

Reben für morgen – Weinbau mit Zukunft

Untersuchungen der Weinrebe (*Vitis spec.*) bezüglich ihrer Resistenz gegen den Echten Mehltau (*Erysiphe necator*) im Era-Net-PG-Projekt GRASP.

Die Weinrebe (*Vitis vinifera* L.) ist eine der weltweit wichtigsten Kulturpflanzen mit einer langen europäischen Tradition. Ihre Früchte dienen insbesondere der Produktion von Wein, Tafeltrauben und Rosinen. Allerdings weisen die europäischen Weinreben keinerlei Resistenzen gegenüber Schaderregern wie dem Echten und dem Falschen Mehltau (*Erysiphe necator* und *Plasmopara viticola*) auf. Diese beiden Krankheitserreger verursachen ohne regelmäßige Pflanzenschutzmaßnahmen große Qualitäts- und Ertragsverluste. Der Pflanzenschutz verursacht wiederum hohe Kosten und belastet die Umwelt.

Martina Rex, Reinhard Töpfer, Eva Zyprian

Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen; Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen

Die beiden Mehltauerreger haben ihren Ursprung in Nordamerika und sind im 19. Jhd. nach Europa eingeschleppt worden. Amerikanische und einige asiatische Wildreben (*Vitis spec.*) besitzen, im Gegensatz zur europäischen Art (*Vitis vinifera*), vielfach Resistenzeigenschaften gegen die Mehltaupilze. Allerdings ist die Qualität der Weine aus solchen Wildreben ungenügend. Um eine hohe Weinqualität mit der Resistenz gegen die Schaderreger zu kombinieren, werden daher neue Rebsorten gezüchtet. Die traditionelle empirische Züchtung einer neuen Rebsorte aus einer kontrollierten Kreuzung erfordert etwa 25 bis 30 Jahre. Diese Zeitspanne kann durch neue molekulare Techniken um bis zu 10 Jahre verkürzt werden.

In den letzten 15 Jahren wurden weltweit molekular-genetische Analysen der Weinrebe durchgeführt und soweit vorangebracht, dass im Jahr 2007 das Rebgenom vollständig sequenziert werden konnte (Jaillon *et al.*, 2007; Velasco *et al.*, 2007). Dies bie-

tet den Wissenschaftlern nun verbesserte Grundlagen zur Entwicklung Merkmals-gekoppelter molekularer Marker, die es ermöglichen, die Entwicklung neuer Rebsorten zu beschleunigen.

Im Rahmen des europäischen ERA-Net-PG-Verbundprojektes GRASP werden molekulare Marker entwickelt, die mit der Resistenz gegen den Echten und den Falschen Mehltau sowie mit Qualitätsmerkmalen von Kelter- und Tafeltrauben genetisch verknüpft sind. Diese Merkmals-gekoppelten Marker werden in der Züchtung neuer, mehltaresistenter Reben für die nachhaltige Produktion von qualitativ hochwertigen Trauben und Wein zum Einsatz kommen.

Am GRASP Projekt sind 17 Arbeitsgruppen aus sechs europäischen Ländern (Frankreich, Italien, Portugal, Spanien, Niederlande und Deutschland) beteiligt. Innerhalb des Projektes werden Erkenntnisse über die physiologischen und molekularen Mechanismen für Resistenz und Qualität der Weinrebe erarbeitet.

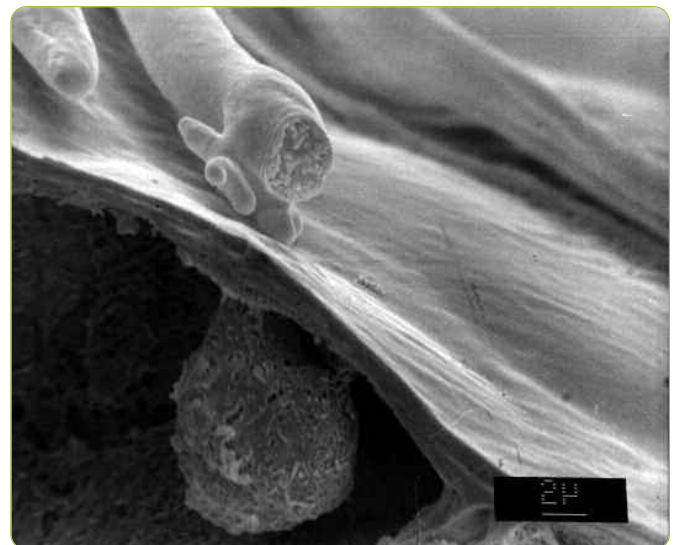
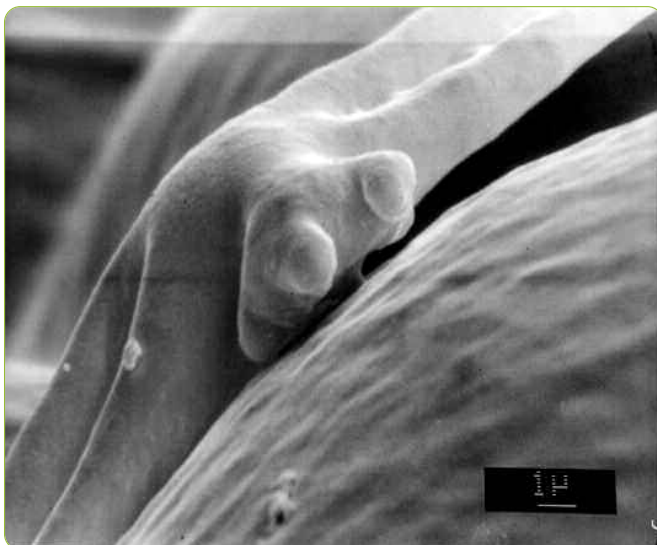


