



## Wie funktioniert die Feuerbrandresistenz beim Apfel?

Die Bakterienkrankheit Feuerbrand befällt Kernobstgewächse und ist mit konventionellen Pflanzenschutzmethoden schwierig zu kontrollieren. Die Verwendung resistenter Kernobstsorten ist ein nachhaltiger Ansatz, um feuerbrandbedingte Ausfälle zu vermindern. Entsprechende Resistenz-Gene sind denn auch im Genpool von Äpfeln nachgewiesen worden. Die Entwicklung von «molekularen Markern» ist wertvoll für die Selektion widerstandsfähiger Apfelsorten, ob diese nun auf dem Weg der klassischen Züchtung oder via neue Züchtungsmethoden erfolgt. Im Artikel werden die genetischen Grundlagen der bisher bekannten Feuerbrand-Resistenzmechanismen erläutert.

MELANIE ÄBT, GIOVANNI BROGGINI UND  
MARKUS KELLERHALS, AGROSCOPE  
[markus.kellerhals@agroscope.admin.ch](mailto:markus.kellerhals@agroscope.admin.ch)

Feuerbrand ist eine durch das Bakterium *Erwinia amylovora* hervorgerufene Krankheit, die Pflanzen aus der Familie der Rosengewächse (*Rosaceae*), also zum Beispiel Birnen, Äpfel und Quitten, befällt und verheerende Auswirkung haben kann. Als effiziente, nachhaltige und

ressourcenschonende Möglichkeit zur Eindämmung tritt mehr und mehr der Einsatz von robusten und resistenten Sorten in den Fokus. Besonders interessant für die Züchtung solcher Sorten erweisen sich alte Verwandte der kommerziell genutzten Kernobstgewächse, wie Wildäpfel im Fall des Apfels. Diese verfügen teilweise über Resistenzen gegenüber Krankheiten. Doch weshalb sind manche Pflanzen anfälliger als andere und wie funktionieren die Resistenzmechanismen?



Feuerbrandinfektion bei Apfelblüten – können Resistenzen von Wildäpfeln helfen?

### Wie funktioniert Immunität bei Pflanzen?

Pflanzen verfügen über ein zweischichtiges Immunsystem. Die erste Linie der Verteidigung nimmt Muster oder molekulare Bestandteile wahr, die unter Pathogenen (Krankheitserregern) weit verbreitet und meist essenzielle Komponenten des Schadorganismus sind. Diese Bestandteile werden durch spezielle Proteine, die in der Zellmembran der Pflanzenzelle eingebettet sind, wahrgenommen. Diese Kontaktaufnahme führt zur Übertragung eines Warnsignals (in biochemischer Form) und darauffolgend zu einer Immunantwort seitens der Pflanze (Abb. 1a). Im erfolgreichen Fall kann die Pflanze das Pathogen abwehren. Doch auch Pathogene wissen sich zu verteidigen. Sie produzieren sogenannte Effektoren und injizieren diese mit Hilfe des «Typ 3 Sekretionssystems», einer Art «molekulare Nadel», direkt in die Pflanzenzelle. Ziel der Effektoren ist es, die Pflanzenimmunantwort zu verhindern und die Erfolgschancen des Pathogens zu erhöhen (Abb. 1b). Um dies zu vermeiden, setzen Pflanzen ihre zweite Verteidigungslinie ein. Im Inneren der Pflanzenzellen befinden sich R-Proteine (Resistenz-Proteine), die die Anwesenheit des Effektors wahrnehmen. Die meisten R-Gene bei Pflanzen kodieren für sogenannte «CC/TIR-NBS-LRR» (Coiled Coil/Toll/Interleukin 1 Receptor homology – Nucleotide Binding Site – Leucine Rich Repeat) Proteine, die in der Regel aus mindestens vier strukturell unabhängigen Proteinteilen bestehen. R-Proteine der Pflanzen erkennen Effektoren der Pathogene sehr spezifisch, weshalb man oft von einem «Gen-für-Gen»-Modell spricht: Ein Gen in der Wirtspflanze (das R-Gen, das für das R-Protein kodiert) führt zur Resistenz gegen ein Pathogen mit entsprechendem Effektor (kodiert vom Avirulenzgen). In der Regel führt die Wahrnehmung eines Effektors durch ein R-Protein bei der Pflanze zur Auslösung eines lokalen programmierten Zelltods, der die infizierten Zellen absterben lässt und dadurch die Infektion eindämmt (Abb. 1c und 1d).

