



Züchtung Marssonina-robuster Apfelsorten

Die Marssonina-Blattfleckenkrankheit, die durch den pilzlichen Schaderreger *Marssonina coronaria* verursacht wird, führt zu frühzeitigem Laubfall bei Apfelbäumen. Seit 2010 hat sich die Krankheit in Europa etabliert. Bäume und Obstanlagen mit reduziertem Pflanzenschutz sind vom Marssonina-Blattfall besonders betroffen. Als Grundsteine für die Züchtung Marssonina-robuster Sorten braucht es angepasste Selektionsmethoden und Informationen zur Anfälligkeit der Sorten sowie der Lebensweise und biologischen Vielfalt des Erregers.

ANNA DALBOSCO, ETH ZÜRICH UND AGROSCOPE, WÄDENSWIL
BRUNO STUDER, ETH ZÜRICH

INA SCHLATHÖLTER, ANITA SCHÖNEBERG, GIOVANNI BROGGINI
UND ANDREA PATOCCHI, AGROSCOPE, WÄDENSWIL
THOMAS OBERHÄNSLI UND HANS-JAKOB SCHÄRER,
FORSCHUNGSINSTITUT FÜR BIOLOGISCHEN LANDBAU (FiBL),
FRICK

andrea.patocchi@agroscope.admin.ch

Marssonina coronaria wurde bereits vor 100 Jahren in den USA und in Japan beschrieben. Seit den 1970er-Jahren wurde das Pathogen auch in anderen asiatischen und amerikanischen Ländern gefunden (China, Korea, Indien, Kanada und Brasilien). In Europa wurde *M. coronaria* erstmals 2001 im Piemont entdeckt und ist seit 2010 in vielen europäischen Ländern verbreitet (Naef et al. 2013). Ursache 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 (Abb. 1) und Hochstamm-Obstanlagen (Abb. 2) sowie gegen Apfelschorf resistente Apfelsorten wie Topaz (s. Abb. oben). Dies ist auf einen reduzierten Pflanzenschutz im Sommer bzw. vor der Ernte oder auf fehlende Fungizidbehandlungen zurückzuführen. Die meisten Fungizide, die gegen Schorf verwendet werden, wirken auch gegen Marssonina. Allerdings muss sich auch der konventionelle Apfelanbau auf eine zunehmende Bedeutung der Krankheit in den kommenden Jahren vorbereiten. In Ostasien hat der Schaderreger mancherorts schon Resistenz gegen einige Fungizide entwickelt (z.B. Tebuconazol oder Thiophanat-methyl) und gilt nicht nur im biologischen Apfelanbau als einer der wichtigsten Pathogene (Dang et al. 2017).



Abb. 1: *M. coronaria*-Befall in einer Bioanlage.

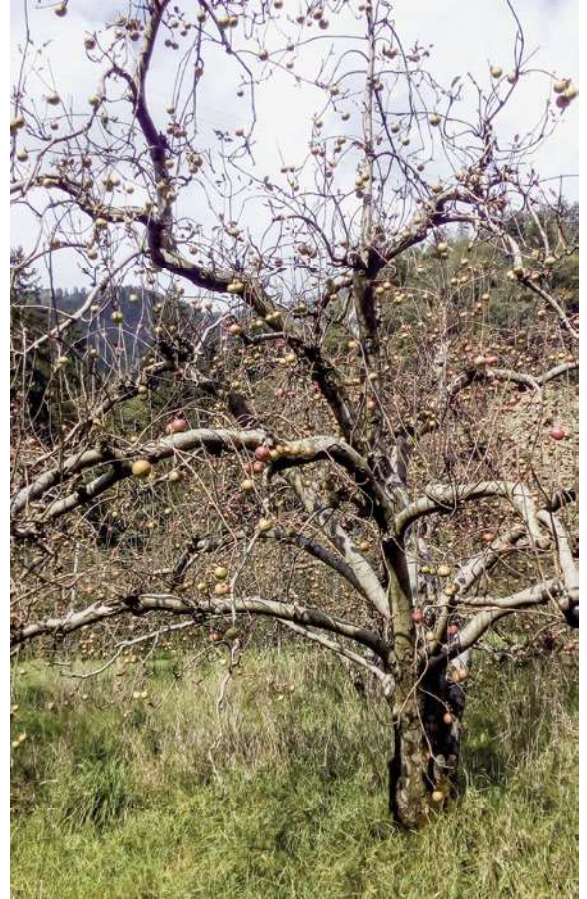


Abb. 2: Befallener Apfelbaum.

