

Bekämpfung des Birnenverfalls mit Hilfe resistenter Unterlagen?

Dr. Wolfgang Jarausch

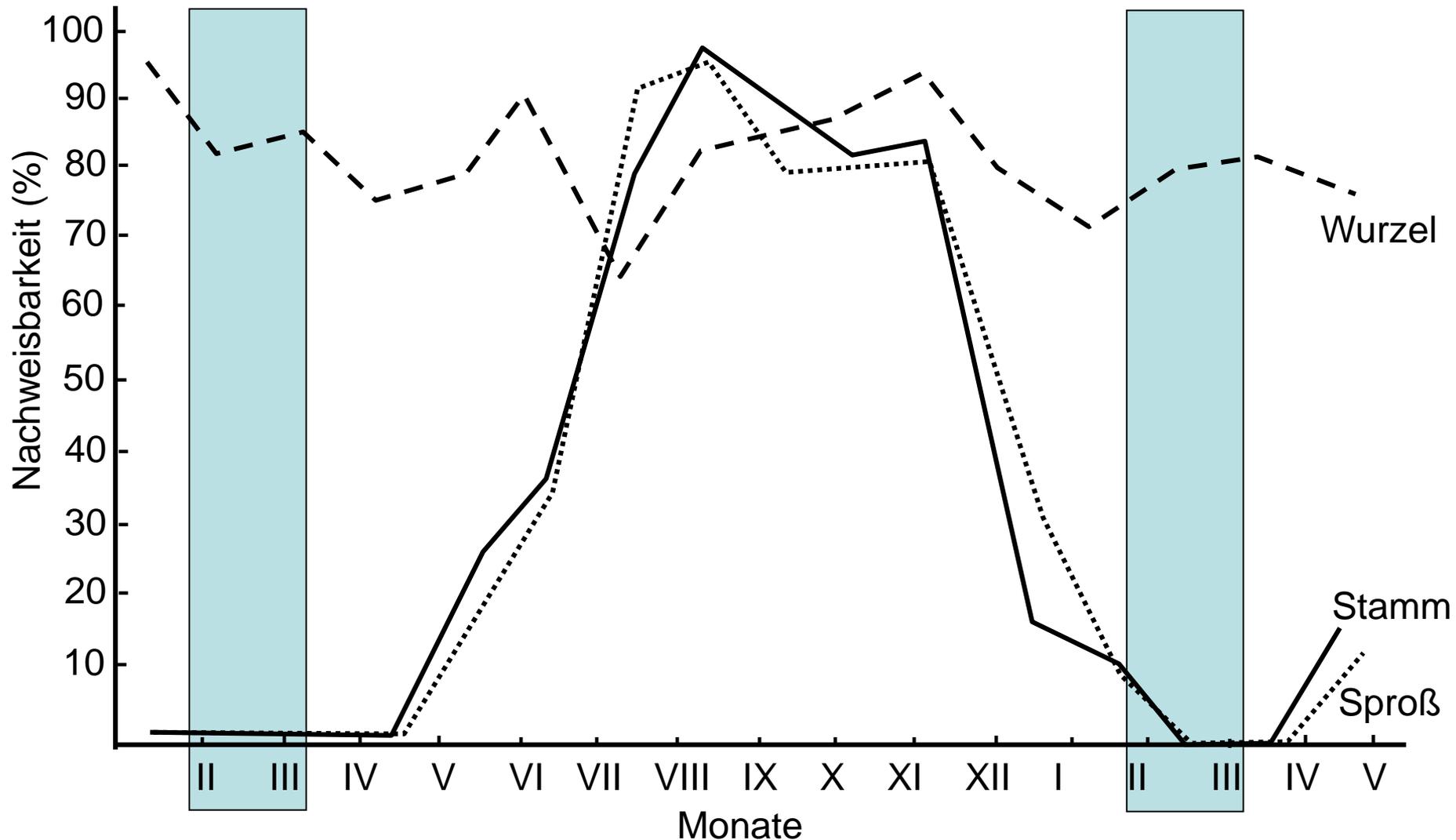
AIPlanta-IPR, Neustadt/W., Deutschland

Dr. Bernd Schneider

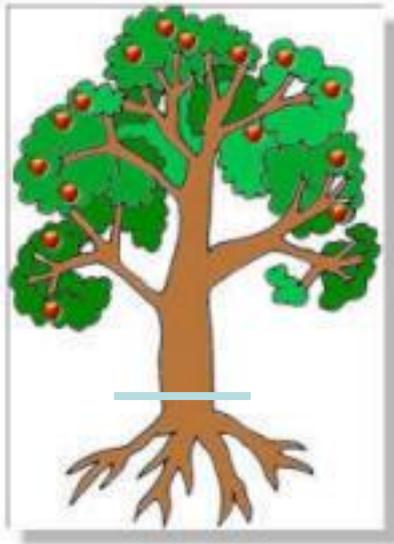
Prof. Erich Seemüller

Julius Kühn-Institut, Dossenheim, Deutschland

Jahreszeitliche Besiedlung im Baum



Die Resistenz-Strategie



Kein Überleben der Phytoplasmen im oberirdischen Teil des Baumes im Winter

Überleben der Phytoplasmen in der Wurzel und Wiederbesiedlung des Stamms im Frühjahr

=> Bekämpfung der Krankheit mit resistenten Unterlagen möglich

Definition von Resistenz bei Phytoplasmen

- keine Phytoplasma-spezifischen Symptomen
- keine Wuchsbeeinträchtigung
- stark reduzierte Konzentration der Phytoplasmen in der infizierten Pflanze

Screening nach genetischer Resistenz gegen Phytoplasmen

- **Evaluierung unter natürlichem Infektionsdruck**
 - Nachteile:
 - Abhängigkeit vom natürlichen Infektionsdruck (Größe der Psylliden-Population)
 - undefiniertes Phytoplasma-Inokulum
- **experimentelle Pfropf-Inokulation mit definierten Phytoplasma-Stämmen**
 - Vorteile:
 - standardisierbare Methode
 - Einsatz definierter Phytoplasma-Inokula

