

Mit schneller Züchtung zu feuerbrandresistenten Apfelsorten

In der Apfelmehrzüchtung von Agroscope in Wädenswil wird die «Fast Track»-Methode eingesetzt, um möglichst rasch die Feuerbrandresistenz von Wildäpfeln mit guter Fruchtqualität zu kombinieren. Rund fünf Kreuzungsgenerationen sind nötig, um marktfähige Sorten mit der Resistenz aus kleinfruchtigen Wildäpfeln zu züchten. Die Kreuzungen mit «Fast Track» begannen 2008. Mit guten Wuchsbedingungen im Gewächshaus und künstlicher Simulation der Winterruhe konnte die Generationszeit auf zwei bis drei anstelle der üblichen vier bis fünf Jahre reduziert werden. Zurzeit stehen bereits Sämlinge der vierten Generation im Gewächshaus. Wir rechnen damit, dass im Jahr 2020 die ersten qualitativ hochwertigen Apfelsorten mit Feuerbrandresistenz der Wildäpfel *Malus × robusta* 5 und «Evereste» für die agronomische Prüfung verfügbar sein werden.

SIMONE SCHÜTZ, ISABELLE BAUMGARTNER, LUZIA LUSSI, JULIA SCHAAD UND MARKUS KELLERHALS, AGROSCOPE, WÄDENSWIL
simone.schuetz@agroscope.admin.ch

«Fast Track» ohne gentechnischen Ansatz aus (Baumgartner et al. 2014).

Starke Feuerbrandresistenzen sind in Wildäpfeln enthalten, die aber geringe Grösse und ungünstige Fruchtqualität mitbringen. Um eine resistente Tafelsorte ohne unerwünschte Wildapfeleigenschaften zu züchten, sind vier bis fünf Pseudo-Rückkreuzungen mit wechselnden Kultursorten nötig. Mit jeder Kreuzung nimmt der Anteil des Wildgenoms theoretisch um die Hälfte ab, sodass nach fünf Generationen weniger als 5% (berechnet: 3.125%) vorhanden sind. Bei einer Generationszeit von vier bis fünf Jahren mit klassischer Züchtung ergibt dies für eine Kultursorte mit Wildapfelresistenz 20 bis 25 Jahre. Im «Fast Track» wird diese Generationsdauer verkürzt. An Agroscope in Wädenswil wurde im Rahmen der vom Bundesamt für Landwirtschaft (BLW) finanzierten Projekte ZUEFOS (2008–2011) und ZUEFOS II (2012–2013) seit 2008 die «Fast Track»-Methode angewandt (Abb. 1). Die Arbeiten werden nun unter dem Dachprojekt «Gemeinsam gegen Feuerbrand» mit Unterstützung von BLW, Schweizer Obstverband und VariCom GmbH weitergeführt. Mit kulturtechnischen Massnahmen sollen die Apfelsämlinge möglichst rasch blühen. Im Gegensatz zu «Early flowering», wo frühe Blüte durch den Einbau eines Birkengens erzielt wird (LeRoux et al. 2012), kommt

Schneller zum Ziel

Als Resistenzquellen wurden bisher die Wildäpfel *Malus × robusta* 5 (MR5), Evereste, *Malus fusca* und *Malus baccata* verwendet. Bei den Kreuzungen zwischen den Wildäpfeln und Kultursorten wird Pollen der Vatersorte auf die Blüten der Muttersorten mit einem Pinsel übertragen. Die ersten Kreuzungen erfolgten in der Freilandanlage, spätere Kreuzungen teils im Feld und teils im Gewächshaus. Im Gewächshaus sind Kreuzungen auch ausserhalb der Saison möglich. Im Frühjahr 2008 wurden die ersten Kreuzungen zwischen Evereste sowie F1 Nachkommen von MR5 (Idared × MR5) einerseits und der Zuchtnummer ACW 11303 andererseits vorgenommen. Pollen der F1 Nachkommen mit MR5-Resistenz erhielten wir vom Julius Kühn Institut in Dresden-Pillnitz (JKI).

