



Präzisionszüchtung gegen Feuerbrand

Entwicklung neuer Strategien für die Züchtung resistenter Apfelsorten

Der Feuerbrand ist eine Quarantänekrankheit, die im Apfel- und Birnenanbau zu großen Problemen führt. Er wird von einem Bakterium, *Erwinia amylovora*, hervorgerufen. Die meisten Apfelsorten sind hochanfällig, wobei effektive Bekämpfungsmöglichkeiten fehlen oder nicht regulär verfügbar sind. Die Züchtung dauerhaft feuerbrandresistenter Apfelsorten mit einer guten Fruchtqualität ist deshalb eine Grundvoraussetzung für die Zukunft eines nachhaltigen und leistungsfähigen Obstbaus. Für die erfolgreiche Umsetzung dieses Vorhabens ist es notwendig, verschiedene Resis-

tenzquellen in Äpfeln zu identifizieren, deren Vererbung zu studieren, Wirkmechanismen aufzuklären und Methoden zu schaffen, die eine zeitnahe Überführung in hochwertiges Zuchtmaterial ermöglichen.

Resistenzquellen und deren Wirkmechanismen im Apfel

Bakterien wie *Erwinia amylovora* injizieren mithilfe einer nadelartigen Struktur in ihrer Zellhülle Proteine, auch Effektoren genannt, in die Zellen der Wirtspflanzen. Ziel ist es, die Stoffwechselwege der pflanzlichen Pathogenabwehr zu blockieren. Resistente Wirtspflanzen haben

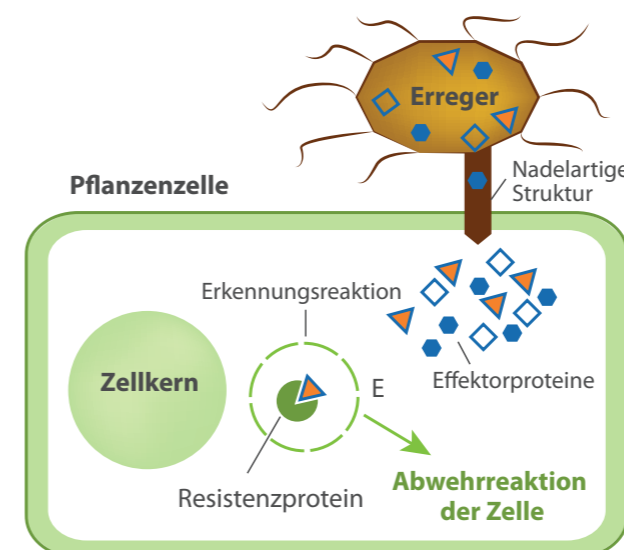


Abbildung 1: Schematischer Ablauf der Induktion einer gezielten Resistenzreaktion in der Pflanzenzelle als Folge der Erkennung eines Effektors des Erregers

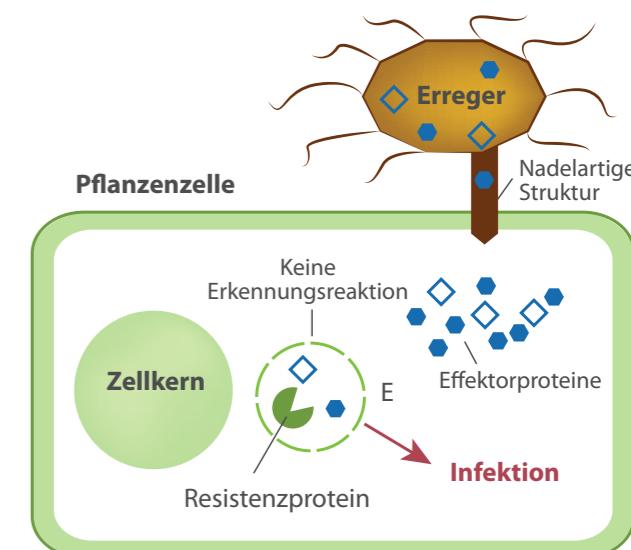


Abbildung 2: Schematischer Ablauf einer erfolgreichen Infektion der Pflanzenzelle, in der es kein Resistenzprotein gibt, welches einen der Effektoren des Erregers erkennen würde