Evaluierung unter natürlichem Infektionsdruck

- in Nord-Amerika (Westwood & Lombard 1982)
 - **resistent:**
 - Selektionen von *P. betulifolia*, *P. elaeagrifolia*, *P. nivalis*, *P. pashia*, *P. syriaca*, und *P. communis* cvs Kirchensaller, Old Home, Anjou, Bartlett und Winter Nelis
 - Selektionen von Quitte-Unterlagen (*Cydonia oblonga*) A und C
- in Italien (Giunchedi et al. 1995) und Deutschland (Seemüller et al. 1986)
 - **resistent:**
 - Quitte-Unterlagen BA29 und CTS212 (nicht Quitte A und C !!)
 - *P. communis* cvs Bartlett, Conference und Abate Fetel (nicht cv. Kirchensaller !!)

Resistenz-Screening durch Pfropf-Inokulation

- in Deutschland (Seemüller et al., 2009)
 - Inokulation von 1142 Sämlingen:
 - 26 verschiedene Pyrus taxa
 - 39 verschiedene Genotypen
 - 18 Jahre Beobachtung im Feld (jährliche Symptom-Bonitur)
 - Evaluierung der Resistenz mit Hilfe eines kumulativen Index-Systems (CDI)
 - 0 = keine Symptome
 - 0,5 = leichte Rotlaubigkeit
 - 1 = starke Rotlaubigkeit
 - 2 = Wuchsdepression + Kleinfrüchtigkeit
 - 3 = Kümmerwuchs + starke Kleinfrüchtigkeit
 - 10 = slow decline
 - 20 = quick decline
 - statistische Auswertung der Daten

