

Pollenflug und Auskreuzung bei Reben

Wie gross ist das Umweltrisiko beim Anbau gentechnisch veränderter Reben? Inwieweit ist bei einem angeblichen «Selbstbestäuber» wie der Weinrebe eine Auskreuzung der veränderten Erbsubstanz in benachbarte Bestände zu erwarten? Und wie weit werden Rebenpollen durch den Wind verfrachtet? In einer dreijährigen Pilotstudie wurden zur Beantwortung solcher Fragen am Julius-Kühn-Institut (JKI) für Rebenzüchtung Geilweilerhof in Siebeldingen (D) weltweit erstmals Untersuchungen zu Fremdbestäubung und Pollenflug mit gentechnisch veränderten Reben angestellt, die durch den Transfer eines Markers in ihr Genom das Wiederauffinden der veränderten DNA erlaubten.

MARGIT HARST UND REINHARD TÖPFER, JULIUS-KÜHN-INSTITUT FÜR REBENZÜCHTUNG, GEILWEILERHOF, SIEBELDINGEN (D)
margit.harst@jki.bund.de

Die Vision eines umweltschonenden, nachhaltigen Weinbaus umfasst zweifelsohne die Forderung nach einer Reduktion des Pflanzenschutzes oder der vollständige Verzicht auf die Verwendung chemischer Hilfsstoffe. Dieses Ziel kann durch verschiedene Massnahmen wie durch den Anbau pilzwiderstandsfähiger Rebsorten anvisiert werden. Da deren Vermarktung aber Probleme bietet, wird wohl der Anbau traditioneller Sorten auf absehbare Zeit von Bedeutung bleiben. Doch wie sollen die Winzer den Spagat zwischen einer umweltgerechten Bewirtschaftung mit deren Einschränkungen und der Nachfrage nach klassischen, aber pilzanfälligen Rebsorten mit dem notwendigen Pflanzenschutz schaffen?

Abb. 1: Dornfelder-Trauben.

(FOTO: HANS JÜSTRICH, LBBZ PLANTAHOF)



Zielgenaue Einführung der Pilzresistenz

Sicher wäre der Anbau klassischer Rebsorten mit einer verbesserten Pilzwiderstandsfähigkeit die optimale Lösung. Durch Kreuzungszüchtung ist dies jedoch kaum machbar, da die Neukombination der genetischen Eigenschaften ausgewählter Elternsorten in einer neuen Sorte mit andern Charakteristiken resultiert. Merkmale wie Pilzresistenz ohne Veränderung der Sortentypizität können nur über die Gentechnik eingebracht werden. Der Weg zur routinemässigen Anwendung gentechnologischer Verfahren in der Rebenzüchtung, geschweige denn in der Weinbaupraxis, ist jedoch mühsam und lang.

Unbedenklichkeitsfragen

Bei der Erforschung von Resistenzquellen aus Wildreben und ihrer Übertragung auf pilzanfällige Rebsorten müssen zwingend Untersuchungen zu möglichen Umweltrisiken bei einem zukünftigen Praxisanbau gentechnologisch veränderter Weinreben (gv-Reben) durchgeführt werden. Denn erst wenn die Unbedenklichkeit und die Nicht-Beeinflussung von Nachbarparzellen – also die sogenannte Koexistenz – erwiesen ist, kann über einen Anbau nachgedacht werden. Im Vorfeld dazu haben sich Wissenschaftler am JKI-Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof in Siebeldingen im Rahmen einer mehrjährigen Pilotstudie mit Fragen zur Ausbreitung des Rebpollens und zum Umfang einer Befruchtung benachbarter Rebstöcke (Auskreuzung) beschäftigt. In aufwendigen Untersuchungen wurden weltweit erstmals Daten zum Rebpollenflug sowie zur Auskreuzung in einer Freisetzungsfläche mit gv-Weinreben erhoben.

Und so macht man das ...

Der Freisetzungsversuch wurde 1999 angelegt und nach Versuchsende im Januar 2005 gerodet. Inmitten einer Versuchsparzelle wurden transgene Dornfelder-Reben angepflanzt. Diese gv-Pflanzen enthielten ein Markier-



Abb. 2: Unterscheidung von transgenem Dornfelder-Pollen (blau) und nicht transgenem Rebpollen (rot). Nicht transgener (l) und transgener (r) Rebensämling aus einer Befruchtung mit Pollen von gv-Dornfelder-Reben.

