

Grundsteine zur Züchtung *Marssonina coronaria*-robuster Apfelsorten

Anna Dalbosco, ETH Zürich und Agroscope Wädenswil (CH)

Thomas Oberhänsli, Hans-Jakob Schärer, Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL) Frick (CH)

Giovanni Brogini, Bruno Studer, ETH Zürich

Ina Schlathölder, Anita Schöneberg, Andrea Patocchi, Agroscope Wädenswil (CH)

Seit 2010 fallen in vielen europäischen Apfelanbaugebieten einzelne Bäume oder ganze Anlagen durch einen vorzeitigen Blattfall auf. Biologisch bewirtschaftete Apfelanlagen sind dabei häufiger von dieser Pilzkrankheit betroffen als integrierte. Im Rahmen einer Masterarbeit wurde versucht, dem Pilz auf die Spur zu kommen und die Grundsteine für die Resistenzzüchtung zu legen.

Die Marssonina-Blattfleckenkrankheit, die durch den pilzlichen Schaderreger *Marssonina coronaria* verursacht wird, führt zu frühzeitigem Laubfall bei Apfelbäumen im Sommer. Seit 2010 hat sich diese Krankheit in Europa etabliert und beschäftigt seither Landwirte und Forschung. Insbesondere biologische Obstanlagen oder Streuobstwiesen sowie schorfresistente Sorten wie Topaz, die ohne oder nur mit reduziertem Pflanzenschutz angebaut werden, sind vom Marssonina-Blattfall betroffen. Im Rahmen einer Masterarbeit wurde versucht, dem Erreger auf die Spur zu kommen. Als Grundsteine für eine effiziente Züchtung von Marssonina-robusten Sorten, braucht es angepasste Selektionsmethoden und vertiefte Informationen zur Lebensweise des Pilzes. Zentrale Themen dabei sind die Resistenz oder Anfälligkeit der Sorten sowie die biologische Vielfalt des Erregers, welche Einfluss auf die zukünftige Züchtung robuster Apfelsorten haben.

Verbreitung

M. coronaria ist ein Pilzpathogen, das bereits vor 100 Jahren in den USA und

in Japan beschrieben wurde. Seit den 1970er-Jahren wurde das Pathogen auch in anderen asiatischen und amerikanischen Ländern gefunden (China, Korea, Indien, Canada und Brasilien). In Europa wurde *M. coronaria* erstmals 2001 im Piemont entdeckt und ist seit 2010 in vielen europäischen Ländern verbreitet. Mögliche Ursachen für dieses jüngste Auftreten in Europa dürften günstige Wetterbedingungen sein. Als Folge des Klimawandels hat Europa in den letzten Jahren häufig wärmere und feuchtere Sommer erlebt, die sich generell als ideal für Pilzinfektionen erweisen.

