Handbuch Genbank WEL, Hoppea, Denkschr. Regensb. Bot. Ges. Sonderband (2014): 159 – 173

Schützen und nützen – von der Erhaltung zur Anwendung. Fallbeispiel Europäische Wildrebe

von
Peter Nick, Karlsruhe

1 Artenschutz oder genetische Ressourcen – ein Gegensatz?

Ausgelöst durch die Menschen und deren technische Zivilisation sterben seit der Neuzeit zahlreiche Tiere und Pflanzen aus. Das ist schon lange und allgemein bekannt, wird aber gewöhnlich mit einem Achselzucken zur Kenntnis genommen: Artensterben – na und? Was kümmert es die Öffentlichkeit wenn das Gefleckte Knabenkraut nicht mehr existiert? Er hat es womöglich noch nie gesehen und selbst wenn er es sähe, wäre er noch nicht mal in der Lage, diese Art zu erkennen.

Es war 1992 beim *Earth Summit* in Rio de Janeiro, als Artenvielfalt zum ersten Mal auch als Wirtschaftsfaktor begriffen wurde. Was bis dahin gerne als Sonntagsvergnügen verschrobener Naturschützer dargestellt wurde, avancierte zum schützenswerten Gut der ganzen Gesellschaft. Artenvielfalt (oder Biodiversität, wie man seither gerne sagt) ist das Rohmaterial der Evolution. Ohne Artenvielfalt verliert das Leben auf diesem Planeten die Möglichkeit, sich auf die sich verändernde Umwelt einzustellen. Bei Kulturpflanzen geht es ganz schlicht darum, genetische Vielfalt für die Züchtung zu erhalten. Die in Rio verabschiedete *Convention on Biological Diversity*, von 150 Staaten unterzeichnet, machte zum ersten Mal Arten- und genetische Vielfalt zum echten Politikum.

Für die vom Menschen genutzten Kulturpflanzen war dies freilich schon lange vor Rio erkannt worden. Spätestens seit den bahnbrechenden Arbeiten Wawilows (im Angelsächsischen Vavilov) hatte man begriffen, dass landwirtschaftliche Biodiversität einen Schatz darstellt, den es zu bewahren gilt.

Beginnend mit dem von Wawilow im Jahre 1926 begründeten Institut in St. Petersburg, wird inzwischen in vielen Ländern versucht, die Agrobiodiversität *ex situ* in Genbanken zu sammeln und zu bewahren – in Deutschland beispielsweise im Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung in Gatersleben, aber auch anderen Einrichtungen, die zu einem nationalen Netzwerk Pflanzengenetische Ressourcen für Landwirtschaft und Ernährung (PGREL) zusammengeschlossen sind.

Während der Schutz von Vielfalt für Kulturpflanzen also schon auf eine lange Tradition der Erhaltung *ex situ* zurückblicken kann, wurden die mit diesen Kulturarten verwandten Wildarten bislang noch kaum berücksichtigt.

Diese Lücke wurde in Deutschland erstmals durch das bundesweite Netzwerkprojekt „Genbank für Wildpflanzen für Ernährung und Landwirtschaft, WEL) bearbeitet (s. Kapitel 2) (aber noch lange nicht geschlossen, s. Kapitel 7b).

Mit dieser WEL-Genbank wurde auch im Bereich des Artenschutzes konzeptionelles Neuland betreten: Traditionell wird Artenschutz nämlich vor allem als Standortschutz verstanden. Man versucht eine Art dadurch zu erhalten, dass man ihren Lebensraum (Biotop), etwa in Natur- oder Landschaftsschutzgebieten oder Nationalparks, schützt. Gelegentlich werden auch durch finanzielle Förderung extensive landwirtschaftlicher Praktiken unterstützt - beispielsweise im Rahmen des Artenschutzprogramms des Landes Baden-Württemberg oder ähnlicher Programme. Eine Erhaltung von Arten *ex situ* ist hingegen außerhalb der Kulturpflanzen (noch) unüblich, auch wenn mit dem *Millenium Seed Project* von *Kew Garden* oder der *Svalbard Global Seed Vault* auf Spitzbergen einige spektakuläre Projekte auch einer breiteren Öffentlichkeit bekannt geworden sind.

Die im Artenschutz für Wildpflanzen vorherrschende Praxis der Erhaltung *in-situ* reicht in manchen Fällen jedoch nicht aus. Dies gilt in besonderem Maße für stark bedrohte Arten oder Populationen, die nur noch an einem oder wenigen Standorten vorkommen und daher selbst durch Zufallsereignisse ausgelöscht werden könnten. Hier muss die Art zunächst also auch außerhalb des natürlichen Lebensraumes erhalten und vermehrt werden, um sie an geeigneten Stellen, begleitet von pflegerischen Maßnahmen, wieder auswildern zu können. Ein erfolgreiches Beispiel für einen solchen *integrierten Artenschutz* wäre etwa der ausgestorben geglaubte Vierblättrige Kleefarn (*Marsilea quadrifolia*), der nach Wiederfund und erfolgreicher *ex-situ* Vermehrung im Botanischen Garten des KIT in Verbindung mit einer vom Land geförderten extensiven Schweinehaltung in den Auen bei Rastatt erfolgreich wiederbelebt werden konnte (RADKOWITSCH 2010).

Obwohl in der öffentlichen Diskussion beide Strategien des Artenschutzes bisweilen gegeneinander gestellt werden, können sie sich in der Realität sehr gut ergänzen. Natürlich kann die Erhaltung *ex situ* kein Ersatz für die Erhaltung von Lebensräumen (*in situ*) sein, sie muss eher als Übergangsmaßnahme gesehen werden, bis mittelfristig die Erhaltung des bedrohten Lebensraums gesichert ist.