Ergebnis des experimentellen Resistenz-Screenings

- ein Drittel der Genotypen wies geringe kumulative CDI-Werte (4,6 – 9,9) nach 18 Boniturjahren auf = **resistente Genotypen**
- anfällige, schwach resistente und resistente Genotypen wurden in allen Nachkommenschaften gefunden
 - **das Resistenz-Merkmal kann nicht einem bestimmten Taxa zugeordnet werden**
- resistente und anfällige Genotypen wurden in der gleichen Nachkommenschaft gefunden
 - **das Resistenz-Merkmal spaltet auf**
- Nachkommenschaften mit einer hohen Zahl resistenter Genotyen:
 - bestimmte Selektionen von *P. communis*
 - *P. calleryana* cv. Bradford
 - *P. betulifolia*

Fazit des experimentellen Resistenz-Screenings

- **Sämlinge können nicht als resistente Unterlagen genutzt werden**
- **selektierte resistente Genotypen müssen vegetativ vermehrt werden**
- **100 Genotypen wurden für weitere Untersuchungen ausgewählt:**
 - Untersuchung der vegetativen Vermehrbarkeit
 - Überprüfung der Resistenz mit verschiedenen Phytoplasma-Stämmen

Vegetative Vermehrung der resistenten Genotypen

- resistente Genotypen lassen sich nicht über Stecklinge vermehren
- Vermehrung über Gewebekultur (Mikropropagation)



Vermehrung über Mikropropagation

selektierter Baum im Feld



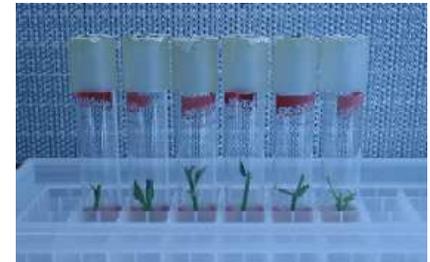
Absägen der veredelten Sorte



Ausschlag der Unterlage im Frühjahr



Etablierung der Gewebekultur aus jungen Trieben



Produktion von *ex vitro* Pflanzen



Bewurzelung *in vitro*



Vermehrung *in vitro*

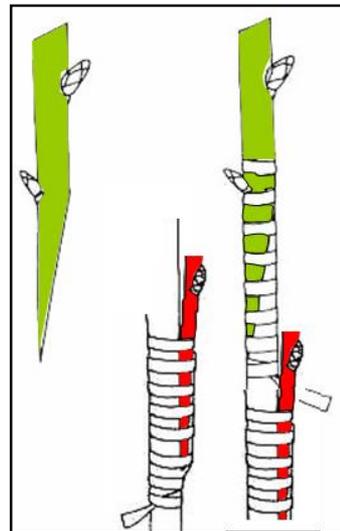
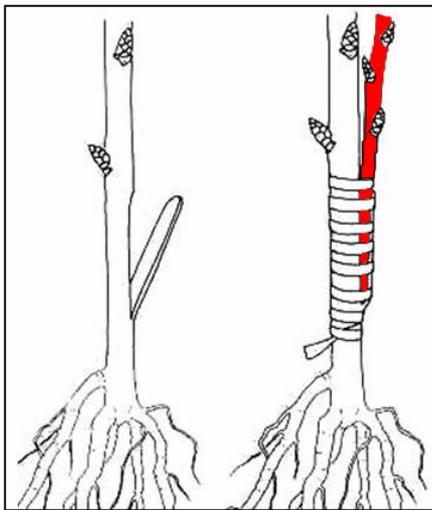