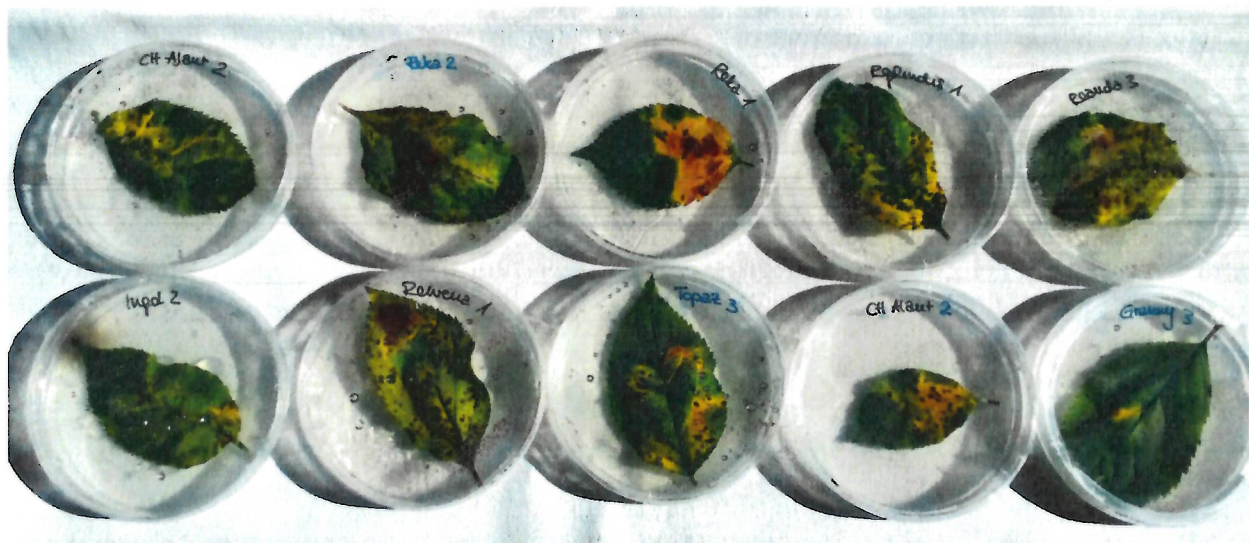
Besonders betroffen von der Marssonina-Blattfleckenkrankheit sind biologisch bewirtschaftete Anlagen und Streuobstwiesen sowie gegen Apfelschorf resistente Apfelsorten wie z.B. Topaz. Dies ist auf einen reduzierten Pflanzenschutz im Sommer bzw. vor der Ernte oder auf gar fehlende Fungizidbehandlungen zurückzuführen. Die meisten Fungizide, die gegen Schorf ausgebracht werden, wirken auch gegen den Marssonina-Pilz. Allerdings muss sich auch der integrierte Apfelanbau auf eine zunehmende Bedeutung der Krankheit in den kommenden

Jahren vorbereiten. In Ostasien hat der Schaderreger mancherorts schon eine Resistenz gegen einige fungizide Wirkstoffe entwickelt (z.B. Tebuconazol im Folicur WG oder Thiophanat-methyl im Enovit Methyl FL) und gilt somit nicht nur im biologischen Landbau als einer der wichtigsten Pathogene bei Äpfeln.

Krankheit

In China, dem weltweit größten Apfelproduzenten, werden die durchschnittlichen jährlichen Ertragsverluste aufgrund von *M. coronaria* auf bis zu 28% geschätzt. In Korea beobachtete man 2014 Infektionsraten von etwa 45%, wobei die Krankheitssymptome sogar auf den Früchten ersichtlich waren. Meist sind die Marssonina-Blattflecken allerdings nur auf den Blättern zu sehen.

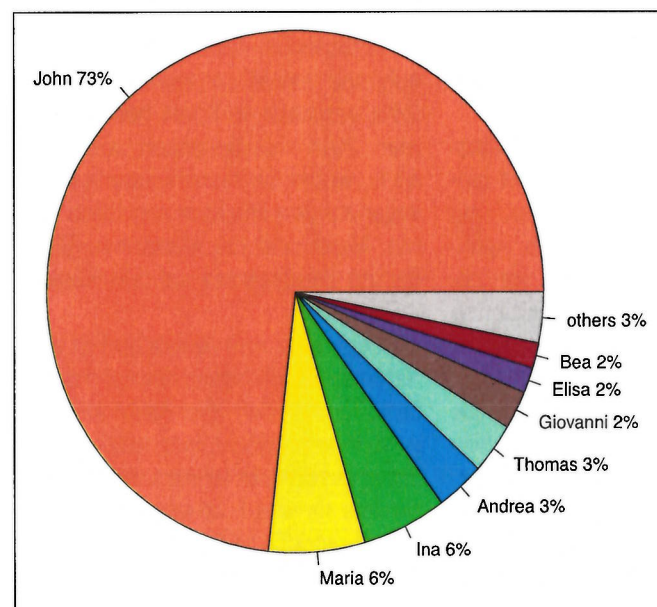
Im Gegensatz zum Apfelschorf ist also nicht die Marktfähigkeit der Äpfel direkt betroffen, sondern der Baum wird allgemein geschwächt, was sich auf den Ertrag auswirkt. Es werden weniger Assimilate für das Folgejahr eingelagert, was zu einem Vitalitätsverlust des Baumes führt. Darüber hinaus kann die Pilzinfektion die Blütenbildung sowie



Je nach Anfälligkeit zeigen die abgetrennten Blätter verschiedener Sorten spätestens 7 Tage nach der künstlichen Inokulation die Krankheitssymptome von *M. coronaria*.