Die WEL-Genbank nimmt hier also eine interessante Position zwischen den (üblicherweise in Genbanken) als genetische Ressourcen erhaltenen Kulturpflanzen und den (üblicherweise über Biotopschutz) erhaltenen Wildpflanzen ein. Am Beispiel der WEL-Arten lässt sich daher der (oft zugespitzte, aber vermutlich etwas künstliche) Gegensatz zwischen „Artenschutz“ und „Erhaltung genetischer Ressourcen“ gut ins Bewusstsein rücken. Wie so oft liegt die Wahrheit nicht in den extremen Positionen, sondern in der pragmatischen Mitte: Zwar sind einige der WEL-Arten ganz offensichtlich als genetische Ressourcen für die Züchtung von Kulturpflanzen interessant, aber dieser Zusammenhang zwischen „schützen“ und „nützen“ lässt sich nicht immer sofort erkennen und wird sich vermutlich auch nicht für alle WEL-Arten darstellen lassen. Dennoch sollte er für die Fälle, wo das möglich ist, auch öffentlich erklärt und thematisiert werden, quasi auch als Vehi-

kel, um das Anliegen Artenschutz ins Bewusstsein von „Otto Normalverbraucher“ zu rücken. Am Beispiel der Europäischen Wildrebe haben wir daher am Botanischen Garten des KIT inzwischen fast über ein Jahrzehnt hinweg das Spannungsfeld zwischen „Artenschutz“ und „genetischer Ressource“ ausgelotet

2 Notfall Europäische Wildrebe

Die Europäische Wildrebe (*Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) ist die Stamm-Mutter unserer Weinrebe. Sie hat die Eiszeit in kleinen Nischen der großen europäischen Ströme überlebt und ist danach entlang dieser Ströme mit dem sich ausbreitenden Auwald über ganz Europa gewandert. Unsere Kulturrebe ist vor etwa 8000 Jahren in Georgien aus diesen Wildreben entstanden und hat sich dann mit der ältesten Biotechnologie der Menschheit, der Weinerzeugung, von Ost nach West ausgebreitet und dabei unterwegs immer wieder mit ihrer Stamm-Form, der Europäischen Wildrebe, Kontakt aufgenommen und Wildreben-Gene aufgenommen. Ob es zusätzlich noch ein weites Zentrum der Domestizierung im westlichen Europa gegeben hat, wird derzeit unter Experten noch kontrovers diskutiert (ARROYO-GARCÍA et al. 2006; MYLES et al. 2011; TERRAL et al. 2010; ZOHARY et al. 2012).

Als im 19. Jahrhundert die Flüsse immer mehr reguliert wurden und der natürliche Auwald verschwand, verschwand damit auch die Europäische Wildrebe. Inzwischen steht sie am Rande der Ausrottung. In vielen europäischen Ländern gibt es schon gar keine Wildreben mehr. Eines der größten natürlichen Vorkommen liegt unweit von Karlsruhe auf der Halbinsel Ketsch. Daneben gibt es noch einzelne Exemplare in den Auen entlang von Rhein, Rhône und Donau. Diese letzten Mohikaner sind nun nicht nur von Inzucht bedroht - viele dieser Pflanzen finden nicht einmal mehr einen Geschlechtspartner. Da die Wildrebe zweihäusig ist –.es gibt also männliche und weibliche Pflanzen –besteht außerdem die Gefahr der genetischen Unterwanderung: der Rhein fließt durch die größten Weinbaugebiete Deutschlands. Damit besteht die Möglichkeit, dass Wildrebe und Kulturrebe sich kreuzen. Schlimmer noch: Wurzelstöcke amerikanischer Rebarten, die im Weinbau als Pfropfunterlagen zur Eindämmung der Reblaus üblich sind, werden aus offengelassenen Weinbergen durch starke Regenfälle in die Flüsse verdriftet und im Auwald angeschwemmt, wo sie nicht nur als sogenannte Neophyten auf dem Vormarsch sind, sondern auch mit der heimischen Wildrebe Bastardisierungen eingehen können (ARRIGO und ARNOLD 2007).

In dieser extrem bedrohlichen Situation ist es sinnvoll, zum Mittel der *ex-situ* Erhaltung zu greifen. Wir haben daher in einem von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) geförderten Projekt gemeinsam mit dem Aueninstitut in Rastatt die verbliebenen Wildreben in Ketsch und anderen Stellen der Rheinebene genau kartiert, von diesen Pflanzen Stecklinge gewonnen und sie im Botanischen Garten vermehrt. Die so gewonnenen Pflanzen werden nun in mehreren Kampagnen an geeignete Stellen in Baden-Württemberg, Rheinland-Pfalz und Hessen im Auwald ausgebracht. Um einen natürlichen Genfluss sicherzustellen,

werden dabei genetisch möglichst unterschiedliche Individuen in Inseln gemeinsam gepflanzt. Voraussetzung dafür war, dass wir die genetische Verwandtschaft mithilfe von Vaterschaftstests (sogenannten Mikrosatelliten) untersucht haben. Ziel des Projekts ist es, die Wildrebenpopulationen der Oberrheinebene wieder in Stand zu setzen, sich selbständig im Auwald zu behaupten und sich vielleicht sogar wieder auszubreiten.

3 Genetische Vielfalt erkennen und erhalten

Damit eine Art überlebensfähig bleibt, muss man versuchen, während der *ex-situ* Erhaltung eine möglichst hohe genetische Vielfalt zu erhalten. Bei einer am Rande der Ausrottung stehenden Art wie der Europäischen Wildrebe ist das alles andere als trivial. Wir haben darum versucht, die in Deutschland noch vorhandene genetische Diversität so vollständig wie möglich in unserer *ex-situ* Sammlung abzubilden. Hierfür wurden von allen im Freiland entdeckten Exemplaren Steckhölzer gewonnen, bewurzelt und im Botanischen Garten hochgezogen. Da die Wildrebe als Lianenpflanze sich sehr leicht regeneriert, was ja auch bei ihrer kultivierten Tochter, der Kulturrebe *V. vinifera* ssp. *vinifera* zur Vermehrung in Rebschulen praktiziert wird, war es möglich, eine nach unserem Wissensstand vollständige Kopie der genetischen Diversität für die in Deutschland noch vorhandenen Europäischen Wildreben zu erzeugen.

Um die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen diesen Wildreben rekonstruieren zu können, lassen sich hochauflösende Mikrosatellitenmarker einsetzen. Bei diesen Mikrosatelliten handelt es sich um kurze DNS-Sequenzen, die vielfach kopiert in einer Reihe auf den Chromosomen sitzen. Vermutlich haben sie gar keine Bedeutung für den jeweiligen Organismus, daher treten sie in völlig unterschiedlichen Zahlen auf. Jedes Individuum lässt sich so aufgrund seines Mikrosatellitenmusters eindeutig zuordnen – dieses Prinzip wird zum Beispiel für die DNS-Tests in der Forensik oder für Vaterschaftsnachweise genutzt. In der Regel unterscheiden sich väterliche und mütterliche Chromosomen in der Zahl der darauf sitzenden Mikrosatelliten, womit man genetische Abstammungen (freilich auch das Fehlen von genetischer Abstammung) feststellen kann.

