

## **Aufbau eines Zuchtprogramms zur Entwicklung widerstandsfähiger Erdbeersorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Landbau**

**Establishment of a breeding program for breeding of resistant strawberry cultivars for organic fruit production**

**FKZ: 09OE084**

**Projektnehmer:**

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen  
Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und Obst  
Pillnitzer Platz 3a, 01326 Dresden  
Tel.: +49 351 26162-0  
Fax: +49 351 26162-13  
E-Mail: [zo@jki.bund.de](mailto:zo@jki.bund.de)  
Internet: [www.jki.bund.de](http://www.jki.bund.de)

**Autoren:**

Flachowsky, Henryk; Bestfleisch, Markus; Höfer, Monika; Richter, Klaus; Schulte, Erik

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

# Abschlussbericht

Aufbau eines Zuchtprogramms zur Entwicklung widerstandsfähiger Erdbeersorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Landbau

**2809OE084**



**BÖLN**

Bundesprogramm Ökologischer Landbau  
und andere Formen nachhaltiger  
Landwirtschaft

## Zuwendungsempfänger:

Julius Kühn-Institut  
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen  
Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und  
Obst  
Pillnitzer Platz 3a  
01326 Dresden

Projektleiter (P1): PD Dr. Henryk Flachowsky

Doktorand: Markus Bestfleisch

Projektpartner (P2): Dr. Monika Höfer

Projektpartner (P3): Dr. Klaus Richter

Weiterer Projektpartner: Dr. Erik Schulte

**Förderkennzeichen: 2809OE084**

## Vorhabenbezeichnung:

„Aufbau eines Zuchtprogramms zur Entwicklung widerstandsfähiger Erdbeersorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Landbau“

**Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2011 bis 30.04.2014 (40 Monate)**

## Kurzfassung

Aufbau eines Zuchtprogramms zur Entwicklung widerstandsfähiger Erdbeersorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Landbau

H Flachowsky, M Bestfleisch, M Höfer, K Richter, E Schulte

Kontakt: [henryk.flachowsky@jki.bund.de](mailto:henryk.flachowsky@jki.bund.de)

Die Krankheitserreger *Botrytis cinerea* und *Xanthomonas fragariae*, gegen die derzeit keine wirksamen Mittel zugelassen sind, sind von besonderer Bedeutung für den ökologischen Erdbeeranbau. Eine Bekämpfung dieser Erreger ist nur mit indirekten pflanzenbaulichen Maßnahmen oder durch den Einsatz von Pflanzenstärkungsmitteln möglich. Resistente oder tolerante Sorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Anbau wären ein alternativer Ansatz zur Verbesserung der Effizienz im Erdbeeranbau. Das Forschungsprojekt hat das Ziel, ein bereits bestehendes Programm zur Züchtung von Erdbeersorten für den konventionellen Anbau an die Bedürfnisse des ökologischen Landbaus anzupassen. Eines der wichtigsten Ziele in diesem Züchtungsprogramm ist die Verbesserung der Widerstandsfähigkeit neuer Erdbeersorten gegenüber den beiden oben genannten Schaderregern. Dafür sollen in Phase 1 des Projektes Erdbeersorten der Deutschen Genbank Obst sowie Erdbeersorten und Erdbeerwildarten der Obstgenbank des JKI in Dresden-Pillnitz auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* und *X. fragariae* getestet werden, wozu mit beiden Erregern Resistenztests im Gewächshaus durchgeführt werden. Für *X. fragariae* existiert bereits ein etablierter Resistenztest, für *B. cinerea* muss ein solcher Test erst etabliert werden. Dazu wird zu Beginn des Projektes eine Erregerstammsammlung angelegt. Im Anschluss an die Evaluierung der genetischen Ressourcen werden widerstandsfähige Genotypen ausgewählt, mit denen Testkreuzungen durchgeführt werden, um die Vererbung der Widerstandsfähigkeit zu studieren und den Erfolg eines möglichen Züchtungsprogrammes abzuschätzen. Mit Hilfe der Ergebnisse der Testkreuzungen sollen Genotypen identifiziert werden, die für eine gezielte Resistenzzüchtung geeignet sind.

## Abstract

Establishment of a breeding program for breeding of resistant strawberry cultivars for organic fruit production

H Flachowsky, M Bestfleisch, M Höfer, K Richter, E Schulte

Contact: [henryk.flachowsky@jki.bund.de](mailto:henryk.flachowsky@jki.bund.de)

*Botrytis cinerea* and *Xanthomonas fragariae* are two important pests in organic strawberry cultivation. Effective pesticides are not permitted in organic farming and only indirect plant protecting measures such as cultivation methods and plant strengthening products can help to improve the productivity. Resistant or tolerant cultivars with special applicability for organic farming could be an effective approach to improve the productivity of organic strawberry cultivation. The aim of the project is to adapt an established conventional strawberry breeding program to the requirements of organic farming. This newly established breeding program will be focused on the improvement of resistance/tolerance of new strawberry cultivars to the two aforementioned plant diseases. In phase 1 of the project strawberry cultivars of the German Fruit Genetic Resources Network as well as cultivars and wild species accessions of the Fruit Genbank at JKI in Dresden-Pillnitz will be evaluated towards their resistance/susceptibility to *B. cinerea* and *X. fragariae*. Therefore, artificial resistance tests will be performed in the greenhouse. For *X. fragariae* such a test is already available. For *B. cinerea* an artificial resistance test still has to be established. Therefore, a pathogen strain collection will be established. Resistant/tolerant genotypes will be selected based on the results of the resistance tests and used for test crosses to study the inheritance of the resistance trait and to get an impression about the possibility of success of the intended breeding program. The results of the test crosses will lead to the identification of genotypes that are suitable for a targeted resistance breeding against *B. cinerea* and *X. fragariae*.

## Inhalt

1.	Einführung .....	1
1.1.	Gegenstand des Vorhabens .....	1
1.2.	Ziele und Aufgabenstellung des Projektes .....	1
1.3.	Planung und Ablauf des Projektes .....	2
2.	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde .....	6
3.	Material und Methoden .....	8
3.1.	Resistenztest gegenüber <i>Botrytis cinerea</i> .....	8
3.2.	Resistenztest gegenüber <i>Xanthomonas fragariae</i> .....	10
3.3.	Durchführung von Testkreuzungen .....	13
4.	Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse .....	13
4.1.	Resistenztest gegenüber <i>Botrytis cinerea</i> .....	13
4.2.	Resistenztest gegenüber <i>Xanthomonas fragariae</i> .....	20
5.	Diskussion der Ergebnisse .....	27
5.1.	Resistenztest gegenüber <i>B. cinerea</i> .....	27
5.2.	Resistenztest gegenüber <i>X. fragariae</i> .....	28
6.	Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse; Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse für die Praxis und Beratung .....	29
7.	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen .....	32
8.	Zusammenfassung .....	37
9.	Literaturverzeichnis .....	38
10.	Veröffentlichungen zum Projekt .....	42

## 1. Einführung

### 1.1. Gegenstand des Vorhabens

Die Krankheitserreger *Botrytis cinerea* und *Xanthomonas fragariae*, gegen die derzeit keine wirksamen Mittel zugelassen sind, sind von besonderer Bedeutung für den ökologischen Erdbeeranbau. Eine Bekämpfung ist nur mit indirekten pflanzenbaulichen Maßnahmen oder dem Einsatz von Pflanzenstärkungsmitteln möglich. Resistente oder tolerante Sorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Anbau wären ein effizienter Ansatz zur Verbesserung des ökologischen Erdbeeranbaus. Im Rahmen des Projektes sollen Erdbeersorten der Deutschen Genbank Obst sowie Erdbeersorten und Erdbeerwildartenakzessionen der Obstgenbank des JKI in Dresden-Pillnitz auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* und *X. fragariae* getestet werden, wozu mit beiden Erregern Resistenztests im Gewächshaus bzw. Labor durchgeführt werden. Für *X. fragariae* existiert bereits ein etablierter Resistenztest, für *B. cinerea* muss ein solcher Test erst etabliert werden. Dazu wird zu Beginn des Projektes eine Erregerstammsammlung für *B. cinerea* angelegt. Aufbauend auf den Ergebnissen dieser Resistenztests werden Eltern ausgewählt und Testkreuzungen durchgeführt. Mit Hilfe der Ergebnisse dieser Testkreuzungen sollen Genotypen identifiziert werden, die für eine gezielte Resistenzzüchtung geeignet sind.

### 1.2. Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

Das beantragte Projekt hat das Ziel, ein bereits bestehendes Programm zur Züchtung von Erdbeersorten für den konventionellen Anbau an die Bedürfnisse des ökologischen Landbaus anzupassen. Dieses Programm soll dann dazu genutzt werden, neue widerstandsfähige Erdbeersorten zu züchten, mit denen es unter den Bedingungen des ökologischen Landbaus möglich ist, hohe und stabile Erträge bei minimalem Aufwand an Pflanzenschutz-/Pflanzenstärkungsmitteln zu erzielen. Da ein solches Ziel unter Beachtung des derzeitigen Standes der Sortenzüchtung bei Erdbeeren nur langfristig erreicht werden kann, wurde das Projekt in drei Phasen untergliedert. In **Phase 1** sollen Zuchtklone und vorhandene obstgenetische Ressourcen der Deutschen Genbank Obst sowie der Obstgenbank des Institutes für Züchtungsforschung an Obst in Dresden auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber den beiden im Erdbeeranbau bedeutenden biotischen Schaderregern *B. cinerea*, dem Erreger der Grauschimmelfäule, und *X. fragariae*, dem Erreger der Eckigen Blattfleckenkrankheit, getestet werden. Die dabei erzielten Ergebnisse können dem ökologischen Anbau erste Anbauempfehlungen geben (kurzfristiger Nutzen der Projektergebnisse). Basierend auf den Ergebnissen von Phase 1 werden Genotypen ausgewählt, mit denen in **Phase 2** Testkreuzungen durchgeführt werden. Mit Hilfe dieser Testkreuzungen soll die Aufspaltung des Merkmals „Widerstandsfähigkeit“ in den

Nachkommen studiert werden. Dadurch erhält der Züchter die Information, ob und in welchem Maß die gefundene Widerstandsfähigkeit für die Züchtung nutzbar ist. Gleichzeitig dienen diese Versuche der Prüfung ausgewählter Genotypen auf allgemeine und spezifische Kombinationseignung (Information für den Züchter - mittelfristiger Nutzen der Ergebnisse). In **Phase 3** werden die Ergebnisse der Testkreuzungen dann genutzt, um ausgewählte Genotypen gezielt zu kombinieren und neue Sorten zu schaffen, die besser an die Bedingungen des ökologischen Anbaus angepasst sind. Mit diesen Sorten soll es zukünftig möglich sein: (a) die Erträge im ökologischen Anbau zu stabilisieren, (b) die Produktqualität des gehandelten Obstes zu verbessern, (c) den Pflanzenschutzmitteleinsatz zu reduzieren und (d) den nachhaltigen Erdbeeranbau in Deutschland auf lange Sicht zu sichern (neue Sorten - langfristiger Nutzen).

Die im Projekt erzielten Evaluierungsdaten (Phasen 1 und 2) werden zukünftig über die Homepage der Deutschen Genbank Obst einer breiten Öffentlichkeit zugänglich gemacht werden. Diese Daten können dann sowohl von anderen staatlichen und nichtstaatlichen Einrichtungen sowie von privaten Züchtungsunternehmen genutzt werden, was langfristig zu einem enormen Innovationsschub für die Sortenzüchtung führen wird.

Das geplante Projekt gliedert sich damit sowohl unter Punkt 3.1 „Erzeugung landwirtschaftlicher Produkte“ als auch unter Punkt 3.6 „Wissenstransfer“ des „Programms des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer im ökologischen Landbau“ ein. Es leistet im Speziellen einen Beitrag zum Förderschwerpunkt 1.2 „Züchterische Weiterentwicklung von Beerenobstsorten für die Bedingungen des ökologischen Anbaus hinsichtlich Resistenz gegenüber biotischen und abiotischen Stressfaktoren, wertgebenden Inhaltsstoffen und Anbaueignung insbesondere bei Erdbeere“ der Bekanntmachung Nr. 03/09/51 für die Durchführung von Forschungsprojekten und Forschungs- und Entwicklungsprojekten (FuE-Projekten) für den Bereich „Pflanzenzüchtung für den ökologischen Landbau“ im Bereich des Bundesprogramms Ökologischer Landbau vom 01.07.2009.

### **1.3. Planung und Ablauf des Projektes**

Das geplante Projekt ist auf insgesamt drei Jahre (36 Monate) konzipiert und soll nach Möglichkeit am 01.01.2011 beginnen und am 31.12.2013 beendet sein. Alle Elemente der Versuchsanstellung befinden sich in einem Status, welcher der Richtlinie des ökologischen Landbaus (EG-ÖKO-Basisverordnung Nr. 834/2007 und Durchführungsverordnung Nr. 889/2008) entspricht. Eine Umstellung der Selektionsflächen auf eine ökologische Bewirtschaftung erscheint nicht notwendig, da im Zuchtprozess keine anderen Erzeugnisse als Saatgut und vegetatives Vermehrungsmaterial entstehen, die wiederum ausschließlich im

Zuchtprozess verbleiben. Die Umstellung der Flächen spielt erst im späteren Verwertungsprozess, nach Anmeldung einer Sorte zum Sortenschutz, in der Stufe der Vermehrung von Pflanzgut für die ökologische Produktion eine Rolle (siehe EG-ÖKO-Basisverordnung Artikel 12 Absatz 1i). Dafür werden die Vermehrungsrechte an spezielle Vermehrungsbetriebe vergeben, die entsprechend zertifiziert sein müssen. Bei den verwendeten Zuchtmethoden handelt es sich ausschließlich um Verfahren der klassischen Kreuzungszüchtung, wie die Kastration von Mutterpflanzen und die künstliche Bestäubung ausgewählter Mutterpflanzen durch das Aufbringen von Pollen auf die Narbe mittels Pinsel. Gentechnische Verfahren werden in Dresden-Pillnitz generell nicht in der Sortenzüchtung angewandt.

Alle entstehenden Zuchtklone fließen nach Abschluss des Projektes direkt in ein Zuchtprogramm zur Erzeugung resistenter Erdbeersorten ein, welches am JKI weitergeführt wird. Darüber hinaus sind diese Zuchtklone allgemein verfügbar und können nach Abschluss eines Testvertrages mit der Deutschen Saatgutgesellschaft mbH (Lizenzbüro des JKI) von Interessenten getestet und auf ihre Eignung für den ökologischen Anbau geprüft werden. Diese Vorgehensweise hat sich in der Vergangenheit bewährt und es stehen bereits jetzt zahlreiche Zuchtklone des Pillnitzer Zuchtprogramms bei verschiedenen Praxispartnern des ökologischen Landbaus in Testung. Zuchtklone von Praxisbetrieben können nur dann im Rahmen dieses Projektes mit getestet werden, wenn sie im Anschluss auch allgemein verfügbar sind. Testungen für Privatleute, die ausschließlich privaten Zwecken dienen, sind davon ausgeschlossen.

Im Rahmen des geplanten Projektes sollen insgesamt 120 (40 pro Jahr) Genotypen (Zuchtklone, Sorten, Wildarten) auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* und *X. fragariae* getestet werden. Die im Rahmen des geplanten Projektes durchzuführenden Arbeiten lassen sich damit wie folgt gliedern:

**In 2011:** Im Zeitraum von **Januar bis April** erfolgt die Anzucht von Pflanzen für den *Xanthomonas*-Resistenztest aus den in 2010 (im Vorfeld des Projektes) bereits hergestellten Frigopflanzen (P1/P2). Anschließend werden diese Pflanzen hinsichtlich ihrer Resistenz geprüft (P3) und die erhaltenen Ergebnisse zusammengefasst und ausgewertet (P1/P3). Parallel dazu werden Pflanzen zur Blüte angetrieben, um Früchte zu erzeugen, an denen dann die Etablierung des *Botrytis*-Resistenztests weitergeführt werden soll (P1). Im Zeitraum von **Mai bis Juni** erfolgt die Evaluierung der im Feldversuch stehenden Pflanzen im Hinblick auf obstbaulich wichtige Merkmale, wie Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit und Gesundheit des Laubes und der Frucht (P1/P2). Parallel dazu werden Früchte und Blätter ausgewählter Genotypen mit *Botrytis* inokuliert, um die Widerstandsfähigkeit unter künstlichen Infektionsbedingungen zu testen (P1). Darüber hinaus wird weiter an der



Entwicklung einer *Botrytis*-Stammsammlung gearbeitet (P1). Im Zeitraum von **Juli bis August** erfolgen die Vermehrung von Pflanzen für den Ausbau des Feldtestes, den Resistenztest gegenüber *X. fragariae*, den Aufbau des neuen Mutterbeetes für die Erzeugung von Frigopflanzen und die Erzeugung von Pflanzen, die als Eltern für erste Testkreuzungen genutzt werden sollen (P1). Im Anschluss erfolgen die Pflanzung des Mutterbeetes und des Feldbestandes (P1). Darüber hinaus wird weiter an der Entwicklung einer *Botrytis*-Stammsammlung gearbeitet (P1). Im Zeitraum von **September bis Dezember** wird der *Xanthomonas*-Resistenztest durchgeführt (P3). Anschließend werden die erhaltenen Ergebnisse zusammengefasst und ausgewertet (P1/P3). Parallel dazu werden neue Frigopflanzen für die Testungen im Winter/Frühjahr 2012 sowie von Elternpflanzen für die bevorstehenden Testkreuzungen (P1) hergestellt.

