

CMS-Blumenkohl: natürliche Sterilität versus induzierte Sterilität

Auf dem Markt befinden sich verschiedene Blumenkohl- und Broccoli-Sorten (sowie auch Sorten anderer Gemüsearten) mit dem Vermerk CMS. Was bedeutet dieses CMS? Und was sind die Konsequenzen für den Züchter, für den Produzenten und für den Konsumenten?

Robert Theiler, Bettina Waltert und Santiago Torres Gomez; Eidg. Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, CH-8820 Wädenswil
E-Mail: robert.theiler@faw.admin.ch

CMS steht für «cytoplasmatische männliche Sterilität» und bedeutet, dass in den Antheren von Blüten kein keimfähiger Pollen gebildet wird. Diese Eigenschaft wird nur von der Mutterpflanze im Zellplasma zu 100% weitervererbt. Bei einer CMS-Pflanze kann es nicht zu einer Selbstbefruchtung kommen, eine Voraussetzung für die Hybridzüchtung.

Nebst der CMS tritt bei einzelnen Pflanzenarten auch noch die NMS (nukleare männliche Sterilität) auf, die im besten Fall zu 50% generativ weitervererbt wird. Im weiteren gibt es innerhalb einzelner Arten Selbststerilität, die ebenfalls für die Hybridzüchtung genutzt werden kann.

Im vorliegenden Artikel werden die beiden Systeme Selbststerilität und CMS näher erläutert. Dazu ist ein kleiner Abstecher in die Blütenbiologie und Züchtungsverfahren als Ausgangspunkt notwendig.

Blütenbiologie

Allgemein unterscheidet man Selbstbefruchter und Fremdbefruchter. Bei ersteren kann der Pollen der eigenen Blüte zur Befruchtung der Eizelle beitragen; bei letzteren ist die Befruchtung durch den eigenen Pollen nicht

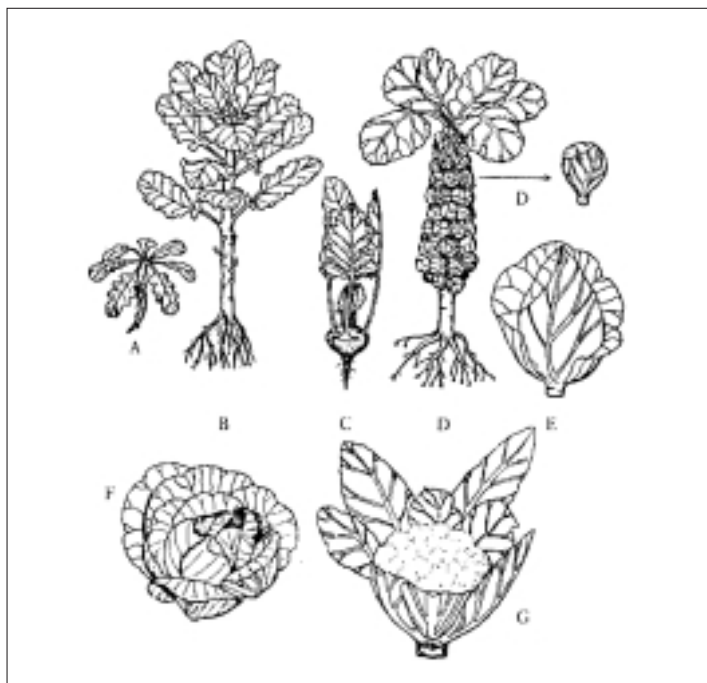


Abb. 1. A: Wildkohl; B: Blattkohl; C: Kohlrabi; D: Rosenkohl; E: Weiss- bzw. Rotkohl; F: Wirsing; G: Blumenkohl (modifiziert nach Transeau, Sampson & Tiffany: Lehrbuch der Botanik, 31. Auflage, Gustav Fischer Verlag, 1978).

