
Technische Universität München

Fachgebiet für Obstbau

Studien zur Züchtung von scharkaresistenten Klonen der Europäischen Pflaume *Prunus domestica* (L.) und zu deren Umweltstabilität

Ludwig Emil Lichtenegger

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften genehmigten Dissertation.

Vorsitzende: Univ.-Prof. Dr. B. Poppenberger-Sieberer
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. D. Treutter
2. Univ.-Prof. Dr. A. Forneck
(Universität für Bodenkultur Wien (Österreich))

Die Dissertation wurde am 11.07.2012 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 07.12.2012 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Einheiten und Abkürzungen	V
1 Einleitung	1
2 Die Bedeutung der Scharkakrankheit in der Gattung <i>Prunus</i>	2
2.1 Die Scharkakrankheit.....	2
2.1.1 Virusstämme und Genom.....	2
2.1.1.1 Virusstämme	2
2.1.1.2 Genom.....	3
2.1.2 Geografische Ausbreitung, Epidemiologie und Wirtspflanzen	5
2.1.3 Übertragung und Ausbreitung in der Pflanze.....	7
2.1.4 Symptome	7
2.1.5 Bekämpfungsstrategien.....	8
2.2 Die Gattung <i>Prunus</i>	10
2.2.1 Systematik	10
2.2.2 Wirtschaftliche Bedeutung von <i>Prunus domestica</i> L.....	11
2.2.3 Züchterische Bemühungen zur Bekämpfung der Scharkakrankheit bedeutender <i>Prunus</i> -Gattungen.....	12
2.2.3.1 <i>Prunus cerasus</i> und <i>Prunus avium</i>	12
2.2.3.2 <i>Prunus dulcis</i>	12
2.2.3.3 <i>Prunus salicina</i>	12
2.2.3.4 <i>Prunus armeniaca</i>	12
2.2.3.5 <i>Prunus persica</i>	13
2.2.3.6 <i>Prunus domestica</i>	13
3 Hypersensibilitätsresistenz.....	15
4 Ziele der Arbeit	19
5 Resistenztest und Vererbung bei inter- und intraspezifischen Hybriden	21

5.1	Material und Methoden	22
5.1.1	Etablierung einer Datenbank.....	22
5.1.2	Versuchsaufbau und Hypersensibilitätstestung.....	22
5.1.3	Ermittlung des Hypersensibilitätsindex	30
5.1.4	Nachweisverfahren für PPV.....	31
5.1.4.1	Serologischer Nachweis	31
5.1.4.1.1	DASI-ELISA (Double Antibody Sandwich Indirect-Enzym Linked Immunosorbent Assay).....	31
5.1.4.1.2	DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-Enzym Linked Immunosorbent Assay)	32
5.1.4.2	Molekularbiologischer Nachweis	33
5.1.5	Statistische Auswertung.....	34
5.1.6	Berechnung der allgemeinen Kombinationseignung	35
5.2	Ergebnisse.....	36
5.2.1	Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz bei interspezifischen Kreuzungskombinationen.....	36
5.2.1.1	Hexaploides Genom × tetraploides Genom v.v.	36
5.2.1.2	Hexaploides Genom × diploides Genom.....	36
5.2.1.3	Tetraploides Genom × diploides Genom	37
5.2.1.4	Berechnung von Allelkombinationen für monogen bedingte Resistenz	40
5.2.1.5	Zusammenfassung	41
5.2.2	Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz bei intraspezifischen Kreuzungskombinationen	44
5.2.2.1	Genetische Determinierung der Hypersensibilitätsresistenz	44
5.2.2.2	Kombination hypersensibler Zuchtklon × hypersensibler Zuchtklon.....	45
5.2.2.3	Kombination hypersensibler Zuchtklon × sensibler Zuchtklon	46
5.2.2.4	Kombination sensibler Zuchtklon × sensibler Zuchtklon	49
5.2.2.5	Kombination hypersensibler Zuchtklon × quantitativ resistenter Zuchtklon	51
5.2.2.6	Berechnung von möglichen Allelkombinationen bei einer monogen bedingten Resistenz	58
5.3	Diskussion.....	63
5.3.1	Interspezifische Hybriden.....	63
5.3.2	Intraspezifische Hybriden.....	64

5.3.2.1	Allgemeine Kombinationseignung	64
5.3.2.2	Vererbung der Hypersensibilität	65
5.3.2.3	Ausblick auf weiterführende Experimente.....	68
6	Stabilität der Hypersensibilitätsresistenz.....	69
6.1	Abiotische Stressfaktoren.....	69
6.1.1	Ermittlung der optimalen Klimabedingungen zur Durchführung nachfolgender Versuche	69
6.1.2	Histologische Untersuchungen.....	70
6.1.3	Etablierung und Optimierung eines quantitativen ELISA	72
6.1.4	Abiotische Stressfaktoren 2008.....	76
6.1.5	Abiotische Stressfaktoren 2009	81
6.1.6	Diskussion	86
6.1.7	Zusammenfassung.....	87
6.2	Biotische Stressfaktoren	88
7	Zusammenfassung.....	99
8	Summary.....	101
	Literaturverzeichnis	103
	Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen	112
	Veröffentlichungen	117
	Danksagung	119
	Lebenslauf	121

Verzeichnis der verwendeten Einheiten und Abkürzungen

%	Prozent	PDV	<i>Prune dwarf virus</i>
ABA	Abscisinsäure	PNRSV	<i>Prunus necrotic ringspot virus</i>
ApMV	Apple mosaic virus	PPV	<i>Plum pox virus</i>
bp	Basenpaare	PRRs	Pathogen-Recognition-Rezeptors
BSA	Rinderserumalbumin	PTI	PAMP triggered immunity
BSN	Blattspreitennekrosen	PVP	Polyvinylpyrrolidon
CMV	<i>Cucumber mosaic virus</i>	RN	Rindennekrosen
DAMP	danger associated molecular patterns	RNA	Ribonucleinsäure
DAS-ELISA	Double antibody sandwich ELISA	ROS	reaktive Sauerstoffspezies
DASI-ELISA	Double antibody sandwich indirect ELISA	RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
DIECA	Diethyldithiocarbamic acid	SA	Salicylsäure
DNA	Desoxyribonucleinsäure	SPCVS	Sweet potato chlorotic stunt virus
ELISA	enzym-linked immuno (ad)sorbent essay	SPFMV	Sweet potato feathery mottle virus
ETI	effector triggered immunity	ssr	simple sequence repeats
FS	Frischsubstanz	ssRNA	Einzelstrang-RNA
GCA	general combining ability	TIR	Toll-Interleukin 1 Rezeptor
HI	Hypersensibilitätsindex	TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
HK	Hypersensibilitätsklasse	TSD (g)	Triebspitzendürre gesündester Trieb
Hoh	Zuchtklon aus dem Hohenheimer Züchtungsprogramm	TSD (k)	Triebspitzendürre kränkster Trieb
HZ	Hauszwetsche	TSD	Triebspitzendürre
IC-RT-PCR	immuno capture RT-PCR	TuMV	Turnip mosaic virus
IgG	Immunoglobulin G	v.v.	vice versa (umgekehrt)
JA	Jasmonsäure	Vol.	Volumen
MAMP	microbe associated molecular patterns	W	Watt
MAP	mitogen activated protein	Wei	Zuchtklon aus dem Weihenstephaner Züchtungsprogramm
MTI	MAMP triggered immunity		
NB-LRRs	leucine-rich-repeats mit einer Nucleotidbindedomäne		
NO	Stickstoffmonoxid		
nt	Nucleotid(e)		
PAMP	pathogen associated molecular patterns		
PBS	phosphate buffered saline		
PCD	programmed cell death		

1 Einleitung

Das *Plum pox virus* (PPV) verursachte über die letzten drei Jahrzehnte einen geschätzten Schaden von 10 Milliarden Euro und die von diesem Virus verursachte Scharkakrankheit ist die momentan bedeutendste Erkrankung im Steinobstanbau. Das Scharkavirus befällt verschiedene *Prunus*-Arten, vor allem die wirtschaftlich wichtigen Steinobstarten, wie den Pfirsich (*P. persica*), die Aprikose (*P. armeniaca*) und die Europäische Pflaume (*P. domestica*). Von der Krankheit ebenso betroffen sind die Japanische Pflaume (*P. salicina*), die Mandel (*P. dulcis*), sowie Sauer- und Süßkirschen (*P. cerasus* und *P. avium*) (Candresse & Cambra, 2006; EPPO, 2004). Zur weltweiten Verbreitung haben vor allem der illegale Handel und Transport von Edelreisern beigetragen (Cambra et al., 2006; Nemeth, 1994).

Züchterische Fortschritte, wie die hypersensible Sorte 'Jojo', scheinen in der Bekämpfung der Scharkakrankheit einen Erfolg zu versprechen. Um diesen Erfolg auch über die nächsten Jahre und Jahrzehnte gewährleisten zu können, bleibt jedoch die weitere züchterische Bearbeitung von vorhandenen Klonen und Sorten unerlässlich, um die Stabilität der Resistenz zu gewährleisten. Jüngste Beispiele sind Berichte über das Auftreten neuer Stämme mit PPV-W im Jahr 2003 (James et al., 2003) und PPV-T 2009 (Serce et al., 2009).

Neben der Stabilität gegenüber verschiedenen Stämmen und Isolaten muss die Hypersensibilitätsresistenz auch greifen, wenn resistente Sorten und Klone biotischen und abiotischen Stressfaktoren ausgesetzt sind. Diesen Stressfaktoren ausgesetzt, soll die Wirksamkeit der Hypersensibilitätsresistenz nicht beeinträchtigt sein, sondern genauso effektiv vonstatten gehen, wie unter optimalen Bedingungen. Die verfasste Arbeit untersucht deshalb den Einfluss von abiotischen und biotischen Stressfaktoren auf die Ausprägungsform der Hypersensibilitätsresistenz bei unterschiedlich stark hypersensiblen Zuchtklonen.

Des Weiteren werden in der vorliegenden Arbeit Zuchtklone bezüglich ihrer Resistenz gegenüber PPV analysiert und anschließend Studien zur Vererbung durchgeführt. Hierbei werden sowohl Zuchtklone aus intraspezifischen Hybridisierungen untersucht als auch Zuchtklone aus interspezifischen.

Einführend wird ein Überblick über die Problematik der Scharkakrankheit im Steinobstanbau und über bisherige Anstrengungen zur Bekämpfung gegeben. Anschließend werden durch Vererbungsanalysen bei intra- und interspezifischen Hybriden Ausführungen bezüglich der Anzahl beteiligter Gene, die für eine Hypersensibilitätsresistenz verantwortlich sind, gemacht.

2 Die Bedeutung der Scharkakrankheit in der Gattung *Prunus*

2.1 Die Scharkakrankheit

Die Scharkakrankheit wird vom Scharkavirus hervorgerufen. Als Synonym wird die englische Bezeichnung *Plum pox virus* verwendet. Sie ist derzeit die bedeutendste Krankheit im Steinobstanbau (Hartmann & Neumüller, 2009). Zum ersten Mal beobachtet wurde die Krankheit 1917/1918 von bulgarischen Obstbauern an der Zwetschensorte 'Kustendil' ('Hauszwetsche') (Atanasoff, 1933; Atanasoff, 1935). Die Bedeutung der Scharkakrankheit zeigte Atanasoff (1933; 1935) nicht nur bei der Pflaume auf, sondern auch bei Mandel, Aprikose, Pfirsich und Kirsche.

Synonym: *Plum pox potyvirus*
Scharkavirus (engl. Sharka virus)
Gattung: *Potyvirus*
Familie: *Potyviridae*
(EPPO, 2004; López-Moya & García, 1999)

2.1.1 Virusstämme und Genom

2.1.1.1 Virusstämme

PPV-D (Dideron) (Kegler et al., 1998; James & Glasa, 2006; EPPO, 2004)

- vergleichsweise langsamere Ausbreitung durch Blattläuse als PPV-M
- vor allem bei Europäischer Pflaume und Aprikosen
- schlechte Übertragung auf Pfirsich
- in Westeuropa und mediterranen Ländern verbreitet

PPV-M (Marcus) (Kegler et al., 1998; James & Glasa, 2006; EPPO, 2004)

- stärkere Symptomausprägung als PPV-D in *Prunus persica*
- tritt in Ost-, Südosteuropa und mediterranen Ländern auf
- bewirkt oftmals eine stärkere Symptomausprägung als der D-Stamm

PPV-Rec (rekombinant) (Glasa et al., 2004; James & Glasa, 2006)

- entstanden aus einem Rekombinationsereignis zwischen PPV-M und PPV-D am 3'-Ende des NlB-Gens
- befällt vor allem Europäische Pflaume und Aprikose
- verbreitet in Zentral- und Südosteuropa

PPV-EA (El Amar) (James & Glasa, 2006; EPPO, 2004)

- an Aprikose in Ägypten entdeckt
- verbreitet in Ägypten

PPV-W (Winona) (James & Glasa, 2006; James et al., 2003)

- wurde 2003 von James et al. erstmalig an *Prunus domestica* in Kanada unter der Bezeichnung 'Isolat W3174' beschrieben
- verursacht schwache Symptome an befallenen Bäumen

PPV-C (Cherry) (Kalashyan et al., 1994; Nemchinov & Hadidi, 1996; Bodin et al., 2003)

- vor allem an Süß- und Sauerkirsche

- zum ersten Mal in Moldawien nachgewiesen
- Wirtspflanzenkreis ist im Vergleich mit PPV-D und PPV-M wesentlich kleiner
- künstliche Infektion von Sauerkirschenunterlagen oftmals sehr schwierig

PPV-T (Turkey) (Serce et al., 2009)

- erstmalig 2009 beschrieben
- entstanden aus zwei Rekombinationsereignissen zwischen PPV-M und PPV-D des HCPro-Gens und des CP-Gens

2.1.1.2 Genom

Die Familie der *Potyviridae* besteht aus einer einzelsträngigen RNA (ssRNA) mit positiver Orientierung. Sie ist die größte Familie der Viren, welche Pflanzen infizieren (López-Moya, Valli, and García 2009). PPV Virionen sind flexibel und stäbchenförmig. Sie besitzen eine

Länge von ungefähr 660-750 nm, einen Durchmesser von 12,5-20 nm (Salvador, García, and Simón-Mateo 2006) und eine RNA mit einer Größe von etwa 9800 nt. Am 5'-Ende ist ein genome-linked protein (VPg) kovalent gebunden mit einer Größe von etwa 24 kDa mit einem Poly-A Schwanz am 3'-Ende. Die RNA codiert zwei open reading frames (ORFs). (López-Moya, Valli, and García 2009; Salvador, García, and Simón-Mateo 2006). Der zweite ORF ist im P3 eingebettet und heißt PIPO (Pretty Interesting Potyviridae ORF) (Chung et al. 2008). Nachfolgende Genprodukte werden in der RNA, beginnend beim N-terminalen Ende codiert: P1, HCPro, P3, 6K1, CI, 6K2, N1a (VPg + Pro), N1b und CP. Das Polyprotein wird durch drei Proteasen in zehn Proteine gespalten. Die Proteine P1 und HCPro wirken autokatalytisch bei ihrer Abspaltung (Abb. 2.1-1) (Salvador et al., 2006).

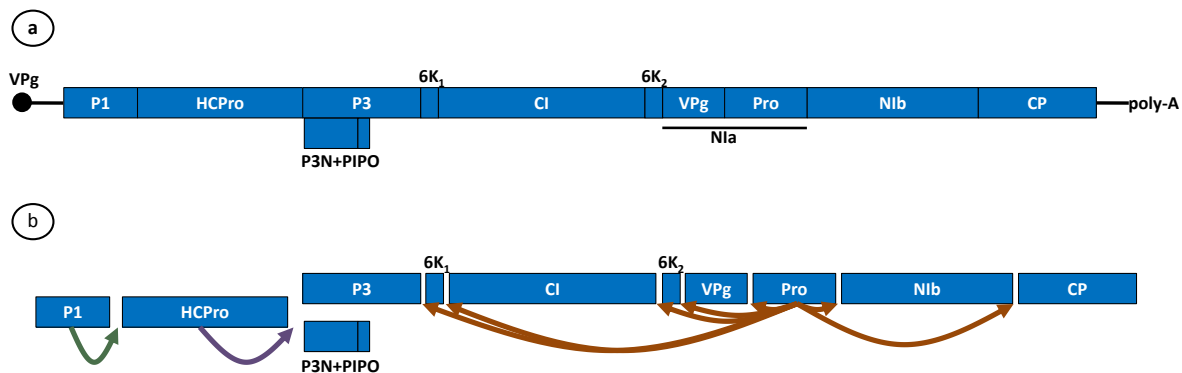


Abb. 2.1-1: **a** Genomkarte des Scharkavirus (nach López-Moya et al. (2009), verändert); am 5'-Ende ist das VPg (genome-linked viral Protein) kovalent gebunden und am 3'-Ende ein poly-A Schwanz. Blau hinterlegt in den Boxen ist der ORF (open reading frame), der für das Polyprotein codiert. **b** Proteolytische Spaltung des Polyproteins in die einzelnen Proteine: grüner und violetter Pfeil: autokatalytische Abspaltung von P1 und HCPro; orange Pfeile: Proteolyse des restlichen Polyproteins durch die Protease Pro.

Funktionen der einzelnen Proteine (López-Moya et al., 2009; Salvador et al., 2006; López-Moya et al., 2000):

P1 (first protein; 34 kDa): Serin-Proteinase in der konservierten Region des C-terminalen Endes. Das P1-Protein ist bei Potyviren extrem variabel in der Größe und in der Sequenz. Es spaltet das Polyprotein zwischen P1 und

HCPro. Eine Beteiligung des Proteins in der Replikation, Translation und Translokation der viralen RNA wird vermutet, ebenso bei der Wirtspflanzenspezifität.

HCPro (helper component; 51 kDa): Multifunktionelle Cysteinprotease, die in der Amplifikation des viralen Genoms, am Kurz- und Langstreckentransport des Virus in der Pflanze

beteiligt ist und eine Rolle bei der Übertragung durch Blattläuse spielt. Bei der Blattlausübertragung scheint das N-terminale Ende von HCPro wesentlich zu sein. Es ist auch für die Spaltung des Polyproteins zwischen HCPro und P3 verantwortlich.

P3 (third protein; 39 kDa): Die Funktion des Proteins P3 war lange Zeit unklar. Sie scheint in der Pathogenität zu liegen. Momentan geht man davon aus, dass dieses Protein an einer oder mehreren grundlegenden und wesentlich viralen Funktionen beteiligt ist. Grundlage hierfür sind transformierte TuMV Virionen, die nicht infektiös sind (Chung et al., 2008).

6K₁ und **6K₂** (je 6 kDa): Cistronen am C- und N-terminalen Ende des CI-Proteins. Bisweilen wird eine Beteiligung des 6K₁ an den Funktionen von P3 vermutet. Es wird auch über eine Rolle in der Wirt-Pathogen-Beziehung und in der Pathogenität sowie dem zeitlichen Ablauf der Infektion für wahrscheinlich gehalten. Beim 6K₂ Peptid wird eine membranverbundene Tätigkeit angenommen, sowie eine Rolle in der RNA Replikation. Des Weiteren scheint das 6K₂ Peptid in der Pathogenausbreitung und an der Symptomausprägung beteiligt zu sein (Spetz & Valkonen, 2004).

CI (cylindrical cytoplasmatic inclusion protein; 70 kDa): Ist das größte virale Genprodukt mit 70 kDa und bildet zylindrisch cytoplasmatische Inklusionen. Das CI Protein besitzt eine NTPase und RNA-Helicase-Aktivität. Eine Beteiligung in der Replikation und Translation der RNA wird bei diesem Protein vermutet, sowie die Teilnahme am Virustransports von Zelle zu Zelle.

Nla (smaller nuclear inclusion protein: VPg + Pro; 21 kDa + 27 kDa): Sequenz, die für Nla codiert beinhaltet zwei Cistronen. Durch Proteolyse wird vom Nla-Protein das VPg, welches am 5'-Ende des viralen Genoms kova-

lent bindet, abgespalten. Insgesamt ist die Protease Nla an sieben Schnittstellen bei der Proteolyse des Polyproteins beteiligt. Des Weiteren wird eine Beteiligung des VPg-Proteins am Langstreckentransport, an der Einleitung der viralen RNA Synthese am Wirtspflanzenkreis und an der Pathogenität des Virus vermutet. Das Nla-Protein scheint eine nichtspezifische DNA-Aktivität zu besitzen. Es akkumuliert im Infektionsprozess im Zellkern der Wirtspflanze und schützt damit eventuell die Wirtspflanzen-DNA vor einem Abbau.

Nlb (large nuclear inclusion protein; 57 kDa): Nla und Nlb formen zusammen nukleäre Inklusionen. Nlb ist die RNA-abhängige RNA-Polymerase und verantwortlich für die Replikation des viralen Genoms.

CP (coat protein; 36 kDa): Bildet die Capsomere, die sich zum Capsid zusammensetzen, welches das virale Genom umgibt. In der Kerndomäne ist eine stark konservierte Region, welche für den Aufbau der Virose, den Zelltransport und die Durchschleusung durch die Plasmodesmen entscheidend zu sein scheint. Für die Virusausbreitung von Zelle zu Zelle spielt das N-terminale Ende des CP-Proteins eine Rolle, ebenso bei der Übertragung durch Blattläuse im Zusammenspiel mit HCPro. Das N-terminale Ende des Hüllproteins hierbei ist bedeutend für die Infektiösität und für die Übertragbarkeit der Virose.

Bisher ist eine detaillierte Beschreibung des Zusammenspiels zwischen viralen Proteinen und wirtsspezifischen Faktoren, welche an einer Virustranslation, -replikation und -ausbreitung im Wirt mit verantwortlich sind, aber nicht näher bekannt (Salvador et al., 2006).

2.1.2 Geografische Ausbreitung, Epidemiologie und Wirtspflanzen

Das *Plum pox virus* wurde 1915 zum ersten Mal in Mazedonien beobachtet und breitete sich dann über Jugoslawien in den 50er Jahren nach Deutschland aus (Atanasoff, 1933; Hartmann, 1990). Der M-Stamm kommt vor allem in Zentral-, Ost- und Südosteuropa, sowie mediterranen Ländern vor während der D-Stamm in Westeuropa und ebenso in mediterranen Ländern auftritt (Myrta et al., 2001). Eine klare räumliche Trennung einzelner

Stämme lässt sich aber nicht treffen (Szemes et al., 2001). Abb. 2.1-2 gibt einen Überblick über die globale Verbreitung der Scharkaviruse. Diese beschränkt sich nun nicht nur mehr auf den Europäischen Raum, sondern auch auf Gebiete in Übersee. Neben den in Abb. 2.1-2 gezeigten Ländern wurde auch in China (Navratil et al., 2006), Norwegen (Blystad & Munthe, 2006), Russland (Prichodko, 2006) und in den USA (Levy, 2006) das Scharkavirus gefunden.

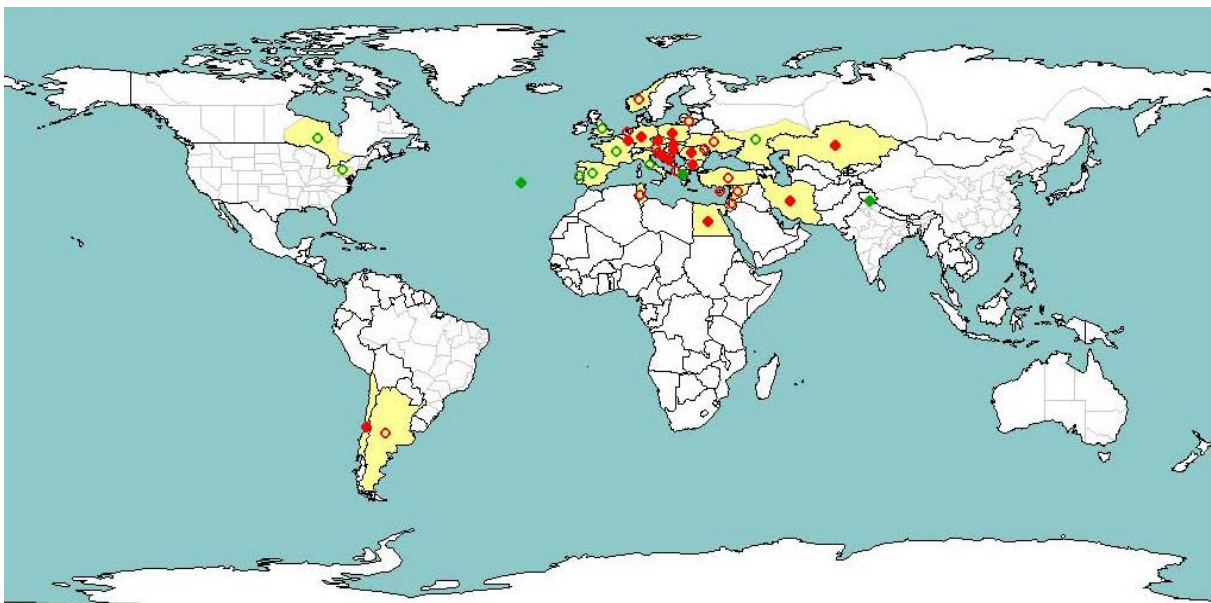


Abb. 2.1-2: Geografische Ausbreitung der Scharkakrankheit. Grün: Vorkommen nur in einigen Gebieten eines Landes (Vorkommen des Isolats ist national begrenzt); grün gefüllt: komplette Verbreitung in einem Land (Vorkommen des Isolats ist national begrenzt); rot: Vorkommen nur in einigen Gebieten eines Landes (internationales Vorkommen der Isolate); rot gefüllt: komplette Verbreitung in einem Land (internationales Vorkommen der Isolate) (Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 2006).

Zu den bedeutenden Steinobstarten, welche vom Scharkavirus befallen werden, zählen die Süß- und Sauerkirschen (*P. avium* und *P. cerasus*), die Mandel (*P. dulcis*), die Aprikose (*P. armeniaca*), der Pfirsich (*P. persica*), sowie die Japanische und Europäische Pflaume (*P. salicina* und *P. domestica*) (Llácer & Cambra, 2006). Neben den bedeutenden Steinobstarten zeigen James und Thompsen

(2006) sowie Polák (2006) einen Auszug verschiedener Zier- und Wildarten von Prunus und von Gehölzen, welche mit PPV infiziert werden können (Tabelle 2.1-2). Des Weiteren zeigt Llácer (2006), dass neben den verholzten Pflanzen auch krautige Pflanzen mit PPV infiziert werden können (Tabelle 2.1-1).

Tab. 2.1-1: Auszug verschiedener krautiger Pflanzen, die als Wirtspflanzen für PPV natürlicherweise oder mittels experimenteller Feststellungen in Frage kommen (Llácer, 2006)

Wirtspflanze	Infektion
<i>Chenopodium foetidum</i>	künstlich
<i>Nicotiana clevelandii</i>	künstlich
<i>Nicotiana benthamiana</i>	künstlich
<i>Pisum sativum</i>	künstlich
<i>Senecio sylvaticus</i>	künstlich
<i>Nicotiana quivalvis</i>	künstlich
<i>Arabidopsis thaliana</i>	künstlich
<i>Capsella bursa pastoris</i>	natürlich
<i>Lactuca serriola</i>	natürlich
<i>Lythospermum arvensis</i>	natürlich
<i>Rumex crispus</i>	natürlich
<i>Veronica hederifolia</i>	natürlich
<i>Taraxacum officinale</i>	natürlich
<i>Cirsium arvense</i>	natürlich
<i>Convolvulus arvensis</i>	natürlich
<i>Clematis sp.</i>	natürlich
<i>Cichorium sp.</i>	natürlich
<i>Rorippa sylvestris</i>	natürlich
<i>Ajuga genevensis</i>	natürlich

Das Wissen über die Infektionsmöglichkeiten dieser einzelnen Arten oder auch Hybriden erleichtert eine bessere Kontrolle des phytosanitären Status von Obstanlagen oder auch Baumschulen, weil potentielle umliegende Quellen, die eventuell als Infektionsquelle in Frage kommen, somit erkannt werden können. Eine Übertragbarkeit der Scharkavirose von krautigen Pflanzen auf Gehölze wird jedoch konträr diskutiert und konnte bisher nicht nachgewiesen werden. Für die Epidemiologie des Scharkavirus wird den krautigen Pflanzen aber eine untergeordnetere Rolle zugeschrieben (Llácer, 2006).

Bei den krautigen Pflanzen, die mit Scharkavirus infiziert werden können lässt sich zwi-

schen experimentellen und natürlichen Wirtspflanzen unterscheiden.

Tab. 2.1-2: Auszug verschiedene Zier- und Wildarten von *Prunus*, die als Wirtspflanzen für PPV natürlicherweise oder mittels experimenteller Feststellungen in Frage kommen (James and Thompson 2006; Polák 2006; verändert)

Wirtspflanze	Infektion
<i>P. americana</i>	künstlich
<i>P. besseyi</i>	künstlich
<i>P. × blireana</i>	natürlich
<i>P. brigantina</i>	künstlich
<i>P. cerasifera</i>	natürlich
<i>P. × cistena</i>	künstlich
<i>P. cocomilia</i>	künstlich
<i>P. curdica</i>	künstlich
<i>P. davidiana</i>	künstlich
<i>P. glandulosa</i>	natürlich
<i>P. holosericea</i>	künstlich
<i>P. hortulana</i>	künstlich
<i>P. insititia</i>	natürlich
<i>P. japonica</i>	natürlich
<i>P. laurocerasus</i>	künstlich
<i>P. mahaleb</i>	künstlich
<i>P. mandshurica</i>	künstlich
<i>P. 'Marianna'</i>	künstlich
<i>P. maritima</i>	künstlich
<i>P. mexicana</i>	künstlich
<i>P. microcarpa</i>	künstlich
<i>P. mume</i>	künstlich
<i>P. munsoniana</i>	künstlich
<i>P. nigra</i>	künstlich
<i>P. persica f. atropurpurea</i>	natürlich
<i>P. pumila</i>	künstlich
<i>P. salicina</i>	natürlich
<i>P. serotina</i>	natürlich
<i>P. sibirica</i>	künstlich
<i>P. simonii</i>	künstlich
<i>P. spinosa</i>	natürlich
<i>P. tomentosa</i>	künstlich
<i>P. triloba</i>	künstlich
<i>Ligustrum vulgare</i>	künstlich
<i>Euonymus europea</i>	künstlich
<i>Juglans regia</i>	künstlich

2.1.3 Übertragung und Ausbreitung in der Pflanze

„Pflanzliche Viren sind normalerweise nicht in der Lage, in die intakte Pflanze einzudringen, sondern benötigen dazu Vektoren“ (Elstner et al., 1996). Das Scharkavirus kann nichtpersistent durch Blattläuse sowie mechanisch übertragen werden. Vektoren für das Scharkavirus sind die Grüne Pfirsichblattlaus (*Myzus persicae* Sulz.), die Kleine und Große Pflaumenblattlaus (*Brachycaudus helichrysi* Kalt, *Brachycaudus cardui* L.) und die Hopfenblattlaus (*Phorodon humuli* (Schrk.) Pass.). Als Winterwirte nutzen diese Blattlausarten krautige Pflanzen, oder auch den Hopfen. Bei der Übertragung von PPV, kann das Scharkavirus nur kurze Zeit im Vektor überdauern. Die Blattlaus ist nach einer Stunde virusfrei, wenn sie bis dahin an keiner kranken Pflanze Virus in sich aufgenommen hat (Krczal & Kunze, 1986). Weitere Blattlausarten, die Scharkavirus übertragen können sind *Aphis craccivora*, *Aphis fabae*, *Aphis spiraecola*, *Hyalopterus pruni* und *Myzus varians* (Nemeth, 1994). Bei Potyviren kann man mit Zunahme der Vektoren den Anstieg der viralen Infektionen in Verbindung bringen. Die Epidemiologie der Vektoren wird hierbei wiederum durch Umwelt- und Klimafaktoren beeinflusst (López-Moya et al., 2009). Eine mechanische Übertragung des Scharkavirus ist durch Veredlung möglich. Mittels Anplatten, Pfropfen, Kopulation, Chip-Veredlung oder auch Okulation kann das Virus in gesunde Pflanzen übertragen werden. Zu beachten ist vor allem, dass eine ungleiche Virusverteilung in der infizierten Pflanze vorhanden sein kann. Zur erfolgreichen Inokulation von gesunden Pflanzen soll von der befallenen Pflanze an unterschiedlichen Stellen Reiser geschnitten werden (Nemeth, 1994).

Zur Fortbewegung von Viren in der Pflanze werden sogenannte Transportproteine synthetisiert. Mit Hilfe dieser Bewegungsproteine können sich Viren über die Plasmodesmata von Zelle zu Zelle bewegen. Der Durchmesser der Plasmodesmata liegt bei 10 nm, so dass auf Grund der Größe des Scharkavirus von 12,5-20 nm (Salvador et al., 2006) es zu einer Aufweitung der plasmodesmatischen Verbindungen kommen muss. Konträr dazu haben Untersuchungen bei Como- und Caulimoviren Anhaltspunkte ergeben, dass auf Grund der teilweise sehr großen Unterschiede in der Größe der Viren und der Plasmodesmata von den Viren sekundäre plasmatische Verbindungen zwischen den Zellen induziert werden, um einen Zell-zu-Zell Transport der Viren zu ermöglichen (Elstner et al., 1996). Die systemische Ausbreitung in der Pflanze erfolgt im Leitungsgewebe, wobei die Stärke der systemischen Ausbreitung abhängig von der Anfälligkeit der infizierten Pflanze ist (Dicenta et al., 2003; Rubio et al., 2008).

2.1.4 Symptome

Bereits von Nemeth (1994) beschrieben, ist PPV eine wirtschaftlich bedeutende Krankheit im Steinobstanbau (Cambra et al., 2006). Die Scharkakrankheit bewirkt Symptome an Blättern, Blütenblättern, Wurzeln, an Trieben und am Stamm, sowie an Früchten und Steinen. Klare Symptomausprägungen können im Frühjahr an Blättern durch Aufhellungen der Blattadern, chlorotischen Ringen und Punkten oder auch an Blattdeformationen beobachtet werden. Jedoch sind das Ausmaß und die Ausprägung sehr stark sortenabhängig. Symptome an Blütenblättern kann man beim Pfirsich beobachten und Symptome an Steinen vor allem bei Aprikosen. An Früchten äußert sich die Virose durch Pocken, rotbraun gefärbtes Fruchtfleisch, vorzeitigen Fruchtfall und vorzeitige Blaufärbungen. Schwacher Befall an

den Früchten zeigt sich häufig nur in der Marmorierung der Fruchthaut. Des Weiteren besitzen die Früchte vieler Sorten einen erhöhten Säure- und einen verringerten Zuckergehalt, so dass diese dann nicht mehr schmecken (Hartmann & Neumüller, 2009). Auf Grund der starken Schädigungen sind die Früchte oftmals unverwertbar und fallen häufig vorzeitig ab. Schäden an Trieben und am Stamm sind sortenabhängig und äußern sich in Rissen und in krebsartigen Wülsten. An Wurzeln kann ein extrem verkrümmtes, verkürztes und stark verzweigtes Wachstum beobachtet werden (EPPO, 2004; Hartmann, 1990).

2.1.5 Bekämpfungsstrategien

Bereits von Atanasoff (1935) wird der sanitäre Status der Obstanlage an vorderster Stelle gesetzt. Hierbei soll eine erstmalige visuelle Kontrolle vier bis sechs Wochen nach Austriebsbeginn erfolgen und eine zweite Sichtung nach weiteren vier bis acht Wochen. Bäume, die mit Scharkavirus befallen sind, sollten baldmöglichst gerodet werden. Der

zweite von Atanasoff beschriebene mögliche Angriffspunkt war die Dezimierung von Vektoren. Hierbei kann mittels Pestiziden, sowie durch Einsatz von Mineralölen der Befall mit Blattläusen reduziert werden (López-Moya et al., 2009). Mittlerweile wird die Scharkakrankheit als Quarantänekrankheit eingestuft und von EPPO werden die gleichen Maßnahmen, wie bereits damals von Atanasoff beschrieben, zur Eindämmung der Ausbreitung der Virose gefordert: Kontrolle der Vektoren, laufende Kontrolle der Bestände, Auswahl des Standorts, die Rodung von befallenem Pflanzenmaterial, die Nutzung von virusfreiem Pflanzenmaterial, sowie der Einsatz hoch sensitiver Diagnosemethoden um Infektionen im frühen Stadium erkennen zu können (EPPO, 2004; López-Moya et al., 2009; Hartmann, 1990). Bereits Atanasoff (1935) spricht von der Nutzung resistenter Zuchtklone und im speziellen von der Nutzung immuner Sorten. Bisher konnten aber keine immunen Zuchtklone in *Prunus domestica* detektiert werden (Grüntzig et al., 2001; Hartmann & Petruschke, 2000; Hartmann & Neumüller, 2006).

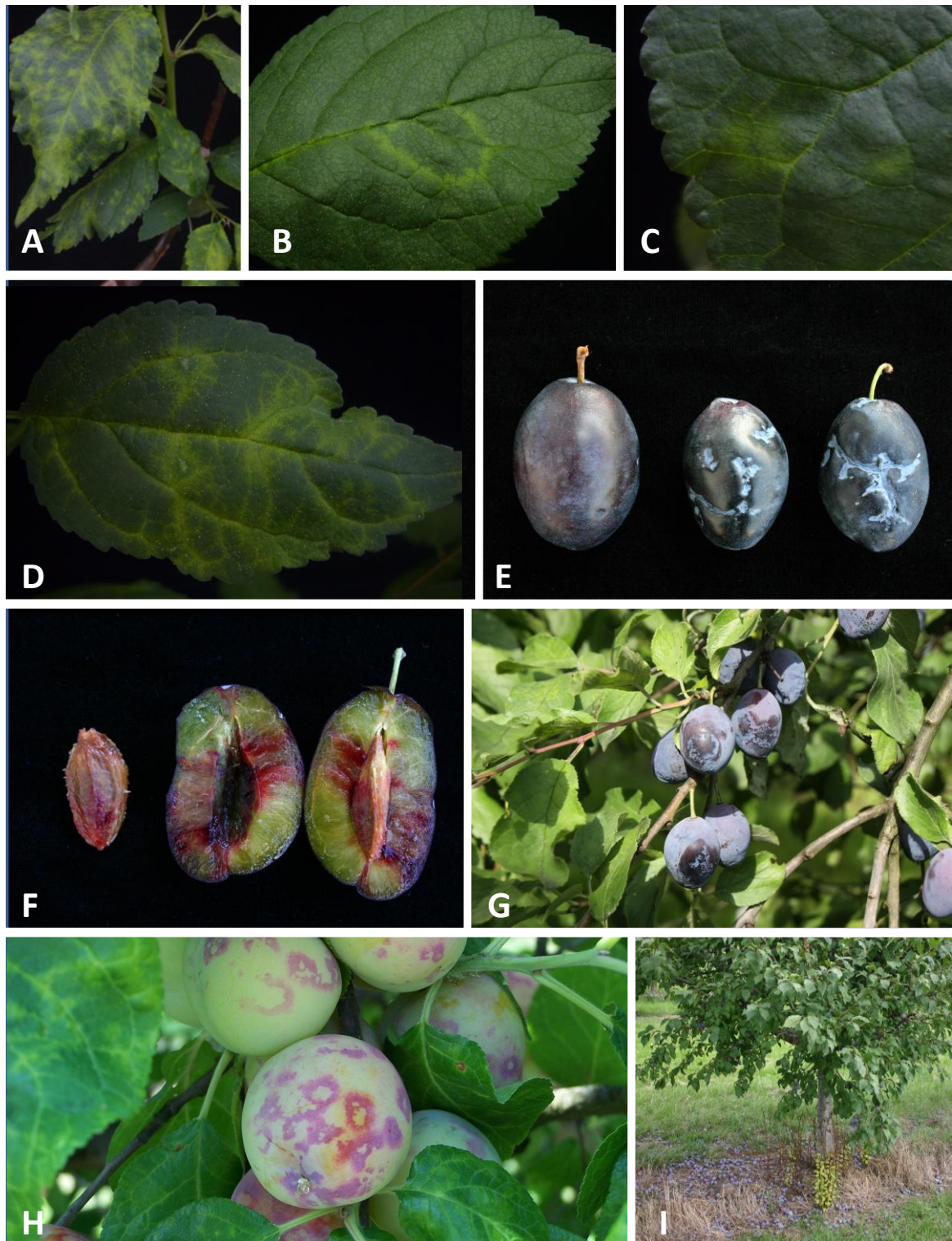


Abb. 2.1-3: Verschiedene Symptomausprägungen an Bäumen, die mit Scharkavirus befallen sind. **A – D** Chlorotische Ringe und Aufhellungen am ganzen Blatt bzw. partiell: **A** 'Wei 4996' ('Topper' × 'Wei 4571') mit chlorotischen Punkten gleichmäßig über die ganze Blattspreite verteilt, **B** 'Wei 4962' ('Hoh 4517' × 'Hoh 2043') mit einem einzelnen scharf abgegrenzten chlorotischen Ring, **C** 'Wei 4768' ('Wei 4941' × 'Hoh 8014') mit einer einzelnen punktuellen Aufhellung auf der Blattspreite, **D** 'Katinka' mit chlorotischen Aufhellungen und teilweise chlorotischen Ringen entlang der Blattadern ungleichmäßig über die Blattspreite verteilt, **E – I** Fruchtsymptome und vorzeitiger Fruchtfall, **F – H** 'Harbella' mit Marmorierungen, Einsenkungen der Frucht und Verfärbungen im Fruchtfleisch und am Stein vor der Reife, **G** 'Hauszwetsche' mit Marmorierungen an der Frucht, **H** 'Anasovaska' mit Marmorierungen an der Frucht, **I** 'Hauszwetsche' mit vorzeitigem Fruchtfall.

2.2 Die Gattung Prunus

2.2.1 Systematik

Die Gattung Prunus gehört zur Familie der Rosaceae mit der Unterfamilie *Prunoideae* und umfasst eine große Anzahl an Zier- und Nutzpflanzen. Für den Obstanbau bedeutende Steinobstarten, die zur Gattung *Prunus* gehören, sind beispielsweise der Pfirsich (*P. persica*), die Aprikose (*P. armeniaca*), die Europäische Pflaume (*P. domestica*) oder auch Süß- und Sauerkirschen (*P. cerasus* und *P. avium*). Innerhalb der Art *P. domestica* wird noch zwischen den beiden Unterarten *domestica* (Pflaumen, Zwetschen und Renekloden) und

insititia (Mirabellen, Spillinge, Haferpflaumen und Zibarten) unterschieden. Die Unterteilung in diese Unterarten erfolgte auf Grund des Fruchtcharakters und nicht wegen verwandtschaftlicher Beziehungen. Mit dem hexaploiden Chromosomensatz bei *Prunus domestica*, dem tetraploiden Chromosomensatz bei *Prunus spinosa* und *Prunus cerasus* stellen diese Arten eine Ausnahme innerhalb der Gattung *Prunus* mit ihren sonst diploiden Arten dar (Abb. 2.2-1)(Hartmann & Neumüller, 2009).

Abb. 2.2-1: Übersicht zur Systematik ausgewählter und für den Obstbau bedeutender Steinobstarten mit deren jeweiligen Ploidigrad. In den Versuchen verwendete Arten oder Hybriden, die aus diesen Arten entstanden sind, sind grün unterstrichen (Silbereisen et al., 1996; Esmenjaud & Dirlewanger, 2007; Hartmann & Neumüller, 2009; Okie & Hancock, 2008) $2n=2x=48$ bei Arten, bei denen keine Angabe des Chromosomensatzes dargestellt ist:

Familie: Rosaceae
 Unterfamilie: Prunoideae
 Gattung: Prunus

Untergattung: Amygdalus

- Sektion Amygdalus: z.B. *Prunus dulcis*
Prunus davidiana
Prunus persica

Untergattung: Cerasus

- Sektion Cerasus: z.B. *Prunus cerasus* ($2n=4x=32$)
Prunus avium
- Sektion Mikrocerasus: z.B. *Prunus tomentosa*

Untergattung: Prunus

- Sektion Prunus: z.B. *Prunus salicina*
Prunus spinosa ($2n=4x=32$)
Prunus cerasifera
Prunus domestica ssp. *Domestica* ($2n=6x=48$)
Pflaumen
Zwetschen
Renekloden

Prunus domestica ssp. insititia(2n=6x=48)

Mirabellen
Spillinge
Haferpflaumen
Zibarten

Sektion Armeniaca. z.B.