Die Ketscher Wildrebenpopulation wurden nun mithilfe solcher Vaterschaftsmarker durchkartiert und mit publizierten Daten aus anderen europäischen Wildrebenpopulationen verglichen (LEDESMA-KRIST et al. 2014). Eine auf dem UPGMA-Algorithmus beruhende, distanzbasierte, phylogenetische Analyse (Abb. 1) lässt eine Unterteilung der insgesamt 361 untersuchten Genotypen in fünf Cluster erkennen:

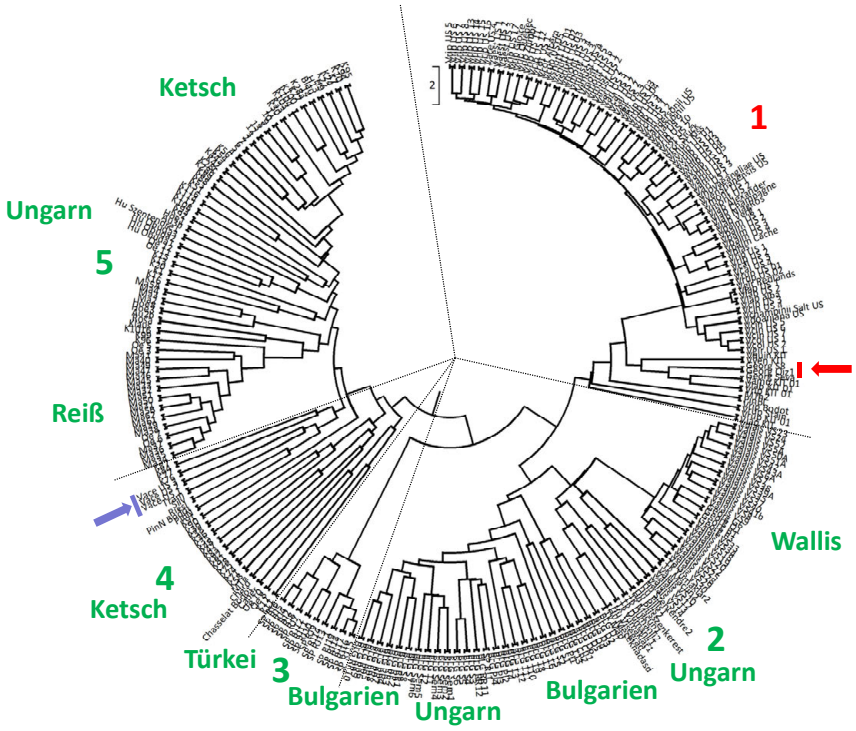

Abb 1: Distanzbasierter UPGMA Baum über 9 Mikrosatellitenmarker für 361 Akzessionen von Vitis. Astlängen proportional den evolutionären Distanzen, die für die Berechnung des Baums angesetzt wurden. Rot: Nicht-*vinifera* Akzessionen, grün: *sylvestris* Sippen.

Cluster 1 enthält ausschließlich Nicht-*vinifera* Genotypen und drei in Georgien gesammelte *sylvestris*-Akzessionen, bei denen es sich vermutlich um ausgewilderte Wurzelstöcke handelt.

Cluster 2 enthält die übrigen *sylvestris*-Akzessionen aus Georgien, sämtliche *sylvestris*-Akzessionen aus dem Wallis, Bulgarien und der Türkei, sowie die meisten der ungarischenAkzessionen. Die Walliser und die bulgarischen Akzessionen sind klar getrennt auf verschiedenen Ästen, die türkischen und ungarischen Akzessionen bilden eine dritte Gruppe, die allerdings auch einige der Walliser Akzessionen enthält.

Cluster 3 wird von den Akzessionen des spanischen Ebrogebiets gebildet und ist klar abgetrennt.

Cluster 4 enthält die in der Rheinebene gängigen Kultursorten, aber auch einige der Ketscher Wildreben, zwei der Wildreben aus den österreichischen Donauauen und drei nordamerikanische Akzessionen, die (vermutlich fälschlicherweise) als *Vitis acerifolia* deklariert sind.

Cluster 5 beherbergt den Großteil der *sylvestris*-Akzessionen aus den Rheinauen, aber auch einige der österreichischen und drei der ungarischen Akzessionen. Die sekundär im Rahmen eines Auswilderungsprojekts in den 90er gepflanzte Mannheimer Population gruppiert sich zusammen, die Sämlinge aus dem Life-Projekt „Lebendige Rheinauen bei Karlsruhe“ ebenfalls. Ein kleiner Teil der Mannheimer Akzessionen, die Akzessionen aus der österreichischen und ungarischen Donau-

Aue und einige der Ketscher Akzessionen bilden eine dritte, wenig klare Gruppe. Hier sind auch einige der sekundär gepflanzten Individuen aus der Rastatter Rheinaue zu finden.

Die Ketscher Population lässt sich also bündig in den europäischen Kontext von *Vitis vinifera ssp. sylvestris* einfügen. Gleichzeitig ist sie genetisch deutlich breiter aufgestellt als andere Populationen von *V. v. ssp. sylvestris* (etwa die Ebro oder die Walliser Population). Die Reben in Cluster 4 stehen näher zu den Kultursorten als die Reben in Cluster 5.

Um besser verstehen zu können, warum die Ketscher Wildrebenpopulation, verglichen mit anderen Populationen, eine derart hohe genetische Diversität zeigt, wurden für einige der Marker, die eine ausreichende Varianz aufwiesen und europaweit erhoben wurden, Allelfrequenzen bestimmt und geographisch aufgetragen. Hier trat zutage, dass je nach untersuchtem Marker die Population aus Ketsch entweder näher bei den west- oder bei den osteuropäischen Populationen von *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* angesiedelt ist.

So rückt der Mikrosatellitenmarker VVS2 die Wildreben der Rheinauen in eine größere Nähe zu den Wildrebenpopulationen der iberischen Halbinsel (vor allem dem Ebrotal), während die Populationen aus Osteuropa und Kleinasien weiter entfernt stehen (Abb. 2).

Im Gegensatz dazu gruppieren sich die Ketscher und die Walliser Populationen mit dem Marker VVD7 näher an den Populationen von Donau-Auen, Kleinasien und Kaukasus und sind hier weiter entfernt von den Populationen der iberischen Halbinsel (Abb. 3).

