



Apfelzüchtung vor neuen Herausforderungen

Markus KELLERHALS, Eidgenössische Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau (FAW), CH-8820 Wädenswil
 Cesare GESSLER, Institut für Pflanzenwissenschaften, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich

Im Apfelanbau verursachen die Pilzkrankheiten Schorf (*Venturia inaequalis*) und Mehltau (*Podosphaera leucotricha*) einen grossen Aufwand beim Pflanzenschutz. Deshalb werden qualitativ hochwertige und leistungsfähige Sorten mit guter Resistenz gegen diese Krankheiten gezüchtet. Neue Möglichkeiten zur Verbreiterung der genetischen Basis der Resistenz, zur molekularen Charakterisierung von Resistenzen und zur Pflanzung von Apfelsorten in Mischungen werden vorgestellt.

Der Apfelanbau umfasst in der Schweiz rund 5'000 ha Anlagen und 1,8 Mio. Feldobstbäume. Die wichtigsten Tafeläpfel sind Golden Delicious, Idared, Maigold und Jonagold. Tafeläpfel stammen fast ausschliesslich aus Anlagen, Mostäpfel mehrheitlich von Feldobstbäumen. Weil Tafeläpfel ohne vorherige Verarbeitung konsumiert werden, stellen Handel und Konsumenten hohe Anforderungen an die äussere und innere Qualität. Dies bedingt einen intensiven Pflanzenschutz. Neuzüchtungen sollen den hohen Anforderungen an die Qualität gerecht werden sowie einen umweltschonenden und wirtschaftlichen Anbau ermöglichen.

Zuchtziele verwirklichen

Das Ziel der Apfelzüchtung an der Forschungsanstalt Wädenswil sind Sorten mit hoher Qualität, guten und regelmässigen Erträgen sowie dauerhafter Resistenz gegen Krankheiten. Nur resistente Sorten mit einem Qualitäts- und Ertragsniveau, das mit den heutigen Handelssorten vergleichbar ist, haben eine Chance. Für eine erfolgreiche Selektion sind grosse Nachkommenschaften aus Kreuzungen nötig. Aus 15'000 Sämlingen kann eine neue Handelssorte erwartet werden. Äpfel sind weitgehend Fremdbefruchter, so dass bei den Nachkommen durch die Neukombination der genetischen Information eine grosse Vielfalt entsteht. Apfelsorten werden vegetativ vermehrt, einzig in der Züchtung ist die Neukombination erwünscht. So ist die Sorte Golden Delicious ein Zufallssämling, der 1890 in einem Garten in Westvirginia USA, gefunden wurde und seither vegetativ vermehrt wird.

Welche Resistenzen kennen wir ?

Grundsätzlich werden generelle (horizontale) und differentielle (vertikale) Resistenz unterschieden. Die generelle Resistenz ist gegen alle Isolate eines Pathogens wirksam. Bei der differentiellen Resistenz besteht eine Wechselwirkung zwischen bestimmten Sorten und bestimmten Isolaten. Im einfachsten Fall ist eine Sorte resistent gegen alle Isolate des Pathogens, ausser gegen eines, das die Resistenz durchbrechen kann. Dieses Isolat, Pathotyp oder Rasse X genannt, ist auf dieser Sorte virulent, die anderen Isolate demzufolge avirulent. Einzelne Isolate können mehrere Virulenzen besitzen (komplexe Rassen). Dieses Schema ermöglichte Flor

(1942) anhand der Daten über Flachs und Flachsrost die Gen-für-Gen-Hypothese zu formulieren: für jedes Resistenzgen in der Wirtspflanze ist ein entsprechendes Virulenz-/Avirulenzgen im Pathogen vorhanden. Beim Apfel ist diese Wechselwirkung zwischen Wirtsresistenz und Pathotypen schon seit Beginn des Jahrhunderts bekannt. Genaue Untersuchungen mit modernen Methoden erlauben den Nachweis von funktionell verschiedenen Resistenzen in alten Sorten und entsprechenden Virulenzen in ausgewählten Schorfisolaten (Sierotzki *et al.* 1994). Diese Resistenzen hatten aber nie züchterische oder anbautechnische Bedeutung, da in jedem Organismus früher oder später die entsprechende Rasse auftrat. In Apfelanlagen mit einer Sorte kommen wahrscheinlich nur Isolate mit der Virulenz gegen diese Sorte vor. In Mischanlagen kommen ganz verschiedene Rassen und Pathotypen vor, die mehrere Virulenzen besitzen. Auch in Mischanlagen können die Sorten vom Schorf befallen werden, aber in geringerem Mass als in Monokulturen. Populationsanalysen des Schorfes