Prunus armeniaca

2.2.2 Wirtschaftliche Bedeutung von *Prunus domestica* L.

Deutschland produziert mit einer Menge von 70.000 t Zwetschen, Pflaumen und Schlehen etwa 10 % der Menge aus Serbien, das den höchsten Produktionswert auf dem Europäischen Kontinent aufweist. Österreich produziert nahezu die gleich Menge wie Deutschland (Tabelle 2.2-1). Serbien hat eine Produktionsmenge von 663.000 t (Anon., 2011). Die von Faostat (2011) erfassten Mengen beziehen sich ausschließlich auf die im Erwerbsanbau produzierten Mengen, die über den Handel vermarktet wurden. Daten von der Direktvermarktung werden nicht mehr mit angeführt. In den Vorjahren angeführte Mengen erfassten neben den im Vollerwerb produzierten Mengen auch die Erträge aus Hausgärten und aus dem Streuobstanbau. So lag Deutschland in den Vorjahren mit 400.000 t an produzierten Zwetschen und Schlehen mit an der Spitze in der Produktionsmenge. Die erfassten Daten sind auf Grund der zweifelhaften Angaben mit Vorsicht zu behandeln, da in Österreich beispielsweise ein Flächenertrag von 296 t/ha ausgewiesen wurde. So ist auch zwischen den einzelnen Ländern der Ertrag sehr unterschiedlich. Serbien erzeugt pro Hektar 3,31 t, was in etwa 25 % der in Deutschland pro Hektar produzierten Menge entspricht. Den höchsten Flächenertrag besitzt laut FAOSTAT die Schweiz mit 20,03 t/ha, den niedrigsten die Slowakei mit 0,72 t/ha.

Tab. 2.2-1:Produktion an Pflaumen (*P. domestica* und *P. salicina*) und Schlehen ausgewählter Länder des Europäischen Kontinents, sortiert nach Produktionsmengen. Hierbei sind nur Daten aus den Erwerbsbetrieben, welche für den Handel produzieren (FAOSTAT 2011), erfasst. * Der Ertrag von Österreich wurde auf Grund der Angaben von FAOSTAT mit 296 t/ha auf 242 ha Produktionsfläche nicht mit aufgenommen.

	Ertrag [t/ha]	Fläche [ha]	Produktion [in taus. Tonnen]
Serbien	3,31	200.000	663
Rumänien	7,15	74.688	534
Türkei	12,67	19.400	246
Spanien	10,26	19.500	200
Italien	13,86	14.000	194
Bosnien und Herzegowina	2,08	75.000	156
Frankreich	8,33	18.000	150
Ukraine	6,87	19.900	137
Russland	2,16	58.000	125
Polen	5,74	21.044	121
Weißrussland	10,12	7.995	81
Österreich	*		72
Deutschland	13,78	5.100	70
Ungarn	8,05	6.399	51
Kroatien	2,02	19.000	38
Albanien	8,81	2.700	24
Portugal	10,70	1.965	21
Bulgarien	1,05	16.400	17
Griechenland	8,67	1.500	13
Schweiz	20,03	341	7
Kasachstan	6,25	800	5
Slowenien	1,64	2.500	4
Litauen	2,40	1.075	3
Norwegen	3,56	432	2
Slowakei	0,72	972	1

Diese Unterschiede in den Erträgen können auf die unterschiedlichen Anbauverfahren und auf die Intensivierung des Anbaus zurückgeführt werden.

2.2.3 Züchterische Bemühungen zur Bekämpfung der Scharkakrankheit bedeutender *Prunus*-Gattungen

„Ziel in der Pflanzenzüchtung ist die genetische Veränderung von Kulturpflanzen, um sie den Bedürfnissen des Menschen besser anpassen zu können (Miedaner, 2010).“ Hierbei möchte man durch bestimmte Maßnahmen, Fähigkeiten und Eigenschaften durch Vererbung von Eltern auf Nachkommen übertragen (Scheibe, 1951). Die Pflanzenzüchtung besitzt ein Vielfaches an Funktionen. Die Zuchtziele variieren hierbei nach der jeweiligen Kulturart. Wichtige Zuchtziele in der Landwirtschaft sind vor allem die Züchtung nach Ertrag, nach Qualität von Ernteprodukten, nach agronomischen Eigenschaften und besonders auch nach Widerstandsfähigkeit gegen Umweltstress, sowie Schädlingen und Schaderregern (Miedaner, 2010).

Bei vielen *Prunus*-Arten konzentriert sich die Züchtung auf die Entwicklung von Sorten, die in bestimmten Regionen gewinnbringend vermarktet werden sollen (Okie & Weinberger, 1996). Bedingt durch die Problematik mit der Scharkavirose konzentriert sich die Züchtung in Deutschland auf den Erhalt von scharkaresistenten Sorten (Hartmann & Neumüller, 2006). Das Scharkavirus befällt verschiedene *Prunus*-Arten, vor allem die wirtschaftlich wichtigen Steinobstarten, wie den Pfirsich (*P. persica*), die Aprikose (*P. armeniaca*) und die Europäische Pflaume (*P. domestica*). Von der Krankheit ebenso betroffen, aber wirtschaftlich nicht bedeutend, sind die Japanische Pflaume (*P. salicina*), die Mandel

(*P. dulcis*), sowie Sauer- und Süßkirschen (*P. cerasus* und *P. avium*) (Candresse & Cambra, 2006; EPPO, 2004).

2.2.3.1 *Prunus cerasus* und *Prunus avium*

Prunus avium und *Prunus cerasus* wurden lange als immun oder hoch resistent gegenüber PPV eingestuft (Llácer & Cambra, 2006). Der erste Bericht über natürliche Infektionen an Sauerkirsche erfolgte 1994 (Kalashyan et al., 1994). Veröffentlichungen zur Bekämpfung der Scharkakrankheit oder auch züchterische Anstrengungen sind bis dato nicht erschienen oder durchgeführt worden.

2.2.3.2 *Prunus dulcis*

Die Mandel wurde lange als nicht natürliche Wirtspflanze für PPV eingestuft. Sie zeigt ebenso wie die Hybriden von Mandel mit Pfirsich wenige bis gar keine Symptome. Künstliche Infektionen wurden bei der Mandel aber erfolgreich erreicht (Llácer & Cambra, 2006).

2.2.3.3 *Prunus salicina*

Bei der Japanischen Pflaume zeigen bei Befall mit Scharka maximal 15 % der Früchte Symptome in Form von Ringen, Bändern und Flecken, sowie bräunlichen Vertiefungen und Fehlbildungen. Der Großteil der Früchte ist vermarktungsfähig und viele Sorten von *Prunus salicina* sind auch tolerant gegenüber PPV (Llácer & Cambra, 2006).

2.2.3.4 *Prunus armeniaca*

In der Aprikosenzüchtung richtet sich der Fokus vor allem auf den Erhalt quantitativ resistenter Zuchtklone. Hierbei gibt es aber oft wesentliche Unterschiede in der Einstufung von Sorten bezüglich ihrer Resistenz gegenüber PPV (Martínez-Gómez & Dicenta, 2000).

2.2.3.5 *Prunus persica*

Ebenso wie die Aprikosenzüchtung orientiert sich die Züchtung beim Pfirsich vor allem im Erhalt von quantitativ resistenten Sorten. Da *Prunus persica* sehr stark vom Scharkavirus befallen wird (Rubio et al., 2010) und das Auftreten von natürlicher Resistenz, trotz der hohen Zahl an getesteten Zuchtklone, bisher nicht beobachtet werden konnte (Escalettes et al., 1998), wurden interspezifische Hybridisierungen mit einer wilden Mandelart durchgeführt. Hierbei handelte es sich um den *Prunus davidiana* Klon 'P1908', der als quantitativ resistent eingestuft wurde (Pascal et al., 1998). Trotzdem konnten bisher keine Sorten gezüchtet werden, die sowohl eine Scharkaresistenz besitzen als auch eine hohe Fruchtqualität ineinander vereinen und somit den Ansprüchen des Marktes gerecht werden (Decroocq et al., 2005).

2.2.3.6 *Prunus domestica*

Ein züchterischer Ansatz bei *Prunus domestica* zum Erhalt resistenter Zuchtklone ist die Anwendung des posttranscriptional gene silencing (PTGS). Im Pflanzengenom wird hierbei das Virusgen, das für das Hüllprotein codiert, eingebaut. So sind transformierte Sämlinge des Zuchtklons 'C5' resistent gegenüber PPV. Wird die Virose durch Blattläuse übertragen, ist es nicht durch ELISA oder durch IC-RT-PCR detektierbar. Wird es hingegen mittels Chip-Veredlung übertragen ist es durch die IC-RT-PCR detektierbar (Scorza et al., 2001). Nichts desto trotz liefert die Erzeugung von transgenen Pflanzen in Europa konträre Diskussionen (Marandel et al., 2009).

Weniger Anwendung findet die Resistenzzüchtung gegenüber Vektoren, da Quellen für diese Resistenz nur eingeschränkt vorhanden sind (López-Moya et al., 2009).

Ein züchterischer Ansatz zur Bekämpfung der Scharkakrankheit ist die Erzeugung hypersensibler Zuchtklone (Hartmann, 1999).

3 Hypersensibilitätsresistenz

Der Phänomen Hypersensibilität wurde zum ersten Mal von Stakman (1915) als „schneller und lokalisierter Zelltod“, verursacht durch Rostpilze im Getreide, beschrieben. Neben dem lokalisierten Zelltod kommt es auch zu einer induzierten Abwehrreaktion betroffener Nachbarzellen (Heath, 2000). Die hypersensible Reaktion als Form des programmierten Zelltods (PCD = programmed cell death) stellt eine Interaktion zwischen Virus und Pflanze dar. Typische Symptome sind hierbei nekrotische und tote Zellen beim Infektionspartner (Heath, 2000).

Betrachtet man zur Beschreibung der hypersensiblen Reaktion die Gen-für-Gen-Hypothese nach Flor (1956), dann besitzt ein Erreger ein Avirulenzgen *avr* und die Wirtspflanze ein Resistenzgen *R*. Bei einer dominanten Ausprägung des Resistenzgens *R* kommt es anschließend zu einer Abwehrreaktion gegenüber dem Schaderreger (Flor, 1956; Dangl & Jones, 2001). Neuere Literatur beschreibt den ersten Schritt in der Abwehrreaktion von Pflanzen bei Pathogenkontakt in der Erkennung von pathogen- / microbe- (PAMPs/MAMPs) oder danger-associated molecular patterns (DAMPs) mit Hilfe von Pattern-Recognition Rezeptors (PRRs) (Coll et al., 2011; Zipfel, 2009) (Abb. 3-1). Hierbei handelt es sich um spezifische Transmembranrezeptoren, welche die Schaderreger anhand ihrer Struktur erkennen (Zipfel, 2009). Erfolgt eine Erkennung des Pathogens an der Zellwand mit Hilfe von MAMPs/PAMPs wird von einer MAMP/PAMP triggered immunity (MTI/PTI) gesprochen (Coll et al., 2011). Bei Viren erfolgt eine Erkennung erst in der Pflanzenzelle, so dass es zu keiner MTI/PTI kommen kann.

Hierbei spielt in der Pflanzenzelle die sogenannte effector-triggered immunity (ETI) als Pathogenerkennung eine Rolle (Coll et al., 2011; Jones & Dangl, 2006). Bei der ETI handelt es sich um eine schnellere und verstärkte Variante der PTI, die mit einer hypersensiblen Reaktion endet (Jones & Dangl, 2006). Die ETI wird durch sogenannte leucine-rich repeats mit einer Nukleotidbindedomäne (NB-LRR) gesteuert, die wiederum in den meisten Fällen von R-Genen codiert werden (Dangl & Jones, 2001). Hierbei wird im hauptsächlichen zwischen zwei unterschiedlichen N-terminalen Domänen, der Toll-Interleukin 1 Rezeptor (TIR) Domäne und der Coiled-coil Domäne unterschieden, wobei erstere für eine unspezifische Resistenz verantwortlich gemacht wird und zweitere für spezifische Resistenzmechanismen (Coll et al., 2011). Eine Auslösung der Virusresistenz durch NB-LRR bedingt einen obligat biotrophen Parasiten, wie es beim Scharkavirus der Fall ist (Jones & Dangl, 2006). Die Viruserkennung kann bei der ETI direkt und indirekt über ein dazwischen geschaltetes Protein erfolgen (Coll et al., 2011). Nach der Erkennung des Pathogens folgt eine Akkumulation von Salicylsäure (SA), Jasmonsäure (JA) und Ethylen (Coll et al., 2011; Jones & Dangl, 2006). Es kommt zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und Stickstoffmonoxid (NO) sowie zur Aktivierung des mitogen-activated protein-Kinase-Wegs (MAP-Kinase-Weg) (Coll et al., 2011; Jones & Dangl, 2006). Das Enzym Metacaspase bedingt eine Regulierung der hypersensiblen Reaktion und wird durch die Reaktion von NB-LRR mit dem Pathogen selbst aktiviert (Coll et al., 2011). Die Bildung der ROS durch die NADPH-Oxidase in der Plasmamembran wird als oxidative burst

bezeichnet (Jabs & Slusarenko, 2000; Torres & Dangl, 2005). Diese Reaktionen führen zu einem veränderten Ionenfluss mit einem intrazellulären Anstieg des Calciumgehalts (Coll et al., 2011) und einer Abnahme des Kaliumgehalts (Jabs & Slusarenko, 2000). ROS werden des Weiteren von den Mitochondrien und Chloroplasten gebildet (Coll et al., 2011). NO, SA und JA werden von den Chloroplasten gebildet (Coll et al., 2011). Anschließend kommt es zu einer Proteinphosphorylierung und zur Proteinsynthese. Durch spezifische Interaktio-

nen bilden sich nekrotische Lokalläsionen und der Erreger wird auf den Infektionsort begrenzt. Des Weiteren werden in Nachbarzellen Abwehrmechanismen und über einen Langstreckentransport eine systemische Resistenz induziert (Kegler & Fridt, 1993; Heath, 2000). In Folge der HR kommt es zu einem Schrumpfen des Zytoplasmas, einer Kondensation von Chromatin, sowie zu einem Anschwellen der Mitochondrien (Coll et al., 2011). Abschließend zersetzen sich Vakuole und Chloroplasten (Coll et al., 2011).

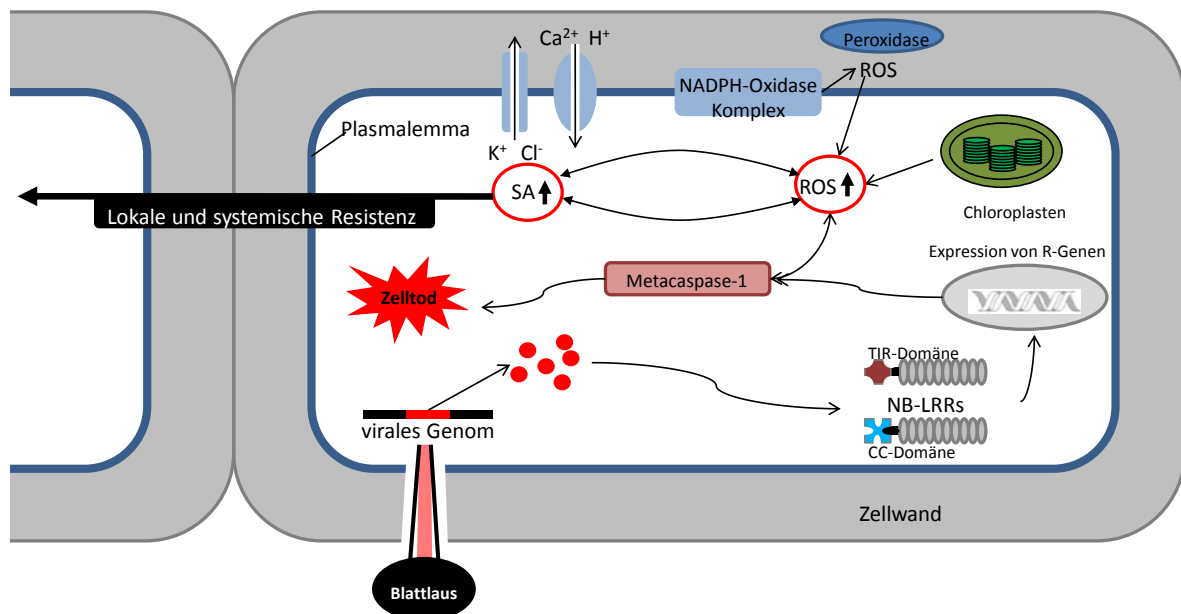


Abb. 3-1: Auszug aus den Signal- und Stoffwechselwegen, die für eine hypersensible Reaktion bei *P. domestica*, nach einer erfolgten Infektion, beteiligt sind: Durch die Erkennung des viralen Avr-Produkts mittels der NB-LRRs kommt es zu einer Expression von R-Genen, die eine Signalkaskade auslösen und eine Aktivierung von Transkriptionsfaktoren bedingen. Im Cytoplasma erfolgt eine Veränderung der Ionenkonzentration. In der Zellwand werden mit Hilfe des NADPH-Oxidase Komplexes und durch Peroxidasen ROS gebildet, welche durch das Plasmalemma in das Cytoplasma diffundieren. ROS werden auch in den Chloroplasten gebildet. Der Anstieg der ROS bedingt die Bildung von Salicylat, welches für die lokale und systemische Resistenz verantwortlich ist. Durch die Aktivierung der Resistenzgene und die ausgelösten Signalkaskaden kommt es letztendlich zum programmierten Zelltod (abgeändert nach Coll et al., 2011; Jabs und Slusarenko, 2000).

Bei Befall von *P. domestica*-Zuchtclonen mit dem Scharavirus kann bei der Wirt-Virus-Kombination zwischen einer vollständigen, qualitativen Lokalisierungsresistenz sowie einer unvollständigen Nichtlokalisierungsresis-

tenz unterschieden werden (Kegler & Fridt, 1993). Phänotypisch betrachtet wird von Kegler und Fridt (1993) die hypersensible Reaktion als eine qualitative Resistenz gegenüber PPV eingeordnet. Die Hypersensibilitätsresis-

tenz wurde erstmals in der Pflaumenhybride 'K4' ('Kischinever Hybride 4') erkannt (Kegler et al., 1985). Diese zeigten bei PPV-Stämmen des Typs CG eine hypersensible Reaktion (Kegler et al., 2001). 1999 wurde die Sorte 'Jojo', entstanden im damaligen Hohenheimer Züchtungsprogramm, als erste vollkommen scharkaresistente Sorte von Hartmann am Markt eingeführt (Hartmann, 1999). Die Hypersensibilitätsresistenz der Sorte 'Jojo' ist im Gegensatz zur 'Hybride K4' gegen alle bisher getesteten Scharkaisolate wirksam (Neumüller, 2005).

Neben der qualitativen Resistenz, gibt es auch Sorten mit quantitativer Resistenz und Sorten mit Toleranz gegenüber PPV. Bei der quantitativen Resistenz kommt es zu Abstufungen in der Ausprägungsform und quantitativ resistente Zuchtklone zeigen schwache bis fehlende Blatt- und Fruchtsymptome (Kegler & Fridt, 1993). Des Weiteren sind bei quantitativ resistenten Sorten der Virustiter sehr niedrig. Sie können durch Blattläuse infiziert werden. Tolerante Sorten besitzen trotz schwacher Blatt- und Fruchtsymptome hohe Viruskonzentrationen (Kegler & Fridt, 1993).

4 Ziele der Arbeit

Bisherige Untersuchungen zur Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz ergaben, dass die Eigenschaft der Hypersensibilitätsresistenz ein phänotypisch quantitatives und wahrscheinlich oligogen vererbtes Merkmal ist. Auf Grund des hexaploiden Genoms von *P. domestica* und der geringen Anzahl an Nachkommen aus Kreuzungskombinationen ist es jedoch nicht möglich bezüglich der Anzahl an beteiligten Genen, sowie der Anzahl von dominanten und rezessiven Allelen bei der hypersensiblen Reaktion Aussagen zu treffen. Die Reduktion des Chromosomensatzes von *P. domestica* durch interspezifischen Kreuzungen mit verwandten Arten, die einen niedrigeren Chromosomensatz besitzen, ermöglicht bei einer erfolgreichen Übertragung der Resistenz eine Vereinfachung. Hierzu werden Nachkommen aus interspezifischen Kreuzungen untersucht, ob sie gegenüber dem Scharkavirus hypersensibel reagieren, um sie anschließend den entsprechenden Hypersensibilitätsklassen zuordnen zu können. Auf der Basis der Aufspaltung der Nachkommen bezüglich des Merkmals Hypersensibilitätsresistenz und ihres Ploidigrades können entsprechende Allelkombinationen, die für eine Auslösung der HR verantwortlich sind, berechnet werden.

Bei der Erzeugung von Nachkommenschaften durch intraspezifische Hybridisierung wird besonderes Augenmerk auf die Kombinationseignung von Klonen hinsichtlich der Resistenz gegenüber PPV gelegt. Für einen effektiven Züchtungsweg ist die Kenntnis der Eignung von Zuchtklonen, die das Merkmal Hypersensibilität an eine hohe Anzahl an Nachkommen vererben besonders wichtig, da die

Resistenz in der Züchtung von neuen Zwetschensorten nur ein Merkmal von vielen ist, das hierbei eine Rolle spielt. Dass die Kombination von Klonen mit unterschiedlicher Anfälligkeit gegenüber PPV Einfluss auf die Vererbung an die Nachkommen hat, wurde bereits von Neumüller (2005) gezeigt. Die hierbei getroffenen Aussagen beziehen sich aber auf rein phänotypische Merkmale der Elterngeneration und der getesteten Klone. Um vorhandene rezessive Merkmale zum Teil erfassen zu können werden deshalb nicht nur die Kombinationen der Eltern mit deren jeweiligen Resistenzform berücksichtigt, sondern auch die der vorhergehenden Generation, um deren Einfluss auf die Kombinationsfähigkeit nachfolgender Generationen zu berücksichtigen. Anhand der aus den interspezifischen Hybriden gewonnenen Daten soll zudem getestet werden, inwieweit sich hieraus Berechnungsmodelle auf das hexaploide Genom von *P. domestica*-Klonen und Sorten übertragen lassen.

Inwieweit Zuchtklone als Mutter oder als Vater in Frage kommen ist von besonderer Bedeutung. So kann die Hypersensibilitätsresistenz im Plasmon oder im Kerngenom kodiert sein. Falls eine Kodierung im Plasmon vorliegt kann die Hypersensibilitätsresistenz nur von der Mutter vererbt werden im Gegensatz zur Kodierung im Kerngenom, bei der die Resistenz von beiden Partnern vererbt werden kann. Zu diesem Zweck werden reziproke Kreuzungen durchgeführt, so dass man am Anteil hypersensibler Nachkommen die genetische Fixierung der Resistenz lokalisieren kann.

Um das Wissen bezüglich des Ursprungs der Hypersensibilität zu erlangen, welche in der Sorte 'Ortenauer' vermutet wird, werden Nachkommen aus 'Ortenauer-Selbstungen', aus 'Stanley-Selbstungen', sowie Nachkommen aus Kreuzungen von 'Ortenauer' mit 'Stanley' bezüglich des Anteils an hypersensibler Nachkommen analysiert. Die genaue Kenntnis über den Ursprung der Hypersensibilität ermöglicht dem Züchter die Kombination unterschiedlicher Resistenzquellen, um eine Stabilität der Resistenz gewährleisten und einen Durchbruch vermeiden zu können, wie es beispielsweise beim hypersensiblen Klon 'K4' aus Aschersleben der Fall ist, der nur gegen bestimmte Scharkaisolate resistent ist.

Da bei jeder Resistenz die Gefahr besteht, dass es zum Durchbruch kommen kann, ist eine Sicherung der Stabilität hier von großer Bedeutung. Dies bezieht sich sowohl auf die Stabilität der Resistenz gegenüber abiotischen als auch gegenüber biotischen Umweltfaktoren. Stabilität gegenüber abiotischen Umweltbedingungen spielt in Zeiten des Klimawandels eine immer umfassendere Rolle. In der vorliegenden Arbeit soll die Ausprägungsform der

hypersensiblen Reaktion sowohl unter Trocken-, Licht- und Temperaturstress bonitiert werden als auch unter optimalen Kulturbedingungen. Parallel soll der Virustiter in den gestressten Pflanzen im Vergleich mit Pflanzen, die unter optimalen Bedingungen kultiviert werden nach der Etablierung eines quantitativen ELISA gemessen werden. Eine Erfassung von Stressbedingungen soll hierbei nicht nur über messtechnische Verfahren, sondern auch durch histologische Untersuchungen anhand der Blattmorphologie erfolgen, um die Wirksamkeit der Stressbedingungen abzusichern.

Die Sicherung der Stabilität gegenüber biotischen Umweltbedingungen soll anhand von Mischinfektionen mit anderen Viren getestet werden. In Obstanlagen ist die Gefahr eines Befalls mit unterschiedlichsten Viren immer vorhanden, da Überträger, wie zum Beispiel Blattläuse erst ab einer gewissen Schadensschwelle bekämpft werden. Die Prüfung der Stabilität der Hypersensibilitätsresistenz gegenüber PPV erfolgt mittels Mischinfektionen mit *Prune dwarf virus* (PDV) und/oder *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) und PPV.

5 Resistenztest und Vererbung bei inter- und intraspezifischen Hybriden

Interspezifische Hybriden zwischen *Prunus domestica* und verwandten Arten, wie zum Beispiel *P. cerasifera*, *P. armeniaca*, *P. spinosa* oder auch *P. salicina* sind eine Möglichkeit, gewünschte Merkmale einer Art auf eine andere Art zu übertragen. Dies kann zum einen die gute Transportfähigkeit von *P. salicina* in Kombination mit den guten aromatischen und geschmacklichen Eigenschaften von *P. domestica* oder aber auch die Nutzung der Winterhärte von *P. spinosa* oder *P. cerasifera*, die in andere Arten übertragen wird, sein (Hartmann & Neumüller, 2009). Neben den oben auszugsweise genannten Eigenschaften ist ebenso die Übertragung der Hypersensibilitätsresistenz auf *P. armeniaca* und später dann auf *P. persica* von großer Bedeutung. *P. persica* ist eine Art, die vom Scharkavirus stark befallen wird (Rubio et al., 2010). Trotz der hohen Anzahl getesteter Zuchtklone konnte bisher kein resistenter Zuchtklon gefunden werden (Decroocq et al., 2005; Escalettes et al., 1998) und nur durch interspezifische Hybridisierung ist es bisher gelungen aus dem *P. davidiana* 'Klon P1908' quantitative Resistenz auf Pfirsich zu übertragen (Pascal et al., 1998). Ähnlich wie im Pfirsichanbau ist auch beim Aprikosenanbau die Scharkakrankheit eine sehr bedeutende Krankheit. In der Aprikosenzüchtung be-

schränkt sich auch der Fokus auf quantitativ resistente Zuchtklone und der damit verbundenen Suche nach molekularen Markern spezifisch für quantitative Resistenz (Pascal et al., 1998; Martínez-Gómez & Dicenta, 2000). Mit Hilfe interspezifischer Hybriden sollte eine Übertragung der Hypersensibilitätsresistenz versucht werden. Mittels Rückkreuzungen sollte es dann möglich sein, hypersensible Zuchtklone in diesen Arten zu erhalten.

Ein weiteres vorrangiges Ziel bei der interspezifischen Hybridisierung ist die Verringerung des Chromosomensatzes von hexaploid bis hin zu diploid. Diese Verringerung ermöglicht eine Vereinfachung der Berechnung der Anzahl beteiligter Gene und der vorhandenen dominanten oder rezessiven Allele, die an einer Auslösung der Hypersensibilitätsresistenz beteiligt sind.

Bei der Erzeugung von Nachkommen durch intraspezifische Hybridisierung wird vor allem ein besonderes Augenmerk auf die Übertragung der Resistenz gelegt. Bei der Kombination von unterschiedlich anfällig bis hin zu quantitativ resistenten Zuchtklonen, soll zum einen die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz und zum anderen die Kombinationsfähigkeit einzelner Zuchtklone untersucht werden.

5.1 Material und Methoden

5.1.1 Etablierung einer Datenbank

Für das Züchtungsprogramm am Fachgebiet für Obstbau in Weihenstephan und zur Erfassung der Ergebnisse eigener Versuche wurde mittels Microsoft Office Access 2007 eine Datenbank entwickelt, um einen Umgang mit der großen Datenmenge zu ermöglichen. Hierzu wurden nicht nur die eigenen Ergebnisse erfasst, sondern auch die aus dem vorhergegangenen Hohenheimer Züchtungsprogramm. Die Klone und Sorten wurden nach deren Klonnummer, deren Ursprung, Kreuzungsjahr und anhand ihrer Eltern definiert. Sorten und Klone die mehrfach für das Züchtungsprogramm aufgepflanzt wurden, konnten anhand ihres Standorts unterschieden werden. Bonituren für entsprechende Merkmale, wie beispielsweise Ausprägung der Hypersensibilität, generatives und vegetatives Wachstum oder auch für Fruchteigenschaften wurden anschließend bei jedem Klon oder jeder Sorte in dafür vorhergesehenen Tabellenblätter dokumentiert. Für die Erfassung der Ausprägung der Hypersensibilitätsresistenz wurden die Boniturmerkmale Blattspreitennekrosen, Rindennekrosen, Triebspitzendürre, Triebwachstum des veredelten Klons, Boniturdatum, bonitierende Person sowie die Ausprägung von Scharkasymptomen für wiederum jede einzelne Wiederholung und jedes Versuchsjahr erfasst. Zur Vermeidung von

Schreibfehlern in der Dokumentation wurde im Züchtungsprogramm jeder Klon und jede Sorte mit einem Barcode am Etikett versehen, der zur Bonitur gescannt und in Access ausgelesen wurde, um anschließend dem richtigen Zuchtklon oder der richtigen Sorte automatisch zuzuordnen.

5.1.2 Versuchsaufbau und Hypersensibilitätstestung

Die Testung von Zuchtklonen auf Hypersensibilitätsresistenz wurde in einem insekten-sicheren Gewächsaus des Fachgebiets Obstbau in Dürnast durchgeführt. Hierbei wurden Sämlinge ausgewählter intraspezifischer Kreuzungskombinationen (Tab. 5.1-2) sowie aus interspezifischen Kreuzungskombinationen (Tab. 5.1-1) bezüglich ihrer Resistenz gegenüber PPV untersucht.

Die Nachkommen verschiedener interspezifischer Kreuzungskombinationen wurden auf Hypersensibilitätsresistenz untersucht. Hierbei handelte es sich um Nachkommen aus Kreuzungen zwischen *Prunus domestica* und *Prunus spinosa*, *Prunus domestica* und *Prunus cerasifera*, *Prunus domestica* und *Prunus spinosa*, *Prunus domestica* und *Prunus salicina*, sowie aus hypersensiblen Hybriden aus *Prunus domestica* mit *Prunus cerasifera* rückgekreuzt mit *Prunus cerasifera* und gekreuzt mit *Prunus salicina* (Tab. 5.1-1).

Tab. 5.1-1: Anzahl getesteter Nachkommen verschiedener interspezifischer Kreuzungskombinationen mit dem dazugehörigen Ploidigrad des jeweiligen Elters. Beim mütterlichen Elter handelt es sich in jeder Kreuzungskombination um einen hypersensiblen Zuchtklon.

Kreuzungskombination	Nachkommen	
P. domestica × P. spinosa (hexaploid × tetraploid)	Hoh 4571 × Prunus spinosa	10
	Hoh 5944 × Prunus spinosa	2
	Jojo × Prunus spinosa	80
P. domestica × P. cerasifera (hexaploid × diploid)	Hoh 4571 × Prunus cerasifera	5
	Hoh 6482 × Prunus cerasifera 'Späte Myrobalane'	9
	Jojo × Prunus cerasifera	40
	Jojo × Prunus cerasifera 'Mathildenstraße'	1
	Prunus domestica × Prunus cerasifera	4
P. domestica × P. salicina (hexaploid × diploid)	Hoh 4517 × Sungold	2
	Hoh 5392 × Annagold	1
	Hoh 4465 × Graviota	1
P. domestica × P. armeniaca (hexaploid × diploid)	Hoh 4517 × Mino	1
	Hoh 4517 × Orangered	1
	Hoh 512 × Harlayne	1
	Hoh 6482 × Goldrich	1
(P. domestica × P. cerasifera) × P. cerasifera (tetraploid × diploid)	Docera 6 × Alte Myrobalane aus Hallbergmoos	2
	Docera 6 × Junge Myrobalane aus Hallbergmoos	1
	Docera 6 × Prunus cerasifera 'Mathildenstraße'	4
	Docera 9 × Kolonovidnaja	3
(P. domestica × P. cerasifera) × P. domestica (tetraploid × hexaploid)	Docera 6 × Ljosche vishnovaja rannaja	3
(P. domestica × P. cerasifera) × P. salicina (tetraploid × diploid)	Docera 6 × Annagold	2
	Docera 9 × Annagold	3

Bei der Testung von intraspezifischen Hybriden erfolgte eine Eingruppierung der Eltern bezüglich der Anfälligkeit gegenüber PPV. Getestet wurden Nachkommen von Kreuzungskombinationen, in denen beide Elternteile hypersensibel gegenüber PPV sind, Kreuzungskombinationen mit einem hypersensiblen und einem sensiblen Partner, Kreuzungskombinationen mit zwei sensiblen Partnern und Kreuzungskombinationen, in denen ein Kreuzungspartner hypersensibel und der zweite quantitativ resistent ist. Des Weiteren erfolgte beim hypersensiblen Elternteil eine

Einteilung nach dem Ursprung der Hypersensibilitätsresistenz, die zum einen von der Hybride 'K4' aus Aschersleben herrührt und zum anderen nach der Hypersensibilitätsresistenz, bei der angenommen wird, dass sie von der Sorte 'Ortenauer' abstammt. Hypersensible Eltern, welche von der Sorte 'Ortenauer' abstammen, wurden des Weiteren in die Nachkommen erster Generation („F1-Nachkommen“) und in Nachkommen in der zweiten Generation („F2-Nachkommen“) eingeteilt.

Tab. 5.1-2: Anzahl getesteter Nachkommen verschiedener intraspezifischer Kreuzungskombinationen, gruppiert nach der verwandschaftlichen Beziehung zur Sorte 'Ortenauer' bei Verwendung eines hypersensiblen Elternteils und nach der jeweiligen Anfälligkeit der Eltern gegenüber PPV. **Blau:** Sorten oder Klone mit einem **quantitativ resistenten Eltern- oder Großelternanteil**; **orange:** sensible Sorten oder Klone mit einem **hypersensiblen Eltern- oder Großelternanteil**.

Anzahl der getesteten Nachkommen der Kreuzungskombinationen von hypersensiblen Kreuzungspartnern mit wiederum hypersensiblen Kreuzungspartnern

Beide hypersensible Kreuzungspartner stammen aus der F1 Generation der Sorte 'Ortenauer'

Hoh 4465	×	Jojo	77
Hoh 512	×	Jojo	50
Jojo	×	Ortenauer x Gerstetter 17	37
Jojo	×	Hoh 4465	27
Jojo	×	Jojo	8
			Σ 199

Hypersensible Kreuzungspartner stammen aus der F1 und F2 Generation der Sorte 'Ortenauer'

Hoh 4517	×	Jojo	54
			Σ 54

Beide hypersensible Kreuzungspartner stammen aus der F2 Generation der Sorte 'Ortenauer'

Hoh 5915	×	Hoh 5915	4
Hoh 4517	×	Hoh 7087	2
			Σ 6

Kombination der Resistenzquellen für Hypersensibilität der Sorte 'Ortenauer' mit der Resistenzquelle für Hypersensibilität der Sorte 'Kirke'

Jojo	×	Klon 108	66
Jojo	×	Klon 128	49
			Σ 115
		Gesamt	374

Anzahl der getesteten Nachkommen der Kreuzungskombinationen von hypersensiblen Kreuzungspartnern mit sensiblen Kreuzungspartnern

Hypersensibler Kreuzungspartner stammt aus der F1 Generation der Sorte 'Ortenauer'

Jojo	×	Felsina	97
Jojo	×	Hoh 1468	94
HZ, Typ Wolff	×	Jojo	91
Jojo	×	Presenta	80
Jojo	×	Fellenberg	78
Jojo	×	Haganta	74
Elena	×	Hoh 512	72
Jojo	×	Cacaks Fruchtbare	72
Hanita	×	Jojo	54
Jojo	×	Katinka	54
Jojo	×	Zwintschers Frühe	53
Jojo	×	Hanita	48
Hoh 512	×	Hanita	43
Jojo	×	HZ, Typ Schüfer	43
Cacaks Schöne	×	Hoh 512	41
Hoh 5192	×	Hoh 459	24
Jojo	×	HZ, Typ Gunser	23
Tegera	×	Hoh 459	21
Fellenberg	×	Jojo	20
Cacaks Fruchtbare	×	Hoh 512	16
Hoh 459	×	Dabrowice	11
Haroma	×	Hoh 459	8
Hoh 1304	×	Hoh 512	8
Jojo	×	Tegera	6
President	×	Hoh 512	5
Hanita	×	Hoh 512	4
Harbella	×	Jojo	4
Hoh 512	×	Felsina	4
Hoh 512	×	President	4
Hoh 459	×	Hanita	2
Hoh 4937	×	Jojo	2
Hoh 459	×	Topfive	2
Jojo	×	Cacaks Schöne	1
Jojo	×	Hoh 5131	1
Toptaste	×	Jojo	1
		Σ	1161

Hypersensibler Kreuzungspartner stammt aus der F2 Generation der Sorte 'Ortenauer'

Harbella	×	Hoh 7087	138
Hoh 4517	×	Haganta	130
Hoh 4517	×	Hoh 3018	129
Hoh 4517	×	Jubileum	91
Tophit	×	Hoh 4517	75
Topper	×	Hoh 4571	61
Hoh 4517	×	Hoh 5099	58
Harbella	×	Hoh 7172	54
Hoh 5128	×	Hoh 4571	52
Harbella	×	Hoh 7571	51
Tegera	×	Hoh 6482	43
Hoh 5361	×	Toptaste	37
Hoh 4517	×	Presenta	36
Hoh 4571	×	Haganta	32
Hoh 6482	×	Hoh 1981	27
Hoh 4517	×	President	26
Hoh 5099	×	Hoh 6482	26
Hoh 6482	×	Hoh 6306	18
Hoh 4941	×	Hoh 7172	17
Haroma	×	Hoh 4517	15
Haroma	×	Hoh 5381	15
Hoh 6557	×	Harbella	15
Katinka	×	Hoh 7184	14
Topend	×	Hoh 4517	14
Hoh 4579	×	Dabrowice	10
Hoh 7098	×	Presenta	10
Hoh 6482	×	Topfirst	10
Hoh 4941	×	Hoh 7966	9
Hoh 5109	×	Hoh 6482	9
Hoh 4941	×	Hoh 8014	8
Hoh 7428	×	Hoh 4913	8
Hoh 4517	×	Hoh 7184	8
Hoh 7571	×	Hoh 6525	8
Topstar	×	Hoh 4517	8
Hoh 5131	×	Hoh 6482	6
Haganta	×	Hoh 4517	6
Hoh 4517	×	Katinka	5
Tegera	×	Hoh 5381	5

Tegera	×	Hoh 7184	4
Haroma	×	Hoh 7172	2
Hoh 5392	×	Jubileum	2
Hoh 5392	×	Hoh 4913	2
Haroma	×	Hoh 7966	1
Hoh 4941	×	Hoh 5912	1
Hoh 4941	×	Hoh 4517	1
Hoh 7968	×	Haroma	1
Hoh 7969	×	Jubileum	1
Hoh 7184	×	Toptaste	1
Hoh 7245	×	Toptaste	1
Hoh 7252	×	Katinka	1
Presenta	×	Hoh 7247	1
Topfive	×	Hoh 4517	1
Toptaste	×	Hoh 7213	1
		Σ	1305
Gesamt			2466

Anzahl der getesteten Nachkommen der Kreuzungskombinationen von sensiblen Kreuzungspartnern mit wiederum sensiblen Kreuzungspartnern

Hoh 4941	×	Hoh 4913	87
Chrudimer	×	Dabrowicke	57
Ortenauer	×	Ortenauer	39
Ortenauer	×	Stanley	38
Haganta	×	Harbella	38
Hoh 4922	×	Toptaste	22
Stanley	×	Stanley	19
Hoh 5960	×	Hoh 5960	10
Hanka	×	Haganta	10
Hoh 5757	×	Topfirst	8
Hanita	×	Cacaks Schöne	8
Cacaks Schöne	×	Hanita	7
Hoh 4922	×	Haganta	7
Hoh 2053	×	Hoh 3018	6
Felsina	×	Dabrowice	5
Hoh 2053	×	Haganta	4
Hoh 4913	×	Haganta	3
Chrudimer	×	Felsina	2
Hanita	×	Izumnaja	2
Hoh 4913	×	Hoh 2053	2
Hoh 5102	×	Ruth Gerstetter	1
Top	×	Aprimira	1

Katinka	×	Cacaks Frühe	1
Hoh 5451	×	Hoh 5131	1
Hoh 5114	×	Cacaks Fruchtbare	1
Hoh 1304	×	Felsina	1
Presenta	×	Hoh 7180	1
Tophit	×	Haganta	1
Presenta	×	Haganta	1
Hoh 2043	×	Haganta	1
Cacaks Beste	×	Valor	1
Gesamt			385

Anzahl der getesteten Nachkommen der Kreuzungskombinationen von hypersensiblen Kreuzungspartnern mit quantitativ resistenten Kreuzungspartnern

Opal	×	Hoh 4922	118
Hoh 4517	×	Hoh 2053	91
Bellamira	×	Hoh 4517	53
Mirabelle aus Nancy	×	Hoh 6217	40
Cacaks Beste	×	Hoh 512	14
Hoh 4465	×	Haganta	14
Hoh 2053	×	Hoh 4465	11
Haganta	×	Hoh 459	10
Haganta	×	Hoh 512	10
Hoh 4517	×	Haganta	10
Haganta	×	Hoh 4517	6
Hoh 8014	×	Haganta	6
Haganta	×	Hoh 7104	5
Hoh 4465	×	Hoh 2043	5
Haganta	×	Hoh 6482	4
Hoh 4517	×	Hoh 2043	4
Nancy Mirabelle	×	Hoh 6217	4
Hoh 5919	×	Haganta	2
Hoh 7220	×	Hoh 2053	2
Hoh 5381	×	Hoh 2043	1
Cacaks Beste	×	Hoh 4517	1
Haganta	×	Hoh 7340	1
Hoh 512	×	Haganta	1
Jojo	×	Haganta	1
Ort×Stan 34	×	Haganta	1
Gesamt			415

Σ 4801

Die Testung auf Hypersensibilität erfolgte mittels Doppelveredlung (Kegler et al., 1994). Hierbei wurde das Edelreis des zu testenden Sämlings auf ein mit PPV-D infiziertes Zwischenstück durch Spanveredlung veredelt und anschließend auf einen Myrobalanensämling kopuliert (Abb. 5.1-1). Als Edelreiser für die Zwischenveredlung wurden die Sorten 'Katin-ka' und 'Elena' verwendet, die in einer mit dem Scharavirus befallenen Anlage in Ortenberg geschnitten wurden. Alle zu testenden Zuchtklone wurden in drei Wiederholungen veredelt, wobei als Zwischenveredlungen verschiedene Reiser verwendet wurden. Grund hierfür war, dass das Edelreis für die Zwischenveredlung, welches unter Umständen virusfrei sein kann, nicht den kompletten Ausfall einer Wiederholung des zu testenden Zuchtklons durch ein Fehlen der Virose bewirken kann. Nach dem Veredeln wurden die Veredlungsstellen zusätzlich in 70°C heißem Rebwachs WF (Stähler Agrochemie) getaucht um ein Austrocknen des Edelreises zu unterbinden. Die Edelreiser wurden an frostfreien Tagen im Dezember des vorhergehenden Versuchsjahres geschnitten und luftdicht mit feuchtem Papier umwickelt bei 4°C im Kühlraum gelagert. 2007 und 2008 wurden die veredelten Pflanzen im 5 l Container im Torf-Substrat (Floragard) kultiviert (Abb. 5.1-2). 2009 wurden die veredelten Pflanzen direkt in den Boden des Erdhauses gepflanzt, um eventuelle Bewässerungsdefizite durch den Boden puffern zu können. Die Bewässerung und Fertigation erfolgte mittels T-Tape Tröpfchenbewässerung. Eine Bekämpfung von Blattläusen, Spinnmilben und von Mehltau erfolgte mit handelsüblichen Präparaten. Die Unterlagenaustriebe der Myrobalanensämlinge wurden kontinuierlich entfernt und die Austriebe der Zwischenveredlung wurden auf 3 bis 5 ver-

bleibende Blätter pinziert, um den Durchtrieb des zu testenden Zuchtklons zu verbessern. Eine Bonitur der Zuchtklone bezüglich Hypersensibilitätsresistenz erfolgte 6 und 20 Wochen nach dem Veredeln. Diese wurde wie von Neumüller und Hartmann (2008) beschrieben durchgeführt. Als Boniturmerkmale wurden Blattspreitennekrosen (BSN), Rindennekrosen (RN), die Triebspitzendürre (TSD), sowie die Ausprägungsform der PPV-Symptome und die Länge des Austriebs verwendet. Die Boniturnoten wurden von 0 bis 5 vergeben, wobei 0 die schwächste Ausprägungsform des jeweiligen Merkmals darstellte und 5 die stärkste. Lediglich bei der Bonitur der Länge der Austriebe wurden Boniturnoten von 1 bis 5 vergeben um eine Verrechnung zu ermöglichen (Seite 31). Bei der TSD wurden sowohl der kränkste als auch der gesündeste Trieb der aufveredelten Zuchtklone bewertet. Des Weiteren wurden die Zuchtklone in der Bonitur bezüglich Ausprägungsform der PPV-Symptome bewertet. Dies diente zum einen als Kontrolle für eine erfolgreiche PPV-Inokulation und erlaubte zum anderen eine Auftrennung von Zuchtklonen nicht nur in hypersensible, sondern auch in sensible, tolerante oder quantitativ resistente. Bei fehlenden PPV-Symptomen wurden sowohl die Zwischenveredlung als auch der Zuchtklon beprobt und anschließend ein DAS-ELISA durchgeführt (EPPO, 2004). 2009 wurde statt dem Nachweis mittels ELISA eine Multiplex-PCR angewandt, mit der ein Nachweis nicht nur von PPV sondern auch von Ringfleckenvirus (PNRSV = *Prunus necrotic ringspot virus*) und Verzweigungsvirus (PDV = *Prune dwarf virus*) möglich war (Jarosova & Kundu, 2010).