Selektion des besten Mediums

In vitro Vermehrbarkeit der resistenten Genotypen

Art	Genotypen selektiert	<i>in vitro</i>	Vermehrung (gut/schlecht)
1. <i>P. amygdaliformis</i>	9	5	4/1
2. <i>P. betulifolia</i>	10	6	5/1
3. <i>P. boisseriana</i>	2	1	1/-
4. <i>P. bretschnideri</i>	2	1	1/-
5. <i>P. calleryana</i>	16	10	2/8
6. <i>P. caucasica</i>	1	1	1/-
7. <i>P. communis</i>	10	9	5/4
8. <i>P. cossonii</i>	4	2	1/1
9. <i>P. cuneata</i>	7	4	2/2
10. <i>P. eleagrifolia</i>	5	5	2/3
11. <i>P. gharbiana</i>	1	1	1/-
12. <i>P. kunariana</i>	1	1	-/1
13. <i>P. longipes</i>	1	1	1/-
14. <i>P. x michauxii</i>	5	4	4/-
15. <i>P. nivalis</i>	8	5	1/4
16. <i>P. pyraister</i>	2	1	1/-
17. <i>P. pyrifolia</i>	1	1	-/1
18. <i>P. serrulata</i>	4	2	2/-
19. <i>P. spec.</i>	3	3	-/3
20. <i>P. syriaca</i>	3	2	-/2
21. <i>P. ussuriensis</i>	7	4	2/2
	102	69	36/33

Evaluierung der Resistenz im Feld mit verschiedenen Phytoplasma-Stämmen



Infektion von
1400 Pflanzen
mit 4 Inokula
im Okt. 2009



Aufveredelung einer
anfälligen Sorte
(Williams)
im Feb. 2010

Pflanzung im Mai 2010



2 Jahre Beobachtung
im Versuchsfeld



PCR Test der inokulierten Bäume



Bestimmung der Phytoplasma-
Konzentration in den inokulierten
Bäumen mit quantitativer PCR

Test von 80 Genotypen mit max. 10 Wiederholungen

Ergebnis

- **die experimentelle Infektion durch Pfropf-Inokulation ist schwierig:**
 - nur 59 von 80 Genotypen konnten inokuliert werden (PCR Nachweis)
 - **große Unterschiede in der Infektionsrate zwischen den 4 Inokula**
 - maximal 32% Infektion mit Inokulum PDw
 - **keine Korrelation zwischen PCR Nachweis und Symptomen**
 - **keine Korrelation zwischen Phänotyp und der Konzentration der Phytoplasmen** (bestimmt mittels quantitativer real-time PCR in den Wurzeln)
-  **auch „resistente“ Genotypen können einen hohen Phytoplasma-Titer aufweisen**

Ausblick

- **Selektion von 13 Genotypen für eine weitere Evaluierung basierend auf folgenden Auswahlkriterien:**
 - effiziente Vermehrbarkeit über Mikropropagation
 - keine Unverträglichkeitsprobleme bei der Veredelung
 - bestätigte Resistenzeigenschaft (keine Symptome, geringer Phytoplasma-Titer, keine Wuchsdepression)
- **selektierte Genotypen haben unterschiedliche Wuchsstärken:**
 - schwächer wüchsige Genotypen für den Erwerbsobstbau
 - stärker wüchsige Genotypen für Most- und Streuobst
- **selektierte Genotypen haben einen unterschiedlichen genetischen Hintergrund:**
 - *P. pyraeaster*, *P. cuneata*, *P. serrulata*, *P. elaeagrifolia*, *P. michauxii*, *P. betulifolia*, *P. boissieriana*, *P. amygdalifomis*, *P. communis*, *P. calleryana*