sich diese Strategie ihrer Gegner im Laufe der Evolution zu Nutze gemacht. Sie besitzen Resistenzgene, erkennen solche Effektoren und schalten in der Folge sehr spezifische Abwehrkaskaden in der befallenen Pflanzenzelle an (Abb. 1). Ohne Erkennungsreaktion kann der Erreger den Wirt erfolgreich infizieren (Abb. 2). Durch ein unterschiedliches Repertoire an Effektoren in verschiedenen Stämmen, können am gleichen Genotyp eines Wirtes Anfälligkeit oder Resistenz auftreten. Daher wurden am Julius Kühn-Institut (JKI) zahlreiche Apfelsorten und Apfelwildarten mit verschiedenen Stämmen des Feuerbrandregers infiziert (Abb. 3). Nahezu alle Apfelsorten zeigten sich anfällig gegenüber den getesteten Stämmen. Wirksame Resistenzen wurden in einzelnen Genotypen unterschiedlicher Apfelwildarten der Gattung *Malus* gefunden. Interessant ist, dass der Wildapfel *Malus × robusta 5* anfällig gegenüber einem kanadischen Stamm (Ea3049) des Erregers ist, während andere Stämme diesen Genotyp nicht infizieren können.

Offensichtlich wird der Stamm Ea3049 von *Malus × robusta 5* nicht erkannt. Starke Symptome zeigte *Malus × robusta 5* auch nach Infizierung mit einem Laborstamm der Michigan State Universität. Bei diesem Stamm wurde gezielt ein Effektorgen zerstört. Aufgrund der Zerstörung dieses Gens kann *Malus × robusta 5* den Erreger nicht mehr erkennen und keine Abwehrreaktion auslösen.

Untersuchungen zur DNA-Sequenz des Effektorgens des Feuerbrandregers zeigen, dass sich amerikanische und kanadische Stämme durch den Austausch einer Base von den europäischen Stämmen unterscheiden. Alle Stämme, deren Effektorgen sich in dieser einen Base von den europäischen Stämmen unterscheidet, können *Malus × robusta 5* erfolgreich infizieren. Dies bedeutet, dass es einen genspezifischen Mechanismus gibt, der die europäischen Stämme erkennt und die Feuerbrandresistenz von *Malus × robusta 5* auf einer Gen-für-Gen-Beziehung beruht.



Abbildung 3: Feuerbrandsymptome an Apfel / a: Blütenbüschel nach künstlicher Inokulation des Feuerbrandregers im Gewächshaus / b: Vegetative Triebe nach künstlicher Inokulation des Feuerbrandregers im Gewächshaus / c: Natürlicher Befall eines Baumes mit dem Feuerbrandregers im Freiland

Infektionsversuche mit dem Laborstamm zeigten, dass andere Apfelnentypen nicht infiziert werden und folglich über eine Resistenz verfügen, die sich in ihrem Wirkprinzip von *Malus × robusta* 5 unterscheidet. Das Wissen über verschiedene Wirkprinzipien und Resistenzquellen können für den Aufbau einer dauerhaften Resistenz gegenüber Feuerbrand in neuen Apfelsorten genutzt werden.

