

Abschlussbericht 2011/2012

Pilotprojekt Cryokonservierung mit der dormant bud Methode

04-NAP-P25



ZHAW Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften

Grüental

Postfach

8820 Wädenswil

Wädenswil, November 2012

Julia Angstl, Projektleitung 04-NAP-P25

1 Zusammenfassung der Resultate des Berichtsjahre 2011 und 2012

Im Projektjahr 2011 konnten 17 Akzessionen erfolgreich cryokonserviert und veredelt werden. Die Auswahl der Akzessionen erfolgte in Zusammenarbeit mit Kaspar Hunziker (ACW) und stütze sich auf die NAP-PGREL-Positivliste. Der Schnitt der Edelreiser der ausgewählten Akzessionen erfolgte am 27.01.2011 in der Sortensammlung bei Urs Heinzelmann, Riedern 41, 9325 Roggwil mit einer Sonderbewilligung zur Verschiebung von Vermehrungsmaterial von Kernobstgehölzen zwischen NAP-Sammlungen ohne Pflanzenpass sowie in der Sammlung an der ZHAW.

Im Anschluss an die Dehydrierung bei -5°C wurden die Edelreisertriebstücke mit je einer Knospe am 18.04.2011 in den Cryotank bei -196°C eingelagert.

02.05.2011 wurde mit der Rehydrierung im feuchten Torf begonnen, am 17.05.2011 konnten je 20 Augen pro Akzessionen durch den Baumschulisten der ACW veredelt werden. Eine erste Bonitur zur Beurteilung der Anwachsrate wurde im Juni 2011, eine zweite im September 2011 durchgeführt. Die Pflegemassnahmen während der Vegetationsperiode wurden von einem Mitarbeiter der ZHAW geleitet und durchgeführt.

Im Projektjahr 2012 konnten weitere 23 Akzessionen nach vorgegebenem Protokoll erfolgreich cryokonserviert werden. Der Schnitt der Edelreiser erfolgte wiederum in der Sortensammlung bei Urs Heinzelmann sowie in der Obstsortensammlung Hofen-Roggwil. Eine abschliessende Beurteilung der Veredelungen aus dem Projektjahr wurden im Frühjahr 2012 durchgeführt und wies zusammenfassend eine durchschnittliche Anwachsrate von 44 % auf. Basierend auf den Erfahrungen aus dem ersten Projektjahr, wurde auf die Herbstbonitur verzichtet, da die cryokonservierten Augen zu einem Grossteil im Folgejahr nach der Veredelung austreiben. Eine abschliessende Bonitur der Anwachsrate der 2012 veredelten Knospen kann erst im Frühjahr 2013 erfolgen und wird nachgereicht.

Die Pflegearbeiten in der Baumschule während der Vegetationsperiode wurden durch einen Mitarbeiter der ZHAW ausgeführt. Da eine exakte Ausführung der Veredelung entscheidend für eine erfolgreiche Anwachsrate ist, wurde diese wiederum durch den Baumschullisten der ACW durchgeführt.

Projektteam:

Projektleitung: Julia Angstl

Projektmitarbeiterin: Elena Rios

Veredelungen: Rolf Blapp (ACW)

Pflege Baumschule: Toni Gwerder (ZHAW)

2 Detaillierte Berichterstattung über die Ziele, Teilprodukte, Indikatoren usw.

Ziel 1: Cryokonservierung von 40 Apfelsorten aus der NAP-PGREL-Positivliste, welche sich als feuerbrandanfällig erwiesen.

Im Projektjahr 2011 konnten folgende 17 Akzessionen cryokonserviert werden:

Akzession	PL-Code
Ananas Reinette	14-001-30
Bernecker Wildling	14-001-97
Berner Rosen	14-001-99
Breitacher	14-001-148
Champagner Reinette	14-001-189
Cramoisie de Gascogne	14-001-1462
Edelfein	14-001-1754
Engishofer	14-001-311
Fraurotacher	14-001-361
Jakobler	14-001-1503
Lölis	14-001-1690
Menznauer Jäger	14-001-639
Reders Reinette	14-001-1446
Sonntagsapfel	14-001-635
Suurhänsele	14-001-1740
Usterapfel	14-001-1015
Winterzitrone	14-001-1070

Im Projektjahr 2012 konnten folgende 23 Akzessionen cryokonserviert werden:

Akzession	PL-Code
Astrachan	14-001-1679
Batschueli	14-001-1762
Berlepsch	14-001-96
Blauacher	14-001-124
Damason Reinette	14-001-243
Faustapfel	14-001-1505
Galmiz Gauwiler	14-001-1747
Goldparmäne	14-001-420
Gravensteiner	14-001-436
Jakob Lebel	14-001-507
Karabändler	14-001-1590
Kernar Apfel	14-001-1520
Leuenapfel	14-001-588
Muttech	14-001-1717
Ostercalvill	14-001-829
Rosenapfel	14-001-1848
Rouge de Lorrain	14-001-1863
Schüsseler	14-001-1696
Spartan	
Spitz	14-001-1618
Stäfner Rosen	14-001-947
Thurgauer Weinapfel	14-001-988
Tobiässler	14-001-994

Teilprodukt 1: Gemäss Methode im Projektantrag werden die Apfelknospen in Flüssigstickstoff konserviert und eine Erfolgskontrolle durchgeführt.

