

Von den wenigen Resistenzgenen, welche bisher kloniert werden konnten, konzentriert man sich vor allem auf die Abwehr von obligat biotrophen Pilzen wie Echter Mehltau oder Rostpilze. Allerdings scheinen auch diese anscheinend einfachen Prozesse komplexer zu sein, als zuerst vermutet. In der Gerste zum Beispiel sind mindestens zwei Formen von Hauptgenen bekannt: das dominante Ml-Wirtsresistenzgen, welches einen mehr oder weniger schnellen hypersensitiven Zelltod bewirkt, und die rezessive mlo-Resistenz, die dadurch wirkt, dass sie dem Pathogen den Zugang zu den Epidermiszellen verwehrt. Beide Resistenzformen werden als einfache Einzelgenresistenzen betrachtet. Es gibt vermehrt Hinweise dafür, dass für die Expression bei beiden Arten der Resistenz Helfergene benötigt werden (Schulze-Lefert & Panstruga 2003).

Auch gegen schwer bekämpfbare **Bakterienkrankheiten** erforscht man molekulare Abwehrmechanismen z.B. auf der Basis von Lysozym- oder Pektatlyasegenen. Lysozyme sind weit verbreitet und wirken toxisch gegen verschiedene Bakterien. Durch gezielte Expression können so in die Pflanze eindringende Bakterien frühzeitig vor ihrer Massenvermehrung angegriffen werden. Eingesetzt wird z.B. ein Gen aus dem Bakteriophagen T4 um Apfelsorten gegen den Feuerbrand (*Erwinia amylovora*) zu schützen oder Kartoffelknollen durch das bodenbürtige Pathogen *Erwinia carotovora*. In Tabak eingebaut ergab ein Homologon des lytischen Peptids Cecropin B aus einer Seidenmotte einen reduzierten Befall durch *Pseudomonas solanacearum* bei einer Stängelinfektion, nicht jedoch bei Wurzelinfektion (www.biosicherheit.de).

Ein besonderes Problem in der Landwirtschaft stellen pflanzliche **Viruskrankheiten** dar, da sie nicht direkt mit Pflanzenschutzmitteln bekämpft werden können. Deshalb werden mit Hilfe der Gentechnik verschiedene Schutzstrategien verfolgt. Die wichtigste Gruppe bilden dabei Gene oder davon abgeleitete Sequenzen, welche aus den Viren selbst

stammen, und eine sogenannte 'pathogen derived resistance' (PDR) erzeugen (Stiekema *et al.* 1993). In einigen Fällen können sich Viren in der Pflanze nicht mehr vermehren, wenn unschädliche Teile des Virus schon frei in der Pflanzenzelle vorkommen. So versucht man durch Übertragung von Genen, die bestimmte Hüll- oder Transportproteine des Virus kodieren, die Virusresistenz zu verbessern. Diese Ansätze werden z.B. bei Zuckerrüben gegen das Rizomania-Virus, den Erreger der Wurzelbärtigkeit, und bei Kartoffeln gegen das Blattrollvirus verfolgt (Blatter & Wolfe 1995). Eine weitere wirksame PDR wurde mit dem Einbau von viralen Replikasegenen oder mit Rumpfstücken davon erzeugt. Der eigentliche Mechanismus, der die Vervielfältigung des Virus verhindert, ist bisher unbekannt. Diese Strategie wurde gegen Viren aus verschiedenen Gruppen eingesetzt. Durch Inokulation von Pflanzen mit Satelliten-RNA aus schwach virulenten Isolaten konnten Pflanzen im großen Maßstab gegen 'Cauliflower mosaic virus' (CMV) tolerant gemacht werden. Versuche, durch Einbau von Satelliten-RNA exprimierenden Genen denselben Schutz zu erreichen, waren ebenfalls erfolgreich. Der Einsatz von Satelliten-RNA scheint aber sehr virus- und kulturspezifisch zu sein (Blatter & Wolfe 1995). Gentechnisch veränderte Sorten bieten eine Perspektive, auf synthetische Spritzmittel gegen virusübertragende Insekten weitgehend zu verzichten. Neben Krankheiten und Schädlingen sind **Unkräuter** ein weiteres wichtiges Problem in der Landwirtschaft. Diese überwuchern die Kulturpflanzen und können zu spürbaren Ertragsverlusten führen. Der Einsatz von Herbiziden ist ein wichtiger Kostenfaktor und kann zu großen Problemen in der Umwelt führen. Die Entwicklung von bestimmten umweltverträglichen Breitbandherbiziden anstelle von Totalherbiziden kann in Kombination mit gentechnisch veränderten Pflanzen, die nicht von diesen Herbiziden in ihrer Entwicklung beeinflusst werden, neue Bekämpfungsstrategien eröffnen und ist Grundlage zahlreicher biotechnologischer Arbeiten. Dabei werden hauptsächlich zwei Strategien verfolgt: a) in der Pflanze wird ein Enzym gebildet, welches das Herbizid unwirksam machen kann, z.B. durch Anlagerung einer Acetylgruppe und b) das gebildete Enzym ähnelt dem Zielprotein des Herbizids, ist aber in seiner Struktur so verändert, dass es von dem Herbizid nicht mehr blockiert werden kann (Kishore & Shaw, 1988; Lydon & Duke, 1999). Die wichtigsten Herbizid-Wirkstoffe sind das Glyphosat und das Glufosinat, zwei unselektive Herbizide, gegen die transgene Herbizidtoleranz in zahlreichen Sorten weltweit in der Praxis eingesetzt wird. Die durch Mikroorganismen im Boden schnell abbaubaren Wirkstoffe können nun auch in diesen Kulturen eingesetzt werden, und zwar gezielt erst dann im Nachauflauf, wenn der Ertrag gefährdet wird und die Unkräuter sich in einem späteren Entwicklungsstadium befinden. In den USA werden diese herbizidtoleranten Pflanzen im Mais-, Soja-, Zuckerrüben- und Rapsanbau in großem Umfang angebaut. Durch die neue Strategie der Unkrautbekämpfung lässt sich nach dortigen Erfahrungen der Herbizideinsatz insgesamt im Vergleich zur herkömmlichen Produktionsweise vermindern.

