

Moderne Methoden der Apfelzüchtung

Die Züchtung neuer Sorten ist eine stete Herausforderung. Bis vor ein paar Jahren standen neben hoher Fruchtqualität und guter Produktivität vor allem die Resistenz gegen Schorf und Mehltau im Vordergrund der Apfelzüchtung an der Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW. Dies sind auch heute noch wichtige Zuchtziele, hinzugekommen ist seit rund fünf Jahren das Zuchtziel Feuerbrandtoleranz. In verschiedenen national und international vernetzten Projekten wird versucht, die hochgesteckten Ziele zu erreichen. Wo steht die Apfelzüchtung und welche Methoden werden eingesetzt, um das Ziel der Feuerbrandtoleranz und der dauerhaften Schorfresistenz zu erreichen?

BETTINA GLEICHAUF, TERESA KOLLER, KASPAR HUNZIKER,
BRION DUFFY, JÜRIG FREY UND MARKUS KELLERHALS
FORSCHUNGSANSTALT AGROSCOPE CHANGINS-WÄDENSWIL, ACW
markus.kellerhals@acw.admin.ch

Die Zuchtziele Fruchtqualität, Produktivität und Krankheitsresistenz sind seit Jahren bestimmend und werden mit der klassischen Kreuzung zweier Elternsorten erreicht. Die aufwändigste Aufgabe der Züchtung ist die Auslese der interessantesten Nachkommen (Abb. 1). Dabei setzt ACW neben klassischen auch moderne molekulare Methoden ein. Man spricht von «Smart Breeding» (Smart = Selection with markers and advanced repro-

ductive technologies, d.h. Züchtung mit Markern und modernen Züchtungsmethoden). Dabei werden, zusätzlich zur klassischen Auslese, die Nachkommen nicht mehr nur nach ihrem Phänotyp (von Auge erkennbares Erscheinungsbild) ausgewählt, sondern auch nach ihrem Genotyp (den charakteristischen Erbanlagen). Bei den Nachkommen kann schon kurz nach der Aussaat Blattmaterial entnommen werden. Daraus wird die DNA extrahiert, um anschliessend mit spezifischen molekularen Markern zu prüfen, ob die erwünschten Gene in den einzelnen Nachkommen vorhanden sind. Dabei geht es vor allem um Resistenzgene gegen Schorf, Mehltau und Feuerbrand.



Abb. 1: Ablauf der Züchtung mit klassischen und molekularen Methoden.

Was ist ein Marker?

Marker sind Orte auf dem Genom, die sich nahe an der genetischen Information für erwünschte Eigenschaften befinden und im Labor sichtbar gemacht werden können und somit wieder auffindbar sind. Der Genomabschnitt, in dem sich der Marker befindet, wird in den meisten Fällen zusammen mit dem interessierenden Gen vererbt.

Vorteile der markergestützten Selektion:

- frühe Selektion,
- Steigerung der Effizienz,
- Kostensenkung durch schnellere Selektion,
- lohnt sich besonders für die Selektion mehrerer Eigenschaften (Resistenzen, Fruchtigenschaften) oder bei kombinierter Resistenz gegen die gleiche Krankheit.

Wo werden Marker in der Apfelerzeugung eingesetzt?

Marker werden für die unterschiedlichsten Eigenschaften entwickelt. Seit 2007 werden molekulare Marker eingesetzt, um die Feuerbrandtoleranz an Apfelsämlingen zu testen. Schon länger wird diese Methode verwendet, um Schorf- und Mehlttauresistenzen im Apfel nachzuweisen.

Neben der Krankheitsresistenz ist auch die Fruchtqualität ein wichtiges Zuchtziel. In einem bereits abgeschlossenen EU-Projekt (HIDRAS), an dem auch ACW beteiligt war, wurden Marker für Fruchtfleischfestigkeit und Säure entwickelt. In diesem Bereich ist noch weitere Forschung nötig, um aussagekräftige Analyseergebnisse zu bekommen.

