

# Neue Züchtungsmethoden und deren Potential für die Pflanzenzüchtung

Hermann Buerstmayr

University of Natural Resources and Life Sciences Vienna  
– BOKU  
Department of Crop Sciences &  
Department of Agrobiotechnology

19., Gregor-Mendel-  
Straße



# Neue Züchtungsmethoden

Unter dem Begriff neue Züchtungsmethoden werden mehrere Methoden zusammengefasst, welche genetische Modifikationen oder pflanzenzüchterische Maßnahmen betreffen, die relativ neu entstanden sind und wo die wissenschaftliche Entwicklung andauert.

# Mutationen führen zu Biodiversität

## ... auch für die Züchtung

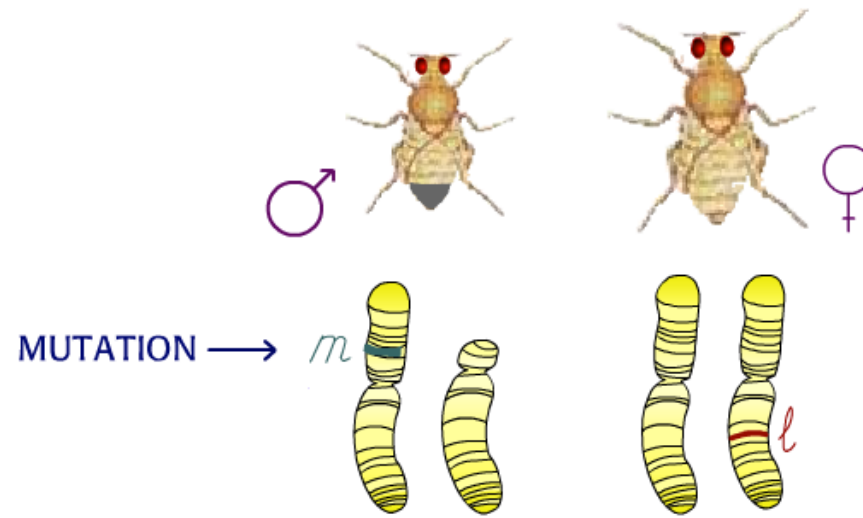
- Als Mutationen bezeichnet man Änderungen in der DNA Sequenz in einer lebenden Zelle, die durch ‚Fehler‘ während der DNA Replikation bzw. der Zellteilung passieren.
- Mutationen passieren ‚natürlich‘, können aber auch ausgelöst werden (z. Bsp. Strahlung, Chemikalien, ...)

# Mutationen können ausgelöst werden (1926)



Courtesy of David Muller.  
Noncommercial, educational use only.

Hermann Muller



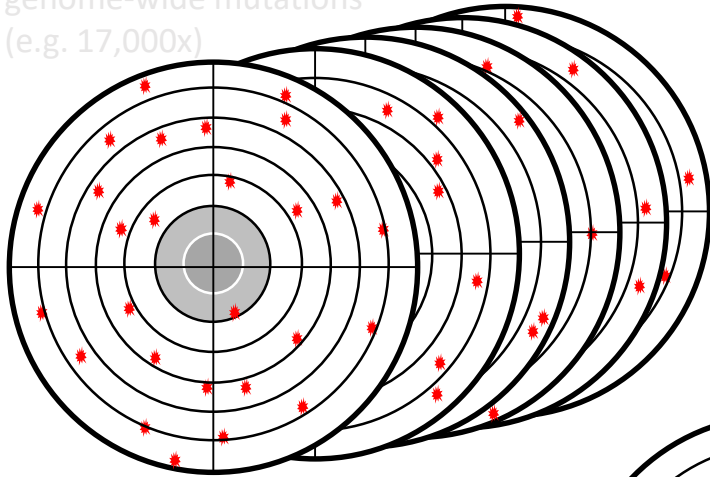
Cold Spring Harbor Laboratory

1946: Nobelpreis für Physiologie oder Medizin

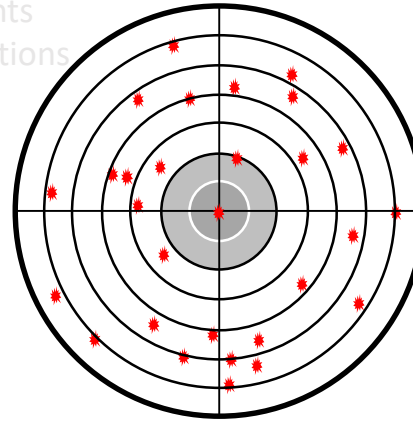


# Mutationen treten zufällig auf

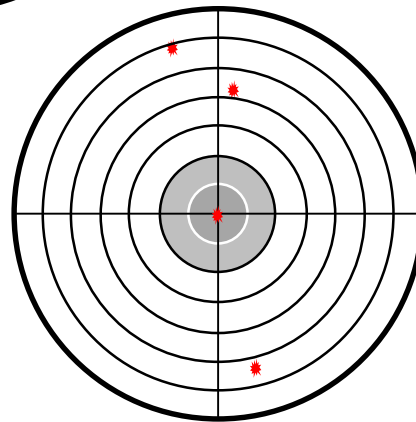
Population of plants with genome-wide mutations (e.g. 17,000x)



Select plants with mutations on target



Breeding for removal of undesired mutations and homozygous state



# CRISPR/Cas9

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats – CRISPR associated gene 9

## Grundlagenforschung

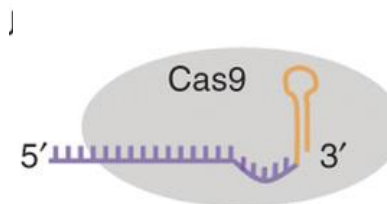
**1987 - heute**

Adaptives “Immunsystem” in Bakterien und Archaea (Anwesenheit in ~ 40 und 90 % der Genome)

## Anwendung als genetisches Werkzeug

seit **2012** (Jinek et al., Science 2012, Cong et al., Science 2013)

Erlaubt kleine Veränderungen der DNA an einer **gezielt ausgewählten Stelle** im DNA Molekül einer Zelle.



Wu et al., Nature Biotechnology 2014

**2 Komponenten:**

- Cas 9 Protein
- guide RNA

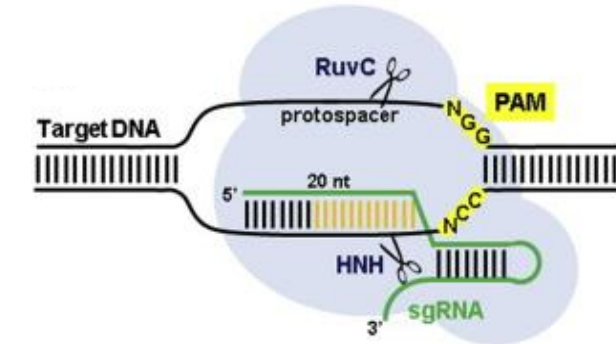
**gRNA: guide, scaffold**

# CRISPR/Cas9 genannt die „Genschere“

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats – CRISPR associated gene 9

## Prinzip:

Erzeugung von kleinen  
Änderungen  
(Mutationen) im  
Genom an  
definierter Position