Molekulare Biotechnologie

Unter dem Oberbegriff "Molekulare Biotechnologie" lassen sich die aktuellen Themenbereiche wie Genomforschung, funktionelle Genomik, Proteomik, Transkriptomik oder molekulare Diagnostik einordnen (Karlovsky, 2006). Methodisch und konzeptionell kommen die Ansätze der molekularen Biotechnologie aus der Zell- und Molekularbiologie, Strukturbiologie, Bioinformatik und Biophysik.

Arbeiten auf der Ebene der Proteine sind unverzichtbar für das Verständnis von Wirt-Pathogen-Interaktionen. So liefert zum Beispiel die **Proteomik** Ansatzpunkte zum direkten Eingriff in die Pathogenese von Schadorganismen (Xing *et al.*, 2002). Durch das Erstellen von so genannten *Transkriptionsprofilen* kann als begleitende Forschung zur molekularen Pflanzenzüchtung nach Einführung fremder Gene und ihrer Produkte mögliche Veränderungen im Genexpressionsmuster erfasst werden (Talbot, 2004). Unter der Anwendung von *DNA-Microarrays* kann analysiert werden, wie stark ein Gen unter bestimmten Bedingungen abgelesen (transkribiert) wird. Durch den Vergleich der Transkriptionsstärke zwischen transgenen und nicht-transgenen Pflanzenzellen können so Abweichungen ermittelt werden (Xing *et al.*, 2002).

Die **Sequenzierung** von Genen und das Studium ihrer Funktionen bilden die Grundlage zum Verständnis der molekularen Mechanismen z.B. des Pflanzengenoms oder von Wirt-Pathogen-Interaktionen. Informationen aus diesen Arbeiten fließen in zahlreiche biotechnologische Anwendungen ein wie z.B. in der bereits erwähnten molekularen Pflanzenzüchtung oder in die gentechnische Veränderung von Pflanzen (Oksman-Caldenty & Barz, 2001). Der Aufbau von Genen, deren Basenabfolge und die Regulation sind die Grundlage für eine mögliche Anwendung in der klassischen und modernen Biotechnologie. So ist zum Beispiel die Sequenzierung von Teilabschnitten genomischer oder mitochondrialer DNA die Grundlage zur **molekularen Diagnose** von Mikroorganismen. In Kombination mit einer der Basismethoden der Molekularbiologie, der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden spezies-spezifische Primer für eine Vielzahl von Mikroorganismen entwickelt. Durch die Weiterentwicklung der PCR-Methoden (Nested-PCR, Real-time PCR, DNA-Chips) ist es heute möglich, geringste Spuren an DNA und somit Mikroorganismen nachzuweisen (Alvarez 2004, Narayanasamy 2001). Zusätzlich zu der geringen Nachweisgrenze liegt der Vorteil der molekularen Diagnose in einer hohen Spezifität und in der Schnelligkeit des Nachweises. Durch Innovationen in der Elektronik sind tragbare Nachweisgeräte entstanden, die durch den Einsatz der Nanotechnologie weiter verkleinert werden können und phytomedizinische diagnostische Untersuchungen vor Ort ermöglichen werden.