Molekulare Marker finden

Um verschiedene Resistenzmechanismen in einer neuen Sorte zu kombinieren, benötigt der Züchter Methoden, um verschiedene Resistenzgene in einer Pflanze aufzusuchen. Eine solche Selektion geht am effizientesten mit molekularen Markern, die eng an eine der Resistenzen gekoppelt sind. Durch Kreuzung der feuerbrandanfälligen Sorte ‚Idared‘ und den beiden resistenten Wildäpfeln *Malus × robusta* 5 sowie *Malus fusca* (MAL0045) werden solche Marker entwickelt. An diesen beiden Populationen untersuchten die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler des JKI die Vererbung der jeweiligen Resistenz und nutzten die Populationen für den Aufbau genetischer Karten. Mithilfe der genetischen Karten konnte für beide Wildapfelarten eine Region auf jeweils einem anderen Chromosom gefunden werden, die bis zu 80 Prozent der Resistenz erklären und von Markern eingegrenzt werden. Pflanzen,

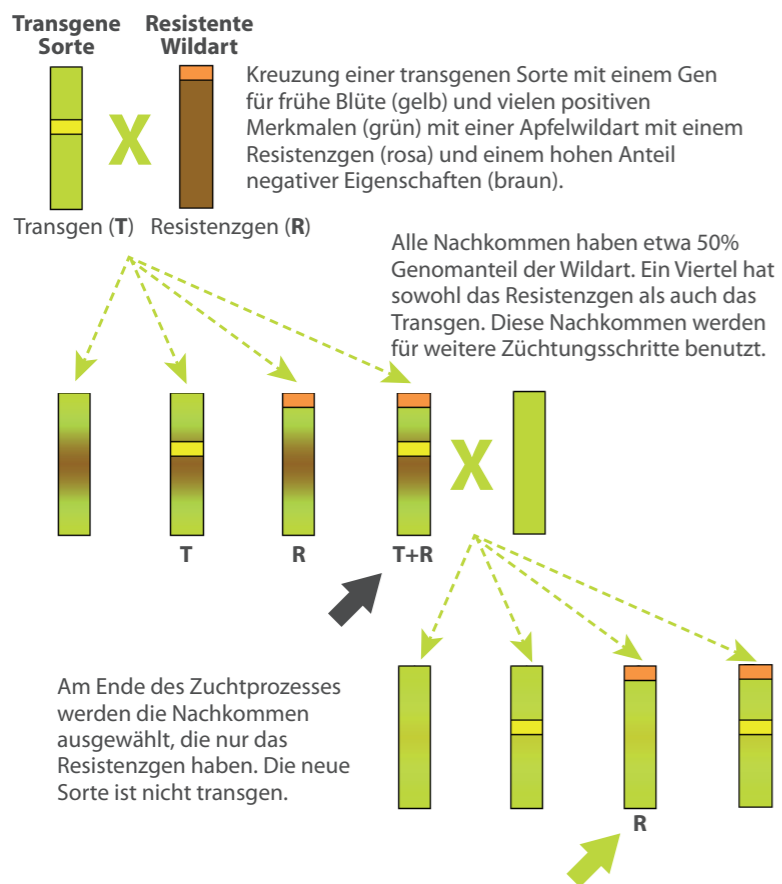


Abbildung 4: Schematischer Ablauf des Fast-Breeding-Verfahrens an Apfel

die diese Marker besitzen, weisen auch die Region für Feuerbrandresistenz auf. Die jeweiligen Marker stellen ein geeignetes Werkzeug zur Selektion von Nachkommen dar, die über diese Resistenz verfügen.

