

Erstes Feuerbrandresistenzgen isoliert

Wissenschaftler kommen der Züchtung neuer Sorten mit dauerhafter Feuerbrandresistenz einen wesentlichen Schritt näher

Die meisten Apfelsorten, die heute im Erwerbsobstbau angebaut werden, sind anfällig gegenüber der vom Bakterium *Erwinia amylovora* hervorgerufenen Feuerbrandkrankheit. Da eine effektive Bekämpfung dieser Krankheit schwierig ist, suchen Experten weltweit nach Möglichkeiten, neue Sorten zu züchten, die gegenüber der Feuerbrandkrankheit dauerhaft resistent und gleichzeitig schmackhaft sind. Wissenschaftler aus verschiedenen Ländern untersuchen deshalb seit Jahren die genetischen Grundlagen der Feuerbrandresistenz.

Kürzlich ist es Forschern des Julius Kühn-Institutes (JKI) gemeinsam mit Kollegen von der ETH in Zürich und Agroscope Wädenswil (beide Schweiz) gelungen, ein erstes Feuerbrandresistenzgen aus dem Wildapfel *Malus xrobusta 5* zu isolieren. Darüber hinaus gibt es bereits erste Erkenntnisse über dessen Funktion und seinen möglichen Nutzen für die Züchtung. Die Wissenschaftler konnten zeigen, dass das Resistenzgen in einer noch unbekanntem Art und Weise ein Protein des Feuerbranderreger erkennt. Infolge dieser Erkennungsreaktion wird in der Pflanze ein Abwehrmechanismus in Gang gesetzt.

MONO- ODER POLYGENE RESISTENZ?

Während die meisten Apfelsorten anfällig gegenüber der von *Erwinia amylovora* hervorgerufenen Feuerbrandkrankheit sind, ist die Wildapfelakzession *Malus xrobusta 5* seit langem bekannt für ihr hohes Maß an Widerstandsfähigkeit. Das und andere Eigenschaften haben dazu geführt, dass diese Wildapfelakzession in der Vergangenheit in der Sorten- und Apfelunterlagenzüchtung mehrfach als Kreuzungselter verwendet wurde. Dabei war es bislang nicht bekannt, wie diese Resistenz an die Nachkommen vererbt wird. Während die Ergebnisse einiger Experimente die Existenz eines einzelnen Resistenzgens vermuten ließen (monogene Resistenz), deuteten die Ergebnisse anderer Studien auf die Beteiligung mehrerer Gene hin (polygene Resistenz). Das Wissen über die Vererbung einer Resistenz ist jedoch von grundlegender Bedeutung für die Ausrichtung und den möglichen Erfolg eines Zuchtprozesses. Beide Formen der Resistenz haben dabei Vor- und Nachteile:

Bei der Vererbung monogener Resistenzen wird in der Regel ein hohes Maß an Widerstandsfähigkeit an 50 % aller Nachkommen weitergegeben. Dafür wirken sie meist nur gegen ausgewählte Rassen des Erregers, das heißt, sie sind rassenspezifisch und können folglich schneller überwunden werden.

Polygene Resistenzen haben ein wesentlich breiteres Wirkungsspektrum. Sie sind oft gegen eine Vielzahl von Rassen des Erregers wirkungsvoll und sind somit rassenspezifisch. Das Maß an Resistenz, was von solchen Resistenzen vermittelt wird, ist jedoch meist deutlich geringer als bei monogenen Resistenzen und wird dabei oft nur an einen geringen Teil der Nachkommen in vollem Umfang weitergegeben. Bei polygenen Resistenzen besteht zusätzlich die Gefahr, dass bei jedem Züchtungsschritt einzelne Gene, die einen Beitrag zur Resistenz leisten, verloren gehen können. Das Maß der Resistenz nimmt folglich ab.