Um die auftretenden Blattspreitennekrosen definitiv der jeweiligen Virose zuzuordnen zu

können, ist eine Detektion der Viren mittels ELISA oder PCR erforderlich. Getestete Zuchtklone, die nur Blätter mit Blattspaltennekrosen als alleiniges Indiz für eine hypersensible Reaktion aufwiesen, wurden 2010 erstmals mittels Multiplex-PCR auf PPV und PNRSV

getestet. Die Blattspaltennekrosen des Zuchtklons konnten anschließend der jeweiligen Virose eindeutig zugeordnet und ein Hypersensibilitätsindex berechnet werden.



Abb. 5.1-1: Schematischer Ablauf der hypersensiblen Reaktion eines stark hypersensiblen Zuchtklons. **A + B** Doppelveredlung; weißer Pfeil: Austrieb des zu testenden Zuchtklons; roter Pfeil: Zwischenveredlung nach dem Pinzieren **C** 'Wei 499' ('Ortenauer' x 'Ortenauer') mit Rindennekrosen und stark nekrotisierten Blättern **D** Triebspitzendürre von 'Wei 4926' ('Hoh 4941' x 'Hoh 7172') bedingt ein Absterben des Austriebs



Abb. 5.1-2: Austrieb der veredelten Pflanzen mit getopften Unterlagen 2009 (linkes Bild) und Kulturarbeiten (Räubern der Unterlage und Pinzieren der Zwischenveredlung) der gepflanzten und fertig veredelten Myrobalanen 2010 (rechtes Bild) im insektensicheren Gewächshaus.

5.1.3 Ermittlung des Hypersensibilitätsindex

In den Versuchsjahren 2007 bis 2009 wurden 1337 Zuchtklone aus dem Hohenhei-

mer und Weihenstephaner Züchtungsprogramm bezüglich der Resistenz gegen das Scharkavirus getestet.

Durch die Berechnung des Hypersensibilitätsindex (HI) als quantitatives Merkmal konnten die Zuchtklone anschließend in Hypersen-

sibilitätsklassen (HK) eingeordnet werden. HK 0 entspricht stark sensibel, HK 1 schwach hypersensibel, HK 2 mittelstark hypersensibel und HK 3 entspricht stark hypersensibel. Des Weiteren erfolgte eine Einteilung der hypersensiblen Nachkommen in stark hypersensible Zuchtklone und in schwach hypersensible und in sensible Zuchtklone. Diese Vereinfachung in zwei statt in vier Hypersensibilitätsklassen und somit in resistent oder in anfällig sollte eine Berechnung der Anzahl an beteiligten Genen, die für eine Auslösung der HR verantwortlich gemacht werden können, erleichtern. Die Berechnung des Hypersensibilitätsindex erfolgte mit nachfolgenden Gleichungen (Neumüller & Hartmann, 2008):

- **Gleichung 1**

$$HI = \frac{10 * TI + 2 * \frac{m_{RN}}{n_{RN}} + \frac{m_{BSN}}{n_{BSN}}}{13}$$

- **Gleichung 2**

$$TI = \frac{\frac{2m_{TSD_{kr}} + m_{L(TSD_{kr})}}{2n_{TSD} + n_L} + \frac{2m_{TSD_{ges}} + m_{L(TSD_{ges})}}{2n_{TSD} + n_L}}{2}$$

Die Werte der beiden Gleichungen basieren auf den ermittelten Boniturwerten der Hypersensibilitätstestungen.

Die Analysen zur Vererbung wurden basierend auf den Daten von Neumüller (2005) und den eigenen Ergebnissen durchgeführt.

5.1.4 Nachweisverfahren für PPV

Der Nachweis des Plum pox virus in den Pflanzen erfolgte mittels serologischer und molekularbiologischer Tests. Neben Blättern wurde auch Rinde beprobt.

5.1.4.1 Serologischer Nachweis

Mittels serologischen Nachweisverfahren kann das Scharkavirus durch Antikörper, die an das Hüllprotein der Virose spezifisch binden, nachgewiesen werden.

5.1.4.1.1 DASI-ELISA (Double Antibody Sandwich Indirect-Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

2007 und 2008 wurde ein DASI-ELISA nach folgendem Protokoll verwendet (REAL, Spanien, modifiziert):

- Beschichtung der Kavitäten von 'Nunc MicroWell' Platten (MaxiSorp) mit einer 1:100-Verdünnung der A1R-PPV Antikörper im Carbonatpuffer (pH 9,6) mit 100 µl je Kavität für insgesamt 4 h bei 37 °C; die Platte wird mit einem feuchten Tuch umwickelt und in eine Plastiktüte verpackt.
- Waschen der Platte: dreimal mit einer Inkubationszeit des Waschpuffers von 120 s im „Schüttelmodus“ je Waschschriff (Tecan Washer) und anschließendem Ausklopfen der Platten auf einem trockenen Tuch
- 1 g Pflanzenmaterial wird in einer 1:10-Verdünnung im Extraktionspuffer (pH 7,2-7,4) mittels Homex 6 (Bioreba) homogenisiert und die Kavitäten mit je 100 µl mit der 1:10 und mit einer 1:100-Verdünnung in je 2 Wiederholungen belegt. Inkubation: 16 h bei 4 °C; die Platte wird mit einem feuchten Tuch umwickelt und in eine Plastiktüte verpackt.
- Waschen der Platte: dreimal mit einer Inkubationszeit des Waschpuffers von 120 s im „Schüttelmodus“ je Waschschriff (Tecan Washer) und anschließendem Ausklopfen der Platten auf einem trockenen Tuch
- Zugabe des monoklonalen Antikörpers A2R-PPV in einer 1:1000-Verdünnung im PBS-Puffer mit BSA (bovine serum albumin) (0,5 %) und Belegung der Platte mit 100 µl je Kavität. Inkubation: 2 h bei 37 °C; die

Platte wird mit einem feuchten Tuch umwickelt und in eine Plastiktüte verpackt.

- Waschen der Platte: dreimal mit einer Inkubationszeit des Waschpuffers von 120 s im „Schüttelmodus“ je Waschschrift (Tecan Washer) und anschließendem Ausklopfen der Platten auf einem trockenen Tuch.
- Zugabe des mit einer alkalischen Phosphatase konjugierten Antikörpers A3-PPV in einer 1:1000-Verdünnung im PBS-Puffer und Belegung der Platte mit 100 µl je Kavität. Inkubation: 2 h bei 37 °C; die Platte wird mit einem feuchten Tuch umwickelt und in eine Plastiktüte verpackt.
- Waschen der Platte: dreimal mit einer Inkubationszeit des Waschpuffers von 120 s im „Schüttelmodus“ je Waschschrift (Tecan Washer) und anschließendem Ausklopfen der Platten auf einem trockenen Tuch.
- 1 mg/ml p-nitrophenylphosphat im Substratpuffer und Belegung der Platte mit je 100 µl je Kavität. Inkubation: bei Raumtemperatur im Dunkeln und Messung des Farbumschlags nach 30, 60 und 90 min mittels Photometer (Tecan Sunrise) bei einer Wellenlänge von 405 nm (Referenzwert bei 620 nm). Die Auswertung der Daten erfolgte mit XFLUOR4 Version: V 4.51
- Eine positive Probe, eine negative Probe und die verwendeten Puffer wurden als Referenzwerte und als Kontrolle auf jeder Mikrotiterplatte mitgeführt.

Verwendete Puffer und Lösungen:

Beschichtungs- / Carbonatpuffer (pH 9,6):

Na₂CO₃ 1,59 g, NaHCO₃ 2,93 g; mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1 l bringen

Phosphatgepufferte Salzlösung (pH 7,2-7,4) (PBS):

NaCl 8,00 g, KH₂PO₄ 0,20 g, Na₂HPO₄·12H₂O 2,90 g, KCl 0,20 g; mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1 l bringen.

Extraktionspuffer (pH 7,2-7,4):

Sodium diethyldithiocarbamate (DIECA) 2,00 g, Polyvinyl pyrrolidone (PVP-10) 20,00 g. Mit PBS auf ein Volumen von 1 l bringen.

Waschpuffer (1 l):

Tween 20 0,5 ml, PBS 500 ml, 500 ml destilliertes Wasser.

Substratpuffer (pH 9,8):

Diethanolamine 97 ml; mit destilliertem Wasser auf 800 ml verdünnen und pH 9,8 mit konzentrierter HCl einstellen. Mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1 l verdünnen (EPPO, 2004; Cambra et al., 1995; Candresse et al., 1998).

5.1.4.1.2 DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-Enzym Linked Immunosorbent Assay)

2009 und 2010 wurde ein DAS-ELISA nach folgendem Protokoll verwendet (BIOREBA, Schweiz, modifiziert):

Im Gegensatz zum DAS-ELISA wird beim DAS-ELISA mit Hilfe von 2 Antikörpern PPV nachgewiesen.

- Mikrotiterplatte wird mit spezifischem Antikörper (IgG), der im Beschichtungspuffer (pH 9,6) in einer 1:1000-Verdünnung gelöst ist, mit 100 µl je Kavität belegt. Inkubation: 4 h bei 30 °C; die Platte wird mit einem feuchten Tuch umwickelt und in eine Plastiktüte verpackt.

- Waschen der Platte: dreimal mit einer Inkubationszeit des Waschpuffers von 120 s im „Schüttelmodus“ je Waschschrift (Tecan Washer) und anschließendem Ausklopfen der Platten auf einem trockenen Tuch
- 1 g Pflanzenmaterial wird in einer 1:20-Verdünnung im Extraktionspuffer (pH 7,4) mittels Homex 6 (Bioreba) homogenisiert und die Kavitäten mit je 100 µl mit der 1:20 und mit einer 1:100-Verdünnung in je 2 Wiederholungen belegt. Inkubation: 16 h bei 4 °C; die Platte wird mit einem feuchten Tuch umwickelt und in eine Plastiktüte verpackt.
- Waschen der Platte: dreimal mit einer Inkubationszeit des Waschpuffers von 120 s im „Schüttelmodus“ je Waschschrift (Tecan Washer) und anschließendem Ausklopfen der Platten auf einem trockenen Tuch.
- Verdünnung des IgG-Enzym-Konjugats auf 1:1000 im Konjugatpuffer (pH 7,4) und Belegung der Mikrotiterplatte mit je 100 µl je Kavität. Inkubation: 5 h bei 30 °C.
- Waschen der Platte: dreimal mit einer Inkubationszeit des Waschpuffers von 120 s im „Schüttelmodus“ je Waschschrift (Tecan Washer) und anschließendem Ausklopfen der Platten auf einem trockenen Tuch.
- 1 mg/ml p-nitrophenylphosphat im Substratpuffer und Belegung der Platte mit je 100 µl je Kavität. Inkubation: bei Raumtemperatur im Dunkeln und Messung des Farbumschlags nach 30, 60 und 90 min mittels Photometer (Tecan Sunrise) bei einer Wellenlänge von 405 nm (Referenzwert bei 620 nm). Die Auswertung der Daten erfolgte mit XFLUOR4 Version: V 4.51

Verwendete Puffer und Lösungen:

Waschpuffer (pH 7,4):

NaCl 8,00 g, KH₂PO₄ 0,2 g, Na₂HPO₄ 1,15 g, KCl 0,20 g, Tween 20 0,50 g; mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1 l bringen.

Beschichtungs- / Carbonatpuffer (pH 9,6):

Na₂CO₃ 1,59 g, NaHCO₃ 2,93 g, NaN₃ 0,20 g; mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1 l bringen.

Konjugatpuffer (pH 7,4; einstellen mit HCl):

TRIS (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan) 2,40 g, NaCl 8,00 g, PVP K25 20,00 g, Tween 20 0,50 g, BSA 2,00 g, MgCl₂·6H₂O 0,20 g, KCl 0,20 g, NaN₃ 0,20 g. Mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1 l bringen.

Substratpuffer (pH 9,8):

Diethanolamine 97 ml, NaN₃ 0,20 g; mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1 l verdünnen und pH 9,8 mit konzentrierter HCl einstellen.

Unabhängig vom verwendeten Protokoll wurde bei der Belegung der Mikrotiterplatten die erste und letzte Reihe nur mit Puffer gefüllt. Hierbei sollte eine ungleichmäßige Erwärmung oder Abkühlung der Proben in den äußeren Kavitäten und die damit verbundenen Abweichungen innerhalb einzelner Wiederholungen vermieden werden (interne Vorgehensweise).

5.1.4.2 Molekularbiologischer Nachweis

Für den molekularbiologischen Nachweis von PPV wurde eine One-Step multiplex RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) nach Jarošová and Kundu (2010) verwendet. Diese ermöglicht neben PPV auch *Prunus dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* und die RNA Kopie der 5. Untereinheit der NADH Dehydrogenase (*nad5*) als interne Kontrolle zu detektieren. Als PCR Kit wurde das SuperScript III One-Step RT-PCR System

mit PlatinumTaq (Invitrogen, Darmstadt) mit 25 µl Reaktionsvolumen verwendet. Im Reaktionsmix waren 12,5 µl 2x reaction mix, 0,24 µM von jedem Primer (PPV: PPV-RR und F3; PDV: PDVdpR und PDVdpuF; PNRSV: PNcpR und PNcpinF; nad5: Nad5-R und Nad5-F), 2 µl RNA und 0,6 µl Enzymmix. Die Primer wurden von Eurofins MWG (Ebersberg) bezogen.

Für die Probenaufbereitung wurden 1 g Pflanzenmaterial (Blätter oder Rinde) in einem Extraktionsbeutel mit permeabler Membran (BIOREBA, Schweiz) und 9 ml entionisiertem Wasser mittels Homex 6 (BIOREBA, Schweiz) gemörsert. 1,5 ml des Homogenats wurden in ein 2 ml Eppendorf Tube überführt und 2 min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und 1:10 verdünnt. 2 µl des verdünnten Pflanzensafts wurden direkt in den Mastermix pipettiert.

Die PCR wurde in einem C1000 Cycler (BIO-Rad, München) mit nachfolgenden Parametern durchgeführt:

- Reverse Transkription bei 51 °C (30 min)
- Denaturierung bei 94 °C (30 min)
- 33 Zyklen mit Denaturierung bei 94 °C (30 s), Primerhybridisierung bei 51 °C (45 s) und Elongation bei 68 °C (80 s)
- abschließende Elongation bei 68 °C (7 min)

Die Visualisierung der Amplifikate aus der RT-PCR erfolgte mittels Gelelektrophorese (2 % Agarose (Biozym Scientific, Hess. Oldendorf), TBE Puffer, Ethidiumbromid). Die Laufzeit der Gele lag bei 45 min mit einer Spannung von 90 V. Anschließend wurden die Gele mit dem Gel Hood Imager 2009 (Intas, Göttingen) fotografiert.

5.1.5 Statistische Auswertung

Der statistische Vergleich zwischen der Verteilung der Nachkommenschaften auf die einzelnen Hypersensibilitätsklassen erfolgte auf Grund einer fehlenden Normalverteilung innerhalb der einzelnen Nachkommenschaften mittels Mann-Whitney Test mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 %, 1 % und 5 % mit dem Programm Minitab 14.

Des Weiteren wurden die Hypersensibilitätsklassen 0 und 1, sowie die Hypersensibilitätsklassen 2 und 3 zum gegenseitigen Vergleich zusammengefasst. Die Gruppierung der Nachkommenschaften erfolgte somit in sensible und hypersensible Zuchtklone. Statistische Berechnungen wurden hierbei mit dem Chi-Quadrat Test durchgeführt um die Ergebnisse der Bonituren und dem dazu gehörigen HI mit den kalkulierten Ergebnissen vergleichen zu können (Ireland, 2010):

$$\chi^2 = \sum \frac{(T - E)^2}{E}$$

$\chi^2 \triangleq$ Chi-Quadrat

T \triangleq Tatsächlich erhaltener Wert

E \triangleq Errechneter Wert

$$DF = k-1 = 2-1 = 1$$

DF \triangleq Freiheitsgrad

k \triangleq Anzahl der Gruppen

Die Mindestgröße einer Nachkommenschaft für die Berechnungen lag bei 5 Zuchtklonen.

Auf Grund des niedrigen Freiheitsgrades wurde ein Korrekturwert nach Yates mit 0,5 eingerechnet (Ireland 2010, S. 283):

$$\chi^2 = \sum \frac{(T - E - 0,5)^2}{E}$$

Je kleiner der errechnete Wert des Chi-Quadrat Tests ist, umso näher liegen die tatsächlichen und errechneten Werte beieinander. Eine Prüfung auf signifikante Unterschiede erfolgte mittels einer kritischen Wertetabelle (Ireland 2010, S. 345) mit 1 % und 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit.

Folgende Nullhypothese wurde aufgestellt: Es besteht kein Unterschied zwischen den tatsächlichen und den errechneten Werten bezüglich der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz!

5.1.6 Berechnung der allgemeinen Kombinationseignung

Mittels der allgemeinen Kombinationseignung (engl. general combining ability = GCA) wird die Eignung eines Zuchtklons bezüglich der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz in verschiedenen Kreuzungskombinationen bewertet. Hierbei werden die Kreuzungsnachkommenschaften bezüglich der Ausprägung der Hypersensibilitätsresistenz untersucht und mit anderen Nachkommenschaften verglichen.

In Anlehnung an Miedaner (2010) wurde die Allgemeine Kombinationsfähigkeit (GCA) ermittelt (Tab. 5.1-3).

Tab. 5.1-3: Exemplarische Berechnung der allgemeinen Kombinationsfähigkeit eines Zuchtklons 'A' kombiniert mit anderen Zuchtklonen.

Kreuzungskombination	% hypersensibler Nachkommen (HK 2 + HK 3)	GCA
A × B	x_1	$x_1 - \bar{x}$
A × C	x_2	$x_2 - \bar{x}$
A × D	x_3	$x_3 - \bar{x}$
B × A	x_4	$x_4 - \bar{x}$
Y × A	x_n	$x_n - \bar{x}$
∅ hyp. Nachkommen		\bar{x}

Bei der Berechnung der allgemeinen Kombinationsfähigkeit wurden nur mittelstark und stark hypersensible Nachkommen gewertet. Nähere Erläuterungen für die Hintergründe dieser Vorgehensweise finden sich in Kapitel 5.3 (Seite 63) wieder.

Hinsichtlich der Auswertung der allgemeinen Kombinationsfähigkeit sind Kreuzungskombinationen mit einem positiven GCA-Wert besonders für die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz geeignet.

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz bei interspezifischen Kreuzungskombinationen

Im folgendem wird die Häufigkeit des Auftretens des Merkmals der Hypersensibilitätsresistenz innerhalb von Arten dargestellt. Hierbei werden die Kreuzungskombinationen bezüglich der Anzahl ihrer Chromosomensätze strukturiert und anschließend in die einzelnen Arten gegliedert (vgl.Tab. 5.1-1, Seite 23). Die Reduktion des Chromosomensatzes von *P. domestica* durch interspezifischen Kreuzungen mit verwandten Arten, die einen niedrigeren Chromosomensatz besitzen, ermöglicht bei einer erfolgreichen Übertragung der Resistenz eine Vereinfachung zur Aussage bezüglich der Anzahl an beteiligten Genen, die für eine Auslösung der Resistenz verantwortlich gemacht werden können. Hierzu werden Nachkommen aus interspezifischen Kreuzungen untersucht, ob sie gegenüber dem Scharkavirus hypersensibel reagieren, um sie anschließend den entsprechenden Hypersensibilitätsklassen zuordnen zu können. Auf der Basis der Aufspaltung der Nachkommen bezüglich des Merkmals Hypersensibilitätsresistenz und ihres Ploidigrades können entsprechende Allelkombinationen, die für eine Auslösung der HR verantwortlich sind, berechnet werden.

5.2.1.1 Hexaploides Genom × tetraploides Genom v.v.

- *Prunus domestica* × *Prunus spinosa*

In der Kreuzungskombination von hypersensiblen Zuchtklonen von *Prunus domestica* mit Zuchtklonen von *Prunus spinosa*, sind von 93 getesteten Zuchtklonen 47 stark hypersensibel gegenüber PPV, drei Zuchtklone fallen in

die Hypersensibilitätsklasse 1 und 42 Zuchtklone sind sensibel (Abb. 5.2-1). Summiert man die Hypersensibilitätsklassen 2 und 3 sowie die Klassen 1 und 0, so liegt eine Aufspaltung in den Nachkommenschaften von 51 % zu 49 % vor.

- *Hybride (P. domestica × P. cerasifera) × P. domestica*

Aus dieser Kreuzungskombination wurden drei Nachkommen bezüglich Hypersensibilitätsresistenz getestet. Alle drei Nachkommen sind stark hypersensibel (Abb. 5.2-2).

5.2.1.2 Hexaploides Genom × diploides Genom

- *Prunus domestica* × *Prunus cerasifera*

Die Kreuzungskombinationen von *P. domestica* mit *P. cerasifera* ergaben 31 stark hypersensible, 26 sensible und 2 schwach hypersensible Zuchtklone. Summiert man hier auch wiederum HK 3 und HK 2 sowie HK 1 und HK 0, dann spaltet diese Kreuzungskombination in 52 % hypersensible und 48 % sensible Zuchtklone auf (Abb. 5.2-1).

- *Prunus domestica* × *Prunus salicina*

Von den drei bisher getesteten Zuchtklonen dieser Kreuzungskombination fallen zwei in die Hypersensibilitätsklasse 3 und ein Zuchtklon in die Hypersensibilitätsklasse 0.

- *Prunus domestica* × *Prunus armeniaca*

In der Kreuzungskombination von hypersensiblen *P. domestica* mit *P. armeniaca* Zuchtklonen sind von fünf getesteten Zuchtklonen zwei Zuchtklone stark hypersensibel und drei sensibel (Abb. 5.2-2).

5.2.1.3 Tetraploides Genom × diploides Genom

- Hybride (*P. domestica* × *P. cerasifera*) × *P. cerasifera*

Bei der Kombination der hypersensiblen Hybriden aus *P. domestica* × *P. cerasifera* mit *P. cerasifera* sind von zehn getesteten Zuchtklonen vier in HK 3, einer in HK 2 und fünf in HK 0. Die Summierung der Klassen 3 und 2 sowie der Klassen 1 und 0 ergibt eine Aufspaltung in der Nachkommenschaft von 1:1.

- Hybride (*P. domestica* × *P. cerasifera*) × *P. salicina*

Aus dieser Kreuzungskombination wurden 5 Nachkommen getestet. Von den 5 getesteten Zuchtklonen sind zwei stark hypersensibel und 3 sind sensibel (Abb. 5.2-2).

Zusammenfassung: Betrachtet man die Kreuzungskombinationen der verschiedenen Gruppen untereinander, so lässt sich eine Aufspaltung der Nachkommen in sensibel und stark hypersensibel beobachten. Sechs von den insgesamt 174 getesteten Zuchtklonen fallen in die Hypersensibilitätsklasse 1 und 2. 91 Zuchtklone sind stark hypersensibel und 80 Zuchtklone sind sensibel (Abb. 5.2-1; Tab. 6.2-1).

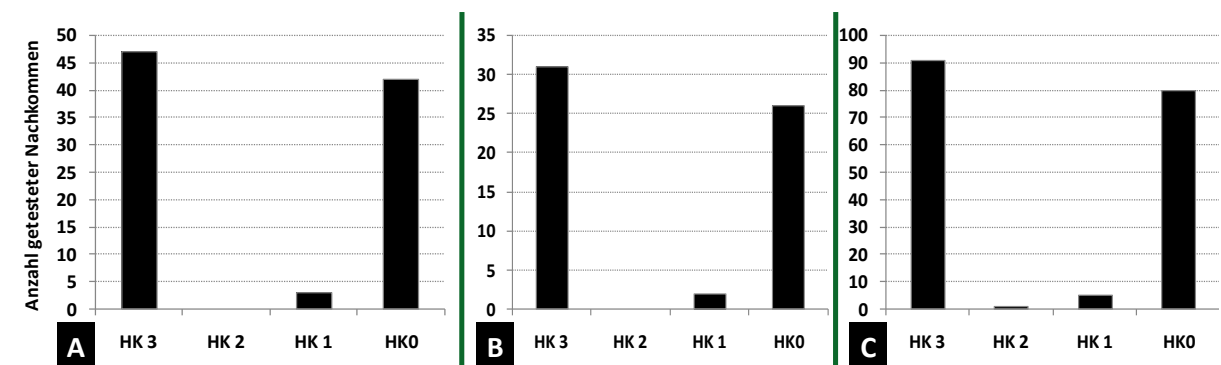


Abb. 5.2-1: Interspezifische Nachkommenschaften, der jeweiligen Hypersensibilitätsklasse zugeordnet: **A** Kreuzungskombination *P. domestica* × *P. spinosa* **B** Kreuzungskombination *P. domestica* × *P. cerasifera* **C** Summe aller getesteten interspezifischen Nachkommen verschiedener Kreuzungskombinationen.

Tab. 5.2-1: Einordnung von Nachkommenschaften unterschiedlicher interspezifischer Kreuzungskombinationen in die einzelnen Hypersensibilitätsklassen. Als Muttersorte wurde immer ein hypersensibler Elter verwendet.

Kreuzungskombination		Nachkommen	HK 3	HK 2	HK 1	HK 0
P. domestica × P. spinosa (hexaploid × tetraploid)	Hoh 4571 × Prunus spinosa	10	7			3
	Hoh 5944 × Prunus spinosa	2				2
	Jojo × Prunus spinosa	80	40		4	36
P. domestica × P. cerasifera (hexaploid × diploid)	Hoh 4571 × Prunus cerasifera	5	2			3
	Hoh 6482 × Prunus cerasifera 'Späte Myrobalane'	9	4			5
	Jojo × Prunus cerasifera	40	25			15
	Jojo × Prunus cerasifera 'Mathildenstraße'	1				1
	Prunus domestica × Prunus cerasifera	4	1		1	2
P. domestica × P. salicina (hexaploid × diploid)	Hoh 4517 × Sungold	2	2			
	Hoh 5392 × Annagold	1				1
	Hoh 4465 × Graviota	1				1
P. domestica × P. armeniaca (hexaploid × diploid)	Hoh 4517 × Mino	1	1			
	Hoh 4517 × Orangered	1				1
	Hoh 512 × Harlayne	1				1
	Hoh 6482 × Goldrich	1	1			
(P. domestica × P. cerasifera) × P. cerasifera (tetraploid × diploid)	Docera 6 × Alte Myrobalane aus Hallbergmoos	2	1			1
	Docera 6 × Junge Myrobalane aus Hallbergmoos	1	1			
	Docera 6 × Prunus cerasifera 'Mathildenstraße'	4	3			1
	Docera 9 × Kolonovidnaja	3				3
(P. domestica × P. cerasifera) × P. domestica (tetraploid × hexaploid)	Docera 6 × Ljosche vishnovaja rannaja	3	3			
(P. domestica × P. cerasifera) × P. salicina (tetraploid × diploid)	Docera 6 × Annagold	2	1			1
	Docera 9 × Annagold	3	1			2

Docera 6 × Alte Myrobalane aus Hallbergmoos
•(*P. domestica* × *P. cerasifera*) × *P. cerasifera*
•tetraploid × diploid



Docera 6 × Junge Myrobalane aus Hallbergmoos
•(*P. domestica* × *P. cerasifera*) × *P. cerasifera*
•tetraploid × diploid



Docera 6 × Ljosche vishnovaja rannaja
•(*P. domestica* × *P. cerasifera*) × *P. domestica*
•tetraploid × hexaploid



Hoh 4517 × Mino
•*P. domestica* × *P. armeniaca*
•hexaploid × diploid



Hoh 4517 × Mino
•*P. domestica* × *P. armeniaca*
•hexaploid × diploid



Docera 6 × Annagold
•(*P. domestica* × *P. cerasifera*) × *P. salicina*
•tetraploid × diploid



Abb. 5.2-2: Hypersensible Reaktion interpezifischer Hybriden.

5.2.1.4 Berechnung von Allelkombinationen für monogen bedingte Resistenz

Auf Grund der erzielten Ergebnisse bei interspezifischen Hybriden, wie in Abb. 5.2-1 auf Seite 37 auszugsweise dargestellt ist, ist eine Aufspaltung in den Nachkommenschaften von 1:1 wie von Kegler et al. (1998) postuliert möglich. Vorausgesetzt wird hierbei, dass für eine Auslösung der hypersensiblen Reaktion und einen „Allel-Dosis-Effekt“ die Mehrzahl der Allele in den interspezifischen Zuchtklonen dominant sein muss. Hierbei werden bei hypersensiblen Sorten und Zuchtklonen mit hexaploidem Genom vier dominante Allele angenommen. Nachfolgende Nullhypothese wird hierbei postuliert:

Nullhypothese: Es besteht kein Unterschied zwischen den bonitierten und den errechneten Werten bezüglich der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz in den jeweiligen Allelkombinationen!

Hexaploides Genom × tetraploides Genom v.v.

Kombiniert man hypersensible hexaploide Zuchtklone (*P. domestica*) mit tetraploiden Zuchtklonen (*P. spinosa*), dann liegt der Anteil an hypersensiblen Nachkommen bei 51 % und der Anteil sensibler Nachkommen bei 49 %. Sechs aller möglichen Allelkombinationen zeigen keinen signifikanten Unterschied zwischen den errechneten und bonitierten Anteilen hypersensibler und sensibler Nachkommen (Tab. 5.2-3). Da es sich bei den verwendeten *Prunus spinosa*-Zuchtklonen um nicht hypersensible Kreuzungspartner handelte, müssen von den 6 vorhandenen Allelkombinationen auf Grund des Postulats, dass hypersensible Zuchtklone eine Überzahl dominanter Allele besitzen, zwei Kombinationen verworfen werden. Des Weiteren muss auch die Allelkombination mit nur drei dominanten Alle-

len abgelehnt werden, da für einen hypersensiblen Zuchtklon mit hexaploidem Genom mindesten vier dominante Allele gefordert wurden.

Tetraploides Genom × diploides Genom

Kombiniert man hypersensible hexaploide Zuchtklone mit *Prunus cerasifera*, die nicht hypersensibel sind, so kommt es zu einer starken Aufspaltung zwischen hypersensiblen und sensiblen Nachkommen (siehe Abb. 5.2-1). In Tab. 5.2-4 sind die verschiedenen Allelkombinationen zwischen den beiden Arten dargestellt. In der Aufspaltung der Nachkommenschaften gibt es 52,5 % hypersensible Nachkommen und 47,5 % sensible Nachkommen, was einem Verhältnis von 1:1 nahe kommt. Betrachtet man die errechneten Chi-Quadrat Werte in Tab. 5.2-4, lassen sich auch hier bei einer Aufspaltung von 1:1 keine signifikanten Unterschiede berechnen. Des Weiteren können analog der Kreuzungskombination von *P. domestica* × *P. spinosa* beim hypersensiblen Kreuzungspartner vier dominante Allele, welche dann für eine Auslösung der Hypersensibilitätsresistenz verantwortlich sind, im hexaploiden Genom postuliert werden. Auf Grund dessen bleibt von den drei möglichen Allelkombinationen, die berechnet und statistisch abgesichert wurden, nur eine Allelkombination (AAAAaa × Aa) übrig.

Tetraploides Genom × diploides Genom

In der Kombination von hypersensiblen Hybriden (*'Docera 6'* und *'Docera 9'*), die ein tetraploides Genom besitzen, mit diploiden Zuchtklonen ist die Anzahl der Nachkommen mit 1 bis 4 Stück bisher zu gering, um konkrete Berechnungen bezüglich der genetischen Determinierung der Hypersensibilitätsresistenz durchführen zu können. In

Tab. 5.2-2 auf Seite 41 sind die möglichen Allelkombinationen dargestellt. Auffällig wie-

derum ist in den Kombinationen der Hybriden mit *P. salicina* und auch *P. cerasifera* die Aufspaltung der Nachkommenschaft in stark hypersensible und sensible Nachkommen mit einem Fehlen von Zuchtklonen in den Hypersensibilitätsklassen 1 und 2.

5.2.1.5 Zusammenfassung

Betrachtet man die Kreuzungskombinationen der verschiedenen interspezifischen Hybridisierungen, erkennt man eine Aufspaltung der Nachkommen in sensibel und stark hypersensibel im Verhältnis von 1:1. Berech-

nungen zu möglichen Allelkombinationen für einen „Allel-Dosis-Effekt“ zeigen Möglichkeiten für eine monogene Vererbung auf, die sich auch statistisch mittels Chi-Quadrat-Test absichern lassen. Es gibt jedoch keine definitiven Aussagen zu einer monogen bedingten Resistenz. Hierfür müssen vor allem weitere Kreuzungen zur Reduktion des Chromosomensatzes mit anschließenden Rückkreuzungen durchgeführt werden, um die hypothetischen Berechnungen der möglichen Allelkombinationen abzusichern oder aber eine Aussage über die Beteiligung weiterer Gene zu ermöglichen.

Tab. 5.2-2: Verschiedene Möglichkeiten in der Anzahl der dominanten und rezessiven Allele von *P. domestica* × *P. cerasifera*-Hybriden in der Kreuzungskombination mit *P. salicina* und *P. cerasifera*. Aus den verschiedenen Allelkombinationen ergeben sich die errechneten prozentualen Verteilungen der Nachkommen.

		Prozentualer Anteil der Nachkommen der jeweiligen Allelkombination				Summe AAa und AAA
		aaa	Aaa	AAa	AAA	
		Möglichkeiten der Kreuzungskombination mit verschiedener Anzahl dominanter und rezessiver Allele der Elternteile	aaaa × aa	100	0	
	Aaaa × aa	50	50	0	0	0
	AAaa × aa	0	100	0	0	0
	AAAA × aa	0	75	25	0	25
	aaaa × Aa	50	50	0	0	0
	Aaaa × Aa	25	50	25	0	25
	AAaa × Aa	0	50	50	0	50
	AAAA × Aa	0	33,3	58,3	8,3	66,6
	aaaa × AA	16,7	66,7	16,7	0	16,7
	Aaaa × AA	8,3	41,7	41,7	8,3	50
	AAaa × AA	0	16,7	66,7	16,7	83,4
	AAAA × AA	0	8,3	58,3	33,3	91,6
	AAAA × AA	0	0	0	100	100

Tab. 5.2-3: Verschiedene Möglichkeiten in der Anzahl der dominanten und rezessiven Allele von *Prunus domestica* × *Prunus spinosa*-Kreuzungen mit der errechneten prozentualen Verteilung der Nachkommen auf die verschiedenen Allelkombinationen. Die Spalte „bonitiert“ markiert die Aufspaltung dieser Kreuzungskombination, wie sie phänotypisch bonitiert wurde. **Rot** markiert sind Allelkombinationen mit einem errechneten Anteil von 50 % hypersensibler Nachkommen und einem fehlenden signifikanten Unterschied zwischen errechneten und prozentualen Anteilen an hypersensiblen und sensiblen Nachkommen ($p < 0,001$). χ^2 = Chi-Quadrat, n.s. = nicht signifikant, ***= Signifikanzniveau mit 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit.

	Prozentualer Anteil der Nachkommen der jeweiligen Allelkombination						Anteil hyp. Nachkommen [%]		Anteil sens. Nachkommen [%]		Signifikanzniveau	
	aaaa	Aaaa	Aaaa	AAAA	AAAAa	AAAAA	errechnet	bonitiert	errechnet	bonitiert		χ^2
Möglichkeiten der Kreuzungskombination mit verschiedener Anzahl dominanter und rezessiver Allele der Elternteile	aaaaa × aaaa	100	0	0	0	0	0	51	100	49		
	aaaaa × Aaaa	50	50	0	0	0	0	51	100	49		
	aaaaa × AAaa	16,7	66,7	16,7	0	0	0	51	100	49		
	aaaaa × AAAa	0	50	50	0	0	0	51	100	49		
	aaaaa × AAAA	0	0	100	0	0	0	51	100	49		
	Aaaaa × aaaa	50	50	0	0	0	0	51	100	49		
	Aaaaa × Aaaa	25	50	25	0	0	0	51	100	49		
	Aaaaa × AAaa	8,3	41,7	41,7	8,3	0	0	8,3	51	91,7	49	239,557 ***
	Aaaaa × AAAa	0	25	50	25	0	0	25	51	75	49	36,053 ***
	Aaaaa × AAAA	0	0	50	50	0	0	50	51	50	49	0,040 n.s.
	AAaaaa × aaaa	20	60	20	0	0	0	0	51	100	49	***
	AAaaaa × Aaaa	10	40	40	10	0	0	10	51	90	49	186,778 ***
	AAaaaa × AAaa	3,3	23,3	46,7	23,3	3,3	0	26,6	51	73,3	49	30,438 ***
	AAaaaa × AAAa	0	10	40	40	10	0	50	51	50	49	0,040 n.s.
	AAaaaa × AAAA	0	0	20	60	20	0	80	51	20	49	52,563 ***
	AAAaaa × aaaa	5	45	45	5	0	0	5	51	95	49	445,474 ***
	AAAaaa × Aaaa	2,5	25	45	25	2,5	0	27,5	51	72,5	49	27,699 ***
	AAAaaa × AAaa	0,8	10,8	38,3	38,3	10,8	0,8	49,9	51	49,9	49	0,040 n.s.
	AAAaaa × AAAa	0	2,5	25	45	25	2,5	72,5	51	27,5	49	23,185 ***
	AAAaaa × AAAA	0	0	5	45	45	5	95	51	5	49	407,579 ***
	AAAAaa × aaaa	0	20	60	20	0	0	20	51	80	49	60,063 ***
	AAAAaa × Aaaa	0	10	40	40	10	0	50	51	50	49	0,040 n.s.
	AAAAaa × AAaa	0	3,3	23,3	46,7	23,3	3,3	73,3	51	26,6	49	25,647 ***
	AAAAaa × AAAa	0	0	10	40	40	10	90	51	10	49	169,000 ***
	AAAAaa × AAAA	0	0	0	20	60	20	100	51	0	49	
	AAAAAa × aaaa	0	0	50	50	0	0	50	51	50	49	0,040 n.s.
	AAAAAa × Aaaa	0	0	50	50	0	0	50	51	50	49	0,040 n.s.
	AAAAAa × AAaa	0	0	8,3	41,7	41,7	8,3	91,7	51	8,3	49	217,641 ***
	AAAAAa × AAAa	0	0	0	25	50	25	100	51	0	49	
	AAAAAa × AAAA	0	0	0	0	50	50	100	51	0	49	
AAAAAA × aaaa	0	0	0	100	0	0	100	51	0	49		
AAAAAA × Aaaa	0	0	0	50	50	0	100	51	0	49		
AAAAAA × AAaa	0	0	0	66,6	66,6	16,7	100	51	0	49		
AAAAAA × AAAa	0	0	0	0	50	50	100	51	0	49		
AAAAAA × AAAA	0	0	0	0	0	100	100	51	0	49		

Tab. 5.2-4: Verschiedene Möglichkeiten in der Anzahl der dominanten und rezessiven Allele von *P. domestica* × *P.cerasifera*-Kreuzungen mit der errechneten prozentualen Verteilung der Nachkommen auf die verschiedenen Allelkombinationen. Die Spalte „bonitiert“ markiert die Aufspaltung dieser Kreuzungskombination, wie sie phänotypisch bonitiert wurde. **Rot** markiert sind Allelkombinationen mit einem errechneten Anteil von 50 % hypersensibler Nachkommen und einem fehlenden signifikanten Unterschied zwischen errechneten und prozentualen Anteilen an hypersensiblen und sensiblen Nachkommen ($p < 0,001$). χ^2 = Chi-Quadrat, n.s. = nicht signifikant, *** = Signifikanzniveau mit 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit.

	Prozentualer Anteil der Nachkommen der jeweiligen Allelkombination					Anteil hyp. Nachkommen		Anteil sens. Nachkommen		χ^2	Signifikanzniveau	
	aaaa	Aaaa	AAaa	AAAa	AAAA	errechnet	bonitiert	errechnet	bonitiert			
Möglichkeiten der Kreuzungskombination mit verschiedener Anzahl dominanter und rezessiver Allele der Elternteile	aaaaaa × aa	100	0	0	0	0	52,5	100	47,5			
	Aaaaaa × aa	50	50	0	0	0	52,5	100	47,5			
	AAaaaa × aa	20	60	20	0	0	52,5	100	47,5			
	AAAaaa × aa	5	45	45	5	0	52,5	95	47,5	475,000	***	
	AAAAaa × aa	0	20	60	20	0	52,5	80	47,5	66,016	***	
	AAAAAa × aa	0	0	50	50	0	50	52,5	50	47,5	0,250	n.s.
	AAAAAA × aa	0	0	0	100	0	100	52,5	0	47,5		
	aaaaaa × Aa	50	50	0	0	0	52,5	100	47,5			
	Aaaaaa × Aa	25	50	25	0	0	52,5	100	47,5			
	AAaaaa × Aa	10	40	40	10	0	52,5	90	47,5	200,694	***	
	AAAaaa × Aa	2,5	25	45	25	2,5	27,5	52,5	72,5	47,5	31,348	***
	AAAAaa × Aa	0	10	40	40	10	50	52,5	50	47,5	0,250	n.s.
	AAAAAa × Aa	0	0	25	50	25	75	52,5	25	47,5	27,000	***
	AAAAAA × Aa	0	0	0	50	50	100	52,5	0	47,5		
	aaaaaa × AA	0	100	0	0	0	52,5	100	47,5			
	Aaaaaa × AA	0	50	50	0	0	52,5	100	47,5			
	AAaaaa × AA	0	20	60	20	0	52,5	80	47,5	66,016	***	
	AAAaaa × AA	0	5	45	45	5	50	52,5	50	47,5	0,250	n.s.
	AAAAaa × AA	0	0	20	60	20	80	52,5	20	47,5	47,266	***
	AAAAAa × AA	0	0	0	50	50	100	52,5	0	47,5		
AAAAAA × AA	0	0	0	0	100	100	52,5	0	47,5			

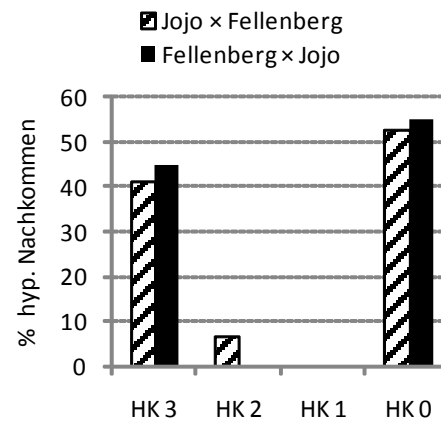
5.2.2 Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz bei intraspezifischen Kreuzungskombinationen

Durch die Kombination von Eltern mit unterschiedlicher Sensitivität gegenüber PPV (Tab. 5.1-2, Seite 24) soll eine Aussage bezüglich der Kombinationseignung und der genetischen Determinierung hinsichtlich der Anzahl der beteiligten Gene an der Hypersensibilitätsresistenz ermöglicht werden. Für eine verbesserte Aussagefähigkeit der Ergebnisse wurden nicht nur die Resultate aus den eigenen Versuchsreihen, sondern auch die bereits in Neumüller et al. (2007) publizierten Ergebnisse mit verwandt.