Auf diesem Blatt ist die *M. coronaria*-Pilzkrankheit schon weit fortgeschritten.



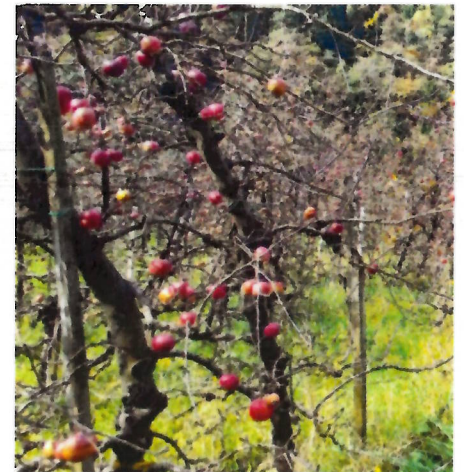
Grafik 1: Genetische Vielfalt der untersuchten Marssonina-Population (jede Farbe bezeichnet einen anderen Stamm).

die Apfelerträge und deren Qualität negativ beeinflussen.

Wissenslücken

Die ökonomisch und ökologisch nachhaltigste Lösung zur Bekämpfung von Krankheitserregern stellt generell die Verwendung robuster Sorten dar. Robuste Sorten sind tolerant (können befallen werden, werden aber nicht oder nur gering wirtschaftlich geschädigt) oder sogar resistent (das Pathogen kann sich nicht etablieren) gegen gewisse Schaderreger und die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln kann reduziert werden. Allerdings wurden bisher nur wenige Studien zur Ermittlung des Marssonina-Resistenzniveaus durchgeführt. Bei diesen scheinen die meisten kommerziellen Apfelsorten auf *M. coronaria* anfällig zu sein, so zum Beispiel Topaz, Golden Delicious, Braeburn und Fuji.

Einige Sorten wie die chinesische Qinguan, Cripps Pink/Rosy Glow/Pink Lady®, Elstar, Red Delicious/RedChief, McIntosh, Democrat, Pinova und Granny Smith wurden hingegen in einigen Studien als eher tolerant beschrieben. Außerdem sind die Informationen zum Lebenszyklus von *M. coronaria* noch unvollständig. In Asien wurden sexuelle Fruchtkörper beobachtet, von denen angenommen wird, dass sie im Früh-



M. coronaria kann biologisch bewirtschaftete Apfelanlagen (linkes und mittleres Bild) und integriert bewirtschaftete befallen (rechts).

jahr für das primäre Inokulum (die ersten Pilzsporen) verantwortlich sind. Pilze, die sich sexuell vermehren, können sich leichter an neue Umgebungen und Situationen anpassen und sich so schneller weiterentwickeln. Dadurch schaffen sie es auch, Resistenzen zu überwinden und für die Landwirtschaft erneut zum Problem zu werden. In Europa wurden diese sexuellen Fruchtkörper aber bisher nicht beobachtet und die Überwinterungsform von *M. coronaria* ist bis heute unklar. Um eine wirksame Strategie zum Pflanzenschutz zu erarbeiten, sind solche Informationen aber von großer Bedeutung.