Fig. 1. A: *chou sauvage*; B: *chou-feuille*; C: *chou-rave*; D: *chou de Bruxelles*; E: *chou blanc / rouge*; F: *chou frisé*; G: *chou fleur* (d'après Transeau, Sampson & Tiffany: Lehrbuch der Botanik, 31^{ère} édition, Gustav Fischer Verlag, 1978; liste modifiée).

möglich, so dass der Pollen einer anderen Pflanze für die Befruchtung und die weitere Samenbildung erforderlich ist. Die Fremdbefruchtung kann absolut sein (z.B. bei Süsskirschen) oder partiell (z.B. bei Kopf- und Blumenkohl). Die blütenbiologischen Voraussetzungen dafür sind Selbststerilität, NMS oder CMS und kommen natürlich vor, z.B. NMS oder CMS bei Karotten, Zwiebeln, Rettich oder Tomaten.

Die Selbststerilität beruht auf Selbststerilitätsgenen, die je nach Kombination zu keiner Befruchtung oder zur Befruchtung führen. Bei einzelnen *Brassica*-Arten sind über 40 solcher Sterilitätsgene bekannt. Für die Züchtung stellen die Sterilitätsgene nicht nur einen Vorteil, sondern auch einen Nachteil dar, weil Kreuzungen von Zuchtlinien mit den gleichen Sterilitätsgenen nicht möglich sind.

Zuchtverfahren

Ursprünglich wurden jeweils die besten Pflanzen eines Bestandes ausgewählt und für die Samengewinnung weiterkultiviert. Dieses als Auslesezüchtung bezeichnete Verfahren hat kulturhistorisch eine lange Tradition und bereits zu einer grossen Ertragssteigerung und zur Vielfalt der Nutzpflanzen geführt. Die daraus hervorgehenden Sorten werden als OP-Sorten bezeichnet (open pollinated = offen abgeblüht). Dieses Verfahren wird nach wie vor genutzt, z.T. in Verbindung mit Individualauslese, Kombinations- und Rückkreuzungsverfahren und ist in der Züchtung für den Bioanbau von Bedeutung. OP-Sorten können ohne weiteres wieder für die Saatgutproduktion verwendet werden. Die Erkenntnisse über die genetischen und blütenbiologischen Grundlagen

führten zur Hybridzüchtung. Diese basiert einerseits auf der Erzeugung von Inzuchtlinien und andererseits auf der Nutzung von Heterosiseffekten. Das Hybridsaatgut zeichnet sich gegenüber den OP-Sorten durch einheitlichere Bestände mit höheren Erträgen aus. Die Hybridzüchtung setzt voraus, dass bei der Saatgutproduktion in der Mutterlinie keine Selbstungen mehr auftreten, um die Reinheit des F1-Hybridsaatgutes sicherzustellen. Ein Nachbau von Hybridsorten bringt in der Folgegeneration (F2) uneinheitliche Nachkommen hervor, da sie sich genetisch aufspalten.

In der Hybridzüchtung werden verschiedene Linien – Mutter-, Vater- und Erhaltungslinien – verwendet. Die Mutterlinie sollte selbststeril sein, um Inzucht zu vermeiden, da nur von diesen Pflanzen Saatgut gewonnen wird. Die Vaterlinie ist meist selbstfertil und wird nur zur Bestäubung der Mutterlinie verwendet. Die Erhaltungslinie dient zur weiteren Vermehrung der Mutterlinie (restorer-line).

Die Züchter sind daran interessiert, Hybridsaatgut zu produzieren, da sie dadurch einen natürlichen Schutz ihrer Sorten haben. Für den Produzenten bedeutet dies, dass er diese Sorten nicht mehr für die weitere Saatgutproduktion verwenden kann und jeweils neues Saatgut kaufen muss.