**In 2012:** Im Zeitraum von **Januar bis April** erfolgt die Anzucht von Pflanzen für den *Xanthomonas*-Resistenztest aus den in 2011 hergestellten Frigopflanzen (P1/P2). Anschließend werden diese Pflanzen hinsichtlich ihrer Resistenz geprüft (P3) und die erhaltenen Ergebnisse zusammengefasst und ausgewertet (P1/P3). Parallel dazu werden Elternpflanzen zur Blüte angetrieben und erste Testkreuzungen durchgeführt (P1). Im Zeitraum von **Mai bis Juni** werden die im Feldversuch stehenden Pflanzen im Hinblick auf obstbaulich wichtige Merkmale, wie Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit und Gesundheit des Laubes und der Frucht (P1/P2) evaluiert. Parallel dazu werden Früchte und Blätter ausgewählter Genotypen mit *Botrytis* inokuliert, um die Widerstandsfähigkeit unter künstlichen Infektionsbedingungen zu testen (P1). Darüber hinaus wird weiter an der Entwicklung einer *Botrytis*-Stammsammlung gearbeitet (P1). Im Zeitraum von **Juli bis August** erfolgen die Aussaat der in den Testkreuzungen erzeugten Nachkommen sowie deren Anzucht für die Pflanzung in den Feldversuch. Gleichzeitig werden von den im Feld stehenden Pflanzen sowie von Pflanzen einer zur Genbank Obst (P2) gehörenden Kastenanlage Ausläufer entnommen, um neue Pflanzen für den Ausbau des Feldtestes, den Resistenztest gegenüber *X. fragariae*, den Aufbau des neuen Mutterbeetes für die Erzeugung von Frigopflanzen und die Erzeugung von Pflanzen, die als Eltern für weitere Testkreuzungen benutzt werden sollen, erzeugen zu können (P1). Im Anschluss erfolgen die Pflanzung des Mutterbeetes und des Feldbestandes (P1). Darüber hinaus wird weiter an der Entwicklung einer *Botrytis*-Stammsammlung gearbeitet (P1). Im Zeitraum von **September bis Dezember** wird der *Xanthomonas*-Resistenztest (P3) durchgeführt. Anschließend werden die erhaltenen Ergebnisse zusammengefasst und ausgewertet (P1/P3). Parallel dazu erfolgt die Herstellung neuer Frigopflanzen für die Testungen im Winter/Frühjahr 2012 sowie von Elternpflanzen für die bevorstehenden Testkreuzungen (P1).

**In 2013:** Im Zeitraum von **Januar bis April** erfolgt die Anzucht von Pflanzen für den *Xanthomonas*-Resistenztest aus den in 2011 hergestellten Frigopflanzen (P1/P2). Anschließend werden diese Pflanzen hinsichtlich ihrer Resistenz geprüft (P3) und die erhaltenen Ergebnisse zusammengefasst und ausgewertet (P1/P3). Parallel dazu werden Elternpflanzen zur Blüte angetrieben und erste Testkreuzungen durchgeführt (P1). Im Zeitraum von **Mai bis Juni** werden die im Feldversuch stehenden Pflanzen im Hinblick auf obstbaulich wichtige Merkmale, wie Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit und Gesundheit des Laubes und der Frucht (P1/P2) evaluiert. Parallel dazu werden Früchte und Blätter ausgewählter Genotypen mit *Botrytis* inokuliert, um die Widerstandsfähigkeit unter künstlichen Infektionsbedingungen zu testen (P1). Darüber hinaus wird weiter an der Entwicklung einer *Botrytis*-Stammsammlung gearbeitet (P1). Im Zeitraum von **Juli bis August** werden Pflanzen für den Resistenztest gegenüber *X. fragariae* vermehrt. Im Zeitraum von **September bis Dezember** wird der *Xanthomonas*-Resistenztest (P3) durchgeführt. Anschließend werden alle im Projekt erhaltenen Ergebnisse zusammengefasst, ausgewertet und ein Abschlussbericht erstellt (P1/P2/P3). Diese Ergebnisse sollen sowohl in einer deutschsprachigen als auch in einer international anerkannten Fachzeitschrift publiziert werden.

#### Meilensteinplanung

Für die Erreichung der im Gesamtziel des Vorhabens genannten Einzelziele wurden insgesamt fünf abrechenbare Meilensteine formuliert (siehe Balkenplan):

1. Abschluss der Etablierung eines Resistenztests gegenüber der Grauschimmelkrankheit *B. cinerea* an Erdbeerfrüchten und –blättern.
2. Zusammenfassung der Ergebnisse der Evaluierung von insgesamt 40 Sorten, Zuchtklonen und *Fragaria*-Wildarten im Hinblick auf ihre Resistenz gegenüber *B. cinerea* und *X. fragariae*.
3. Zusammenfassung der Ergebnisse der Evaluierung von 40 weiteren Genotypen (Sorten, Zuchtklone und *Fragaria*-Wildarten) im Hinblick auf ihre Resistenz gegenüber *B. cinerea* und *X. fragariae*.
4. Zusammenstellung erster Ergebnisse zur Bestimmung der allgemeinen und spezifischen Kombinationseignung von ausgewählten Genotypen.
5. Zusammenfassung der Ergebnisse der Evaluierung von 40 weiteren Genotypen (Sorten, Zuchtklone und *Fragaria*-Wildarten) im Hinblick auf ihre Resistenz gegenüber *B. cinerea* und *X. fragariae* sowie Publikation aller im Projekt erzielten Ergebnisse.

## 2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Biotische Schaderreger, zu denen vor allem Pilze und Bakterien gehören, führen oftmals zu erheblichen Ertragseinbußen im Erdbeeranbau. Besonders im ökologischen Anbau ist die Bekämpfung solcher Krankheiten meist sehr schwierig. Von besonderer Bedeutung sind hier neben den bodenbürtigen Krankheiten, wie der von *Phytophthora fragariae* hervorgerufenen Roten Wurzelfäule oder der von *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth. bzw. *V. dahliae* hervorgerufenen *Verticillium*-Welke, vor allem Fruchtfäulen, wie die Graufäule. Diese, vom Pilz *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr. hervorgerufene Krankheit ist ein weltweites Problem (Hancock et al. 2008). Im konventionellen Erdbeeranbau ist die Bekämpfung von *B. cinerea* durch Applikation von Fungiziden, wie z. B. Frupica SC (Mepanipyrim) oder Scala (Pyrimethanil), möglich. Für den ökologischen Anbau sind zurzeit keine Botrytizide zugelassen. Hier wird vor allem mit indirekten Maßnahmen, wie einem einreihigen statt zweireihigen Pflanzsystem oder durch konsequentes Entfernen verdorrter Blätter im Frühjahr und fauler Früchte während der Ernte aus der Anlage, versucht, den Befallsdruck zu minimieren. Ein Ausweg aus dieser Situation wird vor allem im Anbau resistenter/toleranter Sorten gesehen. Einige der im Anbau vertretenen Erdbeersorten, wie z. B. 'Honeoye', 'Polka' und 'Elsanta', zeigen unter ausgewählten Anbaubedingungen bereits eine recht gute Toleranz gegenüber *B. cinerea* (Labanowska et al. 2004). Unter anderen Umweltbedingungen ist die Sorte 'Polka' jedoch als stark anfällig beschrieben. Hier zeigten vor allem Sorten wie 'Florika', 'Joghana', 'Karla', 'Milprima', 'Marmolada', 'Capitola', 'Darflash', 'Irvine', 'Mara de Bois' und 'Seascape' eine geringe Anfälligkeit, während 'Bogota', 'Julietta', 'Korona', 'Polka' und 'Senga Sengana' als stark anfällig eingestuft wurden (Bundessortenamt, Beschreibende Sortenliste Beerenobst 1995). Das deutet darauf hin, dass die Widerstandsfähigkeit umweltabhängig ist oder es Unterschiede im Rassenspektrum des Erregers gibt. Auch bei Wildartenakzessionen der Chileerdbeere *Fragaria chiloensis* ist es möglich, Genotypen zu identifizieren, die eine sehr hohe Toleranz gegenüber *B. cinerea* aufweisen (González et al. 2009). Vielfach korreliert diese Art der Widerstandsfähigkeit mit der Festigkeit der Frucht. Vor allem das in die Zellwand eingelagerte Pektin und der Grad seiner Veresterung scheinen einen deutlichen Einfluss zu haben (Osorio et al. 2008). Neben der pflanzlichen Zellwand als physikalische Barriere scheint auch die Anwesenheit verschiedener Flavonoide in den Erdbeerfrüchten einen Einfluss auf die Entwicklung des Pilzes zu haben. Vor allem in unreifen Früchten, welche große Mengen an 3', 4'-hydroxylierten Flavan 3-olen wie Catechin, Epicatechin und den davon abgeleiteten Proanthocyanidinen akkumulieren (Halbwirth et al. 2006, Macheix et al. 1990), kann sich der Pilz, welcher bereits die Blüte infiziert und ein Myzel im Blütenboden anlegt, nicht weiter ausbreiten (Schlösser 1994). Während des Reifeprozesses der Früchte kommt es zu einer starken Veränderung des Spektrums der Flavonoide. Mit zunehmender Reife werden vor

allem Pigmente gebildet. Zu den Hauptpigmenten der Erdbeerfrucht gehören vor allem Derivate der Anthocyanidine Pelargonidin und Cyanidin (Goiffon et al. 1999, Nyman et al. 2001, Andersen 2004). Zusätzlich werden noch Flavonole gebildet, die als Co-Pigmente fungieren können (Henning 1981, Hertog et al. 1992, Häkkinen et al. 1998, 2000, Olsson et al. 2004). Zur gleichen Zeit sinkt der Gehalt an Catechin, Epicatechin und Proanthocyanidinen stark ab (Puhl und Treutter 2008) und der Pilz beginnt sich auszubreiten. Erdbeersorten mit höheren Konzentrationen an freiem Catechin sind in der Regel weniger anfällig gegenüber *B. cinerea* (Hebert et al. 2001). Andere Autoren fanden eine positive Korrelation zwischen der Widerstandsfähigkeit der Pflanze und dem Gehalt an Proanthocyanidinen (DiVenere et al. 1998, Jersch et al. 1989, Hebert et al. 2001). Für einen positiven Effekt der Flavonoide bei der Erhöhung der Toleranz gegenüber *B. cinerea* spricht auch die Tatsache, dass eine gezielte Unterdrückung dieses Biosyntheseweges zu einer deutlich erhöhten Anfälligkeit führt (Hanhineva et al. 2009). Trotz dieser zum Teil sehr deutlichen Hinweise ist jedoch über die Funktion und die Vererbung dieser Toleranzen bislang nur sehr wenig bekannt. Damit sind solche in der Literatur beschriebenen Toleranzen für die Züchtung nur sehr begrenzt nutzbar.

Im Gegensatz zu diesen Toleranzen sind in der Literatur auch einzelne mehr oder minder resistente Genotypen beschrieben (Maas and Smith 1978, Barritt 1980, Popova et al. 1985). Diese oftmals als Resistenz bezeichneten Abwehrreaktionen sind jedoch meist quantitativer Natur (Hancock et al. 2008) und weisen eher auf eine allgemeine Abwehr der Pflanze hin. Monogene Resistenzen, die auf einer Gen-für-Gen-Interaktion zwischen einem Avirulenzgen (avr-Gen) des Erregers und einem Resistenzgen (R-Gen) des Wirtes beruhen, sind im Wirt-Pathogensystem *Fragaria* – *Botrytis cinerea* bislang nicht beschrieben. Das macht eine gezielte Resistenzzüchtung sehr schwierig.

Ähnlich schwierig ist die Situation bei einer zweiten bedeutenden Krankheit, die als Eckige Blattfleckenkrankheit bekannt ist. Diese wird vom Erreger *Xanthomonas fragariae* (Kennedy & King) hervorgerufen, der in der Europäischen Union als Quarantäneschaderreger gelistet ist (OEPP/EPPO 1986; EU-Richtlinie 2000/29/EG). Das gramnegative Bakterium *X. fragariae* wurde 1962 zum ersten Mal in Nord Amerika beschrieben (Kennedy and King 1962) und hat sich möglicherweise von dort aus auf die übrigen Kontinente verbreitet. In Europa kommt der Erreger ubiquitär vor und wurde bereits in Italien (Mazzucchi et al. 1973), Frankreich (Rat 1974), Griechenland (Panagopoulos et al. 1978), Portugal (Fernandes and Pinto-Ganhao 1981), Rumänien (Severin et al. 1985), Spanien (Lopez et al. 1985), der Schweiz (Grimm et al. 1993) sowie in den Niederlanden und Belgien (Bultreys et al. 2000) beschrieben. In Deutschland wurde der Erreger erstmals 1994 nachgewiesen (Billen 1995). Ein Befall von Erdbeeranlagen mit *X. fragariae* kann zu erheblichen Ertragseinbußen von 30 % (Litterst 1996) bis zu 75/80 % (Epstein 1966) führen. Eine direkte Bekämpfung des Erregers im

konventionellen Anbau ist schwierig. Wirksame Antibiotika sind in den meisten Ländern der EU nicht zugelassen (Roberts et al. 1997). Im ökologischen Anbau ist die Situation noch wesentlich schwieriger. Ein Ausweg aus dieser Situation wird auch hier vor allem im Anbau resistenter Sorten gesehen, jedoch fehlen eine gezielte Resistenzzüchtung sowie resistente Sorten bislang. In oktaploidem Zuchtmaterial wurden bereits mehrfach Resistenzen gegenüber *X. fragariae* beschrieben (Maas et al. 2000, Hartung et al. 2003, Lewers et al. 2003, Hildebrandt et al. 2005, Xue et al. 2005). Diese Resistenzen werden jedoch von mindestens drei bis vier Genen bedingt, die noch dazu an unterschiedlichen Genorten im Erdbeergenom liegen. Damit sind sie für eine Züchtung nur in begrenztem Umfang nutzbar. Da diese Resistenzträger darüber hinaus auch noch unter ein US-Patent fallen, ist es unklar, ob sie für Züchtungszwecke überhaupt zur Verfügung stehen. Resistenzträger gibt es ebenfalls in verschiedenen *Fragaria*-Wildarten unterschiedlicher Ploidiestufen, wie *F. pentaphylla* und *F. moschata* (Xue et al. 2005). Solche Resistenzen sind nur über aufwändige Kreuzungsprogramme nach Durchführung einer interspezifischen Hybridisierung nutzbar. Um nach einem Ausweg aus dieser schwierigen Situation zu suchen und zu klären, ob eine gezielte Resistenzzüchtung gegenüber dieser Krankheit überhaupt möglich ist, wurde in Deutschland vor einiger Zeit mit einer umfassenden Evaluierung genetischer Ressourcen begonnen. So konnte am Julius Kühn-Institut in Quedlinburg im Rahmen eines Forschungsprojektes mit dem Titel: „Untersuchungen zur Resistenz von Erdbeeren (*Fragaria*) gegenüber *Xanthomonas fragariae*, dem Erreger der Eckigen Blattfleckenkrankheit“ bereits ein Resistenztest etabliert werden. Mit Hilfe dieses Resistenztests wurden bereits erste Sorten evaluiert. Obwohl es Unterschiede in der Anfälligkeit gab, konnten bislang keine Resistenzträger identifiziert werden.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Resistenztest gegenüber *Botrytis cinerea***

##### **Aufbau einer Stammsammlung mit verschiedenen Isolaten von *B. cinerea***

Feldisolate von *B. cinerea*, dem Erreger der Grauschimmelfäule, wurden aus symptomatischen Erdbeerfrüchten gewonnen. Von diesen wurden Einsporisolate hergestellt, auf Kartoffeldextroseagar (PDA, 0.15%) in Petrischalen vermehrt und bei 18 °C in der Klimakammer kultiviert. Die Isolate wurden anschließend mit molekularbiologischen PCR-Methoden unter Verwendung spezifischer Primerpaare evaluiert und charakterisiert. Hierzu wurde die genomische DNA aus pilzlichem Mycel mit dem DNeasy Plant mini Kit (QIAGEN GmbH Hilden, Deutschland) isoliert. Zum spezifischen Nachweis von Stämmen der Art *B. cinerea pers. (teleomorph Botryotinia fuckeliana)* wurde das Primerpaar C729+/- (Rigotti et al. 2002) verwendet. Die Amplifikationsprodukte wurden im Anschluss in einer

Gelelektrophorese aufgetrennt. Hierbei konnten die Isolate, die bei 750 bp ein Fragment amplifizieren, der Art *B. cinerea* zugeordnet werden.

### **Künstliche Inokulation von Erdbeerfrüchten mit *B. cinerea***

Für die Durchführung von künstlichen Inokulationsversuchen musste zu Beginn des Projektes eine entsprechende Methodik entwickelt und für den routinemäßigen Einsatz etabliert werden. Für die Etablierung des Resistenztests gegenüber *B. cinerea* wurden Methoden zur künstlichen Inokulation von Erdbeerfrüchten verschiedener Genotypen entwickelt, die unter standardisierten Bedingungen eine Evaluierung der Resistenz bzw. Toleranz bezüglich des Schaderregers zulassen. Hierfür wurden die pflückreif geernteten Früchte zunächst einer Oberflächensterilisation in Natriumhypochlorit unterzogen, um die Fremdeinwirkung bereits anhaftender Sporen und Keime zu minimieren. Anschließend wurden die Früchte unter sterilen Bedingungen mit einer Sporensuspension inokuliert und in einer Klimakammer inkubiert (siehe Abbildung 1). Der Befall wurde in regelmäßigen Abständen bonitiert. Hierbei wurde eine Boniturskala von 0 (kein Befall) bis 4 (100% Befall) verwendet. Erste Befallssymptome zeigen sich bei inokulierten Erdbeerfrüchten je nach Sorte nach einem bis drei Tagen. Beginnend am Inokulationspunkt breitet sich das zunächst weiße Mycel innerhalb weniger Tage rasch auf den Früchten aus, verfärbt sich grau und sporuliert erneut. Die größten Unterschiede zwischen den Sorten zeigen sich sechs Tage nach Inokulation.



**Abbildung 1: Künstliche Inokulation von Erdbeerfrüchten mit *B. cinerea***

Links oben: Waschen der Früchte in Natriumhypochlorit (0,7%ig) und anschließend spülen in ddH<sub>2</sub>O; rechts oben: Inokulation der Früchte mit *Botrytis cinerea* 10<sup>7</sup> Konidien/ml, 10 µl pro Frucht, anschließend spülen in ddH<sub>2</sub>O; unten links: Inkubation der inokulierten Früchte in geschlossenen Aluminiumboxen bei 20 °C für mehrere Tage; unten rechts: Messung der Befallsstärke.