### Wie funktionieren R-Proteine?

Die Erkennung eines Effektors durch ein R-Protein kann durch eine direkte Interaktion zwischen den beiden beteiligten Proteinen (wie in Abb. 1a–1d sche-

### Wirt-Pathogeninteraktionen bei Pflanzen.

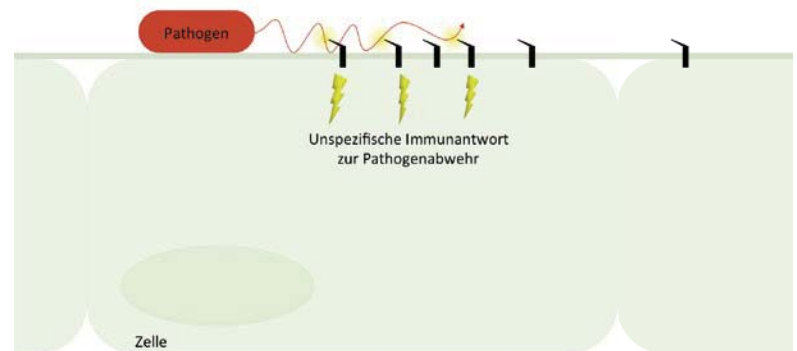


Abb. 1a: Das Pathogen wird anhand eines typischen molekularen Musters an der Oberfläche der Pflanzenzelle erkannt, was eine Immunantwort auslöst.

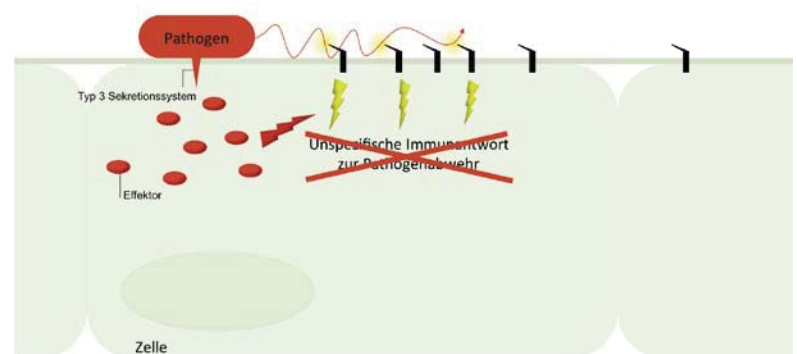


Abb. 1b: Das Pathogen injiziert Effektoren, die die Immunantwort verhindern.

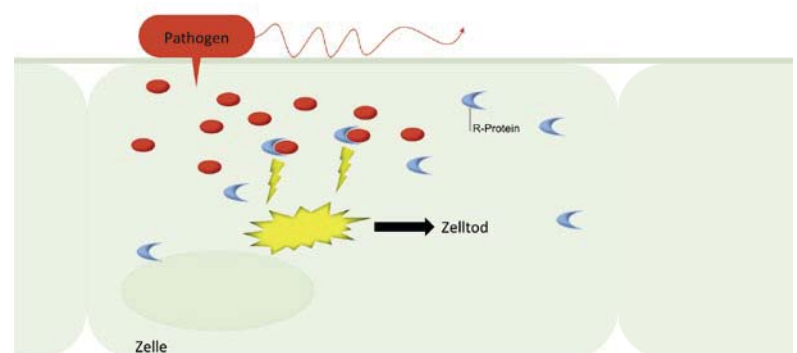


Abb. 1c: R-Proteine im Inneren der Pflanzenzelle erkennen die Effektoren. Dies löst ein Warnsignal aus.

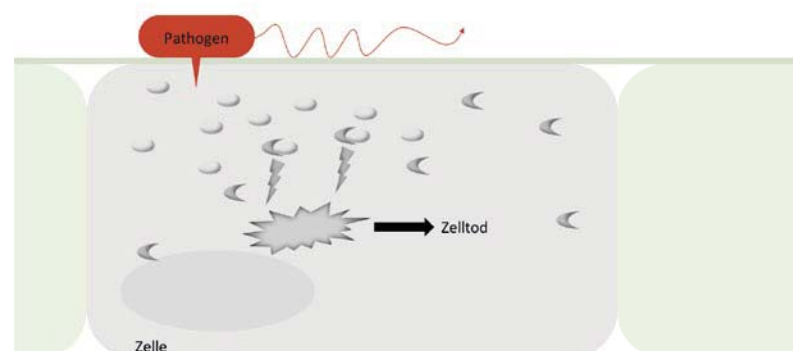
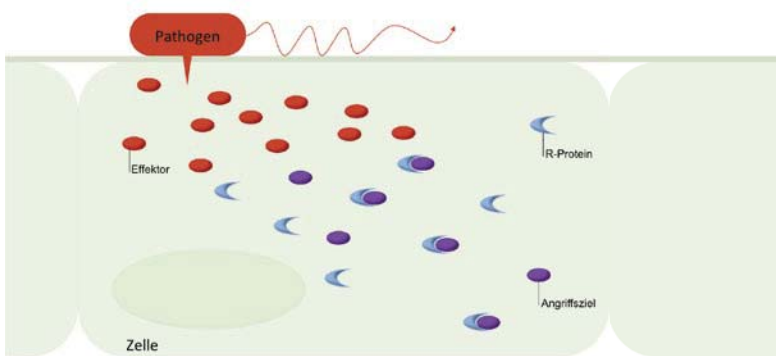
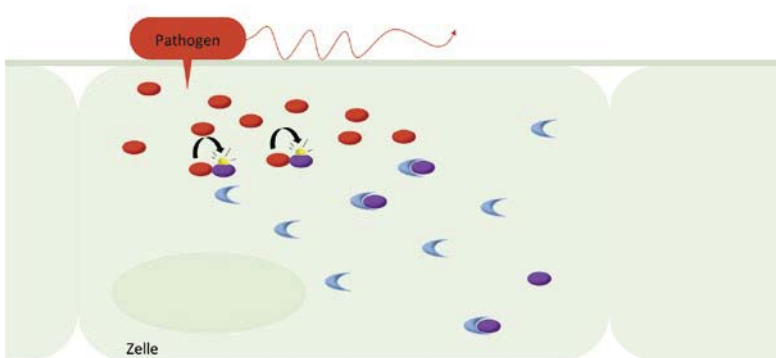


Abb. 1d: Als Folge stirbt die betroffene Pflanzenzelle ab.

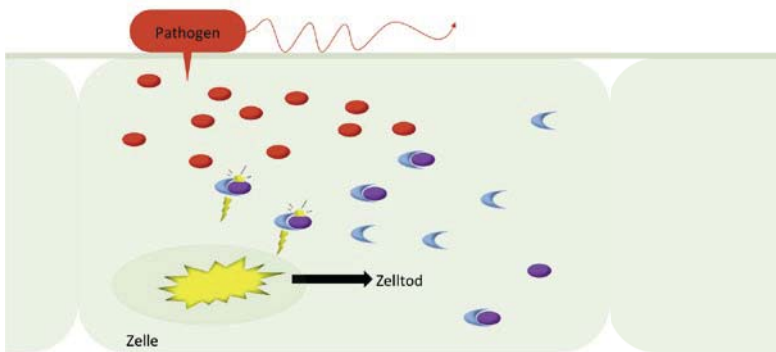
**Effektor – R-Protein Interaktion nach dem «Wächter»-Prinzip.**