Krankheit

In China, dem weltweit grössten Apfelproduzenten, werden die 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 auftraten (Lee et al. 2011). Meist sind die Marssonina-Blattflecken allerdings nur auf den Blättern zu sehen. Im Gegensatz zum Apfelschorf ist nicht die Marktfähigkeit der Äpfel betroffen, sondern der Baum wird allgemein geschwächt, was sich auf den Ertrag auswirkt. Die normale Assimilat-Einlagerung für das Folgejahr wird vermindert, was zu einem Vitalitätsverlust des Baums führt. Darüber hinaus kann die Pilzinfektion die Blütenbildung sowie die Apfelerträge und deren Qualität negativ beeinflussen (Sagong et al. 2011).

Wissenslücken

Die ökonomisch und ökologisch nachhaltigste Lösung zur Bekämpfung von Krankheitserregern sind robuste Sorten. Sie sind tolerant (können befallen werden, was aber zu keinem oder nur sehr geringem wirtschaftlichem Schaden führt) oder resistent (das Pathogen kann sich nicht etablieren) auf gewisse Schaderreger und die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln kann reduziert werden. Allerdings wurden bisher nur wenige Studien zur Ermittlung des Marssonina-Resistenzniveaus durchgeführt. Laut diesen scheinen die meisten kommerziellen Apfelsorten auf *M. coronaria* anfällig zu sein, so z. B. Topaz, Golden Delicious, Braeburn und Fuji. Einige Sorten wie Qinguan, Cripps Pink, Elstar, Redchief Delicious, McIntosh, Democrat, Pinova und Granny Smith wurden hingegen in einigen Studien als eher tolerant beschrieben (Vorley et al. 2014; Wöhner et al. 2016).

Informationen zum Lebenszyklus von *M. coronaria* sind noch unvollständig. In Asien wurden sexuelle Fruchtkörper beobachtet, von denen angenommen wird, dass sie im Frühjahr für das primäre Inokulum verantwortlich sind (Harada et al. 1974). Pilze, die sich sexuell vermehren, können sich leichter an neue Umgebungen und Situationen anpassen und sich schneller weiterentwickeln. Dadurch schaffen sie es, Resistenzen zu überwinden und für die Landwirtschaft erneut zum Problem zu werden. In Europa wurden diese sexuellen Fruchtkörper bisher nicht beobachtet und die Überwinterungsform von *M. coronaria* ist bis heute unklar. Um eine wirksame Strategie zum Pflanzenschutz zu erarbeiten, sind solche Informationen wichtig.

Für eine erfolgreiche Resistenzzüchtung braucht es effiziente Methoden zur Ermittlung möglicher Resistenzquellen (z.B. mittels Sortentests) und genauere Informationen über die Variabilität des Pathogens und dessen Verbreitung. An diesen zwei Punkten wurde in der Masterarbeit der Erstautorin an 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 zu testen, gibt es verschiedene Methoden. Meist werden die Pflanzen mit dem Schaderreger inokuliert. Für eine erfolgreiche Marssonina-Inokulation sollten mindestens 100'000 Sporen pro ml in kleinen Tröpfchen auf die Blätter gesprüht werden. Während der Inkubationszeit müssen die inokulierten Pflanzen mindestens 72 Stunden lang bei 20 bis 25 °C und 100% relativer Luftfeuchtigkeit gehalten werden und 10 bis 12 Stunden Licht pro Tag erhalten. Die meisten Experimente

zur Resistenzermittlung finden an ganzen Pflänzchen im Gewächshaus oder im Feld statt.