Um diese genetischen Muster erklären zu können, muss man sich die historische Biogeographie der Gattung *Vitis* in Europa ansehen: Während Europa vor den Eiszeiten durch eine sehr reichhaltige *Vitis*-Flora besiedelt war, die durch zahlreiche fossile Funde belegt werden kann (KIRCHHEIMER 1938), waren davon gegen Ende des Pleistozäns nur noch Reste übrig. Nur ein einziger fossiler Befund in Südfrankreich kündet davon, dass *Vitis vinifera ssp. sylvestris* in Westeuropa überhaupt überlebt hat (DE LUMLEY 1988). Die fossilen Befunde aus der Zeit vor der Vereisung bestätigen, dass die Art schon damals vor allem Auwälder besiedelte, die von Erlen dominiert waren (TURNER 1968). Es ist daher anzunehmen, dass die Europäische Wildrebe Europa stromaufwärts entlang der großen Flußsysteme wiederbesiedelte. Die Domestizierung der Europäischen Wildrebe lässt sich inzwischen einwandfrei in Transkaukasien lokalisieren: Archäologische Samenfunde aus Südgeorgien lassen sich eindeutig der kultivierten Unterart *V. vinifera ssp. vinifera* zuordnen und sind morphologisch klar von Samen der wilden Unterart *V. vinifera ssp. sylvestris* unterscheidbar. Diese Samen wurden mittels ^{14}C Analyse auf >7000 Jahre datiert (KVAVADZE et al. 2006).

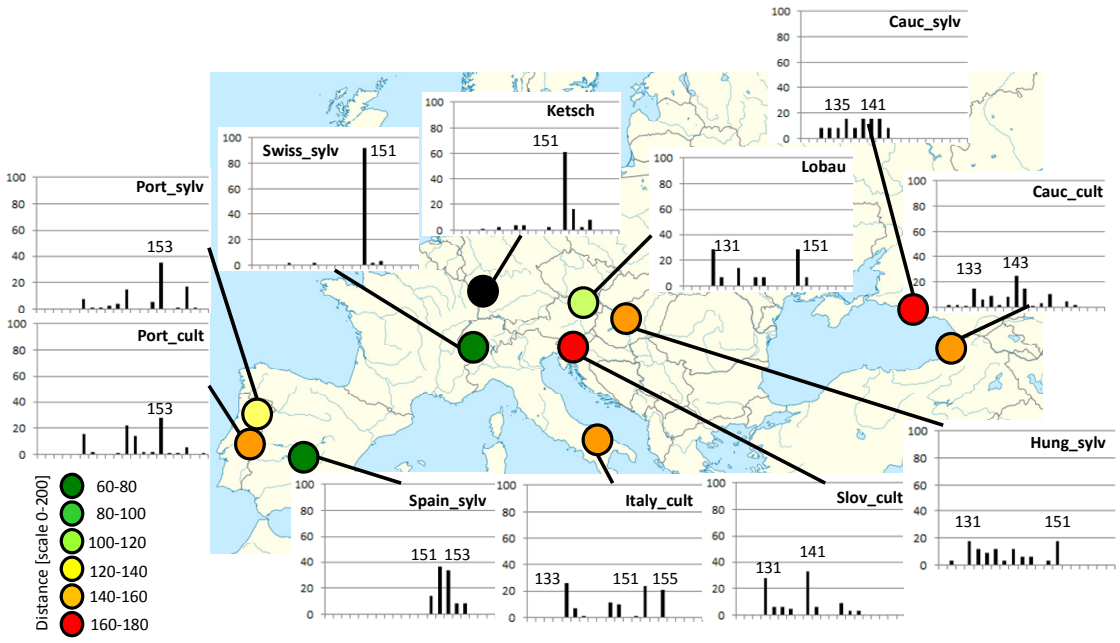

Abb 2: Häufigkeitsverteilung über die Länge des Mikrosatellitenmarkers VVS2 in verschiedenen europäischen Populationen von *sylvestris* (sylv) oder traditionellen autochthonen Kultursorten (cult). Der Farbcode gibt die genetische Distanz zur Ketscher Wildrebenpopulation an. Die Längen des jeweils vorherrschenden Mikrosatellitenallels in Basenpaaren sind in den Histogrammen angezeigt. Man beachte, dass die Ketscher Population für diesen Marker den westeuropäischen Populationen näher steht.

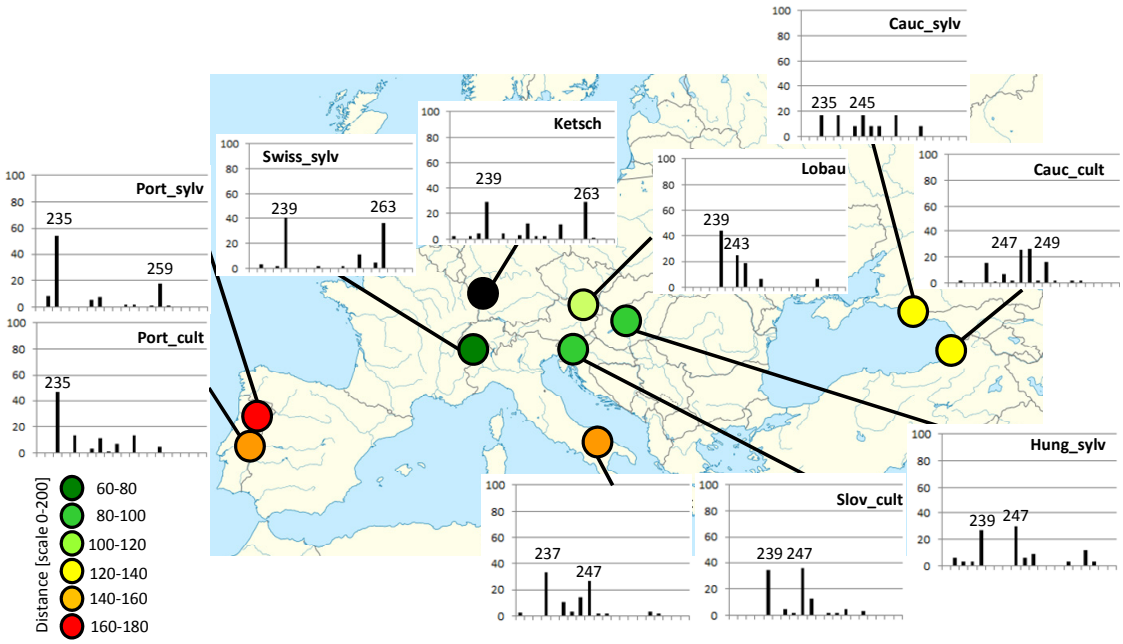

Abb 3: Häufigkeitsverteilung über die Länge des Mikrosatellitenmarkers VVD7. Details s. Abb. 2. Man beachte, dass die Ketscher Population für diesen Marker den osteuropäischen Populationen näher steht.