5.2.2.1 Genetische Determinierung der Hypersensibilitätsresistenz

Genaue Kenntnis über die genetische Determinierung einer gewünschten Eigenschaft zu haben ist für einen schnellen und effektiven Züchtungsweg unerlässlich. Bezüglich der Hypersensibilitätsresistenz kann diese zum einen im Plasmon und zum anderen im Kerngenom kodiert sein. Falls eine Kodierung im Plasmon vorliegt kann die Hypersensibilitätsresistenz nur von der Mutter vererbt werden, im Gegensatz zur Kodierung im Kerngenom, bei der die Resistenz von beiden Partnern vererbt werden kann. Zur Überprüfung der genetischen Determinierung wurden Kreuzungskombination der hypersensiblen Sorte 'Jojo' mit den sensiblen Sorten 'Fellenberg' und 'Hanita' und deren jeweiligen reziproken Kreuzungskombination durchgeführt (Abb. 5.2-3 und Abb. 5.2-4). Falls eine Kodierung im Kerngenom vorliegt gibt es lediglich in der Kreuzungskombination 'Jojo' × 'Fellenberg' und in der Kombination 'Jojo' × 'Hanita' hypersensible Nachkommen, im Gegensatz zur Kodierung im Plasmon, in der bei reziproken

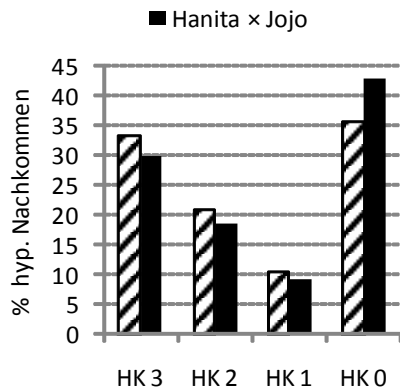
Kreuzungen auch hypersensible Nachkommen auftreten müssen.



	N	Median
Jojo × Fellenberg	78	0,1
Fellenberg × Jojo	20	0,1

Abb. 5.2-3: Verteilung der Nachkommen bezüglich der zugehörigen Hypersensibilitätsklasse der Kreuzungskombination 'Jojo' × 'Fellenberg' und deren reziproke Kreuzungskombination; N Anzahl getesteter Nachkommen

In Abb. 5.2-3 und Abb. 5.2-4 wurden die Nachkommen der jeweiligen Kreuzungskombinationen hinsichtlich ihrer Zugehörigkeit zu ihren Hypersensibilitätsklassen verteilt. Mittels des Mann-Whitney Tests können keine statistischen Unterschiede in der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz an Nachkommen zwischen reziproken Kreuzungskombinationen festgestellt werden. Damit kann eine genetische Determinierung in der Chloroplasten-DNA ausgeschlossen werden, da kein Effekt in der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz mütterlicherseits vorliegt.



	N	Median
Jojo × Hanita	48	0,5
Hanita × Jojo	54	0,3

Abb. 5.2-4: Verteilung der Nachkommen bezüglich der zugehörigen Hypersensibilitätsklasse der Kreuzungskombination 'Jojo' × 'Hanita' und deren reziproke Kreuzungskombination; N Anzahl getesteter Nachkommen

5.2.2.2 Kombination hypersensibler Zuchtklon × hypersensibler Zuchtklon

Die Kombination von stark hypersensiblen Sorten und Klonen mit wiederum stark hypersensiblen Zuchtklonen (bei beiden Zuchtklonen wird die Sorte 'Ortenauer' als Donor der

Hypersensibilitätsresistenz angenommen), kommt es bei der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz in den getesteten Kreuzungskombinationen zu mehr als 64 % hypersensibler Nachkommen (Abb. 5.2-5). Hierbei ist die Menge an hypersensiblen Nachkommen in der Hypersensibilitätsklasse 1 und 2 mit Werten zwischen 0 und 22 % geringer als in den Klassen 0 und 3. Bei der Kombination zweier hypersensibler Zuchtklone schwankt der Anteil an hypersensiblen Nachkommen. Die Kreuzungskombination von 'Jojo' mit 'Klon 108' und 'Klon 128' liegt zwischen 12 und 18 % stark hypersensibler Nachkommen (HK 3 + 2) und der Anteil an sensiblen Nachkommen liegt bei 80 %. Die Kreuzungskombinationen von 'Hoh 512' mit 'Jojo' liefert dahingegen 64 % stark hypersensibel und 34 % sensitive Nachkommen. In dieser Kombination besitzen beide Kreuzungspartner denselben Ursprung der Hypersensibilität. Die beiden Zuchtklone 'Klon 108' und 'Klon 128' hingegen sind Nachkommen der Pflaumenhybride 'K4' und bedingt hypersensibel. Die Klone aus Selbstungen von 'Hoh 5915' als F2-Nachkomme von 'Ortenauer' (Tab. 5.1-2, Seite 24) spalten bei vier getesteten Zuchtklonen 1:1 in stark hypersensibel und in sensible Nachkommen.

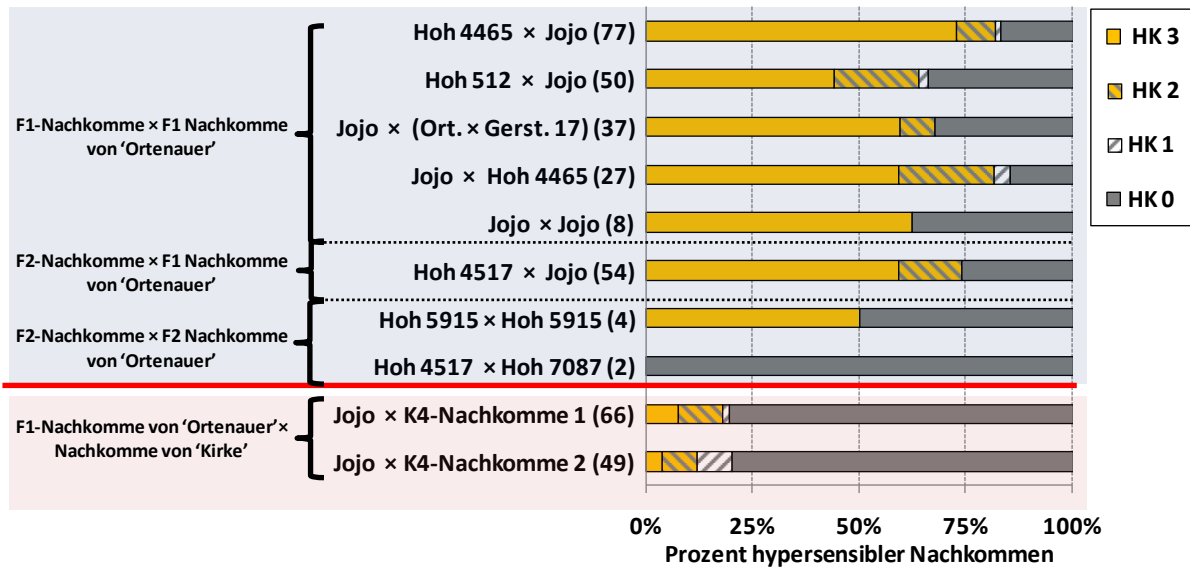


Abb. 5.2-5: Verteilung von Nachkommen aus Kreuzungskombinationen zweier hypersensibler Zuchtklone mit gleichen (blau hinterlegt) oder unterschiedlichem (rot hinterlegt) Resistenzursprung auf die einzelnen Hypersensibilitätsklassen (vgl. Tab. 5.1-2).

5.2.2.3 Kombination hypersensibler Zuchtklon × sensibler Zuchtklon

Kombiniert man in Kreuzungen einen hypersensiblen Zuchtklon mit einem sensiblen Zuchtklon differiert der Anteil an hypersensiblen Nachkommen zwischen 0 und 65 % (Abb. 5.2-7) und ist signifikant niedriger als bei der Kombination zweier hypersensibler Zuchtklone. Hier liegt der Anteil an hypersensiblen Nachkommen zwischen 64 und 82 %.

Die am häufigsten verwendeten hypersensiblen Zuchtklone in den Kreuzungskombinationen sind die Sorte 'Jojo' und der Zuchtklon 'Hoh 4517'. Auf Grund der hohen Variabilität im Anteil der hypersensiblen Nachkommen zwischen den einzelnen Kreuzungskombinationen wurde eine Aufteilung der Gruppe „hypersensibler Klon × sensibler Klon“ in F1- und F2-Nachkommen der Sorte 'Ortenauer' durchgeführt (Abb. 5.2-6). Des Weiteren wird eine Aufgliederung beim sensiblen Partner vorgenommen und betrachtet, wie es sich verhält, wenn dessen Elter oder Großelter hypersensibel war. Dabei sollte getestet werden, wie stark die Hypersensibilität, beeinflusst durch den Großelter, auf die Nachkommen übertragen wird. Hierbei stellt sich vor allem die Frage, wie stark wurde im sensiblen Partner die genetische Information für eine hypersensible Reaktion unterdrückt, dann aber in der F2-Generation wieder dominant ausgeprägt.

luszt durch den Großelter, auf die Nachkommen übertragen wird. Hierbei stellt sich vor allem die Frage, wie stark wurde im sensiblen Partner die genetische Information für eine hypersensible Reaktion unterdrückt, dann aber in der F2-Generation wieder dominant ausgeprägt.

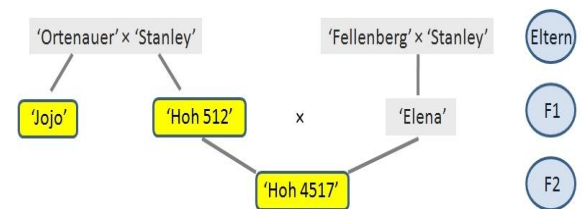


Abb. 5.2-6: Stammbaum der hypersensiblen Sorte 'Jojo' und der hypersensiblen Zuchtklone 'Hoh 512' und 'Hoh 4517'.

F1 Nachkommen der Kreuzungskombination 'Ortenauer' × 'Stanley':

Verwendet man 'Hoh 512' oder 'Jojo' als Kreuzungspartner, variiert der Anteil an hypersensiblen Nachkommen zwischen 15 ('Hoh 512' × 'Cacaks Schöne') und 65 % ('Jojo' × 'Hanita'). Eine weitere Unterscheidung beim nicht hypersensiblen Kreuzungspartner in tolerante, sensible oder quantitativ resistente

Klone hat keinen signifikanten Einfluss auf die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz (Tab. 5.2-5 auf Seite 52).

F2 Nachkommen der Kreuzungskombination 'Ortenauer' × 'Stanley':

Verwendet man hypersensible Zuchtklone, welche F2 Nachkommen der Kreuzungskombination 'Ortenauer' × 'Stanley' sind, so variiert der Anteil an hypersensiblen Nachkommen innerhalb den Kreuzungskombinationen zwischen 48 % ('Tegera' × 'Hoh 6482') und 0 % ('Topper' × 'Hoh 4571'). Die Auftrennung des nicht hypersensiblen Partners in Gruppen hinsichtlich Toleranz, Sensitivität und quantitativer Resistenz gegenüber PPV zeigt Unterschiede in der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz. Zuchtklone mit einem quantitativen Elter oder Großelter haben in der Kombination mit einem hypersensiblen Zuchtklon einen niedrigeren Anteil an hypersensiblen Nachkommen als die Kombination eines hypersensiblen Zuchtklons mit einem sensiblen oder toleranten Zuchtklon. Diese Gruppe lässt sich auch statistisch mittels Mann-Whitney Test von den beiden anderen Gruppen absichern. Eine Ausnahme bildet die Kreuzungskombination 'Hoh 5128' (sensibel) × 'Hoh 4571' (hypersensibel) mit 6 % hypersensibler Nachkommen.

Sensibler Partner besitzt einen hypersensiblen Elter oder Großelter:

2010 wurden Nachkommenschaften von Kreuzungskombinationen mit der Sorte 'Harbella' bezüglich der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz untersucht. 'Harbella' geht aus einer Kreuzung von 'Ortenauer × Stanley 34' mit 'Hanita' hervor und ist ebenso wie deren Vatersorte 'Hanita' sensibel gegenüber PPV. Die Muttersorte 'Ortenauer × Stanley 34' hingegen ist stark hypersensibel. Als Kreuzungspartner wurden die drei stark hypersensiblen Zuchtklone 'Hoh 7087', 'Hoh 7172' und 'Jojo' verwendet. Des Weiteren wurden die Nachkommen der Kreuzungskombination mit 'Haganta' bezüglich Hypersensibilitätsresistenz untersucht. 'Haganta' ist ein sensibler Zuchtklon, der als Eltern die quantitativ resistente Sorte 'Cacaks Beste' und die sensible Sorte 'Valor' besitzt.

Der Anteil an hypersensiblen Nachkommen schwankt in der Kreuzungskombination von 'Harbella' mit den 3 hypersensiblen Zuchtklonen zwischen 20 und 46 %. In der Kreuzungskombination von 'Haganta' mit 'Harbella' sind keine hypersensiblen Nachkommen aufgetreten (siehe Abbildung 5.2-8). Vergleicht man die Kombination zweier stark hypersensibler Zuchtklone, resultieren daraus 64 bis 83 % an hypersensiblen Nachkommen (vgl. Kapitel 5.2.2, Seite 44).

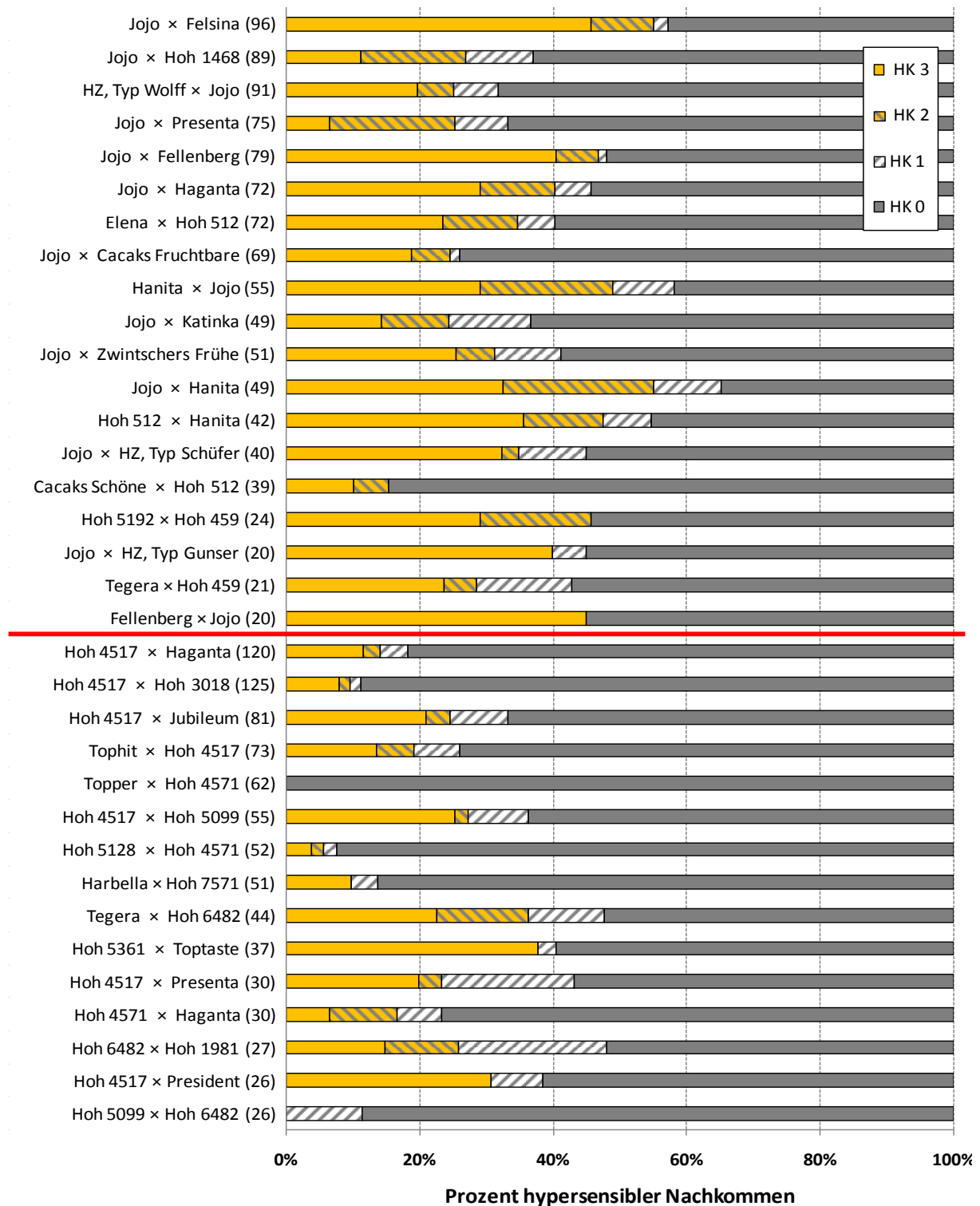


Abb. 5.2-7: Prozent hypersensibler Nachkommen aus Kreuzungskombinationen eines hypersensiblen Zuchtklons mit einem sensiblen Zuchtklon verteilt auf die einzelnen Hypersensibilitätsklassen. In der oberen Hälfte des Diagramms markiert mittels einer roten Linie sind Kreuzungskombinationen, in denen der hypersensible Zuchtklon ein F1-Nachkomme von 'Ortenauer' und in der unteren Hälfte des Diagramms der hypersensible Kreuzungspartner ein F2-Nachkomme der Sorte 'Ortenauer' ist.

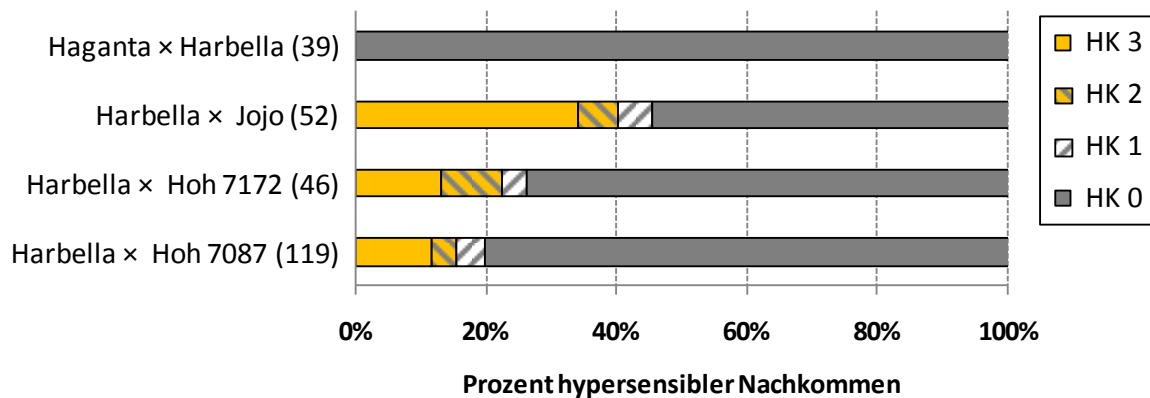


Abb. 5.2-8: Verteilung von Nachkommenschaften aus Kreuzungskombinationen der Sorte ‘Haganta’ (sensibel, mit quantitativ resistenten Ursprung), sowie den drei hypersensiblen Sorten und Klonen ‘Jojo’, ‘Hoh 7172’, ‘Hoh 7087’ mit der Sorte ‘Harbella’, welche ein Nachkomme des hypersensiblen Zuchtklons ‘Ortenauer’ × ‘Stanley 34’ ist und selbst sensibel gegenüber PPV reagiert.

5.2.2.4 Kombination sensibler Zuchtklon × sensibler Zuchtklon

‘Jojo’ ist ein Nachkomme der gegenüber PPV stark sensiblen Sorte ‘Ortenauer’ und der fruchttoleranten Sorte ‘Stanley’ (Hartmann, 2002). Von hypersensiblen Nachkommen aus Kreuzungskombinationen wurde schon 1998 (Hartmann, 1998 a) berichtet. Hierbei handelte es sich um Kreuzungen von ‘Ortenauer’ mit ‘Ruth Gerstetter’, mit ‘Fellenberg’ und auch mit ‘Stanley’. Anhand der Prüfung von Nachkommen aus Kreuzungen der Sorte ‘Ortenauer’ mit ‘Stanley’, aus ‘Ortenauerselbstungen’ und aus ‘Stanleyselbstungen’ soll geklärt werden, ob der Ursprung der Hypersensibilität bei ‘Ortenauer’ liegt.

Der Anteil an resistenten Nachkommen in den Hypersensibilitätsklassen 3 und 2 ist in der Kreuzung ‘Ortenauer’ × ‘Ortenauer’ mit 44 % am höchsten (vgl. Abbildung 5.2-10). Im Gegensatz hierzu gehen aus Selbstungen der Sorte ‘Stanley’ keine hypersensiblen Nachkommen hervor. Die Kreuzungskombination ‘Ortenauer’ × ‘Stanley’ resultiert in 18 % hypersensibler Nachkommen in den Klassen 2 und 3. Die erzielten Ergebnisse lassen sich

statistisch mit 0,1 % iger Irrtumswahrscheinlichkeit durch einen Medianvergleich voneinander unterscheiden.

Für die Züchtung ist des Weiteren auch die Stabilität einer Resistenz wichtig. Dies kann zum einem durch die Kombination von unterschiedlichen Resistenzformen erzielt werden (Hartmann & Neumüller, 2010) und zum anderen durch die Nutzung weiterer Quellen der Hypersensibilität. Als weitere mögliche Quelle für Hypersensibilität wird die Sorte ‘Dabrowice’ benannt (Hartmann & Petruschke, 2000), mit der Kreuzungen durchgeführt wurden. Die Hypersensibilitätstestungen von 57 Nachkommen der Kreuzungskombination ‘Chrudimer’ × ‘Dabrowice’ resultieren in 2 hypersensible Zuchtklone. ‘Wei 52’ ist ein schwach hypersensibler Zuchtklon mit mittelstark ausgeprägten Blattspreiten- und Rindennekrosen. In 2 von 10 Fällen kam es zu einem Absterben des Edelreises. Bei ‘Wei 227’ handelt es sich um einen stark hypersensiblen Nachkommen der Kreuzung ‘Chrudimer’ × ‘Dabrowice’, der in 4 von 5 Wiederholungen im Testsystem abstirbt. Eine Wiederholung



zeigt keine Tribspitzendürre und keine Rindennekrosen, sondern Blattspreitennekrosen (Boniturstufe 4), als schwächste Ausprägungsform der Hypersensibilitätsresistenz (Abbildung 5.2-11). Eine Testung von Nachkommen der Selbstung des sensiblen Zuchtklons 'Hoh 5960' liefert 3 schwach hypersensible und 7 sensible Zuchtklone. Hierbei wurden die drei schwach hypersensiblen Zuchtklone mit jeweils Boniturstufe 3 beim Merkmal Rindennekrosen erfasst. Die Testung der Nachkommen aus 'Haganta' × 'Harbella', 'Hoh 4922' × 'Toptaste' und 'Hanka' × 'Haganta' ergab keine hypersensiblen Nachkommen.

Abb. 5.2-9: Austrieb des stark hypersensiblen Zuchtklons 'Wei 5116' (Ortenauer × Ortenauer) bei beginnender hypersensibler Reaktion mit Blattspreitennekrosen.

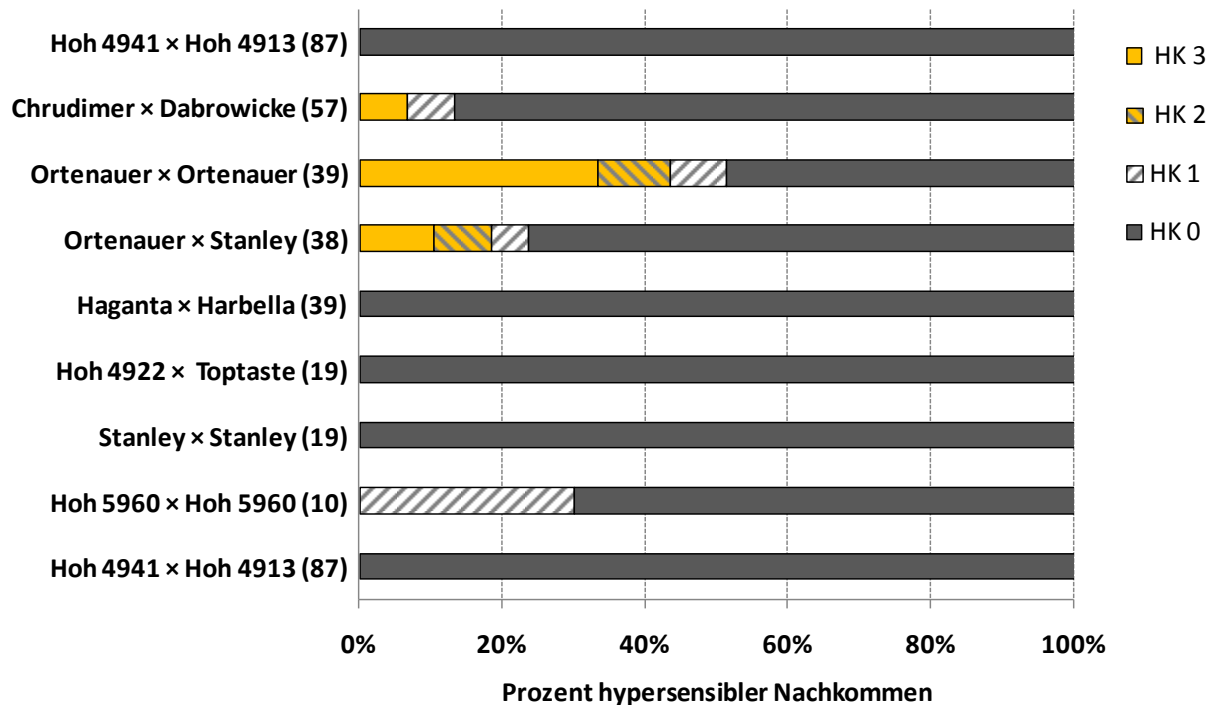


Abb. 5.2-10: Prozentuale Verteilung von Nachkommen auf die einzelnen Hypersensibilitätsklassen bei der Kombination zweier sensibler Kreuzungspartner.



Abb. 5.2-11: Hypersensible Reaktion am Austrieb der Zuchtklone 'Wei 227' (A) und 'Wei 52' (B) (Chrudimer × Dabrowicke) 6 Wochen nach der Veredlung.

5.2.2.5 Kombination hypersensibler Zuchtklon × quantitativ resistenter Zuchtklon

In der Nachkommenschaft der Kreuzungskombination des quantitativ resistenten Zuchtklons 'Opal' mit dem sensiblen Zuchtklon 'Hoh 4922' konnte von 118 getesteten Zuchtklonen ein stark hypersensibler Zuchtklon ('Wei 4544') und zwei schwach hypersensible Zuchtklone ('Wei 3875' und 'Wei 4535') nachgewiesen werden, die insgesamt 0,9 % der Nachkommen ausmachen. Beim sensiblen Elter 'Hoh 4922' handelt es sich um einen Nachkommen aus der Kreuzungskombination von 'President' (sensibel) mit 'Hoh 512' (stark hypersensibel). Die Kreuzungskombinationen von 'Hoh 4517' × 'Hoh 2053' und von 'Mirabelle aus Nancy' × 'Hoh 6217' liefern jeweils 38 % an hypersensiblen Nachkommen, wobei der Anteil an stark hypersensiblen Nachkommen mit 29 % bei ersterer Kreuzungskombination höher ist als bei 'Mirabelle aus Nancy' ×

'Hoh 6217', welche 7 % stark hypersensible Nachkommen liefert. Die in Abb. 5.2-12 dargestellten Kreuzungskombinationen unterscheiden sich signifikant mit 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit von Kreuzungskombinationen zweier hypersensibler Partner, die der Quelle 'Ortenauer' entstammen (vgl. Tab. 5.2-5, Seite 52). In der Kombination des quantitativ resistenten Zuchtklons 'Bellamira' mit dem sensiblen Zuchtklon 'Hoh 4517'¹ konnten keine hypersensiblen Zuchtklone nachgewiesen werden (siehe Abb. 5.2-12).

¹ 'President' (sensibel) × 'Hoh 512' (hypersensibel)

Tab. 5.2-5: Kreuztabelle von getesteten Nachkommenschaften verschiedener Kreuzungskombination bezüglich statistischer Unterschiede in der Vererbung der Hypersensibilität, gemessen am Anteil der hypersensiblen Nachkommen: n.s. \triangleq kein signifikanter Unterschied; */**/** \triangleq signifikanter Unterschied mit 5 % / 1 % / 0,01 % Irrtumswahrscheinlichkeit.²

Kreuzungskombination		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
Jojo	× Hoh 4465	1																			
Hoh 512	× Jojo	2	*																		
Jojo	× (Ort. × Gerst. 17)	3	n.s.	n.s.																	
Hoh 4517	× Jojo	4	n.s.	n.s.	n.s.																
Hoh 4465	× Jojo	5	n.s.	**	n.s.	n.s.															
Jojo	× Klon 128	6	***	***	***	***	***														
Jojo	× Klon 108	7	***	***	***	***	***	n.s.													
Hoh 4941	× Hoh 4913	8	***	***	***	***	***	***	***												
Topper	× Hoh 4571	9	***	***	***	***	***	***	n.s.												
Bellamira	× Hoh 4517	10	***	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.											
Hoh 1274	× Hoh 4515	11	***	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	n.s.										
Hoh 5099	× Hoh 6482	12	***	***	***	***	***	n.s.	*	*	n.s.	*	*								
Opal	× Hoh 4922	13	***	***	***	***	***	***	*	n.s.	n.s.	*	n.s.								
Chrudimer	× Dabrowicke	14	***	***	***	***	***	*	**	***	*	***	***	n.s.	*						
Hoh 5128	× Hoh 4571	15	***	***	***	***	***	**	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.						
Hoh 4517	× Hoh 3018	16	***	***	***	***	***	n.s.	*	***	**	***	***	n.s.	**	n.s.	*				
Cacaks Schöne	× Hoh 512	17	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	**	**	**	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.			
Hoh 1284	× Hoh 4517	18	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	**	***	***	n.s.	**	n.s.	*	n.s.	n.s.		
Hoh 4517	× Hoh 1274	19	***	***	***	***	***	n.s.	*	***	*	**	**	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Harbella	× Hoh 7087	20	***	***	***	***	***	n.s.	*	***	*	**	**	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Hoh 4571	× Haganta	21	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	n.s.	***	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Ortenauer	× Stanley	22	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	**	***	***	n.s.	**	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Tophit	× Hoh 4517	23	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	n.s.	***	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Jojo	× Cacaks Fruchtbare	24	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	n.s.	***	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Harbella	× Hoh 7172	25	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	*	**	**	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Hoh 4517	× Hoh 2053	26	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	n.s.	***	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Mirabelle aus Nancy	× Hoh 6217	27	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	n.s.	***	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
HZ, Wolff	× Jojo	28	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	*	**	**	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Hoh 4517	× Jubileum	29	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	**	***	***	***	***	*	**	***
Jojo	× Presenta	30	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	*	***	**	***	*	n.s.	n.s.	*
Hoh 4517	× Hoh 5099	31	***	**	**	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***	***	***	***	n.s.	*	**
Jojo	× Katinka	32	***	**	**	***	***	*	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Jojo	× Hoh 1468	33	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	**	***	***	***	***	n.s.	*	**
Elena	× Hoh 512	34	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	*	***	*	**	*	n.s.	n.s.	*
Hoh 5361	× Toptaste	35	**	n.s.	n.s.	*	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	**	***	***	***	***	*	*	**
Jojo	× Zwintschers Frühe	36	***	**	**	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	**	***	***	***	***	*	*	**
Hoh 6482	× Hoh 1981	37	***	n.s.	*	**	***	*	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Hoh 4517	× Presenta	38	***	*	**	***	***	*	n.s.	***	***	***	***	***	***	***	***	***	*	**	**
Jojo	× HZ, Schüfer	39	***	n.s.	*	**	***	*	n.s.	***	***	***	***	**	***	***	***	***	*	**	**
Jojo	× HZ, Gunser	40	**	n.s.	n.s.	*	***	*	*	***	***	***	***	**	***	***	***	***	*	**	**
Hoh 4515	× Jojo	41	***	*	*	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	**	***	***	***	*	*	**	**
Jojo	× Hoh 1274	42	***	**	**	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	**	***	***	***	**	*	*	**
Tegera	× Hoh 6482	43	***	*	*	***	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	*	***	*	**	*	n.s.	n.s.	*
Hoh 5192	× Hoh 459	44	***	n.s.	*	**	***	n.s.	n.s.	***	***	***	***	*	***	*	**	*	n.s.	n.s.	*
Jojo	× Fellenberg	45	***	n.s.	*	**	***	*	*	***	***	***	***	**	***	***	***	***	*	**	***
Ortenauer	× Ortenauer	46	**	n.s.	n.s.	*	***	***	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Hoh 512	× Hanita	47	***	n.s.	**	***	***	**	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	**	**	***
Jojo	× Felsina	48	*	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Hanita	× Jojo	49	***	*	**	***	***	**	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	*	**	**
Jojo	× Hanita	50	***	n.s.	*	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

² Die Nachkommenschaften wurden mit dem Mann-Whitney Test auf Unterschiede bezüglich der Lage der Mediane untersucht. Der nichtparametrische Test war erforderlich, da keine Normalverteilung (getestet mittels Tuckey-Test und 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit) der Genotypen über die einzelnen Hypersensibilitätsklassen vorlag.

Der Einfluss der quantitativen Resistenz auf die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz lässt sich vor allem an der quantitativ resistenten Sorte 'Cacaks Beste' feststellen. Abb. 5.2-13 zeigt den Anteil hypersensibler Nachkommen der Kreuzungskombination 'Hoh 4517' mit 'Presenta' und den Anteil hypersensibler Nachkommen der Kreuzungskombination 'Hoh 4517' mit 'Hoh 3018'. Hierbei wirkt sich die quantitative Resistenz von 'Cacaks Beste' noch auf den Anteil PPV resistenter F3-Nachkommen aus. Dieser Anteil hypersensibler Nachkommen ist mit 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit (Mann-Whitney Test) signifikant niedriger als in der Kreuzungskombination von 'Hoh 4517' mit 'Presenta'. Dieser starke Einfluss von quantitativer Resistenz lässt sich auch in Abb. 5.2-12 feststellen. Die Sorte 'Bellamira' ist hervorgegangen aus einer Kreuzungskombination von 'Cacaks Beste' mit 'Mirabelle von Nancy'. Der Anteil hypersensibler Nachkommen der Kreuzung

'Hoh 4517' mit 'Bellamira' ergibt nur PPV sensible Nachkommen.

Von 2987 getesteten Zuchtklonen wurden des Weiteren zwei neue potentiell quantitativ resistente Zuchtklone 'Wei 4146' und 'Wei 3891' detektiert. Bei 'Wei 4146' handelt es sich um eine Kreuzungskombination von 'Jojo' mit *Prunus spinosa* und beim zweiten quantitativ resistenten Zuchtklon 'Wei 3891' handelt es sich um eine Kreuzungskombination von 'Opal' mit 'Hoh 4922'. 'Opal' ist ein quantitativ resistenter Zuchtklon. 'Hoh 4922' (sensibel) entstand aus der Elternkombination von 'President' (sensibel) mit 'Hoh 512' (stark hypersensibel). In drei Wiederholungen wurden bei 'Wei 3891' keine hypersensiblen Reaktionen und auch keine PPV Symptome auf der Blattspreite detektiert. Zwei der drei Wiederholungen, sowie die jeweilige Unterlage, wurden mittels Multiplex-PCR (Jarosova & Kundu, 2010) bezüglich PPV getestet (siehe Abb. 5.2-14).

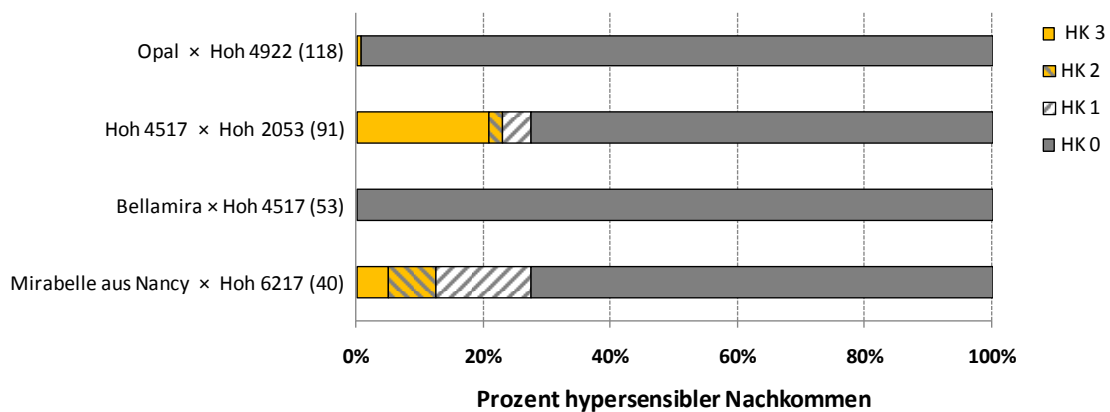


Abb. 5.2-12: Verteilung von Nachkommenschaften aus Kreuzungskombinationen hypersensibler Zuchtklone mit quantitativ resistenten Zuchtklonen und von sensiblen Zuchtklonen mit quantitativ resistenten Zuchtklonen bezüglich Hypersensibilitätsresistenz.

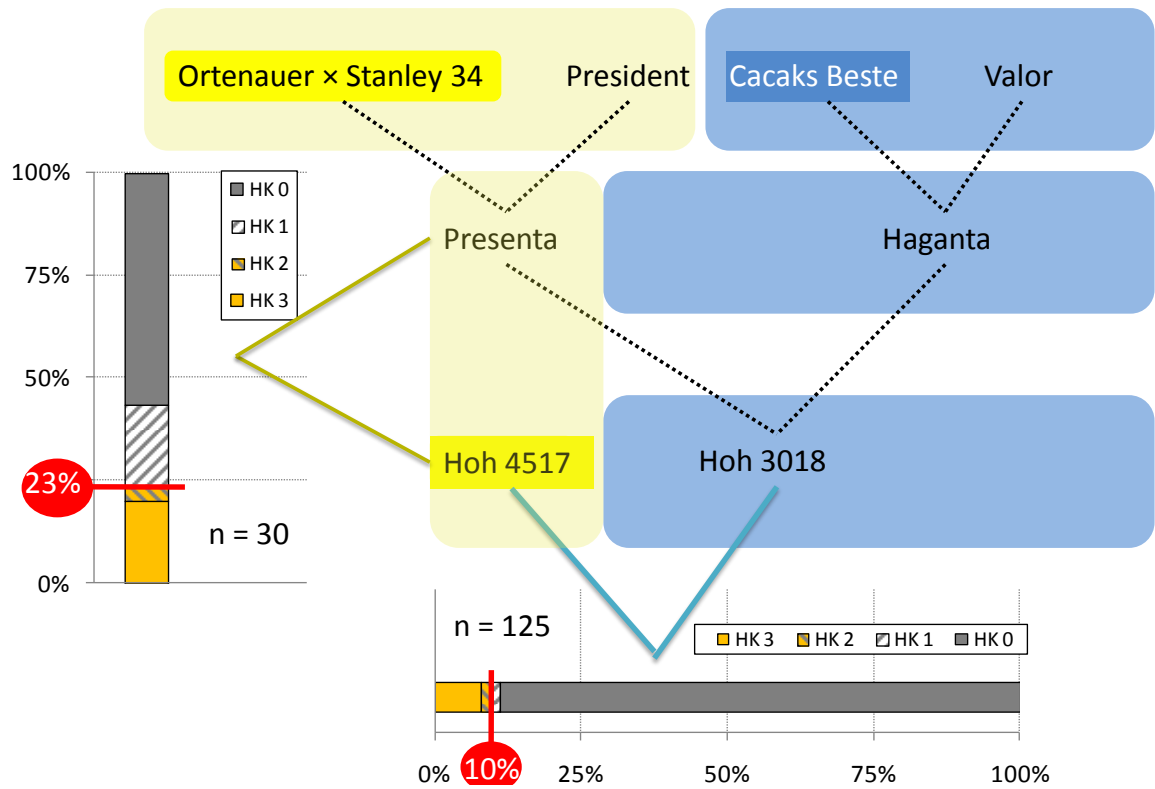


Abb. 5.2-13: Kreuzungsschema mit dem Einfluss der quantitativ resistenten Sorte 'Cacaks Beste' auf den Anteil hypersensibler Nachkommen in der F2 beziehungsweise F3 Generation sowie die verwandschaftlichen Beziehungen zwischen 'Presenta' und 'Hoh 3018'. Gelb hinterlegt sind hypersensible Klone und blau hinterlegt ist die quantitativ resistente Sorte 'Cacaks Beste', beziehungsweise Nachkommen dieser Sorte.

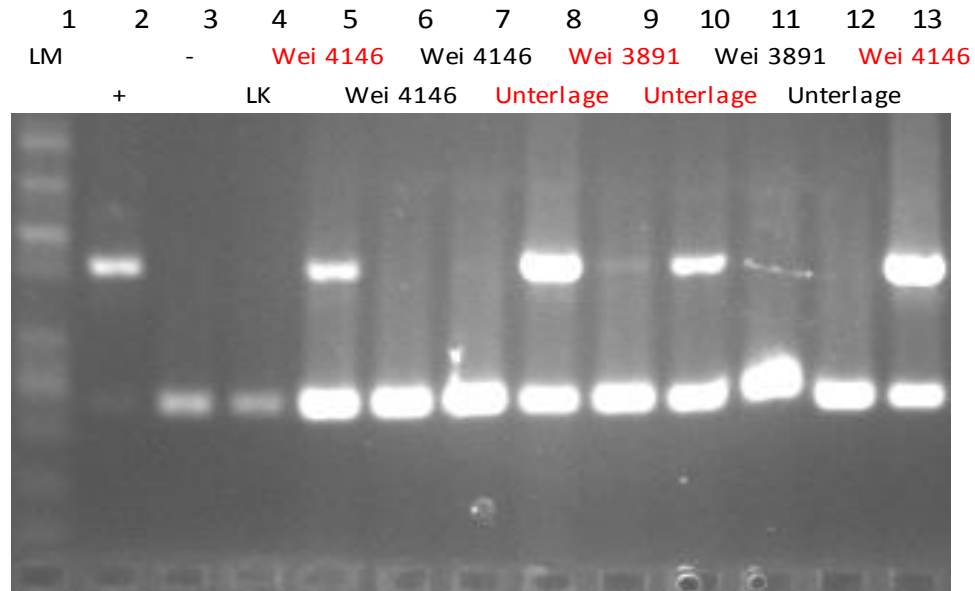


Abb. 5.2-14: Gelelektrophoretisch aufgetrennte Amplifikate, die bei Nachweis von PPV in pflanzlichen Proben mittels PCR entstehen. Fragmentgrößen: Interne Kontrolle 181 bp und PPV 345 bp. Markiert in rot sind Proben, welche PPV positiv getestet wurden. Die getesteten Unterlagen gehören immer zu den vorhergehenden Zuchtklonen. LM = gene ruler 50 bp.

