



Schlussbericht zum Thema

**Etablierung einer Vermehrungskette zur Erzeugung von
ökologisch produziertem Pflanzgut bei Erdbeeren im
Rahmen eines Verbundvorhabens, Schwerpunkt:
Entwicklung einer ökologischen Mutterpflanzenhaltung
bei Erdbeeren**

FKZ: 2815OE066

**Projektnehmer: Julius Kühn-
Institut
Bundesforschungsinstitut für
Kulturpflanzen (JKI)**

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

Das Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) hat sich zum Ziel gesetzt, die Rahmenbedingungen für die ökologische und nachhaltige Land- und Lebensmittelwirtschaft in Deutschland zu verbessern. Es wird vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) finanziert und in der BÖLN-Geschäftsstelle in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) in Bonn in die Praxis umgesetzt. Das Programm untergliedert sich in zwei ineinandergreifende Aktionsfelder, den Forschungs- und den Informationsbereich.

Detaillierte Informationen und aktuelle Entwicklungen finden Sie unter
www.bundesprogramm.de

Wenn Sie weitere Fragen haben, wenden Sie sich bitte an:

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft
Deichmanns Aue 29
53179 Bonn
Tel: 0228-6845-3280
E-Mail: boeln@ble.de



Schlussbericht

Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für Züchtungsforschung an Obst
Pillnitzer Platz 3a, 01326 Dresden

Etablierung einer Vermehrungskette zur Erzeugung von ökologisch produziertem Pflanzgut bei Erdbeeren im Rahmen eines Verbundvorhabens

Förderkennzeichen: 2815OE066

Projektlaufzeit: 01.04.2017 - 31.03.2020

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

BÖLN

Bundesprogramm Ökologischer Landbau
und andere Formen nachhaltiger
Landwirtschaft

Kurzfassung Deutsch (2000 Zeichen)

Titel: Etablierung einer Vermehrungskette zur Erzeugung von ökologisch produziertem Pflanzgut bei Erdbeeren im Rahmen eines Verbundvorhabens (P2:2815OE066)

Autor: Prof. Dr. Henryk Flachowsky

Kontaktdaten: Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an Obst, Pillnitzer Platz 3a, 01326 Dresden,

E-Mail: henryk.flachowsky@julius-kuehn.de

Derzeit existiert in Europa kein Hochvermehrungssystem - beginnend bei der Mutterpflanzenhaltung bis hin zur Jungpflanze - zur Erzeugung von ökologisch produziertem Erdbeerpflanzgut. Stattdessen wird häufig von großen Vermehrungsbetrieben konventionell erzeugtes Pflanzgut mit Ausnahmegenehmigung verwendet und nach vier Wochen in Biosubstrat als ökologisches Pflanzgut verkauft. Darüber hinaus wird das Sortenspektrum, auf das ökologisch produzierende Betriebe zurückgreifen können, durch große Vermehrungsbetriebe vorgegeben und immer stärker eingengt. Die wenigsten dieser Sorten sind jedoch auf die Erfordernisse des ökologischen Anbaus geprüft.

Um einen Ausweg aus dieser Situation zu schaffen, wurde die Etablierung einer Vermehrungskette zur Erzeugung von ökologisch produziertem Erdbeerpflanzgut im Rahmen von zwei eng miteinander verknüpften Forschungsprojekten (P1:2815OE059 und P2:2815OE066) angestrebt. In dem hier durchgeführten Teilprojekt P2 wurden dabei zwei Schwerpunkte bearbeitet.

Der erste Schwerpunkt beinhaltete die Erzeugung, Prüfung und Bereitstellung von Sortenkandidaten für den ökologischen Anbau. Dafür wurden bereits am JKI existierende Zuchtklone über zwei Jahre in fungizidfreien Quartieren evaluiert. Von diesen Zuchtklonen wurde Klon P-14022 ausgelesen, virusfreies Vermehrungsmaterial hergestellt und dieses an drei Praxispartner zur Testung unter Anbaubedingungen übergeben. Parallel dazu wurde neues Zuchtmaterial aufgebaut, welches sich noch im Selektionsprozess befindet.

Im zweiten Schwerpunkt wurde an der Etablierung der vor- und nachgelagerten Prozesse der Mutterpflanzenhaltung gearbeitet. In diesem Schwerpunkt konnten Standardverfahren zum Nachweis verschiedener Viren sowie von *Xanthomonas fragariae* etabliert werden. Diese Methoden werden heute routinemäßig zum Aufbau von virusfreiem Genbankmaterial benutzt. Die Etablierung von LAMP-PCR-basierten Nachweisverfahren war bislang nicht erfolgreich.

Kurzfassung englisch

Title: Establishment of a propagation chain for the production of organically produced planting material for strawberries within the framework of a joint project (P2:2815OE066)

Author: Prof. Dr. Henryk Flachowsky

Contact details: Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an Obst, Pillnitzer Platz 3a, 01326 Dresden,

E-Mail: henryk.flachowsky@julius-kuehn.de

In Europe, there is currently no organic strawberry plant production system, which starts from the establishment of mother plants to the production of market-ready young plants. Instead, conventionally produced strawberry plants from large commercial nurseries, with a certificate of exception permission, are planted into organic substrate for four weeks and afterwards labeled as “organic”. Moreover, the spectrum of cultivars, which can be used by organic plant producers, is very limited and depends strongly on the large commercial nurseries providing only mother plants of a few cultivars for further propagation. Most of these cultivars do not fulfill the requirements of organic strawberry fruit production.

To find an appropriate solution for this unsatisfactory situation, a first propagation system for organic strawberry runner production should be established within the frame of two closely connected research projects (P1: 2815OE059 and P2: 2815OE066).

Subproject P2, which was carried out at JKI, was focused on two different priorities. The first priority included the development, assessment and the provision of putative cultivars for organic berry production. Existing breeding clones were tested in field plots without fungicide treatment for two consecutive years. Clone P-14022 was selected for organic production. Virus free plant material of this breeding clone was produced and provided to three different practice partners for testing under the conditions of organic production. In parallel, new breeding material was established, which is still under selection.

The second priority was focused on establishment of up- and downstream processes of the mother plant production. In addition, it was possible to establish standard protocols for the detection of different viruses and *Xanthomonas fragariae*. These protocols are now routinely used to establish a virus free collection of strawberry cultivars of the German national genebank collection. The establishment of LAMP-PCR-based protocols for pathogen detection is not successful to date.

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	5
1.1	Gegenstand des Vorhabens	5
1.2	Ziele und Aufgabenstellung des Projektes, Bezug des Vorhabens zu den einschlägigen Zielen des BÖLN oder zu konkreten Bekanntmachungen und Ausschreibungen	5
1.3	Planung und Ablauf des Projektes	6
2.	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	7
3.	Material und Methoden	8
3.1	<i>In-vitro</i> -Vermehrung, Bewurzelung und Abhärtung	8
3.2	Kreuzung und Samengewinnung	9
3.3	Aussaat und Anzucht von Pflanzen	9
3.4	Pflanzsystem	9
3.5	Nested-PCR	9
3.6	Virustest	10
3.7	LAMP (englisch: loop-mediated isothermal amplification)-PCR	10
4.	Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	11
4.1	Evaluierung bereits existierender Zuchtklone auf Eignung für den ökologischen Anbau	11
4.2	Virusfreimachung, Vermehrung und Testung selektierter Zuchtklone in der Praxis	13
4.3	Erstellung von neuem Zuchtmaterial	13
4.4	Auswahl eines geeigneten Zuchtklons und Übergabe an den Projektpartner	14
4.5	Etablierung von Methoden zur Nachtestung von Pflanzenmaterial	15
4.6	Anmeldung eines möglichen Kandidaten zum Sortenschutz	16
5.	Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit	17
6.	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen	17
7.	Zusammenfassung	18
8.	Literaturverzeichnis	18
9.	Öffentlichkeitswirksame Aktivitäten	19

1. Einführung

1.1 Gegenstand des Vorhabens

Ein System zur ökologischen Erzeugung von Erdbeermutterpflanzen existiert derzeit nicht in Europa. Zwar werden z. T. ökologisch erzeugte Erdbeerpflanzen für den Anbau angeboten, jedoch erfolgen in den meisten Fällen lediglich die letzten Vermehrungsschritte unter ökologischen Bedingungen. Das Ausgangsmaterial für die Vermehrung (Mutterpflanzen, SSEE) wird in der Regel mittels Meristemkultur gewonnen, *in vitro* vermehrt und anschließend unter insektensicheren Bedingungen (z. B. Saranhaus) in Substratkultur angezogen und kultiviert.