Abb. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Echtem Mehltau an der Rebe: a) Appressorium mit „Bohrhyphe“ und b) Haustorium innerhalb der Pflanzenzelle (Quelle: R. Wind, JKI-IRZ Geilweilerhof)

Arbeitsmaterial

Modul 3 Lebenssystem Pflanze



Abb. 2a): Blätter einer Rebsorte, deren Oberflächen mit Echtem Mehltau überzogen sind. b) Bei Befall mit Echtem Mehltau trocknet die Beerenhaut und die Beere platzt auf. Es kommt zum so genannten Samenbruch. (Quelle: D. Schneider, JKI-IRZ Geilweilerhof)

In Deutschland liegt der Schwerpunkt der Arbeiten auf der Untersuchung der Resistenz gegen den Echten Mehltau.

Der Echte Mehltau (*Erysiphe necator*) gehört zur Klasse der Schlauchpilze (Ascomyceten) und bildet einen grauweißen Belag auf allen grünen Rebsorten, den Blattoberseiten und den Beeren. Fällt eine Spore des Pilzes z. B. auf eine Beere, so beginnt sie nach kurzer Zeit auszukeimen und bildet Hyphen, aus welchen wiederum zahlreiche Haftorgane (Appressorien) entstehen. An der Unterseite der Appressorien entwickeln sich „Bohrhyphen“, die mechanisch in die Epidermiszellen eindringen, sich dort verzweigen und Saugorgane (Haustorien) bilden mit denen sich der Pilz ernährt (Abb. 1a und b). Junge Beeren wachsen nach Befall nicht mehr weiter und vertrocknen. Bei größeren Beeren kommt es zum so genannten „Samenbruch“ – die Beerenhaut platzt auf und die Samenkerne werden sichtbar (Abb. 2).

Um die Mechanismen der erfolgreichen Abwehr gegen den Echten Mehltau zu erforschen und Gene zu identifizieren, die damit im Zusammenhang stehen, waren in Vorarbeiten zunächst vergleichende Microchip-Analysen durchgeführt worden. Auf diesem Chip befand sich eine Reihe von Genen, deren Aktivität im Zusammenhang mit einer Abwehrreaktion gemessen werden konnte. Etwa 100 signifikant differenziell exprimierte Kandidatengene wurden in diesen Arbeiten ermittelt. Ein Satz von 27 Genen, die im Microchip-Experiment bei erfolgreicher Pilzabwehr induziert erschienen, wurden durch quantitative Echt-Zeit-PCR validiert (Welter, 2008). Eine Auswahl dieser Kandidatengene wird innerhalb des GRASP-Projektes nun weiter untersucht.

Dazu wurden zuerst Daten der Befallserhebung zur Mehltauresistenz, die am Geilweilerhof über viele Jahre erhoben wurden, zusammengestellt und ein Probensatz aus 45 resistenten, anfälligen und intermediären Reben ausgewählt. Über all diese Proben wurden die Kandidatengene sequenziert und Sequenzvarianten identifiziert, die für die Variation der Ausprägung der Resistenzeigenschaften verantwortlich sein könnten. Diese Veränderungen sind sowohl einzelne Basenaustausche (Punktmutationen) als auch kleine Insertions- oder Deletionsereignisse. Solche Verände-

rungen wurden erstaunlich häufig gefunden, ihre mittlere Frequenz beträgt 1/95 Basen. Um Varianten zu identifizieren, die eine funktionelle Rolle in der Mehltauresistenz der Weinrebe spielen, wurde anschließend nach den entsprechenden Veränderungen in der Aminosäuresequenz der Gen-kodierten Proteine gesucht.