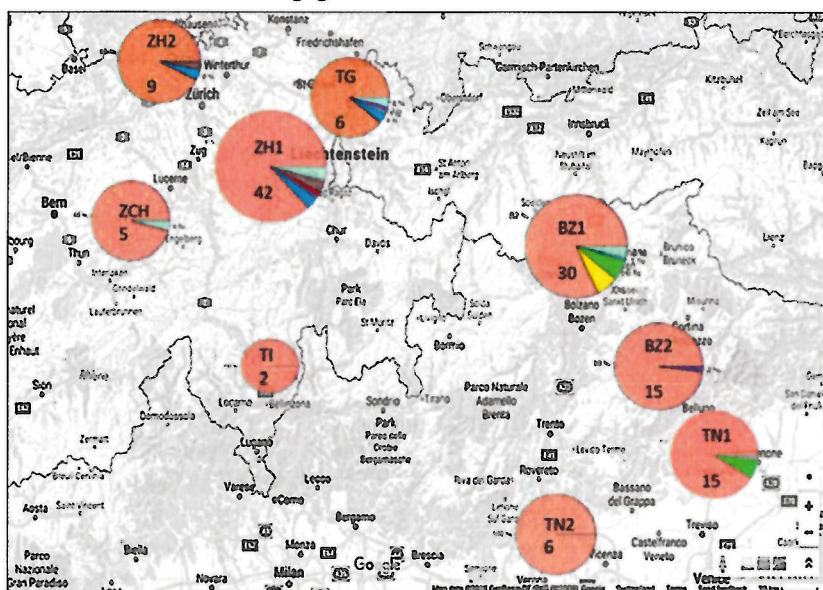
Für eine erfolgreiche Resistenzzüchtung braucht es effiziente Methoden zur Ermittlung von möglichen Resistenzquellen (z.B. mittels Sortentests) und genauere Informationen über die Variabilität des Pathogens (d.h. eine Abschätzung der Anzahl an verschiedenen Marssonina-Stämmen) und dessen Verteilung in Europa. An diesen zwei Punkten wurde in einer Masterarbeit der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich (ETHZ), der Forschungsanstalt Agroscope in Wädenswil und in Zusammenarbeit mit dem Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL) gearbeitet.

Sortentests

Um Sorten auf ihre Resistenz testen zu können, werden verschiedene Methoden benutzt. Meist werden die Pflanzen dazu mit dem Schaderreger inokuliert (künstlich vom Mensch infiziert). Für eine erfolgreiche Marssonina-Inokulation sollten mindestens 100.000 Sporen pro ml in kleinen Tröpfchen auf die Blätter gesprüht werden. Während der Inkubationszeit sollten die inokulierten Pflanzen mindestens 72 Stunden lang bei einer Temperatur von 20-25 °C bei 100% relativer Luftfeuchtigkeit gehalten werden und 10-12 Stunden Licht pro Tag erhalten. Die meisten Experimente zur Resistenzermittlung finden an ganzen Pflanzen im Gewächshaus oder im Feld statt.

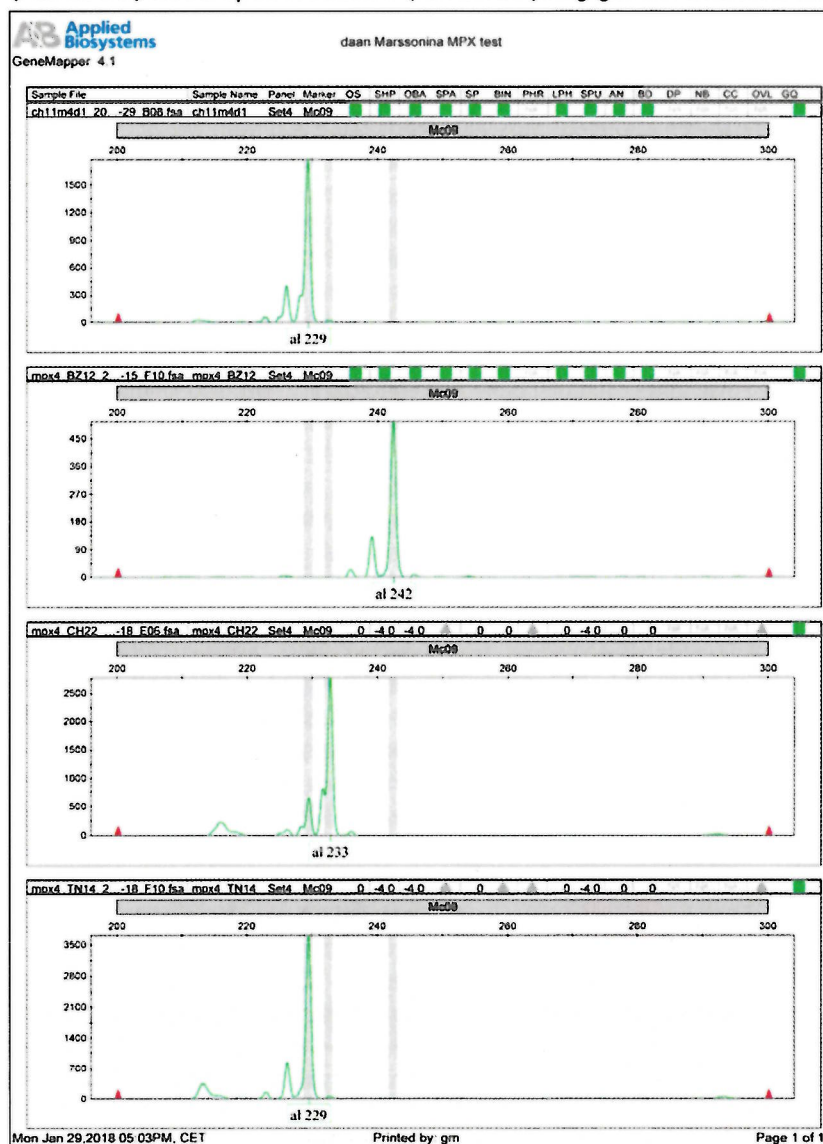
Da *M. coronaria* auf künstlichen Nährmedien im Labor nur sehr langsam wächst und Resistenzversuche an ganzen Pflanzen viel Platz brauchen und zeitaufwändig sind, wurden nun Sortentests auf einzelnen abgetrennten Blättern von verschiedenen Sorten durchgeführt (sogenannte „detached leaf assays“). Bereits fünf bis sieben Tage nach der künstlichen Inokulation konnten so auf den Blättern eindeutige Krankheitssymptome beobachtet werden. Somit wäre der Testaufbau im Vergleich zu Versuchen an ganzen Pflanzen vereinfacht und der Zeitaufwand deutlich geringer. Die Gültigkeit dieser vereinfachten Methode muss nun allerdings noch mit Feldbeobach-

Grafik 2: Geografische Verteilung der verschiedenen *M. coronaria*-Stämme im Untersuchungsgebiet.





Grafik 3: Beispiel eines Outputs aus einer SSR Marker-Analyse. Blattprobe Nummer 1 und 4 weisen den selben Fingerabdruck (bei Position 229) auf. Blattprobe Nummer 2 (Position 242) und Blattprobe Nummer 3 (Position 233) hingegen sind unterschiedlich.



tungen und weiteren Tests überprüft werden. Würden die Resultate aus den „detached leaf assays“ und die Marssonina-Symptome im Feld übereinstimmen, hätte die Züchtung eine effiziente Methode zur Ermittlung resistenter Sorten und somit möglicher Resistenzquellen zur Hand.

Genetische Vielfalt

Bis heute ist noch wenig über die genetische Vielfalt und die Verteilung von *M. coronaria*-Genotypen (Stämmen) bekannt. Um Aufschluss über die europäische Marssonina-Population zu erlangen, haben Forscher des FiBL Schweiz erst kürzlich *M. coronaria* spezifische molekulare Marker (Simple Sequence Repeat marker, kurz SSR Marker oder Microsatelliten) entwickelt. SSR Marker sind kurze, nichtkodierende DNA Sequenzen, die im Genom (Erbgut) eines Organismus vorkommen und unterschiedlich oft wiederholt sind. Mit Hilfe solcher Marker können im Molekularlabor Unterschiede in der DNA verschiedener Marssonina-Proben (z.B. infizierte Apfelblätter) erkannt und eine Art „Fingerabdruck“ der Probe hergestellt werden. Sind die Fingerabdrücke zweier Proben identisch, wurden die zwei Blätter sehr wahrscheinlich vom gleichen Pilzstamm befallen. Sind die Fingerabdrücke verschieden, haben wir es mit unterschiedlichen Marssonina-Stämmen zu tun (siehe Beispiel in



Manchmal kann ein von *M. coronaria* befallener Apfelbaum das gesamte Laub noch vor der Ernte verlieren.

Grafik 1, S. 21). Diese Fingerabdrücke können also miteinander verglichen werden und geben Aufschluss über die genetische Struktur innerhalb einer Population. Dadurch werden Informationen über die Vielfalt, die Fortpflan-

zungsweise, die Verwandtschaftsgrade und die geografische Verteilung der Marssonina-Stämme oder Populationen gewonnen.

Im Rahmen der Masterarbeit wurden Proben in der Schweiz und in den

Anna Dalbosco kommt aus Meran und hat ihr Studium im Bereich der Agrarwissenschaften an der ETH Zürich absolviert. Ihre Abschlussarbeit konnte sie innerhalb der Forschungsgruppe "Molekulare Pflanzenzüchtung" bei Prof. Dr. Bruno Studer und in Zusammenarbeit mit der Forschungsgruppe von Dr. Andrea Patocchi der Forschungsanstalt Agroscope in Wädenswil verfassen. Vor kurzem hat sie den Master in Agrarwissenschaften erfolgreich abgeschlossen und arbeitet derzeit bei der biodynamischen Getreidezüchtung Peter Kunz (Feldbach, Schweiz).

Die Redaktion

Provinzen Bozen-Südtirol und Trient-Trentino zusammengetragen. Die Schweizer Blattproben wurden an verschiedenen Standorten von Agroscope sowie bei Landwirten in der Deutschschweiz und im Tessin gesammelt. Die Südtiroler Proben wurden mit Hilfe des Südtiroler Beratungsrings im Burggrafenamt, am Versuchszentrum Laimburg und auf Biobetrieben im Unterland gesammelt. Die Proben aus dem Trentino wurden von Luisa Mattedi vom Forschungszentrum Fondazione Edmund Mach in San Michele im Gebiet Lavis, Nonstal und Valsugana zusammengetragen.

Aus den Blattproben wurde die DNA extrahiert und mit 12 SSR Markern auf Unterschiede geprüft. Schließlich wurde die genetische Struktur und Variabilität innerhalb der Population des Pilzes und zwischen den Genotypen untersucht. Die Ergebnisse dieser populationsgenetischen Studie zeigen eine geringe Variabilität der Proben. Von 130 analysierten Proben wiesen 73% denselben Fingerabdruck auf (Grafik 2, S. 22). Dies zeigt, dass derzeit im Untersuchungsgebiet ein einzelner Stamm sehr häufig vorkommt. Es wurden allerdings auch zwölf weitere Stämme gefunden, die aber mit dem häufigsten Stamm sehr nah verwandt sind. Diese Stämme kommen teils in derselben Anlage, zusammen mit anderen Stämmen, im ganzen Untersuchungsgebiet oder nur in einzelnen Regionen vor (Grafik 3, S. 23). Diese homogene (gleichmäßige) Population deutet auf eine fehlende oder sehr niedrige sexuelle Reproduktion bei *M. coronaria* hin. Dies bedeutet wiederum, dass das Pathogen sich weniger schnell an neue Bedingungen anpassen kann. Resistenzen gegen Fungizide oder Resistenzgene im Apfel könnten sich somit weniger schnell kumulieren. Dies ist ein positives Ergebnis für die Apfelzüchtung, denn solange keine neuen Stämme eingeschleppt werden, bleibt das evolutionäre Potenzial von *M. coronaria* wahrscheinlich gering. 🍏

db_anna@yahoo.com