Darüber hinaus ist das Sortenspektrum, auf das ökologisch produzierende Betriebe zurückgreifen können, sehr begrenzt. Es wird durch große Vermehrungsbetriebe vorgegeben und immer stärker eingeeengt. Die wenigsten dieser Sorten erfüllen jedoch die Erfordernisse des ökologischen Anbaus.

Insgesamt entspricht dieses Vorgehen nicht dem allgemeinen Grundsatz des ökologischen Landbaus.

Aus diesem Grund waren die **Ziele des Verbundprojektes** die Entwicklung und Etablierung einer Vermehrungskette zur Erzeugung von ökologisch produziertem Erdbeerpflanzgut. Diese Ziele sollten im Rahmen von zwei eng miteinander verknüpften Forschungsprojekten (P1:2815OE059 und P2:2815OE066) erreicht werden.

Dabei prüfte Verbundpartner P1 vom Gartenbauzentrum Köln-Auweiler die Möglichkeit der Erhaltung von Mutterpflanzen unter den Bedingungen eines insektensicheren Folientunnels im ökologischen Anbau. Darüber hinaus untersuchte er den möglichen Einfluss verschiedener organischer Dünger und Substrate sowie den Einfluss verschiedener Sorten auf die Vermehrungsrate der Mutterpflanzen.

Der Verbundpartner P2 vom Julius Kühn-Institut in Dresden selektierte dafür Sortenkandidaten, die möglichst gut an die Anforderungen des ökologischen Erdbeeranbaus angepasst sind und stellte diese dem Versuchszentrum Köln-Auweiler als virusfreie, meristemvermehrte Jungpflanzen für den Aufbau einer Mutterpflanzenhaltung zur Verfügung.

1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes, Bezug des Vorhabens zu den einschlägigen Zielen des BÖLN oder zu konkreten Bekanntmachungen und Ausschreibungen

Beide Teilprojekte leisten gemeinsam einen Beitrag zur Fördermaßnahme „*Richtlinie zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer im ökologischen Landbau*“ des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) vom 04. April 2016. Sowohl die Kreuzung und Selektion von Züchtungsmaterial für ökologische Produktionsbedingungen als auch die Entwicklung einer Vermehrungskette für ökologisch produziertes Pflanzgut beziehen sich dabei vor allem auf die unter Punkt 2.1.1 genannte „*Weiterentwicklung ökologischer Nutzungssysteme zur Verbesserung des Einklangs zwischen nachhaltiger Nutzung und Erhaltung der biologischen Vielfalt*“ sowie die „*Erschließung des Leistungspotentials genetischer Ressourcen*“. Beide Teilprojekte besitzen darüber hinaus einen direkten Bezug zu der unter Punkt 2.1.2 genannten „*Weiterentwicklung von Anbaukonzepten (z. B. Sonderkulturen)...*“, zur *Entwicklung und Verbesserung neuer und alter Sorten, -mischungen und Artgemengen im Hinblick auf die Zielsetzungen und Bedingungen des ökologischen Landbaus*“ sowie der „*Entwicklung von Züchtungszielen und -konzepten für den ökologischen Landbau*“.

Das Projekt trägt ebenfalls zur Entwicklung ökologischen Pflanzenvermehrungsmaterials bei, das für die ökologische Landwirtschaft geeignet ist, so wie es die 2018 in Kraft getretene Verordnung 2018/848 zur ökologischen Produktion fordert „.....damit ein optimaler Pflanzenanbau erreicht wird, wird für Systeme des ökologischen/biologischen Pflanzenbaus Pflanzenvermehrungsmaterial benötigt, mit dem eine Anpassung hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit gegenüber Krankheiten, der unterschiedlichen örtlichen Gegebenheiten in Bezug auf Boden und Klima und der spezifischen Anbaupraktiken der ökologischen/biologischen Landwirtschaft als Beitrag zum Ausbau des ökologischen/biologischen Sektors erfolgen kann. Es ist daher wichtig, dass ökologisches/biologisches Pflanzenvermehrungsmaterial, das für die ökologische/biologische Landwirtschaft geeignet ist, entwickelt wird.“

Für die Erreichung der genannten Ziele gliederte sich das Teilprojekt (P2) in zwei Schwerpunkte. Der erste Schwerpunkt befasste sich mit der Erzeugung, Prüfung und Bereitstellung von Sortenkandidaten für den ökologischen Anbau. Im Einzelnen wurden dabei die folgenden Ziele verfolgt:

- Evaluierung bereits existierender Zuchtklone auf Eignung für den ökologischen Anbau,
- Virusfreimachung und Vermehrung selektierter Zuchtklone sowie deren Testung bei Partnern unter den Bedingungen der Anbaupraxis,
- Erstellung von neuem Zuchtmaterial, welches nahtlos in die Testung mit einfließen kann.

Im zweiten Schwerpunkt sollten vor- und nachgelagerte Prozesse der Mutterpflanzenhaltung in der angestrebten Vermehrungskette etabliert werden. Die Zielstellungen lauteten dabei wie folgt:

- Auswahl eines geeigneten Zuchtklons und Übergabe von virusfreiem Ausgangsmaterial an den Projektpartner in Köln-Auweiler,
- Etablierung von Methoden zur Nachtestung von Pflanzenmaterial aus der Meristemvermehrung und Mutterpflanzenhaltung,
- Anmeldung eines möglichen Kandidaten zum Sortenschutz.

1.3 Planung und Ablauf des Projektes

Für die Erreichung des Ziels „Evaluierung bereits existierender Zuchtklone auf Eignung für den ökologischen Anbau“ waren folgende Arbeitsschritte notwendig:

- Fortlaufende Prüfung (2017, 2018, 2019) existierender Zuchtklone in fungizidfreien Quartieren,
- Bewertung des Zuchtmaterials anhand von Pflanzenparametern (Wuchsform, Ausläuferbildung, Anzahl und Lage der Fruchtstände, Blütenbildung, allgemeine Gesundheit, Krankheitsbefall) und Fruchtparametern (Form, Farbe, Festigkeit, Aussehen, Geschmack, Transportfähigkeit, Lage und Pflückbarkeit) im Vergleich zu Standardsorten sowie
- Selektion geeigneter Kandidaten für eine Prüfung unter Praxisbedingungen.

Für die Erreichung des Ziels „Virusfreimachung und Vermehrung selektierter Zuchtklone sowie deren Testung bei Partnern unter den Bedingungen der Anbaupraxis“ waren folgende Arbeitsschritte notwendig:

- Marktrecherche zur Identifizierung von Serviceanbietern für Virusfreimachung und Meristemkultur,
- Einholen und Bewerten von Angeboten,

- Virusfreimachung und Aufbau von Vermehrungsmaterial von ausgewählten Zuchtklonen,
- Auswahl von geeigneten Praxispartnern,
- Abschluss von Materialsicherungsverträgen mit den ausgewählten Praxispartnern sowie
- Übergabe von Pflanzenmaterial an die Testbetriebe.

