

## Resistance Breeding at Dresden-Pillnitz - Apple

### Resistenzzüchtung in Dresden-Pillnitz - Der Apfel

A. Peil, S. Lesemann, F. Dunemann, M. Höfer, H. Flachowsky und V.- M. Hanke

#### Abstract

The Institute of Fruit Breeding has a long tradition in breeding resistant apple cultivars. Systematic resistance breeding started in the 1930s in Müncheberg. Material developed in Müncheberg was transferred in the 1970s to the Institute for Fruit Research, the predecessor of the Institute of Fruit Breeding. Based on this material, a couple of multiple resistant cultivars were generated. The time schedule for combining biotic and abiotic resistant traits which demonstrates the long-lasting period necessary for systematic resistance breeding is given. An overview of resistant cultivars of Dresden-Pillnitz and the respective resistant traits is presented. This assortment of cultivars was developed to provide a resistant cultivar for each ripening group and every application in fruit growing.

Modern resistance breeding is focused on quality and combination of different resistance genes for each pathogene to achieve durable resistance. Selection is facilitated by genetic markers. Likewise the look for new resistance genes, the analyses of genetics and the development of basic material are main areas of interest. Practical approaches in apple breeding to reach these aims are reported.

**Keywords:** Institut für Obstzüchtung, Resistenzzüchtung, Genetik, Apfelschorf, Apfelmehltau, Feuerbrand

#### Einleitung

Das Institut für Obstzüchtung in Dresden-Pillnitz blickt auf eine lange Tradition in der Züchtung resistenter Apfelsorten zurück. Der Beginn der systematischen Resistenzzüchtung bei Apfel war in den 30er Jahren des 20. Jahrhunderts in Müncheberg. Dort entwickeltes Material wurde in den 70er Jahren nach Pillnitz an das ehemalige Institut für Obstforschung, aus dem das Institut für Obstzüchtung hervorging, überführt. Ausgehend von diesem Material sind im Laufe der Jahre eine ganze Reihe resistenter Apfelsorten entstanden, die z. T. mehrere Resistenzen in sich vereinigen. Die zeitlich schematische Darstellung der Kombination verschiedener biotischer und abiotischer Resistenzen in Abbildung 1 verdeutlicht die langen Zeiträume, die für eine systematische Apfelzüchtung nötig sind. In Abbildung 2 sind einige resistente Pillnitzer Sorten sowie die entsprechenden Resistenzen aufgeführt. Bei der Entwicklung dieses Sortimentes war es das Ziel, für jede Reifegruppe und jeden Verwendungszweck eine widerstandsfähige Sorte zur Verfügung stellen zu können. Die moderne Apfelzüchtung richtet sich auf die Verbesserung der Qualität und die Akkumulierung verschiedener Resistenzen gegenüber einem Pathogen aus. Dadurch sollen qualitativ hochwertige Sorten gezüchtet werden, die dauerhaft resistent sind. Für die Selektion werden biotechnologische Methoden eingesetzt. Gleichermäßen gehört die Suche nach neuen Resistenzgenen, die Aufklärung der Genetik von Merkmalen und die Entwicklung von Basismaterial zu den wesentlichen Schwerpunkten. Im folgenden wird über praktische Ansätze in der Apfelzüchtung zur Erreichung dieser Ziele berichtet.

#### Genbank Obst

Seit dem Jahr 2003 gehört die Genbank Obst zum Institut für Obstzüchtung. Die Genbank Obst bietet ein unerschöpfliches Reservoir an genetischen Ressourcen. Allein das Apfelsortiment besteht

aus ca. 860 Sorten. Darüber hinaus existiert ein umfangreiches Wildartensortiment, das ca. 365 Abstammungen umfasst. In diesen Quartieren wird u. a. nach neuen Resistenzquellen für Pathogene gesucht, aber auch Qualitätsparameter und Geschmackseigenschaften von Äpfeln bewertet. Die Suche nach neuen Resistenzdonoren geschieht auf zwei unterschiedlichen Wegen. Zum einen wird während der Jahre, in denen auf eine Pflanzenschutzbehandlung im Quartier verzichtet wird, der Befall mit Pathogenen bonitiert und so widerstandsfähige Sorten/Abstammungen ausselektiert. Zum anderen werden Abveredelungen von Sorten bzw. Wildartabstammungen in direkten Testungen auf Widerstandsfähigkeit gegenüber definierten Krankheitserregern mit den entsprechenden Pathogenen inokuliert und anschließend die Infektion beurteilt.

Bislang wurden in Dresden vor allem *M. floribunda*, 'Antonovka', *M. pumila* (Russian Seedling), *M. zumi*, *M. fusca*, *M. robusta*, *M. sieversii* als Resistenzdonoren eingekreuzt. Um Basismaterial für die Zukunft bereitstellen zu können, muss laufend nach weiteren Resistenzquellen gesucht werden.