### **Künstliche Inokulation von Blattscheiben mit *B. cinerea***

Zusätzlich zur Inokulation von Früchten wurde an einer Methode zur Inokulation von Blattmaterial gearbeitet. Der Vorteil der Blatinokulationen liegt in der besseren Verfügbarkeit des Probenmaterials. Hierfür wurden Blattscheiben von ausgewählten Sorten mit einer definierten Konidiensuspension inokuliert und mittels einer eigens entwickelten Boniturskala von 1 (kein Befall) bis 9 (100% Befall) evaluiert. Die Konidiensuspension enthielt  $3 \times 10^5$  Konidien pro ml und wurde mit Tween20, Saccharose und Phosphat versetzt. Dadurch sollte eine bessere Benetzung der Blattoberflächen sowie ein optimales Auskeimen der Konidien erreicht werden. Tween20 gewährleistet eine optimale Verteilung des Inokulums auf der Blattoberfläche. Saccharose und Phosphat verbessern die Keimfähigkeit der Konidien. Als Blattmaterial wurden jeweils die jüngsten voll entfalteten Blätter sowie ältere Blätter ausgewählter Sorten verwendet. Ausgestanzte Blattstücke mit 1 cm Durchmesser wurden in Natriumhypochlorit oberflächensterilisiert. Anschließend wurden mit einer Pipette 3  $\mu$ l Suspension mit einer Dichte von  $1 \times 10^3$  Konidien pro  $\mu$ l aufgebracht. In einer Feuchtekammer wurden die Blattscheiben im Klimaschrank bei 22 °C und einem Tag-/Nachtrythmus von 14 h Tag und 10 h Nacht inkubiert. Die Bonitur erfolgte zwei, vier, sechs und acht Tage nach der Inokulation.

### **3.2. Resistenztest gegenüber *Xanthomonas fragariae***

#### **Pflanzenmaterial**

Im Rahmen des Projektes wurden die aktuell in Deutschland erhältlichen Sorten für den Erwerbsanbau, traditionelle und historische Sorten sowie einzelne Wildartenakzessionen getestet. Dazu wurden diese aus dem Bestand der Obstgenbank des JKI in Dresden-Pillnitz ausgewählt. Von jedem Genotyp wurden im Juli des Vorjahres der Resistenzprüfung 10 visuell gesunde Pflanzen durch Bewurzelung junger Ausläufer gewonnen und im August des gleichen Jahres im Freiland aufgepflanzt. Von diesen wurden dann im Juli des darauffolgenden Jahres die Pflanzen für den Resistenztest im Gewächshaus gewonnen. Die Mutterpflanzen wurden nach den Richtlinien des integrierten Pflanzenbaus angebaut. Außerdem wurden im ersten und zweiten Versuchsjahr Frigo-Pflanzen in A+ Qualität mit in die Experimente integriert. Im Vorfeld des Versuchs wurden zufällig ausgewählt Pflanzen stichprobenartig mittels nested-PCR auf latenten Befall mit *X. fragariae* untersucht. Im Rahmen des Projektes wurden insgesamt 145 Genotypen für die Evaluierung ausgewählt. Unter diesen befinden sich 119 Erdbeersorten, 18 ausgewählte Zuchtklone aus dem Erdbeersortenzüchtungsprogramm des JKI sowie acht Erdbeerwildartenakzessionen. Bei den untersuchten Sorten handelt es sich sowohl um die aktuell auf dem europäischen Markt verbreiteten Sorten als auch um traditionelle Sorten, die heute Bestandteil der Obstgenbank des JKI sind. Bei den untersuchten Wildartenakzessionen handelt es sich um einige wenige

repräsentative Vertreter der Arten *F. moschata*, *F. nilgerrensis*, *F. vesca*, *F. virginiana* und *F. viridis*. Die Sorten 'Elsanta', 'Clery', 'Honeoye' und 'Galia' wurden in jedem der drei Versuchsjahre getestet. Insgesamt 48 Genotypen wurden in einem zweiten Versuchsjahr wiederholt getestet. Für den Versuch zur systemischen Ausbreitung von *X. fragariae* innerhalb der Erdbeerpflanzen wurden Pflanzen der Sorten 'Elsanta' und 'Clery' sowie die Wildartenakzessionen *Fragaria moschata* 'Bauwens' und *Fragaria vesca* f. *alba* verwendet.

### **Bakterienstämme und künstliche Inokulation**

Die künstliche Inokulation der Erdbeerpflanzen wurde mit den *X. fragariae* Stämmen Xf3.9.C, Xf3.9.F und Xf315 aus der Stammsammlung des JKI in Quedlinburg durchgeführt. Die Bakterienkulturen wurden auf sterilem YDC-Medium (2 % Glukose, 1 % Hefeextrakt, 1,5 % Agar und 2 % Calciumcarbonat) kultiviert. Das Medium wurde in ddH<sub>2</sub>O gelöst, auf einen pH-Wert von 7.0 eingestellt und in Plastikpetrischalen ausgegossen. Nach dem Verfestigen des Mediums wurden die Platten mit den jeweiligen Bakterienisolaten beimpft. Nach einwöchiger Inkubation bei 28 °C wurde der Bakterien Schleim von den Platten mit jeweils 5 ml ddH<sub>2</sub>O abgewaschen und das Inokulum zur künstlichen Infektion von Erdbeerpflanzen hergestellt. Die Bakteriendichte wurde dabei auf eine Konzentration von 10<sup>9</sup> CFU/ml eingestellt. Die Inokulation der Pflanzen im Gewächshaus erfolgte ca. drei bis vier Wochen nach der Pflanzung. Im ersten Versuchsjahr wurden unterschiedliche Inokulationsmethoden getestet. Hierbei wurden sämtliche Pflanzen sowohl durch Bepinseln der Blattunterseite mit Inokulum als auch durch Anschneiden mit einer Schere, die zuvor in Inokulum getaucht wurde, mit *X. fragariae* infiziert. Im zweiten und dritten Versuchsjahr wurden alle Pflanzen gleichmäßig an der Blattunterseite mit dem Inokulum besprüht. Für die Untersuchungen zur systemischen Ausbreitung wurde jeweils das jüngste vollständig entwickelte Blatt einer Pflanze auf der Blattunterseite mit Inokulum bepinselt, ohne dass dabei andere Pflanzenteile berührt wurden. Anschließend wurden in diesem Versuch die inokulierten Blätter markiert. Direkt im Anschluss an die Inokulation wurden die Tische im Gewächshaus mit Plastiktunneln abgedeckt und die Luftfeuchte durch Bewässerung angehoben. Die relativ hohen Tagestemperaturen von 25 °C wurden nachts stark abgesenkt, wodurch der entstehende Wurzeldruck zum Austritt kleiner Wassertröpfchen aus den Hydathoden an den Blatträndern (Guttation) führt. Diese Hydathoden dienen neben den Stomata als zusätzliche Einlasspforten für die Bakterien. Die Tunnel wurden nach einer Woche von den Tischen abgenommen, die Pflanzen unter Normalbedingungen im Gewächshaus weiter angezogen und in regelmäßigen Abständen evaluiert.



## **Evaluierung der Resistenz und statistische Auswertung**

Die Erfassung typischer Symptome der Eckigen Blattfleckenkrankheit erfolgte zu mehreren Zeitpunkten nach der Inokulation anhand einer Boniturskala von 1 bis 9. Diese Skala basiert auf dem prozentualen Anteil sichtbarer Symptome an der gesamten Blattfläche einer Pflanze. Hierbei entsprechen die Werte 1 bis 9 einem Befall von 0-0,5 %, 0,5-1 %, 1-2 %, 2-4 %, 4-8 %, 8-16 %, 16-32 %, 32-64 % und 64-100 %. Die Evaluierung der inokulierten Pflanzen erfolgte 21, 28, 35, 42, 62 und 112 Tage nach Inokulation. Die Versuche wurden als vollständig randomisierte Blockanlagen mit je drei Wiederholungen angelegt, wobei eine Wiederholung aus drei bis 10 Pflanzen (je nach Verfügbarkeit) eines Genotyps bestand. Die erfassten Boniturdaten wurden mit dem Statistikprogramm SAS Enterprise Guide 4.3 (SAS Institute, Cary, USA) ausgewertet. Die Varianzanalysen wurden mit der Prozedur ANOVA ( $\alpha=0.05$ ) berechnet und die Mittelwertvergleiche wurden als LSD-Test ( $\alpha=0.05$ ) sowie mit dem studentisierten Newman-Keuls (SNK) Test ( $\alpha=0.05$ ) durchgeführt. Korrelationen wurden mit der Prozedur CORR als Spearman's Rangkorrelationen  $r_s$  berechnet.

## **Probenaufbereitung und molekularbiologische Analysen mit nested-PCR**

Von den durch Bepinseln inokulierten Pflanzen wurden vor der Inokulation, sowie drei, sieben und 14 Tage nach der Inokulation Gewebeproben entnommen. Die Probennahme der unterschiedlichen Pflanzenteile erfolgte dabei unter sterilen Laborbedingungen. Alle verwendeten Werkzeuge, wie Scheren, Skalpelle, Pinzetten und Rasierklingen, wurden vor und nach dem Entnehmen einer jeden Probe mit 99-prozentigem Ethanol abgeflammt, um Kontaminationen zu verhindern. Von jeder Pflanze wurden 80 mg bis 90 mg pro ausgewähltem Pflanzenteil abgenommen, in 2 ml Eppendorf® Tubes überführt und anschließend in flüssigem Stickstoff schockgefrostet. Von dem jüngsten vollständig entfaltetem Blatt, welches i. d. R. frei von sichtbaren Symptomen war, wurde ein 1,0 bis 1,5 cm großes Stück aus der Blattmitte ausgeschnitten. Von diesem Blatt wurde gleichzeitig ein 1,0 bis 2,0 cm langes Stück des Blattstiels beprobt. In gleicher Weise wurden Proben von dem inokulierten Blatt genommen. Anschließend wurden die Pflanzen vollständig bis zur Herzknospe und zum Rhizom entblättert. Dabei sind Proben vom innersten Teil der Herzknospe und dem innersten Teil des Rhizoms präpariert worden. Die genomische DNA der entnommenen Pflanzenproben wurde mit Hilfe des DNeasy Plant mini Kit® isoliert, mit einem NanoDrop 2000c UV-Vis Spektrophotometer quantifiziert und für die weiteren Analysen auf eine Konzentration von 10 ng/ml eingestellt. Der molekularbiologische Nachweis von *X. fragariae* in den Proben wurde mit Hilfe des nested-PCR-Verfahrens nach Zimmermann et al. (2004) mit den Primern 245A, 245B, 245.5 und 245.267 durchgeführt. Die PCR-Reaktion wurde leicht modifiziert, indem eine Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase

verwendet wurde. Die Auftrennung der Amplifikate erfolgte durch Gelelektrophorese mit 1,5-%igem Agarose-Gel bei 120 V, zwei Stunden.

### **3.3. Durchführung von Testkreuzungen**

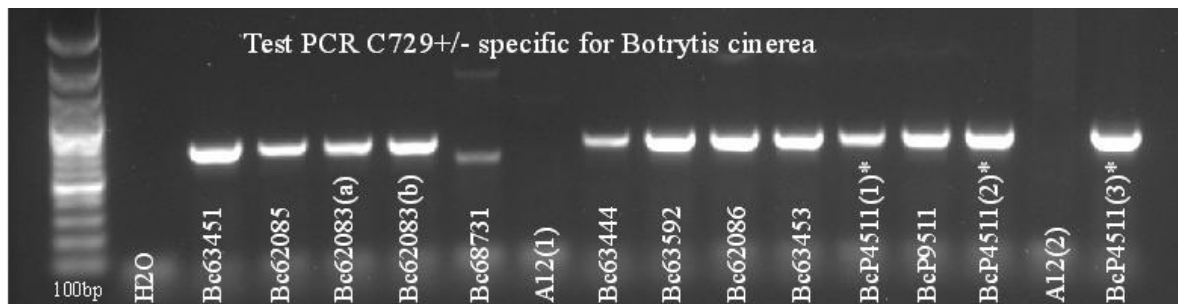
Um die Vererbung der Widerstandsfähigkeit zu untersuchen, erfolgten Testkreuzungen mit verschiedenen Erdbeersorten und Zuchtklonen. Dazu wurden die jeweiligen Elternpflanzen aus dem Versuchsfeldbestand durch Gewinnung von Ausläufern entnommen, im Gewächshaus getopft und angezogen. Nach einer Überwinterung im Sandbeet wurden zuerst die zur Pollengewinnung benötigten Kreuzungsväter im Januar in eine warme Gewächshauskabine überführt und zur Blüte angeregt. Die Staubbeutel sind mit einer feinen Pinzette von den Blüten abgenommen, in Glasschälchen getrocknet und bis zur Bestäubung aufbewahrt worden. Die Mutterpflanzen wurden ca. zwei Wochen später in eine warme Gewächshauskabine überführt und ebenfalls zur Blüte angeregt. Die Blüten der Mutterpflanzen sind kurz vor dem Blütenaufbruch geöffnet und kastriert worden, indem die Antheren jeder Blüte mittels einer Pinzette vollständig entfernt wurden. Anschließend wurden diese Blüten mit dem Pollen der ausgewählten Vaterpflanze mittels Pinsel bestäubt. Um die Bestäubung durch Fremdpollen zu verhindern, wurden die Mutterpflanzen mit Hauben abgedeckt. Von den so entstandenen Kreuzungsfrüchten wurde nach der Ernte die Epidermis mit den darauf befindlichen Nüsschen abgeschält und auf Filterpapier ausgestrichen, um anschließend die Samen absammeln zu können.

## **4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse**

### **4.1. Resistenztest gegenüber *Botrytis cinerea***

#### Aufbau einer Erregerstammsammlung und molekulare Charakterisierung der Isolate

Im Rahmen des Projektes wurden insgesamt 24 Pilzisolat kultiviert und in die Erregerstammsammlung des JKI überführt. Mit Hilfe durchgeführter PCR-Analysen konnten 23 dieser Isolate der Art *B. cinerea* zugeordnet werden. Lediglich das Isolat Bc68731 wurde der Art *B. pseudocinerea* zugeordnet. Abbildung 2 zeigt einen Ausschnitt aus diesen Untersuchungen.



**Abbildung 2: Nachweis von *B. cinerea* mit dem Primerpaar C729+/- durch Amplifikation einer spezifischen Bande bei 750bp. Mit „\*“ gekennzeichnete Isolate wurden für Inokulationsversuche verwendet.**

Anschließend wurden alle Isolate zur besseren Charakterisierung auf das Vorkommen von Fungizidresistenzen untersucht. Dabei zeigte es sich, dass das Isolat Bc68731 von *B. pseudocinerea* über eine Mehrfachresistenz (multi drug resistance) des Typs MDR1 verfügt. Diese vermittelt dem Isolat u. a. eine Resistenz gegenüber Fenhexamid. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das Isolat Bc63444 über eine Resistenz gegenüber Boscalid verfügt, während die Isolate Bc111, Bc112, Bc62084, Bc62086, Bc63451, Bc63453 und Bc63444 Resistenzen gegenüber Carbendazim besitzen. Damit stehen für die Untersuchungen zur Resistenz von Erdbeersorten gegenüber dem Erreger der Grauschimmelfäule insgesamt 23 verschiedene und molekulargenetisch charakterisierte Isolate des Erregers *B. cinerea* zur Verfügung.

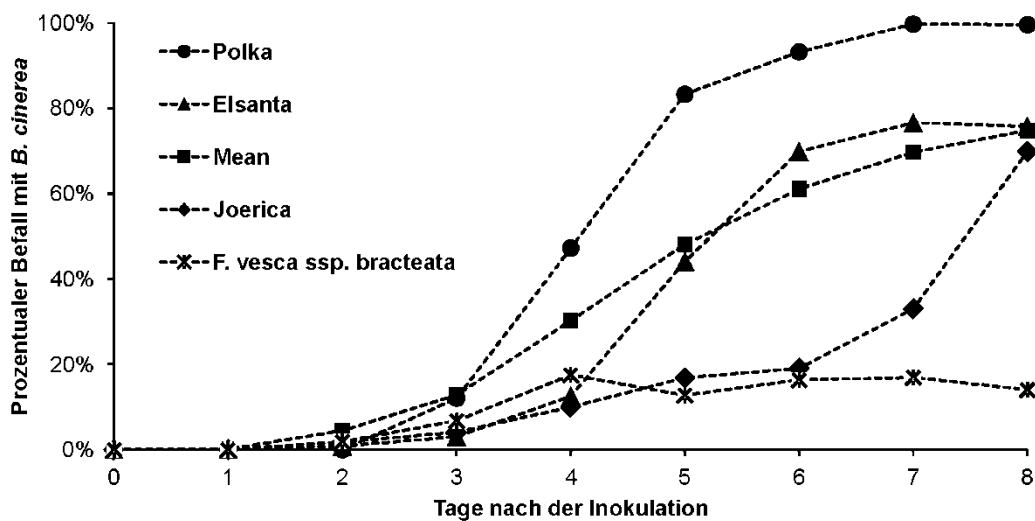
#### Ergebnisse des Virulenztests

Anschließend wurden die fünf Isolate Bc111, Bc62084, Bc63451, Bc68731 und Bc9G3 ausgewählt und deren Virulenz an den Sorten 'Darselect', 'Elsanta' und 'Senga Sengana' geprüft. Ziel war es, repräsentative Isolate aus verschiedenen Regionen Deutschlands zu prüfen, ob es zwischen ihnen und den ausgewählten Sorten eine spezifische Genotyp-Isolat-Interaktion gibt. Basierend auf den Ergebnissen dieses Tests sollten dann Isolate für die Durchführung der Resistenztests ausgewählt werden. Im Ergebnis dieses Virulenztests wurde festgestellt, dass es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Isolaten gibt. Auch eine Genotyp-Isolat-Interaktion konnte nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden. Aus diesem Grund wurden drei Isolate (Bc62084, Bc111 und Bc9G3) ausgewählt, welche dann im Gemisch für alle weiteren Inokulationsexperimente verwendet wurden.