Abb. 1. Der makellose, attraktive, knackig-saftige und gehaltvolle Apfel genießt die Gunst der Konsumentinnen und Konsumenten.



Abb. 2. Der Schorf ist bei uns die wichtigste Krankheit des Apfels. Ohne Fungizidbehandlungen entstehen grosse Verluste.

in bezug auf Virulenz sind aber erst am Anfang. Resistenzen in den gebräuchlichen Apfelsorten sind schwer erkennbar. Falls aber eine Resistenz zum ersten Mal in einem Gebiet eingesetzt wird, werden wir die Trägersorte als resistent einstufen. Zum Beispiel wurde in Bologna (Govi 1966) die bei uns anfällige Sorte Golden Delicious als resistent klassifiziert. Heute ist sie auch dort anfällig.

Als Träger von generellen Schorf- und Mehltausresistenzen wurden bereits anfangs dieses Jahrhunderts verschiedene Wildapfelarten und -sorten gefunden (Rudloff und Schmidt; 1934; Schmidt 1938; Hough 1944). Die Schorfresistenz wird sechs verschiedenen Hauptgenen zugeordnet: Vf, Va, Vr, Vb, Vbj und Vm. Die Vm-Resistenz wurde von einem spezifischen Pa-

thotypen des Schorfes durchbrochen und wird daher in der Züchtung kaum mehr verwendet. Heute ist unsicher, ob die als Vf, Va, Vr, Vb und Vbj bezeichneten Resistenzen wirklich verschieden sind. Seit 1945 wurden vor allem in den USA, später auch in Europa verschieden weit entwickelte, resistente Züchtungen mit qualitativ hochwertigen Handelssorten zurückgekreuzt, wobei der Rückkreuzungspartner in jeder Generation wechselte. Die meisten schorfresistenten Apfelsorten wie Florina, Liberty und Rewena haben Vf-Resistenz (V für *Venturia* und f für *floribunda*). Diese Resistenz geht auf eine im Jahre 1912 durchgeführte Kreuzung des Wildapfels *Malus floribunda* 821 mit der Sorte Morgenduft zurück. Die genetische Basis ist somit sehr eng.

Seit 1986 hat die Resistenz gegen Schorf und Mehltau im Zuchtprogramm von Wädenswil grosses Gewicht. Die jungen Sämlinge werden bereits im Gewächshaus auf Schorfresistenz geprüft. Dabei kann mehr als die Hälfte als anfällig ausgeschieden werden. Eine frühe und effiziente Selektion ermöglicht es, in den ersten zwei Jahren nach der Aussaat, also im vegetativen Stadium, rund 90 % der Sämlinge wegen unerwünschter Eigenschaften auszuscheiden.

Wie dauerhaft ist die Resistenz?

Verschiedene Anzeichen deuten darauf hin, dass die in den Wildäpfeln vorhandene Resistenz durch das Rückkreuzen mit anfälligen Handelssorten abgeschwächt wird. Krüger (1988; 1991) berichtet von leichtem Schorfbefall bei Züchtungen mit eingekreuzter Vf-Resistenz. Als Ursache vermutet Krüger, dass durch mehrmaliges Rückkreuzen mit anfälligen Sorten die Wirkung der zur Resistenz beitragenden Modifikationsgene abgeschwächt wird. Parisi *et al.* (1993) haben eine neue Schorf rasse gefunden, welche unter optimalen Bedingungen für den Schorf, die Vf-Resistenz zu durchbrechen vermag. Die Vf-Resistenz wurde als einzelnes dominantes Gen charakterisiert (Hough *et al.* 1953; Williams und Kuç 1969). Vieles deutet aber darauf hin, dass mehrere Gene beteiligt sind (Williams und Kuç 1969; Lespinasse 1990), oder dass ein dominantes Hauptgen (Vf) vorhanden ist, dessen Ausprägung von modifizierenden Genen bestimmt wird (Rousselle *et al.* 1974; Gessler 1989). Da die Apfelzüchtung langfristig ist, müssen Strategien ange-