Sämlingsanzucht

Die Kreuzungsfrüchte wurden entkernt, die Samen stratifiziert (Kältebehandlung in feuchtem Sand) und anschliessend im Gewächshaus in Saatschalen ausgesät. Die Sämlinge wachsen im Gewächshaus bei kontrollierter Temperatur (zwischen 15–25 °C) auf eigenen Wurzeln. Um die Längenstreckung zu verringern, werden die Pflanzen monatlich mit dem Wachstumsregulator «Prohexadione-Ca» behandelt und Seitentriebe bis auf eine Höhe von 70 Nodien (Ansatzstellen der Blätter) entfernt. Zum Zeitpunkt des nachlassenden Längenwachstums der Pflanzen beziehungsweise im Herbst wird die Winterruhe durch eine dreimalige Behandlung mit dem Reife- und Wachstumsregulator Ethephon eingeleitet. Die künstliche Wintersimulation erfolgte während sieben bis neun Wochen im Kühlraum bei 3 bis 5 °C.

Im «Fast Track» verwendete molekulare Marker.

Resistenzquelle	Bezeichnung Genort	Verwendete Marker
MR5	FB_MR5	FEM19 (SSR), FEM47 (SSR)
«Evereste»	Fb_E	CHFbE06 (SSR)
<i>Malus fusca</i>	Fb_Mfu10	FRM4 (SSR), FR149B (SSR), CH03d11 (SSR)
<i>Malus baccata</i>		noch kein Marker verfügbar



Aussaat und Anzucht der Sämlinge im Gewächshaus im Herbst oder Frühling



Überführung ins «Fast Track» im Januar oder Mai, Wachstum der Sämlinge auf eigener Wurzel unter gezielter Kulturführung



Anwendung von Prohexadione-Ca zur Stauchung der Internodien



F3 Nachkommen von MR5, F2 und F3 Nachkommen von «Evereste» und F1 Nachkommen von *Malus fusca* im Gewächshaus



Beginn des Austriebs nach der Winterruhe



Blüte einer F2 von «Evereste» im vierten Vegetationszyklus



Bestäubung der Blüten und Entnahme von Pollen am Baum



Entwicklung der Früchte nach Befruchtung im Gewächshaus



F3 Nachkommen von MR5, Ø 57 mm. Degustation der Früchte und Entnahme der Kerne

Abb. 1: Ablauf der Züchtung im «Fast Track» von der Aussaat bis zur Ernte der Kreuzungsfrüchte.

Molekulare Selektion

Die Sämlinge wurden auf das Vorhandensein der entsprechenden Feuerbrandresistenzen mit SSR-Markern molekular geprüft (Tabelle siehe Seite 8) und nur Pflanzen mit vorhandenen Resistenzmarkern wurden ins «Fast Track» aufgenommen.

Feuerbrandtestung

Zur phänotypischen Prüfung der Feuerbrandresistenz der erzeugten Nachkommen erfolgten Gewächshaus-tests mit künstlichen Triebinfektionen. Jeweils zwölf Veredelungen pro Genotyp wurden auf der Unterlage M9 T337 in Rosentöpfen (35.5 cm Höhe, Ø 7 cm) während sechs Wochen im Gewächshaus bei 16 bis 24 °C und zirka 65% relativer Luftfeuchtigkeit angezogen. Die Inokulation erfolgte im Sicherheitsgewächshaus bei einer Trieblänge von rund 15 bis 35 cm, indem das Feuerbrandbakterium *Erwinia amylovora* direkt in die Triebspitze gespritzt wurde (Schweizer Stamm FAW610 Rif, Konz. = 10⁹ cfu/ml; Rezzonico und Duffy 2007). Die Länge des optisch feuerbrandfreien Triebabschnitts bis zur sichtbaren Läsion sowie die Gesamtrieblänge wurden über drei Wochen alle sieben Tage gemessen. Als Referenzsorten dienten Gala (anfällig) und Enterprise (robust). Die Triebanfälligkeit wurde als Läsionslänge in Prozent der Gesamtrieblänge ermittelt. Für den Vergleich mit bekannten Sorten wurde die Läsionslänge in Prozent der Gesamtrieblänge relativ zu Gala berechnet. Nachkommen mit mittleren Läsionslängen von bis

40% relativ zu Gala werden als schwach anfällig und bis 25% relativ zu Gala als sehr schwach anfällig beurteilt. Die in den Abbildungen 3 und 4 dargestellten Ergebnisse geben Auskunft über die Triebanfälligkeit eines Genotyps im Gewächshaus, nicht aber über deren Blütenanfälligkeit im Freiland. Für eine Einstufung der Feuerbrandanfälligkeit im Hinblick auf Praxisempfehlungen sind weitere Tests (gemäss Agroscope-Standard) erforderlich.