Eine Wiederholung des Zuchtklons 'Wei 3891', sowie deren Unterlage (siehe Abb. 5.2-14 Spur 11 und 12) zeigt keine Amplifikation des für PPV spezifischen Fragments mit einer Größe von 345 bp. Die zweite Wiederholung weist im Gegensatz zur Unterlage, die eine starke Bande für PPV zeigt, eine schwache Bande in Spur 9 auf. Dieser niedrige Virus-titer, sowie die fehlende phänotypische Ausprägung der PPV Symptome sind typisch für quantitativ resistente Zuchtklone. Für eine abschließende Aussage zur definitiven Beurteilung der Resistenzform von 'Wei 3891' sind jedoch noch weitere Wiederholungen nötig.

Vergleicht man die einzelnen Kreuzungskombinationen ist in der Kombination zweier hypersensibler Zuchtklone oder eines hypersensiblen Zuchtklons mit einem sensiblen Zuchtklons der Anteil an hypersensiblen Nachkommen im Mittel höher, als in der Kreuzungskombination eines hypersensiblen Zuchtklons mit einem quantitativ resistenten.

Untersucht man die hypersensible Sorte 'Jojo' bezüglich der GCA mit anderen Zuchtklonen, lässt sich feststellen, dass die allgemeine Kombinationsfähigkeit von 'Jojo' in der Kombination mit einem weiterem hypersensiblen Partner am höchsten ist (Tab. 5.2-6). Ausgenommen sind hierbei die Kombinationen mit 'Klon 108' und mit 'Klon 128', die der Quelle 'Kirke' × 'Persikovaja' entstammen. Eine positive Kombinationsfähigkeit liegt auch

bei den sensiblen Sorten 'Hanita', 'Felsina', 'Fellenberg' und 'Harbella' vor. Alle anderen Kreuzungskombinationen weisen eine negative Kombinationsfähigkeit auf. Die durchschnittliche Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz (HK 2 + HK 3) an die Nachkommen liegt bei der Sorte 'Jojo' bei 44,1 %. Die durchschnittliche Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz des hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 512', ein Geschwisterklon von 'Jojo', an die Nachkommen liegt im Mittel bei 30,3 %. Die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz und die allgemeine Kombinationsfähigkeit in der Kombination zweier hypersensibler Zuchtklone ist hierbei am höchsten (Tab. 5.2-7). In der Kombination von 'Hoh 512' mit den quantitativ resistenten Sorten 'Cacaks Beste' und 'Haganta' liegt eine negative allgemeine Kombinationseignung vor.

Die GCA des hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 4517' ist in der Kombination mit einem hypersensiblen Zuchtklon ('Jojo', vgl. Tab. 5.2-8) am höchsten. Die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz von 'Hoh 4517' an die Nachkommen liegt im Mittel bei 23,3 % und ist niedriger als bei 'Jojo' oder bei 'Hoh 512'. In der Kombination von 'Hoh 4517' mit quantitativ resistenten Sorten lässt sich ein starker Einfluss des Kreuzungspartners feststellen. Dies trifft auch auf Kreuzungspartner zu, die Vorfahren mit quantitativ resistenten Ursprung besitzen, wie 'Hoh 2053', 'Tophit', 'Haganta', 'Hoh 1284', 'Hoh 3018' und 'Bellamira'.

Tab. 5.2-6: Anzahl hypersensibler Nachkommen der hypersensiblen Sorte 'Jojo' mit verschiedenen Kreuzungspartnern, sowie Einstufung der jeweiligen Kreuzungskombination mittels der allgemeinen Kombinationsfähigkeit (GCA)

	Anzahl getesteter Genotypen	% in HK 2 + HK 3	GCA
Jojo × Hoh 4465	26	80,8	36,7
Hoh 4465 × Jojo	78	79,5	35,4
Hoh 4517 × Jojo	59	71,2	27,1
Jojo × (Ortenauer × Gerstetter 17)	37	64,9	20,8
Hoh 512 × Jojo	51	62,7	18,6
Jojo × Hanita	48	56,3	12,2
Jojo × Felsina	97	54,6	10,5
Hanita × Jojo	54	48,1	4
Jojo × Fellenberg	78	47,4	3,3
Fellenberg × Jojo	20	45	0,9
Harbella × Jojo	85	44,7	0,6
Jojo × Haganta	74	39,2	-4,9
Jojo × Hauszwetsche, Gunser	23	39,1	-5
Jojo × Hauszwetsche, Schüfer	43	37,2	-6,9
Jojo freie Abblüte	31	35,5	-8,6
Jojo × Zwintschers Frühe	53	30,2	-13,9
Jojo × Hoh 1468	94	29,8	-14,3
Hauszwetsche, Wolff × Jojo	91	26,4	-17,7
Jojo × Cacaks Fruchtbare	72	25	-19,1
Jojo × Katinka	54	24,1	-20
Jojo × Presenta	80	22,5	-21,6
Jojo × Klon 108	73	16,4	-27,7
Jojo × Klon 128	52	11,5	-32,6
Gesamt 1373			
		\bar{X}	44,1

Tab. 5.2-7: Anzahl hypersensibler Nachkommen des hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 512' mit verschiedenen Kreuzungspartnern, sowie Einstufung der jeweiligen Kreuzungskombination mittels der allgemeinen Kombinationsfähigkeit (GCA)

	Anzahl getesteter Genotypen	% in HK 2 + HK 3	GCA
Hoh 512 × Jojo	51	62,7	32,4
Hoh 512 × Hanita	43	46,5	16,2
Elena × Hoh 512	72	34,7	4,4
Cacaks Fruchtbare × Hoh 512	16	31,3	1
Hoh 512 × Avalon oder Hoh 3018	14	28,6	-1,7
Cacaks Schöne × Hoh 512	41	14,6	-15,7
Cacaks Beste × Hoh 512	14	14,3	-16
Haganta × Hoh 512	10	10	-20,3
Gesamt 261			
		\bar{X}	30,3

Tab. 5.2-8: Anzahl hypersensibler Nachkommen des hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 4517' mit verschiedenen Kreuzungspartnern, sowie Einstufung der jeweiligen Kreuzungskombination mittels der allgemeinen Kombinationsfähigkeit (GCA)

	Anzahl getesteter Genotypen	% in HK 2 + HK 3	GCA
Hoh 4517 × Jojo	59	71,2	47,9
Topend × Hoh 4517	14	42,9	19,6
Hoh 4517 × President	26	30,8	7,5
Hoh 4517 × Hoh 5099	58	25,9	2,6
Hoh 4517 × Hoh 2053	90	23,3	0
Hoh 4517 × Jubileum	91	23,1	-0,2
Hoh 4517 × Presenta	36	22,2	-1,1
Tophit × Hoh 4517	75	18,7	-4,6
Hoh 4517 × Haganta	130	16,2	-7,1
Hoh 1284 × Hoh 4517	64	12,5	-10,8
Hoh 4517 × Hoh 3018	129	9,3	-14
Haroma × Hoh 4517	15	6,7	-16,6
Bellamira × Hoh 4517	52	0	-23,3
Gesamt 261			
		\bar{X}	23,3

Die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz ist bei der Sorte 'Jojo' mit durchschnittlich 44,1 % hypersensibler Nachkommen am höchsten und beim Zuchtklon 'Hoh 4517' mit 23,3 % hypersensibler Nachkommen am niedrigsten. Da nicht ausreichend viele Nachkommen vergleichbarer Kreuzungskombinationen vorlagen kann auf einen direkten Vergleich dieser drei hypersensiblen Zuchtklone mittels der allgemeinen Kombinationsfähigkeit nicht zurückgegriffen werden.

5.2.2.6 Berechnung von möglichen Allelkombinationen bei einer monogen bedingten Resistenz

Nimmt man eine monogene Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz auf Grund der bei den interspezifischen Hybriden erzielten Ergebnisse an, lässt sich in der Bildung der Gameten auf Grund des hexaploiden Genoms eine hohe Variabilität in der Kombination der Allele feststellen. Eine Aufspaltung in den Nachkommenschaften bezüglich dominanter und rezessiver Allele in der Parentalgeneration findet sich in Tab. 5.2-9 Seite 59 wieder. Postuliert man eine monogen bedingte Hyper-

sensibilitätsresistenz, dann muss eine Auslösung der Hypersensibilitätsresistenz an die Anzahl dominanter Allele gekoppelt sein. Die Anzahl dominanter Allele ist hierbei an die Abstufungen der Sensibilität und Hypersensibilität gekoppelt. Eine zu geringe Anzahl an dominanten Allelen kann eine fehlende Dominanz des Merkmals Hypersensibilitätsresistenz voraussetzen, aber im Gegenzug eine starke Sensitivität gegenüber PPV bewirken.

Für eine Berechnung mit einer unterschiedlichen Anzahl an dominanten Allelen wurden die verwendeten Zuchtklone der Kreuzungskombinationen bezüglich ihrer Sensitivität gegenüber PPV eingeordnet. Diese Einteilung erfolgte in die drei Gruppen sehr stark sensibel (z.B. 'Ortenauer' oder 'Fellenberg'), in sensibel (z.B. 'Katinka', 'Hauszwetsche' oder 'Jubileum') und in schwach sensibel, beziehungsweise quantitativ resistent (z.B. 'Cacaks Beste', 'Bellamira' oder 'Opal'). Die Zuordnung erfolgte anhand der von Neumüller (2005) durchgeführten Zusammenfassung von Sorten bezüglich ihrer Frucht- und Blatttoleranz.

Eine Festlegung auf die Anzahl dominanter Allele, welche für eine dominante Ausprägung des für die Hypersensibilitätsresistenz verantwortlichen Gens determiniert sind, erfolgte mittels Ausschlussprinzip beginnend bei einer 'Jojo-Selbstung', welche in 62,5 % hypersensible und 37,5 % sensible Nachkommen aufspaltete. Durch den gleichen Anteil dominanter Allele mütterlicherseits und väterlicherseits können vier Chi-Quadrat Werte ermittelt werden. Die Kombination von rein homozygoten Allelen in der Parentalgenerati-

on kann auf Grund der hochgradig heterozygoten *Prunus domestica* ausgeschlossen werden. Des Weiteren wird die Beteiligung von mehr als nur einem dominanten Allel bei einer monogen bedingten Resistenz postuliert, da sonst die starken Unterschiede in der Sensibilität gegenüber PPV zwischen Zuchtklonen nicht erklärbar wären. Kombiniert man bei einer 'Jojo-Selbstung' zwischen zwei und fünf dominanten Allelen, so schwankt der errechnete Wert für den prozentualen Anteil

Tab. 5.2-9: Verschiedene Möglichkeiten in der Anzahl der dominanten und rezessiven Allele von Kreuzungskombinationen mit der errechneten prozentualen Verteilung der Nachkommen auf die verschiedenen Allelkombinationen

		Prozentualer Anteil der Nachkommen der jeweiligen Allelkombination						
		aaaaaa	Aaaaaa	AAaaaa	AAAaaa	AAAAaa	AAAAAa	AAAAAA
Möglichkeiten der Kreuzungskombination mit verschiedener Anzahl dominanter und rezessiver Allele der Elternteile	aaaaaa × aaaaaa	100	0	0	0	0	0	0
	Aaaaaa × aaaaaa	50	50	0	0	0	0	0
	Aaaaaa × Aaaaaa	25	50	25	0	0	0	0
	Aaaaaa × AAaaaa	10	40	40	10	0	0	0
	Aaaaaa × AAAaaa	2,5	25	45	25	2,5	0	0
	Aaaaaa × AAAAaa	0	10	40	40	10	0	0
	Aaaaaa × AAAAAa	0	0	25	50	25	0	0
	Aaaaaa × AAAAAA	0	0	0	50	50	0	0
	AAaaaa × aaaaaa	20	60	20	0	0	0	0
	AAaaaa × AAaaaa	4	24	44	24	4	0	0
	AAaaaa × AAAaaa	1	12	37	37	12	1	0
	AAaaaa × AAAAaa	0	4	24	44	24	4	0
	AAaaaa × AAAAAa	0	0	10	40	40	10	0
	AAaaaa × AAAAAA	0	0	0	20	60	20	0
	AAAaaa × aaaaaa	5	45	45	5	0	0	0
	AAAaaa × AAaaaa	0	5	25	41	25	5	0
	AAAaaa × AAAAaa	0	1	12	37	37	12	1
	AAAaaa × AAAAAa	0	0	2,5	25	45	25	2,5
	AAAaaa × AAAAAA	0	0	0	5	45	45	5
	AAAAaa × aaaaaa	0	20	60	20	0	0	0
	AAAAaa × AAaaaa	0	0	4	24	44	24	4
	AAAAaa × AAAaaa	0	0	0	10	40	40	10
	AAAAaa × AAAAaa	0	0	0	0	20	60	20
	AAAAaa × AAAAAa	0	0	50	50	0	0	0
	AAAAaa × AAAAAA	0	0	0	0	25	50	25
	AAAAAa × aaaaaa	0	0	50	50	0	0	0
	AAAAAa × AAaaaa	0	0	0	0	0	50	50
	AAAAAa × AAAaaa	0	0	50	50	0	0	0
AAAAAa × AAAAaa	0	0	0	0	0	0	100	

an hypersensiblen Nachkommen zwischen 70,5 % und 75 %. Der tatsächliche Wert liegt bei 62,5 % hypersensibler Nachkommen. Zu

berücksichtigen ist die Anzahl der getesteten Nachkommen mit insgesamt 8 Zuchtklonen, so dass hier starke Schwankungen im tatsächli-

chen Wert möglich sind. Des Weiteren wurden die Nachkommenschaften der Kreuzungskombinationen von 'Jojo' mit der stark sensiblen Sorte 'Fellenberg' und mit der sensiblen 'Hauszwetsche, Typ Wolff' untersucht. Auf Grund der starken Sensitivität von 'Fellenberg' gegenüber PPV (Neumüller, 2005) wurde bei dieser Sorte ein dominantes Allel weniger, als bei hypersensiblen Klonen vorhanden sind, postuliert. Für hypersensible Zuchtklone und Sorten wurde auf Grund der Ergebnisse der interspezifischen Kreuzungen postuliert, dass die Mehrzahl der Allele dominant sein muss. Bei der Sorte 'Hauszwetsche, Typ Wolff' wurden zwei dominante Allele weniger, als bei hypersensiblen Zuchtklonen vorhanden sind, angenommen.

In der Kreuzungskombination von 'Jojo' mit 'Fellenberg' konnte viermal die Nullhypothese nicht verworfen werden und zweimal in der Kreuzungskombination von 'Jojo' mit 'Hauszwetsche, Typ Wolff'. Übereinstimmungen zwischen den drei Kreuzungskombinationen gibt es wenn 'Jojo' entweder drei oder vier dominante Allele im hexaploiden Genom besitzt, die dann für die monogen bedingte Hypersensibilitätsresistenz verantwortlich sind.

Überprüft man die Nachkommenschaft der beiden stark hypersensiblen Zuchtklone 'Jojo' mit 'Hoh 4517' und postuliert man eine gleiche Anzahl dominanter Allele auf Grund der starken Hypersensibilität der beiden Kreuzungspartner muss in jedem errechneten Fall die Nullhypothese angenommen werden. Vergleicht man das daraus resultierende χ^2 der errechneten und bonitierten Anteile hypersensibler Nachkommen aus den einzelnen Allelkombinationen mit dem χ^2 -Werten der Allelkombinationen der 'Jojo-Selbstungen', so stimmen hier errechnete und bonitierte Werte überein. 'President', eine gegenüber PPV sensible Sorte, wird wie die Sorte 'Hauszwetsche,

Typ Wolff' mit zwei dominanten Allelen weniger als bei hypersensiblen Sorten vorhanden sind angenommen. Die Nullhypothese kann in zwei von vier verschiedenen Allelkombinationen nicht verworfen werden, so dass es bei diesen beiden keinen statistischen Unterschied zwischen rechnerischen und bonitierten Anteilen an hypersensiblen Nachkommen gibt. Hierbei sind es wiederum drei und vier dominante Allele im hypersensiblen Zuchtklon, die mit allen vorhergegangenen Kreuzungskombinationen übereinstimmen. In der Kombination der quantitativ resistenten Sorte 'Bellamira' mit 'Hoh 4517', wurden für den quantitativ resistenten Zuchtklon auf Grund der geringen Empfindlichkeit gegenüber PPV drei beziehungsweise vier dominante Allele weniger angenommen. Resultierend aus den verschiedenen Allelkombinationen kann in drei von fünf Fällen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Zu einer Übereinstimmung zwischen den einzelnen Allel- und Kreuzungskombinationen kommt es, wenn beim hypersensiblen Zuchtklon vier dominante und zwei rezessive Allele vorhanden sind.

Überträgt man die Allelkombination von 4 dominanten Allelen, die für eine Auslösung der Hypersensibilitätsresistenz verantwortlich sind, auf andere Kreuzungskombinationen, so kommt es in 78 % der Fälle zu einem fehlenden signifikanten Unterschied zwischen errechneten und bonitierten Gruppenanteilen (Tab. 5.2-10). Höhere Abweichungen liegen vor allem in den Kreuzungskombinationen vor, in denen 'Harbella' und der hypersensible Zuchtklon 'Hoh 4571' als Kreuzungspartner verwendet werden.

Fehlende signifikante Unterschiede bedeuten für die einzelnen Kreuzungskombinationen, dass die Nullhypothese nicht abgelehnt werden kann und die tatsächlichen und errechneten Gruppenteile der sensiblen und hypersensiblen Nachkommen mit einer Irr-

tumswahrscheinlichkeit von $< 0,1\%$ beieinander liegen. In den einzelnen Kreuzungskombinationen wurde der hypersensible Elter jeweils mit einer maximalen Anzahl von 4 dominanten Allelen gerechnet, und der am stärksten sensible Zuchtklon mit drei dominanten Allelen. Hier kommt es aus rechnerischen

Gründen zu keiner Abstufung der Hypersensibilitätsresistenz bezüglich der Anzahl dominanter Allele. Tab. 5.2-10 Seite 62 zeigt Kreuzungskombinationen mit mehr als 50 Nachkommen auf, die sowohl mittels Hypersensibilitätstest als auch mittels Chi-Quadrat Test in hypersensibel und sensibel gruppiert wurden.

Tab. 5.2-10: Im Hypersensibilitätstest bonitierte und errechnete Anteile an Nachkommenschaften in Prozent von Kreuzungskombination mit deren jeweilig postulierten Anzahl an dominanten und rezessiven Allelen. **Rot** geschriebene Kreuzungspartner sind hypersensibel und **grün** geschriebene Kreuzungspartner sind stark sensibel. **n.s.** \triangleq kein signifikanter Unterschied zwischen bonitierten und errechneten Wert; ******/******* \triangleq signifikanter Unterschied zwischen bonitierten und errechneten Wert mit 1 % / 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit.

Muttersorte	Vatersorte	HK 2 + HK 3		HK 0 + HK 1		p < 0,001			
		tatsächlich	berechnet	tatsächlich	berechnet	χ^2	Signifikanz		
Jojo	AAAAaa	Hoh 4465	AAAAaa	80,7	72	19,3	28	3,96	**
Hoh 4465	AAAAaa	Jojo	AAAAaa	79,4	72	20,6	28	2,89	**
Hoh 4517	AAAAaa	Jojo	AAAAaa	71,2	72	28,8	28	0,03	**
Hoh 512	AAAAaa	Jojo	AAAAaa	62,8	72	37,2	28	4,01	**
Hanita	AAAAaa	Jojo	AAAAaa	48,1	50	51,9	50	0,15	**
Jojo	AAAAaa	Fellenberg	AAAAaa	47,4	50	52,6	50	0,28	**
Hoh 2053	AAAAaa	Hoh 4465	AAAAaa	36,4	28	63,6	72	3,33	**
Hoh 4517	AAAAaa	Hoh 2053	AAAAaa	23,3	28	76,7	72	1,21	**
Ortenauer	AAAAaa	Stanley	AAAAaa	18,9	13	81,1	87	2,71	**
Cacaks Beste	Aaaaaa	Hoh 512	AAAAaa	14,2	10	85,8	90	1,61	**
Bellamira	aaaaaa	Hoh 4517	AAAAaa	0	0	100	100	0	**
Elena	AAAAaa	Hoh 512	AAAAaa	34,7	28	65,3	72	2,09	**
Hoh 4517	AAAAaa	President	AAAAaa	30,8	28	69,2	72	0,34	**
Jojo	AAAAaa	Zwintschers Frühe	AAAAaa	30,1	28	69,9	72	0,19	**
Jojo	AAAAaa	Hoh 1468	AAAAaa	29,8	28	70,2	72	0,13	**
Hauszwetsche	AAAAaa	Jojo	AAAAaa	26,4	28	73,6	72	0,17	**
Jojo	AAAAaa	Cacaks Fruchtbare	AAAAaa	25	28	75	72	0,52	**
Hoh 4517	AAAAaa	Jubileum	AAAAaa	23,1	28	76,9	72	1,31	**
Harbella	AAAAaa	Hoh 7172	AAAAaa	22,3	28	77,7	72	1,75	**
Hoh 4517	AAAAaa	Presenta	AAAAaa	22,3	28	77,7	72	1,75	**
Opal	Aaaaaa	Hoh 4922	AAAAaa	0,8	2,5	99,2	97,5	1,95	**
Hoh 4517	AAAAaa	Hoh 3018	Aaaaaa	9,3	10	90,7	90	0,14	**
Jojo	AAAAaa	Felsina	AAAAaa	54,6	50	45,4	50	0,86	**
Jojo	AAAAaa	Presenta	AAAAaa	22,6	28	77,4	72	1,58	**
Jojo	AAAAaa	Haganta	AAAAaa	39,2	28	60,8	72	5,99	**
Hoh 1284	Aaaaaa	Hoh 4517	AAAAaa	12,5	10	87,5	90	0,5	**
Hoh 4517	AAAAaa	Hoh 5099	AAAAaa	25,8	28	74,2	72	0,3	**
Chrudimer	AAAAaa	Dabrowicke	Aaaaaa	1,8	2,5	98,2	97,5	0,58	**
Jojo	AAAAaa	Katinka	AAAAaa	24,1	28	75,9	72	0,85	**

5.3 Diskussion

5.3.1 Interspezifische Hybriden

Bisherige Untersuchungen zur Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz beruhen auf Versuchsergebnissen intraspezifischer Hybriden von *P. domestica*. Durch das hexaploide Genom von *P. domestica* und der geringen Anzahl an Nachkommen sind Berechnungen zur Anzahl an beteiligten Genen nicht möglich. Mittels der Reduktion des Chromosomensatzes von *P. domestica* durch interspezifische Kreuzungen wird eine Vereinfachung zur Aussage der Anzahl an beteiligten Genen ermöglicht. Die Einteilung der Genotypen bezüglich Resistenz beschränkt sich bisher auf die phänotypische Erfassung der hypersensiblen Reaktion, bei der die Genotypen in Klassen mittels Hypersensibilitätsindices eingeteilt werden (Neumüller & Hartmann, 2008). Durch die Testung der Hypersensibilitätsresistenz anhand der Doppelveredlung ist ein Screening von Zuchtklonen in größeren Stückzahlen möglich. Problematisch hierbei ist aber oftmals die Schwierigkeit der objektiven Bonitur mit den von Neumüller und Hartmann (2008) beschriebenen Boniturstufen. Stark hypersensible Reaktionen von Zuchtklonen, die Rindennekrosen oder Triebspitzendürre zeigen, sind weniger fehleranfällig in der Bewertung als Blattspreitennekrosen. 2009 und 2010 wurden in den Reisern der Zwischenveredlung Infektionen mit Ringfleckenvirus (PNRSV) mittels Multiplex-PCR detektiert. PNRSV kann ähnliche Nekrosen an der Blattspreite hervorrufen wie sie bei schwach hypersensiblen Zuchtklonen, die mit PPV infiziert sind, entstehen. Auf Grund der ähnlichen Symptome kann es zu Verwechslungen kommen. Um diese Verwechslungen auszuschließen, muss vor allem in den drei Wiederholungen Kontinuität

bezüglich eines bonitierten Merkmals vorliegen.

Die Interspezifischen Hybriden zeigen in den Vererbungsanalysen eine Aufspaltung der Nachkommen in sowohl sensible als auch stark hypersensible Zuchtklone im Verhältnis 1:1. Diese Aufspaltung wurde bereits von Kessler et al. (1998) bei intraspezifischen Hybridisierungen postuliert. Bisher lassen sich jedoch keine definitiven Aussagen zu einer monogen bedingten Resistenz machen. Hierzu müssen vor allem Kreuzungen zur Reduktion des Chromosomensatzes durchgeführt werden, um eine Berechnung der möglichen Allelkombinationen zu erleichtern oder eine Aussage über die Beteiligung weiterer Gene zu ermöglichen. Bei interspezifischen Kreuzungen von *P. domestica* mit *P. spinosa* wurde die Sorte 'Jojo' als hypersensibler Kreuzungspartner in 87 % der Fälle verwendet. Als Arbeitshypothese zur Ermittlung der möglichen Anzahl an dominanten und rezessiven Allelen wurde postuliert, dass kein Unterschied zwischen den bonitierten und den errechneten Werten bezüglich der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz in den jeweiligen Allelkombinationen besteht. Falls die Hypersensibilitätsresistenz monogen bedingt ist, müssten wie in Kapitel 5.2.2.6 auf Seite 58 bewiesen, vier dominante Allele im Genom von 'Jojo' vorliegen, die für eine Auslösung der Hypersensibilitätsresistenz verantwortlich wären. Daher ist in der interspezifischen Hybridisierung von Europäischer Pflaume mit Schlehe nur eine Allelkombination möglich (AAAAaa × Aaaa), in der auch die Nullhypothese nicht abgelehnt werden konnte.

Auf Grund der geringen Nachkommenzahlen und des jungen Alters bei den interspezifi-

schen Hybriden ist die Zahl der Rückkreuzungen noch nicht groß genug. Für eine Absicherung der berechneten Allelkombination und für eine definitive Bestimmung des Ploidigrades müssen des Weiteren die Chromosomenzahlen in Zellen von Wurzelspitzen gezählt werden (Hartmann & Neumüller, 2009). Die Problematik in der Abweichung der errechneten Chromosomensätze in Hybriden aus Kreuzungen zwischen *P. cerasifera* und *P. domestica* zeigte bereits Oldén (1965). Resultierend aus dieser Kreuzungskombination wiesen die Hybriden nicht nur den errechneten tetraploiden Chromosomensatz auf, sondern es traten auch Hybriden mit einem pentaploiden, hexaploiden und octoploiden Chromosomensatz auf. In Weihenstephan bereits durchgeführte Testzählungen von Chromosomensätzen zeigten zum Teil auch eine Abweichung von der eigentlichen Anzahl an Chromosomen. So sind aus Kreuzungen von hypersensiblen Hybriden aus *P. domestica* × *P. cerasifera* mit *P. armeniaca* diploide hypersensible Hybriden hervorgegangen (Daten nicht veröffentlicht). Diese Reduktion im Chromosomensatz ist durchaus vorteilhaft, da eine Hybridisierung zwischen Arten mit gleich großen Chromosomensätzen normalerweise erfolgsversprechend ist (Okie & Weinberger, 1996). Eine Übertragung der Hypersensibilitätsresistenz der diploiden Hybriden mittels Rückkreuzung in die Aprikose, aber auch mittels Kreuzung in Pfirsich sollte dann möglich sein, vorausgesetzt, dass die hypersensiblen Hybriden fertil sind. Die Rückkreuzungen von Japanischer Pflaume mit den hypersensiblen *P. domestica* × *P. salicina*-Hybriden sollte funktionieren, da die Nachkommen rein rechnerisch einen tetraploiden Chromosomensatz aufweisen sollten. Für weitere Kreuzungen mit den Nachkommen setzt dies auch wieder voraus, dass die hypersensiblen Hybriden fertil sind.

Die interspezifischen Hybridisierungen erlauben neben der Übertragung der Hypersensibilitätsresistenz von *P. domestica* in die verwandten Arten und durch die Ermittlung der beteiligten Gene durch Kreuzungszüchtung auch die Übertragung von erwünschten Eigenschaften dieser Arten in *P. domestica*. So ist zum Beispiel die sehr gute Transportfähigkeit, die Fruchtgröße und der Ertrag oder auch die Fruchtfarbe bestimmter *P. salicina*-Sorten in der Europäischen Pflaume durchaus erwünscht (Ramming & Cociu, 1990).

5.3.2 Intraspezifische Hybriden

Zuchtklone aus intraspezifischen Kreuzungen wurden untersucht, ob sie gegenüber dem Scharkavirus hypersensibel reagieren, um sie entsprechenden Hypersensibilitätsklassen zuzuordnen und ihre Eignung als Kreuzungspartner ermitteln zu können. Hierbei wurden nicht nur F1-, sondern auch F2-Nachkommen geprüft. Neben der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz sollte auch der Einfluss quantitativ resistenter Klone untersucht werden. Anhand der Aufspaltung der Nachkommen bezüglich des Merkmals Hypersensibilitätsresistenz sollten dann entsprechende Allelkombinationen, die sich an den Ergebnissen der interspezifischen Hybriden orientierten und für eine Auslösung der HR verantwortlich sind, berechnet werden.

5.3.2.1 Allgemeine Kombinationseignung

Die allgemeine Kombinationseignung ermöglicht einen schnellen Überblick über die Eignung verschiedener Kreuzungskombinationen, wie stark das Merkmal Hypersensibilitätsresistenz an die Nachkommen vererbt wird. Eine positive GCA beschreibt eine positive und eine negative GCA eine negative Eignung von Kreuzungspartnern. Betrachtet man den Zuchtklon 'Hoh 4517' kann als Ursache für

eine niedrigere Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz und somit weniger hypersensibler Nachkommen mit anderen Kreuzungspartnern eventuell das Verwandtschaftsverhältnis verantwortlich gemacht werden. Bei 'Hoh 4517' handelt es sich um einen F2-Nachkommen von 'Ortenauer', im Gegensatz zu 'Jojo' und 'Hoh 512', die beide F1-Nachkommen von 'Ortenauer' sind, was sich auch in der allgemeinen Kombinationseignung widerspiegelt, in der 'Hoh 4517' eine niedrigere GCA besitzt als die beiden hypersensiblen Zuchtklone 'Jojo' und 'Hoh 512'. Ebenso lässt sich ein Einfluss der Resistenzform in der allgemeinen Kombinationsfähigkeit feststellen. Die Kombination zweier hypersensibler Zuchtklone führt zur höchsten GCA im Gegensatz zur Kombination eines hypersensiblen Zuchtklons mit einem Zuchtklon, der quantitativ resistent ist oder quantitativ resistenten Ursprung besitzt.

In der Kombination von hypersensiblen Klonen mit sensiblen Klonen findet sich ein hoher Anteil an hypersensiblen Nachkommen vor allem in Kreuzungskombinationen wieder, in denen hypersensible Zuchtklone mit stark sensiblen Zuchtklonen kombiniert wurden. So ist in der Kreuzungskombination von 'Jojo' mit 'Felsina' oder 'Fellenberg' der Anteil mit insgesamt 57 % beziehungsweise 48 % hypersensibler Nachkommen höher als in Kombinationen bei denen ein PPV toleranter Kreuzungspartner verwendet wird, wie beispielsweise in der Kombination mit der Sorte 'Cacaks Schöne'. Verwendet man in Kreuzungen die Sorte 'Hanita', welche als fruchttolerant und blattsensitiv eingestuft wird (Hartmann, 1999), so liegt der Anteil an hypersensiblen Nachkommen zwischen 55 und 65 %.

5.3.2.2 Vererbung der Hypersensibilität

Aufgrund der langen Juvenilität von Sämlingen und der geringen Anzahl an Nachkom-

men einer Kreuzungskombination ist bei *Prunus domestica* L. die Züchtung besonders langwierig und eine damit verbundene Aussage zur genetischen Determinierung der Hypersensibilitätsresistenz besonders schwierig. Dies liegt insbesondere am hexaploiden Genom der Europäischen Pflaume, das eine hohe Zahl an Nachkommenschaften bedingt, um konkrete Aussagen bezüglich der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz und der Anzahl an beteiligten Genen treffen zu können.

Bei der Sorte 'Ortenauer' lässt sich eine sensible Reaktion dieses Zuchtklons bei einer Infektion mit PPV feststellen (HK 0). Sämlinge, welche aus Selbstungen dieser Sorte entstehen, sind zum Teil hypersensibel und der Ursprung der Hypersensibilität liegt somit bei 'Ortenauer', was von Hartmann (1998 a) durch eine Akkumulation von Genen erklärt wird. Die genetische Information bezüglich der hypersensiblen Reaktion muss somit in 'Ortenauer' bereits vorhanden sein. Die erzielten Ergebnisse bestätigen die Aussagen von Neumüller et al. (2007), dass der Ursprung der Hypersensibilität bei der Sorte 'Ortenauer' liegt, die mittels reziproker Kreuzungen eine fast gleiche Verteilung der Nachkommen über die einzelnen Hypersensibilitätsklassen erreichte.

Kombiniert man hypersensible Nachkommen des hypersensiblen Zuchtklons 'K4-Hybride' aus Aschersleben mit wiederum stark hypersensiblen Zuchtklonen, so ist der Anteil an hypersensiblen Nachkommen signifikant niedriger ($P < 0,001$), im Gegensatz zu Kreuzungskombinationen, bei denen die beiden stark hypersensiblen Elter von der Sorte 'Ortenauer' abstammen. Hartmann (1998 a) beschreibt die hypersensible Reaktion, welche von der 'K4-Hybride' stammt als eine qualitative Resistenz und die Resistenz, die von 'Ortenauer' stammt wird von Neumüller und Hartmann (2008) als eine quantitative Resis-

tenz bezeichnet. Dies wird auch durch die Tatsache bestätigt, dass die Nachkommen der 'K4-Hybride' im Vergleich mit Nachkommen, welche von 'Ortenauer' stammen, nicht gegen alle Isolate des Scharkavirus resistent sind (Kegler et al., 1991). Verschiedene Mechanismen, welche durch unterschiedliche Elicitoren ausgelöst werden können hier eine Rolle spielen. Diese können zum einem spezifisch wirken ('K4-Hybride') und zum anderen unspezifisch gegenüber PPV Isolaten ('Ortenauer'). Später wurde die Aussage bezüglich der monogenen Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz von Hartmann (2001) widerrufen und eine Beteiligung mehrere Gene angenommen. Die Revidierung seiner Aussage bezieht sich auf Versuchsergebnisse, in denen abhängig von der Infektionsart und der -dosis differenzierte und stufenweise Abwehrreaktionen erfolgten. So zeigten beispielsweise Pflanzen mit einem schwachen Abwehrsystem bei einer hohen Infektionsdosis ein niedrigeres Resistenzniveau. Nichts desto trotz ist die hypersensible Resistenz, welche von der 'Ortenauer' stammt im Gegensatz zur Hypersensibilitätsresistenz, die von der 'K4-Hybride' stammt, eine Resistenz, die gegen alle PPV Isolate wirksam ist (Neumüller, 2005).

Betrachtet man die Verteilung der hypersensiblen Nachkommen einer Kreuzungskombination, so gibt es eine Abstufung in der phänotypischen Ausprägungsform der Hypersensibilitätsresistenz. Der höchste Anteil der Nachkommen verteilt sich auf die Hypersensibilitätsklassen 0 und 3 und der kleinere Anteil auf die Klassen 1 und 2. Auf Grund dieser ungleichen Verteilung könnte eine Beteiligung weniger Gene die Ursache sein. Vanderplank (1984) zeigte, dass das Vorkommen polygener Resistenzen in Kulturpflanzen selten ist. Krankheitsresistenzen, die sich speziell an der „gene-for-gene-theory“ (Flor, 1956) orientieren sind meistens mono- oder oligogen codiert. Liegt bei der Hypersensibilitätsresistenz

der Europäischen Pflaume eine monogene Determinierung vor, dann handelt es sich um eine „Ja-Nein-Reaktion“, die sich darin äußert, dass Zuchtklone entweder sensibel oder hypersensibel ohne jegliche Abstufungen reagieren. Diese Ausprägungsform und genetische Determinierung wurde von Kegler und Grüntzig (1992) für die 'K4-Hybride' und einige ihrer Nachkommen vermutet. Spaltet man aber *P. domestica* auf Grund der Ergebnisse der interspezifischen Hybriden in eine sensible und eine hypersensible Gruppe ohne jegliche Abstufungen bei der phänotypischen Ausprägung der Hypersensibilität auf, so lässt sich eine monogene Determinierung der Hypersensibilitätsresistenz nur zum Teil erkennen. Rechnerische Ansätze zeigen, dass eine monogene Determinierung möglich ist, diese aber abhängig von der Einordnung des Kreuzungspartners bezüglich der Sensibilität gegenüber PPV ist. Die für die Berechnung zu Grunde liegende Einordnung der verwendeten Sorten bezüglich ihrer Sensibilität gegenüber PPV ist aber schwierig, da sie von verschiedenen Autoren oft sehr unterschiedlich bewertet werden (Neumüller, 2005). Untersuchungen zum Virustiter um diese Sorten und Klone bezüglich ihrer Sensibilität gegenüber PPV einzuordnen wurden im Zuge dieser Arbeit nicht durchgeführt. Nicht geklärt sind die Abstufungen in der hypersensiblen Reaktion, die sich nach der Berechnung des HK in den mittelstark hypersensiblen Zuchtklonen äußert. Auf Grund des Auftretens der schwach hypersensiblen Zuchtklone in den Nachkommenschaften lässt sich eine Beteiligung mehrerer Gene annehmen, die für die phänotypische quantitative Ausprägungsform der Hypersensibilitätsresistenz verantwortlich sind (Hartmann, 2001; Neumüller & Hartmann, 2008; Neumüller, 2005). Betrachtet man beispielsweise die Stämme von *Vigna sinensis*, bei der man eine hypersensible Resistenz beobachten kann, kommt es hier zu einen flie-

ßenden Übergang zwischen nekrotischer Reaktion und systemischer Infektion (Elstner et al., 1996) und somit zu keiner klaren „Ja-Nein-Reaktion“. Bei der Hypersensibilitätsresistenz der Europäischen Pflaume könnte auch eine oligogene Determinierung sehr wahrscheinlich sein, da sonst die großen Unterschiede in der Kombinationsmöglichkeit der verschiedenen Zuchtklone nicht erklärbar wären. Ebenso denkbar ist eine additive Resistenz. Da *Prunus domestica* ein hexaploides Genom besitzt ist eine Akkumulation von Genen mit einer gleichzeitigen Zunahme des Resistenzniveaus möglich (Hartmann, 1998 a).

Kombinationseignung von Eltern

Eine Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz ist bedingt durch den Resistenzgrad der Eltern. Je höher der Grad der Hypersensibilitätsindices der beiden Elternsorten ist, desto mehr Nachkommen aus Kreuzungskombinationen sind hypersensibel. Bivol et al. (1988) beschreibt dagegen eine Abnahme im Resistenzniveau der Nachkommen, wenn man zwei resistente Elter miteinander kreuzt.

Zum Erhalt einer hohen Anzahl an hypersensiblen F1-Nachkommen aus Kreuzungen ist zum einem die Resistenzform und damit verbunden eine positive Kombinationseignung wichtig, sowie das Verwandtschaftsverhältnis zur Sorte 'Ortenauer' der verwendeten Zuchtklone. Die Sämlinge der Kreuzungskombination 'Hoh 4517' (stark hypersensibel) mit 'Bellamira' (quantitativ resistent) sind alle sensibel, wohingegen 36 % der Sämlinge der Kreuzungskombination 'Hoh 4517' mit 'Hoh 5099' (sensibel) hypersensibel sind. Der Anteil hypersensibler Nachkommen ist signifikant niedriger, wenn man anstelle eines hypersensiblen oder stark sensiblen Kreuzungspartners einen quantitativ resistenten Kreuzungspartner verwendet. Vor allem die Sorte 'Cacaks Beste' zeigt eine schlechtere GCA in Kombination mit

hypersensiblen Sorten. Dieser Einfluss auf die schlechtere Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz lässt sich auch noch in den F3-Nachkommen feststellen. Einen besonders negativen Einfluss auf die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz zeigt auch die quantitativ resistente Sorte 'Bellamira' in Kombination mit dem stark hypersensiblen Zuchtklon 'Hoh 4517'. 'Bellamira' ist ein Sämling der zwei quantitativ resistenten Eltern 'Cacaks Beste' und 'Mirabelle aus Nancy'. Keiner der getesteten Nachkommen von 'Bellamira' × 'Hoh 4517' ist hypersensibel und die Kombinationseignung mit dem hypersensiblen Zuchtklon 'Hoh 4517' liegt bei -23,3.

Bei einer Inokulation mit Virus weisen quantitativ resistente Zuchtklone einen niedrigen Titer und eine ungleiche Verteilung der Virose auf (Neumüller et al., 2010). Zur Sicherung der Stabilität der Hypersensibilitätsresistenz kann mittels einer Kombination von quantitativ resistenten Zuchtklonen mit hypersensiblen Zuchtklonen eine Pyramidisierung von Resistenzquellen gegenüber dem Scharkavirus erlangt werden (Hartmann & Neumüller, 2010; Hartmann, 1998 a). Kombiniert man quantitativ resistente Zuchtklone mit hypersensiblen Zuchtklonen, so liegt der Anteil an hypersensiblen Nachkommen zwischen 38 und 0 %.

Die Selbstung des sensiblen Zuchtklons 'Hoh 5960' ('Hanita' × 'Jojo') resultiert in 30 % schwach hypersensibel und in 70 % sensible Nachkommen. Aus der Kreuzungskombination von 'Opal' (quantitativ resistent) mit 'Hoh 4922' (sensibel) gehen ein stark hypersensibler Zuchtklon 'Wei 4544', 2 schwach hypersensibel und 114 sensible Zuchtklone hervor. Auf Grund der geringen Anzahl an getesteten Nachkommen der Selbstung von 'Hoh 5960' lassen sich nur Tendenzen erkennen. Die Merkmalsausprägung Hypersensibilitätsresistenz liegt bei 'Hoh 5960' rezessiv vor

und wird bei 30 % der Nachkommen nur wieder schwach ausgeprägt. Bei der Kreuzung von 'Hoh 4922' mit einem quantitativ resistenten Zuchtklon ist die Merkmalsausprägung Hypersensibilitätsresistenz bei den F1-Nachkommen noch weniger ausgeprägt und liegt bei 2,6 % hypersensibler Nachkommen, was daraus schließen lässt, dass nicht nur die Rezessivität, sondern auch die Resistenzform des Kreuzungspartners eine Rolle zu spielen scheint.

Genetische Determinierung der Hypersensibilitätsresistenz

Das Wissen inwieweit Zuchtklone als Mutter oder als Vater in Frage kommen ist von besonderer Bedeutung. So kann die Hypersensibilitätsresistenz im Plasmon oder im Kerngenom kodiert sein. Falls eine Kodierung im Plasmon vorliegt kann die Hypersensibilitätsresistenz nur von der Mutter vererbt werden im Gegensatz zur Kodierung im Kerngenom, bei der die Resistenz von beiden Partnern vererbt werden kann. Zu diesem Zweck werden reziproke Kreuzungen durchgeführt, so dass man am Anteil hypersensibler Nachkommen die genetische Fixierung der Resistenz lokalisieren kann.