Durch die Innovationen in der Biotechnologie werden nicht nur Teilbereiche des Genoms analysiert, sondern im zunehmenden Maße erfolgt eine vollständige **Genomanalyse** sowohl von Wirtspflanzen als auch der Pathogene. Als Beispiel für die Pflanzengenomanalyse ist hier das Verbundvorhaben zwischen Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und der Industrie zu nennen (Genomanalyse im biologischen System Pflanze (GABI)). Hierdurch können wichtige Informationen für die

Bereiche Pflanzenzüchtung und Resistenz gewonnen werden, aber auch für die zukünftige Entwicklung neuer Pflanzeigenschaften, das sog. Molecular Farming, also „Designer Pflanzen“ mit neuen Eigenschaften. Hierdurch sollen gentechnisch veränderte Pflanzen zur Herstellung von Impfstoffen, Medikamenten oder menschlichen Antikörpern gewonnen werden (www.bio-pro.de). Weiterhin ist sind Veränderungen im Stoffwechsel der Pflanzen angestrebt, um z.B. einen veränderten Ölgehalt/Fettsäuren bei Raps und Soja oder einen veränderten Aminosäuregehalt bei Mais zu erhalten (Functional Food).

Ausblick

Für Deutschland als High-Tech-Standort bieten gerade die Entwicklungen auf dem Gebiet der Biotechnologie Ansätze, den Herausforderungen eines sich seit mehr als zwanzig Jahren dramatisch verändernden Verhältnisses zwischen Wirtschaftsentwicklung, technischem Fortschritt und Landwirtschaft zu stellen, ein zukunfts-trächtiges Profil zu gewinnen und Konzepte zu entwickeln.

Die anhaltende Weiterentwicklung biotechnologischer Verfahren, das wachsende Wissen um den zellulären Aufbau der Organismen und um die Verwertbarkeit ihrer Stoffwechselprodukte hat nicht nur die Grundlagenforschung in den letzten Jahren revolutioniert. Gerade im Bereich der Pflanzenproduktion und –weiterverarbeitung hat die Nutzung biotechnologischer Verfahren Eingang gefunden und trägt heute einen wesentlichen Anteil bei der Fortentwicklung von Strategien zur Schaffung einer technologisch beispielhaften, modernen und nachhaltigen deutschen agroindustriellen Basis. Es wird in Zukunft ganz entscheidend darauf ankommen, die Nutzung des ländlichen Raumes für die Erzeugung neuer Produkte oder optimierter Produkte für neue Zwecke langfristig zu überdenken: der hohe Ausbildungsstand der deutschen Landwirte kann hier ein wichtiger Standortfaktor werden für die Anwendung und Nutzung innovativer biotechnologischer Ideen.

Den deutschen Hochschulen kommt eine besondere Bedeutung zu: Sie geben nicht nur Impulse für zukünftige Entwicklungen und stellen hervorragend ausgebildetes Personal für die jungen Biotech-Unternehmen zur Verfügung, sondern in zunehmendem Maße gewährleisten sie durch effektiven Technologie-Transfer erfolgreiche Start-ups und Ausgründungen von Unternehmen auf der Basis ihrer Erkenntnisse. Ihre Anstrengungen werden unterstützt von gemeinnützigen Angeboten zur Netzwerkbildung, sei es auf der Ebene der Informationsbeschaffung und Weiterleitung oder zur Initiierung von sinnvollen Arbeitsteilungen innerhalb von Kompetenznetzwerken. Wegen der zahlreichen Verknüpfungen der Biotechnologie mit den Grundanliegen der Phytomedizin und ihrer technologischen Basis, kann die Biotechnologie zu Recht als Innovationsmotor für die Phytomedizin bezeichnet werden.