Resistenz gegen Schorf und Mehltau

In Abbildung 2 sind einige Kreuzungen, die im Frühjahr 2007 ausgeführt wurden, aufgezeigt. Um die anfälligen Pflanzen zu erkennen, wird ein Schorfscreening im Gewächshaus durchgeführt. Hierzu werden die Sämlinge im 4-Blatt-Stadium mit Schorf infiziert. Wichtig ist, dass die relative Luftfeuchtigkeit in den ersten 48 Stunden bei 90 bis 100% liegt und die Temperatur bei 17 bis 19 °C. Die ersten Anzeichen einer Infektion sind nach sieben Tagen

sichtbar. Nach 14 Tagen wird bei den infizierten Sämlingen eine Schorfbonitur mit einer Skala nach Chevalier et al. (1991) gemacht (Abb. 3 a, b). Dabei treten unterschiedliche Resistenzreaktionen auf (Klasse 0 bis 3b). In Klasse 4 werden die anfälligen Sämlinge eingestuft.

Bei einer Kreuzung mit einem monogen schorffresistenten Elter ist die Aufspaltung in resistente und anfällige Nachkommen ungefähr 1 : 1 (siehe Abb. 2, Kreuzung 1). Knapp 50% der Pflanzen sind mit Befallsklasse 4 bonitiert worden; das bedeutet: Etwa die Hälfte der Nachkommen sind anfällig gegenüber Schorf.

Die Aufspaltung einer Kombination mit zwei schorffresistenten Eltern von «resistent» zu «anfällig» liegt bei 3 : 1. Kreuzung 2 ist ein Beispiel hierfür, 23% der Nachkommen wiesen nach der Infektion Schorfbefall auf.

70% der Nachkommen der Kreuzung 3 wiesen die Befallsklasse 2 auf, weitere 25% Mischsymptome der Klassen 1 und 2 (das heisst kleine Vertiefungen und chlorotische und nekrotische Flecken als Abwehrsymptome ohne Sporulation), nur knapp 3% die Befallsklasse 4. Insgesamt sind 97% der Nachkommen resistent gegenüber Schorf. Nur ein Teil davon enthält alle drei



Abb. 3 a + b: Befallsklassen 1 (a) und 2 (b) nach Chevalier zeigen gute Schorffresistenz.

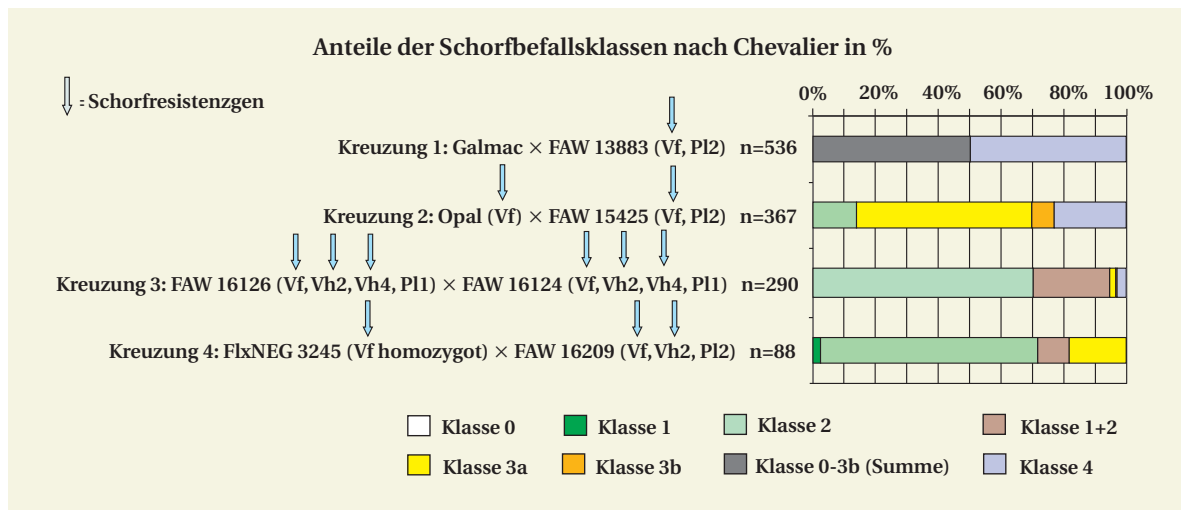


Abb. 2: Ergebnisse des Schorfscreenings einiger Kreuzungen im Gewächshaus (ACW; Frühjahr 2007).

Schorfresistenzgene (Vf, Vh2, Vh4). Genau diese Nachkommen können mit der molekularen Analyse bestimmt und wieder gezielt bei der Züchtung eingesetzt werden.

Bei Kreuzungen mit einem homozygoten (reinerbigen) Partner für Vf (Kreuzung 4) gab es keine anfälligen Pflanzen.

Das Ziel unserer markergestützten Selektion ist eine Pyramidisierung der Resistenzgene. Das bedeutet zum Beispiel, dass eine Pflanze nicht nur ein Resistenzgen, zum Beispiel das Schorfresistenzgen Vf besitzt, sondern zusätzlich noch die Resistenzgene Vh2 und Vh4. Mit der Kombination mehrerer Resistenzgene kann die Dauerhaftigkeit der Resistenz erhöht werden.

Es werden auch Resistenzgene gegen verschiedene Krankheiten in einer Pflanze kombiniert, zum Beispiel Schorf- und Mehlttauresistenz; Mehlttauresistenzgene sind zum Beispiel Pl1 und Pl2.

Die Mehlttaubonitur fand bis jetzt im Feld statt. Dank der markergestützten Selektion werden nur noch die Nachkommen ins Feld gepflanzt, bei denen die gewünschte Marker-Kombination vorhanden ist.

Toleranz gegen Feuerbrand

Anders als beim Schorf beruht die Toleranz beziehungsweise Anfälligkeit gegen Feuerbrand mehrheitlich nicht auf einzelnen, sondern auf mehreren Genen. Die genauen Mechanismen, die dafür verantwortlich sind, dass gewisse Apfelsorten oder Wildäpfel feuerbrandresistenter sind als andere, werden in verschiedenen Forschungsprogrammen (zum Beispiel in den USA, Neuseeland, Deutschland) genauer untersucht.

Zwei Marker werden zurzeit eingesetzt, um Hinweise auf die Feuerbrandtoleranz zu erhalten: AE10-375 und GE-8019. Sie liegen nahe bei einem QTL (quantitative trait locus; Genort mit deutlichem Einfluss auf ein bestimmtes Merkmal) für Feuerbrandtoleranz, der auf dem Genom der Apfelsorte Fiesta gefunden wurde (Khan et al. 2006). Da die Marker auf dem Genom einer bestimmten Sorte gefunden wurden, sind sie nur bedingt bei anderen Kreuzungsnachkommenschaften anwendbar. Kreuzungseltern und deren Nachkommenschaften werden auf das Vorhandensein oder die Abwesenheit des Feuerbrand-QTL analysiert. So können die Nachkommen mit den gewünschten Eigenschaften schnell ausgelesen werden.

Im Frühjahr 2008 wurden die Zuchtnummern, die als Kreuzungspartner in Frage kamen, das erste Mal molekular auf die oben genannten Feuerbrandmarker untersucht. In das Kreuzungsprogramm 2008 wurden schliesslich Zuchtnummern und Sorten einbezogen, die beide Marker aufwiesen.

Die Nachkommenschaft Enterprise × FAW 11546 (102 Sämlinge) wurde im Frühjahr 2008 ausgesät und auf die Marker für Feuerbrand und den Marker für die Vf-Schorfresistenz getestet (Tabelle). Bei der Eltersorte Enterprise wurden die zwei Feuerbrandmarker und der Vf-Marker nachgewiesen, die Zuchtnummer FAW 11546 (Milwa × Reka) dagegen wies nur den Feuerbrandmarker GE auf.

58 Nachkommen wiesen die Marker AE und GE auf, 56 den Marker für Vf. 35 Nachkommen haben gleichzeitig beide Feuerbrandmarker und Vf.

Aufspaltung der Nachkommenschaft Enterprise (Vf, AE, GE) × FAW 11546 (GE).

Vf	AE u. GE	Anzahl Pflanzen
-	-	23
+	+	35
-	+	23
+	-	21

+ = Marker vorhanden
 - = Marker nicht vorhanden

Bei der Selektion der zweijährigen Sämlinge im Feld im Sommer 2009 werden die Ergebnisse der Markeranalyse ebenso berücksichtigt wie der Wuchscharakter und die Anfälligkeit auf Mehlttau.

Feuerbrand-Tests im Gewächshaus

Neben den molekularen Analysen werden seit 2005 an der ACW Wädenswil im Sicherheitsgewächshaus Apfelsorten und fortgeschrittene Zuchtnummern auf ihre Feuerbrandanfälligkeit getestet. Diese Tests ermöglichen eine Aussage zur Triebanfälligkeit, hingegen nicht zur Anfälligkeit der Blüten. Weil Feuerbrand in der Schweiz ein Quarantäneorganismus ist, müssen diese Tests in einem speziellen Gewächshaus durchgeführt werden.

Zehn Bäumchen von jeder Zuchtnummer werden auf M9-Unterlagen veredelt und als Topfpflanzen angezogen. Die Anwachsrate war 2008 nicht durchwegs gut, weshalb meistens weniger Pflanzen für die Versuche zur Verfügung standen. Die Infektion erfolgt bei einer Trieblänge von 15 bis 30 cm, indem der Erreger *Erwinia amylovora* direkt in den Trieb gespritzt wird (Konz. = 10⁶ cfu/ml, seit 2008 mit einem Schweizer Stamm). Die Läsionslängen (LL) werden während einer Periode von drei Wochen wöchentlich gemessen. Als Referenzsorten wurden 2008 Gala (anfällig) und Spartan (tolerant) mitgetestet.

Die Ergebnisse der Tests 2008 sind in Abbildung 4 dargestellt. Acht der 16 getesteten ACW-Zuchtnummern waren gleich anfällig oder robuster als Spartan, die als eher robust gilt. Sehr wenig Befall hatten zwei Topaz × Fuji-Kreuzungen, die auch in Bezug auf ihre sonstigen Baum- und Fruchteigenschaften interessant sind. Diese beiden Zuchtnummern wiesen bei den molekularen Analysen beide Feuerbrand-Marker auf (AE, GE). Bei einer dieser Zuchtnummern konnte das gute Ergebnis der phänotypischen Überprüfung 2007 bestätigt werden. Hingegen weist ein Ariwa × Regia-Nachkomme (FAW 16102) keinen der beiden Marker auf, ist durch das Testergebnis aber auch als eher robust einzustufen.

Sieben Zuchtnummern lagen bezüglich ihrer Anfälligkeit zwischen Spartan und Gala. Bei einer dieser Zuchtnummern konnten mit molekularen Analysen beide Marker nachgewiesen werden (Abb. 4).

Gut – aber noch zu wenig

Die beiden bisher bekannten Marker für eine spezifische Feuerbrandtoleranz reichen allein noch nicht aus, um über eine molekulare Untersuchung eindeutig festzu-