Die Cryokonservierung der 40 Akzessionen erfolgte nach dem von Towill und Ellis (2008) ausgearbeitetem und publiziertem Protokoll. Die Methode der Cryokonservierung ruhender Apfelknospen basiert auf Forschungsarbeiten des USDA-ARS National Center for Genetic Resources Preservation in Fort Collins, USA.

Die während der Winterruhe geschnittenen Edelreiser werden in einem ersten Schritt bei -5°C dehydriert und anschliessend schrittweise auf -30°C heruntergekühlt. Danach werden die Proben in Flüssigstickstoff (LN) bei -196°C eingelagert. Nach dem Auftauprozess werden die Knospen mittels Chip budding veredelt.

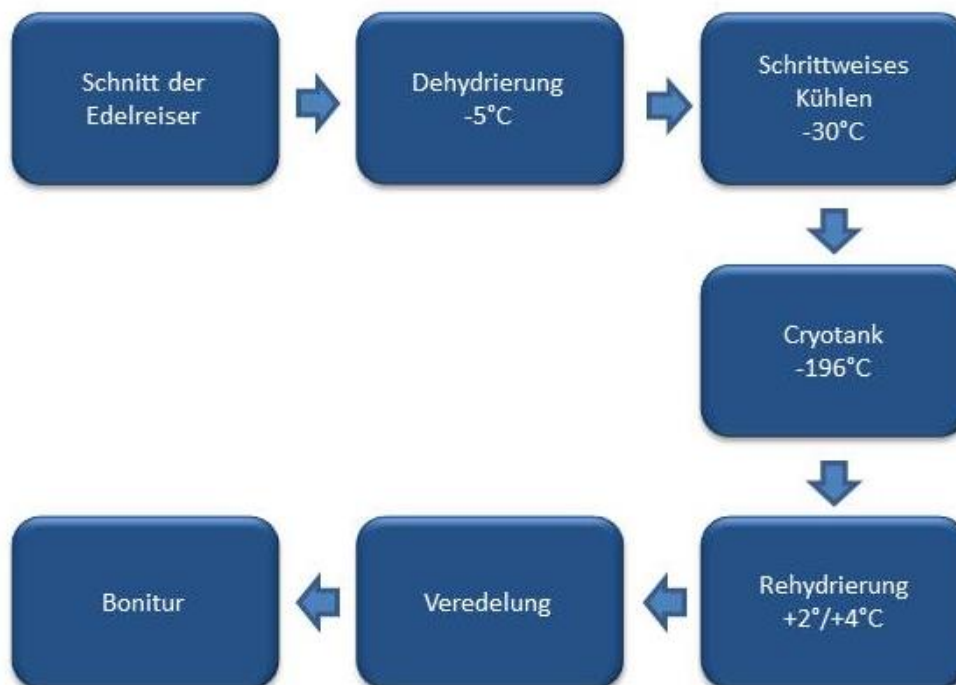


Abb.1: Schematische Darstellung der Arbeitsabläufe der Cryokonservierung.

Indikator: Anzahl konservierte Akzessionen, Bericht zur Erfolgskontrolle bis Ende 2013.

Da die cryokonservierten Knospen im Jahr der Veredelung erfahrungsgemäss nicht mehr durchtreiben, ist eine endgültige Beurteilung der Anwachsrate beider Projektjahre erst im Frühjahr 2013 möglich.

Die Bonitur erfolgt nach unten angezeigtem entwickeltem Schema:



1= chip abgefallen



2= chip angewachsen



3 = Knospe angeschwollen



4 = erstes Blattpaar sichtbar bzw. 5 = langer Austrieb

Abb. 2: Pilotprojekt Cryokonservierung 04-NAP-P25. Boniturschema der Anwachsrate (Herbstbonitur) von cryokonservierten Apfelknospen (J.Angstl, 2011)