Neben den kodierenden Regionen der Kandidatengene spielen ihre regulatorischen Promotorbereiche eine wichtige Rolle. Hier finden spezifische Wechselwirkungen mit DNA-bindenden Proteinen statt, die für die Steuerung der Aktivität (das „An- bzw. Abschalten“ der Transkription) des entsprechenden Kandidatengens verantwortlich sind. Aus diesem Grund werden auch die Promotorregionen der Kandidatengene untersucht. Sequenzvariationen (Einzelbasenaustausche oder Insertions-/ Deletionsereignisse) in diesen regulatorischen Bereichen zwischen resistenten und anfälligen Reben könnten zu einer unterschiedlichen Genregulation und damit einer verschiedenartigen Steuerung der Merkmalsausprägung führen.

Mit speziellen statistischen Verfahren können Assoziationen zwischen bestimmten Sequenzvarianten (einzelnen, indikativen Basenaustauschen) und der Ausprägung der Resistenzeigenschaft identifiziert werden. Das Auffinden einer positiven Assoziation führt im Idealfall zur Identifizierung eines Gens, welches für die Resistenz bzw. Anfälligkeit eine Rolle spielt, also für deren Ausprägung verantwortlich ist. Da es sich bei der Mehltauresistenz um ein quantitatives Merkmal handelt (d. h. es treten alle Übergänge von hoch resistent bis völlig anfällig bei den Weinreben auf), ist mit der Beteiligung mehrerer Gene zu rechnen. Ziel dieser Arbeiten ist daher, solche Assoziationsstudien innerhalb verschiedener am Geilweilerhof vorhandener Kreuzungspopulationen und einem ausgewählten Satz resistenter Reben aus der Rebensammlung des Instituts durchzuführen, um die Resistenzquellen zu erfassen.

Die identifizierten Basenaustausche können als molekulare Marker in der Züchtung neuer Rebsorten zur frühzeitigen Selektion von Kreuzungsnachkommen auf genetischer Ebene eingesetzt werden.

Arbeitsmaterial

Modul 3 Lebenssystem Pflanze



Abb. 3: Infektionsversuch mit Echtem Mehltau. a) Die Inokulation erfolgt durch direkten Kontakt der zu infizierenden Blätter mit einem bereits sichtbar infizierten Blatt. a) Die Kontrollpflanzen werden mit einem Blatt Papier berührt, um den Berührungsreiz der Inokulation nachzustellen.

Neben den Assoziationsstudien sollen für die Kandidatengene genauere Expressionsanalysen durchgeführt werden. Dazu werden zunächst verschiedene Rebsorten mit einem unterschiedlichen Resistenzgrad gegen den Echten Mehltau gezielt mit dem Pilz beimpft (Abb. 3). Über den Zeitraum der anschließenden 24 Stunden werden zu verschiedenen Zeitpunkten Proben genommen, die mit Hilfe der quantitativen Echt-Zeit PCR auf eine unterschiedliche Aktivität der Kandidatengene untersucht werden. Innerhalb der verschiedenen Expressionsmuster wird es dann möglich sein, Rückschlüsse auf frühzeitige Abwehrreaktionen der Pflanze gegen das Eindringen des Pilzes zu ziehen und damit den Mechanismus der erfolgreichen Abwehr verstehen zu lernen.

Literatur

- Jaillon O et al. French-Italian Public Consortium for Grapevine Genome Characterization (2007): The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449, 463-467
- Velasco R et al. (2007): A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *PlosOne* 2 (12)
- Welter, L.J. (2008): Genetic and molecular analysis of mildew disease resistance in grapevine. Dissertation, Universität Karlsruhe

Kontakt

Martina Rex und Eva Zyprian
JKI-Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen,
Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen
martina.rex@jki.bund.de, eva.zyprian@jki.bund.de

Arbeitsaufträge

1. **Lesen Sie den Artikel: „Reben für morgen – Weinbau mit Zukunft“.** Ziehen oder wählen Sie eine Wiederholungskarte. Setzen Sie sich mit dem Schwerpunkt auseinander und stellen Sie anschließend in der Wiederholung ihren Sachverhalt den anderen Schülern vor. Mögliche Themen für Wiederholungskarten: Mendelsche Regeln / molekulare Marker / Mutationen / Pilze / Züchtung / PCR / Proteinbiosynthese / Genregulation
2. **Informieren Sie sich im Internet über Weinarten, Weinbau, Mehltau, Schädlinge, Spritzmittel, deren Einfluss auf Mensch und Umwelt sowie deren Verbrauch usw.!** (z. B. www.smul.sachsen.de/lfl/publikationen/download/24_1.pdf)
3. **Warum werden Anstrengungen zur Verbesserung der Rebenqualität unternommen? Führen Sie wesentliche Aspekte an.**
4. **Erläutern Sie mit Hilfe eines Fließschemas die Vorgehensweise der Wissenschaftler "Reben für morgen" zu züchten.**
5. **Unterbreiten Sie Vorschläge, wie man die neuen Erkenntnissen sinnvoll einsetzen könnte.**