

- Seelig, H. D., Hoehn, A., Stodieck, L. S., Klaus, S. M., Adams, W. W. und W.J. Emery, 2009: Plant water parameters and remote sensing r (1300)/R (1450) leaf water index: controlled condition dynamics during the development of water deficit stress. *Irrig. Sci.* **27**, 357-365.
- Springer, N. M., Ying, K., Fu, Y., Ji, T., Yeh, C.-T., Jia, Y., Wu, W., Richmond, T., Kitzman, J., Rosenbaum, H., Iniguez, A. L., Barbazuk, W. B., Jeddeloh, J. A., Nettleton, D. und P. S. Schnable, 2009: Maize inbreds exhibit high levels of copy number variation (CNV) and presence/absence variation (PAV) in genome content. *PLoS Genet.* **5**, e1000734.
- Tracy, S. R., Roberts, J. A., Black, C. R., McNeill, A., Davidson, R. und S. J. Mooney, 2010: The X-factor: visualizing undistrubed root architecture in soils using X-ray computed tomography. *J. Exp. Bot.* **61**, 311-313.
- Walter, A., Scharr, H., Gilmer, F., Zierer, R., Nagel, K. A., Ernst, M., Wiese, A., Virnich, O., Christ, M. M., Uhlig, B., Jünger, S. und U. Schurr, 2007: Dynamics of seedling growth acclimation towards altered light conditions can be quantified via GROWSCREEN: a setup and procedure designed for rapid optical phenotyping of different plant species. *New Phytol.* **174**, 447-455.
- Winterhalter, L., Mistele, B., Jampatong, S. und U. Schmidhalter, 2011a: High throughput sensing of aerial biomass and above ground nitrogen uptake in the vegetative stage of well-watered and drought stressed tropical maize hybrids. *Crop Sci.* **51**, 479-489.
- Winterhalter, L., Mistele, B., Jampatong, S. und U. Schmidhalter, 2011b: High throughput phenotyping of canopy water mass and canopy temperature in well-watered and drought stressed tropical maize hybrids in the vegetative stage. *Europ. J. Agron.* **35**, 22-32.
- Zarco-Tejada, P. J., Berni, J. A. J., Suarez, L., Sepulcre-Canto, G., Morales, F. und J. R. Miller, J. R., 2009: Imaging chlorophyll fluorescence with an airborne narrow-band multispectral camera for vegetation stress detection. *Rem. Sens. Env.* **113**, 1262-1275.
- Zhu, J. M., Ingram, P. A., Benfey, P. N. und T. Elrich, 2011: From lab to field, new approaches to phenotyping root system architecture. *Curr. Op. Plant Biol.* **14**, 310-317.

Resistenzevaluierung mittels eines digitalen Bildanalyzesystems am Beispiel von *Rhododendron*

A Digital Image Analysis System for Resistance Evaluation on *Rhododendron*

Plaschil, Sylvia; Krämer, Reiner

Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und Obst, Julius Kühn-Institut,

Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

Tel.: 03946/47-491; E-Mail: sylviaplaschil@jki.bund.de

DOI: 10.5073/jka.2011.433.009

Zusammenfassung

Die Stammgrundfäule (*Cylindrocladium scoparium*) ist eine der wichtigsten pilzlichen Erkrankungen bei der Topfazalee (*Rhododendron simsii*). Für die Resistenzevaluierung sollten geeignete Biotests erarbeitet werden, die es ermöglichen, eine große Anzahl von Genotypen prüfen zu können. Biotests mit Blättern und Triebspitzen wurden entwickelt und ein digitales Bildanalyzesystem zur Auswertung genutzt. Zur Verifizierung der Biotests diente ein Jungpflanzentest unter Gewächshausbedingungen. Alle drei Testmethoden zeigten eine gute Reproduzierbarkeit, jedoch korrelierten die Biotests nur untereinander und nicht mit dem Jungpflanzentest. Sowohl hoch anfällige als auch tolerante Genotypen (R60, R114 und R120) ließen sich mit allen drei Testmethoden nachweisen. Eine Resistenz gegen *C. scoparium* wurde nicht gefunden. Mit der digitalen Bildanalyse steht für das Wirt-Pathogen-System *Rhododendron-Cylindrocladium* in Kombination mit dem Triebspitzentest eine gut adaptierte, zerstörungsfreie Evaluierungsmethode zur Verfügung. Ergebnisse des Triebspitzentests sollten mit einem Test ganzer Pflanzen wie z.B. bewurzelter Stecklinge verifiziert werden.

Stichwörter: *Rhododendron*, *Cylindrocladium*, Resistenz, Biotest

Abstract

Cylindrocladium scoparium is one of the most important fungal pathogens of *Rhododendron simsii*. Successful controlling by breeding for resistance to this pathogen needs sensitive, practicable and reproducible screening methods. A research project aimed at developing effective screening methods for evaluation of plant resources for *Cylindrocladium* resistance in *Rhododendron simsii* will be presented. Bioassays with detached leaves and shoots were established. The responses of the genotypes to *C. scoparium* were estimated by symptom scoring with the digital image analysis system. Tests on young plants in the greenhouse were used to verify the results of bioassays. All three screening methods were reproducible. There was a correlation only between the bioassays but not between the bioassays and the test on young plants. Tolerant genotypes (R60, R114 and R120) could be distinguished from highly susceptible genotypes within all tests. However, resistance against *C. scoparium* did not exist within the screened gene pool. The combination of the bioassay of shoots and the digital image analysis could be used as a well adapted and non-destructive evaluation method of the host-pathogen-system *Rhododendron-Cylindrocladium*. Results of the bioassay of shoots should be verified by testing whole plants like rooted cuttings.