Bei Apfel wird derzeit neben den beiden pilzlichen Erkrankungen Mehltau und Schorf auch die Bakteriöse Feuerbrand züchterisch und molekulargenetisch intensiv bearbeitet.

### **Apfelschorf und Apfelmehltau**

Die Arbeiten zur Pilzresistenz werden sowohl beim Apfelschorf (*Venturia inaequalis*) als auch beim Apfelmehltau (*Podosphaera leucotricha*) vor dem Hintergrund der Bildung neuer Erregerrassen und der dadurch notwendig gewordenen Erweiterung der genetischen Basis der Resistenz durchgeführt. Auf der Pflanzenseite werden potentiell neue Resistenzquellen evaluiert und die zugrundeliegende Genetik untersucht. Die beteiligten Gene werden molekular kartiert, d.h. im Apfelgenom lokalisiert. Es werden die für eine markergestützte Frühselektion benötigten diagnostischen DNA-Marker entwickelt und für die Charakterisierung von züchtungsrelevantem Pflanzenmaterial genutzt. Auf der Pilzseite wird an der phytopathologischen und molekularen Charakterisierung von Virulenzunterschieden gearbeitet, bei beiden Pilzen unter Verwendung von Einsporisolen. Beim Apfelschorf und auch beim Echten Mehltau des Apfels wird die Kombination mehrerer Resistenzgene angestrebt, die ein möglichst breites Rassenspektrum abdecken. Hierfür stehen für beide Pathogene eine Reihe von monogenen Schorffresistenzen, vorwiegend in Wildarten, zur Verfügung. Aufgrund der auch aus deutschen Apfelanbaugebieten berichteten Durchbrechung der Vf-Schorffresistenz wird intensiv an der Erforschung alternativer Schorffresistenzen gearbeitet, welche mittelfristig die Vf-Resistenz ersetzen oder zumindest komplementieren können. Als eine besonders wertvolle Resistenz wird in diesem Zusammenhang die Vr-Resistenz aus dem sogenannten "Russischen Sämling" R12740-7A gesehen. Im IOZ sind in den vergangenen Jahren aus Kreuzungen mit Vr-schorffresistentem Apfelmateriale neue Sorten wie z.B. 'Regia' oder 'Realka' entstanden, die eine gute Schorffresistenz aufweisen und auch gegen die Schorfrassen 6 und 7 resistent sind. Kreuzungsnachkommenschaften zwischen Vf- und Vr-Trägern werden mit Hilfe molekularer Marker auf die gemeinsame Existenz beider Resistenzgene geprüft. Die Markeranalysen in Nachkommenschaften aus Vf-resistenten Sorten mit Vr-resistenten Sorten, wie z.B. die Kreuzung 'Rebella' x 'Realka', bestätigten die Vermutung, dass in den Apfelanlagen des IOZ in Dresden-Pillnitz die Vf-brechenden Rassen 6 und / oder 7 präsent sein müssen. Dies lässt den Schluss zu, dass auch im Raum Dresden die Vf - Resistenz als alleinige Basis für die Realisierung dauerhafter Schorffresistenz nicht mehr ausreichen dürfte.

Im Bereich Mehltaresistenz des Apfels wird ebenfalls nach neuen Resistenzgenen gesucht. So wurde die Existenz zweier neuer Resistenzgene aus *Malus baccata jackii* (*PI-bj*) und *M. sieboldii* (*PI-sb*) auf der Grundlage von mehrjährigen Freilandbonituren nachgewiesen und mit der Erstellung von DNA-Markern begonnen. Ziel der Arbeiten am Pathogen *P. leucotricha* ist zum einen die molekulare Charakterisierung verschiedener Herkünfte des Mehltau mittels molekularer Marker, um so einen Überblick über die genetische Variabilität des Erregers zu erlangen. Auf der anderen Seite wurden Virulenztestungen an einem Sortiment von *Malus*-Genotypen durchgeführt, um Unterschiede in der Virulenz einzelner Isolate aufzudecken. Dazu wurden 25 Isolate von verschiedenen Standorten in Anbauregionen für Kernobst in

Asien gewonnen und kultiviert, als Vergleichsmaterial wurden 5 Isolate aus Europa eingesetzt.

Die bislang durchgeführten AFLP-Markeruntersuchungen auf Basis von Einsporisolaten aus verschiedenen europäischen Ländern sowie Indien und China zeigen, dass es keine deutlichen Unterschiede zwischen verschiedenen geographischen Herkünften gibt. Auffällig ist eine klare Trennung in zwei unterschiedliche Hauptgruppen von Isolaten. Diese Ergebnisse haben sich auch für eine große Anzahl Feldproben bestätigt, die mittels RAPD- und SCAR-Markern untersucht wurden.