Für die Erreichung des Ziels „Erstellung von neuem Zuchtmaterial“ waren folgende Arbeitsschritte notwendig:

- Aufstellen von Kreuzungsplänen für die Jahre 2018 und 2019,
- Aussaat, Anzucht und Pflanzen der Kreuzungsnachkommen und
- Bonitur und Selektion der Kreuzungsnachkommen im Feldbestand.

Für die Erreichung des Ziels: „Auswahl eines geeigneten Zuchtklons und Übergabe von virusfreiem Ausgangsmaterial an den Projektpartner in Köln-Auweiler“ waren die folgenden Arbeitsschritte notwendig:

- Auswertung aller Boniturergebnisse zu den existierenden Zuchtklonen,
- Auswahl geeigneter Kandidaten für den Aufbau einer Mutterpflanzenhaltung,
- Virusfreimachung und Aufbau von Vermehrungsmaterial mittels Meristem- und *In-vitro*-Kultur,
- Bewurzelung von *In-vitro*-Pflanzen und Überführung in die Substratkultur sowie
- Abhärtung der Pflanzen und Übergabe an den Projektpartner.

Für die Erreichung des Ziels „Etablierung von Methoden zur Nachtestung von Pflanzenmaterial aus der Meristemvermehrung und Mutterpflanzenhaltung“ waren die folgenden Arbeitsschritte notwendig:

- Testung von beschriebenen Verfahren zum Virusnachweis aus der Literatur (PCR, RT-PCR, qRT-PCR, ELISA) und
- Entwicklung und Testung von LAMP-PCR-basierten Methoden zum Virusnachweis.

Für die Erreichung des Ziels: „Anmeldung eines möglichen Kandidaten zum Sortenschutz“ waren die folgenden Arbeitsschritte notwendig:

- Auswertung der Ergebnisse zu den Zuchtklonen, die unter Praxisbedingungen getestet wurden,
- Auswahl möglicher Sortenkandidaten und
- Entscheidung über eine mögliche Anmeldung zum Sortenschutz.

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

In Deutschland gibt es derzeit keine ökologische Erzeugung von Erdbeerpflanzgut. Die Gründe dafür sind vielfältig und reichen vom Auftreten bodenbürtiger Krankheiten (z. B. Rhizomfäule, Welkekrankheit) in vielen Anbauregionen und dem Mangel an ökologischen Wechselflächen bis hin zur begrenzten Verfügbarkeit an geeigneten Sorten.

Gerade das Auftreten bodenbürtiger Erreger ist schwierig, da die Gewährleistung der Pflanzengesundheit im gesamten Vermehrungsprozess oberste Priorität hat. Sie beginnt mit der Etablierung von gesundem Ausgangsmaterial (Mutterpflanzen). Von diesem können dann durch Entnahme von Ausläufern Super-Elite-Pflanzen und später Doppel-Elite- und Elite-Pflanzen erzeugt werden. Die Verwendung von bereits infizierten Mutterpflanzen hätte somit verheerende Auswirkungen für den nachfolgenden Vermehrungsprozess.

Basierend auf den Ergebnissen eines im Vorfeld am Versuchszentrum Gartenbau Straelen/Köln-Auweiler durchgeführten Projektes (Projektnummer: 2811OE039) ist eine ökologische Mutterpflanzenhaltung in Deutschland vorerst nur möglich, wenn die ersten beiden Vermehrungsschritte in einem Biosubstrat unter ökologischen Bedingungen durchgeführt werden. Den gesamten Vermehrungsprozess in gewachsenem Boden durchzuführen, ist unter den genannten Bedingungen (Mangel an Wechselflächen, Auftreten bodenbürtiger Krankheiten) in Deutschland nicht möglich. Aus diesem Grund sollte die Vermehrung mit einer Virusfreimachung der Pflanzen mittels Wärmetherapie und anschließender Meristemkultur beginnen. Das so erzeugte Ausgangsmaterial wird dann in ein insektensicheres Gewächshaus überführt. Dieses Vorgehen steht im Einklang mit der EU-Durchführungsrichtlinie 2014/98/EU. Im Gewächshaus werden die Pflanzen dann in einem Biosubstrat angezogen und ökologisch gedüngt. Die Krankheits- und Schädlingsregulierung erfolgen ebenfalls nach ökologischen Richtlinien. Nach zwei Vermehrungsschritten werden die gewonnenen Doppel-Elite-Pflanzen dem ökologischen Anbau als Ausgangsmaterial für die weitere Vermehrung übergeben. Diese erfolgt fortan in gewachsenem Boden. Das angedachte Vermehrungsschema würde eine deutliche Verbesserung gegenüber der praxisüblichen Beschaffung von Pflanzenmaterial für den ökologischen Anbau darstellen. Der Aufbau von Mutter- und Super-Elite-Pflanzen erfolgt bereits in Biosubstrat mit biologischer Düngung und biologischem Pflanzenschutz. Danach erfolgen alle weiteren Vermehrungsstufen in gewachsenem Boden.

Um die Vermehrung mit möglichst gesundem Ausgangsmaterial starten zu können, müssen die Pflanzen nach der Wärmetherapie und Meristemkultur auf die Abwesenheit verschiedener Krankheitserreger getestet werden. Neben *Xanthomonas fragariae*, dem bakteriellen Erreger der Eckigen Blattfleckenkrankheit, wird vor allem auf Virusbefall getestet. Zu den standardmäßig getesteten Viren gehören neben dem Strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) auch das Strawberry crinkle virus (SCrV), das Strawberry vein banding virus (SVBV), das Strawberry mottle virus (SMoV), das Raspberry ringspot virus (RpRSV) und das Strawberry latent ringspot virus (SLRSV). Protokolle für den Nachweis dieser Erreger sind in der Literatur verfügbar (Bertolini et al. 2003, Bestfleisch et al. 2015, Harper et al. 2011, Tang et al. 2014, Thompson et al. 2003, Post-Entry Quarantine Testing Manual of Ministry for Primary Industries). Allerdings ist die Etablierung der publizierten Verfahren nur in gut ausgestatteten Laboratorien möglich. Diese sind nicht überall verfügbar. Deshalb soll parallel auch an der Etablierung neuer Nachweisverfahren gearbeitet werden, die auf einer LAMP (englisch: Loop-mediated isothermal amplification)-PCR beruhen (Notomi et al. 2000). Das hätte den Vorteil, dass künftig der Nachweis von Virusinfektionen direkt im Vermehrungsbetrieb und ohne große Laborausstattung möglich wäre.

3. Material und Methoden

3.1 *In-vitro*-Vermehrung, Bewurzelung und Abhärtung Die *In-vitro*-Vermehrung erfolgte auf Vermehrungsmedium E8, bestehend aus 4,4 g/l M022 Fertigmedium (Duchefa Biochemie, Niederlande), 30 g/l Saccharose, 500 µl/l BAP (Benzylaminopurin), 50 µl/l IBA (Indol-3-buttersäure), 8,8 g/l Agar und einem pH-Wert von 5,7. Die Sprossspitzenkulturen wurden in einem *In-vitro*-Kulturenraum bei 22 °C und 0,8-1,0 klux mit einem Tag-Nacht-Rhythmus von 16 Stunden Licht und acht Stunden Dunkelheit kultiviert. Die Bewurzelung

erfolgte auf ½ E8 für sechs Wochen in einem Pflanzenanzuchtraum bei 0,8-1,0 klux und einem Tag-Nacht-Rhythmus von 16 Stunden Licht und acht Stunden Dunkelheit. Bewurzelte Sprosse wurden in Minigewächshäusern mit einem Gemisch aus Brill3-Erde und Vermiculit für drei Wochen unter einer Haube im Gewächshaus bei 20 °C und Tageslicht in einem natürlichen Tag-Nacht-Rhythmus akklimatisiert. Anschließend wurden die Minigewächshäuser für mehrere Stunden pro Tag gelüftet. Nach sechs Wochen waren die Pflanzen fertig für den Versand.