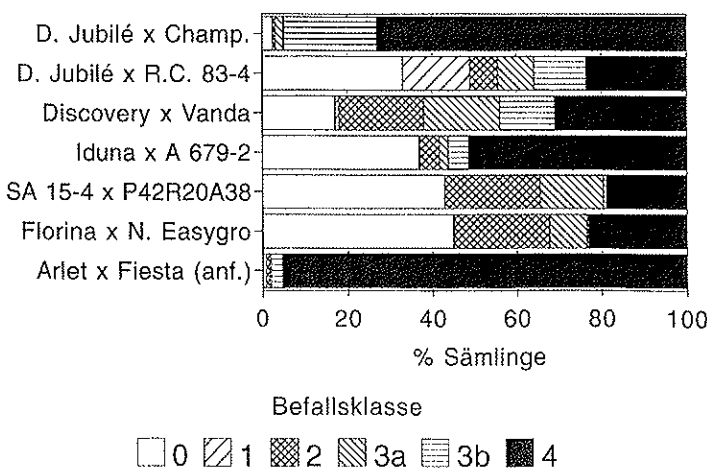


Abb. 3. Schorfbefall bei den Nachkommen von Apfelkreuzungen (Gewächshauscreening 1994).



Abb. 4. Der Wildapfel *Malus floribunda* ist resistent gegen Schorf. Er wurde mit hochwertigen Sorten gekreuzt, um schorfresistente Sorten mit guter Grösse und Qualität zu erhalten.

LEXIKON

Virulenz/Avirulenz: Eigenschaft einer Pathogen-Rasse einen bestimmten Wirt zu befallen, der gegen andere Rassen (Avirulenz) des gleichen Pathogens resistent ist. Wird in der Phytopathologie in Beziehung mit spezifischer Resistenz einer bestimmten Wirtsorte verwendet.

CAPS: Unterschiede zwischen zwei, durch PCR vermehrte spezifische DNS-Fragmente von zwei verschiedenen Organismen, die durch Spaltung mittels spezifischer Enzyme sichtbar gemacht werden können.

DNS: Desoxyribonukleinsäure (auch DNA) trägt die Erbinformation.

Genom: Summe der Erbanlagen eines Individuums (ev. Zelle).

Marker: Ein Merkmal, welches die Anwesenheit von anderen Eigenschaften anzeigt. Wird auch oft verwendet, um einen Organismus von anderen Individuen zu unterscheiden.

Pathogen: Pilz(Virus/Bakterium)-Art, die grundsätzlich Krankheit auf einer Wirtsart auslösen kann (*Venturia inaequalis*, der Apfelschorf-Pilz kann Schorf auf Äpfeln verursachen).

PCR: Polymerasen-Kettenreaktion. Sehr grosse biochemische Vermehrung von spezifischen DNS-Fragmenten, ausgehend von kleinsten DNS-Mengen.

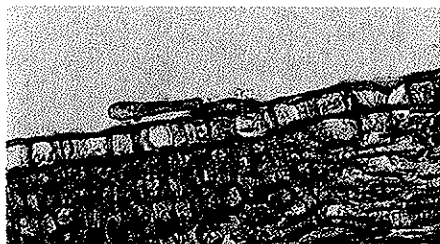


Abb. 5. Im anfälligen Apfelblatt keimen die Schorfonidien, und der Schorf dringt an geeigneten Stellen ungehindert ins Blatt ein.

wendet werden, welche die Dauerhaftigkeit der Resistenz fördern. Im Rahmen des Schwerpunktprogramms 'Biotechnologie' des Schweizerischen Nationalfonds und innerhalb eines EU-Projekts, das in der Schweiz vom Bundesamt für Bildung und Wissenschaft finanziert wird, versuchen FAW und ETH zusammen mit ausländischen Partnern auf drei Ebenen zu erforschen, wie die Resistenz dauerhafter gemacht werden könnte:

- 1) Verbreitern der genetischen Basis
- 2) Molekulargenetische Charakterisierung von Resistenzen
- 3) Pflanzen von Sortenmischungen durch Auswahl der Mischungspartner aufgrund von Virulenzanalysen beim Schorf.