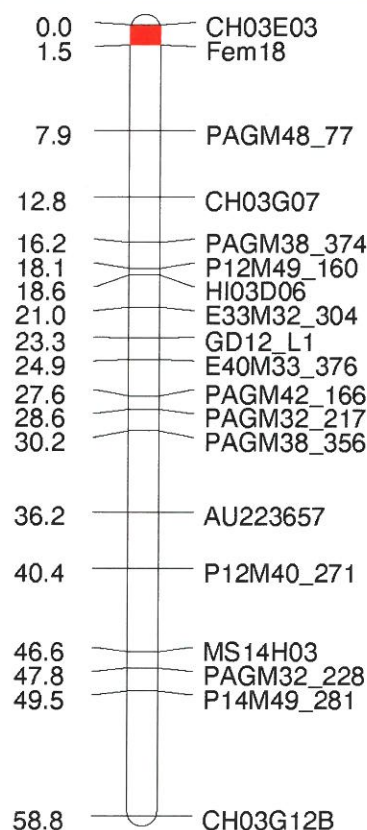
Aus diesem Grund versuchen Züchter heute mehrere monogene Resistenzen in einer Sorte zu vereinen (pyramidisieren). Dadurch besitzen die Nachkommen ein hohes Maß an Resistenz gegenüber einem breiten Rassenspektrum, welches nur sehr schwer vom Schaderreger überwunden werden kann.

IDENTIFIZIERUNG EINER REGION FÜR FEUERBRANDRESISTENZ IM WILDAPFELGENOM

Um die Vererbung der Feuerbrandresistenz von *Malus xrobusta 5* zu klären, wurde im Jahr 2003 am JKI (damals noch Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen) in Dresden-Pillnitz eine Kreuzung zwischen der feuerbrandanfälligen Sorte 'Idared' und *Malus xrobusta 5* durchgeführt. Die Nachkommen dieser Kreuzung

wurden über mehrere Jahre im Gewächshaus mit Feuerbrand inokuliert, um deren Resistenzverhalten zu prüfen. Anschließend erfolgte eine genetische Kartierung der Resistenz. Mithilfe einer solchen Kartierungsstudie ist es möglich, Orte im Genom

Abb. 1: Genetische Karte von Chromosom 3 des Wildapfels *Malus xrobusta 5*. Auf der rechten Seite der Karte sind genetische Marker (z. B. CH03E03) dargestellt, die genau einen Abschnitt auf der DNA des Chromosoms markieren. Auf der linken Seite sind die genetischen Abstände zwischen den einzelnen DNA-Markern dargestellt. Diese werden mit der Einheit Centimorgan (cM) angegeben. 1 cM Abstand zwischen zwei Markern bedeutet, dass diese Marker in 99 von 100 Nachkommen gemeinsam vorkommen. Nur in einem Fall kommen sie separat vor. In dem rot markierten Bereich befinden sich ein oder wenige Gene, die 80 % des Merkmals Feuerbrandresistenz ausmachen. Die genetischen Abstände in diesem Bereich sind so klein, dass in der Regel alle Pflanzen, welche die Marker CH03E03 und FEM18 besitzen, feuerbrandresistent sind.



einer Pflanze zu finden, in der es Gene gibt, die einen Beitrag zur Resistenz leisten. Im Rahmen dieser ersten Kartierungsstudie wurde im Jahr 2007 eine Region auf Chromosom 3 des Wildapfels gefunden, die einen Beitrag von bis zu 80 % zur Feuerbrandresistenz leistet (s. Abb. 1). Regionen, welche einen solch hohen Beitrag zur Ausprägung eines Merkmals leisten, sind meist ein Hinweis darauf, dass es an diesem Ort im Genom ein oder einige wenige Gene gibt, die dieses Merkmal bedingen.

NACHWEIS EINER GEN-FÜR-GEN-BEZIEHUNG

Um zu prüfen, ob es sich bei der Feuerbrandresistenz von *Malus xrobusta 5* um eine rassenspezifische Resistenz handelt, wurde die Wildapfelakzession mit zahlreichen Stämmen des Erregers inokuliert, die sich in ihrer Virulenz gegenüber einem Standardset von Apfelgenotypen deutlich unterscheiden. Dabei konnte gezeigt werden, dass diese Wildapfelakzession gegenüber allen derzeit in Europa getesteten Stämmen des Feuerbranderragers resistent ist. Lediglich einige wenige Stämme aus den USA und Kanada sowie ein Laborstamm der Michigan State Universität (USA) führten bei *Malus xrobusta 5* zu Krankheitssymptomen. Bei dem Laborstamm der Michigan State Universität handelt es sich um eine Variante des Feuerbranderragers, bei der ein Gen zerstört ist, welches für ein Effektorprotein kodiert. Gramnegative Bakterien, wie das Feuerbrandbakterium, bilden eine nadelartige Struktur aus, die als Pilus bezeichnet wird. Mithilfe dieser Struktur dringen sie in die Zellen der Apfelpflanze ein und injizieren derartige Effektorproteine (s. Abb. 2). Das