Induzierter DNA  
Doppelstrangbruch  
durch Cas9-gRNA

Zelleigene DNA  
Reparaturmechanismen

z.B NHEJ  
Homologie  
unabhängige  
Reparatur

HDR  
Homologie  
abhängige  
Reparatur

Erzeugung von  
Mutationen



„fehlerbehaftet“  
kleine Deletionen/Insertionen

# Varianten: Welche Änderungen kann man erzeugen

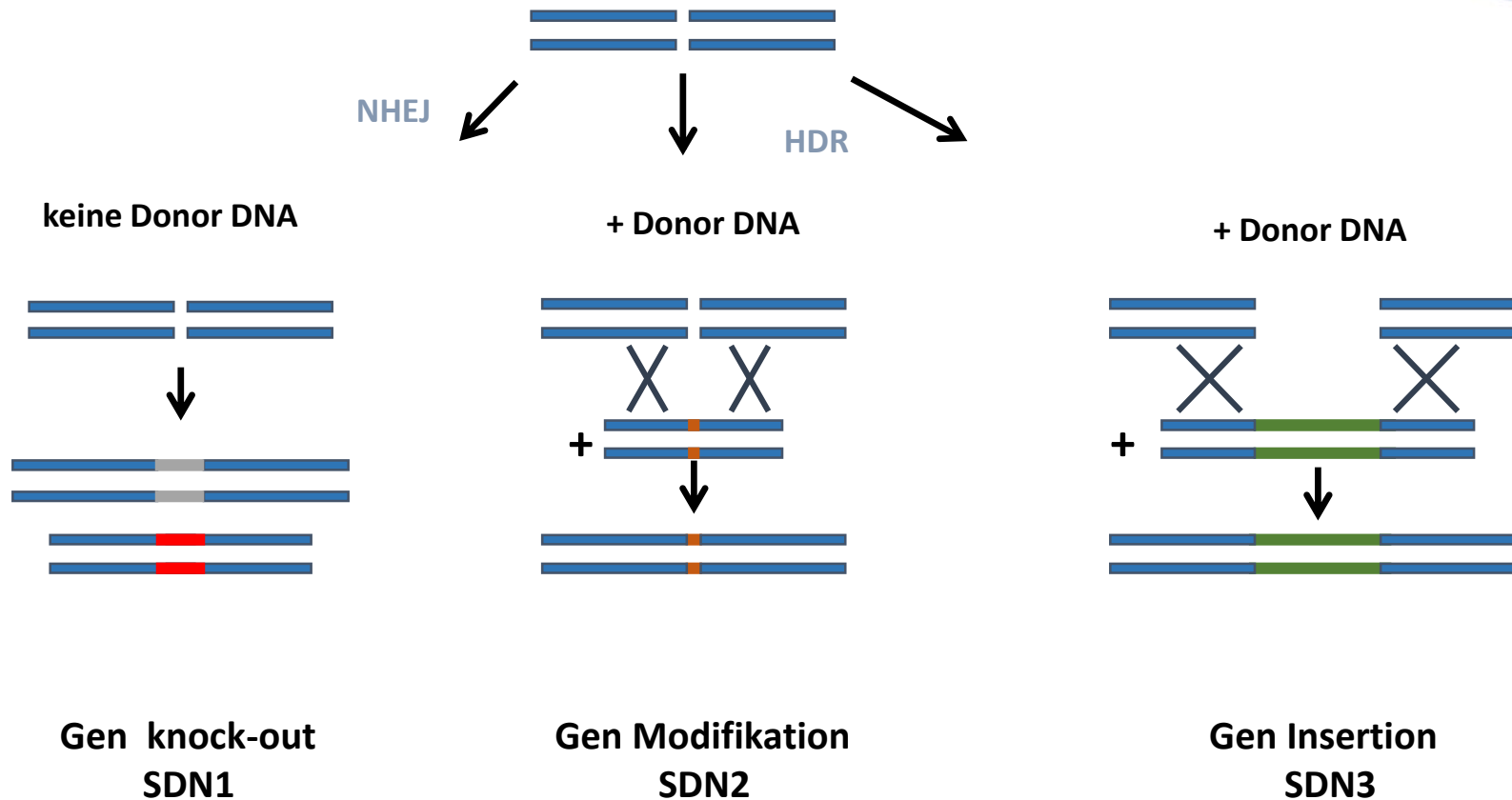
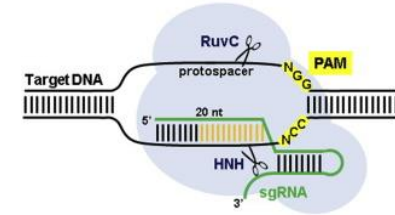


Abbildung aus  
Bortesi und Fischer, Biotechnology Advances 2015



## Das DNA Molekül ist sehr groß, z.B. Weizen: der Text füllt 32000 Bücher mit je 500 Seiten

AAACGGACATTACCAAACAGTAAAAAAAAAAAAAGATACAGAGGAAAAAATGAAGCGCTCCAAAAGAGAAGA  
ACCAAATAATATATGGCCAAGACAAGGGCTATAAAGAACA AAAAAGATGCAGAAACCATCAAACGAAAAAAGAC  
ATAGGGGAAAAGTAAAACAAATCAAATAAAAAGCTAAAAATATATATAATGCCAAACA AAAAGAACA AAAACAATA  
GTAGTTTGAGAACACTTAATACGCAAATAGACAAAAGATAGAAAACA AAAATAAAAAAACGAACACGATGGTAC  
AAACACAGCTACAAAATCGATAAACATAAAAAAATTA AAAATGTATAGATAACGATGATACTAGAAGATTCAGAAT  
ATAATGTATATCAAAAACCTCAGCAATACATGAAAAAACTAAACGTTAGAAAATATAACGAGAGGTAAATGAATC  
AAAGCAAACAAGATTCTAGACAGGACAAGATCAATGGAAATCAAAAACAAGAAGTGCCATACACCAACTTAAAA  
AAAAAAGAAGCAAGTAAATAATCGGAAACACATAGAAATATGATCAAAAAACTAAAAAAAACGTTCAA AATAC  
AACACAGCAGACAAACA AAGGAAAGAACCAAATGATAATAGATGAGGAGAAATCACATAAATAACTAAAGAAA  
CAACAAACA AATTTATAATTGAAGAATAAGGGTTTATTAAACAAGTAAGATAAAGAAAAAATAAGTTTAGCAAAC  
AAAAACTAAAATCCGAAATTAGCATCGAAAGCATGAGACAAAAAAACA AATACTAATAACGACGCAACCATAA  
TACAATAGGAAAAAAAACGAGAAACAAGCTCTCAA AACTCAAAAACA AACGAAAGACTAATAGGATGACATAT  
GTGAAAGGGAAGCACAAAGCACATAGATAAAATATACCAATTAACAACCAAAAAGCCACACTAAAAAATATAAA  
GAATAATAAACTCTGACAACAAAAAAGACAAAAA AAAAAAAAAAATAGATATCTAAAAAATCACACCATAAAAATGCA  
GGATAAAAGAAAAAAGAATAGCAAACCCAGAACCACCAAAGAAAAACTAAACCAAAGAAAAAATGAACAAA  
CTTAGAAAGACAACGTACATACAACAAGAGGTTATCACTGTGATAATTACACGAGAAAAACA AAAATACGCGAGA  
GAACAAAAAAGAAAGAAGCGCAAAGAAACGAGAAATTTAGACCCGTAGAAAGTAACGGCCAGCAA AAGAAA  
GGGACCGAACAAATAAACTAAAAAGATTA AAAACACAACCCGAAGAAAATAAATCGAAGGACGACAATAAAAA  
AGCAATACA ACTATTATATTA AAAAGTTAGAACACGCATAAACCAAAAAAACA GGGACAGCACCAATAGAAA  
CTGATCTAAGATGAACAATTCAAACACA AAAAAAAGCACCTAAAAACCGAAAGAAACCATAAGCAGA ACTTCTT  
ATAAGGACAAACGGACAAAAA AATAAAA ACTCAGAAAAGCAGGAAAAAACA ACAA AAAAATCGAAAAGCAC  
AAAAAGAAAGAAAAAAGCTATAATAAAAAGTACAAAGGATGGGGCAAATAAACGTACATAAACTCGAGAAAAAATT

# DNA Molekül ist sehr groß

# > zufällige Mutationen

EMS: G/C > A/T

AAACGGACATTACCAAACAGTAAAAAAAAAAAAAGATACAGAGGAAAAAAAAATGAAGCGCTCCAAAAGAGAAGA  
ACCAAATAATATATGGCCAAGACAAGGGCTATAAAGAACA AAAAGATGCAGAAACCATCAAACGAAAAAAGAC  
ATAGGGGAAAAGTAAAACAAATCAAATAAAAAAGCTAAAAATATATATAATGCCAAACAAAAGAACA AAAACAATA  
GTAGTTTGAGAACACTTAATACGCAAATAGACAAAAGATAGAAAACA AAAATAAAAAAAAAACGAACACGATGGTAC  
AACACAGCTACAAAATCGATAAACATAAAAAAAAAATTAAAATGTATAGATAACGATGATACTAGAAGATTCAGAAT  
ATAATGTATATCAAAAACCTCAGCAATACATGAAAAAACTAAACGTTAGAAAATATAACGAGAGGTAAATGAATC  
AAAGCAAACAAGATTCTAGACAGGACAAGATCAATGGAAATCAAAAACAAGAAGTGCCATACACCAACTTAAAA  
AAAAAAGAAGCAAGTAAATAATCGGAAACACATAGAAATATGATCAAAAACCTAAAAAAAACGTTCAAATAC  
AACACAGCAGACAAACAAGGAAAGAACCAAATGATAATAGATGAGGAGAAATCACATAAATAACTAAAGAAA  
CAACAAACA AATTTATAATTGAAGAATAAGGGTTTATTAAACAAGTAAGATAAAGAAAAAATAAGTTTAGCAAAC  
AAAAACTAAAATCCGAAATTAGCATCGAAAGCATGAGACAAAAAAACA AATACTAATAACGACGCAACCATAA  
TACAATAGGAAAAAAAAACGAGAAACAAGCTCTCAA AACTCAAAAACA AACGAAAGACTAATAGGATGACATAT  
GTGAAAGGGAAACACAAGCACATAGATAAAATATACCAATTAACAACCAAAGCCACACTAAAAAAATATAAA  
GAATAATAA ACTCTGACAACAAAAAAGACAAAAA AAAAAAAAAAATAGATATCTAAAAAATCACACCATAAAAATGCA  
GGATAAAAGAAAAAAGAATAGCAAACCCAGAACCACCAAAGAAAAACTAAACCAAAGAAAAAATGAACAAA  
CTTAGAAAGACAACGTACATACAACAAGAGGTTATCACTGTGATAATTACACGAGAAAAACA AAAATACGCGAGA  
GAACAAAAAAGAAAGAAGCGCAAAGAAACGAGAAATTTAGACCCGTAGAAAGTAACGGCCAGCAAAGAAA  
GGACCGAACAATAAAACTAAAAAGATTAAAACACAACCCGAAGAAAATAAATCGAAGGACGACAATAAAAAA  
AGCAATACA ACTATTATATTA AAGTTAGAACACGCATAAACCAAAAAACAGGGACAGCACCACAAATAGAAA  
CTGATCTAAGATGAACAATTCAAACACAAAAA AAGCACCTAAAAACCGAAAGAAACCATAAGCAGAACTTCTT  
ATAAGGACAAACGGACAAAAA AATAAAACTCAGAAAAGCAGGAAAAAACAACA AAAAATCGAAAAGCAC  
AAAAAGAAAGAAAAAAGCTATAATAA AAGTACAAAGGATGGGCAAATAAACGTACATAAACTCGAGAAAAAATT

