

Dauerhafte Resistenz gegen den Nematoden *Meloidogyne chitwoodi*

Der Nematode *Meloidogyne chitwoodi* wurde bereits im westlichen Europa nachgewiesen und stellt in einzelnen Regionen ein ernst zu nehmendes Problem für den Kartoffelanbau dar. Weiter verstärkt wird das Problem dadurch, dass im aktuellen Kartoffelsortiment keine Resistenzen gegen *M. chitwoodi* vorhanden sind und ein Fruchtwechsel aufgrund des breiten Wirkkreises dieser Art kaum zur Eindämmung geeignet ist.

Dr. Janine König, Prof. Dr. Johannes Hallmann und Prof. Dr. Frank Ordon, Julius Kühn-Institut, Quedlinburg, Dr. Eckhard Tacke, Dr. Stefanie Hartje und Dr. Hans-Reinhard Hofferbert, Böhm-Nordkartoffel-Agrarproduktion GmbH & Co. OHG

Die Entwicklung von Sorten mit einer dauerhaften Resistenz gegen *M. chitwoodi* könnte hier Abhilfe schaffen. Aufgrund der komplexen Vererbung einer Vielzahl von wertgebenden Merkmalen in der tetraploiden Kartoffel mit zehnjährigen Kreuzungs- und Selektionszyklen ist eine vorausschauende Züchtung unerlässlich. Dies gilt insbesondere für Resistenzen, die aus Wildarten eingekreuzt werden müssen, da sich in diesem Fall der Züchtungsgang noch deutlich verlängert. Erste Arbeiten hierzu erfolgen im Rahmen eines von der Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe geförderten Forschungsvorhabens, welches vom Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen und der Böhm-Nordkartoffel-Agrarproduktion GmbH & Co. OHG durchgeführt wird.

In Rahmen dieses Projektes wurde ein resistenter Elter mit anfälligen Sorten gekreuzt. Die Resistenztestung der Nachkommen dieser Kreuzungen weist ein Spaltungsverhältnis von resistenten zu anfälligen Linien auf, welches auf ein durch ein einziges Gen bedingtes Merkmal schließen lässt. Mittels molekularer Marker konnte die Region, in der sich das Zielgen befindet, auf Chromosom XI lokalisiert werden. Da es sich um ein aus einer Wildart eingekreuztes Resistenzgen handelt, wurden neben dem Zielgen auch weitere Erbinformationen (Introgression) der Wildart übertragen, die für unerwünschte Eigenschaften kodieren. Im Weiteren sollen diagnostische Marker entwickelt und die Größe der Introgression reduziert werden.

In einem anderen Projektteil sollen ausgewählte Wildart-Akzessionen aus der Genbank mit den diagnostischen Markern der Chromosom-XI-Resistenz analy-



Befall von Kartoffelknollen mit *Meloidogyne chitwoodi*. Deutlich zu erkennen sind die wulstartigen Anschwellungen, unter denen die Nematoden sitzen.

siert werden. Zeigen Linien ohne das entsprechende Markersignal Resistenz, ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass es sich um ein unterschiedliches Resistenzgen handelt. Ziel ist es, durch Pyramidisierung von funktionell unterschiedlichen Resistenzen eine möglichst dauerhafte Resistenz gegen *M. chitwoodi* für einen nachhaltigen Anbau von Stärkekartoffeln zu generieren.

Biologie von *M. chitwoodi*

Die Infektion der Kartoffelpflanzen auf dem Feld erfolgt durch das zweite Juvenilstadium (J2) des Nematoden, das in die Wurzeln und neu gebildeten Knollen der

Kartoffel eindringt. Unter der Knollenoberfläche wird die Bildung eines spezifischen Nährgewebes induziert, von dem sich der Nematode über den gesamten Lebenszyklus ernährt. Ein starker Befall an den Wurzeln führt zu vermindertem Wuchs und Welke-Erscheinungen. Bei Befall von neu gebildeten Knollen kommt es zudem zu hohen Qualitätsverlusten durch wulstartige Verdickungen, die durch die unter der Schale sitzenden Tiere verursacht werden.