#### Bestimmung des optimalen Zeitpunktes zur Bonitur der Krankheitssymptome

Unter den im Labor vorherrschenden Bedingungen konnten nach künstlicher Inokulation typische Krankheitssymptome detektiert werden. Diese traten bei einer Raumtemperatur von

20 °C bereits nach einem bis zwei Tagen auf. Innerhalb von sieben Tagen entwickelten sich die Symptome sehr rasch weiter und erreichten das Plateau mit vollständig befallenen Früchten bereits am Tag 8 nach der Inokulation. Dabei entwickelten sich die Symptome kreisförmig, ausgehend vom Ort der Inokulation. Die Geschwindigkeit des Infektionsverlaufes war dabei abhängig von der Anfälligkeit des jeweiligen Genotyps (**Abbildung 3**). Die größten Unterschiede zwischen den einzelnen Genotypen konnten am Tag 6 detektiert werden. Aus diesem Grund wurden alle weiteren Bonituren im Verlauf des Projektes zu diesem Zeitpunkt durchgeführt.



**Abbildung 3: Infektionsverlauf verschiedener Erdbeergenotypen nach Inokulation mit *B. cinerea***

#### Evaluierung genetischer Ressourcen auf Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea*

Im Verlauf der drei Projektjahre wurden insgesamt 107 Erdbeergenotypen im Hinblick auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* mittels künstlicher Inokulation von Früchten geprüft. Bei diesen 107 Genotypen handelt es sich um 11 Erdbeerbildartenakzessionen von *F. moschata*, *F. nilgerrensis*, *F. vesca*, *F. virginiana* und *F. viridis* sowie 96 Genotypen der Gartenerdbeere *F. × ananassa*. Unter den 96 Genotypen von *F. × ananassa* waren 14 Klone des Pillnitzer Erdbeersortenzüchtungsprogramms (gekennzeichnet mit einer P-Nummer, wie z. B. P5518) sowie 82 Sorten, unter denen sich sowohl moderne als auch historische Sorten befanden. Insgesamt 14 Genotypen wurden in jedem der drei Versuchsjahre evaluiert, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu prüfen. Bei diesen handelt es sich um die wirtschaftlich bedeutenden Sorten 'Arosa', 'Clery', 'Darselect', 'Elsanta', 'Florence', 'Galia' und 'Honeye', die traditionellen deutschen Sorten 'Mieze Schindler' und 'Senga Sengana' sowie die Züchtungsklone P7201, P8024, P8043, P8049 und P9042. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 1 zusammengefasst. In Folge des Elbehochwassers im Jahr

2013 standen einige Sorten zum Zeitpunkt kurz vor der Reife für ca. zwei Wochen unter Wasser. Damit konnten in diesem Jahr nicht alle Sorten wie geplant untersucht werden.

**Tabelle 1. Ergebnisse der Inokulation von Erdbeergenotypen mit *B. cinerea***

Untersucht wurden Genotypen der drei Typen: S – Sorte, P – Pillnitzer Züchtungsklon und W – Wildartenakzession. N ist die Anzahl Replikate je Genotyp, wobei ein Replikat aus sechs Früchten besteht. Angegeben sind die Mittelwerte, der Standardfehler (F) und die Signifikanz (S). Genotypen mit unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant unterschiedlich.

Nummer	Typ	Genotyp	N	Mittel	F	S
1	S	Königin Luise	6	1.00 ±	0.00	a
2	S	Marloun	4	1.00 ±	0.00	a
3	P	P8093	2	1.00 ±	0.00	a
4	P	P9017	2	1.00 ±	0.00	a
5	P	P5072	2	0.98 ±	0.02	a
6	W	<i>F. moschata</i> (Capron)	5	0.98 ±	0.01	ab
7	S	Avant Tout	2	0.98 ±	0.02	ab
8	S	Templar	2	0.97 ±	0.03	a-c
9	S	Späte Leopold	8	0.94 ±	0.04	a-d
10	S	Polka	4	0.93 ±	0.03	a-d
11	S	Prinz Julius Ernst	4	0.92 ±	0.04	a-d
12	S	Tufts	5	0.92 ±	0.04	a-d
13	S	Wunder von Köthen	2	0.91 ±	0.09	a-d
14	P	P6241	2	0.90 ±	0.10	a-d
15	S	Peltata	4	0.90 ±	0.06	a-e
16	S	Cambridge Late Pine	6	0.89 ±	0.07	a-f
17	S	Sweet Eve	3	0.89 ±	0.10	a-f
18	S	Hansa	3	0.88 ±	0.07	a-g
19	P	P7095	4	0.87 ±	0.03	a-h
20	S	Senga Sengana	8	0.87 ±	0.05	a-h
21	S	Mieze Schindler	8	0.86 ±	0.05	a-h
22	S	Yamaska	5	0.86 ±	0.07	a-i
23	S	Papa Lange	5	0.85 ±	0.05	a-i
24	P	P9016	6	0.85 ±	0.09	a-i
25	S	Panther	5	0.83 ±	0.09	a-i
26	P	P8024	7	0.82 ±	0.08	a-i
27	W	<i>F. moschata</i> (Franken)	14	0.82 ±	0.07	a-i
28	S	Solotaya	5	0.82 ±	0.08	a-i
29	W	<i>F. moschata</i> (cv. Marie Charlotte)	5	0.82 ±	0.04	a-i
30	S	Juline	6	0.81 ±	0.05	a-i
31	S	Elsanta	14	0.81 ±	0.06	a-i
32	S	Mara des Bois	7	0.80 ±	0.06	a-i
33	S	Cambridge Pricewinner	4	0.79 ±	0.06	a-i
34	S	Sturms Zuckersüße	5	0.79 ±	0.09	a-i
35	S	Benamil	4	0.78 ±	0.08	a-i
36	W	<i>F. moschata</i> (Bauwens)	10	0.78 ±	0.10	a-i
37	W	<i>F. vesca</i> (Illa Martin)	5	0.77 ±	0.09	a-i
38	S	Aroma	5	0.75 ±	0.12	a-i
39	S	Mainperle	5	0.75 ±	0.05	a-i
40	S	Duretta	3	0.74 ±	0.14	a-i
41	S	Everest	7	0.73 ±	0.07	a-i

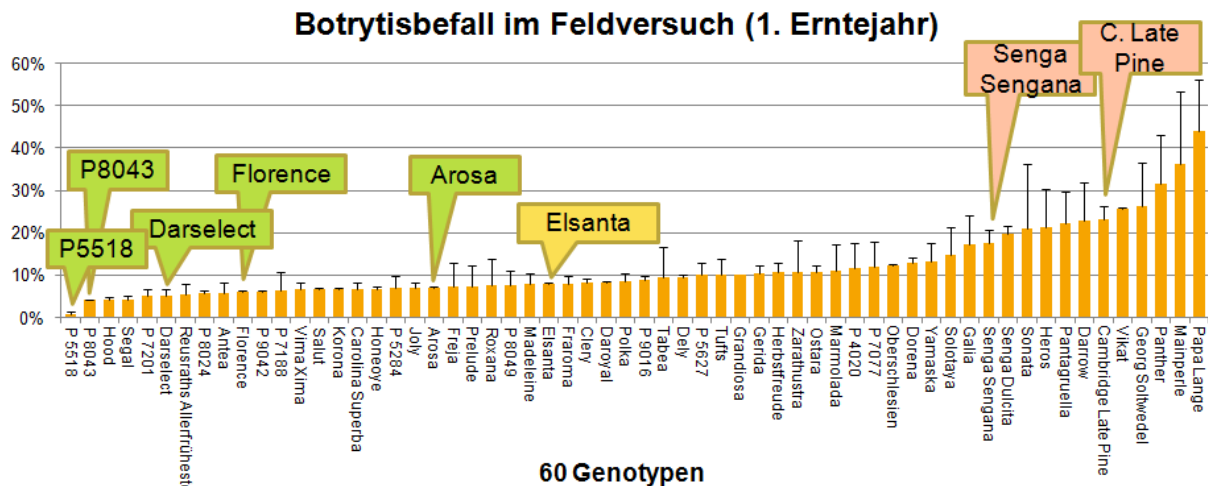
42	S	Red Coat	4	0.73 ±	0.00	a-i
43	S	Vikat	5	0.72 ±	0.02	a-i
44	S	Antea	6	0.71 ±	0.10	a-i
45	S	Senga Dulcita	3	0.71 ±	0.05	a-i
46	S	Honeoye	10	0.70 ±	0.07	a-i
47	S	Frabella	3	0.70 ±	0.11	a-i
48	S	Oberschlesien	5	0.69 ±	0.06	a-i
49	S	Arista	5	0.69 ±	0.15	a-i
50	S	Fructarina	4	0.68 ±	0.21	a-i
51	S	Pyretta	2	0.68 ±	0.05	a-i
52	S	Karla	4	0.66 ±	0.16	a-i
53	S	Rheingold	5	0.66 ±	0.07	a-i
54	S	Heidekind	3	0.65 ±	0.33	a-i
55	S	Georg Soltwedel	7	0.65 ±	0.13	a-i
56	S	Prelude	4	0.64 ±	0.10	a-i
57	S	Symphony	3	0.64 ±	0.25	a-i
58	P	P9036	2	0.64 ±	0.16	a-i
59	S	Joly	3	0.60 ±	0.20	a-i
60	P	P7077	5	0.60 ±	0.13	a-i
61	S	Clery	18	0.56 ±	0.08	a-i
62	P	P8049	7	0.56 ±	0.11	a-i
63	S	Charlotte	8	0.55 ±	0.08	a-i
64	S	Sentinel	3	0.54 ±	0.15	a-i
65	P	P7188	11	0.53 ±	0.09	a-i
66	S	Bella	2	0.52 ±	0.02	a-i
67	P	P7201	12	0.52 ±	0.08	a-i
68	S	Paula	2	0.50 ±	0.20	a-i
69	S	Dorena	6	0.50 ±	0.08	a-i
70	S	Alba	3	0.49 ±	0.25	a-i
71	S	Galia	9	0.48 ±	0.10	a-i
72	S	Eve's Delight	5	0.48 ±	0.15	a-i
73	S	Salsa	2	0.47 ±	0.12	a-i
74	S	Florence	16	0.47 ±	0.08	a-i
75	W	<i>F. nilgerrensis</i> (FRA078)	5	0.46 ±	0.10	a-i
76	S	Lambada	3	0.46 ±	0.04	a-i
77	W	<i>F. nilgerrensis</i> (Yunnan)	5	0.46 ±	0.07	a-i
78	S	Asia	4	0.45 ±	0.06	a-i
79	P	P8043	10	0.44 ±	0.09	a-i
80	S	Albion	3	0.44 ±	0.22	a-i
81	P	P8071	3	0.44 ±	0.20	a-i
82	S	Sieger	3	0.44 ±	0.14	a-i
83	S	Macherauchs Frühernte	2	0.44 ±	0.21	a-i
84	S	Roxana	5	0.42 ±	0.12	a-i
85	P	P9042	7	0.42 ±	0.08	a-i
86	S	Elianny	3	0.41 ±	0.08	a-i
87	S	Apetita	5	0.40 ±	0.11	a-i
88	S	Fraroma	4	0.40 ±	0.08	a-i
89	S	Malwina	6	0.40 ±	0.10	a-i
90	W	<i>F. vesca</i> f. alba	13	0.39 ±	0.09	a-i
91	S	Daroyal	4	0.39 ±	0.17	a-i
92	S	Darselect	13	0.38 ±	0.08	a-i
93	S	Dely	3	0.37 ±	0.09	a-i
94	W	<i>F. viridis</i> (Neddesitz)	5	0.37 ±	0.09	a-i
95	S	Viktoriana	8	0.36 ±	0.05	a-i
96	S	Reusraths Allerfrüheste	3	0.35 ±	0.12	a-i
97	S	Arosa	12	0.35 ±	0.08	a-i

98	S	Donna	7	0.33 ± 0.13	a-i
99	S	Figaro	7	0.29 ± 0.09	a-i
100	S	Crimson King	3	0.27 ± 0.07	b-i
101	S	Mrak	4	0.26 ± 0.03	c-i
102	S	Rosella	3	0.24 ± 0.03	d-i
103	S	Diana	8	0.19 ± 0.07	e-i
104	S	Joerica	7	0.19 ± 0.04	f-i
105	W	<i>F. virginiana</i> (Wildmare Creek)	5	0.17 ± 0.10	g-i
106	S	Kimberly	4	0.17 ± 0.07	hi
107	W	<i>F. vesca</i> ssp. <i>bracteata</i>	5	0.15 ± 0.08	i

Von den 107 getesteten Erdbeergenotypen waren die Sorten 'Königin Luise' und 'Marloun' sowie die Züchtungskclone P8093, P9017 und P5072 am anfälligsten. Diese Genotypen wurden alle in die Klasse der Hochanfälligen eingeordnet. Die Sorten 'Crimson King', 'Mrak', 'Rosella', 'Diana', 'Joerica', 'Kimberly' und die Wildartenakzessionen *F. virginiana* 'Wildmare Creek' sowie *F. vesca* ssp. *bracteata* zeigten signifikant weniger Symptome. Von insgesamt 107 Genotypen waren 47 der Klasse „hochanfällig“, 42 der Klasse „anfällig“ und 18 der Klasse „weniger anfällig“ zuzuordnen. Vollständig resistente Genotypen konnten nicht gefunden werden. Die Wildartenakzessionen *F. virginiana* 'Wildmare Creek' und *F. vesca* ssp. *bracteata* sowie die Sorten 'Diana', 'Joerica' und 'Kimberly' können jedoch als teilweise resistent betrachtet werden. Die Ergebnisse der 14 Genotypen, die in allen drei Jahren wiederholt untersucht wurden, zeigen eine lineare Korrelation von  $r = 0.55$  ( $P < 0.05$ ) zwischen Jahr 3 und Jahr 2 sowie  $r = 0.81$  ( $P < 0.05$ ) zwischen Jahr 2 und Jahr 1. Damit sollte eine hinreichende Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen den einzelnen Versuchsjahren gewährleistet sein. Schwierigkeiten bei der Beurteilung der Ergebnisse sind eher im mittleren Bereich zu erwarten, während hochanfällige sowie teilweise resistente und resistente Genotypen mit diesem Verfahren relativ sicher identifiziert werden können. Damit ist das entwickelte Verfahren als Schnelltest für die Selektion von widerstandsfähigen Genotypen im Rahmen eines praktischen Züchtungsprogramms sehr gut geeignet. Ob es auch für Untersuchungen zur Vererbung der Widerstandsfähigkeit sowie einer sich anschließenden QTL-Kartierung geeignet ist, muss noch weiter geprüft werden.

#### Ergebnisse der zum Vergleich durchgeführten Feldexperimente

In einem zweijährigen Feldversuch wurden insgesamt 60 Genotypen auf ihre Anfälligkeit gegenüber *B. cinerea* evaluiert. Die Ergebnisse des ersten Jahres dieser Untersuchungen sind in Abbildung 4 dargestellt.



**Abbildung 4. Prozentualer Befall von 60 Erdbeersorten und Zuchtklonen mit *B. cinerea*** Feldversuch unter Freilandbedingungen ohne Fungizide. Farblich Markiert: ausgewählte Sorten aus dem Inokulationsversuch 2011 zum Vergleich. Grün: die fünf widerstandsfähigsten Genotypen, Gelb: mittlerer Befall, Rot: sehr stark anfällig.

Die Ergebnisse des zweiten Versuchsjahres zeigten keine lineare Korrelation zu den Ergebnissen des ersten Versuchsjahres. Der Grund dafür wird in den extremen Witterungsbedingungen des zweiten Versuchsjahres gesehen. In diesem Jahr kam es in Dresden aufgrund von übermäßigen Niederschlägen zu einer Flutkatastrophe mit einer anschließenden Trockenperiode. Das Versuchsfeld war vom Hochwasser zumindest teilweise betroffen. In einigen Parzellen stand über wenigstens zwei Wochen das Grundwasser. Die Ergebnisse des ersten Versuchsjahres zeigen jedoch eine hinreichend gute Übereinstimmung für einige Anfälligkeitsklassen mit den Ergebnissen der künstlichen Inokulation. Auch diese Ergebnisse sprechen dafür, dass es mit Hilfe der künstlichen Inokulation möglich ist, hochanfällige sowie teilweise resistente und resistente Genotypen sicher zu identifizieren.

Insgesamt wurden im Rahmen des Projektes 195 Erdbeergenotypen (107 mittels künstlicher Inokulation, 2 x 14 als Wiederholung zur Prüfung der Vergleichbarkeit zwischen den Versuchsjahren, 60 im Feldversuch) auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* getestet.

#### Durchführung von Testkreuzungen

Im Rahmen des Projektes wurden bereits zahlreiche Testkreuzung in 2012 und 2013 durchgeführt, um die Vererbung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* zu untersuchen. Von diesen Testkreuzungen wurden bislang die Kombinationen 'Polka' x 'Arosa', 'Arosa' x 'Sonata', 'Arosa' x 'Daroyal' und 'Senga Sengana' x 'Florence' ausgesät.



Eine Bewertung dieser Populationen konnte bislang nicht erfolgen, da dieser Teil des Versuchsfeldes im Jahr 2013 sehr stark von den Folgen des Hochwassers betroffen war.

#### Zusammenfassung aller Ergebnisse

Alle Ergebnisse dieses Projektteils wurden in Form einer Publikation zusammengefasst und bei der Zeitschrift „Plant Pathology“ zur Veröffentlichung eingereicht. Eine Entscheidung über die Annahme des Manuskriptes zur Veröffentlichung steht noch aus.

#### **4.2. Resistenztest gegenüber *Xanthomonas fragariae***

##### Evaluierung verschiedener Techniken zur künstlichen Inokulation

Im ersten Versuchsjahr wurden verschiedene Methoden zur künstlichen Inokulation getestet. Dabei zeigte es sich, dass die besten Infektionsergebnisse nach einem Bestreichen der Blattunterseite mit Inokulum mittels Pinsel erreicht wurden. Weniger erfolgreich war das Anschneiden junger Blätter mit einer in Inokulum getauchten Schere. Durch das Anschneiden der Blätter kam es zur Bildung starker Nekrosen an den Schnittkanten. Dadurch war eine eindeutige Bewertung der eigentlichen Krankheitssymptome schwierig. Sehr gute Ergebnisse wurden auch mittels Sprühinokulation erzielt. Da dieses Verfahren am praktikabelsten für das Screening großer Pflanzenanzahlen erscheint, wurden im Folgenden alle Versuche mittels Sprühinokulation durchgeführt. Im ersten Versuchsjahr wurde der Krankheitsverlauf zu den Zeitpunkten 15, 21, 35 und 62 Tage nach Inokulation dokumentiert. Erste Symptome waren bereits zum Zeitpunkt 15 Tage nach Inokulation detektierbar. Zum Zeitpunkt 35 Tage nach Inokulation waren die Unterschiede zwischen den getesteten Genotypen am größten. Aus diesem Grund wurde dieser Zeitpunkt als idealer Zeitpunkt zur Bewertung der Anfälligkeit/Resistenz auch für die folgenden Experimente ausgewählt.