Guide RNA findet die "Ziel-Adresse" auf der DNA wie ein Briefträger die Postadresse **AATCAAAGCAAACAAGATT**

AAACGGACATTACCAAACAGTAAAAAAAAAAAAAGATACAGAGGAAAAAATGAAGCGCTCCAAAAGAGAAGA  
ACCAAATAATATATGGCCAAGACAAGGGCTATAAAGAACA AAAAGATGCAGAAACCATCAAACGAAAAAAGAC  
ATAGGGGAAAAGTAAAACAAATCAAATAAAAAGCTAAAAATATATATAATGCCAAACA AAAAGAACA AAAACAATA  
GTAGTTTGAGAACACTTAATACGCAAATAGACAAAAGATAGAAAACA AAAATAAAAAAACGAACACGATGGTAC  
AACACAGCTACAAAATCGATAAACATAAAAAAATTA AAAATGTATAGATAACGATGATACTAGAAGATTCAGAAT  
ATAATGTATATCAAAAACCTCAGCAATACATGAAAAAACTAAACGTTAGAAAATATAACGAGAGGTAAATG**AATC**  
**AAAGCAAACAAGATT**CTAGACAGGACAAGATCAATGGAAATCAAACAAGAAGTGCCATACACCAACTTAAAA  
AAAAAAGAAGCAAGTAAATAATCGGAAACACATAGAAATATGATCAAAAAACTAAAAAAAACGTTCAA AATAC  
AACACAGCAGACAAACA AAGGAAAGAACCAAATGATAATAGATGAGGAGAAATCACATAAATAACTAAAGAAA  
CAACAAACA AATTTATAATTGAAGAATAAGGGTTTATTAAACAAGTAAGATAAAGAAAAAATAAGTTTAGCAAAC  
AAAAACTAAAATCCGAAATTAGCATCGAAAGCATGAGACAAAAAACA AATACTAATAACGACGCAACCATAA  
TACAATAGGAAAAAAAAAACGAGAAACAAGCTCTCAA AACTCAA AACA AACGAAAGACTAATAGGATGACATAT  
GTGAAAGGGAAGCACAAAGCACATAGATAAAATATACCAATTAACAACCAAAAAGCCACACTAAAAAATATAAA  
GAATAATAA ACTCTGACAACAAAAAAGACAAAAA AAAAAAAAAAATAGATATCTAAAAAATCACACCATAAAAATGCA  
GGATAAAAGAAAAAAGAATAGCAAACCCAGAACCACCAAAGAAAAACTAAACCAAAGAAAAAATGAACAAA  
CTTAGAAAGACAACGTACATACAACAAGAGGTTATCACTGTGATAATTACACGAGAAAAACA AAAATACGCGAGA  
GAACAAAAAAGAAAGAAGCGCAAAGAAACGAGAAATTTAGACCCGTAGAAAGTAACGGCCAGCAAAGAAA  
GGGACCGAACAAATAAACTAAAAAGATTA AAACACAACCCGAAGAAAATAAATCGAAGGACGACAATAAAAA  
AGCAATACA ACTATTATATTA AAAGTTAGAACACGCATAAACCAAAAAAACA GGGACAGCACCAATAGAAA  
CTGATCTAAGATGAACAATTCAAACACAAAAA AAGCACCTAAAAACCGAAAGAAACCATAAGCAGAACTTCTT  
ATAAGGACAAACGGACAAAAA AATAAAACTCAGAAAAGCAGGAAAAAACAACA AAAAATCGAAAAGCAC  
AAAAAGAAAGAAAAAAGCTATAATAAAAGTACAAAGGATGGGGCAAATAAACGTACATAAACTCGAGAAAAAATT

# Chemie-Nobelpreis 2020 Entdeckung der Genschere CRISPR ausgezeichnet

Der Chemie-Nobelpreis 2020 geht an **Emmanuelle Charpentier** (F) und **Jennifer Doudna** (USA). Sie sind die Entdeckerinnen der Genschere Crispr/Cas9 und revolutionierten damit das Bearbeiten von Genen.

“There is enormous power in this genetic tool, which affects us all. It has not only revolutionised basic science, but also resulted in innovative crops and will lead to ground-breaking new medical treatments,” says Claes Gustafsson, chair of the Nobel Committee for Chemistry.

Emmanuelle Charpentier forschte 2002-2009 in Wien - Max F. Perutz Laboratories der Uni Wien und der Medizinischen Universität Wien



Science (2012) doi: 10.1126/science.1225829

<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2020/press-release/>

<https://www.br.de/wissen/nobelpreis-2020-chemie-chemienobelpreis-crispr-genome-editing-102.html>

# Gen-Editierung (CRISPR/Cas9)

## Bedingungen für eine sinnvolle Anwendung in der Züchtung/Forschung

- Welches Gen will ich verändern?
- Welche Änderung will ich erreichen?
- Transformation und Regeneration müssen funktionieren

## Potentieller Nutzen in der Züchtung/Forschung

- Ein sehr interessantes und effizientes **Werkzeug in der Forschung**
  - ▶ Aufklärung von Genfunktionen
- Neue Allele für neue oder veränderte Eigenschaften
  - ▶ Anwendernutzen

# Das Buchstabieren von Genomen gelingt immer besser ...

ACCGTTAATTCCATGCGCTTTAACCGTGTGTATATATATATATGCTTAGCCGTAATGCACGTTAATTCCATGCGCTTTAACCGTGTGTATATATAT  
ATATGCTTAGCCGTAATGCACGTTAATTCCATGCGCTTTAACCGTGTGTATATATATATATGCTTAGCCGTAATGCACGTTAATTCCATGCGCTT  
TAACCGTGTGTATATATATATATATGCTTAGCCGTAATGCACGTTAATTCCATGCGCTTTAACCGTGTGTATATATATATATATGCTTAGCCGTAATGCA  
CGTTAATTCCATGCGCTTTAACCGTGTGTATATATATATATGCTTAGCCGTAATGCACGTTAATTCCATGCGCTTTAACCGTGTGTATATATATATA  
TGCTTAGCCGTAATGCAATTCCATGCGCTTTAACCGTGTGTATATATATATATGCATTCCATGCGCTTTAACCGTGTGTATATATATATTCCATGC  
GCTTTAACCGTGTGTATATATATATGCTTAGCCGTAATGCACGTTAATTCCAGCCGTTATGCTTAGCCGTAATGCACGTTAATTCCAGCCGTTATAT  
AGTACACATTGCCATGG.....

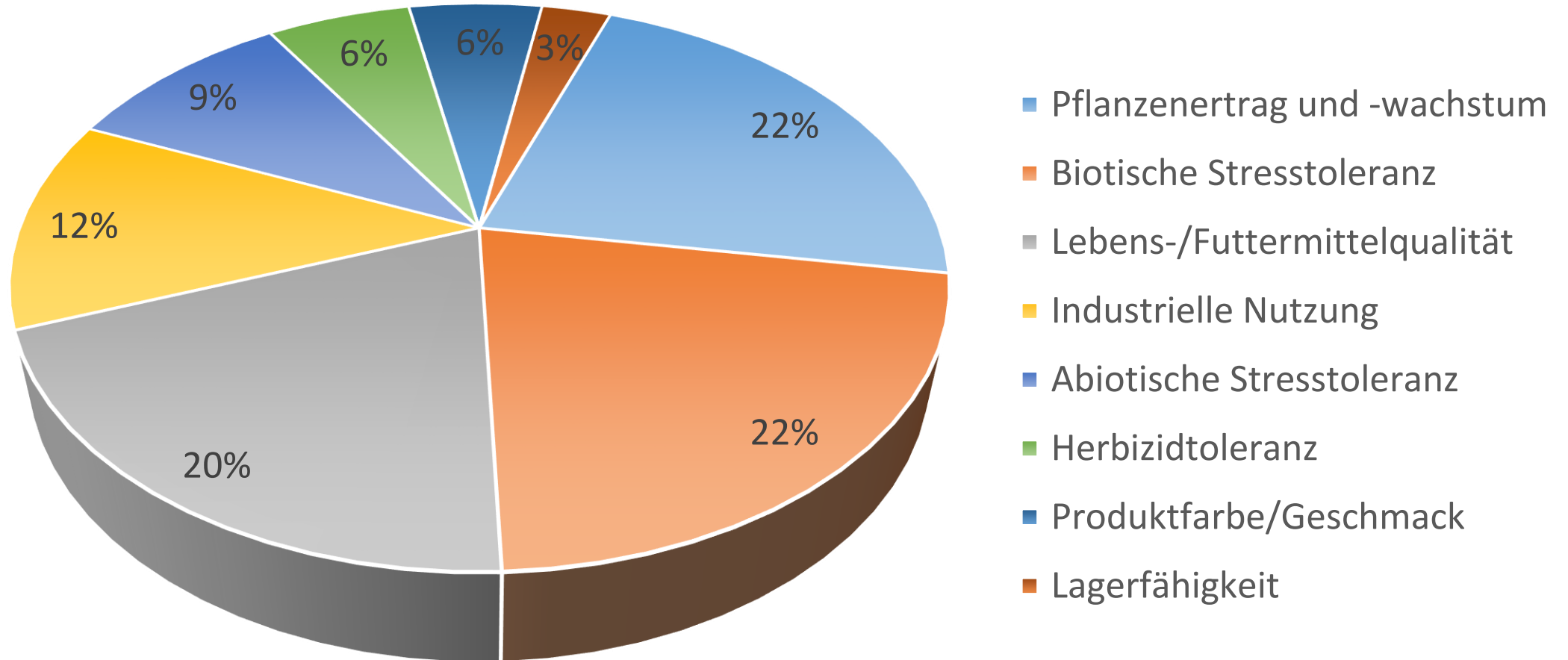
.... aber verstehen wir diese Sprache?