gen (*gus*-Gen), das bei entsprechender Behandlung des Gewebes eine Blaufärbung hervorruft. Durch die Farbreaktion kann die Genübertragung sichtbar gemacht werden. Pollen solcher gv-Reben sind damit durch das *gus*-Gen ebenfalls anfärbbar und können so nachgewiesen werden (Abb. 2). Ebenso diente das *gus*-Gen dem Nachweis einer Fremdbefruchtung. Nach einer Befruchtung mit transgenem Pollen in nicht gentechnisch veränderten Nachbarpflanzen kann die Nachkommenschaft bezüglich Auskreuzung überprüft werden. Aus den Trauben wurden die Samen übernommen und daraus Sämlinge gezogen. Färben sich Gewebeteile dieser Pflänzchen im Test blau, dann hat eine Befruchtung mit Pollen aus den gv-Dornfelder-Testreben stattgefunden (Abb. 2). Die *gus*-Reben sind deshalb ein sehr wertvolles Instrument, um Sicherheitsfragen annäherungsweise zu quantifizieren.

Flieg Pollen, flieg!

Die Kulturreben zählen zu den Selbstbefruchtern. Das Fruchtfleisch wird von der Mutterpflanze gebildet; nur die Samen tragen nach Fremdbefruchtung Gene des Pollenspenders. Das erklärt, weshalb rote und weisse Rebsorten nebeneinander stehen können, ohne sich genetisch zu beeinflussen. Auch wenn eine Fremdbestäubung durch Pollen aus der Nachbarparzelle erfolgt, sind die Trauben und die daraus hergestellten Weine sorten-

rein (Abb. 3). Um nun den Umfang des Pollenflugs von Reben auch zahlenmässig erfassen zu können, wurden im Zentrum des Versuchsfelds 30 gv-Dornfelder-Reben mit dem *gus*-Gen gepflanzt und mit einer Mantelpflanzung umgeben. Um die Distanz des Pollenflugs um die Pollenspender zu erfassen, wurden Pollenfallen aus Glas (Objektträger), die mit einer Klebefolie beschichtet waren, kreisförmig in verschiedenen Abständen (5, 10, 20, 50 m im ersten und zusätzlich 100 und 150 m im zweiten Versuchsjahr) in den Zeilen in einer Höhe von 1 m und 1.8 m um die Pollenspender platziert (Abb. 4). Die Pollenfallen wurden im Verlauf der in beiden Jahren zehn Tage dauernden Reblüte täglich gewechselt und zu Dauerpräparaten verarbeitet. Zur Auswertung wurden die Proben der gesamten Fläche einzeln unter dem Lichtmikroskop ausgezählt. In den zwei Versuchsjahren 2002 und 2003 waren insgesamt 2240 Pollenfallen positioniert. Wegen der zeitraubenden Auszählung im Mikroskop wurden in beiden Versuchsjahren nur die Pollenfallen der ungeraden Blütetage ausgewertet. Im Jahr 2003 wurden in der Hauptwindrichtung von NW nach SO alle Blütetage einbezogen.

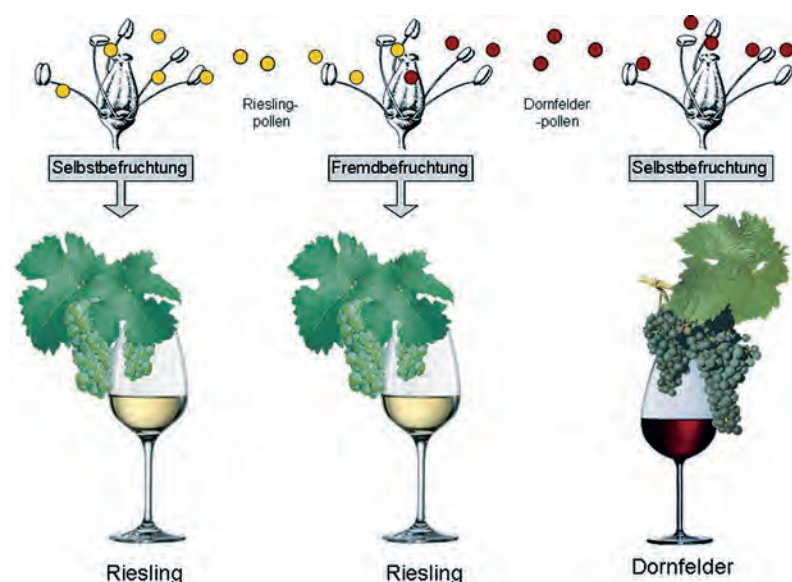


Abb. 3: Auswirkung der Befruchtung von Rebsorten auf die Weinherstellung.