3.2 Kreuzung und Samengewinnung

Zur Durchführung von Kreuzungen wurden Pflanzen der ausgewählten Eltern genotypen aus dem Feldbestand 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. Von den Blüten wurden die Staubbeutel mit einer Pinzette abgenommen, in offenen Petrischalen an der Luft getrocknet und bis zur Bestäubung im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt. Die Mutterpflanzen wurden ca. zwei Wochen später ebenfalls in eine warme Gewächshauskabine überführt. Kurz vor dem Blütenaufbruch wurden die Blüten der Mutterpflanzen mit einer Pinzette geöffnet und kastriert, indem die Antheren jeder Blüte 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 Gazehauben abgedeckt. Von den 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.

3.3 Aussaat und Anzucht von Pflanzen

Die Samen wurden in Aussaatschalen in ein Brill3-Sand-Gemisch ausgelegt und für zwei Wochen bei 4 °C stratifiziert. Anschließend wurden die Aussaatschalen ins Gewächshaus überführt und bei einer Temperatur von 18-22 °C und Tageslicht mit einem natürlichen Tag-Nacht-Rhythmus kultiviert. Nach zwei Monaten wurden Einzelpflanzen pikiert und in Anzuchtschalen mit Brill 3 Erde überführt. Nach weiteren zwei Monaten wurden die Pflanzen in C710-Topfsubstraterde mit Cocopor® der Firma Stender GmbH (Deutschland) getopft.

3.4 Pflanzsystem

Die Bewertung des Zuchtmaterials (Kreuzungsnachkommen, Sorten, Zuchtklone) erfolgte im Rahmen einer Feldpflanzung. Dabei handelte es sich um ein einreihiges Pflanzsystem mit bewurzelten Grünpflanzen, einem Pflanzabstand von 0,25 m und einem Reihenabstand von 1,00 m. Das Versuchsfeld in Pillnitz ist charakterisiert mit sandigem Lehm, einer durchschnittlichen Bodenwertzahl von 65 und einem Jahresniederschlag von 650 mm. Der Standort liegt im oberen Elbtal bei einer Höhe von 117 m über N. N. Die Bestandsführung erfolgte mit einer normalen Düngung (N, P, K auf Entzug) und einer Feldberegnung mit einem Kreisregner. Pflanzenschutz erfolgte ohne die Applikation von synthetischen Fungiziden.

3.5 Nested-PCR

Der Test auf Befall mit dem bakteriellen Erreger der Eckigen Blattfleckenkrankheit *Xanthomonas fragariae* erfolgte mittels Nested-PCR, wie bei Bestfleisch et al. (2015) beschrieben.

3.6 Virustest

Für den Test auf Befall mit den Viren SMYEV (Strawberry mild yellow edge virus), SCrV (Strawberry crinkle virus), SVBV (Strawberry vein banding virus) und SMOV (Strawberry mottle virus) wurde die Gesamt-RNA aus 75 mg frischem Blattgewebe mit dem InviTrap® Spin Plant RNA Mini Kit der Firma Invitex (Deutschland) isoliert. Die Synthese der cDNA erfolgte mit dem RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit der Firma Thermo Fisher Scientific (Deutschland). Der Nachweis der Viren erfolgte mittels RT-PCR mit virusspezifischen Primern, wie bei Bertolini et al. 2003, Harper et al. 2011, Tang et al. 2014, Thompson et al. 2003 und im "Post-Entry Quarantine Testing Manual of Ministry for Primary Industries" beschrieben. Die für die genannten Nachweise notwendigen Positivkontrollen wurden dankenswerterweise von Prof. Dr. Jelkmann (JKI, Dossenheim) bzw. vom Leibniz-Institut Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH in Braunschweig bereitgestellt. Die Auftrennung der PCR-Produkte erfolgte mittels 1,5-prozentiger Agarosegelelektrophorese.

3.7 LAMP (englisch: loop-mediated isothermal amplification)-PCR

Für die Etablierung von Protokollen für den Nachweis verschiedener Pathogene mittels LAMP-PCR wurden mit der Software Primerexplorer4 (<https://primerexplorer.jp/e/hilfe>) LAMP-PCR-Primer für *X. fragariae* und die beiden Viren SMYEV und SVBV abgeleitet (Tabelle 1).

Tabelle 1: Pathogen-spezifische Primer für die LAMP-PCR

Pathogen/Primer	Sequenz (5'→3')
<i>Xanthomonas fragariae</i>	
Xf_FIP	tgggctcgccaactgtcaactgccgaatacgcactggatga
Xf_BIP	gcagaggcaccggatcttagttgaggcgagctcattaagacg
Xf_F3	gggtttttccaaggccgta
Xf_B3	tcgatcgtaagcgatggct
Xf_LF	attgcatcagtcggcttggg
Xf_LB	tgaaagcgaaatgcgaaatttcgg
SMYEV	
SMYEV-FIP	cagatcagcgacaatttgactcctgaggaactgctgct
SMYEV2-FIP	gccattggcaatggattcgacatgggagatctgccacga
SMYEV-BIP	gctttgtcgggatcctgggaaggctaagtcgaagagacc
SMYEV2-BIP	ccgcaccccgaaatccgaatggagtgcacccggaaag
SMYEV-F3	tcaagttggtgacccttcc
SMYEV2-F3	cgccctggtcagtaattcc
SMYEV-B3	cgaggaaccaatgctgtagc
SMYEV2-B3	ggagcagcaagttcctcag
SVBV	
SVBV1-FIP	ggtccaagaccaggtgatctgcaaacttaggtcaccctt
SVBV3-FIP	tacctgtataatttggtgagaggaagacgaagacacctatcg
SVBV-BIP	ttaaggcaattaaagcttcagagccagcattagtattatccgttctt
SVBV3-BIP	acatcccaaataaaaagacaggtctcttcggttgctgcacaa
SVBV1-F3	gctcctaaattatatctctgcctat
SVBV3-F3	tgtaaagctaacattaaggaag
SVBV1-B3	atggatcatctgatgcgtc
SVBV3-B3	cccattctcaatgagttgt

SVBV3-LF1	cctcgtcgccttccggttcg
SVBV3-LB1	aacaaacacccaaaagtttagatctgg
SVBV3-LB2	acaaacacccaaaagtttagatctgga

Diese Primer wurden in unterschiedlichen Reaktionsansätzen mit variierenden PCR-Protokollen getestet. Dabei wurden sowohl isolierte Nukleinsäuren als auch Blattmaterial von nachweislich infizierten Pflanzen verwendet. Die notwendigen Positivkontrollen wurden dankenswerterweise von Prof. Dr. Jelkmann (JKI, Dossenheim) bzw. dem Leibniz-Institut Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH in Braunschweig bereitgestellt. Im Folgenden werden ein Standard-LAMP-PCR-Ansatz und ein Standard-LAMP-PCR-Protokoll als Beispiel aufgeführt.