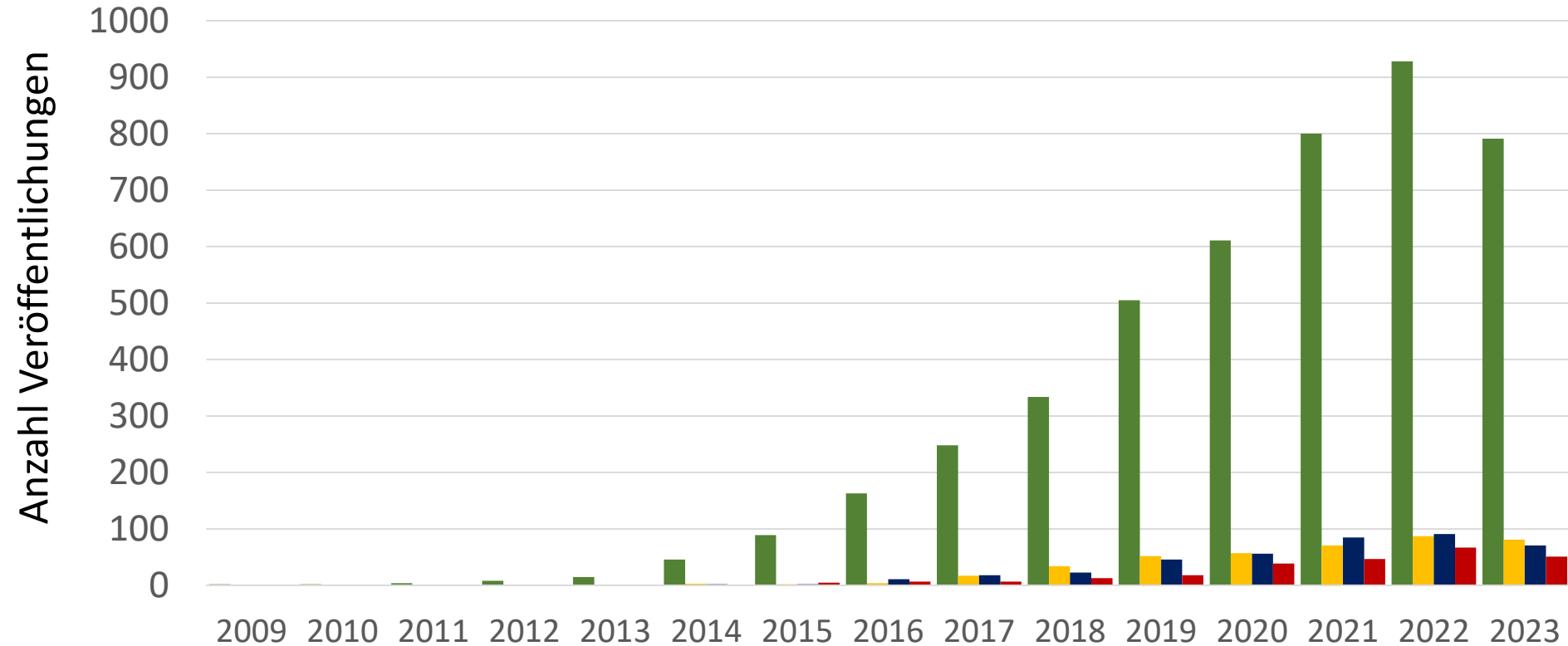
**Mutagenese ist ein sehr nützliches Werkzeug zur Aufklärung von Genfunktionen!**



## 963 Veröffentlichungen in der Datenbank EU-SAGE



# Anzahl wissenschaftlicher Veröffentlichungen: **Gen-Editierung und Kultur-Pflanzen**



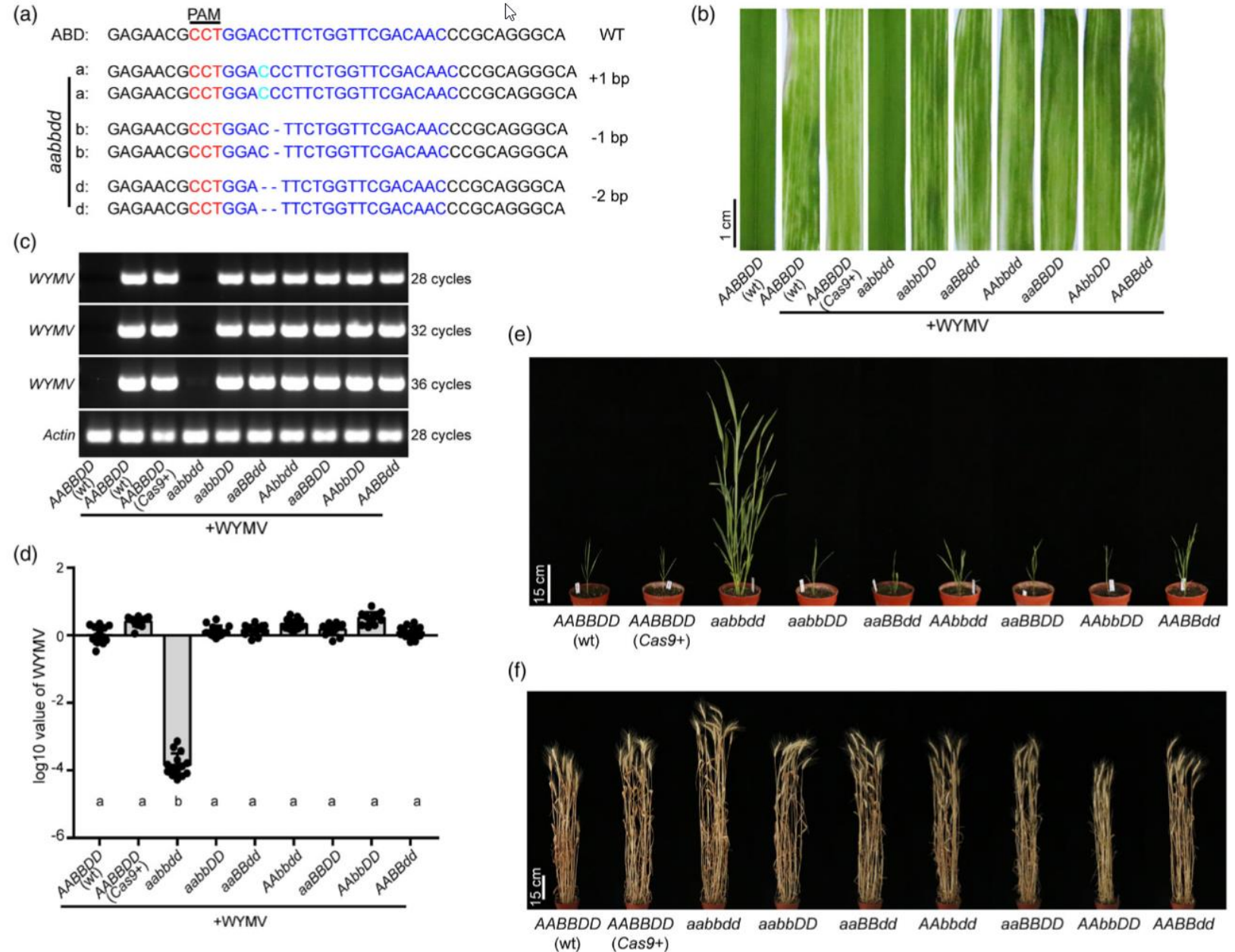
Crispr\* & ■ Plant ■ Wheat ■ Maize ■ Soybean