Bonitur der Anwachsrate Cryokonservierung 2011/2012

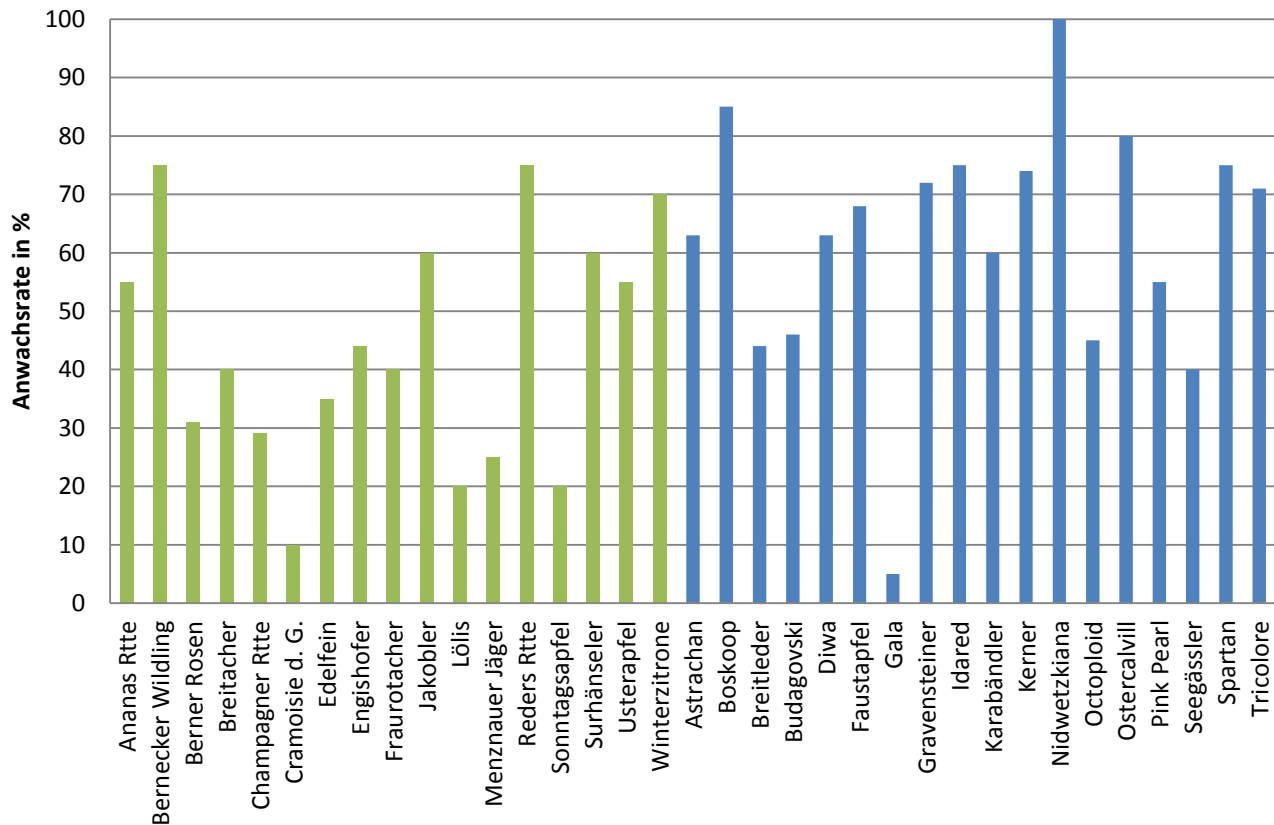


Abb. 3: Pilotprojekt Cryokonservierung 04-NAP-P25. Die Resultate der Anwachsrate (Abschlussbonitur) basieren auf einem Versuchsdurchgang im ersten Projektjahr (2011, grün) sowie zusätzlich auf die Bsc-Thesis von M. Langedger (2010, blau). Cryokonservierte Knospen treiben im Veredelungsjahr nicht mehr aus, die endgültige Beurteilung der Anwachsrate beider NAP-Jahren (2011/2012) erfolgt im Frühjahr 2013.

3 Schlussfolgerungen

Aus den Erfahrungen in den Jahren 2010-2012 zeigt sich, dass die Herbstbonitur eine geringe Aussagekraft und Verlässlichkeit bezüglich der Anwachsrate aufweist. Diese wurde im 2. Projektjahr verworfen.

Die durchschnittliche Anwachsrate im 1. NAP-Projektjahr beträgt 44%, die Anwachsrate der Bachelor-Thesis beträgt durchschnittlich 62%. Details siehe Abbildung 3.

Die endgültige Beurteilung der Anwachsrate der veredelten Augen 2012 ist noch ausstehend und erfolgt im Frühjahr 2013.

4 weitere Bemerkungen – Besonderheiten – Schwierigkeiten – Anträge

Die Cryokonservierung erfolgte in beiden Durchläufen exakt nach dem vorgegebenen Protokoll nach Towill L.E. (2008), alle Arbeitsschritte im Labor und Temperaturvorgaben wurden eingehalten. Welche Faktoren zu den unterschiedlichen Anwachsrate geführt haben, konnte abschliessend nicht geklärt werden. Ob es sich um sortentypische Unterschiede handelt, mangelnde Holzreife oder klimatische Aspekte handelt, ist zu verifizieren.

Eine abschliessende Aussage zur Anwachsrate ist erst im Frühjahr 2013 möglich, da die Augen im Jahr der Veredelung nicht mehr austreiben. Die zusammengefassten Resultate werden nachgereicht.

Um die Cryokonservierung schlafender Augen als langfristige Methode zur Absicherung der genetischen Ressourcen anwenden zu können, ist ein Qualitätsmanagement notwendig.

Eine durchschnittliche Anwachsrate von 40% je Akzession ist statistisch ausreichend bzw aussagekräftig und stellt sicher, dass genügend vitale Bäume zu einem späteren Zeitpunkt produziert werden können (Flussdiagramm siehe Anhang).

5 Anhänge

- Flussdiagramm Methodenbeschreibung QS

Quelle

Towill L.E., Ellis D.D. in Reeds B.M.: Plant Cryopreservation – a Practical Guide (2008), Springer.