Eine breit angelegte molekulargenetische Studie plastidärer Marker von zahlreichen autochtonen Rebsorten führte jedoch zur Annahme, dass es für die Kulturrebe neben der (unbestrittenen) kaukasischen Domestizierung noch ein zweites Zentrum der Domestizierung im westlichen Mittelmeerraum gegeben haben könnte (ARROYO-GARCÍA et al. 2006). Da plastidäre Marker jedoch nur über die Mutter vererbt werden, weil die Plastiden des Pollens in der befruchteten Eizelle eliminiert werden, lassen sich Introgressionen und Hybridisierungen mit solchen Markern nicht verfolgen. In der Tat zeigte eine weitere Studie, bei der Basenaustausch-Ereignisse in kernkodierten Markern von mehr als 1000 Akzessionen domestizierter Kulturreben und Europäischer Wildreben analysiert wurden (MYLES et al.. 2011), dass die Kulturrebe nach ihrer Domestizierung in der Transkaukasusregion auf ihrem Weg nach Westen mehrfach Gene lokaler Wildrebenpopulationen aufgenommen hat.

Wir stehen hier also vor einem vielschichtigen Ausbreitungsgeschehen, wobei zunächst die Wildrebe von eiszeitlichen Refugien in Vorderasien und dem westlichen Mittelmeerraum her das zuvor vereiste Europa besiedelt hat. Nur wenig später drang auch die zuvor in Transkaukasien domestizierte Kulturrebe gemeinsam mit den Vorfahren der heutigen Europäer von Osten her nach Europa vor. Befeuert durch die großflächige Ausbreitung der mittelmeerischen Zivilisationen traf diese Ausbreitungswelle immer wieder auf lokale Populationen der Wildrebe und nahm dabei Gene aus der Wildrebenpopulation auf. Es ist nicht einzusehen, warum dieser Genfluss nur in einer Richtung aufgetreten sein soll. Man muss also davon ausgehen, dass die phönizischen, griechischen und römischen Reiche vermutlich auch in den jeweiligen Wildrebenpopulationen genetische Spuren hinterlassen haben. Dieser Frage müsste man freilich noch gezielt nachspüren.

Ein hypothetisches Modell, das die genetische Struktur und erstaunlich hohe Diversität der Ketscher Population erklären könnte (Abb. 4) nimmt an, dass die Donau als Wanderungsroute für die Introgression von kleinasiatischen und kaukasischen Wildreben nach Europa fungierte. Wildreben aus den fossil belegten eiszeitlichen Refugien im Rhônetal hingegen gelangten sowohl in die Rheinauen als auch westwärts bis zur iberischen Halbinsel (DE LUMLEY 1988).

Die mitteleuropäische Wasserscheide wäre daher so etwas wie ein genetisches Bassin, wo die Wiederausbreitungsbewegungen der Europäischen Wildrebe aufeinandertrafen und sich vermengten. Die so entstandene hohe genetische Diversität macht die Ketscher Wildrebenpopulation als Rohmaterial für die Arterhaltung natürlich besonders attraktiv. Diese Diversität ist jedoch auch der Startpunkt für die Nutzung dieser Population als genetische Ressource für den Nachhaltigen Weinbau.

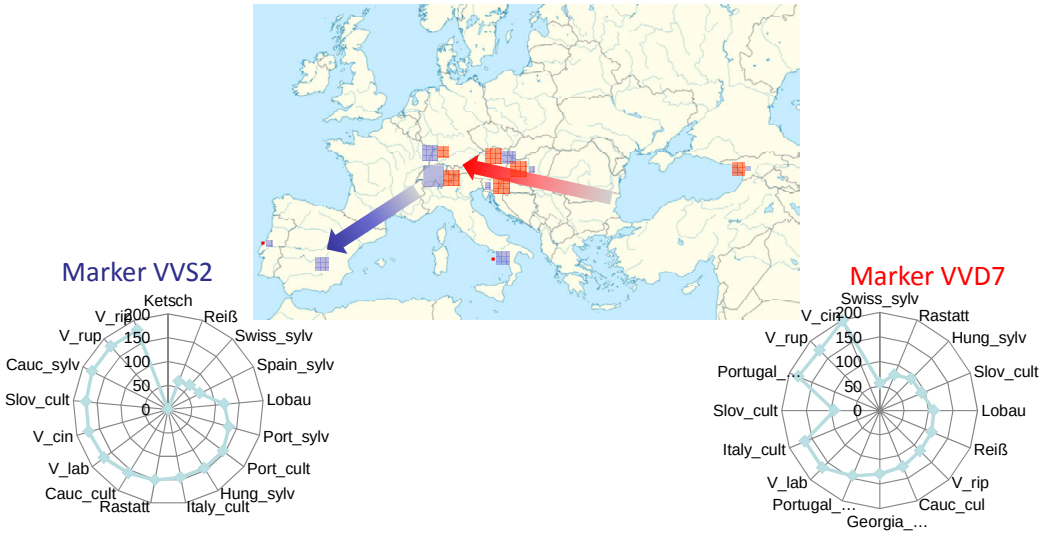

Abb 4: Hypothetisches Modell für den Genfluss während der nacheiszeitlichen Wiederbesiedelung von *V. sylvestris* basierend auf Distanzanalysen für die beiden Mikrosatellitenmarker VVS2 und VVD7. Für VVS2 zeigt sich ein Gradient der von Ketsch über Rhône, Ebro nach Portugal abfällt. Für VVD7 verläuft der Gradient von Ketsch aus gehend über Donau, Balkan nach Kleinasien und Kaukasus hin ab. Die Flächen der blauen Quadrate geben die Häufigkeit des 151-bp Allels für den Marker VVS2 in der jeweiligen Population an, rote Quadrate die Häufigkeit des 239-bp Allels für den Marker VVD7. Die Polarkoordinatendiagramme zeigen die genetische Distanz der untersuchten Populationen zur Ketscher Population für diese beiden Marker.