CMS in Blumenkohl und Broccoli

Innerhalb der Familie der Kreuzblütler (*Brassicaceae*) zeichnet sich die Wildkohllart *Brassica oleracea* durch eine hohe Variabilität aus, die zu vielfältigen Formen (Abb. 1) geführt hat. Die Vielfalt ist teilweise spontan in Kultur oder durch Kreuzungen zwischen den Unterarten entstanden. Um einzelne, ausgewählte Formen möglichst phänotypisch rein zu erhalten, muss dies durch Auslese, Selbstungen, Rückkreuzungen und Hybridisierung erfolgen. Die Kohllarten sind mehrheitlich Fremdbefruchter, jedoch nicht reinerbig, so dass die Nachkommen eine ge-

wisse Aufspaltung in den ausgelesenen Merkmalen aufweisen. Durch das Einkreuzen von CMS erhoffte man sich homogenere F1-Hybriden, als dies durch Nutzung der Selbststerilität möglich ist. Da die CMS in Blumenkohl oder Broccoli nicht vorkam, griff man auf interspezifische Kreuzungen zurück.

Einbau der CMS von Rettich in Blumenkohl und Broccoli

Im Rettich (*Raphanus sativus*) kommt CMS natürlich vor (Ogura-Typ). Durch Kreuzung von Rettich mit anderen *Brassica*-Arten versuchte man die CMS auf Blumenkohl zu übertragen. Dies gelang, allerdings mit phänotypischen Defekten, so dass die Nachkommen dem Blumenkohl z.T. nicht mehr sehr ähnlich waren. Erst durch intensive Rückkreuzung mit bewährten Blumenkohlsorten und durch strenge Selektion konnten CMS-Mutterlinien aufgebaut werden, die auch züchterisch nutzbar waren. Ausgehend von diesen Mutterlinien konnte die CMS für weitere Hybridzüchtungen verwendet werden. Aus dieser knappen Darstellung der Arbeitsabläufe wird deutlich, dass der Einbau von CMS arbeitsintensiv und teuer ist.

Der Einbau der CMS erfolgte bei Blumenkohl mit Hilfe der klassischen Zuchtverfahren, Kreuzungen, Selektion und Rückkreuzungen. Ein weiteres Verfahren, welches in den letzten Jahren in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben wurde, ist die Über-

tragung der CMS mittels Protoplastenfusion. Dabei wird auf isolierte Zellen von CMS-Formen (Rettich, Raps oder bereits durch Einkreuzung gewonnener CMS-Blumenkohl) zurückgegriffen, um diese mit Zellen von hochwertigem Zuchtmaterial zu verschmelzen (Abb. 2, s. S. 18). Dieses Verfahren wird im Labor unter sterilen Bedingungen auf definierten Nährmedien durchgeführt (In-vitro-Kultur). Es setzt voraus, dass aus Zellen wieder ganze Pflanzen regeneriert werden können. Es liegen bereits Sorten vor, die mit diesem Verfahren (Hybri Top) hergestellt wurden (s. Tabelle). Alle übrigen CMS-Sorten gehen auf natürliche Kreuzungs- und Selektionsverfahren zurück, bei denen die CMS hauptsächlich von Ogura-Typen verwendet wurde. Die Zusammenstellung zeigt, dass die Firmen Clause/Tezier und Nickerson Zwaan das grösste Angebot an CMS-Sorten haben.

Bedeutung für die Produktion und für den Konsumenten

Die Vorteile für die Produktion sind sicherlich in der besseren Ausgeglichenheit bezüglich Wachstum, Kopfinduktion und Entwicklung zu sehen, was ein Ernten in wenigen Durchgängen erlaubt. Diese Verbesserung gegenüber OP-Sorten oder herkömmlichen Hybriden ist jedoch mit einem höheren Saatgutpreis zu erkaufen. Im weiteren darf nicht vergessen werden, dass sich der Hybrideffekt nur auf einzelne Pflanzenmerkmale auswirkt,