Foto 1: Triebe von *Malus xrobusta 5* – inokuliert mit dem Laborstamm der Michigan State Universität (links) und einem europäischen Stamm des Feuerbranderragers (rechts). Der Laborstamm führt zu deutlichen Symptomen an *Malus xrobusta 5*, während der europäische Stamm nicht erfolgreich infizieren kann

Ziel dabei ist es, mithilfe der Effektorproteine einzelne Stoffwechselwege der pflanzlichen Pathogenabwehr zu blockieren. Damit erleichtert sich das Bakterium die Besiedlung der Pflanze und erhöht seine Chance auf eine erfolgreiche Infektion.

Im Laufe der Evolution haben Pflanzen Resistenzgene entwickelt, die solche Effektorproteine erkennen können. Wird ein Effektorprotein erkannt, leitet das Resistenzgen einen gezielten Abwehrmechanismus ein. Bleibt die Erkennung aus, kommt es zur Infektion.

Mit der Zerstörung des Gens, welches für die Bildung des Effektorproteins im Labor-

stamm der Michigan State Universität verantwortlich ist, wurde offensichtlich auch die Erkennung des Erregers gestört. *Malus xrobusta 5* scheint diese Form des Erregers nicht zu erkennen und wird folglich infiziert (s. Abb. 2 und Foto 1). Weiterhin wurde festgestellt, dass die kanadischen und amerikanischen Stämme, welche *Malus xrobusta 5* infizieren können, eine Form des Effektorproteins bilden, die sich von der in den europäischen Stämmen vorkommenden Form unterscheidet. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass es in *Malus xrobusta 5* ein Resistenzgen geben muss, das eine bestimmte Form dieses Effektorproteins des Feuerbranderragers erkennt. Damit konnte erstmals gezeigt werden, dass die Feuerbrandresistenz von *Malus xrobusta 5* auf einer Gen-für-Gen-Beziehung beruht und mit hoher Wahrscheinlichkeit nur von einem Resistenzgen bedingt wird.

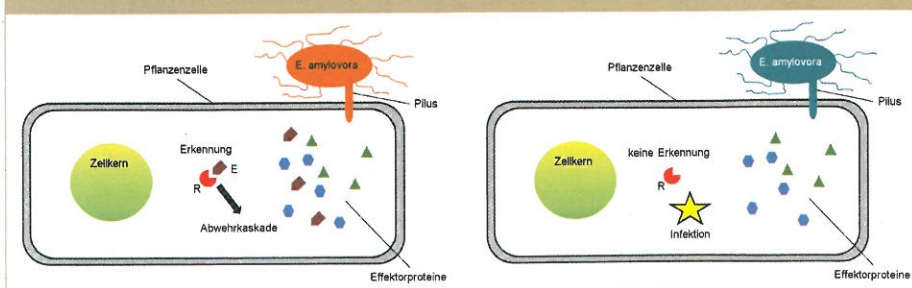
ISOLIERUNG DES RESISTENZGENS

Ausgehend von dieser Situation wurde an der ETH Zürich die Region von Chromosom 3 des *Malus xrobusta 5* Genoms, die für die Resistenz gegenüber Feuerbrand verantwortlich ist, isoliert. Dazu wurde eine erneute genetische Kartierung an mehr als 2.100 Nachkommen von Kreuzungen von Agroscope (Schweiz) zwischen Nachkommen von 'Idared' und *Malus xrobusta 5* und der Sorte 'La Flamboyante' sowie der Zuchtnummer 'ACW 11303' durchgeführt. Diese hatte das Ziel, die Region, in der sich das vermutete Resistenzgen befindet, möglichst sehr stark einzugrenzen. Anschließend wurde die Sequenzabfolge der DNA in diesem Bereich von Chromosom 3 ermittelt und mithilfe verschiedener bioinformatischer Analysen auf das Vorkommen von Genen analysiert. Je nach verwendetem Analysealgorithmus konnten dabei 25 bis 47 mögliche Gensequenzen identifiziert werden. Diese möglichen Gensequenzen wurden geprüft, ob sie sich aufgrund des Vorkommens und der Anordnung verschiedener Sequenzmotive sowie ihres strukturellen Aufbaus der Klasse der Resistenzgene zuordnen lassen. Dabei konnte in der Region auf Chromosom 3 lediglich ein Gen gefunden werden, das in seiner Struktur und seinem Aufbau einem Bakterienresistenzgen ähnlich ist. Aufgrund durchgeführter Sequenzvergleiche zu bereits bekannten Bakterienresistenzgenen konnte dieses Gen als mögliches Feuerbrandresistenzgen bestimmt werden. Dieses Gen wurde in der Folge isoliert und seine Aktivität in Form von mRNA (Boten-RNA) in den