Standard-LAMP-PCR-Ansatz (25 µl)

	Finale Konzentration µl	
ddH ₂ O		9,5
10x Puffer		2,5
FIP/BIP Primer(25x)	1,6 mM	1,5
F3/B3 Primer(25x)	0,2 mM	1,5
LoopLB/LF Primer (25x)	0,4 mM	1,5
dNTPs (10 mM)	1,2 mM	4,0
MgSO ₄ (100 mM)	6,0 mM	1,5
Bst 2.0 warm start	8 U	1,0
Template		2,0

Standard-LAMP-PCR-Protokoll

Temperatur	Zeit	Anzahl Zyklen
62 °C	60 min	1
85 °C	5 sec	
10 °C	halten	unendlich

4. Ausführliche Darstellung und Diskussion der wichtigsten Ergebnisse

4.1 Evaluierung bereits existierender Zuchtklone auf Eignung für den ökologischen Anbau

Die am JKI bereits existierenden Zuchtklone P-12066 ('Yamaska' x 'Polka'), P-14022 ('Polka' x 'Arosa'), P-14023 ('Polka' x 'Arosa') und P-14053 ('Arosa' x 'Daroyal') wurden mit je 48-50 Pflanzen je Zuchtklon in einem fungizidfreien Quartier im Vergleich zu den Standardsorten 'Allegro', 'Arosa', 'Clery', 'Darselect', 'Elsanta' und 'Malwina' angebaut und in drei aufeinanderfolgenden Jahren getestet. Dabei wurden neben der allgemeinen Pflanzengesundheit und Vitalität auch das Aussehen und der Geschmack der Früchte, die Fruchtgröße, die Fruchtfestigkeit und der Ertrag je Einzelpflanze bewertet. Abbildung 1 zeigt einen Ausschnitt aus diesen Untersuchungen.

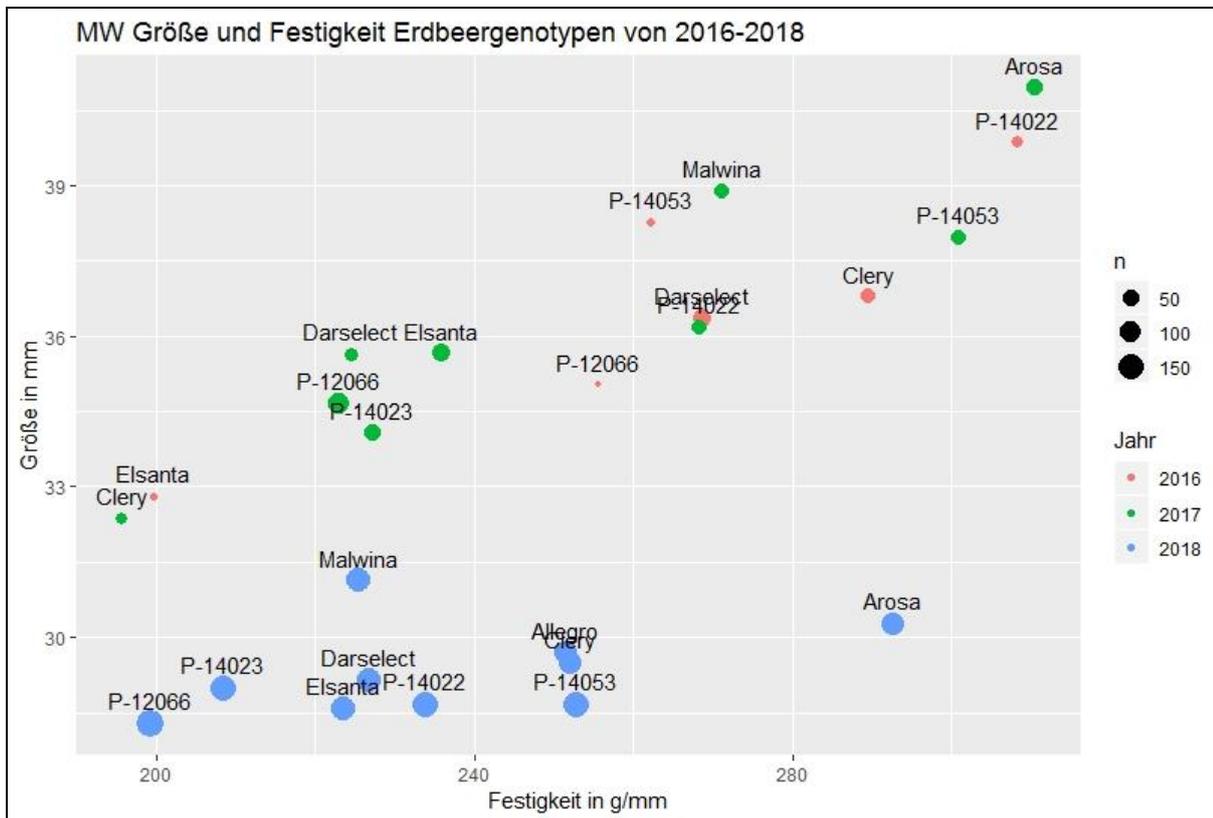


Abbildung 1: Ermittlung der Fruchtfestigkeit und Fruchtgröße von bereits existierenden Zuchtklonen und Vergleichssorten in den Jahren 2016 (rot), 2017 (grün) und 2018 (blau) mit einem Fruchtfestigkeitsmessgerät der Firma Firmtech. Dargestellt sind die Mittelwerte. Größe der Punkte proportional zur Anzahl gemessener Einzelfrüchte (n). Es wurden mindestens 20 Früchte gemessen.

Unter Einbeziehung aller getesteten Parameter scheint der Zuchtklon P-14022 der Vielversprechendste innerhalb des getesteten Materials zu sein. Dieser Zuchtklon besitzt gleichmäßig geformte, hell- bis mittelrote Früchte, die sich durch einen aromatischen und fruchtig-süßen Geschmack auszeichnen (Abbildung 2).



Abbildung 2: Früchte des Zuchtklons P-14022

Die Früchte von P-14022 sind größer als die Früchte der Sorte 'Elsanta' und fester als die Früchte von 'Elsanta' und 'Darselect'. P-14022 wurde als Kandidat für eine Prüfung unter Praxisbedingungen ausgewählt und verschiedenen Betrieben zur Testung angeboten.

4.2 Virusfreimachung, Vermehrung und Testung selektierter Zuchtklone in der Praxis

Derzeit gibt es nur sehr wenige Anbieter in Deutschland für eine Virusfreimachung von Erdbeerpflanzen. Die meisten sind nicht in der Lage, das gesamte Verfahren von der Wärmetherapie bis zur Meristemkultur, *In-vitro*-Vermehrung und Nachtestung anzubieten. Einzelne Teilschritte sind am Lehr- und Forschungsbereich Gartenbauwissenschaften des Instituts für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz der Universität Bonn (Wärmetherapie) oder bei der Firma Hortilab (Meristemkultur, *In-vitro*-Vermehrung, Bewurzelung, Abhärtung) etabliert. Demgegenüber bietet die Firma Elsner pac[®] Vertriebsgesellschaft mbH in Dresden nahezu das gesamte Verfahren als Paket an. Lediglich im Bereich der Nachtestung können noch nicht alle Virustests als Service angeboten werden. Diese Tests wurden aber im Rahmen dieses Projektes am JKI in Dresden etabliert, so dass eine erfolgreiche Virusfreimachung gewährleistet werden kann. Im Herbst 2017 wurden Pflanzen des Zuchtklons P-14022 an die Firma Elsner pac[®] Vertriebsgesellschaft mbH zur Virusfreimachung übergeben. Im Herbst 2018 standen dann zehn virusfreie *In-vitro*-Sprosse sowie sechs bewurzelte, abgehärtete Topfgrünpflanzen des Zuchtklons P-14022 als Ausgangsmaterial für eine Vermehrung zur Verfügung. Die Topfgrünpflanzen wurden zum Aufbau eines virusfreien Stocks (Erhaltung) sowie als Pollenspender für weitere Kreuzungen genutzt, die *In-vitro*-Pflanzen für die Vermehrung und den Aufbau von Material für eine Testung unter Praxisbedingungen. Im Sommer 2019 wurden virusfreie getopfte Grünpflanzen an folgende Partner zur Testung abgegeben:

- Obstversuchsgut Heuchlingen (50 Stück),
- Landwirtschaftskammer NRW (50 Stück) und
- Obst- und Landbau Seemann (100 Stück).