Untersuchungen zur Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz zeigten, dass die Kreuzungskombinationen 'Jojo' × 'Fellenberg' und 'Jojo' × 'Hanita' mit deren reziproken Kreuzungen in gleich hohe Anteile an hypersensiblen Nachkommen resultieren, die sich statistisch nicht voneinander unterscheiden lassen. Auf Grund der fehlenden Unterschiede zwischen den reziproken Kreuzungen liegt eine Kodierung der Hypersensibilitätsresistenz im Kerngenom vor. Im Gegensatz hierzu fanden Lahmatova et al. (1998) einen positiven

Effekt mütterlicherseits in der Vererbung von quantitativer Resistenz in der Europäischen Pflaume. Die Ergebnisse von Lahmatova et al. (1998) beziehen sich hierbei aber auf Testergebnisse aus Feldversuchen mittels natürlicher PPV-Infektion und hinsichtlich der Vererbung der quantitativen Resistenz. Neumüller et al. (2007) hingegen bestätigen eine genetische Determinierung der Hypersensibilitätsresistenz im Kerngenom.

5.3.2.3 Ausblick auf weiterführende Experimente

Für genauere rechnerische Ermittlungen der Anzahl an beteiligten Genen und damit verbunden der Anzahl an dominanten und rezessiven Allelen ist eine Einordnung der verwendeten Zuchtklone bezüglich Sensibilität mittels quantitativen ELISA wichtig, da von verschiedenen Autoren Sorten sehr unterschiedlich bewertet werden (Neumüller, 2005). Des Weiteren sollten Selbstungen von stark sensiblen Zuchtklonen wie 'Fellenberg' oder 'Felsina' oder auch Kreuzungen zwischen stark sensiblen Zuchtklonen durchgeführt werden, um die Nachkommenschaften auf Hypersensibilitätsresistenz zu überprüfen und damit die in dieser Arbeit postulierten Anzahl dominanter Allele überprüfen zu können. Denkbar zur Überprüfung der Theorie zur monogenen Vererbung ist auch eine Rückkreuzung eines hypersensiblen Nachkommens von 'Ortenauer-Selbstungen' mit der Sorte 'Ortenauer', weil dann eine Aufspaltung von 1:1 stattfinden muss.

6 Stabilität der Hypersensibilitätsresistenz

Die Dauer der Resistenz von Pflanzen gegenüber Schadorganismen ist abhängig vom Mechanismus der Resistenz und der Fähigkeit des Schadorganismus, diesen zu überwinden. Die Wirksamkeit der Resistenz kann von Umweltfaktoren beeinflusst sein, die auf die Pflanzen einwirken. Mit folgender Forschungsfrage soll in Versuchen die Stabilität der Hypersensibilitätsresistenz geprüft werden. Hat

das Einwirken von abiotischen (Trocken-, Hitze- und Lichtstress) und biotischen Umweltbedingungen (Stress durch Mischinfektionen) einen Einfluss in der Geschwindigkeit des Ablaufs der hypersensiblen Reaktion und in der Ausprägungsform des Merkmals Hypersensibilitätsresistenz?

6.1 Abiotische Stressfaktoren

2008 und 2009 wurden zwei Versuche zur Prüfung der Stabilität der Hypersensibilitätsresistenz durchgeführt. In den Versuchen wurden *P. domestica*-Zuchtklone unterschiedlicher Hypersensibilitätsklassen mit PPV infiziert. Es wurde geprüft, ob es Unterschiede in

der Stärke, der Geschwindigkeit und der Ausprägungsform der hypersensiblen Reaktion gibt, wenn abiotische Stressfaktoren auf die Pflanzen einwirken. Die Versuchspflanzen wurden Trocken-, Licht- und Temperaturstress gleichzeitig ausgesetzt.

6.1.1 Ermittlung der optimalen Klimabedingungen zur Durchführung nachfolgender Versuche

Ziel: Um auf der einen Seite bestmögliche Wachstumsbedingungen von *Prunus*-Arten im Substrat zu erreichen und auf der anderen Seite die Bedingungen einer Stresssituation simulieren zu können, wurde ein Vorversuch zur Ermittlung der Stressfaktoren durchgeführt.

Material und Methoden: In einer Glasküvette wurde eine aus der *in vitro* Vermehrung stammende Pflanze des Zuchtklons 'Docera 5' luftdicht in eine Laborgaswechsellmessaanlage (Firma Walz, Effeltrich) eingespannt (Abb. 6.1-2). Gemessen wurden die CO₂-Austauschrate und die Transpiration. Die

Saugspannung wurde durch ein Analogtensiometer (Tensiotechnik, Geisenheim) ermittelt. Durch die planmäßig fehlende Bewässerung und der damit verbundenen Austrocknung des Substrats wurde schließlich der Tensiometerwert bestimmt, bei dem die Pflanze eine maximale CO₂-Austauschrate und Transpiration zeigte.

Ergebnisse: Mit einer kontinuierlichen Abnahme der Saugspannung (gemessen in hPa) kam es zu einer stetigen Zunahme der CO₂-Austauschrate und der Transpiration bis zu einem Maximum. Anschließend folgte eine Abnahme der CO₂-Austauschrate und der Transpiration (Abb. 6.1-1). Die höchste CO₂-Austauschrate wurde bei 320 bis 400 hPa erreicht und die höchste Transpiration zwischen 320 und 350 hPa.

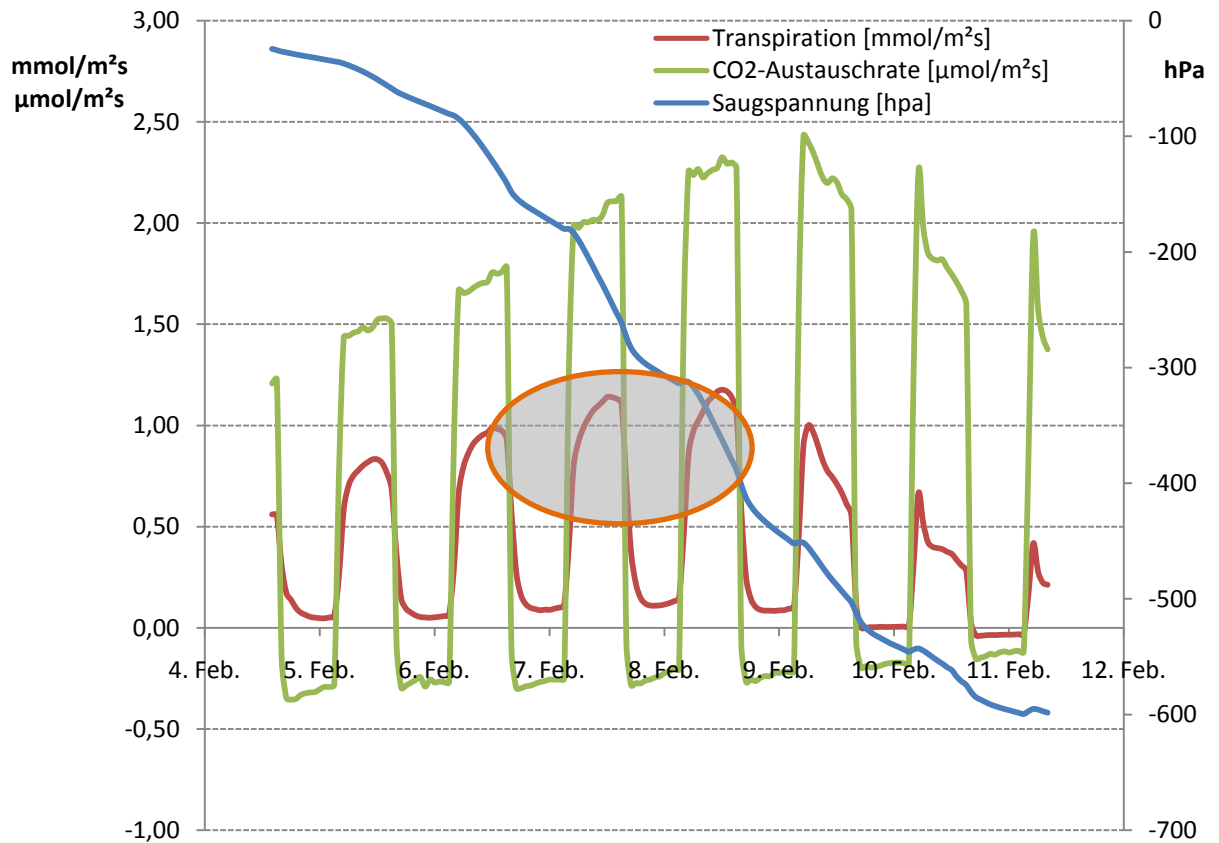


Abb. 6.1-1: Verlauf der Saugspannung, der Transpiration und der CO₂-Austauschrate mit zunehmender Austrocknung des Substrats.



Abb. 6.1-2: 'Docera 5' in einer Glasküvette

In den folgenden Versuchen wurde für die optimale Wasserversorgung von Pflanzen eine Saugspannung zwischen 250 und 400 hPa gewählt und zur Erzeugung von Stressbedingungen eine Saugspannung größer als 400 hPa.

6.1.2 Histologische Untersuchungen

Ziel: Durch histologische Untersuchungen sollten Unterschiede bezüglich der Blattmorphologie von Pflanzen unter Stress und unter optimalen Bedingungen untersucht werden.

Material und Methoden: Im Versuchsjahr 2009 wurden Proben von voll entwickelten Blättern aus dem oberen Pflanzendrittel entnommen. Hierbei handelte es sich um infizierte Pflanzen der sensiblen Sorte 'Hauszwetsche, Schüfer'.

Die Proben wurden anschließend in einer Formaldehyd- und Glutaraldehydhaltigen Lösung mit einem pH-Wert von 7,2-7,4 fixiert (Karnovsky, 1965). Im Exsikkator wurden Luft einschüsse durch Unterdruck entfernt, bis keine Luftblasen mehr aufstiegen und das Probenmaterial auf den Boden der Gefäße sank. Dieser Vorgang dauerte zwischen zwei und vier Stunden. Nach dem Fixieren wurden die Proben im Kühlschrank bei 4 °C gelagert. Das Einbetten erfolgte nach vorhergegangener Entwässerung in aufsteigender Ethanolreihe (30, 50, 70, 85 und 99 Vol. % EtOH) jeweils 3 Stunden. Bei der 50 % Stufe wurden die Proben für eine halbe Stunde exsikiert. Nach der 99 % Stufe wurde eine 1:1-Mischung aus aktiviertem Historesin und 99 % EtOH hergestellt, in welcher das Pflanzenmaterial für sechs Stunden eingelegt wurde. Nach dieser Behandlung wurden die Proben in aktiviertem Historesin für zwölf Stunden geschüttelt. Das Einbetten in Kunststoffmulden erfolgte anschließend mit aktiviertem Historesin, zu dem ein Hardener (ein Derivat von N,N'-Malonylharnstoff, 4-Hydroxyuracil) (nach Vorschrift Fa.) gegeben wurde. Nach zwölf Stunden wurden die Präparate ausgeblockt und auf Holzklötzchen aufgeklebt.

Die Explantate wurden mit einem Microtom mit Schnittthicken von 8 µm geschnitten. Diese blieben für zwölf Stunden in einem Trockenschrank bei 40 °C und wurden anschließend angefärbt.

Die Dünnschnitte wurden mit Toluidinblau (0,05 %) für 10 Minuten angefärbt. Nach dem Anfärben wurde das Färbereagens unter Leitungswasser abgewaschen. Toluidinblau färbt Phenolvakuolen und lignifizierte Zellwände blassgrün und Zellulosewände, Zellkerne und Cytoplasma blau bis violett.

Nach dem Anfärben kamen die Explantate für 3 Stunden in den Trockenschrank, bevor sie mit Xylol gereinigt und mit Eukitt eingedekelt wurden. Die Präparate wurden dann für weitere zwölf Stunden im Trockenschrank aufbewahrt.

Mikroskopiert wurde mit dem Modell Axioskop der Firma Zeiss.

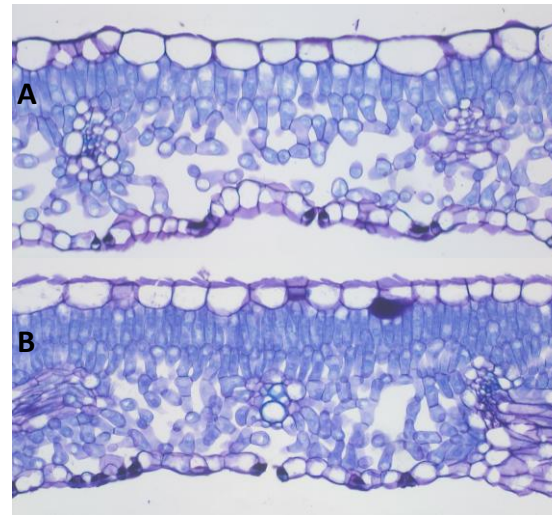


Abb. 6.1-3: Mit Toluidinblau gefärbte histologische Schnitte durch Blätter eines PPV-infizierten Baumes der Sorte 'Hauszwetsche, Schüfer'. **A** Schnitt durch ein Blatt von einer unter optimalen Wachstumsbedingungen kultivierten Pflanze **B** Schnitt durch ein Blatt von einer unter Stressbedingungen kultivierten Pflanze.

Ergebnisse: Schnitte von mit Scharkavirus infizierten Pflanzen zeigten anatomische Unterschiede in der Blattmorphologie, wenn sie Stress ausgesetzt waren. Die Blätter der gestressten Pflanzen wurden in der Bonitur als kleiner und dicker bonitiert als von Pflanzen unter optimalen Bedingungen. Betrachtet man die histologischen Schnitte, so konnte man eine dickere Kutikula bei gestressten Pflanzen der Sorte 'Hauszwetsche, Schüfer' erkennen. Des Weiteren waren die Zellen der oberen Epidermis gleichförmiger und untereinander in der Größe nicht so stark verschieden. Das Palisadenparenchym war in zwei fast durch-

gehenden Zellreihen sehr dicht und gleichmäßig geordnet und das Schwammparenchym bei gestressten Pflanzen enthielt kleinere Interzellularen. Die unteren Epidermiszellen der gestressten Pflanzen waren auf einer fast horizontalen Linie geordnet.

6.1.3 Etablierung und Optimierung eines quantitativen ELISA

Ziel: Mittels quantitativem ELISA sollte der Virustiter einer Probe relativ zu einer verwendeten Positivkontrolle bestimmt werden, um Aussagen bezüglich der Viruskonzentration in Pflanzen, die Stress ausgesetzt waren, mit dem von Pflanzen, die optimalen Wachstumsbedingungen ausgesetzt waren, zu vergleichen.

Material und Methoden: Die verwendeten Puffer und Arbeitsschritte entsprechen den in Kapitel 5.1.4.1.1 auf Seite 31 beschriebenen Zusammensetzungen und Abläufen.

Die Durchführung der einzelnen Arbeitsschritte, sowie die Vorgehensweise bei der Etablierung des quantitativen ELISA wurde in Absprache mit PD Dr. Karl Kramer vom Lehrstuhl für Bioanalytik an der TUM etabliert.

Die Kalibrationskurve wurde mit einer Probe erstellt, welche bereits positiv getestet wurde und einen hohen Virustiter aufwies. Der Pflanzenextrakt dieser Probe wurde in mehreren Verdünnungsschritten mit jeweils 4 Wiederholungen auf eine 'Nunc MicroWell'

Platte (MaxiSorp) aufgetragen (Roggero & Pennazio, 1984).

Die Extinktion der Positivkontrolle wurde anfänglich in 17 Verdünnungsstufen gemessen (Tab. 6.1-1). Anschließend wurde die Zahl der Verdünnungen zur Erzeugung einer Kalibrationskurve reduziert, um mit möglichst wenigen Verdünnungen einen gleichen Kurvenverlauf zu erzielen (Abb. 6.1-4). Die Probenzahl konnte somit auf einer Microtiterplatte erhöht werden. Durch eine anschließende Logarithmisierung der Verdünnungen konnte mit Hilfe der Extinktionswerte eine sigmoide Kurve erstellt werden. Die x-Achse der sigmoiden Kurve basierte auf dem natürlichen Logarithmus der Werte der verschiedenen Konzentrationen und die y-Achse den gemittelten Extinktionswerten. Aus der sigmoiden Kurve resultierten eine untere und obere Asymptote, welche die Kurve nach unten und nach oben hin einschränkte.

Zur Erzeugung einer 1:10 Verdünnung wurde 0,2 g Probenmaterial (TS) mit 9 ml Extraktionspuffer gemörsert. 0,2 g Trockensubstanz (TS) der gefriergetrockneten Probe entsprachen 1 g einer Probe in Frischsubstanz (FS).

Ein Abzug der gemessenen Extinktion des Puffers ist möglich, aber auf Grund der gleichmäßigen Verschiebung der Extinktionswerte nicht erforderlich.

Tab. 6.1-1: Verdünnungsreihe mit den jeweilig gemittelten Extinktionswerten ohne und mit Abzug der Pufferextinktion und deren jeweilige Standardabweichungen (Tecan Sunrise). Anschließende Logarithmisierung der Verdünnungsstufen und Normalisierung der Extinktionswerte mit der zugehörigen normalisierten Standardabweichung. **Rot** hinterlegt sind die Verdünnungsstufen, die für die Bildung einer Kalibrationskurve verwendet wurden.

Verdünnung	Mittelwerte Extinktionen	Standardabweichung	Mittelwerte Extinktionen nach Abzug der Pufferextinktion	ln (Konz.)	normalisierte Extinktionswerte	Standardabweichung
1:1	3,56	0,02	3,51	0,00	0,93	0,02
1:2	3,59	0,03	3,54	-0,69	0,94	0,03
1:10	2,89	0,04	2,84	-2,30	0,75	0,04
1:20	2,38	0,01	2,33	-3,00	0,62	0,01
1:50	2,01	0,01	1,96	-3,91	0,52	0,01
1:100	1,37	0,01	1,32	-4,61	0,35	0,01
1:200	0,94	0,00	0,89	-5,30	0,24	0,00
1:300	0,76	0,01	0,71	-5,70	0,19	0,01
1:400	0,63	0,01	0,58	-5,99	0,15	0,01
1:500	0,55	0,01	0,50	-6,21	0,13	0,01
1:1000	0,41	0,01	0,36	-6,91	0,10	0,01
1:2000	0,28	0,01	0,23	-7,60	0,06	0,01
1:5000	0,16	0,01	0,11	-8,52	0,03	0,01
1:10000	0,11	0,00	0,06	-9,21	0,02	0,00
1:20000	0,08	0,00	0,03	-9,90	0,01	0,00
1:50000	0,06	0,00	0,02	-10,82	0,00	0,00
1:100000	0,06	0,00	0,01	-11,51	0,00	0,00

Um die Extinktionswerte (w) in einem Bereich von 0 bis 100 % einzuordnen, wurden sie mit nachfolgender Gleichung normalisiert (Normalisierung= n):

$$n = \frac{w - u}{o - u}$$

o = Extinktionswerte der oberen Asymptote

u = Extinktionswerte der unteren Asymptote

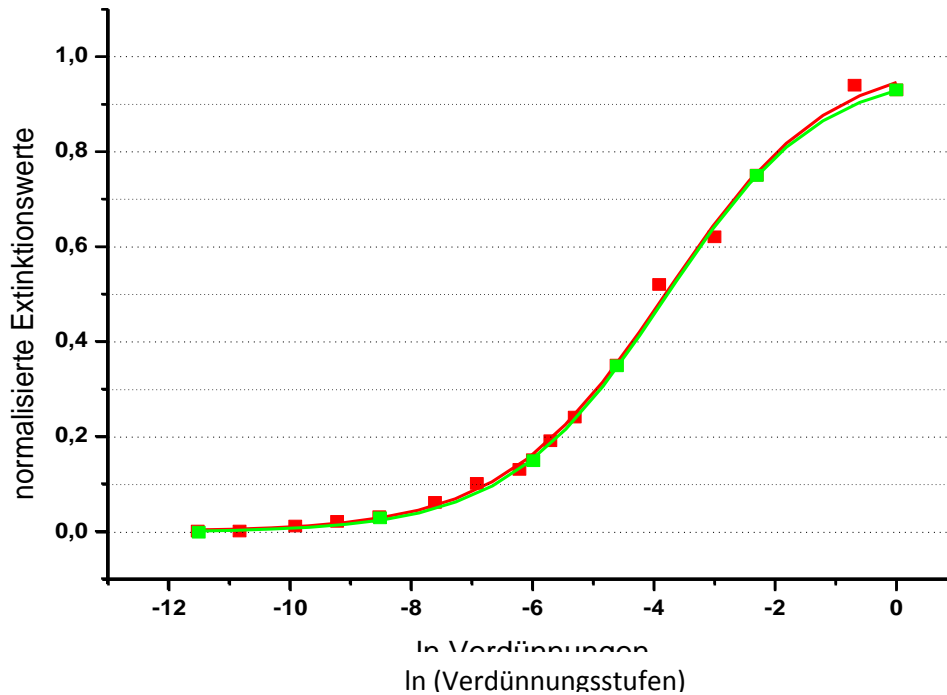


Abb. 6.1-4: Sigmoider Kurvenverlauf der Positivkontrolle mit allen Verdünnungsstufen (rot) und Kurvenverlauf mit optimierter Reduktion der Verdünnungen (grün).

Als untere Grenze der Verdünnungen wurde die Negativkontrolle verwendet, deren normalisierte Extinktion einen Wert von 0 lieferte.

Bei der Reduktion der Verdünnungsstufen gab es im Bereich der geringeren Verdünnung Unterschiede, die aber keinen relevanten Einfluss auf den Messbereich besaßen. Der Messbereich der Kalibrationskurve lag zwischen 20 und 80 %. Extinktionswerte, die unterhalb und oberhalb dieses Bereichs liegen, können mit der Positivkontrolle nicht verglichen werden. Den besten Messwert der Kurve liefert der Wendepunkt, da in diesem die Steigung am größten ist. Die geringste Genauigkeit wird in der Nähe der Asymptoten erzielt.

Die Proben wurden ebenso wie die Verdünnungen der Kalibrationskurve in 4 Wiederholungen je Verdünnungsstufe gemessen. Eine Messung der Proben in 4 Wiederholungen ist nötig, um die Standardabweichung

berechnen zu können. Die Standardabweichung soll hierbei möglichst klein sein, um eine geringe Varianz in der möglichen Viruskonzentration zu haben (Roggero & Pennazio, 1984). Des Weiteren wurden die Extinktionswerte von jeder Probe in 2 unterschiedlichen Verdünnungen ermittelt, um einen Wert zu erhalten, der in den 20 bis 80 % Messbereich der Positivkontrolle fällt (Abb. 6.1-5). Die Belegung der Microtiterplatten mit Proben erfolgte nur in den inneren Spalten. Die erste und letzte Spalte wurden auf Grund von abweichenden Extinktionswerten mit Puffer befüllt. Roggero und Pennazio (1984) berichten bei einer kompletten Belegung einer Microtiterplatte von abweichenden Messergebnissen in den äußeren Kavitäten. Zur Vermeidung dieser Messfehler wurden die äußeren Kavitäten nicht mit Proben belegt, sondern mit destilliertem Wasser.

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm Microcal Origin 7.5 Pro.

Im Programm gewählte Parameter von Dose-Response Kurven und die Auswahl der Probenverdünnung folgten den von Dudley et al. (1985) gemachten Angaben. Microcal Origin

liefert in der Auswertung der Kalibrationskurve einen y-Wert mit einem dazu gehörigem Algorithmus aus dem sich der benötigte x-Wert ableiten lässt:

$$\begin{aligned}
 y &= A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x) \times p}} && | - A_1 && | \times (1 + 10^{(\log x_0 - x) \times p}) \\
 (y - A_1) \times (1 + 10^{(\log x_0 - x) \times p}) &= A_2 - A_1 && | \div (y - A_1) \\
 1 + 10^{(\log x_0 - x) \times p} &= \frac{A_2 - A_1}{y - A_1} && | - 1 \\
 10^{(\log x_0 - x) \times p} &= \frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 && | \times \ln \\
 \ln 10^{(\log x_0 - x) \times p} &= \ln\left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1\right) \\
 [(\log x_0 - x) \times p] \times \ln 10 &= \ln\left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1\right) && | \div \ln 10 && | \div p \\
 \log x_0 - x &= \frac{1}{p} \times \frac{1}{\ln 10} \times \ln\left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1\right) && | - \log x_0 && | \times (-1) \\
 \underline{\underline{x = \log x_0 - \frac{1}{p \times \ln 10} \times \ln\left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1\right)}}
 \end{aligned}$$

A1 = untere Asymptote

A2 = obere Asymptote

x₀ = Wendepunkt

p = Steigung

Die daraus resultierenden x-Werte liefern den natürlichen Logarithmus der Verdünnung der Positivkontrolle. Y-Werte (Extinktionswerte) von verdünnten Proben, welche in der Nähe des Wendepunkts liegen, werden in die Gleichung eingesetzt und deren entsprechender x-Wert berechnet. Mittels der e-Funktion

kann der Logarithmus und anschließend die Probenverdünnung errechnet werden. Die Konzentration der Positivkontrolle wurde in den Versuchen mit 100 % angenommen und die Mittelwerte der Probenkonzentrationen mit deren Standardabweichungen wurden relativ zueinander in Bezug gesetzt.

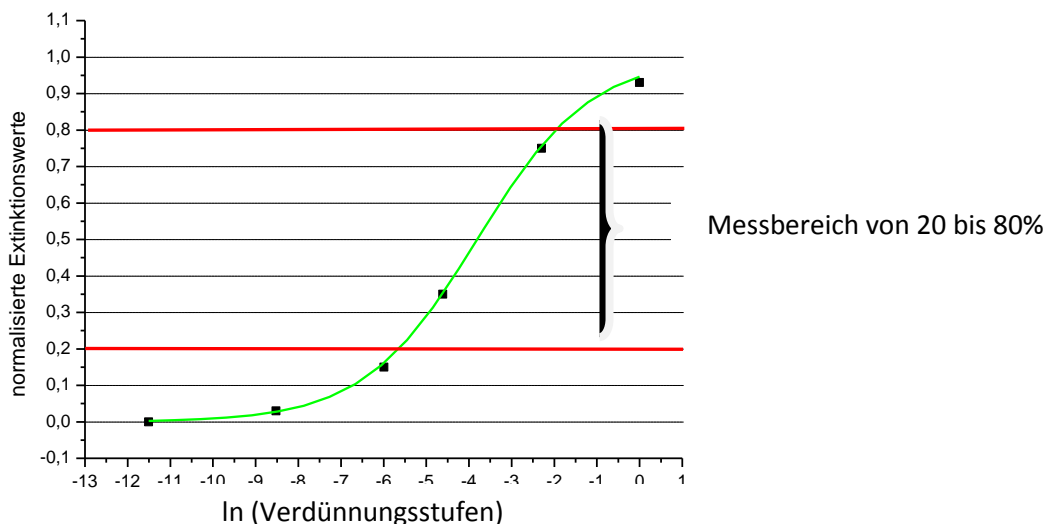


Abb. 6.1-5: Sigmoider Kurvenverlauf der Kalibrationskurve mit der reduzierten Anzahl an Verdünnungen und dem definierten Messbereich von 20 bis 80 %.

Ergebnisse und Diskussion: Von Polak et al. (2003), sowie Svoboda und Polak (2010) wurden ebenfalls Virustiterbestimmungen mittels quantitativem ELISA durchgeführt. Sie beschreiben eine Messung der Viruskonzentration bei PPV und bei Apple mosaic virus (ApMV) über eine inverse Beziehung zwischen Virustiter und detektierten Hüllprotein. Die gemessenen Extinktionen wurden ins Verhältnis zur Positivkontrolle gesetzt. Als Extinktionswert der Proben wurde der Wert der Verdünnungsstufe verwendet, der in der niedrigsten Verdünnung noch als positiv detektiert wird (4 fache beziehungsweise 5 fache Extinktion der Negativkontrolle). Bei dieser Methode ist aber der Vergleich von Proben zwischen verschiedenen Platten nicht möglich. Bei einem Vergleich zwischen einzelnen Platten muss die Steigung der Geraden in der Kalibrationskurve mitberücksichtigt werden, um die Positivkontrolle zu kalibrieren. Des Weiteren beschreiben Roggero und Pennazio (1984) eine Schwankung der Extinktion von Proben mit definierter Viruskonzentration zwischen einzelnen Platten, so dass ein Vergleich zwi-

schen den Proben einzelner Platten mit Hilfe der berechneten Verdünnung nicht möglich ist.

Kegler et al. (1989) vergleicht durch UV-VIS-Spektralphotometer und ELISA bonitierte Symptome an Blättern. Hierbei findet er statistisch signifikante Gemeinsamkeiten dieser beiden Methoden. Genauere Angaben zur Berechnung des relativen Virustiters wurden jedoch nicht benannt.

6.1.4 Abiotische Stressfaktoren 2008

Material und Methoden: Mittels Sommerveredlung auf das schlafende Auge wurden im August 2007 fünf Zuchtklone (Tab. 6.1-2) mit unterschiedlicher Anfälligkeit gegenüber PPV auf *Prunus tomentosa* Unterlagen veredelt. Hierbei wurden für den Versuch neben dem schwach hypersensiblen Zuchtklon 'Wei 499' und dem stark hypersensiblen Zuchtklon 'Hoh 4517' auch der quantitativ resistente Zuchtklon 'Hoh 2043', sowie die

zwei sensiblen Sorten 'Katinka' und 'Hauszwetsche, Schüfer' verwendet. Die veredelten Pflanzen wurden Mitte Januar 2008 zurückge-

schnitten und im Gewächshaus angetrieben. Ende Februar wurde die Unterlage mit PPV inokuliert.

Tab. 6.1-2: Anzahl virusfreier und virusinfizierter Zuchtklone in der jeweiligen Versuchsvariante.

			2008	
			Optimalbedingungen	Stressbedingungen
Katinka	S	+	6	2
		-	8	3
Hauszwetsche, Typ Schüfer	S	+	6	6
		-	7	8
Hoh 2043	Q	+	6	6
		-	4	2
Wei 499	HR	+	6	3
		-	2	2
Hoh 4517	HR	+	5	4
		-	8	8

- S sensitiver Zuchtklon
- Q quantitativ resistenter Zuchtklon
- HR hypersensibler Zuchtklon
- + Zuchtklon mit PPV-D infiziert
- PPV-freier Zuchtklon

Bei der Inokulation der Unterlage mit PPV-D durch Rindenspanveredlung wurden jeweils drei Rindenspäne von verschiedenen infizierten Edelreisern entnommen. Ein besonderes Augenmerk wurde auf die Lage der jeweiligen Veredlungsstellen gelegt. Ergebnisse aus bisher durchgeführten Versuchen zeigen (mündliche Information Dr. Michael Neumüller), dass Pflanzen des gleichen Zuchtklons bei einer Inokulation an unterschiedlichen Stellen mittels Rindenspanveredlung verschieden auf das Virus reagieren. So ist bei einer Inokulation einer Pflanze mit PPV für die Geschwindigkeit des Ablaufs der hypersensiblen Reaktion entscheidend, wo der infizierte Chip an der Unterlage veredelt wird. Im Experiment wurde deshalb darauf geachtet, dass die infizierten Chips jeweils an der gleichen Stelle in der Unterlage veredelt wurden.

Versuchsbeginn war am 04.03.2008 in den Klimakabinen des Gewächshaus-Laborzentrums I in Dürnast. 3 Wochen nach

Versuchsbeginn wurden die Pflanzen in einen 5 l Container in Substrat (Floragard) umgetopft, um eine bessere Wasserführung auf Grund des größeren Topfvolumens zu ermöglichen.

Zur Messung von Trockenstress wurden einzelne Pflanzen zufällig ausgewählt und mit einem Tensiometer ausgestattet. Die Daten der Saugspannung wurden täglich erfasst. Die Saugspannung in der Optimalvariante wurde zwischen -200 und -300 hPa gewählt und in der Stressvariante mit -500 hPa eingestellt.

Lichtstress wurde mit Natriumhochdruckdampflampen mit einer installierten Leistung von 400 W/m² erzeugt. In der Variante mit optimalen Bedingungen erfolgte eine Zusatzbelichtung von 200 W/m². Die Messung der Lichtstärke wurde am Boden des Pflanzenbestandes durchgeführt.

Die Luftfeuchte lag in beiden Kabinen bei 70 %. Anfänglich wurde eine Tagtemperatur

von 22° C und Nachttemperatur von 15° C gewählt. Die Erhöhung der Temperatur auf 28 °C, die Verringerung der Saugspannung im Substrat, sowie die Zuschaltung der doppelten Lampenzahl in der Klimakabine mit Stressbedingungen erfolgten schrittweise über einen Zeitraum von 4 Wochen. Die Pflanzen sollten so an die gewählten Versuchsbedingungen gewöhnt, ein Wachstumsstopp auf Grund von Stress sollte vermieden werden.

Eine Bonitur der Pflanzen erfolgte alle 2 Wochen. Hierbei wurde neben der Sprosslänge der Einzeltriebe und deren jeweiligen Blattzahl auch Symptome für PPV und für hypersensible Reaktionen erfasst. Die Kriterien zur Beurteilung einer hypersensiblen Reaktion erfolgten nach Neumüller und Hartmann (2008), wie in Kapitel 1.1.1 (Seite 22) beschrieben.

Im Abstand von 14 Tagen wurden Blattproben zur Detektion von Scharkavirus mittels quantitativem ELISA (Seite 72) entnommen. Hierbei wurden symptomtragende Blätter aus dem oberen Pflanzendrittel entnommen. Falls keine PPV Symptome bonitiert werden konnten wurden Blätter zufällig aus dem ersten Drittel gewählt. Die ELISA Ergebnisse wurden mit einer Positivkontrolle der Sorte 'Katinka' verglichen, wobei die Positivkontrolle einen fiktiven Wert von 100 % erhalten hat.

Ergebnisse: Alle Versuchspflanzen mit Stressbedingungen zeigten eine schlechte

Durchwurzelung des Containers im Versuchszeitraum, was auch eine Steuerung des Wasserhaushalts erschwerte.

Beim schwach hypersensiblen Zuchtklon 'Wei 499' reagierten alle infizierten Pflanzen in der Variante mit optimalen Bedingungen hypersensibel. 2 von 6 Pflanzen starben ab. Des Weiteren zeigte eine Pflanze einen erhöhten Virustiter, reagierte aber gering hypersensibel und fiel bei einer Zuordnung zu den Hypersensibilitätsklassen in die Klasse 0. Insgesamt sind die hypersensiblen Reaktionen in der stressfreien Variante bei diesem Zuchtklon stärker ausgeprägt (Abb. 6.1-6).

Beim stark hypersensiblen Zuchtklon 'Hoh 4517' konnte das Virus sowohl in der Stress- als auch in der Optimalvariante mittels ELISA nicht detektiert werden. Eine Virusinokulation mittels Chip budding war erfolgreich, da alle Zuchtklone nach einer Inokulation hypersensible Reaktionen aufwiesen (Abb. 6.1-7). Die hypersensiblen Reaktionen als Rindennekrosen und Triebspitzendürren waren nicht nur unter optimalen Bedingungen sehr stark ausgeprägt, sondern auch in der Variante mit Stressbedingungen. Hierbei waren unter Stress zwei von vier Pflanzen und unter optimalen Bedingungen drei von fünf Pflanzen während des Versuchszeitraums abgestorben. Nicht infizierte Pflanzen zeigten, im Gegensatz zu den infizierten Pflanzen, sowohl unter Stressbedingungen als auch unter optimalen Bedingungen ein stärkeres Wachstum.

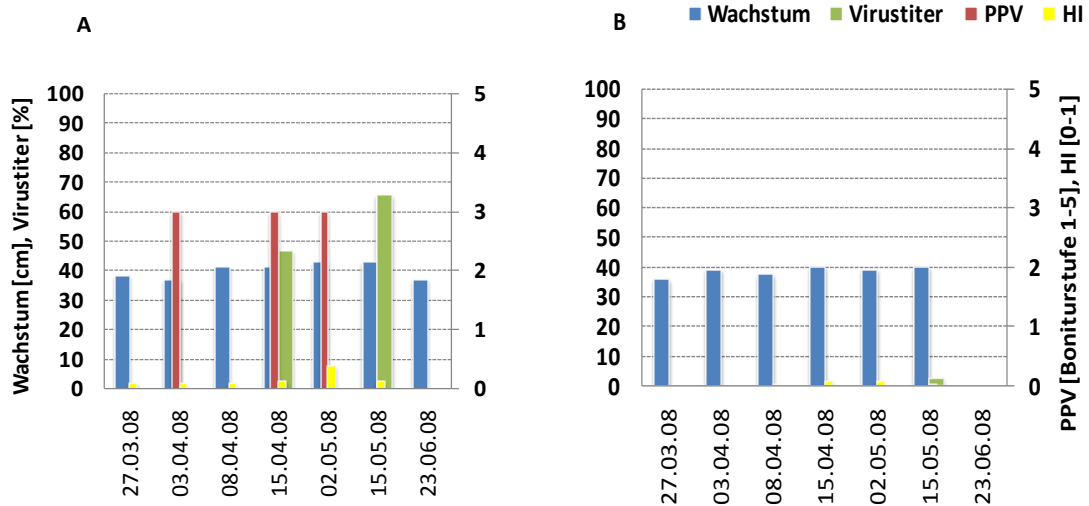


Abb. 6.1-6: Wachstum, Virustiter (primäre y-Achse), sowie PPV-Bonitur und HI (sekundäre y-Achse) von zwei Versuchspflanzen des Zuchtklons 'Wei 499' (schwach hypersensibel) im Versuchszeitraum **A** Variante ohne Stress; schwach hypersensible Reaktion mit zunehmenden Wachstum mit einer fast gleichbleibenden PPV-Bonitur. Der Virustiter steigt im Zeitverlauf. **B** Variante mit Stress zeigt eine schwächer ausgeprägte hypersensible Reaktion und einen geringen Virustiter.

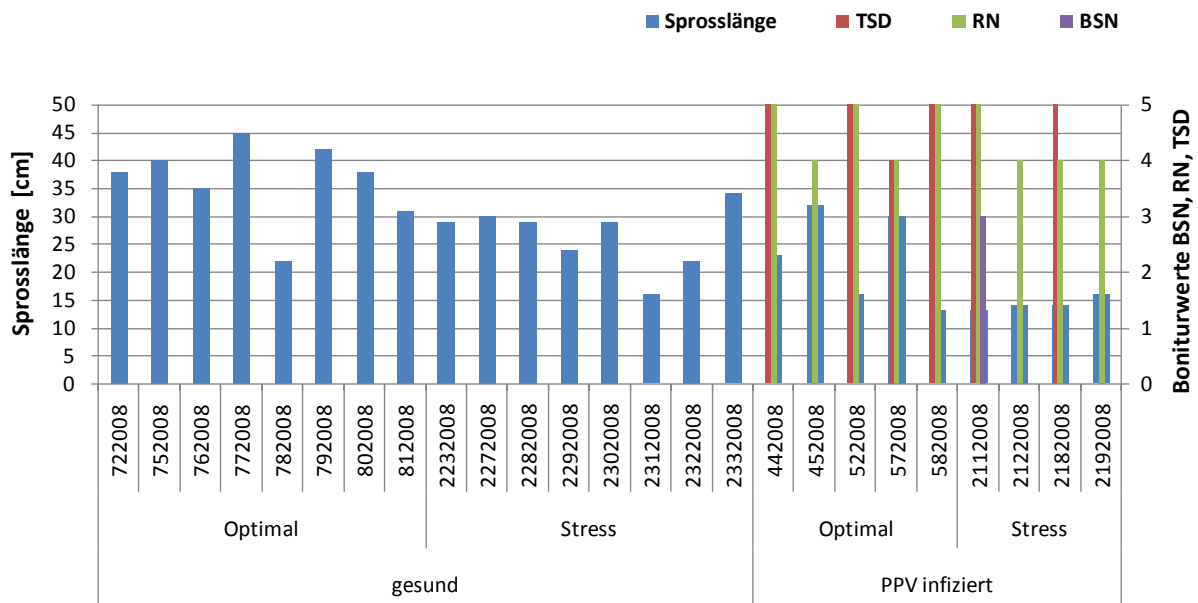


Abb. 6.1-7: Boniturergebnisse der Versuchspflanzen des stark hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 4517' zum Versuchsende. Dargestellt sind die Sprosslänge, Blattspaltennekrosen (BSN), Rindennekrosen (RN) und Triebspitzendürre (TSD).

Der quantitativ resistente Zuchtklon 'Hoh 2043' zeigte bei sieben von zwölf Zuchtklonen PPV Symptome (Abb. 6.1-8). Der höchste Boniturwert lag bei 3. Von allen getesteten Pflanzen konnte bei zwei Pflanzen das Virus mittels ELISA festgestellt werden. Hierbei handelte es sich um Pflanzen aus je einer Versuchsvariante. Die Pflanzengrößen des Zuchtklons 'Hoh 2043' wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft und anschließend mittels Tukey-Test auf signifikante Unterschiede. Hierbei kam es mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % zu keinem signifikanten Unterschied im Pflanzenwachstum zwischen den jeweiligen Versuchsvarianten.

Mittels visueller Bonitur konnte bei 'HZ Schüfer' nicht bei allen infizierten Pflanzen Virusbefall festgestellt werden. Des Weiteren schwankte der Virustiter sehr stark zwischen den einzelnen Zuchtklonen. Der höchste PPV-Gehalt wurde in der Kabine mit optimalen Wachstumsbedingungen erreicht, welcher bei 740 % relativ zur Positivkontrolle lag. Bei den

gestressten Pflanzen lag der höchste Virustiter bei 44 %. Hierbei ergab die Bonitur der PPV-Symptome mit Boniturstufe 4 bei Pflanzen unter Stress einen höheren Boniturwert als bei Pflanzen unter optimalen Bedingungen mit einem Boniturwert von 2. PPV Symptome wurden festgestellt bei 83 % der Pflanzen unter Stress und bei 50 % der Pflanzen unter optimalen Bedingungen.

'Katinka' zeigte im Pflanzenwachstum keine Unterschiede zwischen den beiden Versuchsvarianten. Die infizierten Pflanzen hatten sowohl in der Kabine mit Stressbedingungen als auch in der Kabine mit optimalen Bedingungen PPV-Symptome mit einem niedrigsten Boniturwert von 3. Der höchste Boniturwert wurde in der Variante mit Stressbedingungen erreicht. Die Höhe des Virustiters war nicht bei allen Pflanzen messbar. Dieser lag bei einer Versuchspflanze unter optimalen Bedingungen bei 37 % als Maximum und bei der Variante mit Stressbedingungen bei 5 % (Abb. 6.1-9). Virustiter und PPV-Symptomen korrelierten nicht miteinander.

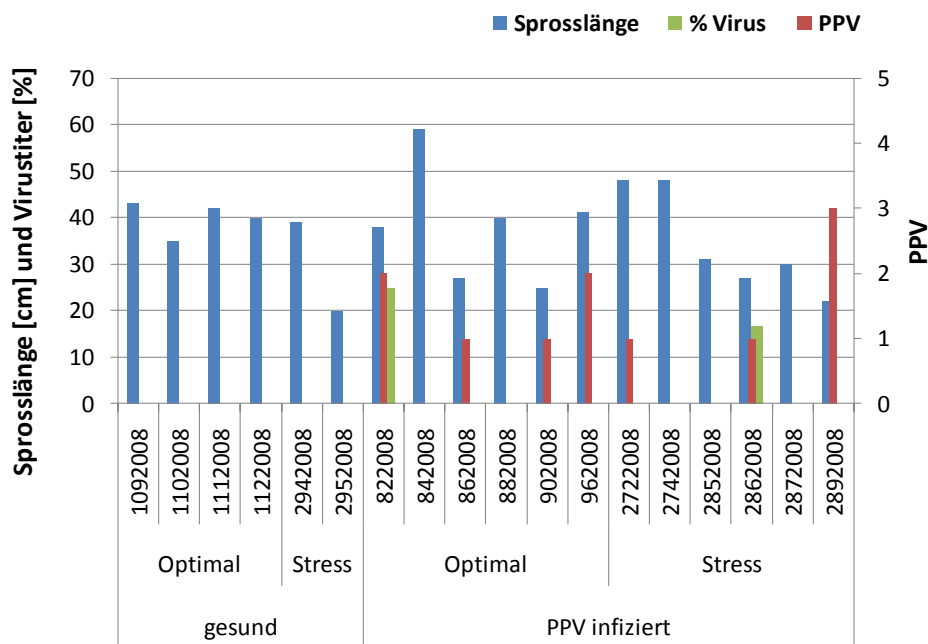


Abb. 6.1-8: Boniturergebnisse der Versuchspflanzen des quantitativ resistenten Zuchtklons 'Hoh 2043' zum Versuchsende. Dargestellt sind die Sprosslänge, Virustiter (%) und PPV-Symptome.