Glossar

Antheren: Staubbeutel, Pollensack, Träger der Pollenkörner
Cytoplasma/Zellplasma: Zellflüssigkeit als Träger von Zellkern, Chloroplasten, Mitochondrien usw.
generativ: geschlechtliche Fortpflanzung
Genotyp: die genetische Gesamtheit einer Pflanze
Heterosis: Leistungssteigerung in der F1-Generation (Hybrid)
Hybrid: Nachkommen aus zwei isogenen Linien
in vitro: «im Glas», Laborverfahren zur vegetativen Vermehrung isolierter Gewebe oder Zellen
Inzucht: Paarung von Individuen gleicher Elternpflanzen, Nachkommen aus Selbstbefruchtung
Isogenie: gleicher Erbstand von Individuen reiner Linien
Phänotyp: das äussere Erscheinungsbild einer Pflanze
Protoplast: von der Zellwand befreite pflanzliche Zelle
restorer-line: ermöglicht die Rückgewinnung der Pollenfertilität in CMS-Linien
selbstfertil: Selbstbefruchter
selbststeril: Fremdbefruchter (Sterilitätsgene)
vegetativ: ungeschlechtliche Fortpflanzung, z.B. über Stecklinge oder in vitro
zwittrig: weibliche und männliche Geschlechtszellen in der gleichen Blüte

z.B. bei Blumenkohl und Broccoli auf die Frühzeitigkeit oder auf die Kopfform und -bildung.

In der ganzen Diskussion um Hybridsorten darf jedoch neben dem züchterischen Fortschritt der Einfluss der Umwelt auf die Sorte und auf deren Anbau nicht vergessen werden, so dass die unter kontrollierten Bedingungen getesteten Eigenschaften einer Sorte je nach Standort und Witterungsverhältnissen nur teilweise zum Tragen kommen können. Am Ende hat der Produzent zu entscheiden, welche Sorte für seinen Standort am besten geeignet ist. Der Konsument wiederum dürfte von einheitlicheren Produkten bezüglich Grösse und Qualität profitieren. Allerdings wird auch hier die Qualität von anderen Faktoren, wie Angebot und Nachfrage oder der Behandlung beim Grossverteiler, beeinflusst.

CMS und der Bioanbau

Mit der Revision der Bio-Verordnung werden voraussichtlich ab 2004 die CMS-Sorten, welche teilweise aus Protoplastenfusionen entstanden sind, für den Bioanbau nicht mehr zugelassen sein. Einige der grossen Saatgutfirmen sowie die Bio-Saatgutproduzenten bieten Blumenkohl und Broccoli explizit unter dem Label BIO an:

Blumenkohl

Celesta (RZ), Asterix (RZ), Gregor (RZ), Candid Charm F1 (HILD), Alpha (Sativa), Winter Blumenkohl Selektion Z (Zollinger).

Broccoli

Costal (Sativa), Costal Selektion Z (Zollinger).

Tabelle. Anzahl der CMS-Sorten bei Blumenkohl und Broccoli im Angebot verschiedener Züchter (entnommen aus: Kataloge 2001 & 2002; ohne Gewähr auf Vollständigkeit).

Tableau. Nombre de variétés CMS de chou-fleur et de brocoli mis en vente par diverses maisons (source: catalogue 2001 & 2002; sans garantie d'exhaustivité).

Pflanzenart/ espèce végétale	Züchter/ obteneur	Anzahl CMS-Sorten/ Nombre de variétés CMS
Blumenkohl/ chou-fleur	CL	23, davon/dont 9 Hybri Top*
	EZ	1 (Vital F1)
	NIZ	11, davon/dont 8 Hybri Top*
	SG	4
Broccoli/ brocoli	CL	1 (Tambora F1)
	SG	2 (Monaco F1, Monopoly F1)

* Auf dem genetischen Ausgangsmaterial besteht ein Patent des Institut National de la Recherche agronomique (INRA), Frankreich.

* Un brevet de l'Institut National de la Recherche agronomique (INRA), France, protège le matériel génétique de base.

Chou-fleur CMS: stérilité naturelle ou induite

(Trad.) Que signifie la mention CMS désignant certaines variétés de choux-fleurs et de brocolis (ou d'autres légumes) commercialisées? Quelles conséquences en découlent-elles pour les obtenteurs, les producteurs et les consommateurs?