Wo stehen wir heute?

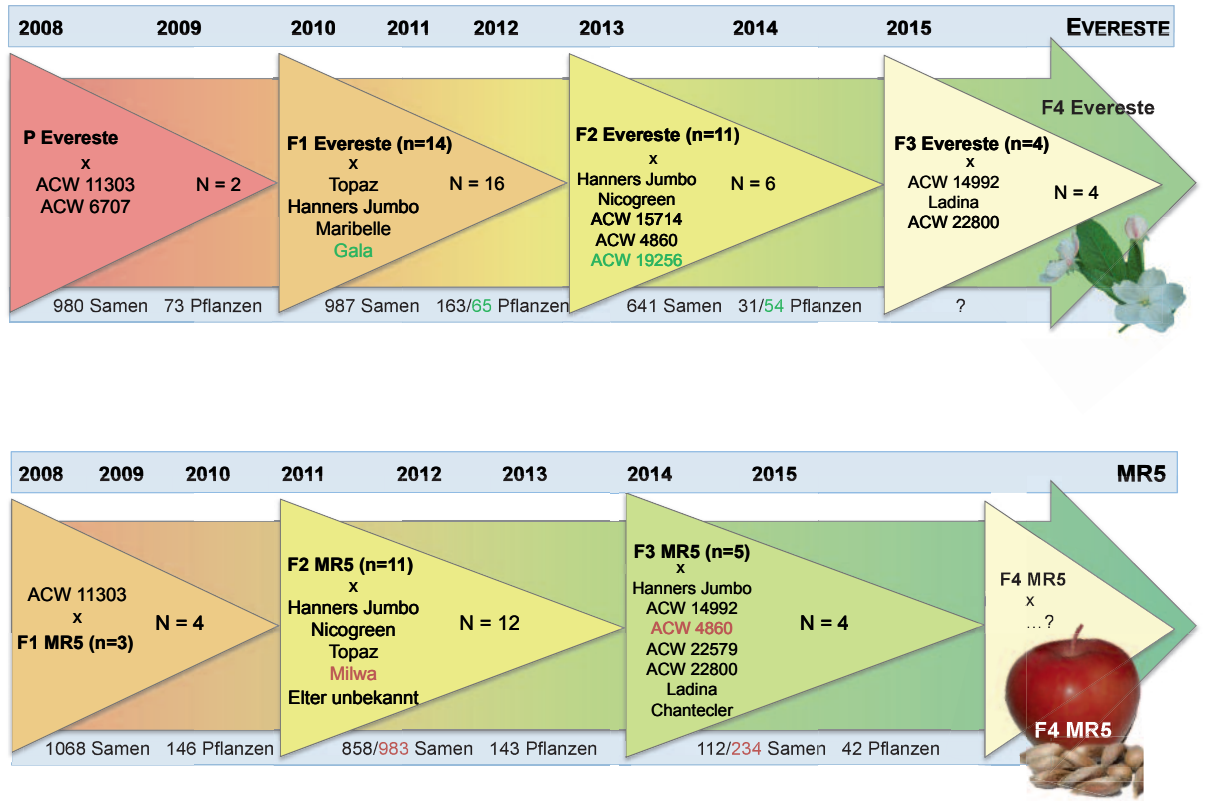
Kreuzungen, Sämlingsanzucht, molekulare Selektion

Seit 2008 wurden im «Fast Track» 110 Kreuzungen zwischen einem feuerbrandresistenten Elter mit Wildapfelherkunft und einer Sorte mit Tafelqualität durchgeführt. Dabei wurden 9800 Blüten bestäubt und 7400 Samen gewonnen. Aus den Sämlingen konnten durch eine strenge Selektion (Abb. 2) 267 Nachkommen mit Abstammung von Evereste, 331 Nachkommen von MR5 sowie ein Nachkomme von *M. fusca* (MAL0045) für «Fast Track» ausgewählt und weiter selektiert werden. Heute stehen im Gewächshaus über 150 resistente Pflanzen in der dritten Generation von Evereste, in der vierten Generation von MR5 und in der ersten Generation von *M. fusca*.