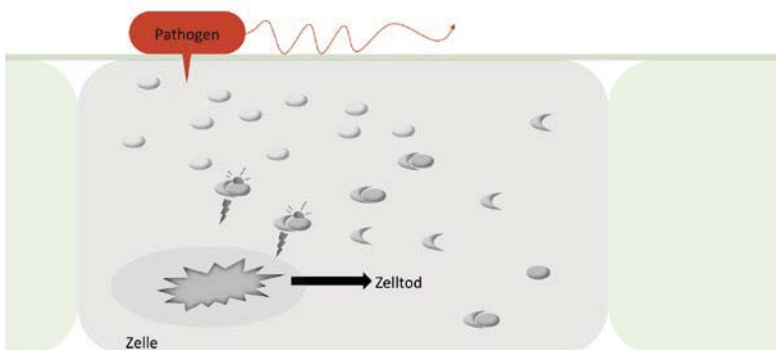
**Abb. 2a:** Das Pathogen injiziert Effektoren in die Pflanzenzelle. R-Proteine in der Pflanzenzelle «bewachen» ein wirtseigenes Angriffsziel.



**Abb. 2b:** Der Effektor interagiert mit dem wirtseigenen Protein und verändert es.



**Abb. 2c:** Die R-Proteine nehmen die Veränderung des Proteins wahr, was ein Warnsignal zur Folge hat.



**Abb. 2d:** Als Konsequenz stirbt die befallene Zelle ab.

matisch dargestellt) zustande kommen. Sie kann aber auch indirekt stattfinden. Beim sogenannten «Wächter-Modell» wird angenommen, dass das R-Protein ein wirtseigenes Angriffsziel des Pathogens «bewacht» und Veränderungen daran wahrnimmt, die durch den Effektor entstehen. Der Wirt erkennt also nicht ein «fremdes» Produkt, sondern ein «modifiziertes Selbst» (Abb. 2a–2d) (Jones and Dangl, 2006, und Referenzen darin).

**Feuerbrandresistenz bei Äpfeln**

Das am besten charakterisierte Feuerbrandresistenzgen wurde im Genom vom Wildapfel *Malus × robusta* 5 identifiziert (Peil et al. 2007) und später kloniert (Fahrentrapp et al. 2013). Das Gen, nach seiner Herkunft als *FB\_MR5* (Feuerbrandresistenz *Malus × robusta* 5) benannt (Fahrentrapp et al. 2013), kodiert für ein CC-NBS-LRR Protein. Es wird angenommen, dass *FB\_MR5* im Sinne des «Wächter»-Modells mit einem wirtseigenen Protein interagiert und durch einen bakteriellen Effektor bewirkte Änderungen an diesem Protein wahrnimmt (Fahrentrapp et al. 2013). Dies führt zu einem Warnsignal, das der Pflanze die Abwehr des Pathogens ermöglicht. Diese Hypothese wird durch eine Studie unterstützt, die zeigt, dass ein bestimmter Effektor vom Feuerbranderreger produziert werden muss, damit die *FB\_MR5* Resistenz aktiviert wird (Vogt et al. 2013). Der Verlust oder aber die Veränderung des dazugehörigen Avirulenzgens im Pathogen kann zu einem Durchbruch der Wirtsresistenz führen. Dies ist eine logische Konsequenz der sehr spezifischen Interaktion zwischen R-Protein und Effektor; fehlt eine der zwei Komponenten, ist eine Immunantwort seitens des Wirts nicht mehr möglich. Deshalb können spontane Mutationen im Genom eines Pathogens eingekreuzte R-Gene innert kurzer Zeit unwirksam machen, was die Zerbrechlichkeit einer solchen Resistenz demonstriert.