Resistenzen in Wildarten entdeckt

Auch wenn in dem aktuellen Kartoffelsortiment bisher keine Resistenzen gegen

gen *M. chitwoodi* vorhanden sind, wurden bereits in den 90er-Jahren in den USA die Kartoffelwildarten *Solanum hoggasii*, *S. bulbocastanum* und *S. fendleri* als Resistenzträger identifiziert. Aus allen drei Herkünften wurden orthologe Resistenzgene auf dem Chromosom XI lokalisiert, welche jedoch mit negativen Eigenschaften der Wildart gekoppelt sind, die zu Ertrags-einbußen führen und somit durch Auskreuzung entfernt werden müssen. Um dies effizient durchführen zu können, sind molekulare, diagnostische Marker ein geeignetes Hilfsmittel.

Für ein nachhaltiges Resistenzmanagement ist es zudem essenziell, dass einander komplementierende Resistenzen kombiniert werden (Pyramidisierung), um so eine Selektion resistenzbrechender Isolate zu verzögern bzw. zu verhindern. In vorangegangenen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Resistenzgene aus den drei Kartoffelwildarten wahrscheinlich funktionell identisch sind und sich daher nicht für eine Pyramidisierung eignen. Für das Forschungsvorhaben ergaben sich damit folgende Ziele: (1) Entwicklung diagnostischer Marker für den Resistenzlocus $R_{MC1-b1b}$ und (2) Identifikation von weiteren Resistenzquellen in Wildart-Akzessionen.

Vorgehen im Züchtungsprojekt

Für die Entwicklung diagnostischer Marker wurde eine tetraploide BC6-Population mit 186 Individuen analysiert. Die phänotypische Charakterisierung der Wurzelresistenz erfolgte im Topfversuch. Hierzu wurden die Pflanzen mit 1.500 J2 von *M. chitwoodi* inokuliert. Nach acht Wochen erfolgte die Bestimmung der Vermeh-



Wurzelresistenztestung an selektierten Wildartakzessionen.

rungrate (= Endbesatz/Anzahl inokulierter Nematoden). Bei einer Vermehrungsrate < 1 wurden die Linien als resistent bezeichnet, bei einer Vermehrungsrate > 1 als anfällig.

Für die genotypischen Analysen wurden STS-, SSR- und DArTseq-Marker verwendet. Basierend auf diesen Ergebnissen konnten genetische Karten für die Rückkreuzungspopulation generiert werden. Mittels dieser Karten und den phänotypischen Daten zur Wurzelresistenz erfolgte die Lokalisation des Resistenzgens.

Zur Entwicklung diagnostischer Marker wurden die PCR-Produkte der nächstgelegenen Primer sequenziert und analysiert bzw. wurde mit den Sequenzdaten der

DArTseq-Marker ein Vergleich der Homologien im Kartoffelgenom durchgeführt.

Für die Identifikation von neuen Resistenzen wurden 300 Akzessionen aus acht unterschiedlichen Wildarten untersucht. Die Auswahl erfolgte aufgrund vorhandener Resistenzinformationen aus der holländischen Genbank CGN (Centre for Genetic Resources in the Netherlands).

Ergebnisse

Die Resultate der Wurzelresistenzprüfung der spaltenden Nachkommenschaft für $R_{MC1-b1b}$ zeigen eine deutliche 1:1-Spaltung ($\chi^2 = 0,3$) mit einer scharfen Abgrenzung zwischen resistenten und anfäl-



Für gewaschene oder ungewaschene Knollen!

VISAR
SORTING
swiss made

And it works!
www.visar-sorting.com

SORTOP POTATOES

Leistungstarker optischer Sortierer

Die beste Sortierung



Die beste Leistung

Mehr Info : +41 21 887 03 01 info@visar-sorting.com

ligen Linien (Abbildung). Dieses Ergebnis lässt auf eine monogene Vererbung des Merkmals schließen.