##### Evaluierung genetischer Ressourcen auf Widerstandsfähigkeit gegenüber *X. fragariae*

Innerhalb der drei Versuchsjahre wurden insgesamt 145 Genotypen im Hinblick auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *X. fragariae* bewertet. Basierend auf den Boniturergebnissen zum Zeitpunkt 35 Tage nach Inokulation wurden die Genotypen verschiedenen Klassen zugeordnet. Dabei wurden die sechs Genotypen US4808, US4809, *F. vesca* f. alba [FRA0185], *F. nilgerrensis* 'Yunnan' [FRA0080], *F. vesca* 'Illa Martin' [ERB0438] und *F. moschata* 'Bauwens' [FRA0048] als teilweise resistent eingestuft. Den stärksten Befall zeigten die Sorten 'Salsa', 'Korona', 'Asia', 'Evi2', 'Polka' und 'Berneck1'. Alle Ergebnisse aus diesen Untersuchungen sind in Tabelle 2 dargestellt.

**Tabelle 2. Ergebnisse der Inokulation von Erdbeergenotypen mit *X. fragariae***

Untersucht wurden Genotypen der drei Typen: S – Sorte, P – Pillnitzer Züchtungsklon und W – Wildartenakzession. N ist die Anzahl Experimente je Genotyp, wobei ein Experiment aus drei bis 10 Pflanzen bestand. Angegeben sind die Mittelwerte, der Standardabweichung (STD). Die Bewertung der Resistenz erfolgte von 1 (keine Symptome) bis 9 (vollständig nekrotische Blätter). R, teilweise resistent; MR, widerstandsfähig; S, anfällig; HS, hoch anfällig.

Nr.	Genotyp	Typ	Klasse	N	Mittel	Min	Max	STD
1	Adria	S	S	2	3.25	3.00	3.50	0.35
2	Alba	S	HS	2	5.14	4.78	5.50	0.51
3	Albion	S	MR	2	2.50	2.50	2.50	.
4	Anabelle	S	HS	2	4.60	3.75	5.44	1.20
5	Anita	S	HS	2	5.00	4.75	5.25	0.35
6	Antea	S	HS	2	4.88	4.75	5.00	0.18
7	Apetita	S	S	4	2.92	2.13	3.57	0.62
8	Arista	S	S	5	3.26	2.80	4.00	0.53
9	Aroma	S	S	4	3.03	2.00	3.80	0.76
10	Arosa	S	S	4	3.02	2.33	4.00	0.71
11	Asia	S	HS	2	5.68	5.25	6.11	0.61
12	Asiropa	S	S	1	3.33	3.33	3.33	.
13	Avant Tout	S	HS	2	4.60	3.86	5.33	1.04
14	Bella	S	S	5	2.56	2.00	3.00	0.52
15	Benamil	S	HS	4	3.55	3.00	4.50	0.72
16	Berneck 1	S	HS	2	6.17	6.00	6.33	0.24
17	Bäumchen	S	S	3	3.09	2.86	3.40	0.28
18	Cambride Pricewinner	S	MR	1	2.25	2.25	2.25	.
19	Cambridge Early	S	S	3	2.58	2.00	3.00	0.52
20	Cambrigde Late Pine	S	S	4	2.67	2.00	3.10	0.50
21	Carolina Superba	S	S	4	3.17	3.00	3.50	0.24
22	Charlotte	S	HS	2	5.43	4.71	6.14	1.01
23	Clery	S	MR	9	2.48	1.10	3.25	0.76
24	Cornelia Pötschke	S	S	3	2.59	2.50	2.71	0.11
25	Crimson King	S	S	4	2.70	2.40	2.89	0.21
26	Daroyal	S	HS	5	4.22	2.13	6.38	2.00
27	Darrow	S	MR	4	2.49	2.00	3.00	0.49
28	Darselect	S	HS	5	4.24	3.00	6.11	1.52
29	Dely	S	HS	1	1.00	1.00	1.00	.
30	Diana	S	S	5	2.89	1.86	4.86	1.23
31	Donna	S	S	5	3.19	1.75	5.67	1.63
32	Dorena	S	S	2	2.83	2.25	3.40	0.81
33	Duretta	S	S	4	3.06	2.33	4.33	0.95
34	Elianny	S	HS	2	4.67	4.33	5.00	0.47
35	Elsanta	S	S	9	3.10	1.00	6.25	2.01
36	Elsinore	S	HS	2	4.26	3.86	4.67	0.57
37	Everest	S	HS	2	5.07	4.80	5.33	0.38
38	Eve´s Delight	S	HS	2	4.50	4.33	4.67	0.24
39	Evi 2	S	HS	2	5.78	5.44	6.11	0.47
40	F. moschata "Bauwens"	W	R	4	1.51	1.00	1.88	0.37
41	F. moschata "Franken"	W	MR	4	2.07	1.40	2.63	0.51
42	F. nilgerrensis "Yunnan"	W	R	3	1.50	1.00	2.38	0.76
43	F. vesca "Illa Martin"	W	R	2	1.50	1.00	2.00	0.71

44	F. vesca f. alba	W	R	4	1.25	1.00	1.71	0.34
45	F. vesca ssp. Bracteata	W	MR	3	2.07	1.30	3.00	0.86
46	F. virginiana "Wildmare Creek"	W	MR	3	2.52	1.83	3.00	0.61
47	F. viridis "Neddesitz"	W	MR	3	1.95	1.71	2.13	0.21
48	Figaro	S	HS	2	4.26	4.14	4.38	0.16
49	Florence	S	S	9	2.61	1.29	6.50	1.67
50	Florin	S	HS	2	4.96	3.67	6.25	1.83
51	Frabella	S	S	7	2.70	2.00	3.67	0.56
52	Fraroma	S	MR	4	2.54	2.00	3.00	0.43
53	Freja	S	S	1	2.63	2.63	2.63	.
54	Fructana	S	MR	2	1.75	1.50	2.00	0.35
55	Fructarina	S	MR	4	2.02	1.13	2.60	0.68
56	Galia	S	S	6	3.33	2.50	5.40	1.09
57	Georg Soltwedel	S	MR	3	1.55	1.00	2.25	0.64
58	Gerida	S	S	4	2.68	1.67	3.60	0.80
59	Grandiosa	S	S	1	3.00	3.00	3.00	.
60	Hansa	S	S	1	2.64	2.64	2.64	.
61	Heidekind	S	MR	4	2.28	1.00	3.30	0.95
62	Herbstfreude	S	S	4	3.13	2.25	4.00	0.72
63	Heros	S	MR	4	2.35	1.00	3.40	1.08
64	Honeoye	S	S	9	2.83	1.40	6.22	1.59
65	Hood	S	S	4	2.65	2.25	3.00	0.31
66	Höltges Rheingauperle	S	MR	3	2.45	2.25	2.60	0.18
67	Joerica	S	S	7	2.60	1.88	3.00	0.41
68	Jogana	S	S	3	2.87	2.33	3.29	0.49
69	Joly	S	S	4	2.75	2.00	3.50	0.65
70	Juline	S	S	4	3.05	2.38	3.67	0.56
71	Karla	S	S	2	3.29	3.00	3.57	0.40
72	Kimberly	S	HS	2	5.33	4.80	5.86	0.75
73	Komet	S	S	3	2.69	2.40	3.00	0.30
74	Korona	S	HS	2	5.60	5.00	6.20	0.85
75	Königin Luise	S	S	4	2.56	1.63	3.00	0.63
76	Lambada	S	HS	2	5.00	5.00	5.00	0.00
77	Lina	S	S	3	3.20	2.75	3.44	0.39
78	Macherauchs Frühernte	S	S	4	2.56	1.80	3.20	0.65
79	Mainperle	S	MR	3	2.39	1.75	3.14	0.70
80	Malwina	S	HS	5	4.24	2.29	6.33	1.89
81	Mara des Bois	S	HS	2	5.36	5.22	5.50	0.20
82	Marloun	S	S	4	2.59	1.89	3.33	0.63
83	Marmion	S	MR	1	1.67	1.67	1.67	.
84	Mrak	S	HS	1	5.00	5.00	5.00	.
85	Oberschlesien	S	S	3	2.58	1.33	3.67	1.18
86	Orion	S	MR	2	2.50	2.00	3.00	0.71
87	Ostara	S	S	4	2.71	1.33	3.50	0.96
88	P-5072	P	S	1	2.93	2.93	2.93	.
89	P-5518	P	S	4	2.57	2.00	3.00	0.43
90	P-6241	P	HS	1	4.00	4.00	4.00	.
91	P-7077	P	S	1	3.14	3.14	3.14	.
92	P-7095	P	HS	1	4.00	4.00	4.00	.
93	P-7188	P	MR	4	2.46	1.14	4.10	1.39
94	P-7201	P	S	1	2.87	2.87	2.87	.
95	P-8024	P	S	4	3.10	2.70	3.60	0.37
96	P-8043	P	MR	1	2.33	2.33	2.33	.
97	P-8049	P	MR	4	2.34	1.50	3.44	0.90
98	P-8071	P	S	1	3.13	3.13	3.13	.

99 P-8093	P	S	1	3.40	3.40	3.40	.
100 P-9016	P	MR	1	2.36	2.36	2.36	.
101 P-9017	P	MR	1	2.50	2.50	2.50	.
102 P-9036	P	HS	1	4.22	4.22	4.22	.
103 P-9042	P	HS	4	3.68	3.00	5.00	0.90
104 Pantagruella	S	S	1	2.60	2.60	2.60	.
105 Panther	S	HS	3	4.25	2.67	5.75	1.54
106 Papa Lange	S	S	3	3.12	2.75	3.60	0.44
107 Paula	S	S	4	2.67	2.00	3.33	0.61
108 Peltata	S	S	1	3.00	3.00	3.00	.
109 Pocahontas	S	MR	4	2.37	1.75	3.44	0.75
110 Polka	S	HS	2	6.11	6.11	6.11	0.00
111 Prelude	S	MR	4	2.42	1.33	3.00	0.79
112 Pyretta	S	HS	1	3.70	3.70	3.70	.
113 Red Coat	S	MR	4	2.42	1.50	3.75	1.02
114 Reihngold	S	MR	3	2.09	1.40	2.88	0.74
115 Reusraths Allerfrüheste	S	HS	1	5.00	5.00	5.00	.
116 Rosella	S	S	1	3.20	3.20	3.20	.
117 Roter Regen	S	S	3	2.89	2.67	3.00	0.19
118 Roxana	S	MR	3	2.18	1.00	3.20	1.11
119 Rumba	S	HS	2	3.67	3.22	4.11	0.63
120 Salinas	S	MR	1	2.00	2.00	2.00	.
121 Salsa	S	HS	2	5.56	4.78	6.33	1.10
122 Salut	S	S	4	3.26	2.13	4.20	1.00
123 Segal	S	MR	4	2.17	1.25	3.33	0.97
124 Senga Dulcita	S	S	1	2.73	2.73	2.73	.
125 Senga Sengana	S	MR	4	2.43	2.20	3.00	0.38
126 Sentinel	S	MR	6	2.43	1.50	3.50	0.76
127 Sieger	S	S	4	2.77	2.00	3.44	0.68
128 Siletz	S	MR	2	2.00	2.00	2.00	0.00
129 Solotaya	S	S	3	2.64	1.75	3.67	0.97
130 Sonata	S	HS	2	4.15	3.75	4.56	0.57
131 Späte Leopold	S	MR	4	2.18	1.20	3.00	0.96
132 Sveva	S	HS	2	5.11	5.00	5.22	0.16
133 Sweet Eve	S	HS	2	4.20	2.40	6.00	2.55
134 Symphonie	S	HS	2	5.11	5.00	5.22	0.16
135 Tabea	S	MR	4	2.05	1.17	3.00	0.80
136 Templar	S	S	4	2.89	2.75	3.00	0.13
137 Tufts	S	MR	4	1.60	1.25	2.14	0.41
138 US 4808	P	R	3	1.04	1.00	1.13	0.07
139 US 4809	P	R	3	1.00	1.00	1.00	0.00
140 Vikat	S	S	1	3.00	3.00	3.00	.
141 Viktoriana	S	MR	4	2.08	1.00	3.00	0.83
142 Vima Xima	S	S	5	2.77	1.00	5.00	1.64
143 Wunder von Köthen	S	MR	4	2.53	1.63	3.38	0.80
144 Yamaska	S	HS	2	4.78	4.56	5.00	0.31
145 Zarathustra	S	HS	4	4.94	4.00	5.86	0.95

Zudem wurden 48 Genotypen in einem zweiten Versuchsjahr wiederholt untersucht. Die Evaluierungsergebnisse aus beiden Jahren zeigen eine signifikante mittlere lineare Korrelation von  $r_p=0.48$  ( $p < 0.05$ ). Damit ist gewährleistet, dass die gewählte Methodik Ergebnisse liefert, die auch zwischen verschiedenen Jahren hinreichend vergleichbar sind. Schwierigkeiten sind bei der exakten Beurteilung der Ergebnisse von Genotypen zu

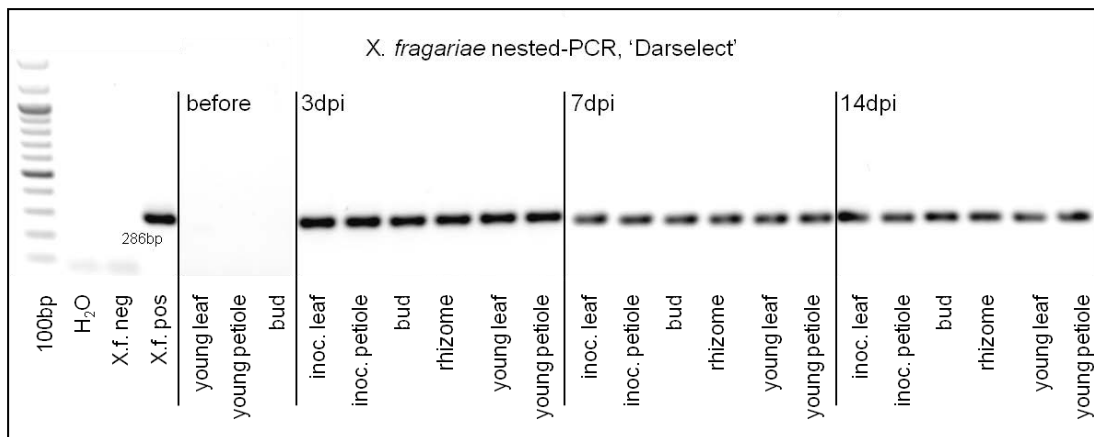
erwarten, deren Widerstandsfähigkeit eher im mittleren Bereich liegt. Diese Genotypen sind für eine weitere Resistenzzüchtung aber eher von untergeordnetem Interesse. Hochanfällige sowie teilweise resistente und resistente Genotypen können mit dieser Methodik hinreichend sicher identifiziert werden. Damit ist das Verfahren als Resistenztest für die Selektion von widerstandsfähigen Genotypen im Rahmen eines praktischen Züchtungsprogramms sehr gut geeignet.

#### Bonitur über einen längeren Zeitraum nach der künstlichen Inokulation

Im zweiten Versuchsjahr wurden 32 Genotypen über einen längeren Zeitraum nach der künstlichen Inokulation beobachtet. Dabei wurde die letzte Bonitur der Symptome zum Zeitpunkt 112 Tage nach Inokulation durchgeführt. Diese finale Bonitur zeigte eine bemerkenswerte Veränderung im Befallsverlauf. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich die Pflanzen visuell in einem unerwartet guten Zustand. Die anfangs inokulierten Blätter waren größtenteils abgestorben. Jüngere Blätter zeigten z. T. gar keine Symptome. Der mittlere Befall von Pflanzen mit Symptomen war zu diesem Zeitpunkt bei allen Genotypen sehr ähnlich. Unterschiede in der Stärke des Befalls waren zwischen den Genotypen kaum zu finden. Dem gegenüber konnten jedoch z. T. sehr deutliche Unterschiede in der Anzahl von Pflanzen pro Genotyp gefunden werden, die Symptome zeigten. Die einzigen beiden Genotypen, bei denen alle Pflanzen zum Zeitpunkt 112 Tage nach Inokulation ohne sichtbare Symptome waren, sind die Wildartenakzessionen *F. moschata* 'Bauwens' und *Fragaria vesca* f. *alba*.

#### Untersuchungen zur systemischen Ausbreitung von *X. fragariae* in Erdbeerpflanzen

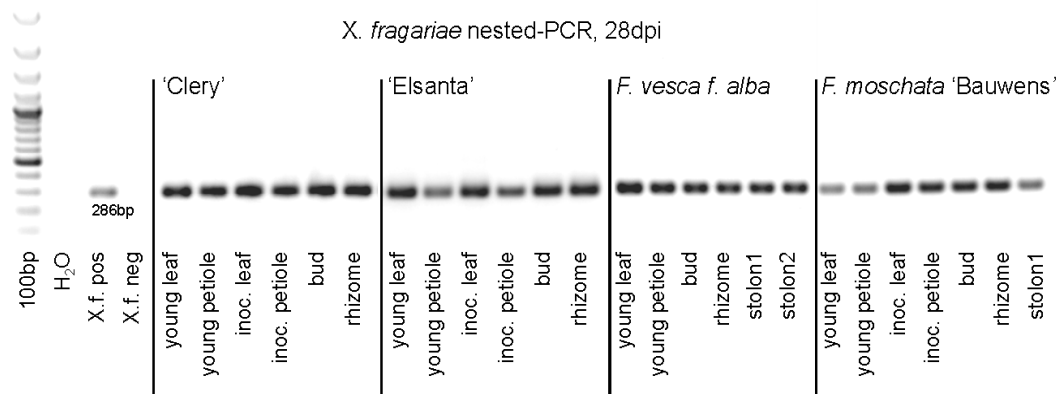
Die Untersuchungen zur systemischen Ausbreitung von *X. fragariae* Bakterien innerhalb der Pflanze wurden mit Hilfe einer nested-PCR durchgeführt. Dafür wurden Pflanzen inokuliert und von diesen zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Inokulation Gewebeproben von verschiedenen Pflanzenteilen entnommen. Von diesen Proben wurde die Gesamt-DNA isoliert und auf Anwesenheit von DNA von *X. fragariae* mittels PCR geprüft. Zum Zeitpunkt 3 Tage nach Inokulation konnten visuell noch keine Symptome an den Pflanzen beobachtet werden. Dennoch war es bereits zu diesem Zeitpunkt möglich, die Anwesenheit von *X. fragariae* mittels nested-PCR nachzuweisen. Dabei waren die Bakterien bereits vom inokulierten Blatt über den dazugehörigen Stängel, ins Rhizom, die Herzknospe und das jüngste vollentwickelte nicht inokulierte Blatt gewandert (Abbildung 5).