Da *M. coronaria* auf künstlicher Nährmedien im Labor nur sehr langsam wächst und Resistenzversuche an ganzen Pflanzen viel Platz brauchen und zeitaufwendig sind, wurden nun Sortentests auf einzelnen abgetrennten Blättern verschiedener 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 mit Feldbeobachtungen und weiteren Tests überprüft werden. Stimmen die Resultate aus den «detached leaf assays» mit den Ergebnissen zum Befall im Feld überein, hätte die Züchtung eine effiziente Methode zur Ermittlung resistenter Sorten und somit möglicher Resistenzquellen.

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, wurden am FiBL kürzlich *M. coronaria* spezifische molekulare Marker (SSR Marker) entwickelt (Oberhänsli et al. 2016). Damit können Unterschiede in der DNA verschiedener Marssonina-Proben (z.B. von infizierten Apfelblättern) erkannt und eine Art «Fingerabdruck» der Probe hergestellt werden. Sind die Fingerabdrücke verschieden, haben wir es mit unterschiedlichen Marssonina-Stämmen zu tun (Abb. 3). Diese Fingerabdrücke können miteinander verglichen werden und geben Aufschluss über die genetische Struktur innerhalb einer Population. Dadurch werden Informationen über die Vielfalt, die Fortpflanzungsweise, die Verwandtschaftsgrade und die geografische Verteilung der Marssonina-Stämme oder Populationen gewonnen.

Im Rahmen der Masterarbeit wurden Proben in der Schweiz und in der Region Trentino-Südtirol (I) zusammengetragen. Die Schweizer Blattproben wurden an verschiedenen Standorten von Agroscope sowie auf Betrieben in der Deutschschweiz und im Tessin gesammelt. Die italienischen Proben wurden mithilfe des Südtiroler Beratungsrings, dem Versuchszentrum Laimburg und dem Forschungszentrum Fondazione Edmund Mach (San Michele, I) gesammelt. Aus den Blattproben wurde die DNA extrahiert und mit zwölf SSR Markern auf Unterschiede geprüft. Schliesslich wurde die genetische Struktur und Variabilität innerhalb der Population des Pilzes und zwischen den Genotypen untersucht. Die Ergebnisse zeigen eine geringe Variabilität der Proben. Von 130 analysierten Proben wiesen 73% denselben Fingerabdruck auf (Abb. 4). 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 vor, im gan-