Abb. 2: Reaktion der Pflanzenzelle von *Malus xrobusta 5* nach Inokulation mit zwei verschiedenen Stämmen des Feuerbranderragers.

Links: Inokulation mit einem europäischen Stamm (orange). Dieser Stamm injiziert ein Effektorprotein (E, braun), welches von einem Resistenzprotein (R, rot) erkannt wird. Sofort leitet das Resistenzprotein eine Abwehrreaktion ein. Es kommt nicht zu einer Infektion.

Rechts: Inokulation mit dem Laborstamm der Michigan State Universität (blau). Dieser Stamm ist nicht in der Lage, das Effektorprotein (E, braun) zu bilden. Das Resistenzprotein (R, rot) kann den Erreger nicht erkennen und die Abwehrreaktion bleibt aus. Der Feuerbranderrager kann die Pflanze erfolgreich infizieren.



Blättern von *Malus xrobusta 5* nachgewiesen. In der anfälligen Apfelsorte 'Gala' war weder die DNA-Sequenz dieses Gens noch dessen Aktivität in Form von mRNA nachweisbar. Diese und andere Informationen stützen die Vermutung, dass es sich bei dem Gen von Chromosom 3 von *Malus xrobusta* um das gesuchte Resistenzgen handelt. Aus diesem Grund wurde das isolierte Gen in der Folge mit dem Namen *FB_Mr5* (Feuerbrandresistenzgen von *Malus xrobusta 5*) bezeichnet.

NACHWEIS DER FUNKTION DES RESISTENZGENS

Um zu prüfen, ob es sich bei diesem Gen aus *Malus xrobusta 5* tatsächlich um das Feuerbrandresistenzgen handelt, wurde das *FB_Mr5*-Gen in die anfällige Apfelsorte 'Gala' übertragen. Anschließend wurden Pflanzen der Sorte 'Gala' mit und ohne *FB_Mr5*-Gen mit verschiedenen Stämmen des Feuerbrandreggers im Gewächshaus inokuliert. Es zeigte sich, dass Stämme, die in *Malus xrobusta 5* eine Resistenz hervorrufen, auch bei 'Gala'-Pflanzen mit dem



Foto 2a und b: Inokulation von 'Gala'-Pflanzen mit einem europäischen Stamm des Feuerbrandreggers. A: 'Gala'-Pflanze ohne *FB_Mr5* Gen (anfällig). B: 'Gala'-Pflanze mit *FB_Mr5* Gen (resistent)

FB_Mr5-Gen keine Symptome auslösen können (s. Foto 2 a und b). Stämme, die jedoch in der Lage sind, die Resistenz von *Malus xrobusta 5* zu überwinden, konnten

jedoch die 'Gala'-Pflanzen mit als auch ohne dem *FB_Mr5*-Gen infizieren. Mithilfe dieser Experimente konnten die Wissenschaftler aus Deutschland und der Schweiz im Jahr 2014 gemeinsam zeigen, dass es sich bei *FB_Mr5* um das gesuchte Feuerbrandresistenzgen handelt. Weiterhin lassen die Ergebnisse den Schluss zu, dass die Feuerbrandresistenz von *Malus xrobusta 5* tatsächlich auf einer Gen-für-Gen-Beziehung beruht.

ENTDECKUNG ANDERER MECHANISMEN DER FEUERBRANDRESISTENZ

Um andere Mechanismen für die Feuerbrandresistenz zu finden, wurden feuerbrandresistente Akzessionen verschiedener Apfelwildarten der Obstgenbank in Dresden-Pillnitz mit einem europäischen Stamm des Feuerbrandreggers und dem Laborstamm der Michigan State Universität inokuliert. Dabei zeigte sich, dass verschiedene Akzessionen von *Malus fusca* und *Malus baccata* sowie die in der Schorfresistenzzüchtung vielfach verwendete Ak-

Anzeige

NEU!