# Beispiel 1: Virusresistenz

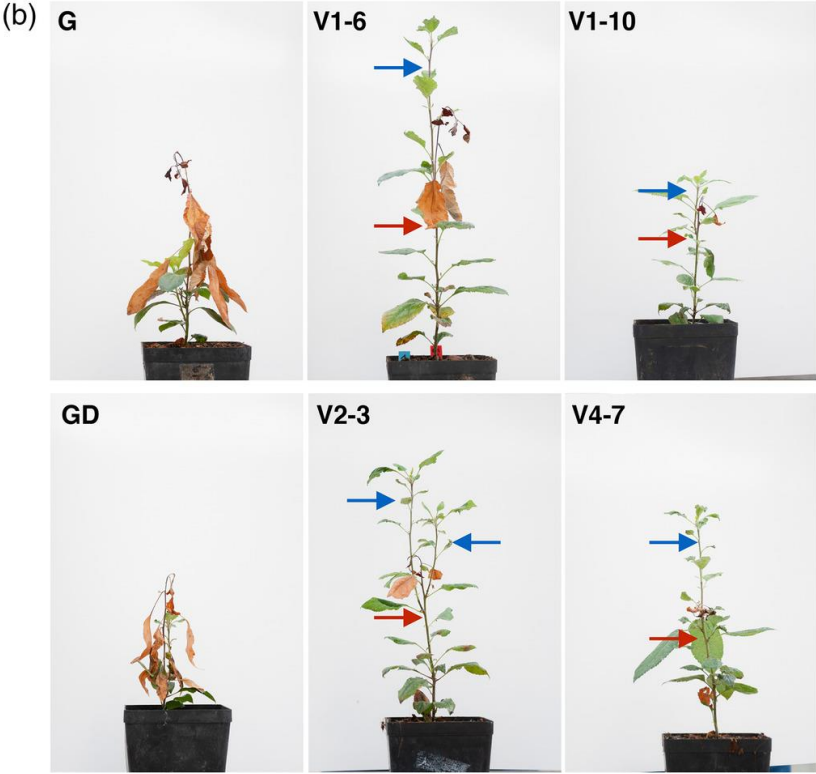
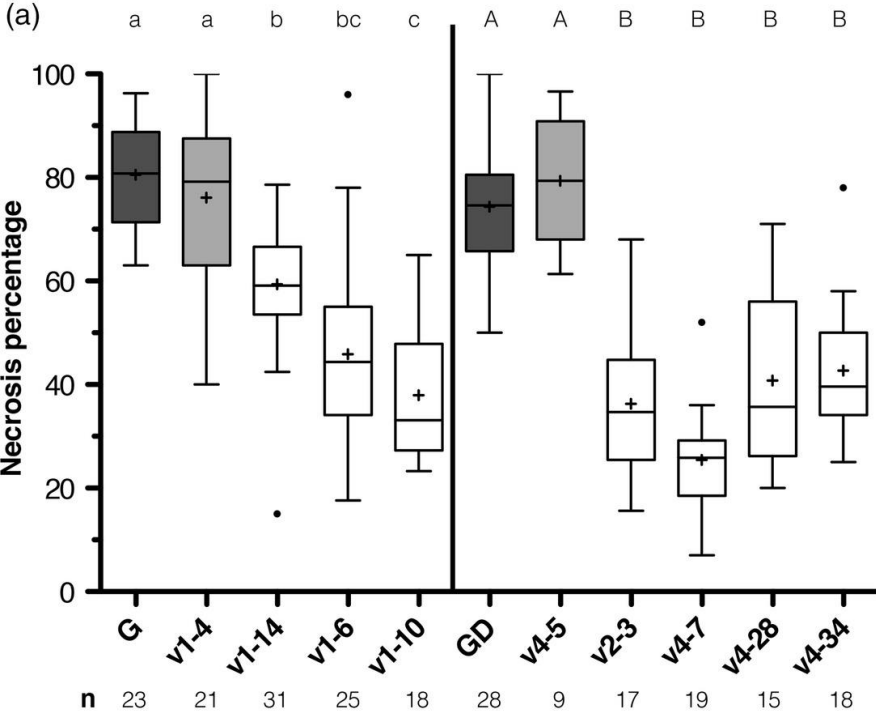
## CRISPR/Cas9-guided knockout of eIF4E improves Wheat yellow mosaic virus resistance without yield penalty

Kan et al., 2023

DOI: [10.1111/pbi.14002](https://doi.org/10.1111/pbi.14002)



# Reduced fire blight susceptibility in apple cultivars using a high-efficiency CRISPR/Cas9-FLP/FRT-based gene editing system





## **WITCHEWEED - *Striga hermonthica***



**Dr. Steven Runo**

Kenyatta University in Nairobi



Besucht die BOKU im Februar 2025

Some wild varieties of sorghum are resistant to *Striga* because they carry mutations that alter the crop's production of compounds called strigolactones, which promote germination of *Striga* seeds. Runo and his collaborators have used CRISPR–Cas9 to mimic these mutations.

<https://www.nature.com/articles/d41586-024-00176-8>

## **PILTON - Pilztoleranz von Weizen mittels neuer Züchtungsmethoden**

Braunrost, Gelbrost, Septoria und Fusarium

**Bundesverband Deutscher Pflanzzüchter e. V.**

### **PILTON**

In diesem Forschungsvorhaben sollen Weizenpflanzen mit verbesserter, multipler und dauerhafter Pilztoleranz durch neue Züchtungsmethoden entwickelt werden. Das spiegelt sich im Projektnamen wider: **Pilztoleranz** von Weizen mittels **neuer** Züchtungsmethoden (PILTON).

Kooperationsprojekt von 55 privaten Züchterhäusern.

<https://pilton.bdp-online.de/>





## ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions

|                  | Flowering<br>Stress  | Grain-filling<br>Stress | Optimal |
|------------------|----------------------|-------------------------|---------|
|                  | ton ha <sup>-1</sup> |                         |         |
| <i>ARGOS8-v1</i> | 8.67 <u>a</u>        | 7.47                    | 13.13   |
| <i>ARGOS8-v2</i> | 8.67 <u>a</u>        | 7.54                    | 13.19   |
| WT               | 8.34                 | 7.72                    | 13.01   |

Table 1. Grain yield of *ARGOS8* genome-edited variants and wild type under flowering stress, grain-filling stress and optimal (well-watered) conditions

Data are from two individual genome-edited variants (*ARGOS8-v1*, *ARGOS8-v2*) and wild type tested as one hybrid at eight locations in 2015.

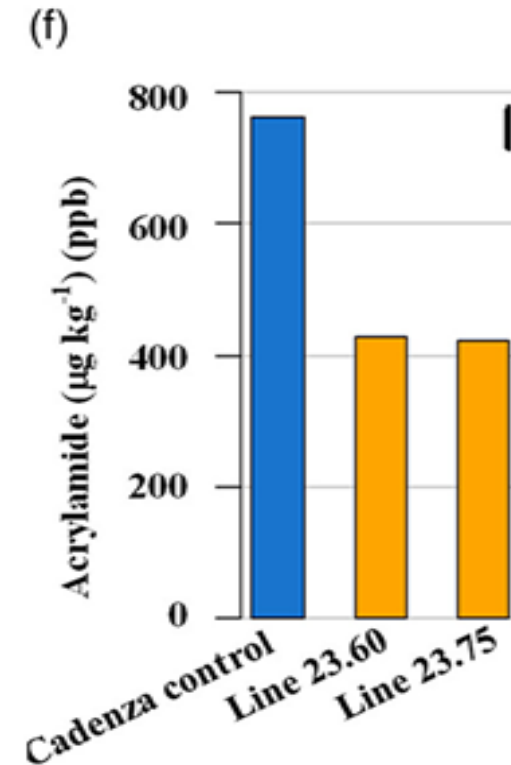
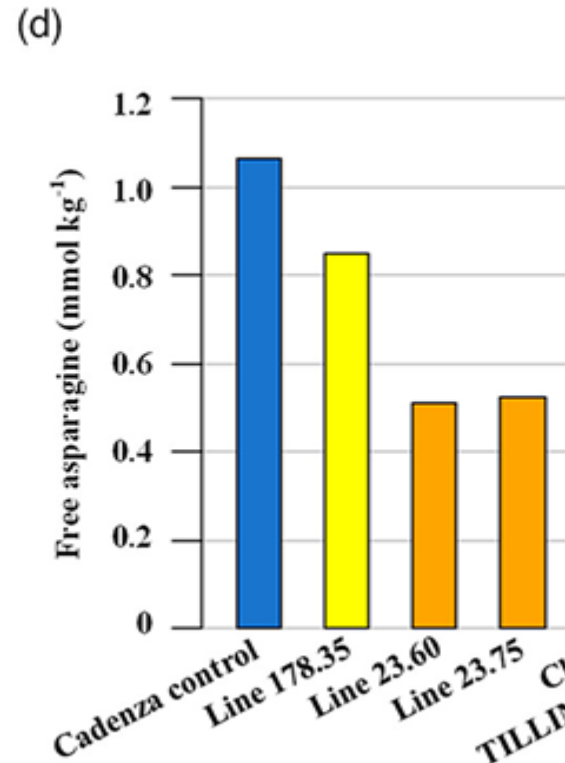
<https://doi.org/10.1111/pbi.12603>

*ARGOS8* is a negative regulator of ethylene responses

## Field assessment of genome-edited, low asparagine wheat: *Europe's first CRISPR wheat field trial*

Ausschalten des  
Gens *TaASN2* mit  
Crispr/Cas  
Mutagenese

**Reduziert Acrylamid  
um ca. 50%**



# Gen-Editierung (CRISPR/Cas9)

- ▶ Ist **kein Ersatz** für die klassische Züchtung!
- ▶ Ist ein **zusätzliches** Werkzeug im Werkzeugkoffer der Genetik & **Forschung**
- ▶ Aussichtsreich für **einfach vererbte Merkmale**
- ▶ Ist in der einfachsten Variante im Ergebnis nicht unterscheidbar von natürlichen Variationen (Mutationen)

# Ethische Fragen

## Risiken für Mensch und Umwelt

- ▶ Nicht grundsätzlich anders als die klassische Mutagenese, Mutationszüchtung, Pflanzenzüchtung

## Nutzen für Mensch und Umwelt

- ▶ Präzisions-Werkzeug in der **Forschung**
- ▶ Präzisions-Werkzeug in der Sortenentwicklung, für bestimmte Merkmale (veränderte Inhaltsstoffe, z.B. Fettsäure Muster, Asparagin-Gehalt, Resistenz-Eigenschaften, ...)

# Rechtliche und politische Beurteilung

Finden wir eine Balance zwischen Zugang zu genetischen Ressourcen und Schutz von Erfinderrechten/Investitionen?

- ▶ Zugang zur Editing Methode für kommerzielle Züchter nicht eindeutig > Patente!
- ▶ Wie wirkt sich Editing auf den Sortenschutz aus oder kommen Patente auf Sorten?  
**Sortenschutz > Landwirteprivileg und Züchterprivileg**
- ▶ Werden in Zukunft mehr ‚Gene‘ patentiert, wie wirkt sich das auf den Zugang zu genetischen Ressourcen aus?
- ▶ Können wir eine Regelung finden; die breit konsensfähig ist, vom Konsumenten bis zu den Zuchtbetrieben?

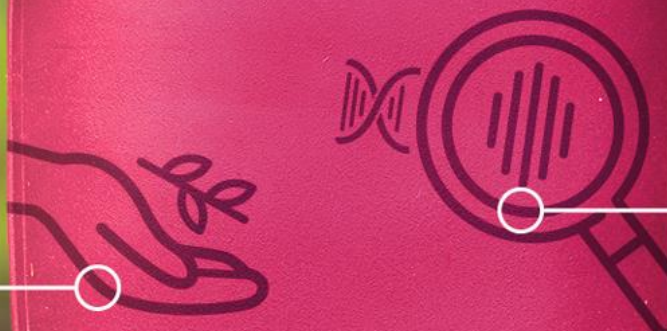
# Rechtliche und politische Beurteilung

- ▶ Wann braucht es eine Kennzeichnung ?
- ▶ Wahlfreiheit für Konsumenten aber auch den **Landwirt**...
- ▶ Wie gelingt eine sachliche Kommunikation und Diskussion ?
- ▶ Wie können wir den Zugang zu guten Sorten unter fairen Bedingungen für die Landwirte – und damit uns alle – gewährleisten ?
- ▶ Den **Wert des Produktes** in den Mittelpunkt stellen.

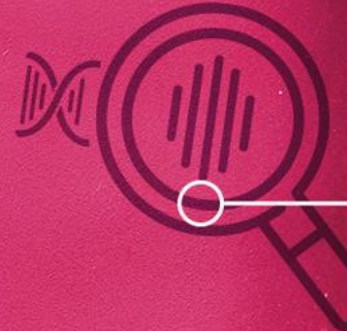


# INNOVATION IN RUBBER BOOTS

Selection



Molecular  
marker



Handcrossing



Tissue  
culture



Genome  
editing



#EmbracingNature

Source: EEA, European Seed Association



EMBRACING  
THE POWER  
OF NATURE





**Spannend zu sehen: April – Juni – BOKU Standort Tulln !**

**10.000 Jahre Getreide auf einem Feld**  
**Gräser, die die Welt ernähren – Versuchsparzellen in Tulln**





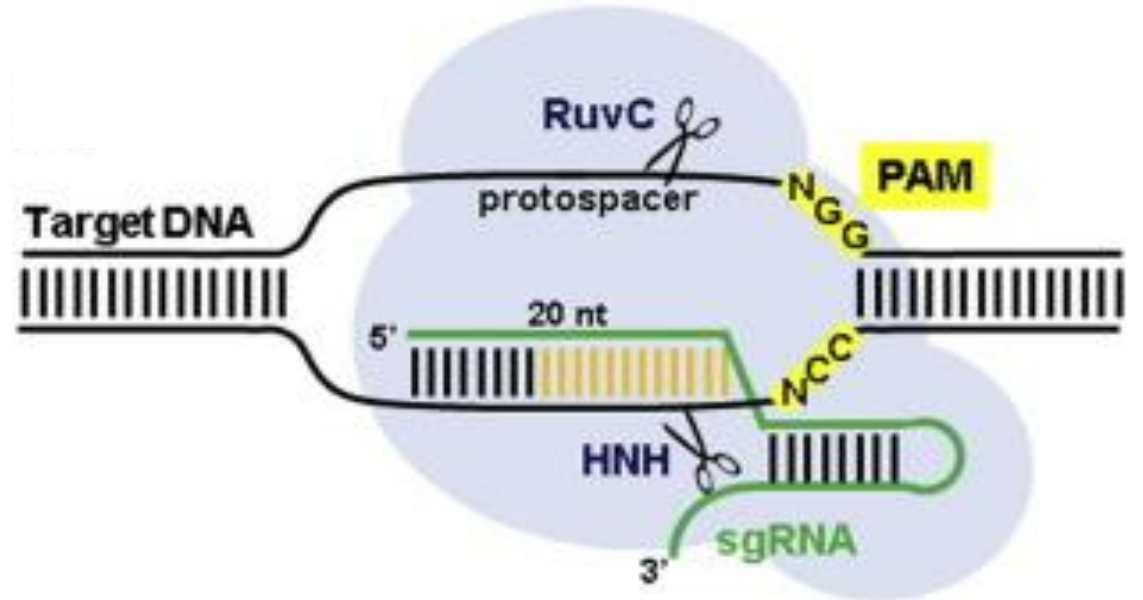




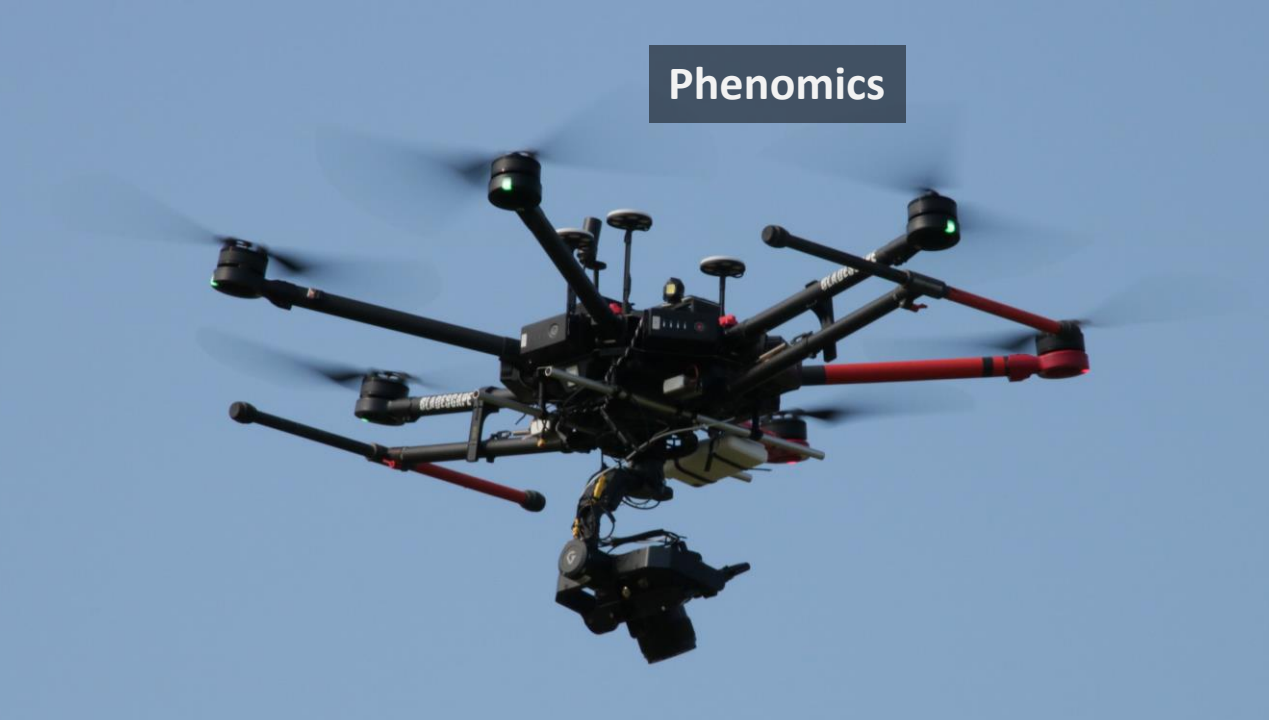
## Genomische Selektion



## Genom - Editierung



## Phenomics

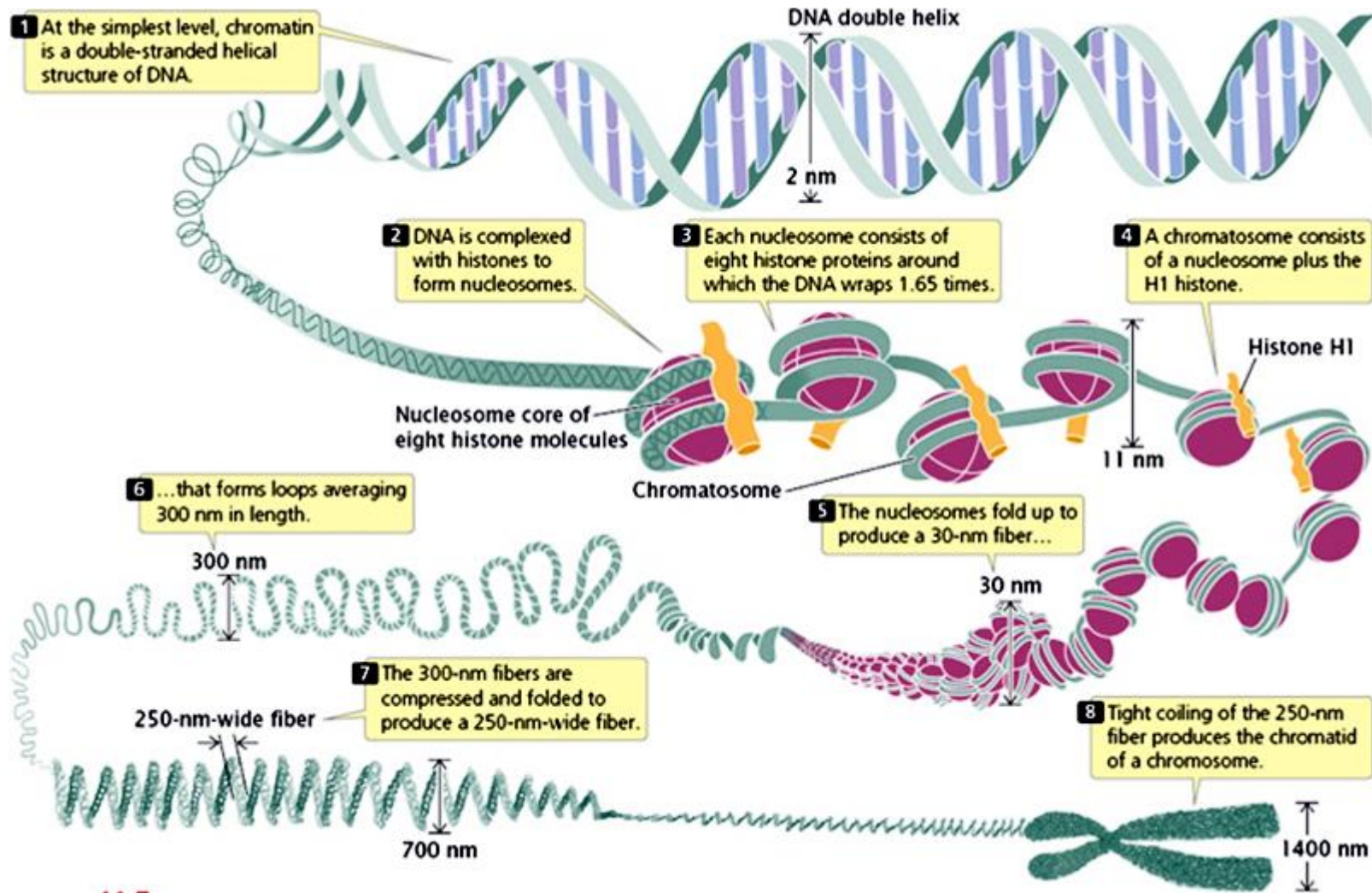


## Pre-Breeding





# Woraus bestehen die Gene? DNA = Desoxyribonukleinsäure (DNS)



Eukaryotic Genome Complexity, [http://www.nature.com/scitable/nated/content/18847/pierce\\_11\\_5\\_large\\_2.jpg](http://www.nature.com/scitable/nated/content/18847/pierce_11_5_large_2.jpg)



# DNA ist ein enorm effizienter Datenspeicher

|        | Mrd. Basenpaare | Bücher* |
|--------|-----------------|---------|
| Reis   | 0.466           | 932     |
| Mensch | 3.2             | 6 400   |
| Weizen | 16              | 32 000  |
| Fichte | 20.8            | 41 600  |

\* Annahme: 1000 Zeichen je Seite, 500 Buchseiten

...aber nicht ganz fellerfrei

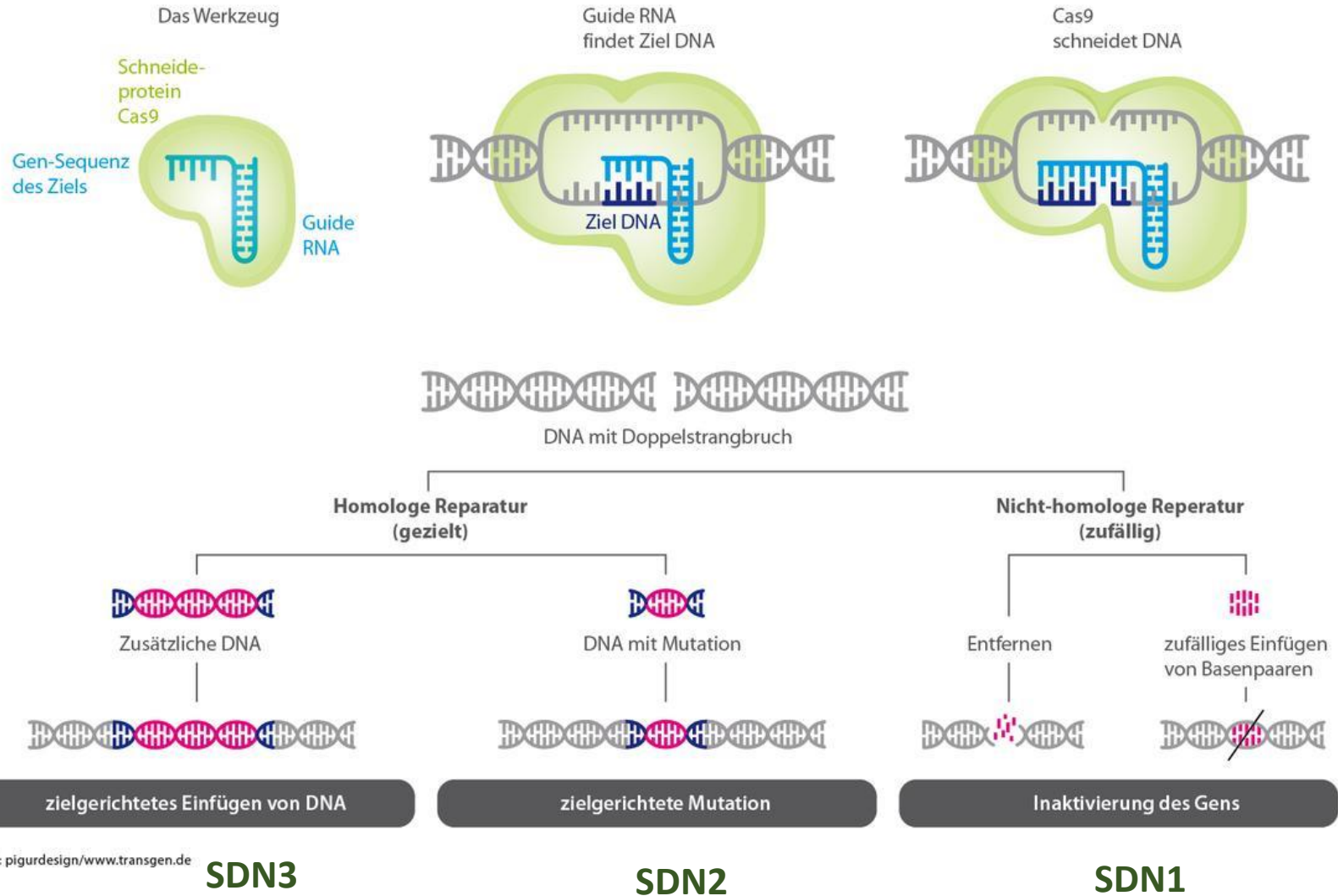


Würden Sie etwas essen, wo das draufsteht ?  
**“Dieses Produkt enthält Mutationen”**

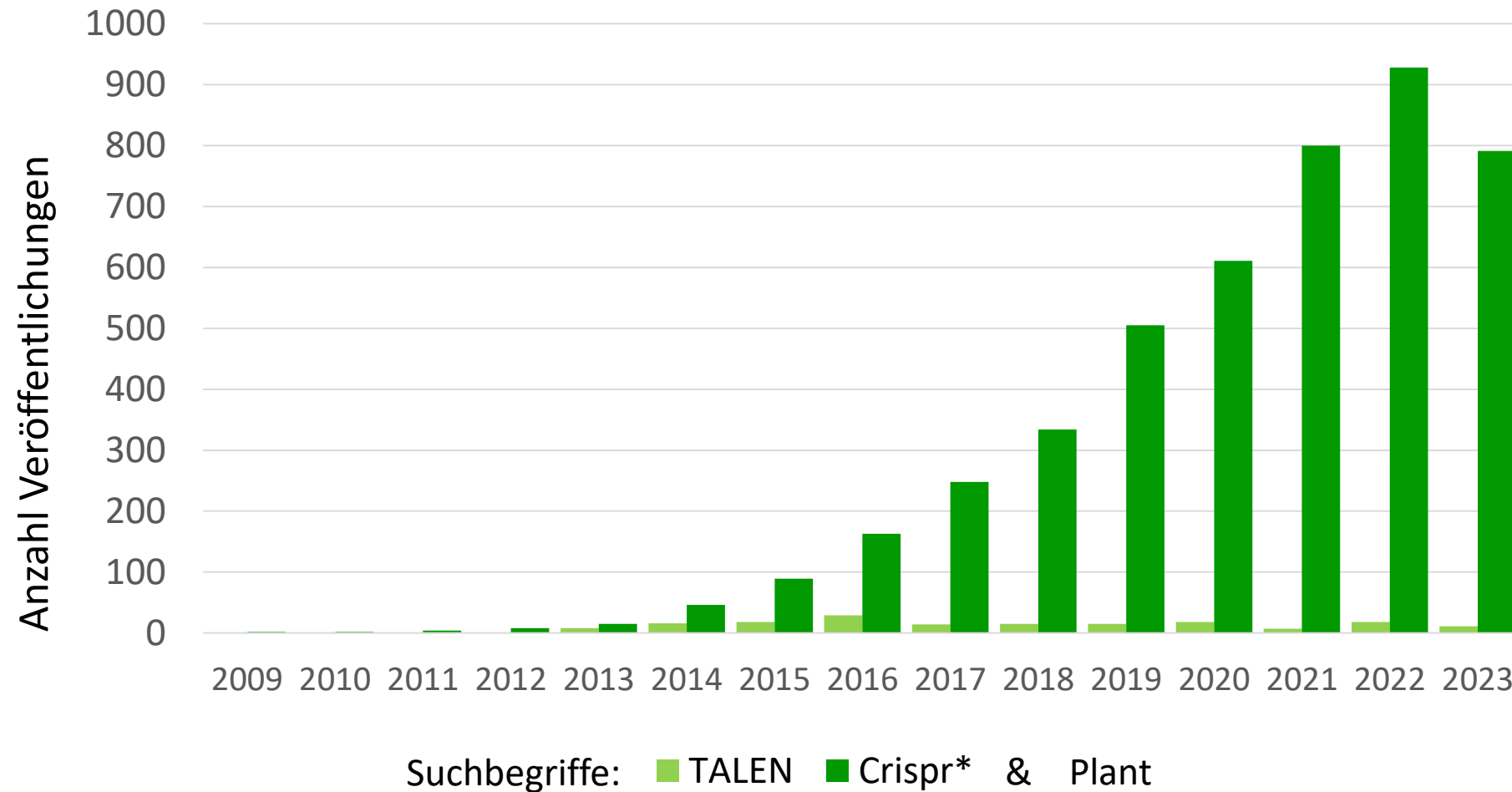




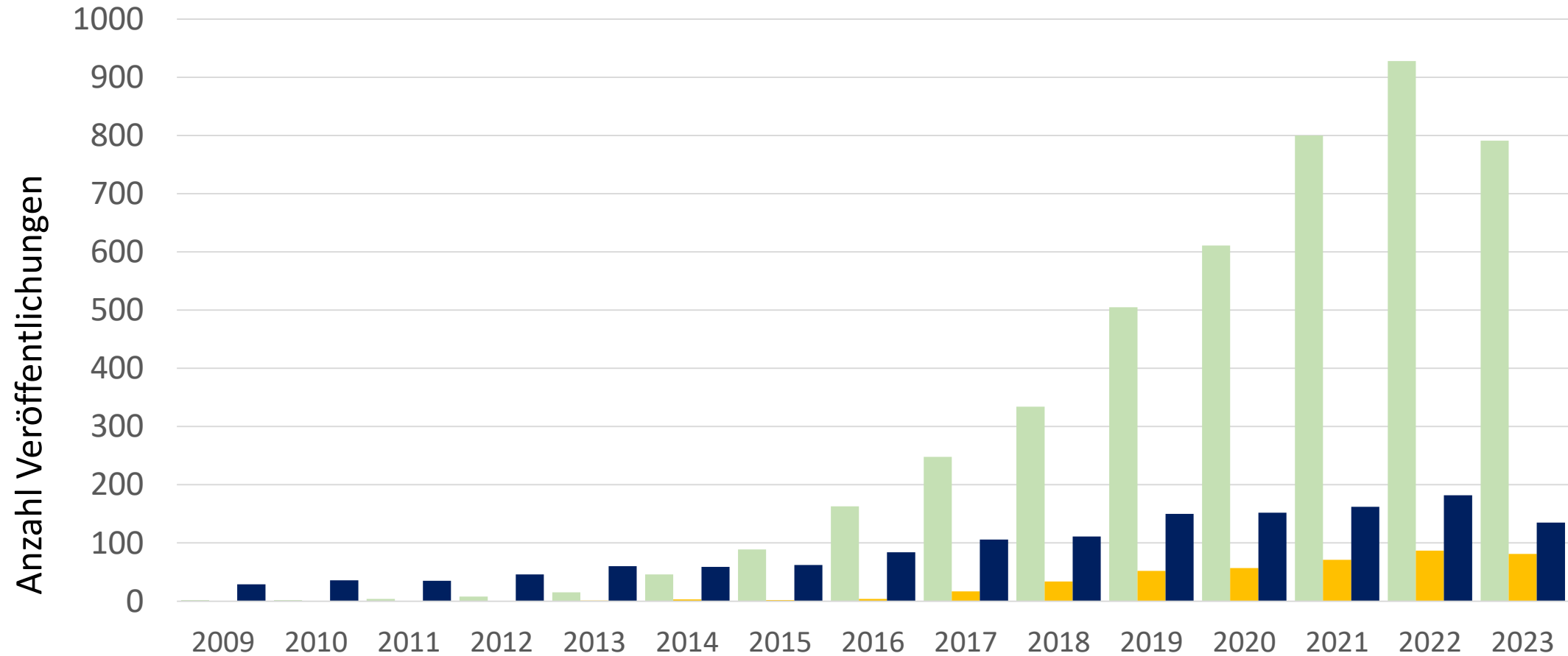
# CRISPR/Cas



# Anzahl wissenschaftlicher Veröffentlichungen: **Gen-Editierung und Pflanzen**



# Anzahl wissenschaftlicher Veröffentlichungen: **Gen-Editierung vs. Genomische Selektion**



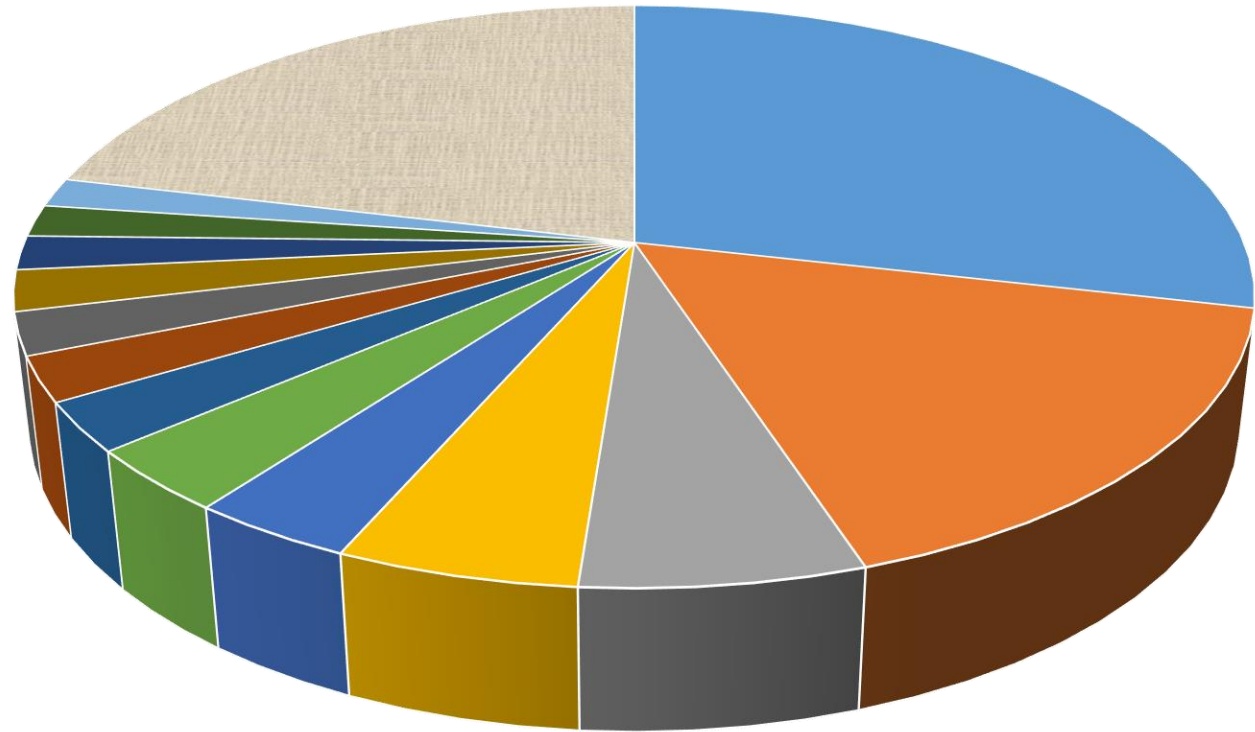
Crispr\* &

Plant

Wheat

Genomic Selection & Wheat

# Wo wird intensiv zu Crispr\* & Plant geforscht?



- PEOPLES R CHINA
- USA
- INDIA
- GERMANY
- SOUTH KOREA
- JAPAN
- ENGLAND
- FRANCE
- AUSTRALIA
- PAKISTAN
- SPAIN
- CANADA
- ITALY
- OTHER