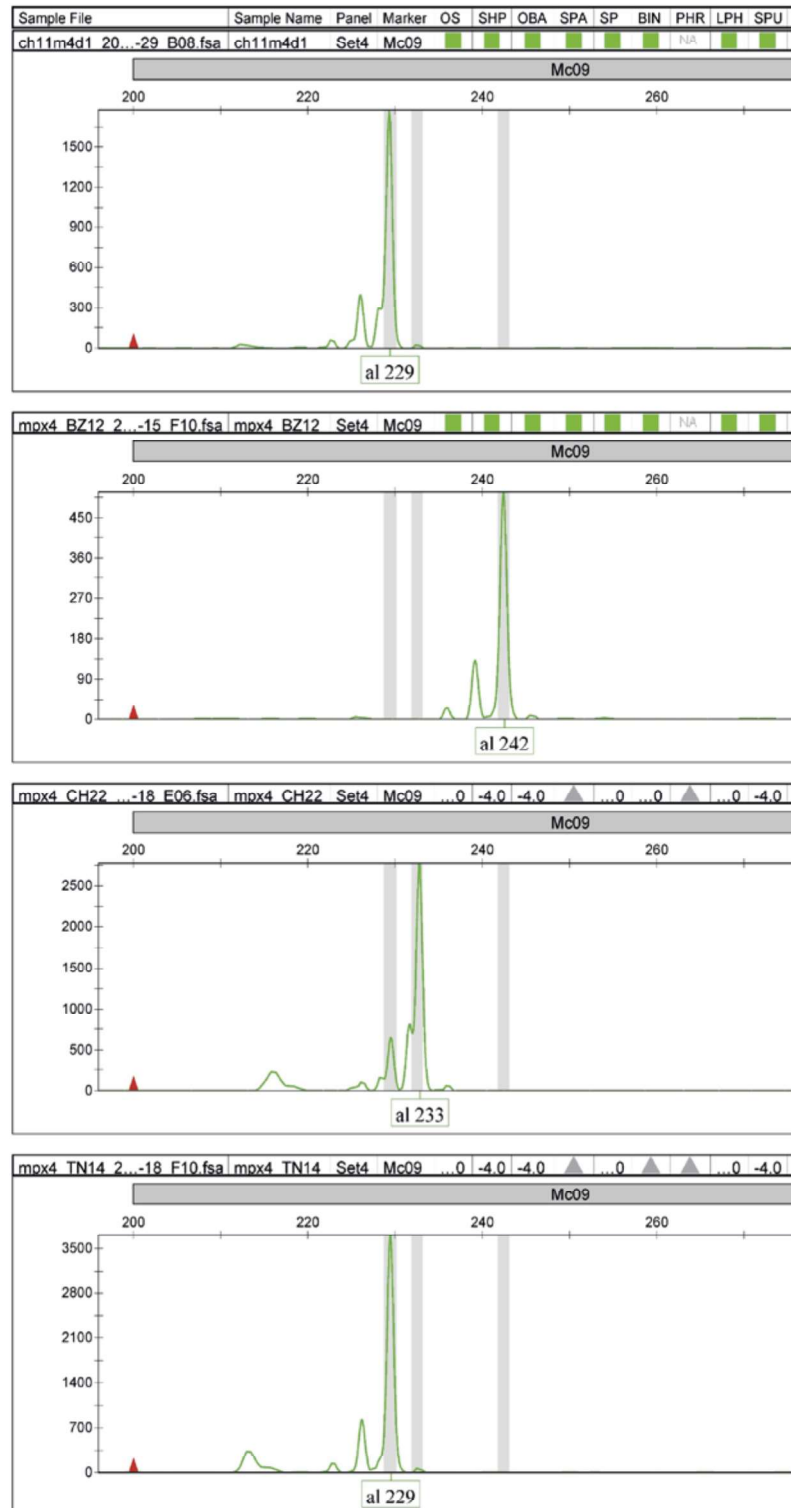


Abb. 3: Beispiel eines Outputs aus einer SSR Marker-Analyse. Blattprobe Nummer 1 und 4 weisen denselben Fingerabdruck (bei Position 229) auf. Blattprobe Nummer 2 (Position 242) und Blattprobe Nummer 3 (Position 233) hingegen sind unterschiedlich.

zen Untersuchungsgebiet oder nur in einzelnen Regionen (Abb. 5). 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

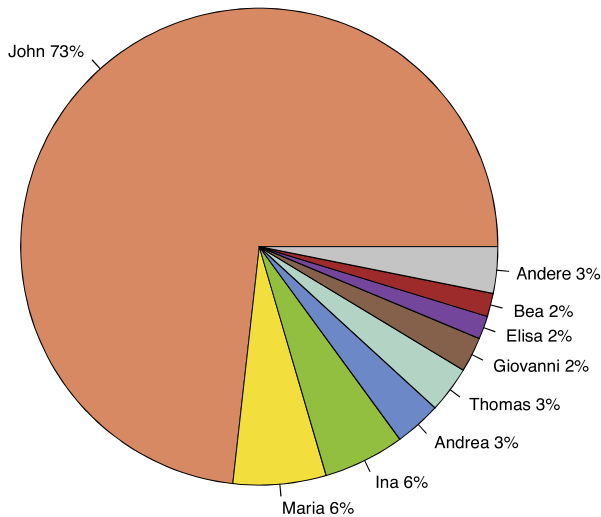


Abb. 4: Genetische Vielfalt der untersuchten Marssonina-Population (jede Farbe bezeichnet einen anderen Stamm).