Robert Theiler, Bettina Waltert et Santiago Torres Gomez; Station fédérale de recherche en arboriculture, viticulture et horticulture, CH-8820 Wädenswil; e-mail: robert.theiler@faw.admin.ch

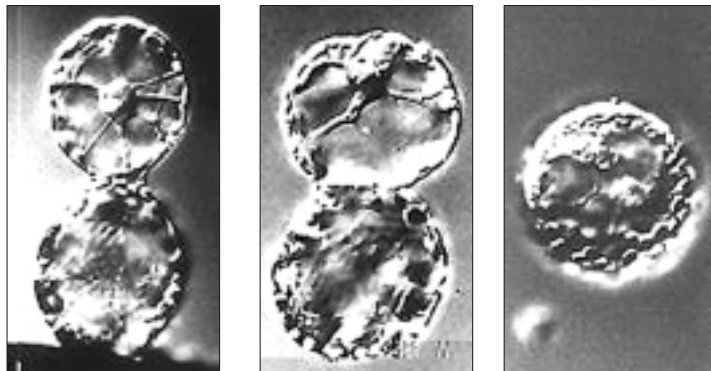


Fig. 2. Fusion de protoplastes: deux protoplastes de végétaux différents avant fusion, en début de fusion et après fusion (de gauche à droite). (source: <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online29/29c.html>)

Abb. 2. Protoplastenfusion: Zwei Protoplasten von unterschiedlichen Pflanzen vor, zu Beginn und nach der Fusion (von links nach rechts).

La stérilité mâle cytoplasmique (CMS) désigne le fait que les anthères des fleurs produisent un pollen biologiquement inactif. Cette propriété est transmise à 100% par le cytoplasme de la plante mère. Les plantes CMS sont donc dans l'impossibilité de s'autoféconder, ce qui est une des conditions indispensables pour l'obtention des hybrides.

Certaines espèces végétales connaissent non seulement la CMS, mais aussi la NMS (= stérilité mâle génique), facteur qui se transmet au mieux à 50% par reproduction générative. Certaines espèces sont par ailleurs autostériles, propriété que l'on peut aussi utiliser pour l'obtention de lignées hybrides.

Dans l'article qui suit, les auteurs présentent l'autostérilité et la CMS, ce qui nécessite un petit détour explicatif relatif aux systèmes de reproduction des végétaux et aux procédés d'obtention.

La reproduction générative

Sur un plan général, on distingue plantes autogames et plantes allogames. Les fleurs des premières produisent du pollen capable de féconder les ovules de la même plante; les ovules des secondes doivent par contre obligatoirement être fécondés par du pollen d'autres plantes. Le

degré d'allogamie, total (p.ex. cerisier) ou partiel (p.ex. chou, chou-fleur) dépend d'un mécanisme d'autostérilité, NMS ou CMS dont on connaît des exemples naturels, p.ex. la NMS ou la CMS des carottes, des oignons, des radis blancs ou des tomates.

L'autostérilité est due à des gènes qui, suivant leur combinaison, permettent ou non l'autofécondation. On a jusqu'à présent répertorié plus de 40 gènes stérilisants de ce type parmi les espèces du genre *Brassica*. Ces gènes présentent des avantages, mais aussi des inconvénients; ils rendent en effet impossibles les croisements entre lignées contenant les mêmes gènes d'incompatibilité.

Procédés d'obtention

Au départ, la sélection consistait à choisir les meilleures plantes d'une culture et de les laisser produire des semences. Cette sélection, au sens strict du terme, a une longue tradition, et les civilisations humaines en ont très tôt compris l'utilité. Elle a déjà permis d'importantes améliorations du rendement et une forte diversification des cultures. Les variétés ainsi créées s'appellent variétés à pollinisation libre (OP, open pollinated). Cette méthode de sélection, parfois combinée avec le tri des individus, les croi-

sements combinés et les rétrocroisements, est toujours en usage et conserve une place importante en agriculture biologique. On peut sans problème utiliser les variétés OP pour la production de nouvelles semences.