Insgesamt wurden 50.408 Marker über 186 Linien analysiert, von denen 12.498 Marker (24,8 %) Unterschiede im resistenten und anfälligen Elter aufwiesen (polymorph). Die polymorphen Marker konnten zwölf Kopplungsgruppen zugeordnet werden, welche mit den zwölf Chromosomen der Kartoffel übereinstimmen, d. h. das Genom der Kartoffel abdecken.

Auf dem Chromosom XI wurden insgesamt 906 Marker kartiert, welche 852 Loci repräsentieren. Durch die Kombination der genetischen Karte mit den phänotypischen Daten konnte das Resistenzgen R_{MC1} in einem Intervall von 1 cM kartiert werden. Bemerkenswert ist, dass der Marker STS 4 mit dem Resistenzlocus cosegregiert, das bedeutet, dass dieser Marker in der Kartierungspopulation zu 100 % mit der Resistenz korreliert. Mit diesem Marker kann also in der vorliegenden Population die Resistenz vorausgesagt werden. Dies gilt jedoch nur in dieser Population.

Für die Entwicklung universell einsetzbarer, diagnostischer Marker für R_{MC1} wurden zunächst die Sequenzen der Marker aus dem Zielintervall mit Sequenzen der physikalischen Karte (*S. tuberosum* ssp. *phureja*) verglichen (Homologievergleich, BLAST). Dadurch konnte die aus *S. bulbocastanum* stammende Introgression (ein-



Mithilfe des Mundstachels dringt der Nematode in die Wurzel bzw. in neu gebildete Tochterknollen ein und induziert dort ein Nährgewebe.

Fotos: Julius Kühn-Institut

gekreuztes Chromosomenstück) deutlich identifiziert werden.

Weiteres Vorgehen

Ein wichtiges Kriterium für die Nutzbarmachung der Resistenz gegen *M. chitwoodi* ist die Reduktion der Wildart-Introgression

, die das Resistenzgen umgibt, da die Vermutung besteht, dass sie unerwünschte Merkmale wie späte Reife, hohen Alkaloidgehalt, kleine Knollen und sehr helle Fleischfarbe tragen könnte. In der Kartierungspopulation konnten 18 Linien mit einer stark verkürzten Introgression identifiziert werden. Die am besten angepassten Linien werden momentan mit Sorten zurückgekreuzt, um die Introgression weiter zu verkürzen und die Übertragung der Resistenz in Sorten zu erleichtern.

Ein zweiter wichtiger Aspekt des Forschungsvorhabens ist die Suche nach neuen Resistenzen, um durch Pyramidisierung unterschiedlicher Resistenzmechanismen eine möglichst dauerhafte Resistenz in Sorten etablieren zu können. Hierfür wurden insgesamt 300 Akzessionen aus acht unterschiedlichen Wildarten als *In-vitro*-Pflanzen angezogen und mit dem cosegregierenden Marker STS 4 analysiert. 34 Linien zeigten kein Markersignal und wurden in die Wurzelresistenztestung aufgenommen (siehe Bild).

Diese Pflanzen sind besonders interessant, da sie kein resistenzspezifisches Markerallel für das Resistenzgen R_{MC1} zeigen und sie im Falle einer resistenten Phänotypisierung mit hoher Wahrscheinlichkeit ein neues Resistenzgen besitzen. Von den 34 phänotypisierten Wildartlinien waren 9 resistent. Mit diesen Linien werden nun Kreuzungen durchgeführt, um die neuen Resistenzen in den entstehenden Populationen identifizieren zu können. <<

Danksagung

Wir danken für die Förderung des Projektes durch die finanzielle Unterstützung des BMEL über die FNR als Projektträger (FKZ: 22007016)

Dr. Janine König
Julius Kühn-Institut, Quedlinburg
janine.koenig@julius-kuehn.de

Abbildung: Spaltung der Kartierungspopulation anhand des Vermehrungsfaktors nach der Infektion mit den J2-Nematoden von *Meloidogyne chitwoodi*

Die rote Linie zeigt den Grenzwert zwischen resistenten und anfälligen Linien