Der Durchbruch von Resistenzen kann verzögert werden, indem R-Gene «pyramidiert» werden, das heisst, mehrere Resistenzgene mit unterschiedlichem Wirkungsmechanismus in eine Wirtspflanze eingekreuzt werden. Dieses Prinzip ist vergleichbar mit der Anwendung verschiedener Fungizide mit unterschiedlicher Wirkungsweise gegen einen Pilz: Um zu überleben, muss das Pathogen mehrere Hürden meistern, was länger dauert. Die Pyramidierung von Resistenzen ist züchterisch anspruchsvoll und langwierig, insbesondere bei Obstarten, die lange Züchtungsspannen aufweisen. Oft geht damit auch eine Verminderung der Fruchtqualität einher, weil ungünstige Eigenschaften der Wildapfel-Resistenzträger ebenfalls übertragen werden.

Die Pyramidierung von Resistenzgenen setzt das Vorhandensein mehrerer Kandidatengene voraus. Tatsächlich gibt es bei Äpfeln unterschiedliche Resistenzquellen. So wurden unter anderen auch die Wildapfelsorten beziehungsweise -arten «Evereste», *Malus floribunda* 821 (Durel et al. 2009) und *Malus fusca* (Emeriewen et al. 2014) für feuerbrandresistent befunden. Bei *M. fusca* wurde ein QTL (Quantitative Trait Locus; eine «Region» im Genom) identifiziert, der wahrscheinlich ein anderes R-Gen mit anderem Resistenz-



mechanismus als *FB\_MR5* enthält und sich für eine Pyramidisierung eignen würde (Emeriewen et al. 2014). Weitere, vermutlich zueinander identische QTL wurden bei Evereste und *M. floribunda* 821 gefunden (Durel et al. 2009). Die biochemischen Grundlagen der hier erwähnten Resistenzen wurden bislang noch nicht beschrieben.

### Züchtung feuerbrandresistenter Apfelsorten bei Agroscope

Bei Agroscope in Wädenswil werden unterschiedliche Züchtungsansätze benutzt, um feuerbrandresistente, kommerziell Erfolg versprechende Apfelsorten zu entwickeln. Im klassischen Züchtungsprogramm werden Resistenzen aus Wildäpfeln eingekreuzt. Dies führt dazu, dass neben der Resistenz auch unerwünschte Eigenschaften des Wildapfels – meist die Fruchtqualität betreffend – übertragen werden. Mehrere Folgekreuzungen ermöglichen die Entwicklung neuer Apfelsorten mit guter Fruchtqualität. Um den Zuchtprozess zu beschleunigen, entwickelte Agroscope das sogenannte «Fast-Track»-Konzept, das durch geeignete Massnahmen die Generationsdauer von Apfelbäumen verkürzt. Neben dem züchterisch klassischen «Fast-Track»-Ansatz werden bei Agroscope auch die neuen Züchtungsmethoden der Cis-Genetik und des «Early Flowering» geprüft. Die Cis-Genetik («Cis» = auf der gleichen Seite) bedient sich gentechnologischer Methoden, um Gene von kreuzbaren Apfelsorten zu übertragen. Als Resultat erhält man eine Pflanze, die auch durch klassische Züchtung hätte erzeugt werden können – allerdings mit erheblich grösserem Zeitaufwand. Durch die Cis-Genetik gelang es Broggini et al. (2014) und Kost et al. (2015), das Feuerbrandresistenzgen *FB\_MR5* in die feuerbrandanfällige Apfelsorte «Gala» zu transformieren, was Krankheitssymptome bei einer Infektion mit dem Pathogen markant reduzierte. Das Verhalten von *FB\_MR5* tragenden, cis-genen «Gala»-Pflanzen unter natürlichen Bedingungen wird derzeit an der sogenannten «Protected Site» von Agroscope im Reckenholz getestet. Das «Early-Flowering»-Konzept bedient sich einer transgenen Pflanze, die ein Gen der Birke in sich trägt. Dieses ermöglicht das Blühen in einem sehr frühen Stadium – somit wird die Juvenilität umgangen und die Jungpflanzen stehen direkt für Kreuzungen zur Verfügung. Am Ende des Prozesses werden Nachkommen selektiert, die das Birkengen

durch die Kreuzungen verloren haben – die also selbst nicht mehr transgen sind.