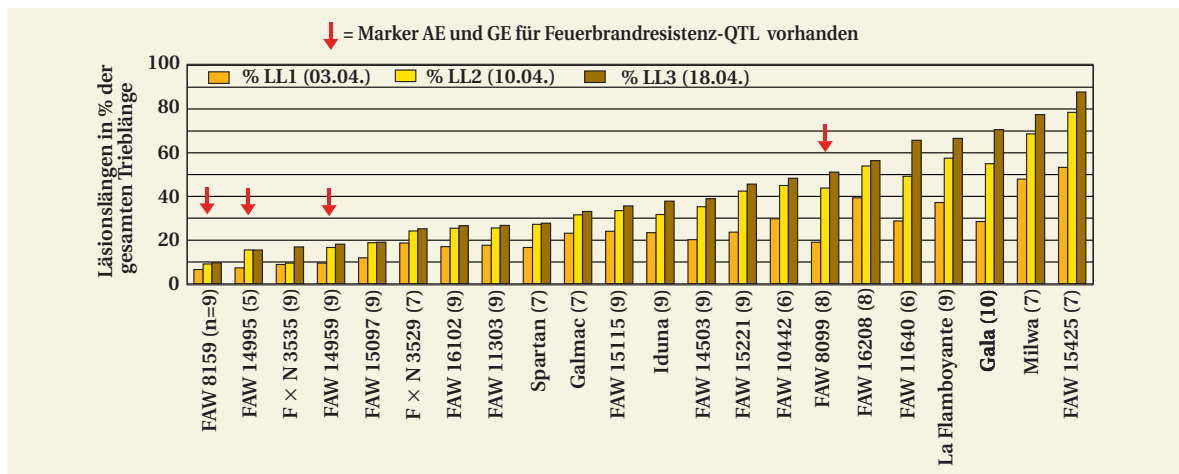


Abb. 4: Feuerbrandtoleranz-Test mit ausgewählten Zuchtnummern und Sorten.

stellen, ob eine Pflanze feuerbrandtolerant ist. Auch reicht der Triebanfälligkeitstest allein nicht aus, um eine umfassende Aussage über die Feuerbrandanfälligkeit der Zuchtnummern zu treffen. Hierfür wird im ZUEFOS-Projekt nach Lösungsansätzen gesucht (siehe Kasten).

Die Voraussetzungen, neue Apfelsorten mit dauerhafter Krankheitsresistenz und hoher Fruchtqualität effizienter als früher zu züchten, sind gut. Die Kombination verschiedener Resistenzfaktoren gegen die gleiche Krankheit und die Kombination von Schorf-, Mehltau- und Feuerbrandresistenz in derselben Pflanze sind nachhaltige Strategien. ■

Literatur

Khan M.A., Duffy B., Gessler C. and Patocchi A.: QTL mapping of fire blight resistance in apple. *Mol. Breeding* 17, 299–306, 2006.

Chevalier M., Lespinasse Y. and Renaudin S.: A microscopic study of the different classes of symptoms coded by the Vf gene in apple for resistance to scab (*Venturia inaequalis*). *Plant Pathol.* 40, 249–256, 1991.

Neue Forschungsprojekte Feuerbrand

Im Frühjahr 2008 wurden bei ACW drei neue Projekte zum Thema Feuerbrand begonnen, die vom Bundesamt für Landwirtschaft finanziert werden und bis 2011 dauern.

In einem dieser Projekte steht die «Züchtung feuerbrandtoleranter Obstsorten» (ZUEFOS) im Mittelpunkt. In vier Modulen wird mit folgenden Ansätzen gearbeitet.

- Möglichst rasch feuerbrandtolerante Apfel- und Birnensorten mit hoher Marktrelevanz züchten,
- Neue Resistenzquellen einbeziehen und die Generationszeit verkürzen,
- Markergestützte Selektion so entwickeln, dass sie zuverlässig kostspielige Feuerbrandtests im Gewächshaus ersetzen kann,
- Praxistaugliche und rasch anwendbare Beiträge zur Lösung der Feuerbrandproblematik anbieten.

Méthodes modernes de sélection de pommes

R É S U M É

Les objectifs de la Station de recherches Agroscope Changins-Wädenswil ACW peuvent se résumer comme suit: obtenir des fruits d'une qualité élevée, une bonne productivité et une résistance durable aux maladies. Pour atteindre ces objectifs, elle complète les méthodes de sélection classiques par des technologies moléculaires modernes.

La sélection assistée par marqueurs est en usage depuis pas mal de temps pour dépister la résistance à la tavelure et à l'oïdium du pommier. Elle est appliquée partout où il s'agit de combiner différentes résistances contre une même maladie. Le dépistage de la tavelure sous serre en combinaison avec les analyses au mar-

queur permet une sélection efficace en vue d'éliminer les plantes sensibles.

Depuis 2007, les marqueurs moléculaires sont utilisés pour tester la résistance des plantes de semis de pommiers contre le feu bactérien. Des tests sous serre de la résistance des pousses complète les études. Afin d'obtenir une fiabilité encore plus grande dans les pronostics de résistance au feu bactérien, il importe de perfectionner encore davantage la sélection assistée par marqueurs et les tests de sensibilité. Un défi que relève le projet « sélection de variétés de fruits tolérantes au feu bactérien ».