Literatur

- Alten, v. H., Blal, B., Dodd, J. C., Feldmann, F., Vosatka, M., 2002: Quality Control of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculum in Europe. In: Gianinazzi, H., Schuepp, H., Barea, J.M., Haselwandter, K.: "Mycorrhiza Technology in Agriculture: from Genes to Bioproducts", Birkhäuser, Switzerland, 281-296
- Alvarez A.M., 2004: Integrated Approaches for Detection of Plant Pathogenic Bacteria and Diagnosis. *Annual Review of Phytopathology* 42, 339–66.
- Anke, T., Thines, E., 2006: Trends und Perspektiven moderner Fungizidforschung. *Schriftenreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V.* 8, 92-103, ISSN 0939-8929. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Blatter, R., Wolfe M.S., 1995: Die Verwendung molekularbiologischer Technologien zur Erzeugung von Wirtsresistenz gegen Schadenserreger: Mögliche Folgen bezüglich einer Anpassung der Krankheiten und Schädlinge. Eidgenössische Technische Hochschule (ETH), Institut für Pflanzenwissenschaften.
- BMBF, 2001: Rahmenprogramm Biotechnologie – Chancen nutzen und gestalten – BMBF Publik 2001 <http://www.biotechnologie.de>
- BMBF, 2006: Biotechnologie-Firmenumfrage 2006. <http://www.biotechnologie.de>, 20.07.2006
- Chester, K. S., 1933: The problem of acquired physiological immunity in plants. *Quart Rev Biol* 8, 275-324.
- Conrath, U., Pieterse, C.M.J., Mauch-Mani, B., 2002: Priming in plant–pathogen interactions. *Trends in Plant Science* 7, 210- 216.
- Cory J. S., Green B. M., Paul R. K., 2005. Genotypic and phenotypic diversity of a baculovirus population within an individual insect host. *Journal of Invertebrate Pathology* 89(2), 101-111.
- Diekmann, M., Hanke, V., Huancaruna-Perales, E. Traxler, G., 1999: Advances in protoplast techniques for Malus and Prunus. *Acta Horticulture* 484, 571 – 577.
- Durrant W. E., Dong, X., 2004: Systemic Acquired Resistance. *Annual Review of Phytopathology* 42, 185–209.
- Ehlers, R.-U., 2006: Einsatz der Biotechnologie im biologischen Pflanzenschutz. *Schriftenreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V.* 8, 17-31, ISSN 0939-8929. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Feldmann, F., 1998: Symbiontenttechnologie in der Praxis: Arbuskuläre Mykorrhiza im Gartenbau. Thalacker-Medien, Braunschweig, ISBN 3-87815-109-8
- Feldmann, F., Grotkass, C., 2002: Directed inoculum production – shall we be able to design AMF populations to achieve predictable symbiotic effectiveness? In: Gianinazzi, H., Schuepp, H., Barea, J.M., Haselwandter, K.: "Mycorrhiza Technology in Agriculture: from Genes to Bioproducts", Birkhäuser, Switzerland, 261-279
- Feldmann, F., Lieberei, R., 1991: Mycorrhiza induced changes in the defence metabolism