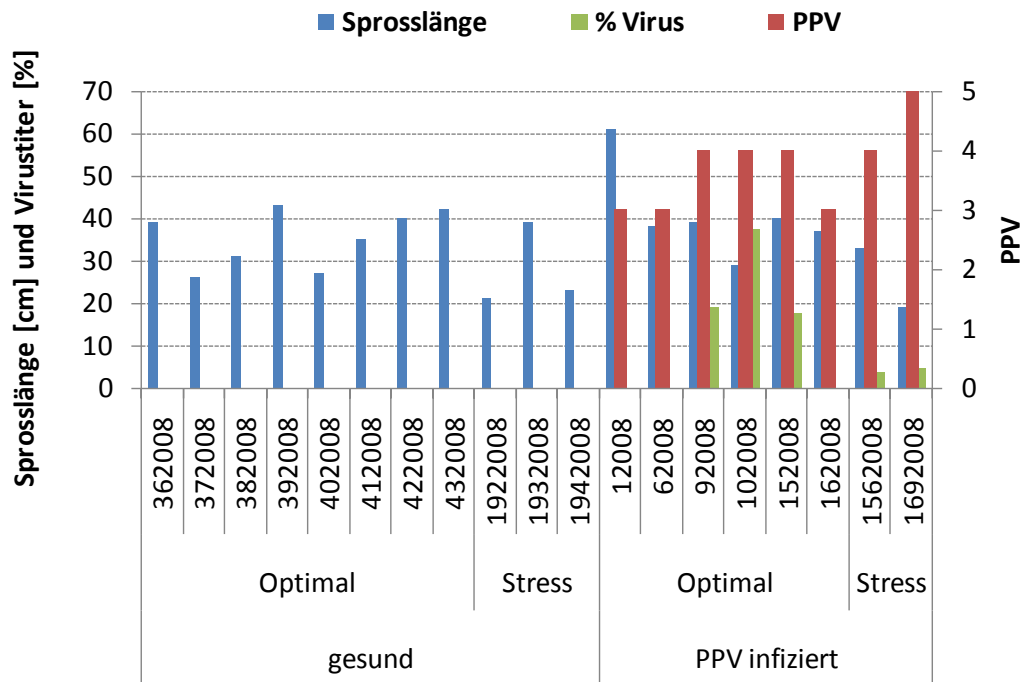


Abb. 6.1-9: Boniturergebnisse der Versuchspflanzen der sensiblen Sorte 'Katinka' zum Versuchsende. Dargestellt sind die Sprosslänge, Virustiter (%) und PPV-Symptome.

6.1.5 Abiotische Stressfaktoren 2009

Ziel: 2009 wurde eine Wiederholung des Versuches durchgeführt, um die Ergebnisse aus 2008 vergleichen zu können.

Material und Methoden: Zusätzlich zu den schon fünf getesteten Zuchtklonen 'HZ Schüfer', 'Katinka', 'Hoh 4517', 'Wei 499' und 'Hoh 2043' aus 2008 wurde der schwach hypersensible Zuchtklon 'Zuchtklon Nr. VI' verwendet. Als Versuchsbedingungen wurden die gleichen Parameter wie 2008 gewählt. Extern beeinflusst wurde der Versuch vor allem durch den sonnigen und sehr warmen April, der den Unterschied in der Belichtung zwischen den Varianten verringerte. Ein Bildausschnitt der Klimakabinen ist in Abb. 6.1-14 auf Seite 85 dargestellt.

Die Pflanzen wurden in Abständen von drei Wochen bonitiert und es erfolgten drei Probenahmen um zu testen, ob die Inokulation mit PPV erfolgreich war und wie hoch der Virustiter der jeweiligen Pflanze ist.

Ergebnisse: Die gewonnenen Ergebnisse aus 2008 wiederholten sich auch im Versuchsjahr 2009. Betrachtet man die Pflanzengröße der sensiblen Zuchtklone 'Katinka' und 'Hauszwetsche, Schüfer' dann konnte man ein stärkeres Wachstum in der nichtinfizierten Variante erkennen. Die hypersensiblen Zuchtklone 'Hoh 4517', 'Wei 499', 'Zuchtklon Nr. VI' und der quantitativ resistente Zuchtklon 'Hoh 2043' ließen keinen Zusammenhang zwischen der Pflanzengröße und dem Virusstatus erkennen (Abb. 6.1-10).

Tab. 6.1-3: Anzahl virusfreier und virusinfizierter Zuchtklone in der jeweiligen Versuchsvariante.

			2009	
			Optimalbedingungen	Stressbedingungen
Katinka	S	+	6	3
		-	1	0
Hauszwetsche, Typ Schüfer	S	+	12	12
		-	2	2
Hoh 2043	Q	+	12	12
		-	2	2
Wei 499	HR	+	12	13
		-	2	2
Hoh 4517	HR	+	10	11
		-	2	2
Genotyp Nr. VI	HR	+	11	10
		-	2	2

- S sensitiver Zuchtklon
- Q quantitative resistenter Zuchtklon
- HR hypersensibler Zuchtklon
- + Zuchtklon mit PPV D infiziert
- PPV-freier Zuchtklon

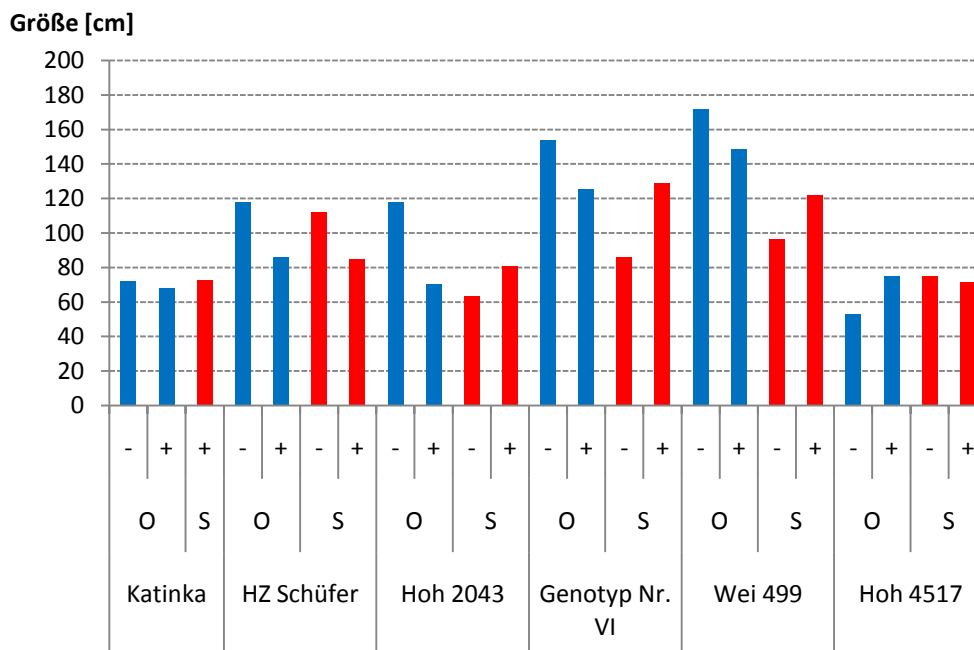


Abb. 6.1-10: Durchschnittliche Pflanzengröße der verwendeten Zuchtklone. Blaue Balken mit O auf der x-Achse bezeichnen die Optimalvariante und rote Balken mit einem S auf der x-Achse die Stressvariante. - : nicht infizierte Pflanzen; + : PPV positive Pflanzen.

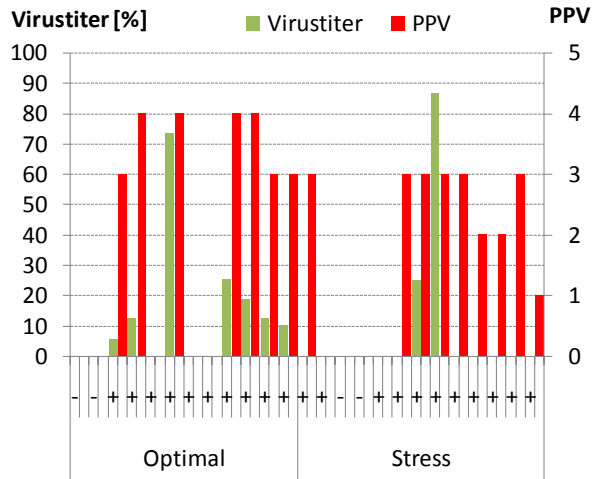


Abb. 6.1-11: Zusammenhang von Virustiter und PPV-Symptomausprägung beim mittelstark hypersensiblen Zuchtklon 'Wei 499' einzelner Pflanzen. -: nicht infizierte Pflanzen; +: PPV positive Pflanzen.

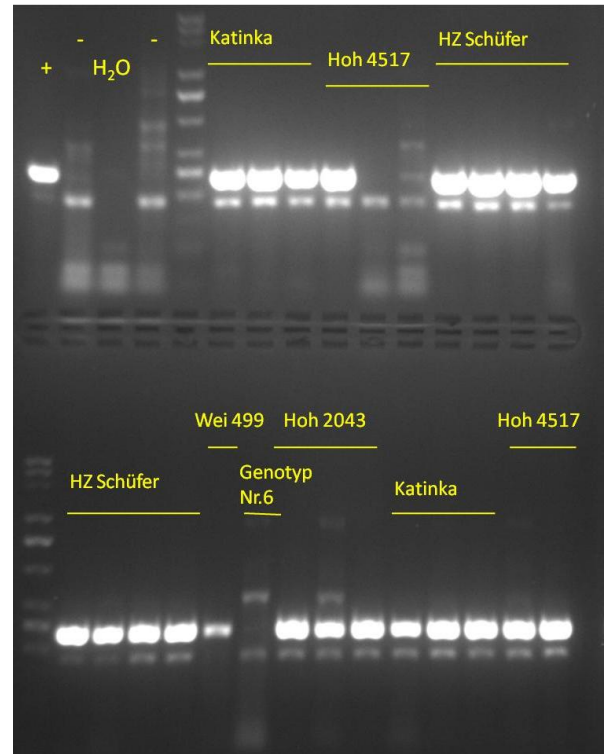


Abb. 6.1-12: Gelelektrophoretisch aufgetrennte Amplifikate, die bei Nachweis von PPV in pflanzlichen Proben mittels PCR entstehen. Beprobte wurden die eingesetzten Chips, mit denen die Unterlagen der jeweiligen Zuchtklonen infiziert wurden. 190 bp: eine interne Kontrolle; 243 bp: Amplifikat für PPV. LM = gene ruler 50 bp. H₂O: ohne Template; -: nicht infizierte Pflanzen; +: PPV positive Pflanzen.

Die Ermittlung des Virustiters erfolgte mittels quantitativem ELISA. Der Virustiter war in der Mehrzahl der Pflanzen sehr niedrig, vor allem bei den sensiblen Zuchtklonen 'Katinka' und 'Hauszwetsche, Schüfer'.

Neben dem Virustiter war auch die Symptomausprägung 2009 schwächer als 2008. Die Infektion mit PPV wurde mittels Multiplex-PCR verifiziert (Abb. 6.1-12). Betrachtet man den

Virustiter von 'Wei 499' im Verhältnis zur Positivkontrolle, so konnte man keine Korrelation zwischen Virustiter und Symptomausprägung feststellen (Abb. 6.1-11). Sowohl in der Optimal- als auch in der Stressvariante kam es zu PPV-Symptomen und in beiden Varianten konnte das Virus detektiert werden. Ähnliche Versuchsergebnisse lieferte auch der schwach hypersensible Zuchtklon 'Zuchtklon Nr. 6'.

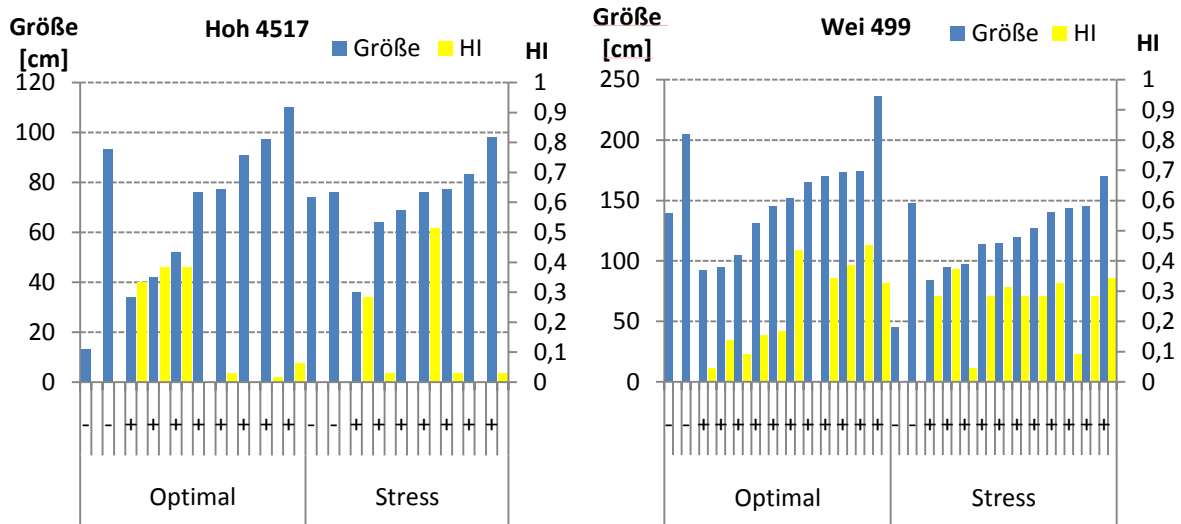


Abb. 6.1-13: Pflanzengröße und hypersensible Reaktionen der resistenten Zuchtklone 'Hoh 4517' und 'Wei 499'. -: nicht infizierte Pflanzen; +: PPV positive Pflanzen.

Bei 'Hoh 4517' konnte eine verringerte hypersensible Reaktion (HR) in beiden Versuchsvarianten festgestellt werden (Abb. 6.1-14, Seite 85). Bei allen 21 infizierten Pflanzen von 'Hoh 4517' (stark hypersensibel) und bei allen 24 infizierten Pflanzen von 'Hoh 2043' (quantitativ resistent), deren Unterlagen erfolgreich mit Virus inokuliert wurden (Abb. 6.1-12), wurde selbst kein PPV detektiert. Die HR wurde bei den beiden hypersensiblen Zuchtklonen 'Hoh 4517' und 'Wei 499' beobachtet (Abb. 6.1-13). Diese lief sowohl in der Optimal- als auch in der Stressvariante gleichermaßen ab.

Die infizierten Pflanzen von 'Hoh 4517', welche im Versuchszeitraum nicht abgestorben sind und vorzeitig mit dem Triebwachstum abgeschlossen haben, sind im Folgejahr 2010 mit Vegetationsbeginn abgestorben.

Die im Versuchsjahr 2008 gewonnenen Ergebnisse konnten 2009 wiederholt werden. Erfolgt eine Infektion von hypersensiblen Zuchtklonen mit PPV und anschließend die Einwirkung von Umweltstress, kommt es einer hypersensiblen Reaktion (Abb. 6.1-14). Eine hypersensible Reaktion erfolgte unabhängig vom Einwirken des abiotischen Stresses.

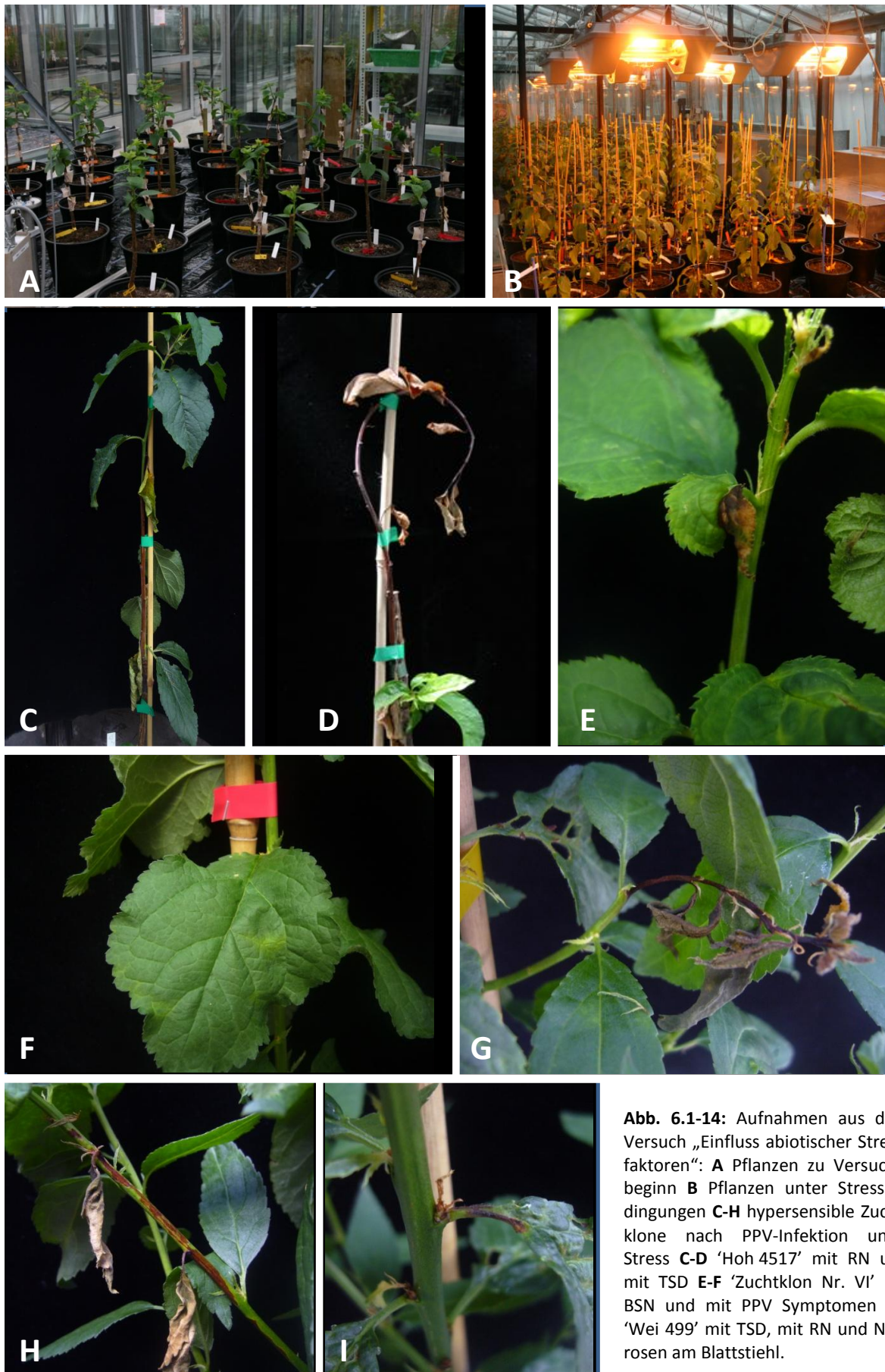


Abb. 6.1-14: Aufnahmen aus dem Versuch „Einfluss abiotischer Stressfaktoren“: **A** Pflanzen zu Versuchsbeginn **B** Pflanzen unter Stressbedingungen **C-H** hypersensible Zuchtklone nach PPV-Infektion unter Stress **C-D** 'Hoh 4517' mit RN und mit TSD **E-F** 'Zuchtklon Nr. VI' mit BSN und mit PPV Symptomen **G-I** 'Wei 499' mit TSD, mit RN und Nekrosen am Blattstiel.

6.1.6 Diskussion

Die Folgen der Stressbedingungen lassen sich anhand der Blattmorphologie der untersuchten Pflanzen der Sorte 'Hauszwetsche, Schüfer' erkennen. Einwirkender Stress führt zu dickeren Zellwänden und fördert eine Lignifizierung (Levitt, 1980). Hierbei kann man nicht nur die dickeren Zellwände in den Blättern der gestressten Pflanzen beobachten, sondern auch eine Verdickung der Kutikula. Des Weiteren konnte im Versuch zur Ermittlung der optimalen Klimabedingungen gesehen werden, dass Pflanzen mit einer Saugspannung von -250 hPa bis -400 hPa eine maximale CO₂-Austauschrate und eine maximale Transpiration besitzen. Pflanzen unter Stressbedingungen wurden so bewässert, dass die Saugspannung kleiner -400 hPa betrug.

Die Ausprägungsform der Hypersensibilitätsresistenz ist abhängig vom Resistenzgrad und den Kulturbedingungen der verwendeten Zuchtklone. Nach erfolgreicher Inokulation mit Scharkavirus war die Entwicklung von Blattspreiten- und von Rindennekrosen beim schwach hypersensiblen Zuchtklon 'Zuchtklon Nr. VI' und beim mittelstark hypersensiblen Zuchtklon 'Wei 499' in der Versuchsvariante mit Stressbedingungen weniger stark ausgeprägt. Dies traf auch auf die Triebspitzendürre beim 'Zuchtklon Nr. VI' zu, die nur unter optimalen Kultivierungsbedingungen der Pflanzen auftrat. Gleiche Unterschiede in der Ausprägung der HR wurden beim mittelstark hypersensiblen Zuchtklon 'Wei 499' im Versuchsjahr 2008 bonitiert. Bei der Wiederholung des Versuches trat die Triebspitzendürre unter Stressbedingungen stärker auf. Der stark hypersensible Zuchtklon 'Hoh 4517' reagierte in beiden Versuchsjahren sowohl in der Variante mit Stressbedingungen als auch in der Variante mit optimalen Bedingungen gleichermaßen. Die Stärke der Ausprägungsform der hyper-

sensiblen Reaktion unterschied sich nicht zwischen den Versuchsvarianten, sondern zwischen den beiden Versuchsjahren.

Ayres (1984) postuliert zwei Möglichkeiten der Pathogen-Wirt-Interaktion während Stress. Zum Einen können der negative Effekt des Pathogens und der Stress additiv wirken und zum Anderen kann der abiotische Stress Pflanzenresistenzen gegenüber Pathogeninfektionen modifizieren. Durch die Komplexität, bedingt durch die verschiedenen Reaktionsmechanismen und durch die Vielzahl von Einflüssen, die durch Stress verursacht werden, kommt es sowohl zu chemischen als auch zu physischen Änderungen an der Zelle. Für eine Erkennung und Signalweitergabe ist hierbei das Vorhandensein von mehreren Sensoren (z.B. für Membrandurchlässigkeit oder bedingt durch Hormone, welche Reaktionskaskaden auslösen) und Mechanismen unabdingbar (Xiong et al., 2002). Eine zentrale Rolle in der Aktivierung der Anpassung an verschiedene Umweltfaktoren, wie zum Beispiel an Trocken-, Salzstress oder auch an niedrige Temperaturen, wird der Abscisinsäure (ABA) zugesagt (Mauch-Mani & Mauch, 2005). Die Rolle von ABA wird jedoch konträr diskutiert (Yasuda et al., 2008). ABA, das unter abiotischen Stress stärker synthetisiert wird (Xiong et al., 2002) ist für eine Anpassung der Pflanzen an Stress wichtig. Bei Arabidopsis bewirkte eine exogene Verabreichung von ABA eine Unterdrückung von Resistenzen (Yasuda et al., 2008). Die schlechtere Ausprägung der Resistenz unter Stress war auch beim schwach hypersensiblen Zuchtklonen 'Zuchtklon Nr. VI', sowie beim mittelstark hypersensiblen Zuchtklon 'Wei 499' vorhanden. Jedoch kam es nicht zu einer komplett fehlenden hypersensiblen Reaktion gegenüber PPV. Der stark hypersensible Zuchtklon 'Hoh 4517' zeigte, im Gegensatz zu den schwach und mittelstark hypersensiblen Zuchtklonen, in beiden Ver-

suchsvarianten auf Infektion mit Scharkavirus gleich starke hypersensible Reaktionen.

Die Ausprägungsform der HR ist stark gebunden an das Pflanzenwachstum. Sichtbare Symptome der HR entwickeln sich nur bei Pflanzen, deren Sprosse sich im Wachstum befinden. Erfolgt eine hypersensible Reaktion eines hypersensiblen Zuchtklons zu Vegetationsende, kommt es zu keinem vollständigen Absterben dieses Zuchtklons. Die vollständige HR läuft dann in der anschließenden Vegetationsperiode ab. Bei 'Hoh 4517', welcher der Hypersensibilitätsklasse 3 zuzuordnen ist, ist dies gleichermaßen der Fall. Rechnerisch ist dieser Zuchtklon lediglich in der Klasse 1 und 2 einzuordnen, da er im Versuchsjahr nicht vollständig abgestorben ist. Infizierte Pflanzen von 'Hoh 4517' waren im Folgejahr des Versuches mit Vegetationsbeginn abgestorben, sofern dies im Versuch nicht bereits geschehen war.

Die Höhe der Temperatur, Belichtung und der Ernährungszustand der Pflanze sind maßgebliche Faktoren, die zur Symptomausprägung bei Virusbefall beitragen (Moore, 1967). Hartmann (1990; 2001) vermutet eine Verstärkung von PPV-bedingten Krankheitssymptomen unter Stresseinwirkung oder extremen Witterungsschwankungen. Vergleicht man die PPV-Symptome von Blättern gestresster Pflanzen mit Blättern von Pflanzen, die unter optimalen Bedingungen kultiviert wurden, sowohl in, als auch zwischen den beiden Versuchsjahren, dann lässt sich kein signifikanter Unterschied in der Symptomausprägung zwischen beiden Varianten beobachten. Eine Maskierung viral bedingter Symptome während heißer Sommer wird von Nemeth (1986) beschrieben. Eine erhöhte Virusvermehrung auf Grund von Stress konnte mittels quantitativem ELISA nicht festgestellt werden. Hartmann (2001) vermutet eine erhöhte Virusvermehrung durch das Zusammenwirken von

zahlreichen Stressfaktoren, welche im Versuch nicht erkennbar war.

Eine Virusfreimachung der Pflanzen in der Variante mit Stressbedingungen durch Thermo-therapie auf Grund von zu hoher Temperatur sollte mit den gewählten 28 °C vermieden werden. Die Durchführung einer Thermo-therapie ist mit 22 % Erfolgsquote bei *Prunus domestica* ist sehr niedrig (Polák & Hauptmanová, 2009). Festgestellt werden konnte aber ein verringerter Virustiter mittels quantitativem ELISA in den Sorten 'Katinka' und 'Hauszwetsche, Schüfer', welche gegenüber PPV sensibel sind (Neumüller, 2005). Gleiches gilt auch für die Symptomausprägung. Aus vorangegangenen Versuchsjahren hat sich gezeigt, dass PPV sensible Pflanzen, die starker Sonneneinstrahlung und erhöhter Temperatur ausgesetzt waren einen verringerten Virustiter und eine weniger starke Symptomausprägung aufwiesen. Eine erfolgreiche Infektion mit PPV wurde mittels Multiplex-PCR nachgewiesen. Der verringerte Virustiter und die schwächere Symptomausprägung im Versuchsjahr 2009 waren auf den sonnigen und sehr warmen April zurückzuführen.

Der Resistenzmechanismus in Form der hypersensiblen Reaktion ist bei schwach und mittelstark hypersensiblen Zuchtklonen unter Stress beeinträchtigt, jedoch bei stark hypersensiblen Zuchtklonen auch unter Stress gewährleistet.

6.1.7 Zusammenfassung

Die Erfassung von Stressbedingungen erfolgte nicht nur über messtechnische Verfahren, sondern auch durch histologische Untersuchungen der Blattmorphologie an der Sorte 'Hauszwetsche, Schüfer'. Pflanzen unter Stressbedingungen zeigten eine gleichmäßige

re Anordnung der Blattzellen mit kleineren Interzellularen, sowie einer dickeren Kutikula.

Eine hypersensible Reaktion konnte bei allen Pflanzen der verschiedenen hypersensiblen Zuchtklone nach einer PPV-Infektion festgestellt werden. Eine verstärkte Ausprägung war 2009 bei 'Zuchtklon Nr. VI' und in beiden Versuchsjahren bei 'Wei 499' in der Variante mit Optimalbedingungen vorhanden.

In Pflanzen von 'Hoh 4517' konnte außerdem in beiden Versuchsvarianten und in beiden Versuchsjahren mit ELISA kein Scharkavirus nachgewiesen werden. Im Wachstum konnte zwischen gestressten Pflanzen und Pflanzen unter optimalen Bedingungen kein Unterschied festgestellt werden. Der mittelstark hypersensible Zuchtklon 'Wei 499' reagierte bei einer Infektion mit PPV unterschiedlich.

Pflanzen von 'Hoh 4517' zeigten unter Stress verstärkte Blattspreitennekrosen. Die Bonitur der Rindennekrosen lieferte in den Versuchsvarianten mit optimalen Wachstumsbedingungen beim 'Zuchtklon Nr. VI' und bei 'Wei 499' stärkere Ausprägungsformen, als bei den Pflanzen unter Stress. Dies traf auch 2008 auf 'Hoh 4517' zu, wohingegen 2009 die Ausprägung von Rindennekrosen in beiden Versuchsvarianten gleich stark waren.

Beim schwach hypersensiblen Zuchtklon 'Zuchtklon Nr. VI' konnte nur in der Variante

mit optimalen Wachstumsbedingungen Triebspitzendürre bonitiert werden, was auf eine stärkere hypersensible Reaktion hindeutet, als wie sie für schwach hypersensible Zuchtklone üblich ist. Dies trifft auch auf den mittelstark hypersensiblen Zuchtklon 'Wei 499' im Versuchsjahr 2008 zu, wohingegen im Versuchsjahr 2009 die Triebspitzendürre bei Pflanzen unter Stress stärker ausgeprägt war. Beim stark hypersensiblen Zuchtklon 'Hoh 4517' zeigte die Bonitur der Triebspitzendürre keinen Unterschied zwischen Pflanzen unter Stress und Pflanzen unter optimalen Bedingungen. In beiden Versuchsjahren reagierte der Zuchtklon auf Infektion mit PPV mittels Triebspitzendürre unter verschiedenen Klimabedingungen gleichförmig.

Eine Korrelation zwischen Virustiter und Pflanzenwachstum bei den sensiblen Sorten 'Katinka' und 'Hauszwetsche, Schüfer' konnte in beiden Versuchsjahren nicht festgestellt werden.

Vergleicht man die PPV-Symptome von Blättern gestresster Pflanzen mit Blättern von Pflanzen, die unter optimalen Bedingungen kultiviert wurden, so lässt sich kein signifikanter Unterschied in der Symptomausprägung der einzelnen Zuchtklone zwischen beiden Varianten und in beiden Versuchsjahren beobachten.

6.2 Biotische Stressfaktoren

Ziel: In Obstanlagen können bei der Europäischen Pflaume Mischinfektionen zwischen PPV und anderen Viren vorkommen. Ziel des Versuches war es zu testen, ob die Hypersensibilitätsresistenz der Europäischen Pflaume beeinflusst wird, wenn die Pflanzen mit *Prune*

dwarf virus (PDV) und/oder *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) infiziert werden.

Material und Methoden: *Prune dwarf virus* (PDV) und *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) gehören der Gattung *Ilarvirus* (Familie *Bromoviridae*) an. Das Genom von PDV und

PNRSV besteht aus drei einzelnen Fragmenten mit einer Größe von insgesamt 8243 nt (Hull, 1989). PDV und PNRSV sind weltweit verbreitet und verursachen wirtschaftlich bedeutende Schäden. An wichtigen Steinobstarten, wie Süß- und Sauerkirsche, Aprikose, Pfirsich oder auch die Europäische ist PDV auch als Verursacher der „Weidenblättrigkeit“ und der „Pflaumenverzwergung“ bekannt. PDV-spezifische Symptome sind längliche, verdickte und harte Blätter, Blattfall und chlorotische Ringe und Flecke an den Blättern. Im Frühjahr besitzen befallene Pflanzen oft kürzere Internodien. Mischinfektionen von PDV mit PNRSV sind nicht ungewöhnlich. Für PNRSV spezifische Symptome sind chlorotische Ringe, sowie kleine nekrotische Flecken, welche von einem dunklen Gewebe umgeben sind. Abgestorbene Teile fallen aus den Blättern und hinterlassen runde Löcher. Bei der Sauerkirsche ist PNRSV auch als „Stecklenberger Krankheit“ bekannt. Als weiteres Synonym wird im Deutschen die Bezeichnung „Nekrotische Ringfleckigkeit“ verwendet. Beide Virusarten werden durch Veredlung, sowie durch Pollen und Samen übertragen (Németh, 1986).

Im August 2008 wurden wurzelechte einjährige Pflanzen mit unterschiedlichem Resistenzgrad gegenüber PPV mittels Chipinokulation mit PDV und PNRSV infiziert (Tab. 6.2-1). Hierbei handelte sich sowohl um Einzel-, als auch Mischinfektionen. Die veredelten Bäume wurden als Reiser Mutterbäume herangezogen. Das infizierte Reiser material stammt von Bäumen des als Unterlagen für Kirschen verwendeten Zuchtklons 'F12/1'. Die Edelreiser wurden von Dr. Christa Lankes vom Lehr- und Forschungsbereich Gartenbauwissenschaft des Instituts für Nutzpflanzenwissenschaften

und Ressourcenschutz von der Universität Bonn zur Verfügung gestellt.



Abb. 6.2-1: Infektion eines Reiser Mutterbaums durch Chip-Veredlung mit Edelreisern von Kirschbäumen der Sorte 'F12/1', die mit PDV und PNRSV infiziert sind.

Bei der Inokulation der Reiser Mutterbäume kam es nach einer kurzzeitigen Verwachsung der Veredelungen zu einer Unverträglichkeitsreaktion, und die infizierten Chips der Kirschbäume wurden wieder abgestoßen (Abb. 6.2-1). Die Reiser Mutterbäume, welche mittels Multiplex-PCR (Kapitel 5.1.4.2, Seite 33) auf PDV und PNRSV positiv getestet wurden (Abbildung 6.2-2), wurden anschließend zum Schnitt von infizierten Edelreisern für nachfolgende Versuche verwendet. Im Sommer 2009 wurden Pflanzen von vier unterschiedlichen Zuchtklonen (Tab. 6.2-1) mit PDV (*Prune dwarf virus*) und PNRSV (*Prunus necrotic ringspot virus*) inokuliert: 'Katinka' (sensibel), 'Hoh 6774' (mittelstark hypersensibel), 'Hoh 4517' (stark hypersensibel) und 'Jojo' (stark hypersensibel). Bei den Versuchspflanzen handelte es sich um *in vitro* vermehrte Pflanzen.

Tab. 6.2-1: Anzahl der im Versuch verwendeter Zuchtklone mit unterschiedlicher Anfälligkeit gegenüber PPV. +: PPV-positive Variante; – PPV-negative Variante.

	Anfälligkeit gegenüber PPV	Kontrolle		PDV		PNRSV		PDV + PNRSV	
		+	-	+	-	+	-	+	-
Hoh 4517	stark hypersensibel	9	12	8	2	10	3	14	4
Jojo	stark hypersensibel	8	12	4	2	7	7	4	
Hoh 6774	mittelstark hypersensibel	1	1				1	2	1
Katinka	sensibel	3	10	11	1	9	2	9	3

Die Kultivierung der infizierten Versuchspflanzen erfolgte im 5 l Container im Torf-Substrat (Floragard), die Bewässerung erfolgte mittels Tropfbewässerung. Gedüngt wurde mittels Fertigation. Blattläuse, Spinnmilben und Mehltau wurden mit handelsüblichen Präparaten nach guter fachlicher Praxis bekämpft.

Die Pflanzen wurden im Februar 2010 durch Rindenspanveredlung mit PPV aus infizierten Trieben der Sorte 'Elena' inokuliert. Um einen Austrieb der mit PPV infizierten Chips, die in die Pflanzen veredelt wurden, anzuregen, wurden zwei Wochen nach der Veredlung Unterlagenaustriebe auf fünf bis acht Blätter zurückgeschnitten (Abb. 6.2-4 I und Abb. 6.2-6 A). Die Pflanzen wurden erstmals 6 Wochen nach der PPV-Inokulation visuell bonitiert und für den Virusnachweis beprobt. In der Bonitur wurden virus-spezifische (PPV, PDV und PNRSV) Symptome erfasst. Des Weiteren wurden Blattspreitennekrosen, Rindennekrosen und Triebspitzendürre erfasst. Für den Virusnachweis mittels Multiplex-PCR (Abbildung 6.2-2) wurden symptomtragende Blätter des zu testenden Zuchtklons und separat Blätter des mit PPV infizierten 'Elena'-Austriebs verwendet. Eine zweite Bonitur erfolgte nach weiteren vier Wochen.

Ergebnisse: Die sensible Sorte 'Katinka' zeigte nach einer Inokulation mit PPV typische Symptome mit einem Boniturwert zwischen 1 und 2. Bei einer zusätzlichen Infektion mit PDV

oder PNRSV zeigten alle infizierten Pflanzen Blattspreitennekrosen. Bei einer Mischinfektion von PDV und PNRSV zusätzlich zur vorhandenen PPV Infektion reagierten die infizierten Pflanzen ebenfalls mit Blattspreitennekrosen. Kontrollpflanzen, die nur mit PDV, PNRSV oder PDV und PNRSV infiziert waren, hatten keine Blattspreitennekrosen (Abb. 6.2-3 und Abb. 6.2-6).

Die Versuchspflanzen des hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 4517' und der hypersensiblen Sorte 'Jojo' zeigten in der Kontrollvariante keine Auffälligkeiten. Trotz einer vorhandenen Infektion mit PDV, PNRSV oder PDV+PNRSV reagierten die Pflanzen von 'Hoh 4517' auf eine Inokulation mit PPV stark hypersensibel (Abb. 6.2-4). Die Pflanzen zeigten mittelstarke bis starke Rindennekrosen und eine sehr starke Triebspitzendürre. Bei den Mischinfektionen ließen sich bei 'Hoh 4517' PPV typische Symptome feststellen, welche bei alleiniger Infektion mit PPV nicht auftraten (Abb. 6.2-3). 'Jojo' reagierte auf Infektion mit PPV nach einer vorhergehenden Inokulation mit den anderen Viren ebenfalls mit sehr starken Triebspitzendürren. Starke Rindennekrosen, die in der Versuchsvariante mit 'Hoh 4517' auftraten, konnten bei 'Jojo' nicht festgestellt werden (Abb. 6.2-5). Bei einer Infektion von 'Jojo' mit PNRSV und anschließend mit PPV traten neben PPV Symptomen auch Blattspreitennekrosen auf. Eine Infektion von Jojo-Pflanzen mit PPV führte zum Auftreten starker Triebspitzendürren. 'Hoh 6774' reagierte bei

einer Mischinfektion von PDV, PNRSV und PPV mit starker Triebspitzendürre. Im Gegensatz hierzu reagierte die Variante mit einer alleiniger PPV Infektion mit starken Blattspreiten-

nekrosen. Die Stärke der PPV Symptome war bei 'Hoh 6774' in den getesteten Versuchsvarianten ähnlich (Abb. 6.2-3 und Abb. 6.2-7).

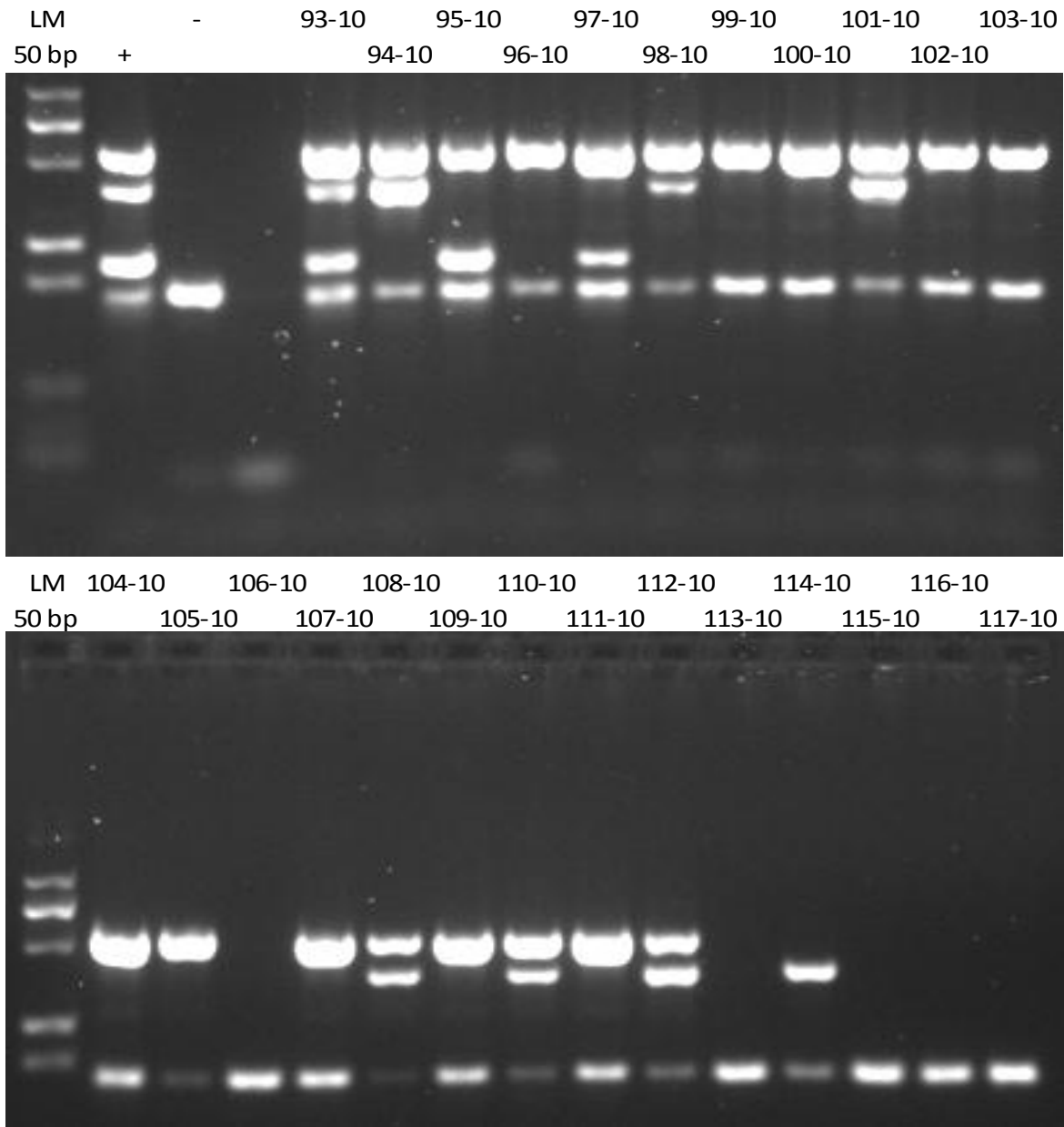


Abb. 6.2-2: Gelelektrophoretisch aufgetrennte Amplifikate, die beim Nachweis von PDV, PNRSV und PPV in pflanzlichen Proben mittels Multiplex-PCR entstehen. Beprobte wurden Pflanzen von 'Hoh 4517', sowie der pinzierte Austrieb des mit PPV infizierten Rindenspans: Interne Kontrolle bei 181 bp, PDV bei 220 bp, PNRSV bei 425 bp und PPV bei 345 bp. Die + Kontrolle zeigt eine Mischinfektion mit allen drei Viren, die Negativkontrolle zeigt nur die interne Kontrolle als Amplifikationsprodukt und in der Wasserkontrolle (LK) erfolgt keine Amplifikation. Anschließend sind die verschiedenen Proben aufgetragen, die mittels Multiplex-PCR getestet wurden. LM = gene ruler 50 bp.