Nutzung der Resistenzen in der Apfelsortenzüchtung

Wildäpfel wie *Malus × robusta* 5 und *Malus fusca* bilden meist sehr kleine Früchte von minderer Qualität. Deshalb werden resistente Nachkommen mit qualitativ hochwertigen Apfelsorten gekreuzt. Somit werden alle negativen Eigenschaften der Wildäpfel durch solche Kreuzungen verdrängt. In der Regel sind sechs bis sieben dieser Kreuzungsschritte notwendig, bis die resistenten Nachkommen Früchte produzieren, die in ihrer Qualität mit den am Markt etablierten Sorten vergleichbar sind. Jeder dieser Kreuzungsschritte dauert fünf bis sechs Jahre. Damit dauert die Züchtung neuer Apfelsorten mit dauerhafter Resistenz viele Jahrzehnte. Die Züchtungsarbeiten mit den beiden Resistenzen aus *Malus × robusta* 5 und *Malus fusca* befinden sich derzeit in der zweiten Tochtergeneration (F2). Obwohl zur Beschleunigung des Selektionsprozesses bereits die neu entwickelten molekularen Marker eingesetzt werden, wird es noch vier bis fünf Generationen dauern, bis eine neue Sorte zu erwarten ist und in den Markt eingeführt werden kann. Aus diesem Grund sind Züchter immer auf der Suche nach Verfahren, mit deren Hilfe man den Zuchtprozess beschleunigen kann.

Ein Fast-Breeding-Verfahren

Der Hauptgrund der langwierigen Sortenzüchtung bei Baumobst liegt in der langen Jugendphase des Baumes (fünf bis zehn Jahre). Während dieser Zeit ist der Baum nicht in der Lage, Blüten zu bilden. Erst in der Erwachsenenphase entwickelt der Baum Blüten und Früchte, können Kreuzungsnachkommen bewertet und selektiert werden sowie weitere Kreuzungsschritte an selektierten Nachkommen erfolgen. Eine Verkürzung der Jugendphase würde zu einer enormen Zeitersparnis im Zuchtprozess führen. Daher wurde ein gentechnisches Verfahren etabliert und die Jugendphase des Apfels während des Zuchtprozesses verkürzt. Dieses Verfahren beruht auf der Nutzung einer transgenen Apfelpflanze, die aufgrund einer gentechnischen Veränderung bereits im Jahr der Aussaat blüht. Die nicht-transgene Apfelsorte „Pinova“ wurde hierfür mit einem Gen für frü-