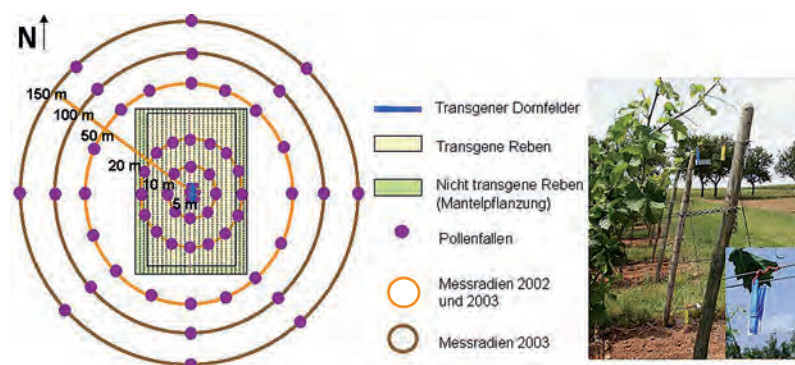


Abb. 4: Schema der Versuchsanordnung zur Erfassung des Pollenflugs transgener Dornfelder-Reben im Bereich der Freisetzungsfläche am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof.



Abb. 5: Bestimmung der Auskreuzungsrate in Sämlingen von Pollenempfängerpflanzen.

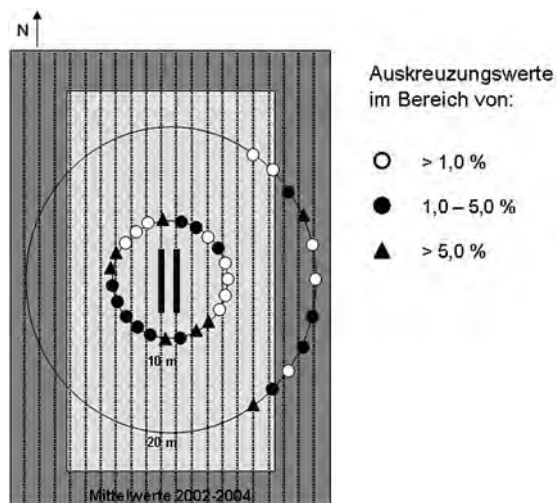


Abb. 6: Durchschnittliche Auskreuzungsraten im Mittel aller Versuchsjahre 2002 bis 2004 im Radius von 10 m und einem Sektor von 20 m Entfernung von den Pollenspenderpflanzen in der Hauptwindrichtung NW → SO.

Aufwendige Auswertung!

Zunächst wurde dabei der Rebpollen vom Pollen anderer Pflanzenarten getrennt und nach dem gus-Farbstoff der Anteil an gefärbten Rebpollen (Pollen der transgenen Dornfelder-Reben) von demjenigen «normaler» Reben unterschieden. Auf diese Weise konnten 2002 über 9100 nicht transgene Rebpollen in den Abstandsradien von 5 bis 50 m ausgezählt werden. Im darauffolgenden Jahr betrug ihre Anzahl auf der gleichen Anzahl Fallen im selben Abstandsbereich über 8600. In Relation zur Gesamtanzahl von rund 9000 nicht transgener Pollen konnten 2002 insgesamt 66 (0.73%) und im zweiten Jahr 62 (0.72%) transgene Rebpollen nachgewiesen werden. Da bereits im ersten Versuchsjahr bis auf die Maximaldistanz von 50 m zu den gv-Pollenspenderpflanzen transgene Rebpollen festgestellt worden waren, wurden

im zweiten Versuchsjahr weitere Pollenfallen in Abständen von 100 und 150 m angebracht. Die Auswertung der zusätzlichen Radien und der Pollenfallen aller zehn Blütentage entlang der Hauptwindrichtung ergab über 14 800 nicht transgene und 74 (0.5%) transgene Rebpollen. Entgegen den Erwartungen fanden sich Pollen in einer Entfernung bis zu 150 m von den gv-Reben.

Fremdbefruchtung?

Die Frage, ob Rebenblüten überhaupt fremdbefruchtet werden, kann klar bejaht werden. Mit Hilfe des transgenen Pollens konnte die Fremdbefruchtung sichtbar gemacht werden. Dazu wurden 2002 bis 2004 im 10 m-Radius an 23 vorausdefinierten Pollenempfänger-Stöcken sowie 2003 und 2004 in der Hauptwindrichtung bis zu 20 m Entfernung von den Pollenspenderpflanzen Trauben von elf Empfängerreben stockweise geerntet und die Samen herauspräpariert. Mit Hilfe der Schwimmprobe wurden die nicht keimfähigen Kerne (Schwimmer) entfernt und letztlich über 190 000 Samen im Gewächshaus angezogen. Nach dem Auskeimen (Abb. 5) wurden die Keimlinge vorsichtig der Erde entnommen, gewaschen und über Nacht angefärbt. Sämlinge aus Traubenkernen, die aus der Befruchtung mit transgenen Dornfelder-Pollen entstanden sind, sprechen auf die Farbreaktion an (Abb. 2). Der Anteil blau gefärbter Keimlinge im Verhältnis zur Anzahl der gekeimten Sämlinge ergibt dann die sogenannte Auskreuzungsrate, also das Mass für die Fremdbefruchtung, die in den oben genannten beiden Fällen 2% beziehungsweise 2.7% betrug.

GVO-Wein – ja oder nein?

Die Auskreuzungsraten im Abstand bis zu 20 m lagen wie erwähnt bei 2 bis 3%. An einzelnen Messpunkten wurden insbesondere in der Hauptwindrichtung (NW nach SO) Spitzenwerte von über 18% erfasst (Abb. 6). Da die Rebensamen für die Weinbereitung ein Abfallprodukt darstellen und nicht zur Mostbildung beitragen, stellt sich die Frage nach einer allfälligen Kennzeichnung solcher Weine. Dies wird durch den EU-Schwellenwert von 0.9% für unbeabsichtigte und technisch unvermeidbare gv-Beimengungen im primären Erntegut geregelt (EG Nr. 1829/2003). Somit wären nach derzeitiger Lesart die Weine aus Reben in der Nachbarschaft von gv-Reben entsprechend zu kennzeichnen. In wieweit das Entfernen der Kerne, wie bei der Weinbereitung üblich, eine andere Interpretation zulässt, bleibt offen.

Blick in die Zukunft

Diese Untersuchungen zur Sicherheitsbegleitforschung an GVO-Reben im Freiland erfolgten im Rahmen eines dreijährigen Projekts, das von der Stiftung Rheinland-Pfalz für Innovation und dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz unterstützt wurde. Die breit angelegten Versuche lieferten erstmalig Daten zum Pollenflug transgener Weinreben und den Nachweis der Auskreuzung in benachbarten Pflanzen. Die Ergebnisse allein sind jedoch nicht ausreichend für einen Anbau von gv-Reben oder für die praktische Umsetzung in Bezug auf Sicherheitsabstände. Die

Daten entstammen einer lokal sehr begrenzten Fläche mit nur 30 Pollenspenderpflanzen. Die quantitative Bestimmung von Auskreuzungsraten unter weinbaupraktischen Bedingungen könnte auch mit nicht transgenem Pflanzenmaterial erfolgen, beispielsweise durch den Einsatz rebsortenspezifischer Marker. Erste solche molekulare Marker stehen inzwischen zur Verfügung.

Fazit

Die Pilotstudie mit gv-Reben unter Freilandbedingungen hat ergeben, dass mit einer Auskreuzung zu rechnen ist. Es muss jedoch festgehalten werden, dass im Grunde genommen der Austrag von transgenem Rebpollen in benachbarte Weinberge für den bei der Weinbereitung üblichen Verarbeitungsprozess keine Rolle spielt, da nur mütterliches Gewebe, das Fruchtfleisch der Weinbeeren, verwendet wird. Dennoch müssten Kennzeichnungsfragen berücksichtigt werden. Für Verarbeitungsprodukte wie Traubenkernöl ist wegen der damit bekannten namhaften Auskreuzungshäufigkeit die Situation ohnehin anders zu werten. ■



Abb. 7: Rebblüte mit den prominent abstehenden Staubbeuteln, die die Pollen enthalten.

(FOTO: HANS JÜSTRICH, LBBZ PLANTAHOF)

Vol de pollen et xénogamie des vignes

R É S U M É

La méfiance envers les cultures transgéniques plantées à ciel ouvert tient notamment à la crainte d'une prolifération incontrôlée de patrimoine génétique modifié par des pollinisations croisées. Qu'en est-il pour les vignes dont les fruits se forment essentiellement par autopolinisation, mais où une pollinisation croisée par des pollens que charrie le vent n'est pas à exclure complètement ? Dans le travail commenté ici, l'étendue de telles pollinisations croisées spontanées a été étudiée sur des cépages Dornfelder auxquels on avait

implanté un gène de marquage qui a permis de retrouver leur pollen et des plantes de semis ainsi pollinisées. Résultat: des faibles quantités de pollen (1%) se retrouvaient à une distance d'environ 150 m de la plante souche. Les taux moyens de xénogamie se situaient tout de même à 2% dans un rayon de 10 m, avec des pics nettement plus élevés dans la direction principale du vent qui auraient nécessité une déclaration sur des vins qui seraient fabriqués à partir de ces cépages!