SPIESSURANIA

Schorfbekämpfung an Apfel

- ✓ Effektiver Schutz gegen Schorf
- ✓ Kaliumbicarbonat wirkungsoptimiert
- ✓ Wirkstoff nicht rückstandsrelevant
- ✓ Kein Gewässerabstand
- ✓ Im Bio-Anbau erlaubt



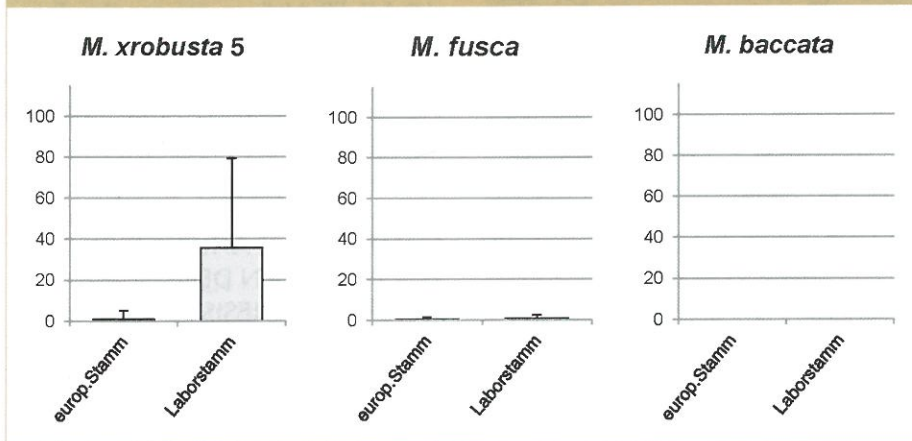
ARMICARB®

Gebührenfreie Beratung unter
Telefon: (0800) 8 300 301

Bitte beachten Sie die Warnhinweise/-symbole in der Gebrauchsanleitung.
Pflanzenschutzmittel vorsichtig verwenden. Vor Verwendung stets Etikett und Produktinformationen lesen.

www.spiess-urania.com

Abb. 3: Inokulation von feuerbrandresistenten Akzessionen verschiedener Apfelwildarten mit einem europäischen Stamm und dem Laborstamm der Michigan State Universität. Während *Malus xrobusta 5* vom Laborstamm infiziert werden kann, sind die Akzessionen von *M. fusca* und *M. baccata* resistent gegenüber beiden Stämmen. Die y-Achse zeigt den prozentualen Anteil der Triebnekrose am Gesamttrieb.



zession *Malus floribunda 821* resistent gegenüber beiden Stämmen sind (s. Abb. 3). Damit ist gezeigt, dass diese Akzessionen über einen anderen Resistenzmechanismus als *Malus xrobusta 5* verfügen, da *Malus xrobusta 5* von dem Laborstamm erfolgreich infiziert werden kann. Die Feuerbrandresistenzen von *Malus fusca*, *Malus baccata* und *Malus floribunda 821* sind folglich für den Aufbau einer pyramidisierten Resistenz geeignet. Erste Arbeiten zur Vererbung dieser Resistenzen wurden bereits begonnen. Dafür wurden Kreuzungen zwischen der anfälligen Sorte 'Idared' und *Malus fusca* sowie zwischen 'Idared' und *Malus baccata* hergestellt. Die Nachkommen dieser Kreuzungen werden nun für genetische Kartierungsstudien genutzt, um die Orte in den Genomen von *M. fusca* und *M. baccata* zu identifizieren, an denen die Gene für die Feuerbrandresistenz lokalisiert sind. Erste Ergebnisse zeigen, dass es auf Chromosom 10 von *Malus fusca* eine Region gibt, die einen Beitrag von mehr als 65 % zur Feuerbrandresistenz leistet. Im nächsten Schritt soll diese Region von *M. fusca* isoliert werden, um zu klären, ob es auch in *Malus fusca* ein einzelnes Gen gibt, welches einen Großteil der Resistenz hervorruft.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Züchtung feuerbrandresistenter Apfelsorten ist eines der wichtigsten Ziele der Apfelsortenzüchtung in vielen internationalen Zuchtprogrammen. Dabei versuchen die Züchtungsforscher die Vererbung bekannter Resistenzen zu verstehen und neue Formen der Resistenz zu finden. Im Rahmen solcher Arbeiten ist es kürzlich gelungen, ein erstes Feuerbrandresistenzgen aus dem Wildapfel-