4 Kleiner Exkurs: Genetische Ressourcen und Nachhaltiger Weinbau

Als der Mensch Pflanzen in Kultur nahm, waren hohe Erträge, neben Standorteignung und Resistenzen ein wichtiges Kriterium. Seit Technisierung und Rationalisierung (vor allem auch durch den Einsatz von Pestiziden und Mineraldüngung) die Landwirtschaft immer unabhängiger vom Standort machte, verschärfte sich die Bevorzugung von Sorten mit hohem Ertrag bis hin zur Einseitigkeit. Diese Entwicklung ging oftmals mit dem Verlust von Eigenschaften einher, mit denen Wildarten ihre Umwelt meistern. Pflanzen verfügen über ein komplexes System der Ressourcen-Zuteilung - die Aktivierung von Stress-Resistenz geht in aller Regel auf Kosten des Wachstums. Dies ist für wildlebende Pflanzen sinnvoll, für den Menschen, der binnen kurzer Zeit möglichst hohe Erträge erwirtschaften will, von Nachteil. Vor allem im Zuge der sogenannten Grünen Revolution wurden daher durch die Entkopplung des Wachstums von solchen Kontrollsystemen viele der ursprünglich vorhandenen genetischen Faktoren, die zu einer Resistenz beitragen, über Bord geworfen. Inzwischen hat die Landwirtschaft einen Paradigmenwechsel durchgemacht – man hat begriffen, dass die einseitige Forcierung hoher Erträge nicht nachhaltig ist und hat nun großes Interesse, natürliche Resistenzfaktoren zu finden und über Züchtung in die anfälligen Elitevarietäten unserer Kulturpflanzen zurückzuführen. Da einige unserer Kulturpflanzen, darunter auch die Weinrebe, molekulargenetisch sehr gut untersucht und teilweise sogar vollständig sequenziert sind, kann man nun den natürlichen Züchtungsprozess durch molekulare Analyse

der Nachkommenschaft unterstützen. Wohlgemerkt, diese sogenannte molekulare Züchtung, oft auch *smart breeding* genannt, hat nichts mit der in der Öffentlichkeit sehr skeptisch diskutierten Grünen Gentechnik zu tun – die Resistenzgene der Wildpflanzen werden auf völlig natürlichem Wege, durch klassische Kreuzung, in die Kulturpflanze eingeführt. Die Molekularbiologie kommt erst dann ins Spiel, wenn unter den Hunderten von Nachkommen mithilfe molekulargenetischer Methoden diejenigen herausgefiltert werden, die das gewünschte Wildpflanzengen aufgenommen haben, aber ansonsten weitestgehend die Genetik des Kulturpflanzen-Elternteils beibehalten haben.

Der Weg, Resistenzgene aus Wildverwandten in die Kulturart einzukreuzen, hat bei der Weinrebe eine lange Tradition, die mehr als hundert Jahre zurückreicht. Die Historie dahinter ist in der Öffentlichkeit nur wenig bekannt, und sei daher hier kurz geschildert: Friedrich Hecker, der badische Revolutionär von 1848, emigrierte nach dem Scheitern seiner politischen Vision über die Schweiz in die USA. Dort wandte er sich dem wissenschaftlichen Weinbau zu. Vor allem die Reblaus, die den Weinbau komplett verwüstete, beschäftigte ihn besonders. Er beobachtete, dass dieses Insekt, das quasi als einer der Vorboten der biologischen Globalisierung nach Europa eingeschleppt worden war und dort den Weinbau fast zum Erliegen brachte, sich an den Wurzelstöcken amerikanischer Wildreben nicht vermehrte, so dass die Schäden an den Pflanzen recht milde blieben. In einem langjährigen Briefwechsel überzeugte er Adolph Blankenhorn, der in Karlsruhe 1868 mit eigenen Mitteln ein „Oenologisches Institut“ gegründet hatte, mit Sämlingen der Taylorrebe zu arbeiten (DÖBELE-CARLESSO 2007). Wurzelstöcke dieses spontan entstandenen Hybrids der amerikanischen Wildreben *Vitis riparia* und *Vitis labrusca* zeigten sich nämlich gegen die Reblaus als besonders resistent. Die Pfropfung auf „Amerikanerreben“ rettete letztendlich die deutsche Weinwirtschaft vor dem Niedergang und wird bis heute als sogenannte Veredelung flächendeckend praktiziert.

Im Gegensatz zu Hecker und Blankenhorn, die sehr sorgfältig vorgingen und die Wurzelstöcke aus Samen zogen, war man zu gleicher Zeit in der ebenfalls von der Reblaus arg in Mitleidenschaft gezogenen Region um Bordeaux weniger zimperlich und importierte gleich ganze Wurzelstöcke amerikanischer Wildreben. Damit vertrieb man den Teufel mit dem Beelzebub, weil einige dieser Wurzelstöcke mit Falschem und Echtem Mehltau infiziert waren. Vor allem der Falsche Mehltau, ein Oomycet (*Plasmopara viticola*, im Weinbau oft auch als Rebenperonospora bezeichnet) breitete sich binnen weniger Jahre über Europa hinweg aus, mit zum Teil katastrophalen Folgen für den Weinbau.

Der immense Aufwand für den Pflanzenschutz im Weinbau geht vor allem auf das Konto dieses Pathogens: Etwa 70 % des europäischen Fungizidverbrauchs geht in den Weinbau. Die traditionelle, auf Kupfer basierenden ‚Bordeauxbrühe‘ führte dazu, dass die Böden alter Weinberge immer noch stark mit Schwermetallen belastet sind. Es war auch hier Blankenhorn, der einen evolutionsbasierten alternativen Ansatz versuchte. Die nordamerikanischen Wildreben verfügen nämlich nicht nur über eine gute Resistenz gegen die Weinrebe, sondern waren im Osten der USA immer

schon einem Befall durch *P. viticola* ausgesetzt und kommen insgesamt recht gut mit diesem Erreger zurecht. Die Evolution hatte dieses Problem also schon gelöst. In einem Briefwechsel zwischen Hecker und Blankenhorn entstand daher die Idee, durch Kreuzung dieser resistenten Wildreben mit unseren anfälligen Kultursorten neue Rebsorten zu entwickeln, die nicht mehr befallen werden können.

Die Produkte dieser ersten Kreuzungen kann man vor allem in Süddeutschland noch vielerorts an den Hauswänden alter Bauernhöfe antreffen. Diese „Amerikanerreben“ sind ebenso robust wie derb im Geschmack. Vor allem der sogenannte „Fuchston“ wird von den meisten Menschen als unangenehm empfunden und schon Hecker versuchte vergebens durch raffinierte Keltermethoden, diesen „Fuchston“ loszuwerden. Durch eine über siebzigjährige komplexe Folge von Kreuzung und Rückkreuzung mit Kultursorten gelang es jedoch, Kultursorten zu entwickeln, die einerseits resistent sind, andererseits den unangenehmen Geschmack des amerikanischen Wildrebenvorfahren verloren haben (ALLEWELDT 2000). Inzwischen sind in Deutschland etwa 10% der Rebflächen mit solchen „pilzwiderstandsfähigen Reben“, kurz PiWi-Reben genannt bepflanzt, mit zweistelligen Zuwachsraten. Vor allem der sogenannte Ökoweinbau greift auf diese Rebsorten zurück.