- correlated with enhanced leaf resistance against pathogens. *Plant Physiol* 5, 874.
- Karlovsky, P., 2006: Moderne Diagnosemethoden und Nachweisverfahren. Schriftenreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V. 8, 104-117, ISSN 0939-8929. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Keen, N. T., 2000: A Century of Plant Pathology: A Retrospective View on Understanding Host-Parasite Interactions. *Annual Review of Phytopathology* 38, 31-48.
- Kishore, G.M., Shah, D.M., 1988: Amino Acid Biosynthesis Inhibitors as Herbicides. *Annual Review of Biochemistry* 57, 627 – 663.
- Lydon, J., Duke, S.O., 1999: Inhibitors of glutamine biosynthesis. In: Singh, B.K (ed.) *Plant Amino Acids*. Marcel Dekker, Inc., New York: 445-464.
- Märländer, B., Tiedemann, A. v., 2006: Herbizidtolerante Kulturpflanzen – Anwendungspotenziale und Perspektiven. Schriftenreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V. 8, 32-45, ISSN 0939-8929. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Meyhöfer R., Siekmann G., Klug T., Hommes M., 2006: Strategien zur Befallsreduzierung der Rosskastanien-Miniermotte im öffentlichen Grün: Informationen anlässlich des Statusseminars in der BBA Braunschweig, 9./10.2.2006. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, in press.
- Micheltore, R.A., 1995: Molecular approaches to manipulation of disease resistance genes. *Annual Review of Phytopathology* 33, 393-427.
- Moeser, J., 2006: Insektenresistente transgene Nutzpflanzen in Westeuropa: Status und Perspektiven. Schriftenreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V. 8, 69-79, ISSN 0939-8929. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Narayanasamy, P., 2001: *Plant Pathogen Detection and disease Diagnosis*, Second Edition. Series: *Books in Soils, Plants, and the Environment*, Volume 81, Taylor and Francis CRC Press.
- Oksman-Caldenty, K.-M., Barz, W.H., 2001: *Plant Biotechnology and Transgenic Plants*. *Books in Soils, Plants, and the Environment*, Volume 92, Taylor and Francis CRC Press.
- Pieterse, C.M.J., van Loon, L. C., 1999: Salicylic acid-independent plant defence pathways. *Trends in Plant Science Reviews* 4, 1360 – 1385.
- Richter, E., Albert, R., Jaekel, B., Leopold, D. 2003: *Encarsia formosa* – Eine Erzwespe für den biologischen Pflanzenschutz unter dem Einfluss von Insektiziden und wechselnden Wirten. *Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes* 55(8), 161-172.
- Ryschka, U., Schumann, G., Klocke, E., Scholze, P., Krämer, R., 1999: Somatic cell hybridization for transfer of disease resistance in Brassica. In: Altman, A., Meira, Z., Shamay, I.(eds.). *Plant biotechnology and in vitro biology in the 21st Century*, Springer Verlag, 1999, pp. 205 - 208

- Saedler H., Schuchert, W., 2001: Biotechnologie in der Pflanzenproduktion. In: Heiden, S., Erb, R., Burschel, C. (ed.), Biotechnologie als interdisziplinäre Herausforderung. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg,
- Schmutterer, H., 1995: The Neem Tree and Other Meliaceous Plants. Sources of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes. VCH Publishers Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, 696 pp.
- Schuler T. H., Poppy, G. M., Kerry, B., Denholm, I., 1998: Insect-resistant transgenic plants. *Tibtech* 16, 168 – 175.
- Schulze-Lefert P., Ralph Panstruga R., 2003: Establishment of Biotrophy by Parasitic Fungi and Reprogramming of Host Cells. *Annual Review of Phytopathology* 41, 641–67.
- Stahl, D. J., Schmidt, K., Nehls, R., 2006: Einsatz gentechnischer Methoden zur Verbesserung der Kulturpflanzenresistenz gegenüber parasitären Pilzen. *Schriftenreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V.* 8, 80-91, ISSN 0939-8929. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Stetter J., Lieb F., 2000: Innovation im Pflanzenschutz: Trends in der Forschung. *Angewandte Chemie* 112, 1792 – 1812.
- Stiekema, W.J., Visser, B., Florack, D.E.A., 1993: Is durable resistance against viruses and bacteria attainable via biotechnology? In: Jacobs, T., Parlevliet J.E. (eds.) *Durability of Disease Resistance*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, pp.71-82.
- Talbot, N., 2004: *Plant-Pathogen Interactions: Annual Plant Reviews, Volume Eleven*. Taylor and Francis CRC Press.
- Traxler, G., 2004: „Biotechnology in a complete system of plant genetic improvement: perspectives on developed and developing countries“ in: *Renabio Conference, Salvador, 20 de agosto, 2004*, 1-12.
- Trigiano, R.N., Gray, D.J. 2004: *Plant Development and Biotechnology*. Taylor and Francis CRC Press.
- Varrelmann, M., 2006: Virusresistente transgene Pflanzen – Mechanismus und Nutzungsmöglichkeiten. *Schriftenreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V.* 8, 46-68, ISSN 0939-8929. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Wehling, P., 2000: “Quality and breeding – Cultivars, genetic engineering“. In: B. Shewfelt, R. L. Bruckner (eds.) *Fruit and vegetable quality: An integrated view*. Technomic Publishing Co, 2000, 21-42.
- Xing, T., Ouellet, T., Miki, B.L., 2002: Towards genomic and proteomics studies of protein phosphorylation in plant-pathogen interactions. *Trends in Plant Science* 7, 224 – 230.
- Zhu, B., Chen, T.H.H., Li, P.H., 1996: Analysis of late-blight disease resistance and freezing tolerance in transgenic potato plants expressing sense and antisense genes for an osmotin-like protein. *Planta* 198, 70 - 77.