

## Biologische Identität von Apfelrohware und Apfelprodukten: Vergleichende Bestimmung von Sorten anhand ihrer Chloroplastengenome mittels NGS-Methoden und Entwicklung einer kostengünstigen Downstream-Analytik

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle:</b>	Universität Hamburg Hamburg School of Food Science Institut für Lebensmittelchemie (AK Prof. Fischer) Prof. Dr. Markus Fischer/Dr. Boris Illarionov
<b>Industriegruppe(n):</b>	Fachverband Pektin e.V., Neuenburg Verband der Deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V. (VdF), Bonn
	Projektkoordinator: Dr. Konrad Naßl Bio-Streuobst Familie Naßl, Landwirtschaftliche Erzeugung, Aichach
<b>Laufzeit:</b>	2018 - 2021
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 331.620,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

In den letzten Jahren ist eine zunehmende Nachfrage nach regionalen Obstprodukten zu beobachten. Dabei werden neben etablierten auch alte Sorten und insgesamt eine größere Vielfalt nachgefragt. Dies betrifft sowohl die Rohware als auch die daraus hergestellten Produkte. Angaben zur Authentizität (Sortenangaben) sind zwar durch das Prinzip der dokumentenbasierten Rückverfolgbarkeit (z.B. Frachtpapiere) gesetzlich geregelt, allerdings ist diese Vorgabe bei bewussten Manipulationen unzureichend. Des Weiteren liefern die erhöhte Nachfrage und die daraus resultierenden Preisunterschiede einen Anreiz für Verfälschungen (Food Fraud).

In verarbeiteten Produkten kann eine Sortenbestimmung (biologische Identität) nicht über die Morphologie erfolgen, wodurch grundsätzlich die Notwendigkeit molekularer Nachweismethoden besteht. Für die obstverarbeitende Industrie, wie z.B. die Fruchtsaftindustrie, ergibt sich daher der Bedarf einer leistungsstarken Analytik, anhand derer einerseits die Authentizität der Rohware sowie der Produkte schnell und zuverlässig belegt werden kann und andererseits Falsch-

deklarationen schnell entlarvt werden können.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, detaillierte Sequenzinformationen der maternal vererbten Chloroplastengenome neuer und alter Apfelsorten mit neuesten NGS (Next Generation Sequencing)-Technologien zu ermitteln. Auf Basis detektierter Sequenzunterschiede zwischen den Sorten sollten anschließend PCR-basierte Analytikmethoden zur Differenzierung entwickelt werden. Ziel war es, aus den NGS-Daten eine kostengünstige Downstream-Analyse abzuleiten und ihre Leistungsfähigkeit mit der momentan verwendeten Fingerprint-Analytik zu vergleichen. Diese liefert allerdings keine quantitativen Ergebnisse und kann nur bedingt bei Mischungen angewendet werden.

### Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Forschungsprojektes wurde ein Targeted-Ansatz zur Differenzierung von Apfelsorten verfolgt. Die Bestimmung der biologischen Identität bei verarbeiteten Produkten, wie z.B. Säften, sollte auf maternal vererbten Sequenzen, wie dem

Chloroplasten- oder Mitochondriengenom erfolgen. Eine Voraussetzung, um eine möglichst hohe Sequenzabdeckung der Plastiden bei der Sequenzierung zu erhalten, war eine Anreicherung der Chloroplasten-DNA (cpDNA). Im Rahmen des Vorhabens konnte eine Dichtegradientenzentrifugationsmethode mittels Saccharosegradient etabliert werden und erfolgreich cpDNA aus Apfelblättern angereicht werden.