Das Miteinbeziehen von Krankheitsresistenzen in Zuchtprogrammen stellt eine aufwendige, aber lohnende Aufgabe dar. Insbesondere in Anbetracht der vermehrt auftretenden Epidemien und dem steigenden Bedürfnis der Konsumenten nach natürlichen Produkten ist die Züchtung nutzbringend.

### Dank

Wir danken Cosima Pelludat, Eduard Holliger und Simone Schütz für wertvolle Hinweise zum Manuskript.

### Literatur

- Broggini G. A., Wöhner T., Fahrentrapp J., Kost T. D., Flachowsky H., Peil A., Hanke M.-V., Richter K., Patocchi A. und Gessler C.: Engineering fire blight resistance into the apple cultivar «Gala» using the *FB\_MR5* CC-NBS-LRR resistance gene of *Malus x robusta* 5. *Plant Biotechnology Journal*, 12(6), 728–733, 2014.
- Durel C. E., Denance C. und Brisset M. N.: Two distinct major QTL for resistance to fire blight co-localize on linkage group 12 in apple genotypes «Evereste» and *Malus floribunda* clone 821. *Genome*, 52(2), 139–147, 2009.
- Emeriewen O., Richter K., Kilian A., Zini E., Hanke M. V., Malnoy M. und Peil A.: Identification of a major quantitative trait locus for resistance to fire blight in the wild apple species *Malus fusca*. *Molecular Breeding*, 34(2), 407–419, 2014.
- Fahrentrapp J., Broggini G. A., Kellerhals M., Peil A., Richter K., Zini E. und Gessler C.: A candidate gene for fire blight resistance in *Malus x robusta* 5 is coding for a CC-NBS-LRR. *Tree genetics & genomes*, 9(1), 237–251, 2013.
- Jones J. D. und Dangl J. L.: The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323–329, 2006.
- Kost T. D., Gessler C., Jansch M., Flachowsky H., Patocchi A. und Broggini G. A.: Development of the first cisgenic apple with increased resistance to fire blight. *PLoS One*, 10(12), e0143980, 2015.
- Peil A., Garcia Libreros T., Richter K., Trognitz F., Trognitz B., Hanke M. V. und Flachowsky H.: Strong evidence for a fire blight resistance gene of *Malus robusta* located on linkage group 3. *Plant Breeding*, 126(5), 470–475, 2007.
- Vogt I., Wöhner T., Richter K., Flachowsky H., Sundin G. W., Wensing A., Savory E. A., Geider K., Day B., Hanke M.-V. und Peil A.: Gene-for-gene relationship in the host-pathogen system *Malus x robusta* 5-*Erwinia amylovora*. *New Phytologist*, 197(4), 1262–1275, 2013. ■

### Comment fonctionne la résistance au feu bactérien chez la pomme?

Une option durable de contrôle des maladies végétales consiste à cultiver des variétés résistantes. Les plantes résistantes sont capables de détecter la présence d'un pathogène à l'aide de protéines spéciales et de déclencher un mécanisme de défense adéquat. C'est pourquoi les gènes qui effectuent le codage pour de telles protéines représentent une ressource précieuse dans la sélection. Dans le cas de la résistance

### R É S U M É

au feu bactérien des pommes, c'est le gène de résistance *FB\_MR5* auquel on s'est particulièrement intéressé. Ce dernier semble déployer une activité spécifique contre *E. amylovora* selon le principe du gène-pour-gène. D'autres gènes de résistance au feu bactérien ont été trouvés dans diverses pommes sauvages et ont en partie été localisées dans le génome, mais n'ont pas encore été entièrement caractérisés.