Verbreitern der genetischen Basis

Neben der Vf-Resistenz müssen in der Apfelzüchtung vermehrt andere Resistenzen einbezogen werden, vor allem die polygenen oder Teil-Resistenzen. Polygene Resistenzen finden sich in alten Sorten wie zum Beispiel Fraurotacher oder Oberrieder GlanzreINETTE und in neueren Sorten wie zum Beispiel Discovery oder Delbard Jubilé (Kellerhals und Furrer 1994). Kellerhals *et al.* (1993) konnten zeigen, dass teilresistente Partner in Kreuzungen mit der Vf-resistenten Sorte Florina den Anteil resistenter Sämlinge in den Nachkommenschaften erhöhen. Hoch schorfanfällige Kreuzungspartner sollten vermieden werden. Untersuchungen über die Interaktion zwischen Schorfisolaten und Sorten zeigten, dass viele Sorten funktionell verschiedene differentielle Resistenzen tragen. Diese Resistenzen könnten die Gefahr eines raschen Durchbruchs zum Beispiel der Vf-Resistenz vermindern. Sinnvoll ist es, verschiedene Resistenzmechanismen in einer Sorte zu kombinieren. Bisher war es allerdings schwierig, verschiedene in einem Sämling oder einer Sorte vorhandenen Resistenzen zu charakterisieren. Mit molekulargenetischen Methoden sollte dies in Zukunft leichter möglich sein.

Abbildung 3 zeigt anhand von Beispielen wie die genetische Basis verbreitert werden kann. Die Sämlinge wurden im Gewächshaus im 4-Blattstadium mit 220'000 Schorfonidien pro ml infiziert. Nach zwei Wochen wurden die Blattsymptome nach dem folgenden Schema bonitiert (nach Chevalier *et al.* 1991, angepasst):

- O = keine Symptome
- 1 = Pin point pits. 100-500 µm grosse Vertiefungen
- 2 = Breite, jedoch flache chlorotische Flecken, keine Sporulation
- 3a = Ausgedehnte Bereiche kollabierter Epidermiszellen, leichte Sporulation
- 3b = Sporulierende Chlorosen und Nekrosen
- 4 = Ungehinderte Sporulation

Die Klassen 0 - 2 können als resistent, 3a als schwach resistent, 3b als schwach anfällig und 4 als anfällig betrachtet werden. Alle Sämlinge ausser Klasse 4 werden klassenweise in die Baumschule gepflanzt und weiter beobachtet.

Die Sorten Delbard Jubilé, Champagner ReINETTE, R.C. 83-4 und Discovery wurden



Abb. 6. Junge Apfelsämlinge aus Kreuzungen werden schon früh im Gewächshaus mit Schorf infiziert, um resistente Individuen zu selektionieren.

wegen ihrer polygenen Resistenz gegen Schorf eingekreuzt. A 679-2 hat Vf-Schorfresistenz und eine Mehлтаuresistenz. Vanda, SA 15-4 und Florina besitzen die Vf-Schorfresistenz, P42R20A38 und Nova Easygro die Vr-Schorfresistenz. Arlet x Fiesta ist die anfällige Kontrollkreuzung

Mit Markern die Resistenzgene aufspüren

Kreuzt man eine schorffresistente mit einer anfälligen Sorte, sind die Nachkommen im einfachsten Fall entweder resistent oder anfällig und somit Träger des Resistenzgens oder nicht. Ein Marker weist nach, ob das Gen vorhanden ist, ohne dass die Funktion des Gens (Resistenz) benötigt wird. Somit kann auch das Vorhandensein mehrerer Resistenzgene in einem einzelnen Individuum erkannt werden. Ein Marker muss das gleiche DNS-Segment bezeichnen, welches das Resistenzgen enthält und sollte möglichst nahe beim Resistenzgen liegen. Als Marker können andere Gene dienen, zum Beispiel eines, das eine bestimmte morphologische Form bewirkt. Heute werden nicht mehr andere Gene als Marker verwendet, sondern zufällig gefundene DNS-Sequenzen, deren An- oder Abwesenheit bestimmt wird. Wir haben die Bulked-Segregant Analysis angewendet, um mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zufällig vermehrte DNS-Segmente (RAPDs) zu finden, die nur in der resistenten Nachkommenschaft vorkommen. Sichtbar sind diese Marker als Banden auf einem Elektrophorese-Gel (Abb. 7). Einer der so gefundenen Marker zeigt nun an, ob das Individuum vom resistenten Elternteil das Vf-tragende Segment geerbt hat. Da der Marker sich nicht

genau am Ort des Resistenzgens befindet, werden einzelne Individuen wohl den Marker haben, aber trotzdem nicht das Gen. Im Falle des Markers (M18₉₀₀) sind das rund 2% der Nachkommenschaft. Erste praktische Anwendung dieses Markers ist die Analyse einer Kreuzungspopulation von zwei Vf-resistenten Eltern, um die Individuen zu identifizieren, welche von beiden Eltern die Vf-Resistenz geerbt haben. Sobald Marker von anderen Resistenzgenen, auch solchen, die in alten Sorten unerkannt vorhanden sind, identifiziert sind, können Nachkommen gezielt auf das Vorhandensein von funktionell verschiedenen Resistenzen ausgewählt werden. In solchen Individuen sollte die Resistenz gegen Schorf dauerhafter sein als in Individuen, deren Resistenz auf einem einzelnen Gen basiert. Erste molekulargenetische Untersuchungen zeigen, dass Va und Vr entweder am gleichen oder nahezu am gleichen Ort wie Vf auf dem Genom liegen und sogar gleich sein könnten (Abb. 7).

Sind Mischpflanzungen mehr als eine Utopie?

Bei grösseren Flächen mit der gleichen Apfelsorte finden Krankheiten und Schädlinge ideale Ausbreitungsmöglichkeiten vor. Der grossflächige Anbau krankheitsresistenter Sorten mit nur einem Resistenzmechanismus, zum Beispiel der Vf-Schorfresistenz erhöht das Risiko, dass neue aggressive Pilzrassen ausgebildet werden. Ein Lösungsansatz für dieses Problem sind Sortenmischungen. Sie können zusammen mit weiteren Pflegemassnahmen die Grundlage für ein

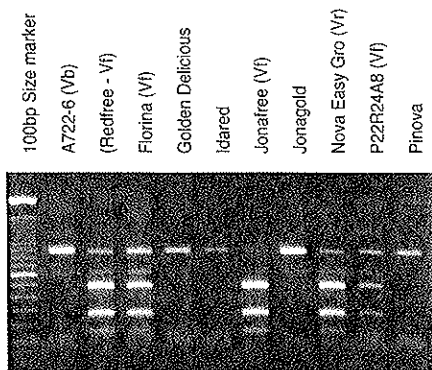


Abb. 7. Analyse von Sorten mit Vf-, Vr- und Vb-Schorfresistenz und von schorfanfälligen Sorten mit CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences). Vf- und Vr-Träger zeigen vier Banden, die anderen Sorten haben nur die obere Bande.

langfristig stabiles Ökosystem «Obstanlage» bilden. Das Konzept der Sortenmischung, wenn es praktikabel ist, stellt für den Züchter eine neue Herausforderung dar. Er muss Sorten anbieten können, die vom Resistenzmechanismus her verschieden, bezüglich Ertrag und Qualität aber gleichwertig sind. Ein anderer Ansatz bestünde darin, möglichst viele verschiedene Resistenzmechanismen in einer einzigen Sorte zu kombinieren, die dann grösserflächig angebaut werden könnte. Modellrechnungen zeigen, dass bei einer Mischung von drei Sorten in der Reihe der Infektionsdruck massiv gesenkt werden sollte. Ein Modell hat immer Grenzen, trotzdem zeigt es, dass eine möglichst hohe genetische Vielfalt von Resistenzen die Gefährlichkeit des Schorfes reduziert. Das Modell wird nun in der Praxis untersucht. Im Herbst 1994 wurde ein Vergleichsversuch mit Sortenmischung und Monokultur gepflanzt.

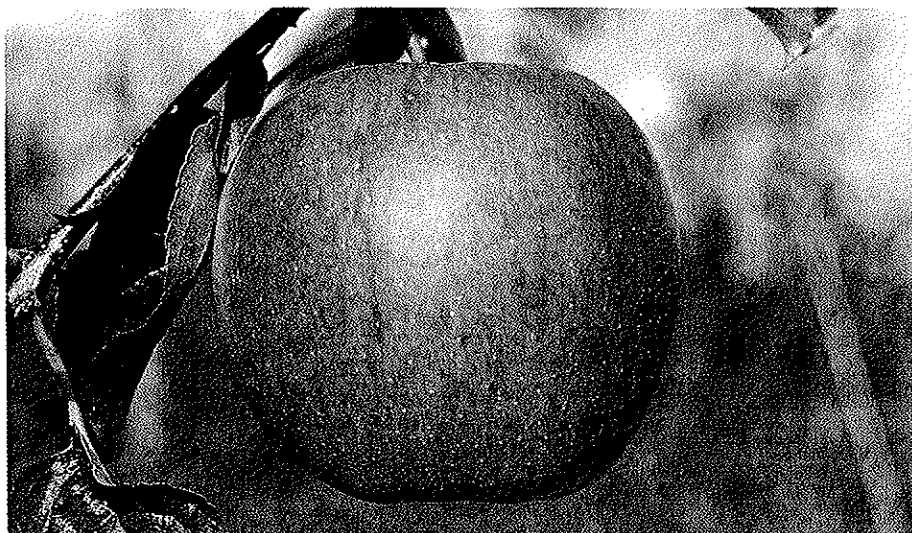


Abb. 8. Die Wädenswiler Neuzüchtung FAW 7262 vereinigt Schorf- und Mehlttauresistenz mit attraktivem Aussehen, guter Qualität und Lagerfähigkeit.

LITERATUR

Ein ausführliches Literaturverzeichnis ist beim Erstauteur erhältlich.

RÉSUMÉ

La sélection du pommier face à de nouveaux défis

La sélection du pommier a pour objectif de développer des variétés présentant une excellente qualité, de bons rendements et une résistance durable contre les maladies. Ces travaux s'avèrent être un facteur important dans le développement de la production allant vers des systèmes plus écologiques et en même temps plus économiques. Presque toutes les variétés de pommier résistantes à la tavelure connues actuellement portent la résistance Vf issue de l'espèce sauvage *Malus floribunda* 821. Un nouveau type de tavelure découvert ces dernières années peut contourner cette résistance. Trois nouvelles approches sont décrites dans le but d'obtenir une résistance durable. Premièrement, il faut élargir la base génétique des résistances en utilisant différentes sources de résistances et en les combinant dans le même génotype. Deuxièmement, pour aboutir à ce but, il faut caractériser les résistances au niveau de l'ADN. Troisièmement, l'étude de l'interaction hôte-parasite est primordiale. Cette relation délicate sera étudiée avec des mélanges de variétés résistantes et sensibles à la tavelure et à l'oïdium, dans un verger qui a été planté en automne 1994.

SUMMARY

Apple breeding in front of new challenges

The aim of apple breeding are new varieties with excellent fruit quality, good yields and durable disease resistance. This work is important for developing fruit production towards more ecological and simultaneously more economical systems. Almost all actually known scab resistant apple varieties carry the Vf resistance originating from the wild species *Malus floribunda* 821. A new scab race recently discovered can break down this resistance. Three new approaches are described in order to obtain a durable resistance. First, it is necessary to enlarge the genetic basis of the resistance by using different resistance sources and by combining them in one genotype. Second, to reach this goal, resistances must be characterised at the DNA level. Third, the host-pathogen interaction is crucial. This relation will be studied in an orchard with mixtures of scab and mildew resistant and susceptible varieties, planted in autumn 1994.

KEY WORDS: Apple breeding, durable resistance, cultivar mixtures, molecular markers