Mit diesen Partnern wurden im Vorfeld über die Deutsche Saatgutgesellschaft mbH (DSG), dem Lizenzbüro des JKI, Materialsicherungsverträge abgeschlossen. Die ersten Ergebnisse aus diesen Tests sind im Sommer 2020 zu erwarten.

4.3 Erstellung von neuem Zuchtmaterial

Im Verlauf des Projektes wurde kontinuierlich an der Erstellung von neuem Zuchtmaterial gearbeitet. Dennoch gab es einige Probleme, die zu einem veränderten Ablauf der geplanten Arbeiten geführt haben. Die ursprünglich für 2018 geplanten Kreuzungen mit Zuchtklonen aus dem/unserem Versuchsfeld konnten nicht im Gewächshaus durchgeführt werden. Grund war eine Infektion des Erdbeerzüchtungsbestandes mit *Xanthomonas fragariae* im Sommer 2017. Um dennoch Kreuzungen realisieren zu können, wurden mit den Sorten 'Allegro', 'Clery', 'Daroyal' und 'Faith' sowie dem Pillnitzer Zuchtklon P-7188 alternative Kreuzungseltern gefunden. Mit diesen Genotypen wurde im Frühjahr 2018 ein halbseitiger dialleler Kreuzungsansatz realisiert. Die aus diesen Kreuzungen resultierenden Samen wurden anschließend ausgesät und im Herbst 2018 gepflanzt (Tabelle 2). Im darauffolgenden Jahr konnten ebenfalls keine der ursprünglich geplanten Kreuzungen durchgeführt werden. Auch im Sommer 2018 gab es im Versuchsfeld des JKI eine starke Infektion mit *Xanthomonas fragariae*. Mit den Sorten 'Sonata', 'Asia', 'Rumba' und 'Sensation' sowie dem Zuchtklon P-14022 wurden alternative Kreuzungseltern gefunden. Mit diesen Eltern wurden Kreuzungen realisiert, die Samen geerntet und anschließend ausgesät. Im Herbst 2019 wurden die Kreuzungsnachkommen dann ins Versuchsfeld gepflanzt.

Insgesamt wurden in den beiden Jahren 9.185 Kreuzungsnachkommen erzeugt, gepflanzt und im Feld bonitiert.

Tabelle 2: Im Rahmen des Projektes realisierte Kreuzungen sowie die Anzahl der daraus resultierenden Kreuzungsnachkommen

Jahr	Kreuzung	Mutter	Vater	Anzahl Pflanzen
Aussaat und Pflanzung 2018	Erd18K1	Faith	Daroyal	600
	Erd18K2	Faith	Clery	600
	Erd18K3	Faith	Allegro	584
	Erd18K4	Faith	P-7188	360
	Erd12K5	Clery	Daroyal	2
	Erd18K6	Daroyal	Allegro	312
	Erd18K7	Daroyal	P-7188	312
	Erd18K8	Clery	Allegro	512
	Erd18K9	Clery	P-7188	504
	Erd18K10	Allegro	P-7188	376
Aussaat und Pflanzung 2019	Erd19K1	Sonata	Asia	576
	Erd19K2	Sonata	Sensation	600
	Erd19K3	Rumba	Sonata	240
	Erd19K4	Sonata	P-14022	600
	Erd19K5	Asia	Sensation	600
	Erd19K6	Asia	Rumba	256
	Erd19K7	Asia	P-14022	592
	Erd19K8	Sensation	Rumba	391
	Erd19K9	Sensation	P-14022	600
	Erd19K10	Rumba	P-14022	568

Von den 4.162 Nachkommen der im Jahr 2018 durchgeführten Kreuzungen wurden die 14 Pflanzen P18K04070, P18K04080, P18K03060, P18K10060, P18K03050, P18K08030, P18K02030, P18K08040, P18K02040, P18K07020, P18K01020, P18K07010, P18K01010 und P18K06090 selektiert, vermehrt und im Jahr 2019 als A-Klone aufgepflanzt. Diese Klone werden 2020 weiter selektiert. Die Besten werden dann als B-Klone weitergeführt. Die 5.023 Nachkommen der im Jahr 2019 durchgeführten Kreuzungen werden 2020 das erste Mal selektiert. Die besten Einzelpflanzen werden im Sommer vermehrt und im Herbst als A-Klone aufgepflanzt.

4.4 Auswahl eines geeigneten Zuchtklons und Übergabe an den Projektpartner

Von den Zuchtklonen, die zum Zeitpunkt des Projektstartes am JKI bereits verfügbar und vorselektiert waren, wurden die Klone P-7188 ('Alba' frei abgeblüht) und P-8049 ('Juline' x Fra.2) ausgewählt und in die *In-vitro*-Kultur überführt. Die Inkulturnahme erfolgte dabei mittels Meristemkultur durch die Firma Hortilab in Telgte (Deutschland). Vor der Inkulturnahme wurde das Pflanzenmaterial mittels Nested-PCR auf Befehl mit *Xanthomonas fragariae* getestet. Nach der Meristemkultur wurden von jedem Zuchtklon Einzelpflanzen bewurzelt, abgehärtet und ins Gewächshaus überführt. Diese Pflanzen wurden dann mittels PCR auf Befehl mit den Viren SMOV, SCV, SVBV und SMYEV getestet. Dabei waren alle Pflanzen negativ (nicht befallen). Gleichzeitig wurde der Nested-PCR-Test auf *Xanthomonas fragariae* wiederholt. Dieser Test war ebenfalls negativ. Im Anschluss wurden beide Zuchtklone *in vitro* vermehrt, sodass dem

Projektpartner in Köln-Auweiler im September 2017 jeweils 200 virusgetestete Topfgrünpflanzen je Zuchtklon übergeben werden konnten.

Im Herbst 2018 erfolgte eine erneute *In-vitro*-Vermehrung des Zuchtklons P-7188. Um einen einwandfreien phytosanitären Zustand des Vermehrungsmaterials zu gewährleisten, wurden Einzelpflanzen bewurzelt, abgehärtet, ins Gewächshaus überführt und auf Befehl mit den genannten Pathogenen getestet. Anschließend wurden 400 *In-vitro*-Pflanzen von P-7188 ins Gewächshaus überführt und dem Projektpartner in Köln-Auweiler als virusgetestete Topfgrünpflanzen zur Verfügung gestellt.

4.5 Etablierung von Methoden zur Nachtestung von Pflanzenmaterial

Der Nachweis von *Xanthomonas fragariae* sowie den viralen Erregern SMYEV, SCrV, SVBV und SMOV war mit den in der Literatur beschriebenen Methoden routinemäßig möglich. Abbildung 3 zeigt ein Beispiel zum Nachweis von *Xanthomonas fragariae* mittels Nested-PCR.

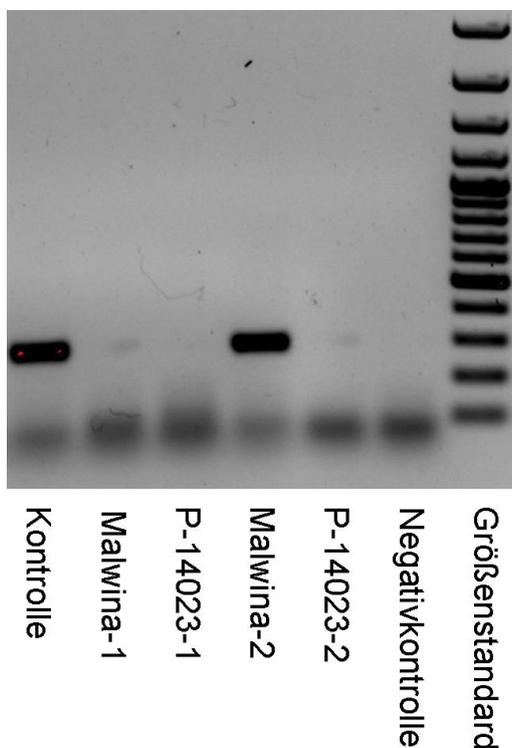


Abbildung 3: Nested-PCR zum Nachweis von *Xanthomonas fragariae* in Erdbeerpflanzen. Die Zahlen 1 und 2 geben den jeweiligen Schritt der Nested-PCR an. Der Nachweis des Erregers war sowohl in der Kontrolle als auch in einer Probe der Sorte 'Malwina' möglich.