Die Entwicklung von PiWi-Reben ist unseres Wissens das traditionsreichste Beispiel, wo man genetische Ressourcen aus Wildverwandten gezielt für die Züchtung von Kulturpflanzen eingesetzt hat. Und dieses Beispiel hat sich auf jeden Fall als Erfolgsgeschichte erwiesen: Wein aus der PiWi-Sorte ‚Regent‘ kann man inzwischen fast in jedem Supermarkt finden. Sollte man nun überhaupt noch nach weiteren Alternativen für diese schon erfolgreichen Varietäten suchen?

Leider besteht das Problem, dass die Resistenzen der nordamerikanischen Wildreben auf nur einem einzigen genetischen Faktor, *Rpv3*, beruhen. Durch die Pflanzung von PiWi-Reben erhöht sich natürlich der Selektionsdruck auf das Pathogen, die durch *Rpv3* verursachte Resistenz zu brechen. Tatsächlich mehren sich seit etwa zehn Jahren Berichte von neuen *Plasmopara*-Stämmen, die offenbar auch auf PiWi-Reben wie ‚Regent‘ erfolgreich siedeln können.

5 Neue Gene, alte Immunität – Europäische Wildreben als Ressource

Die an sich sehr erfolgreiche Strategie, den Weinbau durch Anbau von PiWi-Reben nachhaltiger zu machen, ist, wie oben dargestellt, bedroht, weil die Resistenz auf nur einem genetischen Faktor beruht.

Genau an dieser Stelle zeigte sich nun überraschenderweise, dass unser Erhaltungsprojekt für die Europäische Wildrebe eine wertvolle genetische Ressource für den nachhaltigen Weinbau gesichert hatte. Bei einer genaueren Untersuchung der Wildreben stellte sich nämlich heraus, dass einige gegen im Weinbau weit verbreitete Krankheiten wie Falscher Mehltau, Echter Mehltau oder Schwarzfäule, immun sind (TISCH et al. 2013). Sogar gegen die sich rapide ausbreitenden *Esca*-Krankheit konnten wir inzwischen Resistenzen finden. Diese ursprünglich aus dem Mittel-

meer stammende Krankheit führt dazu, dass holzzerstörende Pilze den Stamm einer Rebe förmlich aussagen, so dass der Stock nach 5 bis 10 Jahren plötzlich zusammenbricht. Infolge der globalen Erwärmung breitet sich diese neue und noch recht rätselhafte Krankheit in Mitteleuropa mit rapiden Zuwachszahlen aus (BERTSCH et al. 2009)

Um zu verstehen, warum dieser Befund so überraschend war, muss man sich das pflanzliche Immunsystem und seine Evolution etwas näher betrachten: Die für die PiWi-Reben genutzten Resistenzen amerikanischer Wildreben gegen den Echten und den Falschen Mehltau entstammen einer langen Koevolution von Wirt und Pathogen. Im Laufe dieser gemeinsamen evolutionären Geschichte haben die Pathogene sogenannte Effektormoleküle entwickelt, mit denen sie die Abwehr des Wirts unterdrücken. Der Wirt wiederum hat Rezeptoren entwickelt, mit denen er solche Effektormoleküle wahrnehmen und seine Abwehrmaschinerie wieder alarmieren kann. Diese „wieder angeschaltete“ Form von Immunität ist sehr wirksam und wird als *effector-triggered immunity* ETI bezeichnet (JONES UND DANGL 2006). In der evolutionär gesehen kurzen Zeitspanne seit 1870, als Echter und Falscher Mehltau von Bordeaux kommend sich in Europa ausbreiteten, konnten sich natürlich bei unseren Kulturreben keine solche ETI entwickeln.

Neben der ETI gibt es jedoch noch eine basale Immunität, die zwar nicht gegen ein bestimmtes Pathogen gerichtet ist, aber dennoch zu einer Resistenz beitragen kann. Diese basale Immunität ist auch bei unserer Kulturrebe noch vorhanden, wird aber langsamer aktiviert als bei den resistenten amerikanischen Reben. Alles was die Infektion behindert oder verlangsamt, wird daher der Abwehr des Wirts mehr Zeit verschaffen können. Das können Haare sein, Oberflächenwachse, aber auch die Bildung von wachstumshemmenden Stoffen. Im Gegensatz zu ETI werden solche Faktoren fast immer durch mehrere Gene vermittelt.

ETI wird dagegen in den meisten Fällen durch ein Gen verursacht, welches einen Rezeptor kodiert, der das Pathogen erkennt. Wenn ein Pathogen die Aktivierung dieses Rezeptors unterbindet, kann es also die Resistenz der Wirtspflanze überwinden. Wir vermuten, dass die neuen Stämme des Falschen Mehltaus genau einen solchen Weg gefunden haben. Damit ist eine neue Runde des evolutionären Wettrüstens zwischen Weinrebe und Pathogen eröffnet. Solche polygenische Resistenzen haben den Vorteil, dass sie evolutionär stabiler sind, weil das Pathogen hier mehrere Faktoren umschiffen muss.

Die Strategie, auf polygenische Resistenzen zu setzen ist noch relativ neu, wird aber bei der Apfelzüchtung durchaus schon länger genutzt. Hier hat man zunächst über ein Resistenz-Gen aus *Malus floribunda* Sorten wie Topas oder Rubinola erzeugen können, die gegenüber dem Apfelschorf resistent sind. Um nachhaltige Resistenzen zu entwickeln, die möglichst gegen Befall durch unterschiedliche Pathogene wirksam sind, werden nun durch Kreuzungen solche genetischen Faktoren zusammengeführt, um Apfellinien mit polygenischen Resistenzen zu erhalten (ŠESTÁK et al. 1992)