Keywords: *Rhododendron*, *Cylindrocladium*, resistance, bioassay

Einleitung

Die Stammgrundfäule ist eine der wichtigsten pilzlichen Erkrankungen bei der Topfazalee (*Rhododendron simsii*). Der Erreger dieser Krankheit, *Cylindrocladium scoparium*, wurde erstmals von Morgan 1892 beschrieben. Nach der Infektion mit dem Pilz am Stammgrund verfärben sich mit zunehmendem Krankheitsverlauf die Laubblätter braun oder graugrün, welken einzelne Triebe oder die ganze Pflanze, was bis zum Absterben dieser führt (Stegmann 1988). Eine chemische Bekämpfung des Pilzes erweist sich als problematisch (Backhaus & Neubauer 1994). Darüber hinaus sind bisher keine resistenten Sorten bekannt, die man für den gärtnerischen Anbau nutzen könnte. Bei den Resistenzuntersuchungen sollten geeignete Biotests erarbeitet werden, die es ermöglichen, ein breites Sortiment von Topfazaleen und anderer *Rhododendron*-Arten unter standardisierten Bedingungen auf Resistenz prüfen zu können. Für die Biotests wurde die Eignung von Blättern und Triebspitzen geprüft sowie zu deren Auswertung der Einsatz eines digitalen Bildanalysesystems (Nothnagel & Krämer 2007). Zum Vergleich zu beiden Biotests wurde unter Gewächshausbedingungen ein Jungpflanzenstest durchgeführt.

Material und Methoden

o Pflanzenmaterial:

Für die Resistenzevaluierung standen 86 Genotypen (64 *Rh. simsii*-Sorten, 22 Wildformen oder Sorten von anderen *Rhododendron*-Arten), einschließlich der Standards *Rh. simsii* 'Ganda' (R09) und 'Mevrouw Gerard Kint' (R18) als Gewächshauspflanzen ohne Fungizidbehandlung zur Verfügung. Nach ersten Ergebnissen aus der Evaluierung von 2007 bis 2009 (Plaschil & Krämer 2010) wurden für die Methodenbewertung 20 Genotypen, einschließlich der oben genannten zwei Standards, ausgewählt.

o Kultur von *Cylindrocladium scoparium*:

Einsporlinien eines Isolates von *C. scoparium*, zur Verfügung gestellt von Brielmaier-Liebetanz (JKI, Braunschweig), wurden etabliert und eine hoch virulente Linie wurde für die weitere Nutzung selektiert. Die Kultivierung des Pilzes erfolgte auf Glukose-Kaseinhydrolysat-Agar (Hunter & Barnett 1970; De Keyser *et al.* 2008) bei 22-23 °C in Dunkelheit. Das Optimum der Konidienbildung war nach sieben Tagen Kultivierung erreicht. Die Konidien wurden durch Abschwemmen mit sterilem Wasser geerntet und auf die Endkonzentration von 1×10^6 Konidien pro Milliliter (ml) eingestellt.

o Blatttest:

Von drei Pflanzen je Genotyp wurden jeweils 4 Blätter entnommen (n=12), in Petrischalen auf feuchtem Filterpapier ausgelegt, an der Blattbasis verletzt und mit 3 µl (= 3000 Konidien) Konidien suspension des Pilzes inokuliert. Die Proben wurden bei 22-23 °C in Dunkelheit inkubiert. Vier, acht und 12 Tage nach

Inokulation erfolgte die Auswertung des Anteils von gesundem und krankem Blattgewebe mit Hilfe eines digitalen Bildanalyse-Systems der Firma LemnaTec, Deutschland. Dazu wurden alle Proben am Tag 0, 4, 8 und 12 digital fotografiert. Der Test wurde 2010 mit drei Wiederholungen (unterschiedliche Zeitpunkte) durchgeführt. Unbehandelte Proben als Kontrolle wurden bei den Einzeltests nicht mitgeführt, da Vortests zeigten, dass sich an ihnen keinerlei Symptome ausprägten (Krämer 2010).

○ **Triebspitzentest:**

Es wurden 10 unverholzte Triebspitzen von ca. 5 cm Länge je Genotyp in Petrischalen (5) auf feuchtem Filterpapier ausgelegt, 2 mm oberhalb der Schnittstelle mit 4 µl (= 4000 Konidien) Konidien suspension des Pilzes inokuliert und bei 22-23 °C ohne Licht inkubiert. Nach 0, 5, 11 und 14 Tagen wurden die Proben digital fotografiert und mit dem digitalen Bildanalyse-System ausgewertet. Der Test erfolgte 2010 mit drei Wiederholungen (unterschiedliche Zeitpunkte). Unbehandelte Proben als Kontrolle wurden bei den Einzeltests nicht mitgeführt, da Vortests zeigten, dass sich an ihnen keinerlei Symptome ausprägten (Krämer 2010).

○ **Jungpflanzenentest:**

Jeweils 13 bis 23 bewurzelte Stecklinge pro Genotyp wurden im Einzeltest am Stammgrund mit 0,5 ml der Konidien suspension des Pilzes in der Konzentration 1×10^6 inokuliert. Ein bis drei unbehandelte Pflanzen pro Genotyp dienten in den Einzeltests als Kontrolle, 6 bis 9 Pflanzen pro Genotyp über alle drei Jungpflanzenentests. Nach 7, 21, 42, 84, 112 und 140 Tagen erfolgte eine Symptombonitur, bei der der prozentuale Anteil von Verbräunungen bzw. graugrünen Verfärbungen am Stängelgrund und an den Blättern sowie Welkeerscheinungen mit einer Boniturnote von 1 bis 5 (Tabelle 1) erfasst wurden. Der Test erfolgte 2010 bis 2011 mit 3 Wiederholungen.

Tab.1 Boniturschlüssel der Symptombonitur im *Rhododendron*-Jungpflanzenentest

Boniturnote	Erkranktes Gewebe (%)	Krankheitssymptome
1	0	symptomlos
2	25	Einzelne Laubblätter, beginnend am Stammgrund, mit leichten Verbräunungen, selten Welke
3	50	Hoher Anteil von Laubblättern mit Verbräunungen, teilweise graugrün und/oder beginnende Welke der Triebe
4	75	Überwiegender Anteil der Laubblätter mit ausgeprägten Verbräunungen oder graugrün und/oder Welke der Triebe
5	100	Pflanze nahezu oder völlig abgestorben, vertrocknet

○ **Digitales Bildanalyse-System:**

Das digitale Bildanalyse-System der Firma LemnaTec besteht aus den Hardwarekomponenten Computer und Aufnahmeeinheit (Scanalyzer). Im Scanalyzer wurde ein digitales Bild der zu untersuchenden Proben bei gleichzeitigem Auf- und Durchlicht unter einheitlichen Bedingungen erzeugt. Mit einer entsprechenden Software ließen sich Farbklassen für gesundes (blau) und krankes (rot) Pflanzengewebe konfigurieren und die jeweiligen Anteile pro Blatt und Triebspitze berechnen. Dabei sollte die Zunahme des Anteils kranken, sich braun oder graugrün färbenden Blatt- bzw. Sprossgewebes über den Untersuchungszeitraum ein Maß für die Anfälligkeit des Genotyps sein. Um genotypabhängige Farbunterschiede im gesunden Blatt- und Sprossgewebe zu minimieren und die Konfiguration der Farbklassen zu optimieren, wurden alle Blätter und Triebspitzen mit einer Überbelichtung aufgenommen.

○ **Statistik:**

Die statistische Analyse der Einzeldaten erfolgte mit der Statistiksoftware *SYSTAT 13* (Chicago, IL: Systat Software, Inc. 2009). Dabei wurden die Daten der drei Testmethoden einer Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen und die drei Einzeltests je Testmethode mit dem Tukey-Test auf mögliche Unterschiede analysiert. Darüber hinaus wurden alle drei Testmethoden einer Korrelationsanalyse (Pearson) unterzogen.

Unterschiede der Anfälligkeit der Sorten wurden für alle drei Testmethoden mit dem Kruskal-Wallis-Test geprüft.

Ergebnisse und Diskussion

o Digitales Bildanalysestestsystem:

18 *Rhododendron*-Genotypen sowie die zwei Standards wurden sowohl im Blatttest als auch im Triebspitzentest auf ihre Resistenz gegen *C. scoparium* untersucht. Mit Hilfe des digitalen Bildanalysestestsystems wurden die prozentualen Anteile von krankem Gewebe ermittelt und als Maß der Anfälligkeit gegen *C. scoparium* gewertet. In beiden Biotests ließen sich Unterschiede der Genotypen bezüglich der Anfälligkeit und der zeitlichen Symptomausprägung ermitteln (Tabelle 2, 3). In einigen Fällen war es jedoch schwierig, mit der Analysesoftware zwischen gesundem und krankem Pflanzengewebe zu unterscheiden. Wenn zum Beispiel die Triebspitzen viel Anthocyan ausbildeten, war neben der Referenzeinstellung eine zusätzliche Einstellung der Farbwerte für die Farbklassendarstellung notwendig. Beim Blatttest wurden für die Referenzeinstellung 42 Farbwerte für die Farbkategorie 'Gesundes Gewebe' (blau) und 22 Farbwerte für die Farbkategorie 'Erkranktes Gewebe' (rot) konfiguriert. Zur Analyse der Triebspitzentests wurden der Farbkategorie 'Gesundes Gewebe' 26 Farbwerte und der Farbkategorie 'Erkranktes Gewebe' 19 Farbwerte zugewiesen.

o Blatttest:

Im Blatttest bildeten sich an den Blättern nach Inokulation braune bis graugrüne Läsionen, die sich während des Inkubationszeitraumes von der Basis beginnend über das Blatt ausbreiteten und bei hoch anfälligen Genotypen das gesamte Blatt einnahmen (Abbildung 1). Die beste Unterscheidung der Anfälligkeit der Genotypen war 8 Tage nach der Inokulation (Messpunkt 3) möglich. Zu diesem Messpunkt variierte das kranke Gewebe bezogen auf die Gesamtblattfläche im Durchschnitt von 8,90 % und 81,00 % in den Einzeltests 1, 2 und 3 bzw. von 20,33 % bis 68,76 % über alle drei Blatttests (Tabelle 2). Der Blatttest zeigte eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der drei unabhängigen Einzeltests. Einzeltest 1 und 3 zeigten keine signifikanten Unterschiede, jedoch unterschied sich Blatttest 2 signifikant von Blatttest 1 und 3 (Abbildung 5).

Tab. 2 Mittelwerte (MW) des prozentualen Anteils kranken Gewebes 8 Tage nach Inokulation für den Blatttest (BL) 1, 2 und 3 sowie Gesamtmittelwerte (unterschiedliche Buchstaben in der Spalte zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen, Kruskal-Wallis-Test $p \leq 0,05$); * n=12, ** n=36

Nr.	BL 1 MW (%)*	BL 2 MW (%)*	BL 3 MW (%)*	BL MW ges (%)**
R04	80,60	44,80	81,00	68,76 ^{bc}
R09	28,40	42,60	58,40	42,48 ^{ab}
R102	64,30	49,70	73,40	62,49 ^{bc}
R105	68,00	44,50	64,40	58,96 ^{bc}
R114	45,00	14,50	41,90	33,79 ^a
R120	24,10	8,90	28,10	20,33 ^a
R122	63,10	23,70	33,80	40,20 ^{ab}
R124	23,90	11,30	39,40	24,86 ^a
R128	46,50	28,70	58,10	44,43 ^{ab}
R129	39,30	48,20	52,50	46,67 ^{ab}
R14	49,60	23,10	28,70	33,80 ^a
R18	29,80	14,80	47,00	30,46 ^a
R29	51,10	14,80	52,10	42,90 ^{ab}
R30	53,80	38,80	62,10	51,58 ^{abc}
R31	30,40	19,20	27,90	25,82 ^a
R40	46,80	27,90	47,50	40,72 ^{ab}
R45	51,90	33,00	39,70	41,52 ^{ab}
R51	49,60	22,20	40,90	37,58 ^a
R57	28,30	21,50	54,90	34,89 ^a
R60	35,10	35,70	13,50	28,07 ^a

Das war darauf zurückzuführen, dass zum Messpunkt 3 (8 dpi) im Blatttest 2 aufgrund verzögerten Erregerwachstums das Befallsniveau von Test 1 und 3 noch nicht erreicht war, sondern erst zum Messpunkt 4 (12 dpi) (Krämer 2010). Nicht signifikante Schwankungen zwischen den Blatttests 1 und 3 sind trotz möglichst einheitlicher Kulturbedingungen und Probenentnahme wahrscheinlich auf das Pflanzenmaterial zurückzuführen. Im Blatttest ließen sich sowohl tolerante (R60, R114, R120) als auch hoch anfällige Genotypen (R04, R102, R105) signifikant unterscheiden (Tabelle 2, Abbildung 1).

○ **Triebspitzentest:**

Im Triebspitzentest bildeten sich während der Inkubationszeit sowohl am Spross als auch an den Blättern braune bis dunkelbraune oder graugrüne Läsionen. Die größten Unterschiede in der Anfälligkeit wurden 14 Tage nach der Inokulation beobachtet. Die Läsionen variierten 14 Tage nach Inokulation bezogen auf die gesamte Triebspitze in den Einzeltests 1, 2 und 3 durchschnittlich von 16,40 % bis 82,00 % bzw. über alle drei Triebspitzentests von 22,11 % bis 72,78 % (Tabelle 3, Abbildung 2). Der Triebspitzentest zeigte eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der drei unabhängigen Einzeltests. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Triebspitzentest 1, 2 und 3 (Abbildung 6). Nicht signifikante Schwankungen zwischen den Einzeltests sind trotz möglichst einheitlicher Kulturbedingungen und Probenentnahme wahrscheinlich auf das Pflanzenmaterial zurückzuführen. Im Triebspitzentest ließen sich sowohl tolerante (R114, R120) als auch hoch anfällige Genotypen (R04, R09, R102, R105) unterscheiden (Tabelle 3, Abbildung 2).

Tab. 3 Mittelwerte (MW) des prozentualen Anteils kranken Gewebes 14 Tage nach Inokulation für den Triebspitzentest (TR) 1, 2 und 3 sowie Gesamtmittelwerte (unterschiedliche Buchstaben in der Spalte zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen, Kruskal-Wallis-Test $p \leq 0,05$); # n=10, ## n=30

Nr.	TR 1 MW (%) [#]	TR 2 MW (%) [#]	TR 3 MW (%) [#]	TR MW ges (%) ^{##}
R04	82,00	77,00	53,80	70,94 ^{bc}
R09	78,00	74,50	65,90	72,78 ^{bc}
R102	63,50	66,20	66,40	67,27 ^{bc}
R105	76,90	78,00	51,10	68,66 ^{bc}
R114	35,60	27,60	33,40	32,21 ^a
R120	24,90	25,10	16,40	22,11 ^a
R122	44,40	77,30	78,00	66,56 ^b
R124	47,70	35,10	64,20	49,00 ^{ab}
R128	53,70	43,30	46,40	45,06 ^{ab}
R129	41,50	51,90	54,70	49,27 ^{ab}
R14	54,30	46,00	45,20	48,50 ^{ab}
R18	67,00	57,00	46,60	56,86 ^b
R29	57,20	32,30	35,40	41,65 ^{ab}
R30	54,50	45,10	45,90	48,50 ^{ab}
R31	47,70	35,00	41,20	41,27 ^{ab}
R40	64,40	50,80	58,90	58,04 ^b
R45	42,40	55,40	51,00	49,58 ^{ab}
R51	74,10	51,30	58,40	61,28 ^b
R57	67,60	66,90	64,80	66,42 ^b
R60	32,30	42,90	54,60	43,28 ^{ab}

○ **Vergleich der Biotests:**

In beiden Biotests war im Gegensatz zu Aussagen der Kultivateure und zur Literatur (Kamoen & Heursel 1983, Bundessortenamt 2000) der Standard 'Ganda' (R09) stärker anfällig als 'Mevrouw Gerard Kint' (R18), wobei 'Ganda' zu den stark anfälligen Genotypen zählte und 'Mevrouw Gerard Kint' zu den moderat anfälligen. Resistenz gegen *C. scoparium* wurde bei den untersuchten Genotypen nicht gefunden, jedoch war es möglich, zwischen toleranten (R114, R120) und hoch anfälligen Genotypen (R04, R102, R105) zu unterscheiden (Abbildung 1, 2, 4, Tabelle 2, 3). Der Genotyp R09, der sich im Triebspitzentest als hoch

anfällig zeigte, war im Blatttest nur moderat anfällig, was wahrscheinlich auf abweichende Mittelwerte im Blatteinzeltest 1 zurückzuführen ist.

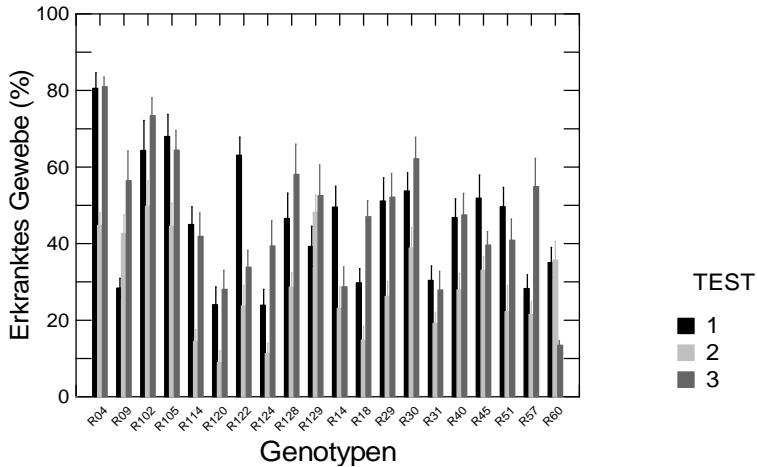


Abb. 1 Prozentualer Anteil erkrankten Gewebes der *Rhododendron*-Genotypen im Blatteinzeltest 1, 2 und 3

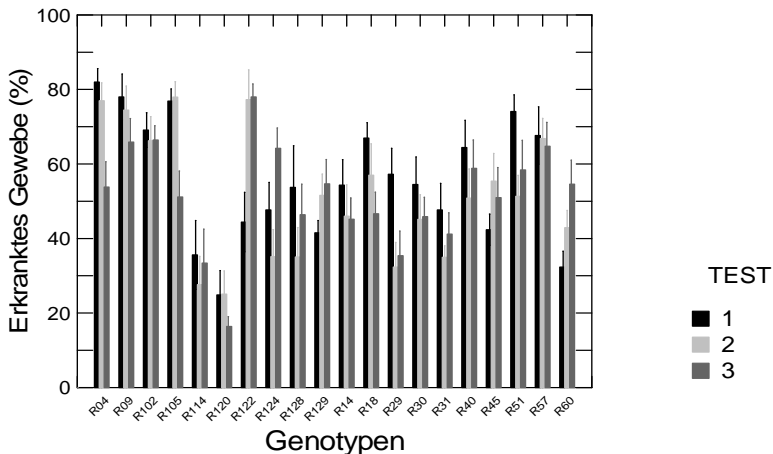


Abb. 2 Prozentualer Anteil erkrankten Gewebes der *Rhododendron*-Genotypen im Triebspitzeneinzeltest 1, 2 und 3

In den vorliegenden Untersuchungen war der Triebspitzentest besser reproduzierbar als der Blatttest, da es beim Triebspitzentest keine signifikanten Unterschiede zwischen den Einzeltests gab (Abb. 6), jedoch beim Blatttest sich Einzeltest 2 von Einzeltests 1 und 3 signifikant unterschied (Abbildung 5). Die statistischen Analysen zeigten eine geringe Korrelation zwischen Blatt- und Triebspitzentest (p -Wert 0,615) (Tabelle 5).

o **Jungpflanzenentest:**

Der durchschnittliche systemische Befall variierte in den Jungpflanzenentests 1, 2 und 3 von 0,00 % bis 97,62 % sowie von 4,56 % bis 81,81 % über alle drei Jungpflanzenentests (Tabelle 4). Er zeigte eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der drei unabhängigen Einzeltests (Abbildung 7). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Einzeltests 1 und 3, jedoch unterschieden sich beide signifikant

vom Einzeltest 2 (Abbildung 7). Eine Unterscheidung von toleranten (R60, R102, R114) und hoch anfälligen Genotypen (R09, R122, R124) war möglich (Abbildung 3, Tabelle 4). Genauso wie in den Biotests war der Standard 'Ganda' (R09) stärker anfällig als 'Mevrouw Gerard Kint' (R18).

Tab. 4 Mittelwerte (MW) des prozentualen Anteils kranken Gewebes 42 Tage nach Inokulation für den systemischen Befall im Jungpflanzentest (JP) 1, 2 und 3 sowie Gesamtmittelwerte (unterschiedliche Buchstaben in der Spalte zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen, Kruskal-Wallis-Test $p \leq 0,05$); ⁺ n=13-23, ⁺⁺ n=53-68

Nr.	JP sys 1 MW (%) ⁺	JP sys 2 MW (%) ⁺	JP 3 sys MW (%) ⁺	JP sys MW ges (%) ⁺⁺
R04	44,44	39,13	38,98	40,85 ^{bc}
R09	92,31	63,64	89,47	81,81 ^d
R102	2,27	2,27	12,50	5,68 ^a
R105	48,75	2,78	21,67	24,40 ^{ab}
R114	12,50	0,00	1,19	4,56 ^a
R120	37,50	31,82	41,67	36,99 ^{bc}
R122	78,41	82,35	84,72	81,83 ^d
R124	48,81	78,13	97,62	74,85 ^d
R128	27,38	15,22	50,00	30,87 ^{bc}
R129	15,91	41,30	47,83	35,01 ^{bc}
R14	48,86	14,13	56,25	39,75 ^{bc}
R18	73,81	15,91	32,14	40,62 ^{bc}
R29	73,68	27,94	48,81	50,14 ^{bc}
R30	38,75	23,08	76,32	46,05 ^{bc}
R31	55,00	51,92	15,91	40,94 ^{bc}
R40	65,91	63,75	29,76	53,14 ^{cd}
R45	45,00	50,00	95,00	63,33 ^{cd}
R51	59,52	31,82	68,18	53,17 ^{cd}
R57	17,86	30,43	4,55	17,61 ^{ab}
R60	20,45	7,50	2,63	10,20 ^a

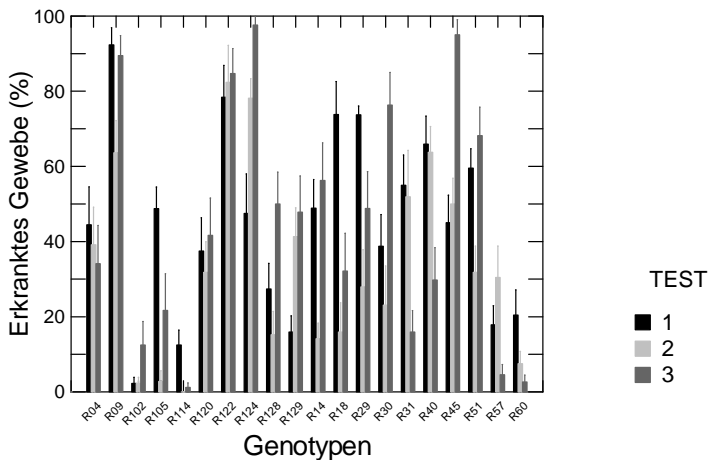


Abb. 3 Prozentualer Anteil erkrankten Gewebes der *Rhododendron*-Genotypen im Jungpflanzeneinzeltest 1, 2 und 3

○ **Vergleich Biotests und Jungpflanzenzest:**

Die Biotests mit Blättern bzw. Triebspitzen ermöglichten eine schnelle und zerstörungsfreie Prüfung von *Rhododendron*-Genotypen auf die Anfälligkeit gegen *C. scoparium*. Um von den Ergebnissen der Biotests Rückschlüsse auf die Anfälligkeit von Ganzpflanzen ziehen und Aussagen zum Wirt-Pathogen-System treffen zu können, wurden die Ergebnisse der beiden Biotests mit den Ergebnissen des Jungpflanzenzests verglichen. Die statistische Analyse zeigte keine Korrelation zwischen den Biotests und dem Jungpflanzenzest, wobei die Ergebnisse des Triebspitzenzests besser denen des Jungpflanzenzests entsprachen als die des Blattzests (Tabelle 5).

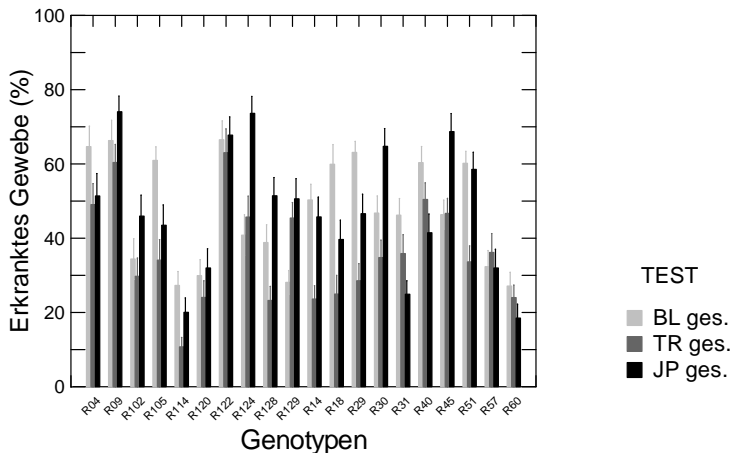


Abb. 4 Prozentualer Anteil erkrankten Gewebes der *Rhododendron*-Genotypen (Gesamtmittelwerte) im Vergleich der Testmethoden Blatt (BL), Triebspitze (TR) und Jungpflanze (JP)

Bezüglich der Testergebnisse einzelner Genotypen gab es Übereinstimmungen oder Unterschiede zwischen Biotests und Jungpflanzenzest (Tabelle 2, 3, 4, Abbildung 4). Genotyp R102 war z.B. in beiden Biotests hoch anfällig, im Jungpflanzenzest jedoch tolerant. Dem ähnlich zeigte R04 im Jungpflanzenzest eine moderate Anfälligkeit, war aber in beiden Biotests sehr anfällig. Dagegen ließ sich die hohe Anfälligkeit von R09 vom Triebspitzen- und Jungpflanzenzest im Blatttest nicht reproduzieren. Der Genotyp R60 war in beiden Biotests moderat anfällig, fiel im Jungpflanzenzest jedoch durch seine tolerante Reaktion gegen den Erreger auf. R120 zeigte in beiden Biotests die geringste Anfälligkeit und war im Jungpflanzenzest ebenfalls nur moderat anfällig. Herausragend war der Genotyp R114, der bei allen drei Testmethoden eine sehr geringe Anfälligkeit aufwies.

Ausgehend von den Ergebnissen aller drei Testmethoden ist für die Resistenzevaluierung einer großen Anzahl von Genotypen bei *Rhododendron* der Triebspitzenzest zu empfehlen, da er gut reproduzierbar ist, eine Differenzierung in tolerante und stark anfällige Genotypen ermöglicht und besser als der Blatttest das System 'ganze Pflanze' (Abbildung 4, Tabelle 5) repräsentiert.

Zur Verifizierung resistenter oder toleranter Genotypen ist ein weiterer Test ganzer Pflanzen wie z.B. bewurzelter Stecklinge unabdingbar. Mit der zunächst für die Möhre etablierten digitalen Bildanalyse (Nothnagel & Krämer 2007) steht nun für das Wirt-Pathogen-System *Rhododendron-Cylindrocladium* in Kombination mit dem Triebspitzenzest eine gut adaptierte, zerstörungsfreie Evaluierungsmethode zur Verfügung, die ebenso für weitere Untersuchungen von *Rhododendron*-Pathogenen oder Pathogenen anderer Zierpflanzen genutzt werden kann.

Mit allen drei Testmethoden wurden die gegen *C. scoparium* toleranten *Rhododendron*-Genotypen R60, R114 und R120 identifiziert (Abbildung 4, Tabelle 2, 3, 4), die züchterisch zur Verbesserung des Toleranzniveaus gegen *C. scoparium* genutzt werden können.

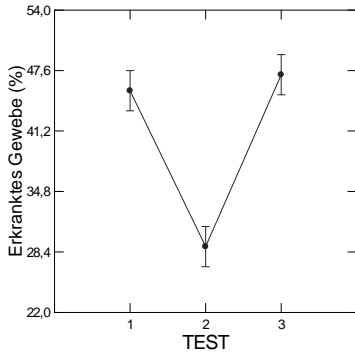


Abb. 5 Vergleich der Blatttests 1 bis 3 (ANOVA)

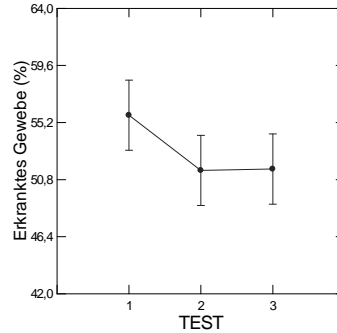


Abb. 6 Vergleich der Triebspitzentests 1 bis 3 (ANOVA)

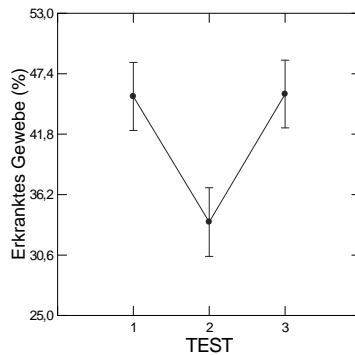


Abb. 7 Vergleich der Jungpflanzenentests 1 bis 3 (ANOVA)

Tab. 5 Korrelationsanalyse (Pearson-Korrelation-Matrix) der drei Methoden Blatttest (8 dpi), Triebspitzentest (14 dpi), Jungpflanzenentest (42 dpi)

Blatttest Mittelwert gesamt	Triebspitzentest Mittelwert gesamt	Jungpflanzenentest Mittelwert gesamt
1,000		
0,615	1,000	
-0,128	0,236	1,000

Danksagung

Die Autoren möchten sich für die Bereitstellung des *Cylindrocladium*-Isolats bei Ulrike Brielmaier-Liebetanz sowie für die technische Assistenz bei den Resistenzevaluierungen bei Dagmar Franke, Martina Malorny, Elke Zjaba, Mandy Püffeld, Nicole Biemüller, Jaqueline Große und Felix Langer herzlich bedanken. In gleicher Weise danken die Autoren den Mitgliedern des Züchtungsausschusses der Azerca, dem Rhododendron-Park Bremen, den Botanischen Sammlungen in Pirna-Zuschendorf sowie der Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau Rostrup/Bad Zwischenahn für die Bereitstellung des Pflanzenmaterials.

Literatur

- Backhaus, G.F. & Neubauer, C., 1996: *Cylindrocladium scoparium* – Gefährlicher Krankheitserreger an Moorbeetpflanzen. Rhododendron und immergrüne Laubgehölze – Jahrbuch **1996**: 78-93
- Bundessortenamt, 2000: Beschreibende Sortenliste Topfazalee. 2. ed. Landbuch-Verlag, Hannover: 59, 95
- De Keyser, E., De Riek, J. & Heungens, K., 2008: Development of supporting techniques for pot azalea (*Rhododendron simsii* hybrids) breeding focused on plant quality, disease resistance and enlargement of the assortment. Acta Hort. **766**: 361-366
- Hunter, B.B. & Barnett, H.L., 1970: Growth and sporulation of species and isolates of *Cylindrocladium*. Mycologia **70**: 614-635
- Kamoen, O. & Heursel, J., 1983: *Cylindrocladium scoparium*. Gb + Gw **30**: 783-784
- Morgan, A. P., 1892: Two new genera of hyphomycetes. The Botanical Gazette **17**: 190-192
- Krämer, R., 2010: mündliche Mitteilung, Julius Kühn-Institut, Quedlinburg
- Nothnagel, T. & Krämer, R., 2007: Establishment of a digital image analysis system for resistance tests against various carrot pathogens. 32nd International Carrot Conference, Bordeaux, September 5-7, 2007: 98
- Plaschil, S. & Krämer, R., 2010: A digital image analysis system (DIAS) for assessment of bioassays on *Rhododendron simsii* against *Cylindrocladium scoparium*. Acta Hort. **855**: 221-224
- Stegmann, W., 1988: Untersuchungen zur Pathogenese, Epidemiologie und Bekämpfung der Stammgrundfäule an *Rhododendron simsii* (*Cylindrocladium scoparium*). Dissertation Universität Hannover
- Systat Software, Inc., 2009: *SYSTAT 13*. Chicago, CA: Systat Software, Inc.

Forschungsergebnisse zur Sternrußtauresistenz bei Rosen

Scientific results on the resistance of roses to the black spot disease

Lühmann, Ann-Katrin; Terefe, Diro; Kohlenberg, Max; Linde, Marcus; Debener, Thomas
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzengenetik, Molekulare Pflanzenzüchtung,
Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover
Tel.: 0511 762 3345; E-Mail: linde@genetik.uni-hannover.de

DOI: 10.5073/jka.2011.433.010

Zusammenfassung

Sternrußtau, verursacht durch den hemibiotrophen Ascomyceten *D. rosae*, ist weltweit eine der wichtigsten Krankheiten an Rosen im Freiland. Mindestens 13 verschiedene Rassen des Pathogens wurden bisher beschrieben. Resistenzen gegen *D. rosae* sind vor allem in Rosenarten zu finden. Die genetische Diversität von *D. rosae* Populationen aus Deutschland hängt entscheidend vom Alter der Wirtspopulation, deren genetischer Diversität und Behandlung mit Pflanzenschutzmitteln ab. Durch die Verbreitung und Durchmischung, vor allem durch den Menschen gibt es in weltweiten Proben nur sehr geringe Unterschiede in den *D. rosae* Genotypen. In 141 Proben aus 12 Ländern konnten keine zu den deutschen SSR Allelen abweichende Allele gefunden werden. Bisher wurden drei Resistenzgene gegen *D. rosae* (*Rdr1* bis *Rdr3*) beschreiben, wobei *Rdr1* bei weitem am besten charakterisiert wurde. Das Resistenzgen *Rdr1* gegen die Rasse DortE4 konnte durch Feinkartierung auf drei BAC-Klonen lokalisiert werden. Durch die komplette Sequenzierung dieser BACs wurden neun RGAs des TIR-NBS-LRR-Typs als mögliche Kandidaten innerhalb einer 220kb Region entdeckt. Diese weisen eine Sequenzähnlichkeit von ca. 90% zueinander auf. Durch RNAi-Silencing-Experimente und Expressionsanalysen an zwei resistenten Genotypen konnte die Anzahl der Kandidatengene auf fünf reduziert werden. Mit einer transienten Komplementation des anfälligen Genotyps Paris Charme mit Vollängenklonen dieser fünf Kandidaten konnte *muRdr1-H* als das aktive *Rdr1*-Resistenzgen identifiziert werden.

Stichwörter: Ascomycet, Rassen, genetische Diversität, *Rdr1*, TIR-NBS-LRR