genotyp *Malus xrobusta 5* zu isolieren. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Feuerbrandresistenz von *Malus xrobusta 5* auf einer Gen-für-Gen-Beziehung beruht und es in anderen Wildapfelarten Feuerbrandresistenzen gibt, die auf anderen Mechanismen basieren. Diese Mechanismen sollen nun ebenfalls aufgeklärt werden, um damit den Grundstein für den Aufbau einer dauerhaften Feuerbrandresistenz zu legen.

DANKSAGUNG

Die Autoren bedanken sich bei allen Kooperations- und Projektpartnern sowie den Technischen Assistenten/innen, die an dieser Thematik in irgendeiner Form über all

die Jahre mitgewirkt haben. Allen voran bedanken wir uns bei unseren Kollegen vom JKI in Dresden, Quedlinburg und Dossenheim, bei den Kollegen der ETH in Zürich (Schweiz), Agroscope in Wädenswil (Schweiz), des Austrian Institute of Technology in Seibersdorf (Österreich), der Michigan State Universität (USA) und des IAS-MA Forschungs- und Innovationszentrums der Edmund Mach Stiftung in San Michele all' Adige (Italien).

✉ **PD Dr. Henryk Flachowsky, Dr. Andreas Peil, Prof. Dr. Magda-Viola Hanke**, JKI-Institut für Züchtungsforschung an Obst, Pillnitzer Platz 3a, 01326 Dresden, E-Mail: henryk.flachowsky@jki.bund.de
Dr. Giovanni Brogini, ETH Zürich, Institut für integrative Biologie, Gruppe Phytopathologie, Aktuelle Adresse: Agroscope, Schloss 1, Postfach, CH-8820 Wädenswil, Schweiz

Dieser Beitrag gibt einen Überblick über eine Auswahl von Forschungsaktivitäten, an denen Wissenschaftler verschiedener internationaler Forschungseinrichtungen beteiligt waren. Alle Referenzen, die diesem Beitrag zugrunde liegen, sind in der Onlineversion des Artikels aufgeführt.

Jetzt herunterladen: Der aktuelle Branchenbericht Obstbau

Branchenberichte des ZBG erklären und interpretieren Daten aus dem ZBG-Betriebsvergleich

Das Zentrum für Betriebswirtschaft im Gartenbau e.V., kurz ZBG, hat auf der diesjährigen IPM sechs Branchenberichte für die verschiedenen Sparten des Gartenbaus vorgestellt. Die Resonanz war überaus positiv, weshalb die Berichte nun für alle am deutschen Gartenbau Interessierten zur Verfügung gestellt werden. Für jede der folgenden Sparten ist ein eigener sechsstufiger Branchenbericht erhältlich:

- Zierpflanzenbau
- Einzelhandelsgärtnereien
- Baumschulen
- Gemüsebau unter Glas
- Gemüsebau im Freiland
- Obstbau

Die Berichte stellen wichtige Kennzahlen aus dem Betriebsvergleich anschaulich und verständlich dar. Ergänzt werden sie durch Informationen zum Marktgeschehen und zu Anbaudaten. Für jede Sparte werden so wichtige betriebswirtschaftliche Kennzahlen, Markt- und Anbaudaten kompakt aufbereitet. So kann jeder Leser in kurzer Zeit einen Überblick über die wirtschaftliche Entwicklung in den verschiedenen Sparten des deutschen Gartenbaus gewinnen.

PDF herunterladen:

Der Bericht Obstbau wurde exklusiv für unsere Leser gleich auf der Startseite unserer Webseite www.obstbau.org zum kostenlosen Download bereitgestellt. Für gedruckte Exemplare können Sie sich an das ZBG direkt wenden. Unter Tel.: 0511 762-5409 bzw. E-Mail: zbg@zbg.uni-hannover.de werden Ihre Bestellungen gerne entgegengenommen.