Les nouveaux acquis scientifiques en génétique et en biologie du système de reproduction ont permis l'obtention de lignées hybrides. Pour ce faire, on crée des lignées dites consanguines et profite des effets d'hétéroïse. Les plantes issues de semences hybrides se développent de manière plus uniforme et ont un meilleur rendement que les variétés OP.

L'obtention des hybrides dépend de la pureté génétique des semences F1, raison pour laquelle il est indispensable d'empêcher l'autofécondation au sein de la lignée femelle. Les plantes issues des semences hybrides (génération F2) donnent des populations hétérogènes (ségrégation génétique).

L'obtention des hybrides fait appel à des lignées parentales mâles et femelles ainsi que des lignées dites de restauration de la fertilité. La lignée parentale femelle, dont sont issues toutes les semences, doit être autostérile; il faut en effet pouvoir s'assurer de l'homogénéité génique de ces semences et pour cela éviter tout risque d'autofécondation. La lignée parentale mâle, en principe autofé-

condante, sert exclusivement à la pollinisation des fleurs de la lignée parentale femelle. Quant à la lignée dite de restauration de la fertilité (restorer-line), elle sert à la multiplication des plantes de la lignée femelle.

Les obtenteurs ont intérêt à produire des semences hybrides, qui confèrent une protection naturelle à leurs variétés. Le producteur ne peut par contre pas utiliser les semences des variétés hybrides pour la multiplication; il doit se réapprovisionner à chaque nouvelle saison.

La CMS du chou fleur et du brocoli

Au sein de la famille des crucifères (*brassicacées*), la forme sauvage *Brassica oleracea* se distingue par sa variabilité prononcée, qui est à l'origine des variétés innombrables que l'on connaît (fig. 1, v. p. 16). Les nouvelles variétés sont soit le fruit du hasard (apparition spontanée en culture et multiplication), soit le résultat de croisements entre sous-espèces. Pour obtenir un phénotype aussi constant que possible, il faut procéder par tri de plantes, par autofécondation, par rétrocroisements et par hybridation. Les *brassicacées* sont généralement allogames, mais non isogéniques, si bien que les générations filles présentent un certain degré de ségrégation génique des caractères sélectionnés. L'introduction de la CMS, par croisement, avait pour but la création de plantes d'hybrides F1 plus homogènes que les plantes obtenues par autostérilité. La CMS n'existant pas à l'état naturel dans les choux-fleurs ou les brocolis, les chercheurs ont fait appel aux croisements interspécifiques.

Incorporation de la CMS du radis au patrimoine génétique du chou-fleur et du brocoli

La CMS existe à l'état naturel dans le radis blanc (*Raphanus sativus*) de type Ogura. Pour l'intégrer au patri-

moine du chou-fleur, il a fallu procéder à des croisements intermédiaires avec d'autres espèces de *Brassica*. Dans un premier temps, elle était cependant liée à certains défauts au niveau du phénotype, si bien que la descendance obtenue ne ressemblait plus guère au chou-fleur. Ce n'est que grâce à une politique systématique de rétrocroisement avec des variétés de choux-fleurs traditionnelles et à une sélection très stricte qu'on est parvenu à obtenir des lignées femelles utilisables en culture. Ces lignées mères une fois obtenues, il a été possible de transmettre la CMS aux lignées hybrides. Cette opération complexe a naturellement exigé des efforts importants et été très onéreuse.

Pour l'intégration de la CMS au génome du chou-fleur, décrite ci-dessus, les chercheurs ont eu recours aux méthodes d'obtention classiques, soit aux croisements, à la sélection des plants et aux rétrocroisements. Il existe cependant un autre procédé, dont on trouve la description dans les ouvrages scientifiques parus sur le sujet ces dernières années, la fusion de protoplastes. Pour ce faire, on isole des cellules de variétés CMS (radis, colza, chou-fleur CMS obtenu par croisement), que l'on fait fusionner avec des cellules de matériel génétique de haute valeur (fig. 2). Le travail en question se fait en laboratoire, dans des conditions d'asepsie où les cellules sont mises en culture sur des milieux nutritifs bien définis (culture in vitro). La condition première est que ces cellules pourront donner des plants viables. Il existe déjà des variétés obtenues par ce procédé (Hybri Top; voir tableau p. 17). Les autres variétés CMS ont toutes été obtenues par des méthodes de croisement et de sélection naturelles, reposant principalement sur la CMS de type Ogura. La liste qui suit montre que les maisons Clause/Tezier et Nickerson Zwaan sont celles dont l'offre de plants CMS est la plus vaste.