**Abbildung 5: Nachweis von *X. fragariae* in verschiedenen Geweben inokulierter Erdbeerpflanzen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Inokulation**

Dpi, days post-inoculation; 100bp, molekularer Größenstandard; H<sub>2</sub>O, Wasserkontrolle; X.f.-positive und X.f.-negative, infizierte und nicht infizierte Kontrollpflanzen

Um zu prüfen, ob die Ausbreitung der Bakterien in inokulierten Pflanzen von Genotypen mit unterschiedlich hoher Widerstandsfähigkeit unterschiedlich verläuft, wurden Pflanzen der Sorten 'Clery' und 'Elsanta' sowie der Wilderdbeerakzessionen *F. vesca* f. *alba* und *F. moschata* 'Bauwens' mit *X. fragariae* inokuliert. 28 Tage nach Inokulation wurden Proben aus verschiedenen Pflanzengeweben entnommen und mittels nested-PCR auf das Vorkommen von *X. fragariae* geprüft. Dabei konnten die Bakterien in allen Proben aller Genotypen zweifelsfrei nachgewiesen werden (Abbildung 6). Damit ist gezeigt, dass auch widerstandsfähige Genotypen, wie *F. vesca* f. *alba* und *F. moschata* 'Bauwens', von *X. fragariae* infiziert werden können und sich die Bakterien in diesen Pflanzen systemisch ausbreiten.



**Abbildung 6: Nachweis von *X. fragariae* in Gewebeteilen verschiedener Genotypen 28 Tage nach Inokulation**

Dpi, days post-inoculation; 100bp, molekularer Größenstandard; H<sub>2</sub>O, Wasserkontrolle; X.f.-positive und X.f.-negative, infizierte und nicht infizierte Kontrollpflanzen

#### Durchführung von Testkreuzungen

Im Rahmen des Projektes wurden bereits Testkreuzungen mit den beiden *X. fragariae* resistenten Genotypen US4808 und US4809 durchgeführt. Diese haben das Ziel, die Vererbung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *X. fragariae* näher zu untersuchen und neues Ausgangsmaterial für künftige Züchtungsarbeiten zu erstellen (Tabelle 3). Saatgut dieser Testkreuzungen wurde in 2013 ausgesät und die resultierenden Pflanzen ins Freiland gepflanzt. Diese wurden in 2014 erstmals anhand obstbaulicher Merkmale bonitiert.

**Tabelle 3. Kreuzungen zur Introgression von Resistenz gegenüber *X. fragariae***

Nr.	Mutter		Vater	Anzahl Sämlinge
13K1	US 4808	x	Clery	92
13K2	US 4808	x	Arosa	45
13K3	US 4808	x	Florence	167
13K4	US 4808	x	Darselect	126
13K13	US 4808	x	Malwina	112
13K5	US 4809	x	Clery	110
13K6	US 4809	x	Arosa	128
13K7	US 4809	x	Florence	163
13K8	US 4809	x	Darselect	155
13K14	US 4809	x	Malwina	116

## Zusammenfassung aller Ergebnisse

Alle Ergebnisse dieses Projektteils wurden in Form einer Publikation zusammengefasst und bei der Zeitschrift „Plant Pathology“ veröffentlicht.

## **5. Diskussion der Ergebnisse**

### **5.1. Resistenztest gegenüber *B. cinerea***

Zur Bewertung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* wurde ein standardisierter Resistenztest etabliert. Die Verwendung eines solchen Tests ermöglicht die Durchführung der Resistenzevaluierung an einer großen Stückzahl von Genotypen. Darüber hinaus liefert der Test reproduzierbare Ergebnisse. Für eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist es jedoch notwendig, dass die für eine Inokulation ausgewählten Früchte verschiedener Genotypen alle im gleichen Reifestadium geerntet werden. Der Grund dafür ist, dass es in Erdbeerfrüchten während der Reife zu starken metabolischen Veränderungen kommt (Halbwrith et al., 2006). Diese haben einen signifikanten Einfluss auf die Anfälligkeit gegenüber *B. cinerea*. So kommt es mit zunehmender Reife der Früchte zu einem Anstieg des Gehaltes an einfachen Zuckern, Anthocyanen und Aromastoffen. Gleichzeitig kommt es zum Abbau organischer Säuren und verschiedener phenolischer Substanzen (Nunes 2009). Gerade die in grünen Früchten vorkommenden 3', 4'-hydroxylierten Flavan 3-ole und die davon abgeleiteten Proanthocyanidine sind bekannt dafür, dass sie den Pilz an seiner Ausbreitung und weiteren Entwicklung hindern (Schlösser 1994). Der Anteil dieser Substanzen nimmt mit zunehmender Reife jedoch stark ab. Zusätzlich kommt es nach der Ernte schnell zu einer Reduktion der Zellwandstabilität (Koh and Melton 2002), was eine Infektion durch den Pilz noch erleichtert.

Mit Hilfe des entwickelten Testverfahrens wurden insgesamt 107 Genotypen der Erdbeergenbank des JKI auf Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* getestet. Dabei hat es sich gezeigt, dass die meisten Genotypen anfällig gegenüber der Grauschimmelfäule sind. Einige weniger stark anfällige Sorten, wie z. B. 'Joerica', 'Arosa', 'Florence' und 'Darselect', sind bereits im europäischen Erdbeeranbau etabliert. Widerstandsfähige bzw. resistente Sorten fehlen jedoch bislang. Die Züchtung von widerstandsfähigen Erdbeersorten stellt aus diesem Grund eine wichtige Alternative zum Einsatz großer Mengen an Fungiziden dar. Darüber hinaus ist gerade für *B. cinerea* bekannt, dass das Pathogen innerhalb kürzester Zeit Fungizidresistenzen ausbilden kann.

Basierend auf den Ergebnissen des Resistenztests könnten die teilweise resistenten Akzessionen von *F. vesca* ssp. *bracteata* einen möglichen Donor für die Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* in der Kulturerdbeere darstellen. Eine Introgression dieses Merkmals aus *F. vesca* ssp. *bracteata* in oktoploides Zuchtmaterial ist jedoch nur mittels interspezifischer Hybridisierung möglich. Solche Arbeiten sind prinzipiell



möglich. Dennoch sind sie sehr zeitaufwändig und ein möglicher Erfolg einer solchen Züchtungsstrategie ist zum derzeitigen Stand des Projektes nur schwer vorhersagbar. Aus diesem Grund erscheint es erst einmal sinnvoller, weitere Genotypen der Erdbeersortensammlung des JKI sowie oktoploide Wildartenakzessionen auf ihre Widerstandsfähigkeit zu testen. Damit besteht die Möglichkeit, u. U. besseres Ausgangsmaterial für künftige Züchtungsaktivitäten zu identifizieren.

## **5.2. Resistenztest gegenüber *X. fragariae***

Im Rahmen des Projektes wurden insgesamt 145 Erdbeergenotypen auf Widerstandsfähigkeit gegenüber der Eckigen Blattfleckenkrankheit untersucht. Da für die meisten dieser Genotypen noch keine Informationen zu deren Widerstandsfähigkeit gegenüber *X. fragariae* existierten, sind die erzielten Ergebnisse neu und von großem Wert für künftige Züchtungsarbeiten. Die durchgeführte Sprühinokulation führte zur Ausprägung von sehr starken Krankheitssymptomen in anfälligen Pflanzen, zu einem geringeren Auftreten von Symptomen in widerstandsfähigen Pflanzen und zur Abwesenheit bzw. sehr geringem Auftreten von Symptomen in teilweise resistenten Pflanzen. Die erzielten Ergebnisse scheinen mit den Ergebnissen anderer Studien vergleichbar zu sein, was zumindest für einige ausgewählte Beispiele, wie die Sorte 'Elsanta' und die beiden Zuchtklone US4808 und US4809, gezeigt werden konnte (vgl. Kastelein et al. 2013, Maas et al. 2002). Im Vergleich zu der bei Maas et al. (2000) und Xue et al. (2005) beschriebenen Inokulationsmethode mittels Spritze kann das hier verwendete Verfahren für Hochdurchsatzexperimente mit mehreren tausend Pflanzen angewandt werden. Der Vergleich von Ergebnissen an ausgewählten Sorten, welche wiederholt inokuliert wurden, zeigt, dass das Verfahren reproduzierbare Ergebnisse liefert.

Unter den bislang evaluierten Genotypen konnten noch keine gefunden werden, die vollständig resistent gegenüber *X. fragariae* sind. Keiner der untersuchten Genotypen zeigte klassische Resistenzreaktionen, wie z. B. das Auftreten von Hypersensitivität. Das Fehlen solcher Abwehrreaktionen und das Auftreten von Krankheitssymptomen in geringem Ausmaß deuten darauf hin, dass die im untersuchten Zuchtmaterial gefundene Widerstandsfähigkeit eher quantitativer Natur ist. Monogene Resistenzen scheinen aber in anderen *Fragaria* Arten, wie z. B. in *F. pentaphylla* Losinsk., vorzukommen. So ist in der Literatur die Akzession *F. pentaphylla* Losinsk. accession Pen-5 beschrieben, welche eine Hypersensitivitätsreaktion nach Inokulation mit *X. fragariae* induziert. Diese Akzession ist in der Sammlung des JKI vertreten und soll nun zur Introgression der Krankheitsresistenz in Zuchtmaterial verwendet werden. Dazu sind erste Arbeiten für den Winter 2014/2015 geplant.

Die Untersuchungen zur systemischen Ausbreitung von *X. fragariae* mittels nested-PCR haben gezeigt, dass die Bakterien sich innerhalb weniger Tage in symptomlosen Pflanzen ausbreiten können. Interessant war auch zu sehen, dass einige Genotypen, wie z. B. *F. vesca* f. *alba* und *F. moschata* 'Bauwens', eine Art ontogene Resistenz ausbilden. Während frisch inokulierte Blätter dieser Akzessionen Symptome zeigen, waren die ursprünglich inokulierten Blätter zum Zeitpunkt 112 Tage nach Inokulation abgefallen und alle anderen Blätter symptomlos. Bei anderen Genotypen, wie den Sorten 'Arosa' und 'Joerica', zeigten zu diesem Zeitpunkt auch die jüngeren, nicht inokulierten Blätter Symptome. Ein Nachweis der Bakterien mittels nested-PCR war jedoch in allen Geweben und unabhängig vom Genotyp möglich. Solche ontogenen Resistenzen sind auch für andere *Xanthomonas*-Arten, die andere Pflanzenarten befallen, beschrieben (Qi and Mew 1984). Für die Züchtung ist dieser Mechanismus jedoch nur bedingt nutzbar. Eine direkte Schädigung des aktuellen Bestandes ist beim Anbau von solchen Genotypen eher nicht zu erwarten, jedoch führt ihr Anbau zu einer Vermehrung und Verbreitung des Pathogens.

## **6. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse; Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse für die Praxis und Beratung**

### Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Das durchgeführte Vorhaben war im Bereich der angewandten Züchtungsforschung bei Erdbeeren angesiedelt. Die erzielten Ergebnisse sind deshalb vorrangig für die Züchtung neuer Erdbeersorten mit erhöhter Widerstandsfähigkeit gegenüber den beiden genannten Schaderregern von Nutzen. Da die Züchtung von neuen Sorten jedoch ein langwieriger, mehrere Jahre andauernder Prozess ist, ist eine direkte wirtschaftliche Verwertung der erzielten Ergebnisse nur in begrenztem Umfang möglich. Aus den Arbeiten zur Bewertung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* existieren nun umfassende Ergebnisse zu zahlreichen Sorten und Genotypen. Besonders die Informationen über die am Markt etablierten Sorten sind von direktem Nutzen für den Erwerbsobstbau. Die Methodik zur Evaluierung genetischer Ressourcen ist etabliert und kann im Rahmen haushaltfinanzierter Projekte routinemäßig angewandt werden, um weitere Genotypen im Hinblick auf dieses Merkmal zu bewerten. Erste Arbeiten dazu werden bereits in der laufenden Saison 2014 durchgeführt. Eine weitere finanzielle Unterstützung dieses Teils der Arbeiten scheint nicht zwingend notwendig. Alles in allem sind die Ergebnisse aus diesem Teil des Projektes jedoch sehr ernüchternd. Vollständig resistente Genotypen wurden bislang nicht gefunden und sind nach derzeitigem Kenntnisstand der Literatur bei Erdbeeren und anderen Kulturpflanzen eher nicht zu erwarten. Die in einigen Genotypen gefundene Widerstandsfähigkeit ist lediglich als partiell einzustufen. Inwieweit solche partiellen Widerstandsfähigkeiten von züchterischem Nutzen sind, bleibt daher fraglich.

Wesentlich vielversprechender sind die Ergebnisse aus dem zweiten Teil des Projektes. Hier existieren bereits heute einige Zuchtklone, welche aus Kreuzungen mit den beiden *X. fragariae* resistenten Genotypen US4808 und US4809 stammen. Welche von diesen Zuchtklonen die Resistenz gegenüber *X. fragariae* geerbt haben, muss nun im Folgenden geprüft werden. Anschließend sind noch mehrere Rückkreuzungsschritte mit den resistenten Zuchtklonen aus diesen Kreuzungen und am Markt etablierten Sorten notwendig, um die Fruchtqualität auf ein vermarktungsfähiges Niveau anzuheben. Aus kanadischen Arbeiten mit den beiden Zuchtklonen US4808 und US4809 ist bekannt, dass die notwendige Anzahl an Rückkreuzungen bei wenigstens 3 bis 4 liegt. Damit sind ein erster Züchtungserfolg und damit eine direkte Verwertung der Ergebnisse aus diesem Projektteil erst in einigen Jahren zu erwarten. Die Introgression solcher Resistenzen in hochwertiges Zuchtmaterial sowie die Etablierung moderner Selektionsverfahren zur Identifizierung resistenter Nachkommen im Rahmen großer Züchtungsprogramme sind sehr zeit-, arbeits- und kostenintensiv. Damit sind sie im Rahmen haushaltfinanzierter Projekte am JKI nur sehr bedingt realisierbar. Aus diesem Grund wäre die Durchführung solcher Arbeiten im Rahmen eines weiteren Drittmittelprojektes sicherlich zielführender. Über eine Weiterführung dieses Projektteils sollte vor dem Hintergrund der wachsenden Ausbreitung dieser Krankheit und den fehlenden Bekämpfungsmöglichkeiten im Anbau nachgedacht werden.

Direkt verwertet werden können aus diesem Projektteil die Informationen über Sorten, die sich bereits im Anbau befinden und welche im Rahmen des Projektes evaluiert wurden. Diese Informationen sind vor allem für den erwerbsmäßigen Erdbeeranbau von direktem Nutzen. Darüber hinaus liefern die Ergebnisse zur systemischen Ausbreitung von *X. fragariae* in infizierten Pflanzen wertvolle Informationen für Pflanzenvermehrungsbetriebe. Besonders die Tatsache der Verschleppung der Bakterien in visuell symptomlosen Pflanzen dürfte hier von besonderem Interesse sein.

#### Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten

Die wissenschaftlichen Erfolgsaussichten für die Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* werden als realistisch angesehen. Jedoch ist hier auf lange Sicht nur eine partielle Verbesserung zu erwarten. Wesentlich höher sind die Erfolgsaussichten bei der Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *X. fragariae* einzustufen. Hier sind zumindest oktaploide Zuchtklone (US4808 und US4809) mit Resistenz verfügbar, mit denen bereits erste Kreuzungen durchgeführt wurden. Ob sich die Bakterien auch in diesen Zuchtklonen systemisch ausbreiten können, ist bislang unklar. Zur Klärung dieser Frage sind weitere Experimente notwendig. Darüber hinaus existieren am JKI noch Akzessionen von *F. pentaphylla*, die in der Literatur als vollständig resistent gegenüber *F. fragariae* beschrieben sind. Diese Akzessionen zeigen nach Inokulation mit *X. fragariae*

Hypersensitivitätsreaktionen, die auf eine gezielte Abwehr der Pflanze hindeuten. Da *F. pentaphylla* tetraploid ist, ist eine Introgression dieser Resistenz in oktoploides Zuchtmaterial nur über aufwändige interspezifische Kreuzungsprogramme realisierbar. Eine Methodik zur effizienten Umsetzung dieses Vorhabens wurde am JKI bereits erarbeitet und könnte als Teilaufgabe künftiger Forschungsprojekte in Angriff genommen werden. Damit stünden der Erdbeerzüchtung künftig zwei unterschiedliche Resistenzmechanismen zur Verfügung. Diese könnten die Grundlage für zukünftige Arbeiten zur Pyramidisierung der Resistenzen darstellen. Die Schaffung dauerhaft resistenter Genotypen/Sorten wäre damit aus Sicht der heute verfügbaren wissenschaftlichen Erkenntnisse erreichbar.

#### Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Das Projekt ist im Bereich der Evaluierung genetischer Ressourcen sowie der Züchtungsforschung an Kulturpflanzen angesiedelt. Es hat sich schwerpunktmäßig mit zwei Fragestellungen beschäftigt. Bei der ersten Fragestellung ging es darum zu klären, ob es Genotypen gibt, die über eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* und/oder *X. fragariae* verfügen. Dafür wurden verfügbare genetische Ressourcen der Gattung *Fragaria* im Hinblick auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber beiden Erregern getestet. Die dabei erzielten Ergebnisse lassen nun erste Rückschlüsse über den möglichen Erfolg künftiger Züchtungsprogramme zu. Der zweite Teil des Projektes hat sich mit der Fragestellung beschäftigt, ob die identifizierten Genotypen für eine gezielte Züchtung geeignet sind. Dazu sollte geklärt werden, wie stabil diese Eigenschaft an Nachkommen weitergegeben wird und wie hoch der Anteil der zu erwartenden widerstandsfähigen Sämlinge in der Nachkommenschaft sein wird. Dieser Teil konnte bislang nicht hinreichend geklärt werden. Testkreuzungen wurden für beide Erreger durchgeführt. Eine Bewertung des Materials konnte bei *B. cinerea* aufgrund des Hochwassers in 2013 nicht durchgeführt werden. Bei *X. fragariae* läuft die Bewertung der Nachkommen dieser ersten Kreuzungen derzeit. Die Ergebnisse dieser Testkreuzungen sollen dann genutzt werden, um ausgewählte Genotypen gezielt zu kombinieren und neue Sorten zu schaffen, die besser an die Bedingungen des ökologischen Anbaus angepasst sind.

Die Ergebnisse des Projektes leisten einen wichtigen Beitrag im Rahmen der Züchtungsforschung bei Beerenobst. Sie tragen wesentlich zum Gelingen des Gesamtvorhabens der Züchtung neuer Erdbeersorten für den deutschen Erwerbsobstbau bei. Dieses Gesamtvorhaben wird seit Jahren am JKI in Dresden in enger Kooperation mit kompetenten nationalen und internationalen Partnereinrichtungen durchgeführt. Die erzielten Ergebnisse lassen sich folgendermaßen einstufen:

- Die Ergebnisse aus der Evaluierung von Zuchtklonen und Sorten machen es möglich, in dem bereits verfügbaren Sortenspektrum solche Sorten zu identifizieren, die

besser an die Bedürfnisse des ökologischen Anbaus angepasst sind. Damit ist eine Verbesserung der Situation im Anbau mittelfristig zu erwarten.

- Die Ergebnisse aus den Testkreuzungen werden zu weiteren Erkenntnissen führen, welche einen Rückschluss über den Erfolg künftiger Züchtungsaktivitäten zulassen. Damit können Zuchtprogramme effektiver gestaltet werden, wodurch sich die Erfolgchancen bei der Züchtung neuer Sorten für den deutschen Erwerbsobstbau erhöhen.

## 7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

### Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Im Folgenden werden in tabellarischer Übersicht die geplanten und tatsächlich realisierten Ziele für die Jahre 2011, 2012, 2013 und 2014 gegenübergestellt.

<u>Ursprüngliche Planung</u>	<u>Durchführung</u>
<p>Januar bis April 2011</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anzucht von Pflanzen für <i>Xanthomonas</i>-Resistenztest und <i>Botrytis</i>-Resistenztest (P1/ P2)</li> <li>• Entwicklung einer <i>Botrytis</i>-Stammsammlung (fortlaufend) (P1)</li> </ul> <p>Mai bis Juni 2011</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluierung der Pflanzen im Feld auf obstbaulich wichtige Merkmale: (P1/P2) Reifezeit, Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit, Gesundheit Laub/ Frucht, Ertrag.</li> <li>• Inokulation ausgewählter Blätter und Früchte mit <i>Botrytis</i>: Test der Widerstandsfähigkeit unter künstl. Infektionsbedingungen (P1)</li> <li>• Durchführung des <i>Xanthomonas</i>-Resistenztests (P3)</li> <li>• Zusammenfassen und auswerten der Ergebnisse (P1/P3)</li> </ul>	<p>Januar bis April 2011 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Projektbeginn: 01.04.2011</li> <li>• Anzucht von Pflanzen für <i>Botrytis</i>-Resistenztest, Bestellung von Pflanzen (Frigo) für <i>Xanthomonas</i>-Resistenztest.</li> <li>• Entwicklung einer <i>Botrytis</i>-Stammsammlung (fortlaufend) (P1)</li> </ul> <p>Mai bis Juni 2011 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluierung der Pflanzen im Feld auf obstbaulich wichtige Merkmale: (P1/P2) Reifezeit, Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit, Gesundheit Laub/ Frucht, Ertrag.</li> <li>• Inokulation ausgewählter Früchte mit <i>Botrytis</i>: Test der Widerstandsfähigkeit unter künstl. Infektionsbedingungen (P1)</li> <li>• Zusammenfassen und auswerten der Ergebnisse (P1/P3) → siehe Veröffentlichungen, Poster und Paper EUCARPIA</li> </ul>

<p>Juli bis August 2011</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vermehrung von Pflanzenmaterial (P1)</li> <li>• Pflanzung des Mutterbeets und des Feldbestandes (P1)</li> </ul> <p>September bis Dezember 2011</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Durchführung des Xanthomonas-Resistenztests (P3)</li> <li>• Zusammenfassung und Auswertung der Ergebnisse (P1/P3)</li> <li>• Herstellung neuer Frigopflanzen für Testungen im Winter/ Frühjahr 2012 (P1)</li> <li>• Elternpflanzen für Testkreuzungen bereitstellen (P1)</li> </ul> <p>Januar bis April 2012</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anzucht von Pflanzen für <i>Xanthomonas</i>-Resistenztest und <i>Botrytis</i>-Resistenztest aus eigenen Frigopflanzen (P1/P2)</li> <li>• Durchführung des <i>Xanthomonas</i>-Resistenztests (P3)</li> <li>• Auswerten und zusammenfassen der Ergebnisse (P1/P3)</li> <li>• Durchführen erster Testkreuzungen (P1)</li> </ul> <p>Mai bis Juni 2012</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluierung der Pflanzen im Feld auf obstbaulich wichtige Merkmale: (P1/P2) Reifezeit, Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit, Gesundheit Laub/ Frucht, Ertrag.</li> <li>• Inokulation ausgewählter Blätter und Früchte mit <i>Botrytis</i>: Test der</li> </ul>	<p>Juli bis August 2011 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Durchführung des Xanthomonas-Resistenztests (P3)</li> <li>• Vermehrung von Pflanzenmaterial (P1)</li> <li>• Pflanzung des Mutterbeets und des Feldbestandes (P1)</li> </ul> <p>September bis Dezember 2011 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zusammenfassung und Auswertung der Ergebnisse (P1/P3)→ siehe Veröffentlichungen, Vortrag und Paper ECOFRUIT</li> <li>• Herstellung neuer Frigopflanzen für Testungen im Winter/ Frühjahr 2012 (P1)</li> <li>• Elternpflanzen für Testkreuzungen bereitstellen (P1)</li> </ul> <p>Januar bis April 2012 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Weiterentwicklung der <i>Botrytis</i>-Stammsammlung (fortlaufend) (P1)</li> <li>• Anzucht von Pflanzen für <i>Xanthomonas</i>-Resistenztest und <i>Botrytis</i>-Resistenztest aus eigenen Frigopflanzen (P1/P2)</li> <li>• Durchführen erster Testkreuzungen (P1)</li> <li>• Aussaat der Nachkommen aus den Testkreuzungen und Anzucht für Feldversuch (P1)</li> </ul> <p>Mai bis Juni 2012 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluierung der Pflanzen im Feld auf obstbaulich wichtige Merkmale: Reifezeit, Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit, Gesundheit Laub/ Frucht, Ertrag</li> <li>• Inokulation ausgewählter Früchte mit <i>Botrytis</i>: Test der Widerstandsfähigkeit</li> </ul>
--	--

<p>Widerstandsfähigkeit unter künstl. Infektionsbedingungen (P1)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Weiterentwicklung der <i>Botrytis</i>-Stammsammlung (fortlaufend) (P1)</li> </ul> <p>Juli bis August 2012</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aussaat der Nachkommen aus den Testkreuzungen und Anzucht für Feldversuch (P1)</li> <li>• Gewinnung von Ausläufern aus Feldbestand (P1) und Kastenanlage der Genbank Obst (P2)</li> <li>• Pflanzung eines neuen Mutterbeets und Ausbau des Feldbestandes (P1)</li> </ul> <p>September bis Dezember 2012</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Durchführung des <i>Xanthomonas</i>-Resistenztests (P3)</li> <li>• Zusammenfassung und Auswertung der Ergebnisse (P1/P3)</li> <li>• Herstellung neuer Frigopflanzen für Testungen im Winter/ Frühjahr 2013 (P1)</li> <li>• Elternpflanzen für Testkreuzungen (P1)</li> </ul> <p>Januar bis April 2013</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anzucht von Pflanzen für <i>Xanthomonas</i>-Resistenztest und <i>Botrytis</i>-Resistenztest aus eigenen Frigopflanzen (P1/P2)</li> <li>• Durchführung des <i>Xanthomonas</i>-Resistenztests (P3)</li> <li>• Auswerten und zusammenfassen der Ergebnisse (P1/P3)</li> <li>• Durchführen von Testkreuzungen (P1)</li> </ul> <p>Mai bis Juni 2013</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluierung der im Feldversuch</li> </ul>	<p>unter künstl. Infektionsbedingungen</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Widerstandsfähigkeit geg. <i>B.cinerea</i> in separatem Feldversuch evaluiert</li> <li>• Weiterentwicklung der <i>Botrytis</i>-Stammsammlung (fortlaufend)</li> </ul> <p>Juli bis August 2012 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aussaat der Nachkommen aus den Testkreuzungen und Anzucht für Feldversuch</li> <li>• Gewinnung von Ausläufern aus Feldbestand und Kastenanlage der Genbank Obst</li> <li>• Pflanzung eines neuen Mutterbeets und Ausbau des Feldbestandes</li> </ul> <p>September bis Dezember 2012 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Durchführung des <i>Xanthomonas</i>-Resistenztests</li> <li>• Zusammenfassung und Auswertung der Ergebnisse</li> <li>• Herstellung neuer Frigopflanzen für Testungen im Winter/ Frühjahr 2013</li> <li>• Elternpflanzen für Testkreuzungen</li> </ul> <p>Januar bis April 2013 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Analyse der DNA-Proben zur systemischen Ausbreitung von <i>X. fragariae</i></li> <li>• Auswerten und zusammenfassen der Ergebnisse (P1/P3)</li> <li>• Durchführen von Testkreuzungen (P1)</li> </ul> <p>Mai bis Juni 2013 ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluierung der Pflanzen im Feld auf</li> </ul>
--	--

<p>stehenden Pflanzen im Hinblick auf obstbaulich wichtige Merkmale: (P1/P2) Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit, Gesundheit des Laubes und der Frucht</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Inokulation von Früchten ausgewählter Genotypen mit <i>Botrytis</i> (P1)</li> <li>• Weiterführung der Arbeiten an der <i>Botrytis</i>-Stammsammlung (P1)</li> </ul> <p>Juli bis August</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vermehrung von Pflanzen für den Resistenztest gegenüber <i>X. fragariae</i> (P1)</li> </ul> <p>September bis Dezember</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Durchführung des <i>Xanthomonas</i>-Resistenztests (P3)</li> <li>• Publikation aller im Projekt erhaltenen Ergebnisse in einer international anerkannten Fachzeitschrift (P1/P2/P3)</li> <li>• Erstellung des Abschlussberichtes (P1/P2/P3)</li> <li>• Publikation der wichtigsten Ergebnisse in einer deutschsprachigen Fachzeitschrift (P1)</li> </ul>	<p>obstbaulich wichtige Merkmale: Reifezeit, Fruchtgröße, Fruchtfarbe, Fruchtfestigkeit, Gesundheit Laub/ Frucht, Ertrag</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Inokulation ausgewählter Früchte mit <i>Botrytis</i>: Test der Widerstandsfähigkeit unter künstl. Infektionsbedingungen</li> <li>• Widerstandsfähigkeit gegenüber <i>B. cinerea</i> in separatem Feldversuch evaluiert (Ergebnisse wenig aussagekräftig wegen Hochwasser)</li> <li>• Weiterentwicklung der <i>Botrytis</i>-Stammsammlung (fortlaufend)</li> </ul> <p>Juli bis August ✓</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pflanzen für den <i>X. fragariae</i> Resistenztest wurden vermehrt (P1)</li> </ul> <p>September bis Dezember ✓ (Verschiebung bis März 2014 aufgrund verspäteten Projektbeginns)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Xanthomonas</i>-Resistenztests durchgeführt (P3)</li> <li>• Alle im Projekt erhaltenen Ergebnisse zu <i>Botrytis</i> zur Publikation bei der Fachzeitschrift Plant Pathology eingereicht (P1/P2/P3)</li> <li>• Alle im Projekt erhaltenen Ergebnisse zu <i>Xanthomonas</i> in Plant Pathology veröffentlicht (P1/P2/P3)</li> <li>• Abschlussbericht erstellt (P1/P2/P3)</li> <li>• Wichtigsten Ergebnisse in der Zeitschrift Obstbau publiziert (P1)</li> </ul>
--	---



### Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Die Arbeiten zur Evaluierung weiterer genetischer Ressourcen auf Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* werden am JKI fortgeführt. Das schließt auch eine erste Untersuchung der erstellten Nachkommenschaften ein. Ob und in welchem Umfang dieser Teil des Projektes künftig weitergeführt wird, hängt vom Auffinden neuer Ressourcen für Resistenz und der Weitergabe dieses Merkmals an die Nachkommen ab. Bislang ist ein möglicher Erfolg aus diesen Arbeiten nur sehr schwer abschätzbar. Eine vollständige Resistenz neuer Sorten gegenüber *B. cinerea* ist eher nicht zu erwarten, eine partielle Verbesserung der allgemeinen Widerstandsfähigkeit scheint jedoch möglich.

Wesentlich vielversprechender sind die Arbeiten zur Verbesserung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *X. fragariae*. Hier konnten bereits erste Genotypen mit sehr hoher Widerstandsfähigkeit detektiert werden. Darüber hinaus existieren resistente Zuchtklone und Wildartenakzessionen auf unterschiedlichen Ploidiestufen. Mit einigen von Ihnen wurden bereits erste Kreuzungen durchgeführt. Mit anderen Genotypen sind Kreuzungen für den Winter 2014/2015 geplant. Eine zielgerichtete Weiterführung dieser Arbeiten sollte in den vier nachfolgend beschriebenen thematischen Schwerpunkten erfolgen.

#### *Schwerpunkt 1: Introgression der Resistenz aus den Zuchtklonen US4808 und US4809*

In diesem Schwerpunkt soll die Resistenz der beiden Zuchtklone in hochwertiges Zuchtmaterial überführt werden. Dazu müssen resistente Nachkommen aus den bereits vorhandenen Kreuzungsnachkommenschaften selektiert werden (Herbst 2014). Anschließend könnten mit den resistenten Nachkommen im Winter 2014/2015 erste Rückkreuzungen durchgeführt werden. Diese Pflanzen würden in 2015 gepflanzt und in 2016 im Hinblick auf Fruchtqualitätsparameter und Resistenz bewertet. In 2017 könnte bereits eine zweite Rückkreuzung erfolgen. Mit den aus diesen Kreuzungen stammenden resistenten Nachkommen könnte in 2019 die dritte Rückkreuzung erfolgen. Nach drei Rückkreuzungsgenerationen ist zu erwarten, dass die Fruchtqualität bereits ein recht gutes Niveau erreicht hat. Damit wäre in 2020 eine Einführung von qualitativ hochwertigem, resistentem Zuchtmaterial in Sortenzüchtungsprogramme möglich.

### *Schwerpunkt 2: Introgression der Resistenz aus *F. pentaphylla* Pen-5*

Die Introgression der Resistenz aus Pen-5 ist mit Hilfe eines Dreiwegekreuzungsprogramms durch interspezifische Hybridisierung denkbar. Hierzu könnten im Winter 2014/2015 erste Kreuzungen zwischen Pen-5 (tetraploid) und oktoploiden Kreuzungspartnern (*F. × ananassa*, *F. virginiana*, *F. chiloensis*) erfolgen. In der Nachkommenschaft ist ein Anteil hexaploider Genotypen zu erwarten. Diese hexaploiden Genotypen könnten mittels Durchflusszytometrie identifiziert und anschließend auf Fertilität und Resistenz getestet werden. In 2017 könnte mit den selektierten hexaploiden Genotypen ein zweiter Kreuzungsschritt mit dekaploiden Erdbeeren (*F. × vescana*) erfolgen. In der Nachkommenschaft einer solchen Kreuzung ist ein Anteil oktoploider Genotypen zu erwarten. Diese könnten dann mittels Durchflusszytometrie identifiziert und anschließend auf Fertilität und Resistenz getestet werden. Damit würde in 2019 erstmals resistentes oktoploides Zuchtmaterial für Sortenzüchtungsprogramme zur Verfügung stehen.

### *Schwerpunkt 3: Untersuchungen zur systemischen Ausbreitung in resistenten Pflanzen*

Um das Risiko einer ungewollten Vermehrung und Ausbreitung des Pathogens in symptomlosen, widerstandsfähigen (resistenten) Pflanzen künftig zu minimieren, sollten vor allem resistente und widerstandsfähige Genotypen (US4808, US4809, Pen-5 usw.) im Hinblick auf eine systemische Ausbreitung des Pathogens untersucht werden. Solche Untersuchungen sind vor allem für Pflanzenvermehrungsbetriebe von großer Bedeutung. Die Vermeidung einer ungewollten Ausbreitung ist ein erster und sehr bedeutender Schritt zur Verbesserung der Nachhaltigkeit künftiger Anbaustrategien.

### *Schwerpunkt 4: Evaluierung weiterer Genotypen zum Auffinden neuer Resistenzen*

Die Arbeiten zum Auffinden weiterer Resistenzdonoren sollten in jedem Fall weitergeführt werden. Dabei sollte sich zuerst auf oktoploide Akzessionen (Sorten und Wildartenakzessionen) konzentriert werden, da hier eine Einführung der Resistenz in die praktische Sortenzüchtung wesentlich einfacher erscheint. Ausreichend Material für solche Untersuchungen ist in der Obstgenbank des JKI sowie im Erdbeernetzwerk der Deutschen Genbank Obst vorhanden.