Feuerbrandtestung

Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse der künstlichen Triebinokulation im Gewächshaus der MR5 Nachkommen-

Abb. 2: Übersicht der Kreuzungen, gewonnenen Samen und selektierten Pflanzen im «Fast Track» über mehrere Generationen ausgehend von Evereste (oben) und einer F1 von MR5 (unten); (n = Anzahl F1, F2, F3 Pflanzen die blühten; N = Anzahl Elternkombinationen, grün = Pflanzen selektiert und im Feld gepflanzt, rot = Sämlinge im Gewächshaus und noch nicht molekular selektiert).



schaft. Der grösste Teil der F2 Nachkommen und zwei der drei bis jetzt getesteten F3 Nachkommen sind verglichen mit Gala «sehr schwach» anfällig. Nicht alle Nachkommen mit MR5-Resistenz sind gleich robust. Es gibt auch Nachkommen, die bei der Triebtestung im Gewächshaus eine Läsionslänge von über 50% versus Gala aufweisen.

Abbildung 4 zeigt die Ergebnisse der F1 und F2 Nachkommen von Evereste drei Wochen nach der Inokulation im Gewächshaus. Alle F2 und viele F1 Nachkommen sind verglichen mit Gala als «sehr schwach» bis «schwach» anfällig einzustufen. Sechs Genotypen der F1 sind jedoch «hoch» bis «sehr hoch» anfällig. Auch diese sechs Genotypen wurden molekular positiv auf den Resistenzmarker Fb_E von Evereste getestet. Die Untersuchung der gesamten Nachkommenschaft bestätigt, dass eine phäno-

typische Überprüfung für die Auswahl der Kreuzungspartner in der nächsten Generation unumgänglich ist.

Schlussfolgerungen

Agroscope nutzt «Fast Track», um mit Wildapfel-Resistenzen möglichst rasch marktfähige feuerbrandresistente Tafelapfelsorten zu züchten. Das System wurde nach eigenen Bedürfnissen entwickelt, basierend auf Arbeiten bei Plant and Food Research in Neuseeland (Volz et al. 2009; Van Nocker und Gardiner 2014). Im Unterschied zum System von Agroscope wird in Neuseeland in Klimakammern zusätzlich 18 h mit einem 900 µmol m⁻²s⁻¹ strahlenden Licht belichtet. Das Licht soll die Pflanzen zu weniger Längenwachstum und mehr Verzweigungen an-

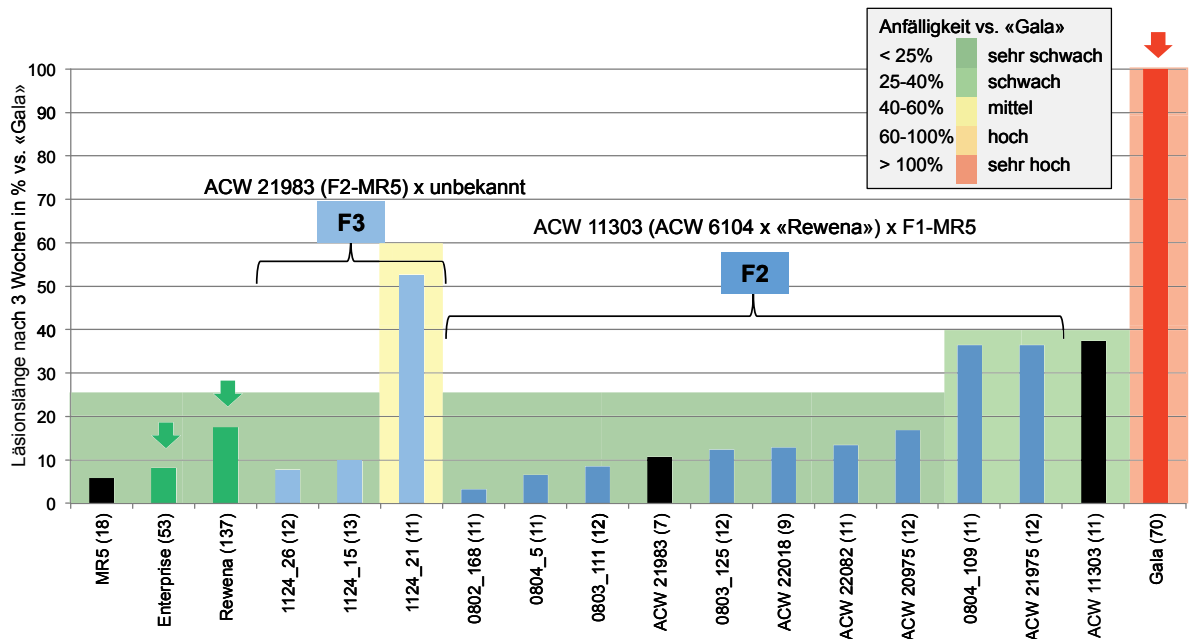


Abb. 3: Mittelwert der Läsionslänge der MR5 Nachkommenschaft drei Wochen nach der künstlichen Inokulation mit *E. amylovora* in die Triebspitze, in Schwarz die Ergebnisse der jeweiligen Elternsorten, in Grün/Rot die Kontrollen, (n) = Anzahl Wiederholungen.

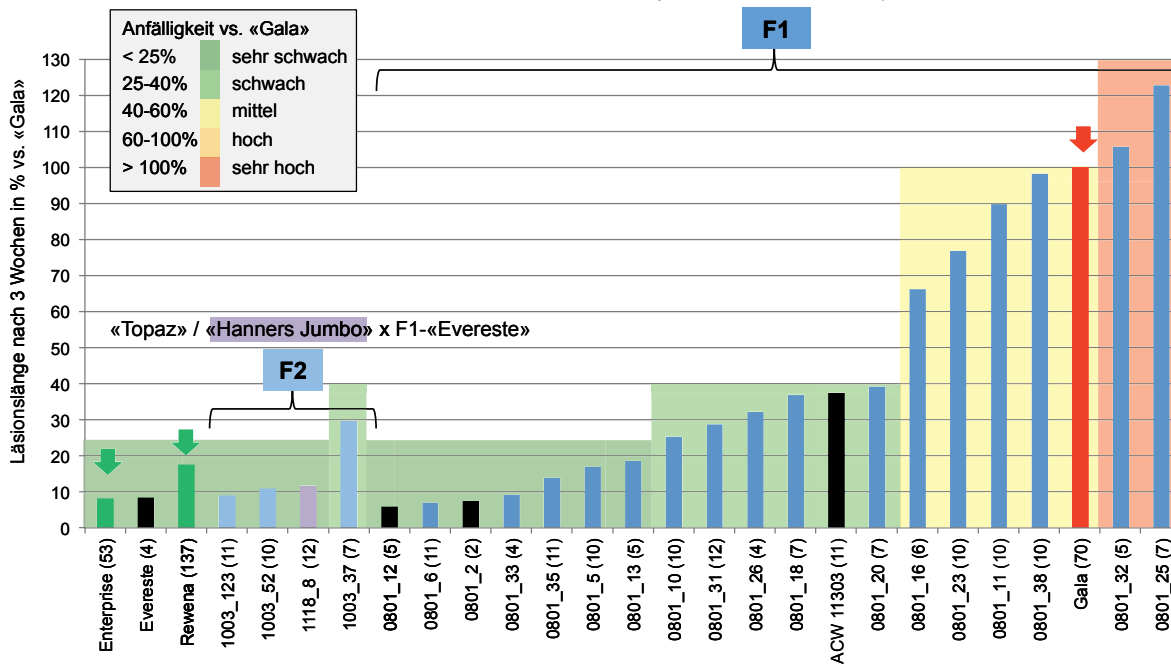


Abb. 4: Mittelwert der Läsionslänge der «Evereste» Nachkommen drei Wochen nach künstlicher Inokulation mit *E. amylovora* in die Triebspitze, in Schwarz die Ergebnisse der jeweiligen Elternsorten, in Grün/Rot die Kontrollen, (n) = Anzahl Wiederholungen.

regen. Der CO₂-Gehalt wird zudem erhöht. Damit soll die Blüte bereits nach zwei Jahren bei einem Durchschnittswert von 120 gebildeten Internodien eintreten (Volz et al. 2009 und pers. Mitteilung Vincent Bus). Die verschiedenen Parameter der Wachstumsbedingungen, wie die Dauer der Winterruhe und die Behandlung mit Wachstumsregulatoren, wurden in Versuchen bei Agroscope evaluiert und optimiert (Baumgartner et al. 2011). Peil et al. 2011 berichten von der Möglichkeit des Resistenzdurchbruchs aufgrund der Mutation eines einzelnen Nukleotids im Krankheitserreger. Deshalb sollten diese und andere Feuerbrandresistenzen stets in Kombination verwendet werden um eine Dauerhaftigkeit zu gewährleisten. Wir konnten zeigen, dass mit einem «Fast Track»-Ansatz unter normalen Gewächshausbedingungen der Züchtungsprozess beschleunigt werden kann. Die frühesten Blüten wurden in weniger als 18 Monaten nach der Aussaat erzielt.

Dank

Wir danken dem BLW für die finanzielle Unterstützung, dem Obstbau-Team und Jürgen Krauss von Agroscope sowie Andreas Peil (JKI) für die Zusammenarbeit. ■

Literatur

Baumgartner I.O., Patocchi A., Franck L., Kellerhals M. und Brogini G.A.L.: Fire blight resistance from «Evereste» and *Malus sieversii* used in breeding for new high quality apple cultivars: strategies and results. Acta Hort. (ISHS) 896, 391–397, 2011.

Baumgartner I.O., Patocchi A., Lussi L., Peil A. und Kellerhals M.: Accelerated introgression of fire blight resistance from *Malus × robusta* 5 and other wild germplasm into elite apples. Acta Hort. 1056, 281–287, 2014.

Le Roux P.-M., Flachowsky H., Hanke M.-V., Gessler C. und Patocchi A.: Use of transgenic early flowering approach in apple (*Malus × domestica* Borkh.) to introgress fire blight resistance from cultivar Evereste. Mol. Breeding 30, 857–874, 2012.

Peil A., Flachowsky H., Hanke M.-V., Richter K. und Rode J.: Inoculation of *Malus × robusta* 5 progeny with a strain breaking resistance to fire blight reveals a minor QTL on LG5. Acta Hort. 896, 357–362, 2011.

Rezzonico F. und Duffy B.: The role of luxS in the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* is limited to metabolism and does not involve quorum sensing. Mol Plant-Microbe Interact 20, 1284–1297, 2007.

Van Nocker S. und Gardiner S.: Breeding better cultivars, faster: applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops. Horticulture Research. Volume 1, 14022, 2014.

Volz R.K., Rikkerink E., Austin P., Lawrence T. und Bus V.G.M.: «Fastbreeding» in apple: a strategy to accelerate introgression of new traits into elite germplasm. Acta Hort. 814, 163–168, 2009.

Des variétés de pommes tolérantes au feu bactérien par sélection rapide

Agroscope à Wädenswil utilise la méthode dite «fast track» pour marier le plus rapidement possible la tolérance au feu bactérien des pommes sauvages avec des fruits de bonne qualité gustative. Il faut compter à peu près cinq générations pour obtenir des variétés qui seront plébiscitées par le consommateur tout en présentant la résistance de pommiers sauvages à fruits chétifs. La sélection par la méthode «fast track» a commencé en 2008. La culture en milieu favorable sous serre et la stimulation artificielle pendant le repos

hivernal ont permis de réduire le cycle des générations à deux à trois ans au lieu des quatre à cinq ans usuels. Les plants qui se trouvent actuellement sous serre sont déjà issus de la quatrième génération. Des diamètres jusqu'à 57 mm ont été mesurés sur les fruits de la troisième génération. Nous pensons que les premières sélections de pommes de qualité tolérantes au feu bactérien issues des pommiers sauvages *Malus × robusta* 5 et «Evereste» seront prêtes à passer la sélection variétale en 2020.

R É S U M É