Conséquences pour les producteurs et pour les consommateurs

A l'échelon de la production, ces variétés nouvelles présentent comme principal avantage d'être plus homogènes (croissance, induction et forma-

tion de la tête), ce qui permet d'économiser des passages à la récolte. Cette amélioration par rapport aux variétés OP ou aux hybrides traditionnels a naturellement un prix, qui est répercuté sur le prix de vente des semences. Il faut par ailleurs encore savoir que l'effet d'hybride ne se fait sentir que sur certains caractères. Dans le cas du chou-fleur ou du brocoli par exemple, il porte surtout sur la précocité des plantes et sur la forme ainsi que sur le développement de la tête. Le débat sur les variétés hybrides ne doit pas faire oublier non plus que les progrès en termes de sélection n'éliminent pas l'influence de l'environnement sur la variété en question et sur sa culture. Les caractères étudiés dans des conditions contrôlées sont influencés par les conditions locales et les facteurs climatiques, et peuvent donc ne pas s'exprimer totalement. C'est donc en définitive au producteur de décider de la variété convenant au mieux à son domaine.

Le consommateur compte également au nombre des bénéficiaires, car il pourra acheter des produits de calibre et de qualité plus homogènes, même s'il ne faut pas oublier dans ce contexte l'effet d'autres facteurs sur la qualité du produit vendu, notamment la situation au niveau de l'offre et de la demande, ou encore le traitement que lui réserve le grand distributeur.

CMS et l'agriculture biologique

Une fois révisée, soit dès 2004, l'ordonnance sur l'agriculture biologique interdira vraisemblablement l'utilisation des variétés CMS, partiellement obtenues par fusions de protoplastes, en agriculture biologique. Déjà, certaines grandes maisons de semences ainsi que les producteurs de semences biologiques vendent expressément des semences de choux-fleurs et de brocolis sous le label BIO:

Chou-fleur

Celesta (RZ), Asterix (RZ), Gregor (RZ), Candid Charm F1 (HILD), Alpha (Sativa), Winter-Blumenkohl Selektion Z (Zollinger)

Brocoli

Costal (Sativa), Costal Selektion Z (Zollinger). ■

Glossaire

Anthères: sacs polliniques, contiennent les grains de pollen

Autofertile: plante dont le pollen est capable de féconder les ovules

Autostérile: plante à fertilisation croisée obligatoire (gènes stérilisants)

Consanguinité: fécondation entre individus issus de mêmes parents, désigne aussi les descendants résultant d'une autofécondation

Cytoplasme/plasma cellulaire: liquide emplissant la cellule et entourant le noyau, les chloroplastes, les mitochondries, etc.

Génotype: patrimoine génétique de la plante

Hermaphrodite: se dit de plantes dont les fleurs sont à la fois mâles (productrice de pollen) et femelles (ovules)

Hétéroze: effet amplificateur de l'hybridation sur le rendement des hybrides de génération F1

Hybrides: descendants issus du croisement de deux lignées isogéniques

Isogènes: individus de lignées pures, au patrimoine génétique identique

Méthode in vitro: «sous verre», procédé de multiplication végétative de cellules ou de tissus isolés

Phénotype: aspect extérieur d'une plante

Protoplaste: cellule végétale dépourvue de sa paroi cellulaire

Reproduction générative: multiplication par voie sexuée, obtention de semences

Reproduction végétative: multiplication asexuée, p.ex. par bouturage ou par méthode «in vitro»

Restorer-line: lignée permettant de redonner leur fertilité pollinique aux plantes des lignées CMS femelles