## **8. Zusammenfassung**

Im Rahmen des Projektes wurden 24 verschiedene Pilzisolat kultiviert und in die Erregerstammsammlung des JKI überführt. Von diesen konnten 23 Isolate der Art *B. cinerea* und eins der Art *B. pseudocinerea* zugeordnet werden. Fünf Isolate wurden ausgewählt und deren Virulenz an einer Auswahl von Erdbeersorten geprüft. Eine Genotyp-Isolat-Interaktion konnte dabei nicht nachgewiesen werden. Drei Isolate wurden ausgewählt und im Gemisch

für alle Inokulationsexperimente verwendet. Mit diesen Isolaten wurden im Verlauf der drei Projektjahre insgesamt 107 Erdbeergenotypen auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *B. cinerea* geprüft. 14 Genotypen wurden in jedem der drei Versuchsjahre geprüft. Die Ergebnisse dieser 14 Genotypen zeigen eine hinreichende Vergleichbarkeit zwischen den Versuchsjahren. Am anfälligsten gegenüber *B. cinerea* waren die Sorten 'Königin Luise' und 'Marloun' sowie drei Pillnitzer Züchtungsklone. Am widerstandsfähigsten waren die Wildartenakzessionen *F. virginiana* 'Wildmare Creek' und *F. vesca* ssp. *bracteata* sowie die Sorten 'Diana', 'Joerica' und 'Kimberly'. Diese wurden als teilweise resistent bewertet. Parallel zur künstlichen Inokulation wurde ein Feldversuch mit 60 Genotypen durchgeführt. Diese wurden über zwei Jahre im Hinblick auf ihre Anfälligkeit gegenüber *B. cinerea* untersucht.

Für die Bewertung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *X. fragariae* wurden verschiedene Methoden zur Inokulation getestet. Im Ergebnis dieser Versuche wurden alle weiteren Experimente mittels Sprühinokulation durchgeführt. Mit diesem Verfahren wurde im Verlauf des Projektes die Widerstandsfähigkeit von insgesamt 145 Genotypen geprüft. Die Genotypen US4808, US4809, *F. vesca* f. *alba* [FRA0185], *F. nilgerrensis* 'Yunnan' [FRA0080], *F. vesca* 'Illa Martin' [ERB0438] und *F. moschata* 'Bauwens' [FRA0048] waren dabei am wenigsten anfällig. Am meisten anfällig waren die Sorten 'Salsa', 'Korona', 'Asia', 'Evi2', 'Polka' und 'Berneck1'. 48 Genotypen wurden in einem zweiten Versuchsjahr wiederholt geprüft. Die Ergebnisse beider Jahre zeigen eine hinreichende Vergleichbarkeit. Bei einigen Genotypen konnten erste Hinweise für das Auftreten einer ontogenen Resistenz gefunden werden. Darüber hinaus wurden Untersuchungen zur systemischen Ausbreitung der Bakterien innerhalb der Pflanze durchgeführt.

## 9. Literaturverzeichnis

- Andersen ØM, Fossen T, Torskangerpoll K, Fossen A, Hauge U (2004) Anthocyanin from strawberry (*Fragaria ananassa*) with the novel aglycone 5-carboxypyranopelargonidin. *Phytochemistry* 65, 405-410
- Barritt BH (1980) Resistance of strawberry clones to *Botrytis* fruit rot. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 105, 160-164
- Billen W (1995) Die Eckige Blattfleckenkrankheit. Eine Neue Gefahr für den Erdbeeranbau? *Obstbau* 20, 74-75
- Bultreys A, Robbe A, van Schingen JC (2000) Detection de *Xanthomonas fragariae* en culture de fraiser en Belgique. *Fruit Belge* 68, 202-206
- Bundessortenamt (1995) Beschreibende Sortenliste Beerenobst. Landbuch Verlagsgesellschaft mbH, Landbuchverlag, Hannover, Deutschland, pp. 131

- DiVenere D, Linsalata V, Ipolito A, Nigro F, Arcuti P, Lattanzio V (1998) Endogenous phenolics, ripening and susceptibility of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch.) to post harvest diseases. In: Polyphenols Communication 98, XIX International Conference on Polyphenols, Lille, France, 1-4 September, pp. 459-460
- Epstein AH (1966) Angular leaf spot of strawberry. Plant Disease Reporter 50, 167
- Fernandes AMM, Pinto-Ganhao JF (1981) *Xanthomonas fragariae* Kennedy & King, a bacteriosis new to Portugal. Review of Plant Pathology 63, 3469
- Goiffon J, Mouly P, Gaydou E (1999) Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. Analytica Chimica Acta 382, 39–50
- González G, Moya M, Sandoval C, Herrera R (2009) Genetic diversity in Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*): differential response to *Botrytis cinerea* infection. Spanish Journal of Agricultural Research 7, 886-895
- Grimm R, Lips T, Vogelsanger J (1993) Eckige Blattfleckenkrankheit der Erdbeere. Schweizer Zeitschrift für Obst-Weinbau 129, 130-131
- Häkkinen SH, Auriola S (1998) Content of flavonols and selected phenolics in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. Journal of Chromatography A 829, 91-100
- Häkkinen SH, Törrönen AR (2000) Content of flavonols and selected phenolics in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. Food Research International 33, 517-524
- Halbwirth H, Puhl I, Haas U, Jezik K, Treutter D, Stich K (2006) Two-phase flavonoid formation in developing strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit. Journal of Agricultural and food chemistry 54, 1479-1485
- Hancock JF, Sjulín TM, Lobos GA (2008) Strawberries. In: JF Hancock (eds.) Temperate fruit crop breeding: Germplasm to genomics, 2008, Springer Science + Business Media BV, New York
- Hanhineva K, Kokko H, Siljanen H, Rogachev I, Aharoni A, Kärenlampi SO (2009) Stilbene synthase gene transfer caused alterations in the phenylpropanoid metabolism of transgenic strawberry (*Fragaria x ananassa*). Journal of Experimental Botany 60, 2093-2106
- Hartung JS, Guin CC, Lewers KS, Maas JL, Hokanson S (2003) Identification of sources of resistance to bacterial angular leafspot disease of strawberry. Acta Horticulturae 626, 155-159
- Hébert C, Charles MT, Gauthier C, Willemot S, Khanizadeh J, Cousineau J (2001) Strawberry proanthocyanidins: biochemical markers for *Botrytis cinerea* resistance and shelf-life predictability. Acta Horticulturae 567, 659-662

- Henning W (1981) Flavonolglykoside der Erdbeeren (*Fragaria x ananassa* Duch.), Himbeeren (*Rubus idaeus* L.) und Brombeeren (*Rubus fruticosus* L.). Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung 173, 180-187
- Hertog M, Hollman P, Katan M (1992) Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40, 2363-2379
- Hildebrandt PD, Braun PG, Renderos WE, Jamieson AR, McRae KB, Bin M (2005) A quantitative method for inoculating strawberry leaves with *Xanthomonas fragariae*, factors affecting infection, and cultivar reactions. Canadian Journal of Plant Pathology 27, 16-24
- Jersch S, Scherer C, Huth G, Schlösser E (1989) Proanthocyanidins as basis for quiescence of *Botrytis cinerea* in immature strawberry fruits. Journal of Plant Disease and Protection 96, 365-378
- Kastelein P, Krijger M, Czajkowski R, van der Zouwen PS, van der Schoor R, Jalink H, van der Wolf JM (2013) Development of *Xanthomonas fragariae* populations and disease progression in strawberry plants after spray-inoculation of leaves. Plant Pathology 63, 255-263
- Kennedy BW, King TH (1962) Angular leaf spot of strawberry caused by *Xanthomonas fragariae* sp. nov. Phytopathology 52, 873-75
- Koh TH, Melton LD (2002) Ripening-related changes in cell wall polysaccharides of strawberry cortical and pith tissues. Postharvest Biology and Technology 26, 23-33
- Labanowska BH, Meszka B, Bielenin A, Olszak R (2004) A field evaluation of disease and insect resistance of several strawberry cultivars in Poland. Acta Horticulturae 649, 255-258
- Lewers KS, Maas JL, Hokanson SC, Gouin C, Hartung JS (2003) Inheritance of resistance in strawberry to bacterial angular leafspot disease caused by *Xanthomonas fragariae*. Journal of the American Society of Horticultural Science 128, 209-212
- Litterst M (1996) Neue Krankheit im Erdbeeranbau. Badische Bauernzeitung 49, 28
- Lopez MM, Aramburu JM, Cambra M, Borrás V (1985) Detección e identificación de *Xanthomonas fragariae* en España. Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie: Agrícola 28, 245-259
- Maas JL, Gouin CC, Hokanson SC, Hartung JS (2002) Strawberry parent clones US 4808 and US 4809 resistant to bacterial angular leafspot disease caused by *Xanthomonas fragariae*. HortScience 37, 716-717
- Maas JL, Gouin-Behe C, Hartung JS, Hokanson SC (2000) Sources of resistance for two differentially pathogenic strains of *Xanthomonas fragariae* in *Fragaria* genotypes. HortScience 35, 128-131

- Maas JL, Smith WL (1978) Earliglow, a possible source of resistance to *Botrytis* fruit rot in strawberry. HortScience 13, 275-276
- Macheix JJ, Fleuriet AF, Billot J (1990) Fruit phenolics. CRC Press, Boca Raton, Florida
- Mazzucchi U, Alberghina A, Dalli A (1973) Occurrence of *Xanthomonas fragariae* Kennedy & King in Italy. Journal of Phytopathology 76, 367-370
- Nunes MCdN (2009) Soft Fruits and Berries Color Atlas of Postharvest Quality of Fruits and Vegetables, 137-189. Blackwell Publishing Ltd.
- Nyman NA, Kumpulainen JT (2001) Determination of anthocyanidins in berries and red wine by high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49, 4183-4187
- Olsson ME, Ekvall J, Gustavsson KE, Nilsson J, Pillai D, Sjöholm I, Svensson U, Åkesson B, Nyman MGL (2004) Antioxidants, low molecular weight carbohydrates, and total antioxidant capacity in strawberries (*Fragaria x ananassa*): Effects of cultivar, ripening, and storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52, 2490-2498
- Osorio S, Castellejo C, Queseda MA, Medina-Escobar N, Brownsey GF, Suau R, Heredia A, Botella MA, Valpuesta V (2008) Partial demethylation of oligogalacturonides by pectin methyl esterase 1 is required for eliciting defence responses in wild strawberry (*Fragaria vesca*). The Plant Journal 54, 43-55
- Panagopoulos CG, Psallidas PG, Alivizatos AS (1978) A bacterial leafspot of strawberry in Greece caused by *Xanthomonas fragariae*. Journal of Phytopathology 91, 33-38
- Popova IV, Konstantinova AE, Zekalashvili AU, Zhananov BK (1985) Features of breeding strawberries for resistance to berry molds. Soviet Agriculture Science 2, 29-33
- Puhl I, Treutter D (2008) Ontogenetic variation of catechin biosynthesis as basis for infection and quiescence of *Botrytis cinerea* in developing strawberry fruits. Journal of Plant Diseases and Protection 115, 247-251
- Qi Z, Mew TW (1984) Evaluation of the adult-plant resistance of Xa-6 to bacterial-blight of rice. Phytopathology 74, 858
- Rat B (1974) Presence en France de la maladie des taches angulaires du fraisier. Annals of Phytopathology 6, 223
- Rigotti S, Gindro K, Richter H, Viret O (2002) Characterization of molecular markers for specific and sensitive detection of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) using PCR. Fems Microbiology Letters 209, 169-174
- Roberts PD, Berger RD, Jones JB, Chandler CK, Stall RE (1997) Disease progress, yield loss, and control of *Xanthomonas fragariae* on strawberry plants. Plant Disease 81, 917-921
- Schlösser E (1994) Preformed phenols as resistance factors. Acta Horticulturae 381, 615-630

- Severin V, Stancescu C, Zambrowicz E (1985) Angular leaf spot, a new bacterial disease of strawberry in Romania. Buletinul de Protectia Plantelor Nos 1-2, 21-23
- Xue SM, Bors RH, Strelkov SE (2005) Resistance sources to *Xanthomonas fragariae* in non-octoploid strawberry species. HortScience 40, 1653-1656
- Zimmermann C, Hinrichs-Berger J, Moltmann E, Buchenauer H (2004) Nested PCR (polymerase chain reaction) for detection of *Xanthomonas fragariae* in symptomless strawberry plants. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz - Journal of Plant Diseases and Protection 111, 39-51

## 10. Veröffentlichungen zum Projekt

### Publikationen

- Bestfleisch M, Luderer-Pflimpfl M, Höfer M, Schulte E, Wünsche JN, Hanke MV, Flachowsky H. Evaluation of strawberry (*Fragaria* L.) genetic resources on resistance to *Botrytis cinerea*. Plant Pathology, submitted
- Bestfleisch M, Richter K, Wensing A, Wünsche JN, Hanke MV, Höfer M, Schulte E, Flachowsky H (2014) Resistance and systemic dispersal of *Xanthomonas fragariae* in strawberry germplasm (*Fragaria* L.). Plant Pathology, DOI: 10.1111/ppa.12232
- Flachowsky H, Bestfleisch M (2014) Widerstandsfähigkeit von Erdbeeren: Aktuelle Untersuchungen zur Widerstandsfähigkeit von Erdbeeren gegen Grauschimmelfäule und Eckige Blattfleckenkrankheit. Obstbau 3, 169-172
- Bestfleisch M, Höfer M, Hanke MV, Flachowsky H, Richter K, Schulte E (2013) Breeding of resistant strawberry cultivars for organic fruit production - preliminary results with *Botrytis cinerea*. Acta Horticulturae 976, 87-90
- Bestfleisch M, Höfer M, Richter K, Hanke MV, Schulte E, Peil A, Flachowsky H (2012) Breeding of resistant strawberry cultivars for organic fruit production – Diallel crossing strategies and resistance tests for *Botrytis cinerea* and *Xanthomonas fragariae*. Proceedings of the 15<sup>th</sup> international conference on organic fruit production, Ecofruit, 20-22 February 2012, Hohenheim/Germany, Seiten(n): 221-227 Foerdergemeinschaft Oekologischer Obstbau e.V. (FOEKO). Weinsberg 2012; ISBN 978-3-98 04883-6
- Bestfleisch M, Höfer M, Richter K, Hanke MV, Schulte E, Flachowsky H (2011) Breeding strategies for the development of resistant strawberry cultivars against the pathogens *Botrytis cinerea* and *Xanthomonas fragariae*. Viertes Nachwuchswissenschaftlerforum 2011, Quedlinburg. Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Eigenverlag. Braunschweig Heft: 162, Seite(n): 17 Berichte aus dem Julius Kühn-Institut ISSN/ISBN: 1866-590X

## Poster

- Bestfleisch M, Höfer M, Richter K, Hanke MV, Schulte E, Flachowsky H. Evaluierung von genetischen Ressourcen bei Erdbeeren *Fragaria spp.* auf Resistenz gegenüber *Botrytis cinerea* und *Xanthomonas fragariae*. 58. Deutsche Pflanzenschutztagung, Braunschweig, 11.-14.09.2012
- Bestfleisch M. Wie entstehen Neue Obstsorten? Lange Nacht der Wissenschaften, Dresden, 06.07.2012
- Bestfleisch M, Höfer M, Richter K, Hanke MV, Schulte E, Flachowsky H. Evaluierung von Erdbeersorten (*Fragaria x ananassa*) auf Widerstandsfähigkeit gegenüber *Xanthomonas fragariae*. Presseveranstaltung zur Eröffnung der sächsischen Erdbeersaison, 31.05.2012
- Bestfleisch M, Höfer M, Richter K, Hanke MV, Schulte E, Flachowsky H. Evaluierung von Erdbeersorten (*Fragaria x ananassa*) auf Widerstandsfähigkeit gegenüber *Botrytis cinerea*. Presseveranstaltung zur Eröffnung der sächsischen Erdbeersaison, 31.05.2012
- Bestfleisch M, Höfer M, Richter K, Hanke MV, Schulte E, Flachowsky H. Breeding of resistant strawberry cultivars for organic fruit production – Preliminary results with *Botrytis cinerea*. XIII Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics, Warsaw, Poland, 11.-15.09.2011

## Vorträge

- Bestfleisch M. Aufbau eines Zuchtprogramms zur Entwicklung widerstandsfähiger Erdbeersorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Landbau - Aktuelle Forschungsergebnisse Projektverbundtreffen Erdbeere, Geisenheim, 24.01.2013
- Bestfleisch M. Zwischenbericht: Aufbau eines Zuchtprogramms zur Entwicklung widerstandsfähiger Erdbeersorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Landbau, Vortrag im Rahmen des Doktorandenseminars am JKI-Standort Dresden, 16.10.2012
- Bestfleisch M. Evaluierung von Erdbeersorten (*Fragaria x ananassa*) auf Widerstandsfähigkeit gegenüber *Xanthomonas fragariae* und *Botrytis cinerea*, Projektverbundtreffen Erdbeere, Köln-Auweiler, 10.07.2012
- Bestfleisch M. Aktuelle Forschungsthemen im Ökologischen Obstbau – Bericht von der 15. Ecofruit-Wissenschaftstagung, Vortrag im Rahmen des Doktorandenseminars am JKI-Standort Dresden, 28.02.2012
- Bestfleisch M. Breeding of resistant strawberry cultivars for organic fruit production – Diallel crossing strategies and resistance tests for *Botrytis cinerea* and *Xanthomonas*



*fragariae*, Ecofruit - 15th International Conference on Organic Fruit Production, University of Hohenheim, 22.02.2012

Bestfleisch M. Vorbesprechung zur externen Dissertation: Entwicklung von effizienten Verfahren für die Züchtung neuer Erdbeersorten *Fragaria* x *ananassa* Duch., Kolloquium am Institut für Kulturpflanzenwissenschaften, Fg. Ertragsphysiologie der Sonderkulturen (340f), Universität Hohenheim, 16.12.2011

Bestfleisch M. Breeding strategies for the development of resistant strawberry cultivars against the pathogens *Botrytis cinerea* and *Xanthomonas fragariae*, 4. Nachwuchswissenschaftlerforum des JKI am Standort Quedlinburg, 29.11.2011

Bestfleisch M. Bedeutung und Biologie von *Xanthomonas*-Bakterien. Vortrag im Rahmen des Doktorandenseminars am JKI-Standort Dresden, 11.08.2011

Bestfleisch M. Aufbau eines Zuchtprogramms zur Entwicklung widerstandsfähiger Erdbeersorten mit spezieller Eignung für den ökologischen Landbau. Kick-Off Meeting zum BÖLN-Projekt Nr. 2809OE084, 31.05.2011