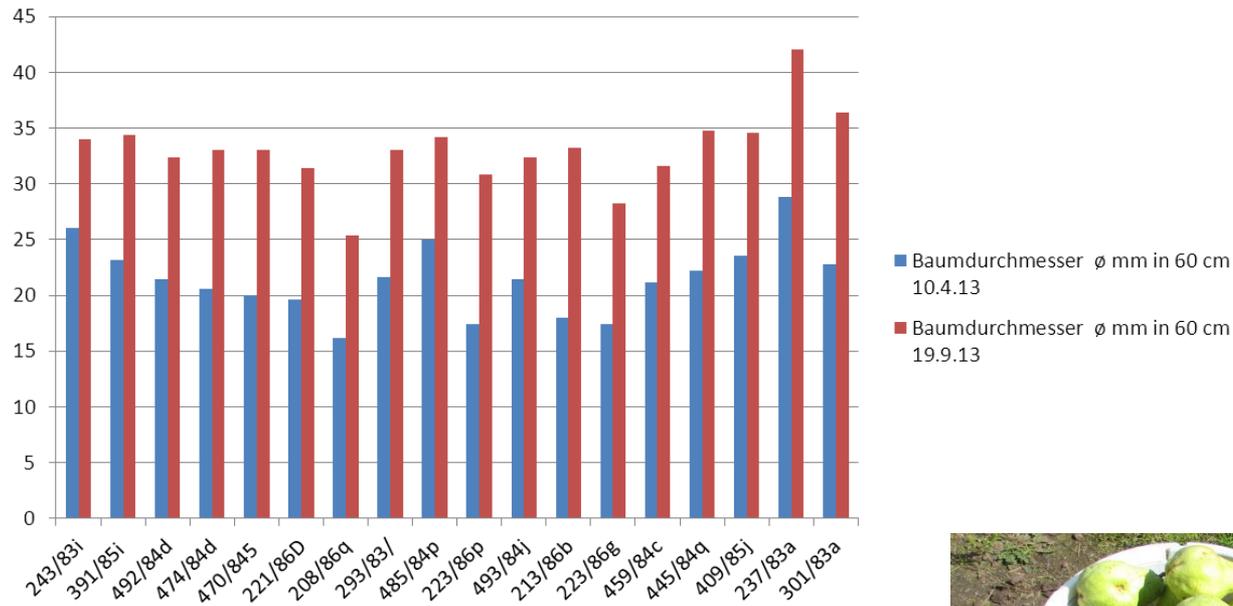
Prüfung auf Anbautauglichkeit

- Anbautauglichkeitsprüfung der schwächer wüchsigen Genotypen für den Erwerbsobstbau:
 - Georg Henkel, Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein
- Anbautauglichkeitsprüfung der stärker wüchsigen Genotypen für den extensiven Anbau:
 - Michael Petruschke, LTZ Augustenberg
 - Martin Trautmann, KOB Bavendorf
 - Julius-Kühn Institut Dossenheim

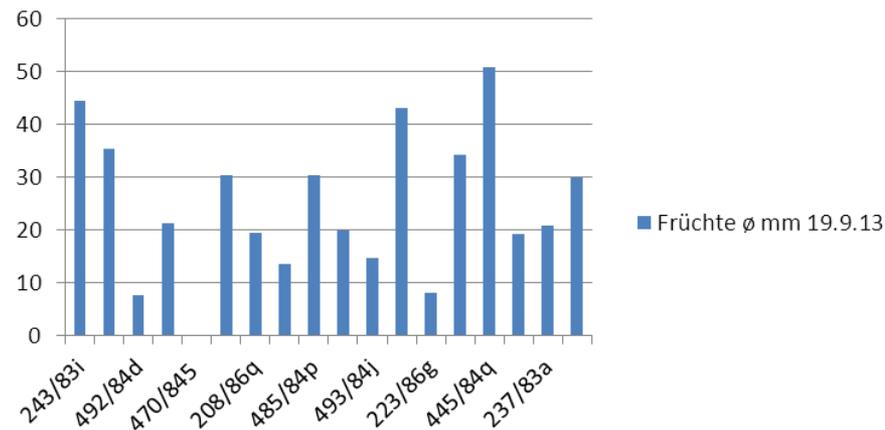
Anbauprüfung an der
Landwirtschaftskammer
Schleswig-Holstein



Erste Ergebnisse: G. Henkel Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein



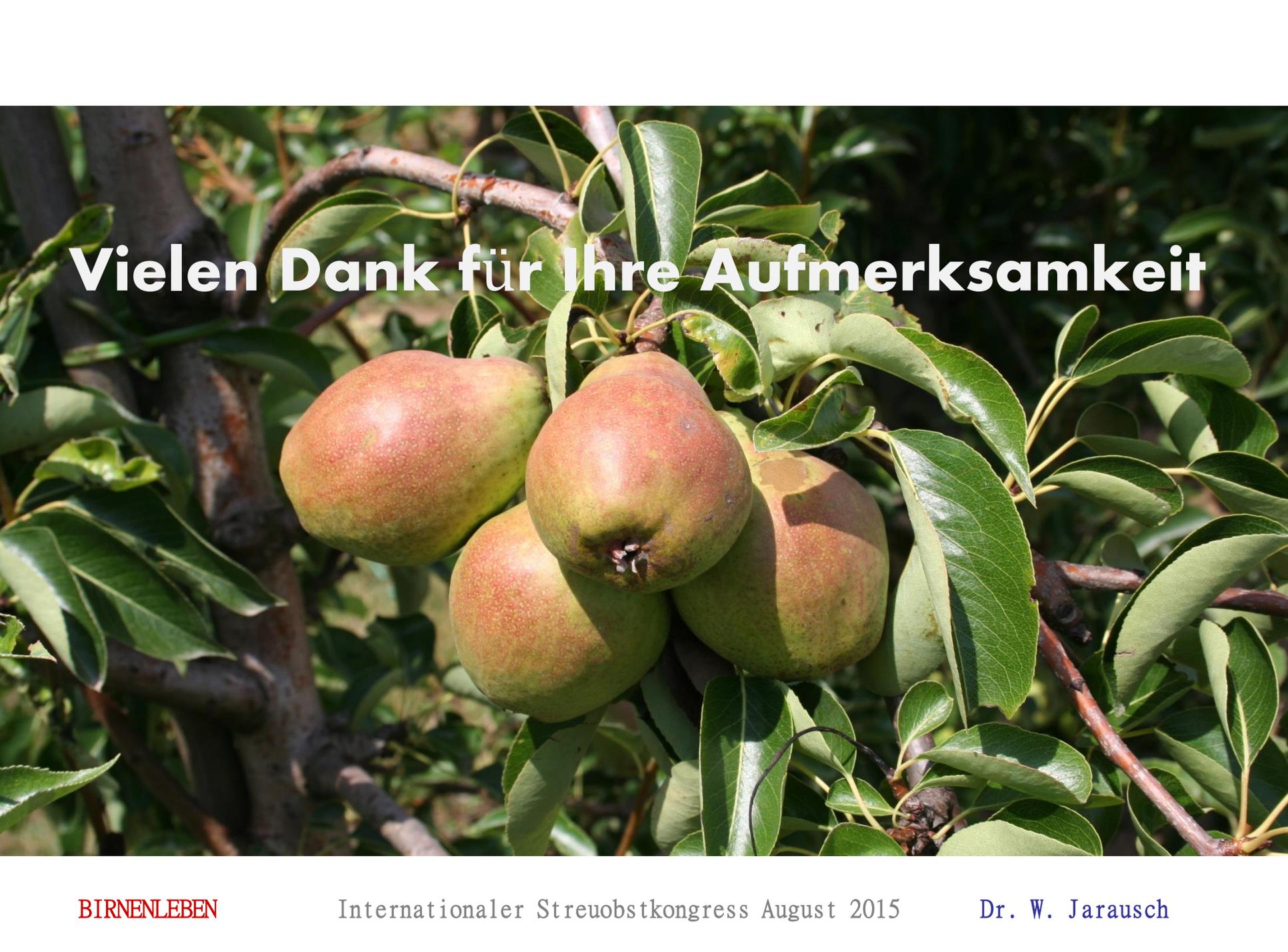
Früchte ø mm 19.9.13



Landwirtschafts-
kammer
Schleswig-Holstein

Fazit

- **eine klare Charakterisierung der genetischen Resistenz gegen den Birnenverfall ist schwierig und bedarf noch weiterer Forschung**
 - Optimierung der Screening-Methode
 - Interaktion verschiedener Phytoplasma-Stämme mit der Pflanze (zB. virulente und avirulente Stämme, Resistenz-brechende Stämme?)
- **in den bisherigen Arbeiten konnten erste vielversprechende Genotypen selektiert werden, die sich aktuell in der Anbauprüfung befinden:**
 - schwächer wüchsige Genotypen für den Erwerbsobstbau
 - stärker wüchsige Genotypen für Most- und Streuobst



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit