

Auftreten von *Plasmodiophora brassicae* als Erreger der Kohlhernie im Winterrapsanbau in Europa sowie Identifizierung, Charakterisierung und molekulare Kartierung neuer Kohlhernieresistenzgene aus genetischen Ressourcen

European monitoring of *Plasmodiophora brassicae* as the causal agent of clubroot disease in oilseed rape and phenotyping and molecular mapping of new resistance genes derived from genetic resources

Lüders, W.¹, Abel, S.¹, Friedt, W.², Kopahnke, D.³, Ordon, F.³

¹Limagrain GmbH, Griewenkamp 2, 31234 Edemissen

²Justus-Liebig-Universität Giessen, Ludwigstraße 23, 35390 Gießen

³Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen,

Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz,

Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

Kontakt: wolfgang.lueders@jki.bund.de

Zusammenfassung

Der Erreger der Kohlhernie (*Plasmodiophora brassicae*) gewinnt im europäischen Rapsanbau an Bedeutung und mittlerweile werden stark kontaminierte Flächen v.a. in Nord- und Nordostdeutschland sowie in einigen Regionen Frankreichs und Englands mit zunehmender Tendenz nachgewiesen. Starke Unterschiede in der Virulenz je nach Herkunft sind zwar bekannt, aber bisher kaum untersucht und werden daher in einem Monitoringverfahren anhand von 2 Differentialsortimenten unter kontrollierten Bedingungen detailliert analysiert. Die Kohlhernie ist aufgrund des Fehlens einer Bekämpfungsmöglichkeit mit Fungiziden und der Tatsache, dass für den praktischen Anbau aktuell nur eine einzige rassenspezifische Resistenz in agronomisch anbauwürdigen Rapsorten zur Verfügung steht, besonders problematisch. Ziel ist es daher bisher weitgehend ungenutzte Resistenzen aus genetischen Ressourcen, z.B. Steckrübensorten, in spaltenden Populationen (RILs & DHs) zu kartieren und eng gekoppelte Marker zu entwickeln mit deren Hilfe entsprechende Resistenzen effektiv in adaptierte Rapsorten eingelagert werden können.

Stichwörter: Kohlhernie, Virulenzanalyse, pflanzengenetische Ressourcen

Abstract

Clubroot caused by the obligate biotrophic protist *Plasmodiophora brassicae* is a serious soil-borne disease of cruciferous crops. It causes galls on roots leading to premature death of the plant. Currently, due to the raise of oilseed rape cultivation within the last decades the number of contaminated fields is increasing. The hot spots of clubroot infestation in Europe are mainly located in Northern Germany, France and in the UK. Because numerous populations and races, respectively, are known, differences in pathogenicity are being explored under greenhouse conditions. The main problem is the longevity of resting spores in the soil, the lack of reasonable control measures and that up to now only one race specific resistance is incorporated in adapted cultivars. Therefore, with the aid of segregating populations (RILs and DHs) previously unutilized resistance genes identified in genetic resources like rutabaga cv's (*B. napus* ssp. *napobrassica*) are being mapped as a prerequisite for an efficient breeding for resistance.

Keywords: clubroot disease, virulence analysis, plant genetic resources

Einleitung

Bei dem Erreger der Kohlhernie (*Plasmodiophora brassicae*) handelt es sich um einen pilzähnlichen obligat biotrophen Protisten, welcher Pathogenität gegenüber den meisten Brassica-Arten besitzt und aufgrund seiner Biologie standorttreu ist und somit nicht durch Wind, sondern nur durch Verfrachtung von Bodenpartikeln, z.B. bei Bodenerosion, Anhaftung an landwirtschaftlichem Gerät oder durch Oberflächenabfluss, verbreitet wird (Diederichsen et al. 2009). Mit der Zunahme der Rapsanbaudichte in den letzten Jahrzehnten gewinnt die Kohlhernie in Deutschland und Europa an Bedeutung. Stark kontaminierte Flächen werden v.a. in Nord- und Nordostdeutschland, aber auch in einigen Regionen Frankreichs, Englands und in weiteren Teilen Europas mit zunehmender Tendenz nachgewiesen. Der Befall verursacht im Wurzelbereich der Rapspflanzen die Ausbildung von knollenartigen, knotig verdickten Gallen, welche zu erheblicher Beeinträchtigung bzw. zur Zerstörung der Wurzeln und Leitgefäße führen. Die Nährstoff- und Wasserversorgung wird in hohem Maße beeinträchtigt, so dass es zunächst zur Welke der Blätter und im weiteren Verlauf zum Absterben der befallenen Pflanzen kommt. In jedem Jahr entstehen durch die Kohlhernie massive Schäden im Winterrapsanbau bis hin zum Totalausfall der Kultur. Aufgrund der Persistenz des Erregers im Boden, welcher in Form von Dauersporen ohne zwischenzeitliche Vermehrungsmöglichkeit bis zu 20 Jahre lang nachweislich infektiös bleiben, ist die Kohlhernie besonders problematisch. Bekämpfungsmöglichkeiten mit Hilfe von Fungiziden sind nicht bekannt. Somit ist der Anbau von Winterraps auf kontaminierten Flächen bzw. auf Risikoflächen nachhaltig nur möglich, wenn resistente Sorten zur Verfügung stehen. Momentan steht für den praktischen Anbau nur eine einzige rassenspezifische Resistenz in der Hybridrapsorte 'Mendel' zur Verfügung. Eine Verbesserung des Resistenzniveaus in zugelassenen Sorten, d.h. die Erfassung der genetischen Variabilität und die Überführung wirksamerer Resistenzgene in adaptiertes genetisches Material dient der zukünftigen Ertragssicherung und ist aus ökologischen und ökonomischen Gründen für die Landwirtschaft unverzichtbar.

Material und Methoden

Starke Unterschiede in der Virulenz des Erregers *Plasmodiophora brassicae* je nach Herkunft sind zwar bekannt, aber bisher kaum untersucht. Daher wurden zunächst unterschiedliche Virulenzen in europaweit auf Rapsanbauflächen gesammelten Isolaten identifiziert. Die Charakterisierung dieser Isolate erfolgte mit Hilfe des European Clubroot Differential Set/ECD (Buczacki et al. 1975) und des INRA-Differentials (Somé et al. 1996) in einem Gewächshaus nach Glory und Manzanares-Dauleux (2005) an jeweils 10 Pflanzen eines Genotyps. Die Bonitur des Befalls wurde sieben Wochen nach Inokulation anhand einer fünfstufigen Skala nach Somé et al. (1996) durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit wurden zwölf Genotypen der Art *Brassica napus* als potenzielle Resistenzdonoren untersucht. Die Resistenz vermittelnden Genotypen wurden als Kreuzungs-eltern zum Aufbau von Kartierungspopulationen (DH und RIL) eingesetzt.

Ergebnisse und Diskussion

Zur Identifikation von Pathogen-Rassen wurden europaweit Isolate von 15 Standorten gesammelt und charakterisiert. In diesen Untersuchungen zeigte sich, dass der ECD-Pathogenitätswert für die Art *Brassica rapa* kaum variiert. Das bedeutet, dass sich die untersuchten Isolate gegenüber den unterschiedlichen im ECD enthaltenen *B. rapa*-Genotypen als nicht virulent erwiesen und bis auf eine Ausnahme nur die als anfälliger Standard dienende Chinakohlsorte 'Granaat' Befall zeigte. Bei *B. napus* sowie *B. oleracea* hingegen traten größere Unterschiede im Pathogenitätswert auf. Dementsprechend variierte der durch die verschiedenen Isolate hervorgerufene Wurzelbefall in den *B. napus*- und *B. oleracea*-Sortimenten deutlich

stärker. Außerdem konnten sechs von acht Pathotypen des INRA-Differentials identifiziert werden (Tabelle 1).

Tab.1 Charakterisierung der Kohlhernie-Isolate nach ECD-Pathogenitätswert und INRA-Pathotyp (eine Wiederholung)

Isolatherkunft	ECD-Pathogenitätswert			INRA-Pathotyp
	<i>Brassica rapa</i>	<i>Brassica napus</i>	<i>Brassica oleracea</i>	
Flemming, Dänemark	17	31	12	P1
Vojens, Dänemark	16	31	12	P1
Aberdeen, Schottland	17	31	28	P1
Montrose, Schottland	16	15	29	P2
Tiebensee, Schleswig-Holstein	16	3	14	P6
Hoisdorf, Schleswig-Holstein	16	31	31	P1
Groß Schwiesow, Mecklenburg-Vorpommern	16	31	30	P1
Ortenberg, Hessen	16	14	31	P3
Mudau, Baden-Württemberg	16	3	14	P6
Niederhummel, Bayern	16	6	4	P3
Kozmice, Tschechische Republik	16	14	3	P3
Oizon, Frankreich	16	14	12	P3
La Bohalle, Frankreich	16	3	30	P6
Paimpol, Frankreich	16	2	4	P4
St. Pol du Léon, Frankreich	16	2	12	P4

Eine klare Differenzierung im Auftreten der Pathotypen in bestimmten Regionen ist nicht erkennbar. Dennoch lässt sich eine Häufung des Vorkommens des Pathotyps P1 im nordeuropäischen Raum feststellen. Diese Ergebnisse sind allerdings als vorläufig zu betrachten, da sie bisher nur auf einer Wiederholung der Pathogenitätstests beruhen. Weitere phänotypische Untersuchungen dienen dazu, das Befallsverhalten potenzieller Resistenzdonoren gegenüber verschiedenen Isolaten zu erfassen. Dabei erwiesen sich einige Rapssorten, wie z.B. 'Brutor', 'Nevin' und 'Tosca' oder die Steckrübensorten 'Invitation', 'Lomond', 'Marian', 'Sparta' und 'Wilhelmsburger' als resistent gegenüber den getesteten Isolaten und sind dementsprechend für die Verwendung als Kreuzungseltern bei der Erstellung von Kartierungspopulationen in den Fokus gerückt.

Literatur

- Buczacki, S.T., H. Toxopeus, P. Mattusch, T.D. Johnston, G.R. Dixon, L.A. Hobolth (1975): Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: Proposals for attempted rationalization through an international approach, Trans. Br. Mycol. Soc. 65 (2), 295-303.
- Diederichsen, E., M. Frauen, E. Linders, K. Hatakeyama, M. Hirai (2009): Status and Perspectives of Clubroot Resistance Breeding in Crucifer Crops, J Plant Growth Regul 28, 265–281.

Glory, P., M. Manzanares-Dauleux (2005): Test de Criblage en Conditions Contrôlées pour la Résistance à *Plasmodiophora brassicae* chez les Brassica, Méthodes d'appréciation du comportement variétal vis-à-vis des bioagressurs, Numéro spécial du Cahier des Techniques, 111-114.

Somé, A., M.J. Manzanares, F. Laurens, F. Baron, G. Thomas, F. Rouxel (1996): Variation for virulence on *Brassica napus* L. amongst *Plasmodiophora brassicae* collections from France and derived single-spore isolates, Plant Pathol **45**, 432-439.