Die Virulenz der Pilzisolate wurde in Einzelblatttests bestimmt, als Testsortiment wurden dazu *Malus*-Sorten und –Arten verwendet, die unterschiedliche Reaktionen auf den Mehltau zeigen. Dazu gehörten auch die Träger der beschriebenen Resistenzgene, wie z. B. *PI1* aus *M. x robusta* und *PI2* aus *M. x zumi*, und Kreuzungsnachkommen, die eine Kombination dieser beiden Gene tragen. Es hat sich gezeigt, dass die durch *PI1* und *PI2* bedingten Resistenzen durchbrochen sind, und die entsprechenden Pflanzen befallen wurden. Mehltaurassen, die sowohl *PI1*- als auch *PI2*-Zuchtklone befallen konnten, erwiesen sich bei Zuchtklonen, in denen *PI1* und *PI2* pyramidiert sind, jedoch als deutlich weniger bis gar nicht virulent.

Alle getesteten Isolate unterschieden sich in ihrer Fähigkeit, die Testpflanzen zu infizieren und man kann somit von unterschiedlichen Virulenztypen beim Apfelmehltau ausgehen.

## Feuerbrand

Während beim Schorf eine Selektion im Sämlingsstadium möglich ist, muss beim Feuerbrand (*Erwinia amylovora*) genügend Reisermaterial für eine artifizielle Triebinokulation von Handveredelungen zur Verfügung stehen. Diese Inokulationen werden in der Regel an 20 – 30 Wiederholungen durchgeführt. Um eine gezielte Züchtung auf Feuerbrandresistenz schnell und effizient durchführen zu können, ist jedoch ein Test in einem frühen Entwicklungsstadium nötig. Aus diesem Grund wird am Institut auf zwei Wegen versucht, diese Bedingung für eine Frühselektion von Populationen auf Widerstandsfähigkeit gegenüber Feuerbrand zu erfüllen.

1. Entwicklung eines *in vitro* Blatt-Assays: Das Ziel des *in vitro* Blatt-Assays besteht in der Einschätzung der phänotypischen Reaktion der Pflanze auf die Inokulation mit Feuerbrand ausgehend von der eines inokulierten jungen Blattes. Zur Entwicklung eines solchen Testes wurden junge Blätter von Sämlingen einer für Feuerbrand spaltenden Population verwundet und *in vitro* mit einer definierten Menge des Feuerbrandstammes *E. a.* 222 GFP inokuliert. Die Bonitur der Symptome erfolgte 5, 9 und 14 Tage nach Inokulation. Anschließend wurden die Symptome sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch anhand der Fluoreszenzfärbung bewertet. Parallel dazu wurden die entsprechenden Sämlinge mit dem Erreger inokuliert. An diesen wurde der Befall bonitiert und die Ergebnisse beider Untersuchungen verglichen. Als Ergebnis kann gesagt werden,

dass die Inokulation der Blätter nicht zu einer sicheren Infektion führt. Infolge dessen können nicht alle anfälligen Klone mit Sicherheit herausselektiert werden.

2. Entwicklung molekularer Marker: Die Entwicklung molekularer Marker, die mit der Resistenz gegenüber Feuerbrand gekoppelt sind, würde eine Frühselektion von Genotypen ermöglichen. Für die Detektion solcher Marker wurde eine segregierende Population aus der feuerbrandanfälligen Sorte 'Idared' und der feuerbrandresistenten Wildart *M. x robusta* erstellt. Mittels Multiplex-PCR konnte ein erstes Gerüst einer genetischen Karte berechnet werden. Die phänotypische Charakterisierung der Population erfolgte durch künstliche Triebinfection an 4 bis 12 Handveredelungen je Sämling. Die Verrechnung dieser Daten mit den Markerdaten ermöglichte die Identifizierung einer Region im Genom, die mit großer Sicherheit an der Ausprägung der Widerstandsfähigkeit gegenüber Feuerbrand beteiligt ist.

Zusätzlich zu diesen Untersuchungen wird die Wildartensammlung der Genbank Obst und ausgewählte Sorten des Apfelsortimentes auf Feuerbrandresistenz gescreent. Untersuchungen zu den Mechanismen der Resistenz vervollständigen diesen Teil der züchterischen Arbeit.

Die künstlichen Triebinokulationen mit *E. amylovora* im Gewächshaus wurden von Herrn Dr. Klaus Richter vom Institut für Epidemiologie und Resistenzressourcen der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen durchgeführt. An den Arbeiten zur Kartierung der Feuerbrandresistenz und zur Entwicklung molekularer Marker sind Tania Garcia und Dr. Bodo Trognitz vom Austrian Research Centres Seibersdorf, Seibersdorf, Österreich, beteiligt.

## Literatur

Fischer C., 1999: Ergebnisse der Apfelzüchtung in Dresden-Pillnitz. Results of the apple breeding at Dresden-Pillnitz. *Erwerbsobstbau* **41**: 65 – 74.

Friedrich G., Fischer M. (eds), 2000: Physiologische Grundlagen des Obstbaues. Eugen Ulmer GmbH & Co, S. 421.