



Doctoral Thesis

Simulation of transgenic pollen dispersal by use of different grain colour maize

Author(s):

Bannert, Michael

Publication Date:

2006

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005219771> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 16508

Simulation of transgenic pollen dispersal by use of different grain colour maize

A dissertation submitted to the

SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

For the degree of

Doctor of Sciences

Presented by

Michael Bannert

Dipl. Ing. Agr.

Technical University Munich

born June 13, 1973

Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Peter Stamp, examiner

Prof. Dr. Klaus Amman, co-examiner

2006

Summary

Cross-pollination of maize was studied by plant breeders in former years in order to guarantee seed purity. Today, the cultivation of transgenic maize varieties has world-wide increased rapidly. As a result, cross-pollination research has made a comeback in the context of managing the coexistence of conventional and transgenic maize. This situation is different to the plant breeding situation, where female plants get detasseled and are highly receptive both to the pollen from the male parent but also to adventitious pollen from neighbouring fields. Maize is a wind-pollinated crop that produces large amounts of pollen and favours cross-pollination by protandry of flowers. Therefore maize has a biological potential to cross-pollinate by pollen dispersal into neighbouring fields.

Studies about cross-pollination in maize have been published in recent years in many countries of the world. However, so far no experiments have been carried out under the Swiss alpine conditions, which differ in constellations of potentially important influence factors like weather conditions and topography. Twenty-two field experiments were conducted in 2003 and 2004, mainly in two different regions that are typical of Switzerland: In an alpine region of canton Uri and in the Swiss midlands of canton Zurich. Cross-pollination was not directly measured by use of transgenic maize varieties. Instead of this an alternative approach was used by simulating transgenic cross-pollination with maize varieties of different grain colours. In this visual marker system, yellow grain maize is assumed to be transgenic and white grain maize as conventional. Because of the xenia effect the dominant yellow grain colour can be transferred by pollen to white grain maize and such cross-pollinations are visible as yellow grains on the white grain maize ears. The experimental white grain hybrid, DSP17007, was tested in pilot experiments and identified as being comparable to modern hybrids. The method of measuring cross-pollination by counting the number of yellow grains on white grain ears was time and cost effective and enabled high sample rates. This made it possible to investigate complex cross-pollination patterns in high detail in order to optimize sampling procedures as well as to analyse cross-pollination events at very low levels of incidences.

Cross-pollination in long distance was investigated at distances of 50 to 4500 m in the alpine region of canton Uri. Thirteen fields of white grain maize were arranged in different wind orientations to the yellow grain pollen donor. The rate of cross-pollination of total fields was always below 0.02 %. Cross-pollination patterns were in most cases like randomly dispersed, with mainly single cross-pollination events and an average cross-pollination frequency of 1.8% of the sampled ears. In four fields, located in distances of 50 to 370 m in the main wind direction to the yellow grain pollen donor field, a low but marked cross-pollination occurred at the field border indicating pollen dispersal by horizontal winds. The potential distance of pollen dispersal was calculated according to the measured wind conditions in relation to settling height and speed. Thereby it was confirmed that most of the shed pollen will not reach distances

beyond 50 m. A pollen take-off experiment corroborated that only a very small portion of pollen will move vertically above the field, due to special events like thermals or gusts. These results help to explain the low rates of long distance pollen dispersal. A few “hot-spot” areas with higher cross-pollination rates existed. But whenever the surrounding plants were checked in detail, pure yellow grain contamination plants were found. Therefore “hot-spots” may be more often an effect of seed contamination rather than of extreme or special atmospheric events. This should be carefully taken in account for any cross-pollination experiment.

Cross-pollination experiments in short distance were focused in the Swiss midlands of the canton Zurich on the situation that maize fields are adjacent to each other. Such situations may arise when a farmer cultivates different maize types on the same field or when neighbouring farmers plant their maize crops without another separation crop between them. Moreover, such a situation is of scientific interest as an extreme situation. With different field experiment settings different constellations of influence factors were checked in order to investigate the variability of the cross-pollination rate and to define “worst-case” situations of maximum cross-pollination. In a wind exposed location there was a clear effect of the main wind direction; in most of the other cases the wind effect was probably minimized by the variable topography of the Swiss midlands, which are characterized by a small scale mix of hills, scattered woods and settlements. An important effect of the size ratios of pollen-donor and pollen-receptor fields was hypothesized. The investigated size ratios varied from about 4 : 1 to 1 : 8. However there was no visible impact on the cross-pollination gradients. Probably because of the high settling speed of the pollen only a small portion of pollen will be dispersed beyond distances of 10 m and therefore different field size ratios will not modify the cross-pollination rate significantly. A strong effect was shown by flower asynchrony. When the pollen-donor field sheds pollen five days later than the emergence of silks in the receptor field the cross-pollination rate was lower than 0.9%, even in the neighbouring row at a distance of 1 m, which is in accordance of observed wilted (already fertilized) silks around five days after emergence. It was proven that asynchronous flowering can strongly be modified by the synchrony or homogeneity of flowering within a receptor field. One pollen donor field flowered seven days later than the mid silk emergence of the receptor field. Therefore, little or no cross-pollination should have occurred. A surprisingly high cross-pollination rate was due to a high number of yellow grains on small weak ears that were late in flowering when the availability of white grain pollen was probably already quite low in relation to the inflow from the yellow grain donor. In all field experiments variation in cross-pollination was high at close distance to the pollen donor but the rates decreased rapidly with distance and beyond 15 m they were more or less below 0.9 % in all experiments.

The results of this Swiss study supported and complemented the results of international studies. In general cross-pollination rates were lower, which might be a feature of special Swiss conditions for climate, topography and landscape patterns or the special flower biology of the used maize varieties.

Summary

All values for cross-pollination were calculated for the heterozygous case of transgenic varieties at present. Therefore the cross-pollination values were halved as yellow varieties were homozygous for the transferred yellow grain colour marker.

Zusammenfassung

Schon vor langer Zeit untersuchten Züchter die Fremdpollenbefruchtung von Mais um die Reinheit von Saatgut garantieren zu können. Heute, bei einem raschen weltweiten Anstieg der Kultivierung von gentechnisch modifizierten Maissorten, ist die Fremdpollenbefruchtung von Mais erneut aktuell, um die Koexistenz von gentechnisch veränderten und konventionellen Mais zu regeln. Die Koexistenz Thematik unterscheidet sich deutlich von der Saatgutproduktion, bei der von den Mutterpflanzen die männlichen Blütenstände entfernt werden und diese dann sowohl für den Pollen der Vaterpflanzen als auch für Pollen von ausserhalb der Anlage sehr empfänglich sind. Mais ist eine windbestäubte Kulturpflanze und einige biologische Merkmale der Blüte, wie die Produktion von hohen Pollenmengen und die Protandrie (Vormännlichkeit), begünstigen Fremdpollenbefruchtung.

In den letzten Jahren wurden weltweit einige Studien über die Fremdpollenbefruchtung von Mais veröffentlicht. Aber bis jetzt gab es noch keine Untersuchungen unter den alpinen Bedingungen der Schweiz, bei der wichtige mögliche Einflussfaktoren wie Wetterbedingungen und Topographie anders sind. In den Jahren 2003 und 2004 wurden hauptsächlich an zwei unterschiedlichen Standorten, die typisch für Schweizer Verhältnisse sind, 22 Feldversuche durchgeführt: In der alpinen Region des Kantons Uri und dem Schweizer Mittelland von Kanton Zürich. Die Fremdpollenbefruchtung wurde nicht direkt mit transgenen Maissorten untersucht sondern durch die Verwendung von Maissorten mit unterschiedlicher Kornfarbe simuliert. Bei diesem visuellen Marker System simuliert gelbkörniger Mais die transgene Sorte und weisskörniger Mais die konventionelle Sorte. Befruchtet Pollen von gelbkörnigen Sorten in weisskörnigem Mais entsteht dort aufgrund des Xenien Effekts mit jeder erfolgreichen Befruchtung ein gelbes Korn. Als weisskörnige Sorte wurde die Test-Hybride DSP17007, die sich in Pilotversuchen als geeignet und vergleichbar mit heutigen Maissorten gezeigt hatte, verwendet. Diese Methode, die Fremdpollenbefruchtung durch einfaches Zählen von gelben Körnern auf der weisskörnigen Sorte zu ermitteln, ist bezüglich Zeit- und Kostenaufwand effektiv und ermöglicht hohe Stichprobenzahlen. So lassen sich auch detaillierte Verbreitungsmuster untersuchen und seltene Fremdpollenbefruchtungen können noch entdeckt werden.

In den alpinen Regionen des Kantons Uri wurde die Fremdpollenbefruchtung über lange Strecken zwischen 50 m und 4500 m untersucht. In beiden Versuchsjahren zusammen wurden 13 weisskörnige Versuchsfelder in verschiedenen Abständen und Wind Orientierungen zu den gelbkörnigen Feldern angelegt. Die Fremdpollenbefruchtung des gesamten Feldes blieb immer unter 0.02%. Die Verbreitungsmuster der Einkreuzungen waren hauptsächlich durch zufällige über das gesamte Feld verstreute Einkreuzungen, meist einzelne Einkreuzungen auf durchschnittlich 1.8% der untersuchten Kolben, charakterisiert. Bei vier Feldern, die in Abständen von 50 bis 370 m in Hauptwindrichtung eines gelbkörnigen Feldes orientiert waren, konnten an dem zur Pollenquelle zugewandten Feldrand in der Randreihe etwas höhere

Einkreuzraten gefunden werden. Diese Einkreuzungen zeigen vermutlich den Polleneintrag durch horizontale Windverfrachtung. Die durchschnittliche mögliche Pollenverfrachtungsdistanz wurde aufgrund der Windmessungen in Bezug zur Sinkgeschwindigkeit des Pollens errechnet. Damit konnte gezeigt werden, dass der meiste Pollen innerhalb von 50 m Reichweite zu Boden geht. Ein Versuch zur vertikalen Verfrachtung des Pollens zeigte, dass nur eine sehr kleine Menge des ausgeschütteten Pollens durch Windböen oder thermische Aufwinde in 4 m Höhe über das Maisfeld gelangt. Diese Ergebnisse bestätigen die gefundenen niedrigen Auskreuzungsraten jenseits 50 m Distanz. Einige „hot-spots“, Bereiche mit abweichend hoher Einkreuzung, wurden gefunden. In den Fällen, in denen die nähere Umgebung dieser „hot-spots“ genauer untersucht wurde, konnten gelbkörnige Verunreinigungspflanzen als Ursache festgestellt werden. Die auch von anderen Experimentatoren beobachteten „hot-spots“ sind daher vermutlich eher auf Saatgutverunreinigungen als auf extreme Wetterereignisse zurückzuführen.

Schwerpunkt am Versuchsstandort im Schweizer Mittelland im Kanton Zürich waren Versuche zur Fremdpollenbefruchtung über kurze Distanz bis 50 m für den Fall eines Anbaus von gelbkörnigem Mais direkt neben weisskörnigem Mais. Solche Situationen treten auf, wenn ein Landwirt verschiedene Maissorten kultiviert oder wenn zwei benachbarte Landwirte ihre Maisfelder ohne einer anderen Feldfrucht dazwischen anlegen. Besonders aber ist diese Situation von wissenschaftlichem Interesse, weil so die maximal mögliche Fremdpollenbefruchtung nachgewiesen werden kann. Mit verschiedenen Feldversuchsanlagen wurde die Variabilität der Fremdpollenbefruchtung, verursacht durch die verschiedenen Konstellationen der Einflussfaktoren, untersucht, um „worst-case“ Situationen mit maximal hoher Fremdpollenbefruchtung zu ermitteln. Bei einem windexponierten Standort konnte ein klarer Effekt durch die Orientierung zur Hauptwindrichtung beobachtet werden. In den anderen Fällen war aber kein deutlicher Windrichtungseffekt zu erkennen, was auf die besondere klein strukturierte Topographie des Schweizer Mittellandes mit Hügeln, verstreuten Waldstücken und Siedlungen zurückzuführen sein könnte. Ein wichtiger Einfluss des Feldflächenverhältnisses von Pollendonator und Rezeptor wurde vermutet. In Versuchen wurden Verhältnisse von 4 : 1 bis 1 : 8 untersucht. Jedoch ergab sich dadurch kein erkennbarer Einfluss auf die Fremdpollenbefruchtung, was vermutlich darauf zurückzuführen ist, dass nur sehr wenig Pollen über eine Distanz von 10 m hinaus verfrachtet wird. Einen starken Einfluss zeigte eine ungleiche Blütezeit. Wenn die Pollenausschüttung des Donorfeldes fünf Tage nach dem Erscheinen der Seiden im Rezeptorfeld mit der Pollenausschüttung begann, war die Fremdpollenbefruchtung sogar in unmittelbarer Distanz von 1 m weit unter 0.9%. Dieser Befund stimmt auch mit der Beobachtung überein, dass die Seiden bereits fünf Tage nach ihrem Erscheinen verwelkt (bereits befruchtet) sind. Aber es wurde auch festgestellt, dass die Synchronie der Blütezeit von Feldern von der Gleichmässigkeit der Entwicklung der Pflanzen innerhalb des Bestandes abhängt. Ein Pollendonatorfeld begann sieben Tage nach dem Erscheinen der Seiden des Rezeptorfeldes

mit der Pollenausschüttung und eine sehr geringe Fremdpollenbefruchtung wäre zu erwarten. Jedoch stieg die Fremdpollenbefruchtung wieder aufgrund von einzelnen kleinen Maiskolben mit hoher Einkreuzung an. Diese kleinen Kolben sind wahrscheinlich auf eine verzögerte Pflanzenentwicklung und Blüte zurückzuführen. Zu diesem Zeitpunkt der Blüte war vermutlich die Pollenausschüttung des eigenen Feldes im Verhältnis zur gerade beginnenden maximalen Pollenausschüttung des Pollendonorfeldes bereits reduziert. Obwohl es auf kurze Distanz, vor allem den ersten Metern, hohe Variabilität in der Fremdpollenbefruchtungsrates gab, nahm bei allen Feldversuchen die Rate mit der Entfernung schnell ab und war ab 15 m bereits unter 0.9%. Nur in seltenen Ausnahmefällen gab es auch jenseits der 15 m Distanz leicht erhöhte Werte („hot-spots“).

Die Ergebnisse der Studie in der Schweiz unterstützen und ergänzen bereits bestehende internationale Studien in detaillierter und verlässlicher Weise. Im Allgemeinen waren die Raten der Fremdpollenbefruchtung aber etwas geringer, was auf die besonderen Bedingungen in der Schweiz bezüglich Klima, Topographie und Landschaftsmuster sowie auf die besondere Blütenbiologie der verwendeten Maissorten zurückzuführen sein könnte.

Alle Fremdpollenbefruchtungswerte in dieser Studie wurden auf den heterozygoten Zustand derzeitiger transgener Sorten berechnet: Werte von Experimenten mit Kornfarben Markern, wie hier verwendet, wurden halbiert um den homozygoten Zustand der verwendeten gelbkörnigen Sorten zu berücksichtigen.