Es wurden achtzehn Chloroplastengenome von zehn wirtschaftlich relevanten Apfelsorten erhoben. Die Auswertung der durch NGS ermittelten Sequenzen ergab, dass keine Unterschiede zwischen den Sequenzen der zehn Apfelsorten detektiert werden konnten. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass das Chloroplastengenom für eine Sortenunterscheidung bei „jungen“ Apfelsorten nicht geeignet ist. Neben dem Chloroplastengenom eignet sich ebenfalls das maternal vererbte Mitochondriengenom zu einer Differenzierung auf Sortenebene, was durch einen individuellen Einzelbasenaustausch in der Sequenz der Sorte Boskoop bestätigt werden konnte.

Des Weiteren wurde im Rahmen des Forschungsvorhabens eine Non-targeted-Methode auf Basis von maternalem Blatt- und Fruchtmaterial etabliert. Die Ergebnisse der RAPD (randomly amplified polymorphic-DNA) zeigten, dass eine qualitative Unterscheidung von Äpfeln auf Sortenebene auf Basis von maternalem Gewebe und der enthaltenen kerngenomischen DNA möglich ist. Des Weiteren können die Ergebnisse der Non-targeted-Methode zur Genotypisierung von Apfelbäumen verwendet werden und so z.B. Anwendung in Züchtungsprogrammen finden.

Im Anschluss an das Vorhaben soll eine Methodenentwicklung auf Grundlage des Einzelbasenaustausches der Sorte Boskoop erfolgen. Ebenfalls soll die Etablierung von Analysen auf variablen Genen des maternalen Kerngenoms überprüft werden, um somit eine qualitative und quantitative Sortendifferenzierung zu ermöglichen.

#### **Wirtschaftliche Bedeutung:**

Als kommerziell wichtigste einheimische Obstart nimmt der Apfel (*Malus domestica* BORKH.) in Deutschland im Erwerbsanbau und in der Obstverarbeitung eine besondere

Stellung ein. Die Erntemenge betrug 2019 ca. 1 Mio. t, was einem Anteil von 74,6 % der gesamten Obsternte entspricht.

In den letzten Jahren hat das Sortenbewusstsein der Verbraucher bei Obstprodukten zugenommen. Neben etablierten wirtschaftlich relevanten Sorten sind heutzutage auch regionale und alte Sorten von zunehmendem Interesse. Des Weiteren zeigt sich ein zunehmender Anstieg der Nachfrage nach meistens teureren Produkten und sortenreinen Obstsaften. Regionale Apfelprodukte und speziell Produkte aus alten Sorten sind eine Domäne kleiner und mittelständischer Unternehmen (KMU), die mit hochpreisigen Erzeugnissen zunehmend größer werdende Nischenmärkte bedienen. Die Sortenbestimmung ist somit sowohl für Unternehmen als auch für den Verbraucher relevant. Insbesondere KMU werden in besonderem Maße von den Ergebnissen des Vorhabens profitieren können, um sich gegen Falschdeklarationen zur Wehr zu setzen. Gleichzeitig werden die Ergebnisse auch dazu beitragen, dass sich Obst anbauende Betriebe und alle an der Wertschöpfung beteiligten kleinen Verarbeitungsbetriebe von Konzernen, die aktuell den Markt mit wenigen Apfelsorten dominieren, in ihrem Produktportfolio absetzen können.

Die erzielten Ergebnisse ermöglichen ein non-targeted Screening von Rohware (RAPD). Des Weiteren bietet ein Einzelbasenaustausch auf dem Mitochondriengenom der Sorte Boskoop die Möglichkeit eines qualitativen sowie quantitativen Nachweises auf Sortenebene.

#### **Publikationen (Auswahl):**

FEI-Schlussbericht 2021.

#### **Weiteres Informationsmaterial:**

Universität Hamburg  
Hamburg School of Food Science  
Institut für Lebensmittelchemie  
(AK Prof. Fischer)  
Grindelallee 117, 20146 Hamburg  
Tel.: +49 40 42838-4359  
Fax: +49 40 42838-4342  
E-Mail: markus.fischer@chemie.uni-hamburg.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)

Godesberger Allee 125, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.