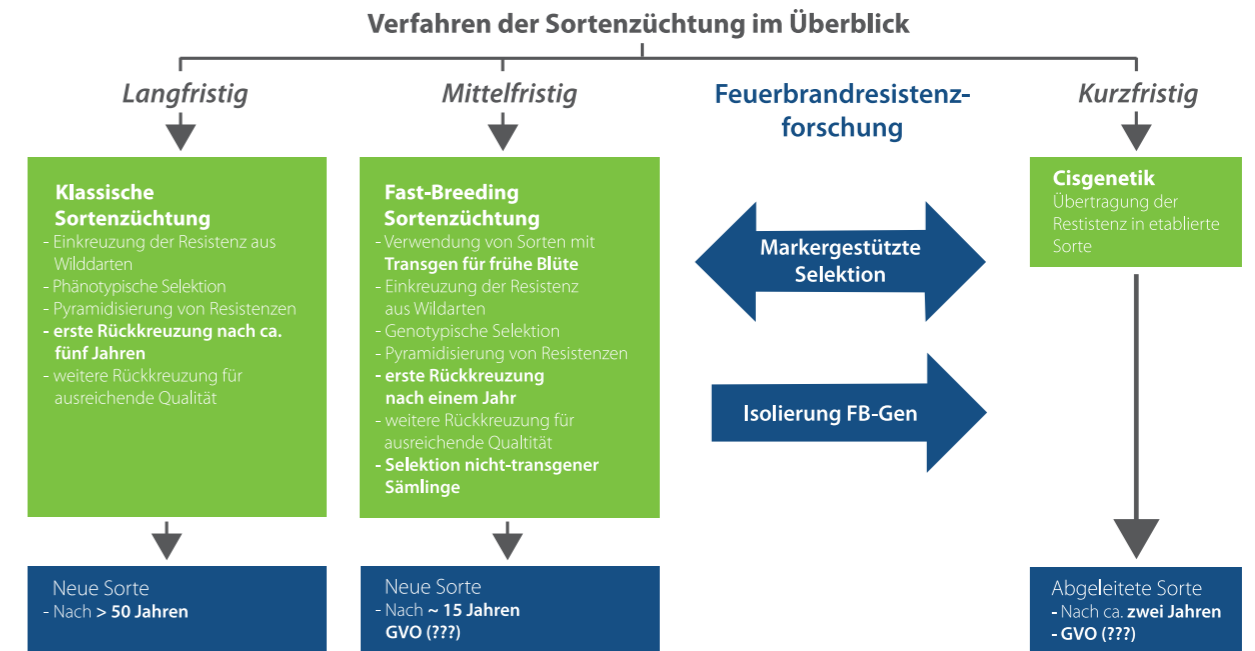


Abbildung 5: Verfahren der Apfelsortenzüchtung

he Blüte aus der Birke (*Betula pendula*) ergänzt. Diese transgene Pflanze wird mit feuerbrandresistenten Wildapfelakzessionen gekreuzt. In der Nachkommenschaft entstehen vier verschiedene Klassen an Genotypen (Abb. 4). Nach fünf bis sieben Kreuzungsgenerationen werden solche Nachkommen ausgewählt, die feuerbrandresistent sind und die gentechnische Veränderung nicht enthalten (R). So werden komplexe Züchtungsprogramme in wenigen Jahren realisiert und nicht-transgenes aber hochwertiges Material mit dauerhafter Resistenz zur Verfügung gestellt. Ob die Nachkommen dennoch in der EU als gentechnisch veränderte Organismen (GVO) zu deklarieren sind, wird derzeit von der Europäischen Kommission geprüft.

Etablieren der Cis-Gen-Technologie

Eine andere Möglichkeit, dauerhaft resistente Apfelsorten in einem überschaubaren Zeitrahmen zu erzeugen, stellt die Cis-Gen-Technologie dar. Bei dieser Technologie wird das Resistenzgen gezielt aus dem Genom der Wildapfelakzession isoliert und mit all seinen regulatorischen DNA-Sequenzen in das Genom einer erfolgreichen Marktsorte eingebaut. Diese Sorte bleibt auch nach dem Eingriff in all ihren Werteeigenschaften erhalten. Lediglich im Merkmal Resistenz wird sie durch die Übertragung eines einzelnen Gens eines anderen Apfels verbessert. Beim Apfel gibt es bislang vier isolierte Resistenzgene. Mit einem dieser vier Resistenzgene wurden am JKI cisgene Linien mit verschiedenen Marktsorten erzeugt. Diese cisgenen Pflanzen zeigten eine deutlich verbesserte Resistenz gegenüber dem pilzlichen Erreger des Apfelschorfs. Traditionell gezüch-

tete Apfelsorten mit einem einzelnen Schorfresistenzgen können so mit einer deutlich reduzierten Menge an Fungiziden erfolgreich angebaut werden. Cisgene Pflanzen könnten einen Beitrag zu einer umweltschonenden und nachhaltigen Obstproduktion leisten. Derzeit wird bereits an mehrfachresistenten Pflanzen mit verschiedenen Resistenzgenen gearbeitet. Diese Pflanzen sollen auch resistent gegenüber Feuerbrand sein. Eine Übersicht über verschiedene Methoden der Sortenzüchtung ist in Abbildung 5 dargestellt.

Ob die Cis-Gen-Technologie jedoch Eingang in den Obstbau finden kann, hängt primär von den gesetzlichen Bestimmungen für GVO in der EU ab. Diese werden derzeit überarbeitet. Eine abschließende Entscheidung über die rechtliche Stellung cisgener Pflanzen steht noch aus.



Thomas Wöhner, Ofere Emeriewen, Dr. Andreas Peil, Dr. Klaus Richter, Dr. Henryk Flachowsky, Prof. Dr. M.-Viola Hanke
Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an Obst, Dresden und Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Quedlinburg

E-Mail: thomas.woehner@jki.bund.de