In zwei weiteren Projekten wird nun einerseits versucht, die Ursache für diese Resistenzen zu finden, zum anderen, diese Resistenzfaktoren über molekulare Züchtung in Kulturreben einzubringen, um so die Grundlage für eine neue Generation von PiWi-Reben zu legen, die evolutionär stabiler sein sollten als die derzeit im Weinbau eingesetzten Varietäten. Diese noch andauernden Arbeiten führten schon zu ersten und in dieser Form nicht erwarteten Ergebnissen: Es stellte sich heraus, dass einige der Ketscher Wildreben (die sich bestimmten Sippen der Population zuordnen lassen) in der Lage sind, besonders schnell und stark Stilbene zu bilden. Diese sekundären Pflanzenstoffe haben antimikrobielle Wirkung und können so das Eindringen eines Pathogens wirksam unterbinden (JEANDET et al. 2002). Die erhöhte Stilbenbildung lässt sich auf eine besonders gute Induktion des Gens Stilbensynthase zurückführen, das etwa doppelt so hohe Aktivitäten erreicht wie die Stilbensynthase unserer Kulturrebsorten. Durch eine Verkettung glücklicher Umstände konnten wir die Ursache dafür feststellen: bei den resistenten Wildreben fanden wir ein Genstück von etwa 300 Basenpaaren Länge, das den Kulturreben verlorengegangen ist. Dieses Genstück befindet sich im Promotor eines Transkriptionsfaktors, namens myb14. Über funktionelle Tests in einem sogenannten Promotor-Reporter System konnten wir in der Zwischenzeit nachweisen, dass dieses Genstück die Promotor-Aktivität von myb14 mehr als verdoppelt. Und nun schließt sich der Kreis, denn myb14 ist ein Schalter für die Stilbensynthase. Wir können nun also erklären, warum diese Ketscher Reben in Antwort auf eine Attacke viel mehr Stilbene bilden als unsere Kultursorten. Im Gegensatz zu den amerikanischen Resistenzfaktoren wirkt diese bessere basale Immunität nicht nur gegen das Pathogen, wogegen es die Pflanze entwickelt hat, sondern gleichsam als Breitbandwaffe für verschiedene Pathogene. Damit lässt sich also auch erklären, warum manche unserer Ketscher Wildreben auch gegen die (noch nicht einmal bekannten) Erreger der neuartigen *Esca*-Krankheit eine hohe Immunität aufweisen.

Diese Ergebnisse haben bereits zu Kreuzungen dieser Wildreben mit den Sorten Weißburgunder und Augster Weiß durchgeführt. Aktuell wird überprüft, in der Nachkommenschaft diejenigen Individuen herauszufinden, die vom Wildreben-Elternteil dieses myb14-Genstück geerbt haben. Gleichzeitig schürfen wir in den genetischen Schätzen unserer Wildrebenpopulation nach weiteren genetischen Schätzen, um damit in der Zukunft eine weitere Pyramidisierungsstrategie aufbauen zu können.

6 Fazit

Die Strategie, für die Erhaltung *ex-situ* die genetische Diversität der Wildrebe möglichst vollständig abzubilden, bekam nun, quasi über Nacht, den Nebeneffekt, dass damit wertvolle genetischen Ressourcen für den Nachhaltigen Weinbau entstanden waren.

7 Quellenverzeichnis

ALLEWELDT, G. (2000) Die Geschichte der Resistenzzüchtung von Reben in Deutschland - eine Erinnerung an B. Husfeld. Geilweilerhof aktuell **28**, 24–30.

ARRIGO N, ARNOLD C (2007) Naturalised *Vitis* Rootstocks in Europe and Consequences to Native Wild Grapevine. PLoS One **6**: e521.

ARROYO-GARCÍA RL, RUIZ-GARCÍA L, BOLLING L, OCETE R, LÓPEZ MA, ARNOLD C, ET AL (2006) Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. *ssp. sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. Mol Ecol 15: 3707–3714.

Bertsch, C., Larignon, P., Farine, S., Clément, C., Fontaine, F. (2009) The Spread of Grapevine Trunk Disease. Science **324**: 721.

DE LUMLEY, H. (1988) La stratigraphie du remplissage de la Grotte du Vallonnet. L'Anthropologie **92**: 407–428.

DÖBELE-CARLESSO, I. (2007) Adolph Blankenhorn / Friedrich Hecker. Briefwechsel 1872-1880. Carlesso-Verlag. ISBN 978-3-939333-04-3

JEANDET, P., DOUILLET-BREUIL, A.C., BESSIS, R., DEBORD, S., SBAGHI, M., ET AL. (2002) Phytoalexins from the Vitaceae: Biosynthesis, Phytoalexin Gene Expression in Transgenic Plants, Antifungal Activity, and Metabolism. J Agric Food Chem **50**: 2731–2741.

JONES, J.D.G, DANGL, J.L. (2006) The plant immune system. Nature **444**: 323–329.

KIRCHHEIMER, F. (1938) Beiträge zur näheren Kenntnis von Vitaceen-Samenformen tertiären Alters. Planta **28**: 582–598.

KVAVADZE, E., GAMBASHIDZE, I., MINDIASHVILI , G., GOGOCHURI, G. (2006) The first find in southern Georgia of fossil honey from the Bronze Age, based on palynological data. Vegetat Hist Archaeobot **16**: 399–404.

LEDESMA-KRIST GM, NICK P, DAUMANN J, MAUL E, DISTER E. (2014) Überlebenssicherung der Wildrebe *Vitis vinifera* L. *ssp. sylvestris* (C.C. Gmel.) Hegi in den Rheinauen durch gezieltes *in situ*-Management. Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung. http://download.ble.de/06BM001/06BM001.pdf

MYLES S, BOYKO AR, OWENSE CL, BROWN PJ, GRASSI F, ARADHYAG MK, PRINS B, REYNOLDS A, CHIA JM, WARE D, BUSTAMANTE CD, BUCKLER ES (2011) Genetic structure and domestication history of the grape. Proc Natl Acad Sci USA 104: 3530–3535.

RADKOWITSCH, A. (2010): Ungewöhnliche Partnerschaften im Artenschutz oder wie der Kleefarn zu kulinarischen Genüssen beiträgt. In: Lebendige Rheinauen. Verlag Regionalkultur: pp. 351–355.

TERRAL, J. F., TABARD, E., BOUBY, L., IVORRA, S., PASTOR, T., FIGUEIRAL, I., PICQ, S., CHEVANCE, J.B., JUNG, C., FABRE, L., TARDY, C., COMPAN, M., BACILIERI, R., LACOMBE, T., THIS, P. (2010) Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. Annals Bot **105**: 443–455.

ŠESTÁK, Z., KREKULE, J., TUPÝ, J., VAGERA, J., POLAÁK, Z. (1992) Plant physiology, genetics, biotechnology and pathology in the Institute of Experimental Botany of the Czechoslovak Academy of Sciences (1962–1992). Biol Plantarum **34**: 3–14.

TISCH, C., NICK, P., KORTEKAMP, A. (2013) Von wilden Reben lernen – Natürliche Resistenzen gegen die Schwarzfäule. Dtsch Weinbau Jb **65**: 118–122.

TURNER, C. (1968) A note on the occurrence of *Vitis* and other new plant records from the pleistocene deposits at Honne, Suffolk. New Phytol **67**: 333–334.

ZOHARY, D., HOPF, M., WEISS, E. (2012): Domestication of Plants in the Old World. The origin and spread of domesticated plants in south-west Asia, Europe, and the Mediterranean Basin. 4th ed., New York: Oxford University Press