Da diese Verfahren jedoch eine umfangreiche technische Ausstattung erfordern (Thermocycler, Gelelektrophorese, Geldokumentationseinheit), die in den meisten Vermehrungsbetrieben nicht verfügbar ist, wurde parallel an der Etablierung von Nachweismethoden gearbeitet, die auf einer isothermalen PCR (Loop-mediated isothermal amplification oder kurz LAMP-PCR) basieren. Für solche Nachweisverfahren wird lediglich ein Heizblock benötigt. Die Etablierung und routinemäßige Anwendung von LAMP-PCR-Verfahren wäre damit problemlos in jedem Betrieb möglich.

Für die Etablierung LAMP-PCR-basierter Nachweisverfahren wurden verschiedene Primerkombinationen für *Xanthomonas fragariae*, SVBV und SMYEV anhand von genomischen Sequenzen dieser Schaderreger abgeleitet. Dafür wurden die genomischen Sequenzen aus der Datenbank des National Center for Biotechnology Information

(www.ncbi.nlm.nih.gov) heruntergeladen und für das Primer-Design mit der Software Primerexplorer4 (<https://primerexplorer.jp/e/hilfe>) benutzt. Anschließend wurden die Primer an isolierter DNA bzw. an cDNA von nachweislich infizierten Erdbeerpflanzen getestet. Dabei wurden sowohl verschiedene Konzentrationen an Proben-Template, als auch an Primern und anderen PCR-Zutaten verwendet. Der prinzipielle Nachweis der Erreger war mittels LAMP-PCR möglich. Abbildung 4 zeigt ein Beispiel für das SVBV-Virus. Schwierigkeiten gab es jedoch mit der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sowie dem Auftreten falsch-positiver Erregernachweise infolge geringster Kreuzkontaminationen.

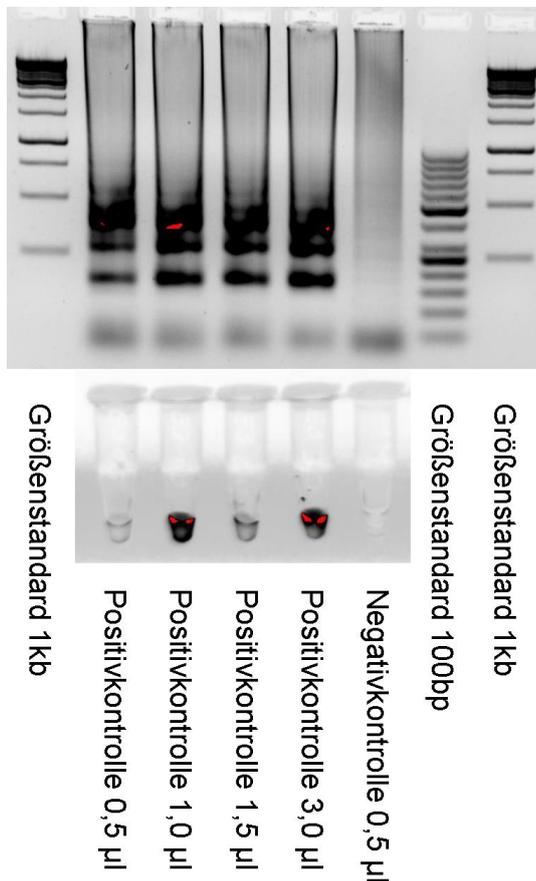


Abbildung 4: Nachweis des SVBV-Virus an cDNA von Erdbeere mittels LAMP-PCR. Der Nachweis erfolgte sowohl mithilfe von Agarosegelelektrophorese als auch anhand eines SYBR-Green-basierten Farbumschlages.

Im Ergebnis zahlreicher Experimente zeigte es sich, dass die LAMP-PCR sehr sensitiv ist. Schon geringste Verunreinigungen können zu falsch-positiven Ergebnissen führen. Um das zu vermeiden, wurden die Reaktionen in getrennten Laboren vorbereitet und durchgeführt. Dennoch kam es immer wieder zu ungewollten Kontaminationen. Nach wiederholtem Auftreten falsch-positiver Reaktionen unter Laborbedingungen wurde dieses Verfahren vorerst als ungeeignet für die Testung unter Praxisbedingungen eingestuft. Hier ist weitere Entwicklungsarbeit notwendig.

4.6 Anmeldung eines möglichen Kandidaten zum Sortenschutz

Keiner der bislang unter den Bedingungen des ökologischen Anbaus getesteten Zuchtklone war so gut, dass er eine Verbesserung im aktuellen Sortiment darstellt. Aus diesem Grund wurde bislang noch keine Sorte zum Sortenschutz angemeldet. Der Zuchtklon P-14022 befindet sich noch in Testung bei drei Praxispartnern. Ob dieser Klon geeignet ist, bleibt abzuwarten. Darüber hinaus sind im Rahmen des Projektes weitere

Zuchtklone entstanden. Diese werden in den nächsten Jahren weiter selektiert. Ob einer dieser Zuchtklon geeignet ist, bleibt ebenfalls abzuwarten.

5. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit

Von den Zuchtklonen, die zu Beginn des Projektes bereits am JKI verfügbar waren, wurde der Klon P-14022 für den Anbau unter ökologischen Bedingungen ausgelesen. Von diesem Klon wurde virusfreies Vermehrungsmaterial hergestellt und bei drei Praxispartnern in Anbautests gegeben. Ob dieser Klon zum Sortenschutz angemeldet wird, hängt von den Ergebnissen dieser Tests ab. Bislang ist noch nicht abschätzbar, ob dieser Klon für den Obstbau künftig von Nutzen sein wird. Ähnlich ist die Situation bei dem neu aufgebauten Zuchtmaterial. Ob einer der bislang ausgelesenen Zuchtklone eine Verbesserung im Sortiment darstellen wird, kann derzeit noch nicht abgeschätzt werden.

Die Standardmethoden zum Virusnachweis sowie zum Nachweis von *Xanthomonas fragariae* wurden erfolgreich am JKI etabliert. Diese Methoden werden bereits jetzt routinemäßig zum Aufbau einer virusfreien Sammlung traditioneller Erdbeersorten im Rahmen der Deutschen Genbank Obst (DGO) angewandt. Die DGO hält dieses Material für Züchter, aber auch für Liebhaber sowie verschiedene regionale Projekte und Verwendungszwecke vor. Damit sind diese Methoden für einen breiten Kreis von Interessenten von Nutzen.

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

Ein Ziel des Projektes bestand in der fortlaufenden Evaluierung bereits existierender Zuchtklone auf Eignung für den ökologischen Anbau. Dafür wurden vier existierende Zuchtklone der höchsten Selektionsstufe (C-Klone) über drei Jahre in einem fungizidfreien Quartier im Vergleich zu Standardsorten bewertet. Von diesen vier Klonen wurde der Klon P-14022 als ausgelesen und gemäß dem zweiten Ziel des Vorhabens einer Virusfreimachung zugeführt. Anschließend wurden virusfreie Pflanzen dieses Zuchtklons aufgebaut und den drei Praxispartnern Obstversuchsgut Heuchlingen, Landwirtschaftskammer NRW sowie Obst- und Landbau Seemann zur Bewertung unter den Bedingungen des ökologischen Anbaus zugeführt. Eine Entscheidung über diesen Zuchtklon konnte bislang noch nicht gefällt werden, da erst im Jahr 2020 mit ersten Ertragsergebnissen zu rechnen ist.