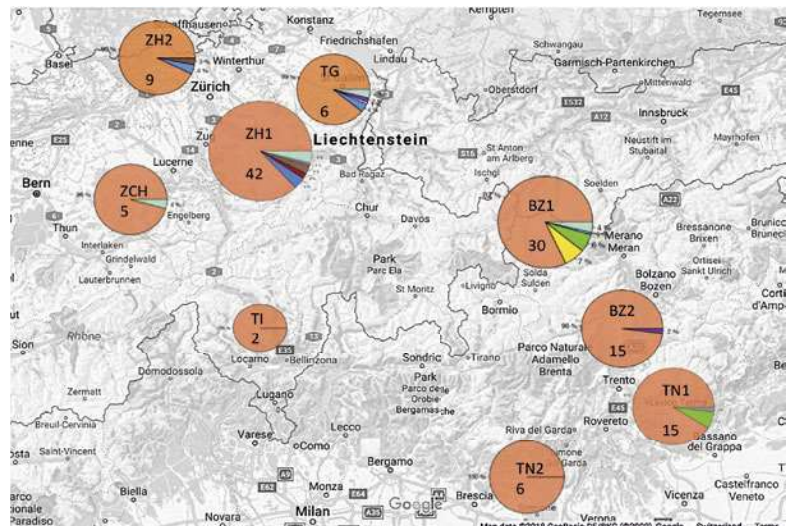


Abb. 5: Geografische Verteilung der verschiedenen *M. coronaria*-Stämme im Untersuchungsgebiet: ZCH (Zentralschweiz), BZ (Bozen), TN (Trentino).

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. ■

Literatur

Dang J., Gleason M., Niu C., Liu X., Guo Y., Zhang R. and Sun G.: Effects of Fungicides and Spray Application Interval on Controlling Marssonina Blotch of Apple in the Loess Plateau Region of China. *Plant Dis* 101, 568–575, 2017.

Harada Y., Sawamura K. and Konno K.: *Diplocarpon mali*, *sp. nov.*, the perfect state of apple blotch fungus *Marssonina coronaria*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 40, 412–418, 1974.

Lee S., Suh S., Kim D., Choi K., Lee D. and Ryu O.: Questionnaire on status and opinions on pest control for apple growers and related groups. *RDA Journal of Agricultural Science, Crop Protection* 38, 545–552, 1996.

Naef A., Häseli A. und Schärer H.J.: Marssonina Blattfall, eine neue Apfelkrankheit. *Schweizer Z. Obst-Weinbau*, 8–11, 2013.

Oberhänsli T., Vorley T., Tamm L. and Schärer H.J.: Development of quantitative PCR for improved detection of *Marssonina coronaria* in field samples. *Ecofruit. 17th International Conference on Organic Fruit-Growing*. Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO), Hohenheim, Germany, 187–190, 2016.

Sagong D., Kweon H., Song Y., Park M., Nam J., Kang S. and Lee S.: Influence of defoliation by Marssonina blotch on vegetative growth and fruit quality in «Fuji»/M.9 apple tree. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 29, 531–538, 2011.

Vorley T., Oberhänsli T., Tamm L. and Schärer H.: Testing susceptibility of apple cultivars against *Marssonina coronaria*. *Ecofruit. 16th International Conference on Organic-Fruit Growing: Proceedings*, 17–19 February, 2014, Hohenheim, Germany. Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO), 191–194, 2014.

Wöhner T., Radatz S. and Hanke M.V.: Evaluation of apple cultivars for their resistance to premature leaf fall (*Marssonina coronaria*). *Ecofruit. 17th International Conference on Organic Fruit-Growing*. Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO), Hohenheim, Germany, 140–43, 2016.

Sélection de variétés de pommes tolérantes à *Marssonina coronaria*

Pour que la sélection de variétés de pommes résistantes puisse réussir, il faut des méthodes efficaces de détermination des sources de résistance potentielles, ainsi que des informations sur la variabilité et la distribution du pathogène. Un travail de master a été effectué qui traite de ces deux aspects. Un test variétal prometteur et efficace avec des feuilles détachées individuelles («detached leaf assay») a été mis au point et doit encore être validé par les données du terrain.

R É S U M É

Afin d’obtenir des informations sur la diversité génétique de la population européenne de *Marssonina coronaria*, les «empreintes digitales» moléculaires de 130 échantillons en provenance de différents pays ont été générées. Les résultats témoignent d’une faible variabilité. Cette grande homogénéité de la population suggère une reproduction sexuelle non existante ou en tout cas très faible de *M. coronaria*. C’est une excellente nouvelle pour la sélection de caractères de résistance.