Parallel dazu wurde, wie im dritten Ziel des Projektes formuliert, kontinuierlich am Aufbau von neuem Zuchtmaterial gearbeitet. Im Verlauf des Projektes wurden insgesamt 9.185 Kreuzungsnachkommen aus 20 verschiedenen Kreuzungen erzeugt sowie 14 Zuchtklone (A-Klone) ausgelesen. Dieser Prozess ist noch nicht abgeschlossen, da das in 2019 erzeugte Pflanzenmaterial noch weiter evaluiert werden muss.

Mit der Auswahl von Klon P-7188 und der Bereitstellung von Versuchspflanzen für den Projektpartner in Köln-Auweiler in den Jahren 2017 und 2018 wurde auch die vierte Zielstellung des Projektes erreicht.

Das Ziel der Etablierung von Methoden zur Nachtestung von Pflanzenmaterial aus der Meristemvermehrung und Mutterpflanzenhaltung konnte nur teilweise erreicht werden. Der Nachweis von verschiedenen Erregern war zwar sowohl mit klassischen Methoden (PCR, RT-PCR, Nested-PCR) als auch mit LAMP-PCR möglich, jedoch erscheinen die LAMP-PCR-basierten Protokolle bislang für einen Routineeinsatz in der Praxis ungeeignet. Aufgrund der hohen Sensitivität dieser Verfahren kommt es gelegentlich zur Detektion von falsch-positiven Proben. Hier ist noch weitere Entwicklungs- und Optimierungsarbeit notwendig.

Die Anmeldung eines möglichen Kandidaten zum Sortenschutz war bislang nicht möglich. Ob der Klon P-14022 ein geeigneter Kandidat ist, wird sich in den nächsten Jahren erst herausstellen.

Ziel 1	Evaluierung bereits existierender Zuchtklone auf Eignung für den ökologischen Anbau	
Ziel 2	Virusfreimachung und Vermehrung selektierter Zuchtklone sowie deren Testung bei Partnern unter den Bedingungen der Anbaupraxis	
Ziel 3	Erstellung von neuem Zuchtmaterial	
Ziel 4	Auswahl eines geeigneten Zuchtklons und Übergabe von virusfreiem Ausgangsmaterial an den Projektpartner in Köln-Auweiler	
Ziel 5	Etablierung von Methoden zur Nachtestung von Pflanzenmaterial aus der Meristemvermehrung und Mutterpflanzenhaltung	
Ziel 6	Anmeldung eines möglichen Kandidaten zum Sortenschutz	

7. Zusammenfassung

Ziele des Projektes waren die Züchtung, Prüfung und Bereitstellung von neuen Sortenkandidaten für den ökologischen Anbau sowie die Etablierung von Methoden und Verfahren zur Prüfung von Pflanzenmaterial auf Pathogenfreiheit zur Optimierung der Prozesse, welche der Mutterpflanzenhaltung vor- und nachgelagert sind.

Ausgehend von vier bereits am JKI existierenden Zuchtklonen der höchsten Selektionsstufe (C-Klone) konnte mit Klon P-14022 ein geeigneter Kandidat für eine Prüfung unter den Bedingungen der ökologischen Anbaupraxis ausgewählt werden. Dieser Zuchtklon wurde einer Virusfreimachung zugeführt und anschließend drei Praxispartnern zur Testung übergeben. Eine endgültige Entscheidung über die Eignung dieses Zuchtklons war bislang noch nicht möglich. Hierfür müssen erst die Praxistests abgeschlossen werden. Parallel dazu wurde am Aufbau von neuem Zuchtmaterial gearbeitet. Insgesamt wurden in 20 Kreuzungen 9.185 Kreuzungsnachkommen erzeugt und 14 neue Zuchtklone ausgelesen.

Die Etablierung von Methoden zur Nachtestung von Pflanzenmaterial war nur zum Teil möglich. Der Nachweis von Erregern mithilfe von in der Literatur beschriebenen Verfahren war problemlos möglich. Die anschließend entwickelten LAMP-PCR-basierten Protokolle erscheinen jedoch bislang aufgrund ihrer hohen Sensitivität für einen Routineeinsatz in der Praxis ungeeignet.

8. Literaturverzeichnis

- Bertolini, E. et al. (2003) Multiplex nested reverse transcription-polymerase chain reaction in a single tube and simultaneous detection of four RNA viruses and *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* in olive trees. *Phytopathology* 93.9:286-292.
- Bestfleisch, M. (2015) Resistance and systemic dispersal of *Xanthomonas fragariae* in strawberry germplasm (*Fragaria* L.). *Plant Pathology* 64(1) 71-80.
- Harper, S.J. et al. (2011) Detection of Tomato black ring virus by real-time one-step RT-PCR. *Journal of virological methods* 171.1: 190-194.
- Notomi, T. et al. (2000) Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research* 28(12):E63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63.
- Post-Entry Quarantine Testing Manual of Ministry for Primary Industries (Manatu Ahu Matua, New Zealand).

Tang, J. et al. (2014) Sensitive detection of Tomato ringspot virus by real-time TaqMan RT-PCR targeting the highly conserved 3'UTR region. *Journal of virological methods* 201: 38-43.

Thompson, J. et al. (2003) Multiplex RT-PCR detection of four aphid-borne strawberry viruses in *Fragaria spec.* In combination with a plant mRNA specific control. *Journal of Virological Methods* 111.2: 83-93.

9. Öffentlichkeitswirksame Aktivitäten

Von Reth M. (2017) PiOData: Nutzungsmöglichkeiten zur Dokumentation und Auswertung in der Beerenobstzüchtung. Vortrag. GPZ Tagung AG 19: Obst, Gehölze, Reben, Siebeldingen, 29.-30.08.2017

Wöhner T. (2018) Methoden zum Nachweis von Viren im Obst - eine Übersicht. Informationsstand, Lange Nacht der Wissenschaften, Dresden, 15.06.2018

Flachowsky H. (2017) Probleme bei der Züchtung von Erdbeeren. Poster. 13. Pillnitzer Apfeltag, Dresden-Pillnitz, 07.10.2017

Von Reth M. (2017) Aktuelle Anforderungen an die Züchtung von Beerenobst. Informationsstand und Versuchsfeldführung, Pillnitzer Gartentag 2017, Dresden-Pillnitz, 01.07.2017

Flachowsky H. (2017) Praktische Probleme bei der Züchtung neuer Beerenobstsorten. Versuchsfeldführung, Studenten der MLU Halle-Wittenberg, Dresden-Pillnitz, 15.06.2017

Flachowsky H. (2017) Erdbeerzüchtung. Poster. 14. Pillnitzer Apfeltag, Dresden-Pillnitz, 06.10.2018

Von Reth M. (2018) Aktuelle Arbeiten im Bereich der Beerenobstzüchtung. Informationsstand und Versuchsfeldführung, Pillnitzer Gartentag 2018, Dresden-Pillnitz, 30.06.2018

Von Reth M. (2018) Vorstellung des Projektes zur Erzeugung von ökologischem Pflanzgut bei Erdbeere. Vortrag, Tag der Wissenschaft, Dresden-Pillnitz, 22.11.2018

Flachowsky H. (2017) Probleme in der Erdbeerzüchtung. Poster. 15. Pillnitzer Apfeltag, Dresden-Pillnitz, 12.10.2019

Pinczinger D. (2019) Die Beerenobstzüchtung am JKI in Dresden-Pillnitz. Informationsstand und Versuchsfeldführung, Pillnitzer Gartentag 2019, Dresden-Pillnitz, 07.06.2019