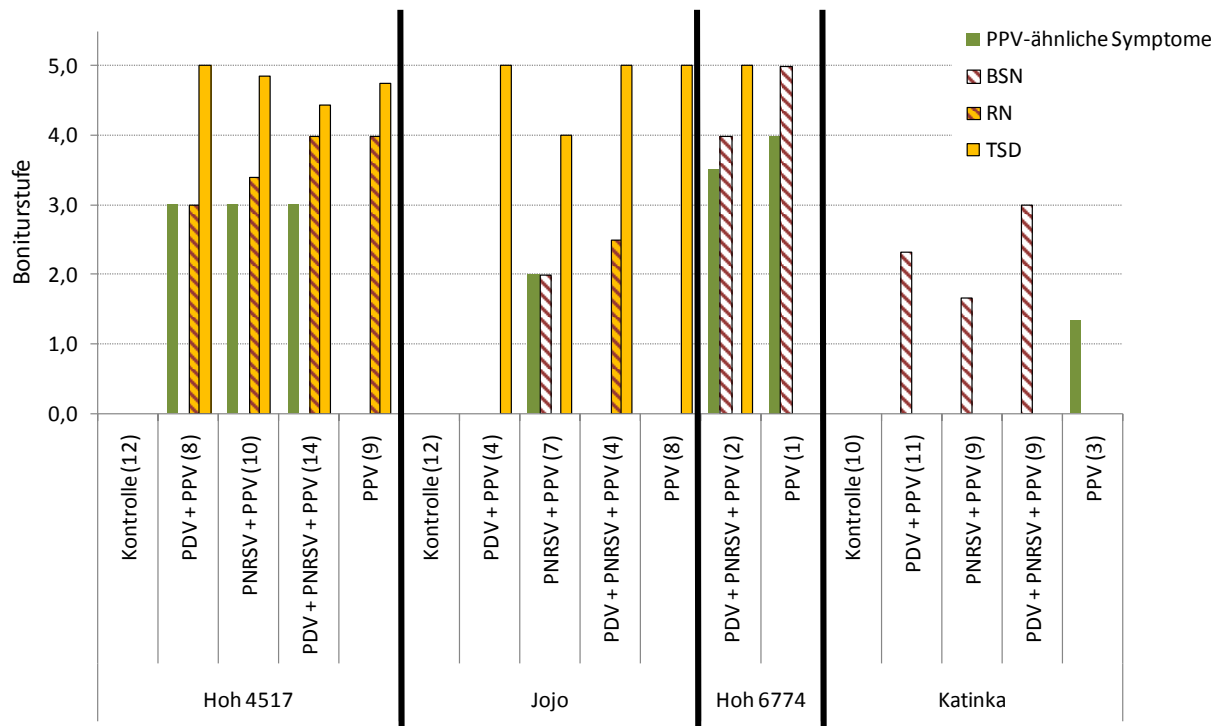


Abb. 6.2-3: Gemittelte Boniturwerte von PPV, Blattspaltennekrosen (BSN), Rindennekrosen (RN) und Triebspitzendürre (TSD) in den jeweiligen Varianten der stark hypersensiblen Zuchtklone 'Hoh 4517' und 'Jojo', des mittelstark hypersensiblen Klons 'Hoh 6774' und der sensiblen Sorte 'Katinka' mit der jeweils getesteten Pflanzenzahl in Klammern.

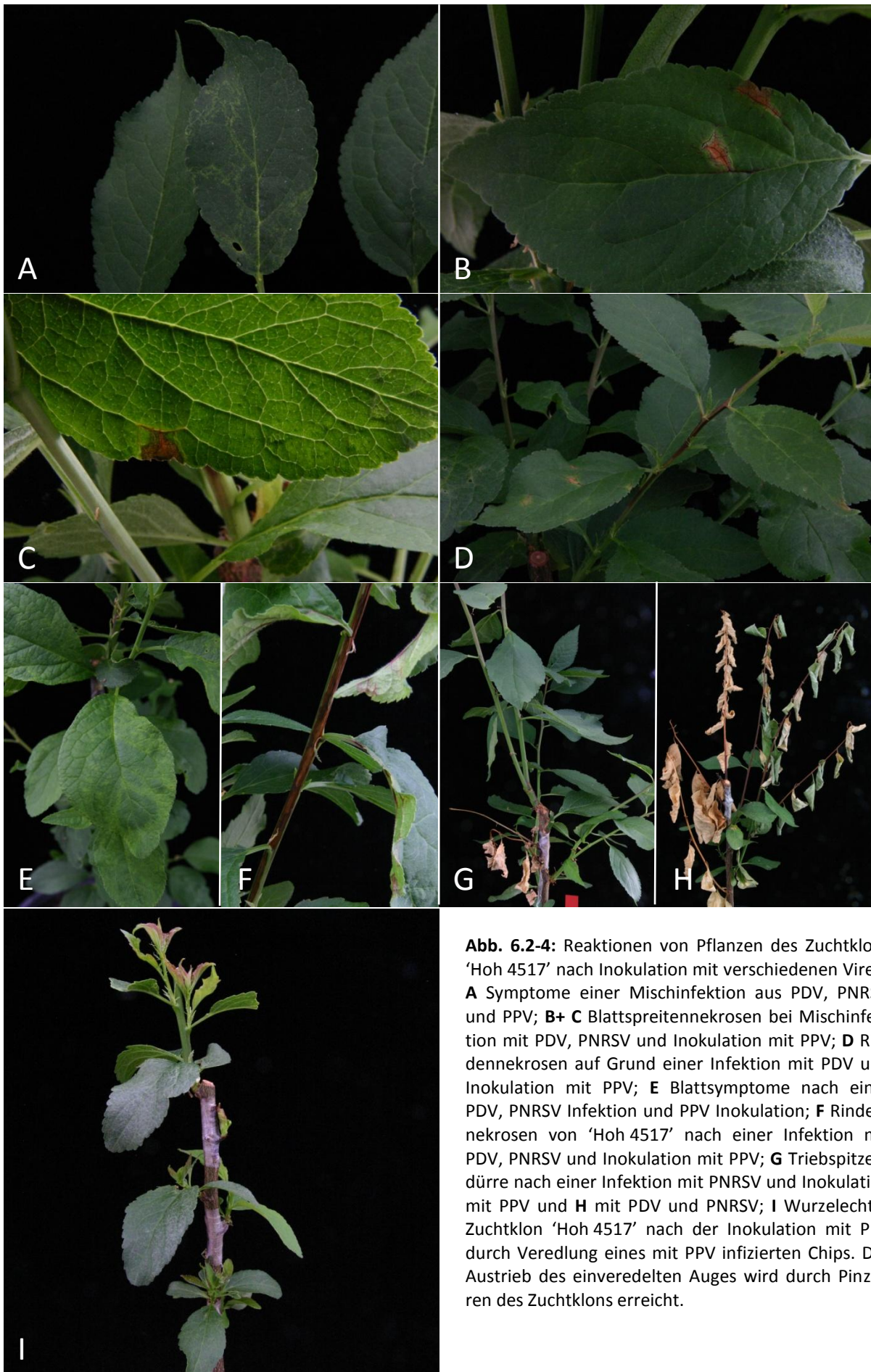


Abb. 6.2-4: Reaktionen von Pflanzen des Zuchtklons 'Hoh 4517' nach Inokulation mit verschiedenen Viren: **A** Symptome einer Mischinfektion aus PDV, PNRSV und PPV; **B+ C** Blattspaltennekrosen bei Mischinfektion mit PDV, PNRSV und Inokulation mit PPV; **D** Rindennekrosen auf Grund einer Infektion mit PDV und Inokulation mit PPV; **E** Blattsymptome nach einer PDV, PNRSV Infektion und PPV Inokulation; **F** Rindennekrosen von 'Hoh 4517' nach einer Infektion mit PDV, PNRSV und Inokulation mit PPV; **G** Triebspitzendürre nach einer Infektion mit PNRSV und Inokulation mit PPV und **H** mit PDV und PNRSV; **I** Wurzelechter Zuchtklon 'Hoh 4517' nach der Inokulation mit PPV durch Veredlung eines mit PPV infizierten Chips. Der Austrieb des einveredelten Auges wird durch Pinzieren des Zuchtklons erreicht.

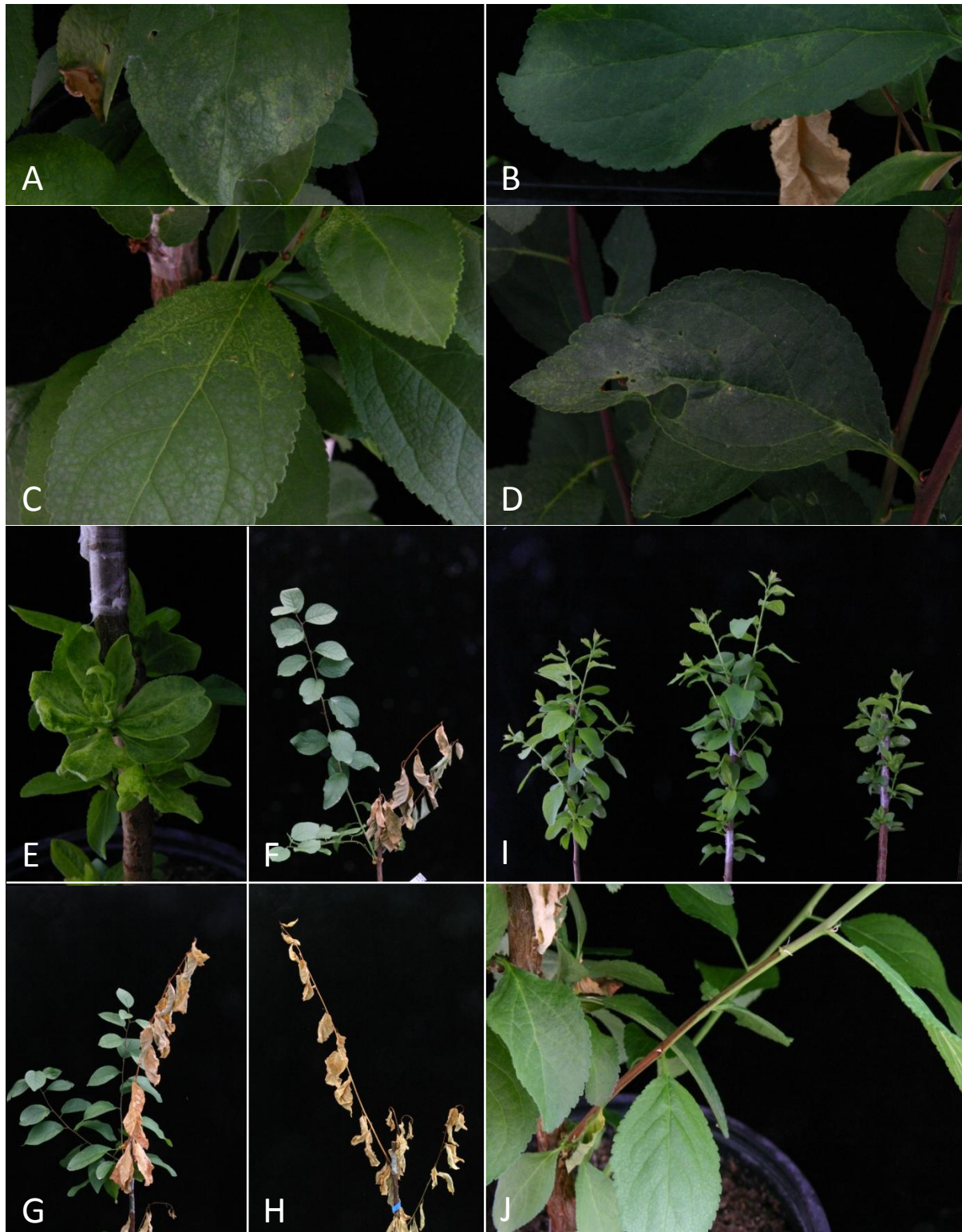


Abb. 6.2-5: Reaktionen von Pflanzen der Sorte 'Jojo' nach Inokulation und Infektion mit verschiedenen Viren: **A** Chlorotische Ringe und Aufhellungen von mit PNRSV und **B-C** mit PNRSV und PPV infizierte und inokulierte Pflanzen; **D** Chlorosen und Blattspreitennekrosen an einer mit PDV, PNRSV und PPV infizierten und inokulierten Pflanze; **E** Chlorosen und stark gestauchtes Wachstum einer mit PDV inokulierten Pflanze; **F** Triebspitzendürre nach der Inokulation mit PPV; **G-H** Triebspitzendürre von Versuchspflanzen infiziert mit PNRSV und inokuliert mit PPV; **I** Unterschiedliches Wachstum von virusfreier Kontrollpflanze (links), mit PNRSV (Mitte) und PDV (rechts) infizierter Pflanzen; **J** Rindennekrosen einer mit PDV, PNRSV und PPV infizierten und inokulierten Pflanze.

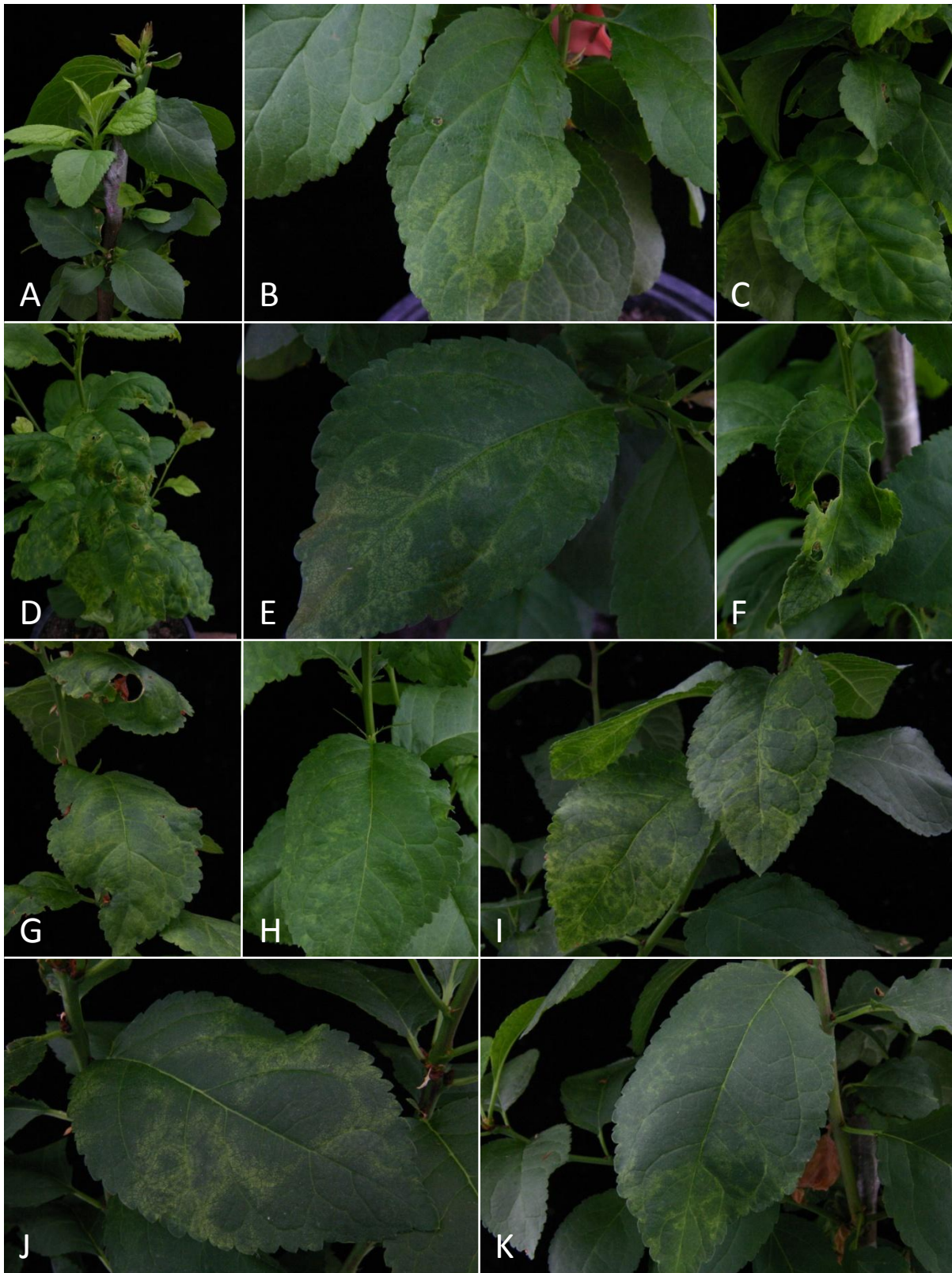


Abb. 6.2-6: Reaktionen der gegenüber PPV sensiblen Sorte 'Katinka' im biotischen Stressversuch **A** Austrieb des mit PPV infizierten Chips veredelt in wurzelechte 'Katinka'; **B-K** Symptomausprägungen von Pflanzen nach Inokulation mit verschiedenen Viren: **B** PPV; **C-D** PDV; **E** PNRSV; **F** PDV und PNRSV; **G** PNRSV und PPV; **H** PDV und PPV; **I** PNRSV und PPV; **J-K** PDV, PNRSV und PPV.



Abb. 6.2-7: Reaktionen des mittelstark hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 6774' im biotischen Stressversuch **A** beginnender Austrieb des mit PPV inokulierten Chips veredelt in wurzelechte 'Hoh 6774' nach vorhergegangene Pinzieren; **B-D** Pflanzen mit Mischinfektionen aus PDV, PNRSV und PPV; **B** Blattspaltennekrosen und anthocyanfarbene Verfärbungen der Blattadern; **C** Triebspitzendürre; **D** Blattspaltennekrosen.

Diskussion: Die sensible Sorte 'Katinka' zeigte bei einer Mischinfektion von PPV mit anderen Viren stark sensible Reaktionen in Form von Blattspreitennekrosen. In der Kontrollvariante ohne PPV Infektion zeigten die Pflanzen viral bedingte Chlorosen auf der Blattspalte und keine Nekrosen. Mukasa et al. (2006) beschreiben ebenfalls eine verstärkte Krankheitsausprägung bei der Süßkartoffel bei Mischinfektion mit einem Ipomovirus, einem Crinivirus und einem Potyvirus. Ebenso wird ein synergistischer Effekt durch eine verstärkte Symptomausprägung bei Maniok (*Manihot esculenta*) verursacht durch die Mischinfektion von 'African cassava mosaic virus' und 'East African cassava mosaic virus' durch Fondong et al. (2000) beschrieben. Der hypersensible Zuchtklon 'Hoh 4517' reagierte bei einer Infektion mit PPV und auch bei Mischinfektionen gleichermaßen. Die stark hypersensiblen Reaktionen von 'Hoh 4517' äußerten sich vor allem in der Bildung von Triebspitzendürren (Abb. 6.2-4 G+H). Von Karyeija et al. (2000) wird ein synergistischer Effekt von 'Sweet potato feathery mottle virus' (SPFMV) und 'Sweet potato chlorotic stunt virus' (SPCSV), welche in Süßkartoffel inokuliert wurden, durch eine verstärkte Symptomausprägung beobachtet. Bei 'Hoh 4517' war aber bei einer Mischinfektion keine verstärkte oder schnellere hypersensible Reaktion nach vorangegangener Infektion mit PDV, PNRSV oder PDV+PNRSV festzustellen. Ein Resistenzdurchbruch nach viraler Mischinfektion wurde beispielsweise bei gegenüber Gurkenmosaikvirus (CMV) resistenten Gurken beobachtet. Bei einer Infektion mit SPFMV und SPCSV wurde die Resistenz für CMV durchbrochen (Karyeija

et al., 2000; Cohen & Loebenstein, 1991). Dies traf bei der Hypersensibilitätsresistenz von 'Hoh 4517' nicht zu. Ebenso unbeeinträchtigt war die Hypersensibilitätsresistenz der Sorte 'Jojo' bei Mischinfektionen mit anderen Viren. Beim mittelstark hypersensiblen Zuchtklon 'Hoh 6774' war die Ausprägung der Hypersensibilitätsresistenz bei einer vorhandenen Mischinfektion mit PDV+PNRSV stärker als bei einer alleinigen Infektion mit PPV (Abb. 6.2-3). Eine gegenseitige Beeinflussung von Viren bei einer vorhandenen Mischinfektion wurde von Polpool und Inouge (1986) beobachtet. So kam es bei einer Infektion von Gurkenpflanzen mit 'Zucchini yellow mosaic virus' (ZYMV) und mit Gurkenmosaikvirus zu einem verringerten Virustiter von ZYMV und zu einem erhöhtem Titer von CMV.

Zusammenfassung: Eine Mischinfektion der beiden stark hypersensiblen Zuchtklone 'Jojo' und 'Hoh 4517' mit PDV, PNRSV oder PDV+PNRSV und einer anschließenden Infektion mit PPV führte zu keiner Beeinträchtigung der Hypersensibilitätsresistenz gegenüber PPV (Abb. 6.2-4 und Abb. 6.2-5). Der mittelstark hypersensible Zuchtklon 'Hoh 6774' zeigte eine stärkere Ausprägung der hypersensiblen Reaktion bei Mischinfektionen. Hierbei kam es vor allem zur Bildung von Triebspitzendürre, die für diesen Zuchtklon atypisch sind (Abb. 6.2-7). Eine Verstärkung der PPV-Symptome bis hin zu Blattspreitennekrosen auf Grund einer vorhergegangenen Mischinfektion war auch bei der sensiblen Sorte 'Katinka' zu beobachten.

7 Zusammenfassung

Die Scharkakrankheit, die bedeutendste Erkrankung im Steinobstanbau, verursachte über die letzten drei Jahrzehnte einen geschätzten Schaden von rund 10 Milliarden Euro. Bemühungen zur Bekämpfung dieser Krankheit wurden vor allem mit der Züchtung von quantitativ resistenten und toleranten Sorten angestrengt. Beeinflusst durch Umweltfaktoren handelt es sich bei diesen jedoch um sehr instabile Resistenzen, was somit eine Bekämpfung der Virose nicht vollständig ermöglicht. Ein anderer züchterischer Ansatz ist die Gewinnung von hypersensiblen Sorten, wie zum Beispiel die Sorte 'Jojo', die eine vollständige Resistenz gegenüber der Scharkakrankheit gewährleisten.

Vererbung: Eine genaue Kenntnis der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz ist für einen schnellen und zielgerichteten Züchtungsweg unerlässlich. Auf Grund des hexaploiden Genoms von *Prunus domestica* erfolgte mittels interspezifischer Hybridisierungen eine Reduktion des Chromosomensatzes um Vererbungsanalysen zu vereinfachen und anschließend diese Resistenz auf verwandte Arten zu übertragen. Insgesamt wurden 177 interspezifische Zuchtklone, hervorgegangen aus Kreuzungen von hypersensiblen Zuchtklonen der Europäischen Pflaume mit *Prunus spinosa*, *Prunus cerasifera*, *Prunus salicina*, *Prunus armeniaca* und bereits vorhandenen Hybriden, mittels Doppelveredlung auf Hypersensibilitätsresistenz getestet.

In Vererbungsanalysen zur Hypersensibilitätsresistenz bei interspezifischen Hybriden konnte eine Aufspaltung der Nachkommen im Verhältnis von 1:1 in sensible und stark hyper-

sensible Zuchtklone gezeigt werden, was auf eine monogene Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz schließen lässt.

In Vererbungsanalysen bei intraspezifischen Kreuzungen wurden die Daten von insgesamt 4801 Zuchtklonen ausgewertet. Die genetische Determinierung der Hypersensibilitätsresistenz im Kerngenom konnte auf Grund von reziproken Kreuzungen der Sorten 'Jojo' × 'Fellenberg' und 'Jojo' × 'Hanita' nachgewiesen werden.

Als Ursprung der Hypersensibilität der Sorte 'Jojo' wurde die Sorte 'Ortenauer' nachgewiesen. Bei der Auswertung der allgemeinen Kombinationseignung von Zuchtklonen bezüglich der Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz konnte gezeigt werden, dass diese vom Resistenzgrad des Kreuzungspartners abhängig ist. Je höher der Resistenzgrad der Eltern, umso mehr Nachkommen sind hypersensibel. Die schlechteste Kombinationseignung wurde bei quantitativ resistenten Zuchtklonen nachgewiesen. Ein Einfluss der quantitativen Resistenz ließ sich noch bei Kreuzungen in nachfolgenden Generationen hinsichtlich der geringeren Anzahl an hypersensiblen Zuchtklonen feststellen. Die signifikant geringere allgemeine Kombinationseignung zeigte sich auch in hypersensiblen F₂-Nachkommen von 'Ortenauer' wieder. Die Nachkommen aller einzelner intraspezifischer Kreuzungskombinationen wurden auf Grund ihrer phänotypischen Reaktion gegenüber PPV in vier Klassen eingeteilt. Eine eindeutige 1:1-Aufspaltung, wie bei den interspezifischen Zuchtklonen wurde nicht festgestellt. Setzt man die rechnerischen Ansätze für die Beteili-

gung der Anzahl an dominanten Allelen, die für eine Ausprägung bei interspezifischen Hybriden verantwortlich sind, bei intraspezifischen Hybriden fort, kann man einen „Allel-Dosis-Effekt“, der monogen bedingt ist, in Betracht ziehen.

Stabilität gegenüber abiotischen Umweltfaktoren: Es konnte gezeigt werden, dass der Einfluss von Licht-, Temperatur- und Trockenstress zu keiner Beeinträchtigung der hypersensiblen Reaktion bei stark hypersensiblen Zuchtklonen führte. Eine erfolgreiche Anwendung von abiotischen Stressbedingungen wurde mittels histochemischer Untersuchungen der Blattmorphologie nachgewiesen. Pflanzen unter Stress zeigten hierbei eine gleichmäßigere Anordnung der Blattzellen mit kleineren Interzellularen und eine dickere Kutikula. Schwach hypersensible Zuchtklone zeigten unter Einwirkung von Stress eine verringerte Ausprägung einer hypersensiblen Reaktion. Ein Zusammenhang zwischen hohen Virustiter und verringerten Pflanzenwachstum oder umgekehrt bei den sensiblen Sorten 'Kattinka' und 'Hauszwetsche, Schüfer' lag nicht vor. Hinsichtlich der Symptomausprägung sowohl an Blättern von gestressten Pflanzen, als auch an Blättern von Pflanzen, die unter optimalen Bedingungen kultiviert wurden, ließ sich kein signifikanter Unterschied bei den

einzelnen Zuchtklonen innerhalb beider Varianten und in beiden Versuchsjahren beobachten.

Stabilität gegenüber biotischen Umweltfaktoren: Mischinfektionen führen zu keiner Beeinträchtigung der hypersensiblen Reaktion. In Versuchen mit hypersensiblen Zuchtklonen, die mit PDV und PNRSV infiziert waren und denen anschließend PPV inokuliert wurde, konnte kein Resistenzdurchbruch und auch keine Beeinträchtigung im Ablauf der hypersensiblen Reaktion beobachtet werden. Schwach hypersensible Zuchtklone zeigten hierbei eine verstärkte Reaktion gegenüber PPV.

Ausblick: Die Züchtung und Nutzung hypersensibler Zuchtklone bei der Europäischen Pflaume ermöglicht eine zielgerechte Bekämpfung der Scharkakrankheit in befallenen Gebieten. Vor allem die Stabilität dieser Resistenz gegenüber Umweltfaktoren hinsichtlich des immer aktueller werdenden Klimawandels trägt hierzu bei. Die erfolgreiche Züchtung von hypersensiblen interspezifischen Hybriden ermöglicht es, dass man die Hypersensibilitätsresistenz in Zukunft auch auf die wirtschaftlich bedeutenden verwandten Arten, wie zum Beispiel die Aprikose, den Pfirsich oder die Japanische Pflaume überträgt.

8 Summary

The sharka disease, the most important stone fruit disease in the world, has caused a yield loss of about 10 billion euros over the last three decades. Efforts to reach an inhibition of the virus spread resulted in the breeding of quantitative resistant and tolerant genotypes. When it is influenced by environmental factors, this type of resistance is not stable. Thus there is no complete control of the disease. Another approach is breeding for hypersensitive resistant genotypes, like the cultivar 'Jojo', which ensure a complete resistant to PPV.

Inheritance: Detailed knowledge of the inheritance of hypersensitivity resistance is essential for a fast and precise breeding program. Due to the hexaploid genome of *Prunus domestica* a reduction of the genome by interspecific hybridization was conducted. Analysis for the inheritance can be more easily carried out and in addition one can transfer this type of resistance into related species. In total 177 genotypes have been tested for hypersensitivity resistance. These genotypes arose from crossing of *Prunus domestica* with *Prunus spinosa*, *Prunus cerasifera*, *Prunus salicina*, *Prunus armeniaca* and already existing hybrids by double grafting.

Analyses for inheritance on interspecific hybrids have shown dissociation in sensitive and strong hypersensitive genotypes at the ratio of 1:1, which suggests a monogenetic inheritance.

Analyses for inheritance were also carried out on 4801 intraspecific genotypes. One can prove that there is a genetical determination of the hypersensitivity resistance in the nuclear genome by executing reciprocal crossings of 'Jojo' × 'Fellenberg' and 'Jojo' × 'Hanita'.

The origin of the hypersensitivity resistance was verified to arise from the cultivar 'Ortenauer'. The hypersensitivity resistance of 'Ortenauer' has a significantly better inheritance than the one which goes back to the crossing of 'K4'-hybrid.

The evaluation of the general combining ability results in a dependence of the crossing partner concerning the height of the inheritance of hypersensitivity resistance. This implies the higher the degree of resistance the more of the progenies are hypersensitive. The worst combining ability was verified by the combination of hypersensitive genotypes with quantitatively resistant ones. One can show that there was also an influence on the F2 generation due to the amount of hypersensitive genotypes. The significantly lower amount of hypersensitive genotypes could be also verified in the F2 generation of hypersensitive ancestors. Because of the phenotypically hypersensitive reaction the progenies were classified into four groups from sensitive to strong hypersensitive ones. There was no clear dissociation between sensitive and hypersensitive genotypes as in the inheritance at interspecific hybrids. If there should be a monogenetic determination of the hypersensitivity resistance, it would be possible that there is the potential for an "allel-dose-effect".

Stability concerning abiotic environmental factors: There is no influence of abiotic environmental factors on the stability of the hypersensitivity resistance. The successful

implementation of stress was proved by histochemical investigations of the morphology of the leaves. Plants which were exposed to stress had a more regular adjustment of the plant cells with smaller intercells and a thicker cuticula. However under stress conditions weak hypersensitive genotypes have shown a reduced hypersensitive reaction. Furthermore there was no correlation between the quantities of virus in plants and the development of symptoms the leaves of the plants of the sensitive cultivars 'Common Prune, Schüfer' and 'Katinka'. There is proof that there was also no significant difference between symptoms on leaves of plants under stress and of plants under optimal conditions.

Stability concerning biotical environmental factors: Infections with several viruses have no influence on the hypersensitive reac-

tion. In experiments with hypersensitive genotypes, which were infected with PDV and PNRSV and afterwards inoculated with PPV, do not exercise any influence in the course of the hypersensitive reaction. Instead it could be shown that weak hypersensitive genotypes have stronger reactions towards PPV, when infected with other viruses.

Prospects: The breeding for hypersensitive genotypes and their availability offers a purposeful way to control the sharka disease in affected areas. In particular the stability of this resistance towards environmental factors in the presence of the climate change accounts for this. The successful breeding for interspecific hypersensitivity resistant genotypes offers the possibility of transferring this resistance to related species, such as to apricot, to peach or to Japanese plum.

Literaturverzeichnis

- FAOSTAT. (2011). Abgerufen am Januar 2011 von <http://faostat.fao.org>
- Atanasoff, D. (1933). *Plum pox. A new virus disease. Jahrbuch der Universität Sofia (Bulgarien)*. (L. Fakultät, Hrsg.)
- Atanasoff, D. (1935). Mosaik of stone fruits. *Phytopathologische Zeitschrift*, *8*, 259-284.
- Audenaert, K., Meyer, G. D., & Höfte, M. (2002). Abscisic Acid Determines Basal Susceptibility of Tomato to *Botrytis cinerea* and Suppresses Salicylic Acid-Dependent Signaling Mechanisms. *Plant Physiology*, *128*, 491-501.
- Ayres, P. (1984). The interaction between environmental stress injury and biotic disease physiology. *Annual Review of Phytopathology*, *22*, 53-75.
- Bivol, T., Meyer, U., Verderevskaja, T., & Kegler, H. (1988). Nachkommenschaftsprüfung von Pflaumenhybriden auf Scharkaresistenz. *Archiv für Züchtungsforschung*, *18*, 385-392.
- Blystad, D., & Munthe, T. (2006). Current status of Plum pox virus and sharka disease worldwide: Plum pox virus (PPV) in Norway. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, *36*, 205-218.
- Bodin, M., Glasa, M., Verger, D., Costes, E., & Dosba, F. (2003). Distribution of the Sour Cherry Isolate of Plum Pox Virus in Infected Prunus Rootstocks. *Journal of Phytopathology*, *151*, 625-630.
- Cambra, M., Asensio, M., Gorris, M., Pérez, F., Camarasa, E., Garcíá, J., et al. (1995). Detection of Plum Pox virus using monoclonal antibodies to structural and non-structural proteins. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, *24*, 569-577.
- Cambra, M., Capote, N., Myrta, A., & Llácer, G. (2006). Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, *36*, 202-204.
- Candresse, T., & Cambra, M. (2006). Causal agent of sharka disease: historical perspective and current status of Plum pox virus strains. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, *36*, 2, 239-246.
- Candresse, T., Cambra, M., Dallot, S., Lanneau, M., Asensio, M., Gorris, M., et al. (1998). Comparison of monoclonal antibodies and polymerase chain reaction assays for the typing of isolates belonging to the D and M serotypes of Plum Pox Potyvirus. *Phytopathology*, *88*, 3, 198-204.
- Chung, B., Miller, W., Atkins, J., & Firth, A. (2008). An overlapping essential gene in the Potyviridae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, *105*, 5897-5902.
- Cohen, J., & Loebenstein, G. (1991). Role of a Whitefly-Transmitted Agent in Infection of Sweet Potato by Cucumber Mosaic Virus. *Plant Disease*, *75*, 291-292.

- Coll, N., Epple, P., & Dangl, D. J. (2011). Programmed cell death in the plant immune system. *Cell Death and Differentiation*, *18*, 1247-1256.
- Dangl, D. J., & G., J. D. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, *411*, 826-833.
- Dangl, D. J., & Jones, J. D. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, *411*, 826-833.
- Decroocq, V., Foulongne, M., Lambert, P., Gall, O. e., Mantin, C., Pascal, T., et al. (2005). Analogues of virus resistance genes map to QTLs for resistance to sharka disease in *Prunus davidiana*. *Molecular genetics and genomics*, *272*, 6, 680-689.
- Dicenta, F., Martinez-Gomez, P., Rubio, M., & M., A. J. (2003). Localisation and movement of Plum pox virus in apricot stem tissues. *Annals of Applied Biology*, *142*, 99-105.
- Dudley, R., Edwards, P., Ekins, R., Finney, D., McKenzie, I., Raab, G., et al. (1985). Guidelines for Immunoassay Data Processing. *Clinical Chemistry*, *31*, 8, 1264-1271.
- Elstner, E., Oßwald, W., & Scheider, I. (1996). *Phytopathologie*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH.
- EPPO. (2004). Diagnostic protocols for regulated pests: Plum pox potyvirus. *EPPO Bulletin*, *34*, 247-256.
- Escalettes, V., Dosba, F., Lansac, M., & Eyquard, J. (1998). Genetic resistance to plum pox potyvirus in peaches. *Acta Horticulturae*, *465*, 689-697.
- Esmenjaud, D., & Dirlewanger, E. (2007). *Fruits and Nuts in: Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. (C. Kole, Hrsg.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Flor, H. (1956). The complementary genic system in flax and flax rust. *Advances in Genetics*, *8*, 29-54.
- Fondong, V., Pita, J. S., Rey, M., Kochko, A. d., Beachy, R., & Fauquet, C. (2000). Evidence of synergism between African cassava mosaic virus and a new double-recombinant geminivirus infecting cassava in Cameroon. *Journal of General Virology*, *81*, 287-297.
- Glasa, M., Palkovics, L., Kominek, P., Labonne, G., Pittnerova, S., Kudela, O., et al. (2004). Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of Plum pox virus (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. *Journal of General Virology*, *85*, 2671-2681.
- Grüntzig, M., Ernst, I., Herzog, U., Kegler, H., Fischer, M., & Fuchs, E. (2001). Zum Verhalten von *Prunus armeniaca* L. und *P. domestica* L. gegenüber dem Plum pox virus (PPV). *Archiv für Phy*, *34*, 435-462.
- Hartmann, W. (1990). Das Scharkaproblem im Zwetschenanbau und die Frage der Sortentoleranz bzw. -resistenz. *Obstbau*, *9*, 390-393.
- Hartmann, W. (1998 a). Strategy for breeding sharka resistant plums. *Acta Horticulturae*, *478*, 31-38.
- Hartmann, W. (1999). Hohenheimer Pflaumen- und Zwetschenzüchtung. *Erwerbsobstbau*, *41*, 75-80.

- Hartmann, W. (1999). Jojo- die erste absolut scharkaresistente Zwetschensorte. *Obstbau*, 2, 68-69.
- Hartmann, W. (2001). Die Bedeutung der Hypersensibilität für die Züchtung scharkaresistenter Pflaumen und Zwetschen. *Erwerbsobstbau*, 43, 125-130.
- Hartmann, W. (2002). The importance of hypersensitivity for breeding plums and prunes resistant to plum pox virus. *Acta Horticulturae*, 577, 33-37.
- Hartmann, W., & Neumüller, M. (2006). Breeding for resistance: breeding for Plum pox virus resistant plums (*Prunus domestica* L.) in Germany. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 332-336.
- Hartmann, W., & Neumüller, M. (2009). *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species*. (S. Jain, & P. Priyadarshan, Hrsg.) Springer Science + Business Media, LLC.
- Hartmann, W., & Neumüller, M. (2010). Control of Sharka by breeding. *Acta Horticulturae*, 874, 229-237.
- Hartmann, W., & Petruschke, M. (2000). Sharka resistant plums and prunes by utilisation of hypersensitivity. *Acta Horticulturae*, 538, 391-395.
- Hatsugai, N., Iwasaki, S., Tamura, K., Kondo, M., Fuji, K., Ogasawara, K., et al. (2009). A novel membrane fusion-mediated plant immunity against bacterial pathogens. *Genes & Development*, 23, 2496-2506.
- Heath, M. (2000). Hypersensitive response-related death. *Plant Molecular Biology*, 44, 321-334.
- Hull, R. (1989). The movement of viruses in plants. *Annual Review of Phytopathology*, 27, 213-240.
- Ireland, C. R. (2010). *Experimental Statistics for Agriculture and Horticulture*. Cambridge University Press.
- Jabs, T., & Slusarenko, A. (2000). *Mechanisms of Resistance to Plant Disease*. (A. Slusarenko, R. S. S., & L. C. van, Hrsg.) Kluwer Academic Publishers.
- James, D., & Glasa, M. (2006). Causal agent of sharka disease: new and emerging events associated with Plum pox virus characterization. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 247-250.
- James, D., & Thompson, D. (2006). Hosts and symptoms of Plum Pox Virus: Ornamental and wild *Prunus* species. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 222-224.
- James, D., Varga, A., Thompson, D., & Hayes, S. (2003). Detection of a New and Unusual Isolate of Plum pox virus in Plum (*Prunus domestica*). *Plant Disease*, 87, 1119-1124.
- Jarosova, J., & Kundu, J. (2010). Simultaneous detection of stone fruit tree viruses by one-step multiplex RT-PCR. *Scient, in press*.
- Jones, J. D., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444, 16, 323-329.
- Kalashyan, Y., Bilkey, T., Verderevskaja, T., & Rubina, E. (1994). Plum pox potyvirus in sour cherry in Moldava. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24, 645-649.
- Karnovsky, M. (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron

- microscopy. *The Journal of Cell Biology*, 27, 137A-138A.
- Karyeija, R., Kreuze, J., Gibson, R., & Valkonen, J. (2000). Synergistic Interactions of a Potyvirus and a Phloem-Limited Crinivirus in Sweet Potato Plants. *Virology*, 269, 26-36.
- Kegler, H., & Fridt, W. (1993). *Resistenz von Kulturpflanzen gegen pflanzenpathogene Viren*. (H. Kegler, Hrsg.) Gustav Fischer Verlag Jena.
- Kegler, H., & Grüntzig. (1992). The resistance of the plum hybrid K4 and its progenies to plum pox virus. *Acta*, 309, 229-234.
- Kegler, H., Bauer, E., Grüntzig, M., Fuchs, E., Verderevskaja, T., & Bivol, T. (1985). Nachweis unterschiedlicher Resistenztypen bei Pflaumen gegen das Scharka-Virus (plum pox virus). *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz*, 5, 339-346.
- Kegler, H., Fuchs, E., Grüntzig, M., & Schwarz, S. (1998). Some results of 50 years research on the resistance to plum pox virus. *Acta Virologica*, 42, 200-215.
- Kegler, H., Grüntzig, M., & Fuchs, E. (1994). A glasshouse test for detecting resistance of plum genotypes to plum pox virus. *Acta Horticulturae*, 359, 152-158.
- Kegler, H., Grüntzig, M., & Schimanski, H.-H. (1991). Zur Resistenz der Pflaumenhybride K4 und ihrer F1-Nachkommen gegen das Scharka-Virus der Pflaume (plum pox virus). *Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst (Braunschweig)*, 43102-106.
- Kegler, H., Kleinhempel, H., Meyer, U., Berka, K., & Grüntzig, M. (1989). Messung von Merkmalen der quantitativen Scharkaresistenz der Pflaume und Nachweis ihrer Wechselbeziehungen. *Journal of Phytopathology*, 125, 25-32.
- Kegler, H., M.and, E. G., Rankovic, M., & Ehrig, F. (2001). Hypersensitivity of plum genotypes to Plum pox virus. *Journal of Phytopathology*, 149, 213-218.
- Koga, H., Dohi, K., & Mori, M. (2005). Abscisic acid and low temperatures suppress the whole plant-specific resistance reaction of rice plants to the infection of *Magnaporthe grisea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 65, 3-9.
- Krczal, H., & Kunze, L. (1986). Untersuchungen zur Bekämpfung der Scharkakrankheit in einem Zwetschenbestand in isolierter Lage. *Obstbau*, 2, 58-60.
- Lahmatova, I., Verderevskaja, T., E.Z., Z., & A.M., J. (1998). Inheritance of Plum pox virus resistance in plum hybrids. *Acta Horticulturae*, 472,2, 441-446.
- Levitt, J. (1980). *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press New York.
- Levy, L. (2006). Current status of Plum pox virus and sharka disease worldwide: Plum pox virus (PPV) in the United States of America. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 205-218.
- Llácer, G. (2006). Hosts and symptoms of Plum pox virus: Herbaceous hosts. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 227-228.
- Llácer, G., & Cambra, M. (2006). Hosts and symptoms of Plum pox virus: fruiting

- Prunus species. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 219-221.
- López-Moya, J., & García, J. (1999). *Potyvirus*es (Potyviridae). In: *Encyclopedia of Virology* (2. Auflage, Band 3 Ausg.). (R. Webster, & A. Granoff, Hrsg.) Academic Press London.
- López-Moya, J., Fernández-Fernández, M., Cambra, M., & García, J. (2000). Biotechnological aspects of plum pox virus. *Journal of Biotechnology*, 76, 121-136.
- López-Moya, J., Valli, A., & García, J. (2009). *Potyviridae*. In: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.
- Marandel, G., Pascal, T., Candresse, T., & Decroocq, V. (2009). Quantitative resistance to Plum pox virus in Prunus davidiana P1908 linked to components of the eukaryotic translation initiation complex. *Plant Pathology*, 58, 425-435.
- Martínez-Gómez, P., & Dicenta, F. (2000). Evaluation of resistance of apricot cultivars to a Spanish isolate of plum pox potyvirus (PPV). *Plant Breeding*, 119, 2, 179-181.
- Matsumoto, K., Suzuki, Y., Mase, S., Watanabe, T., & Sekizawa, Y. (1980). On the relationship between plant hormones and rice blast resistance. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 46, 307-314.
- Mauch-Mani, B., & Mauch, F. (2005). The role of abscisic acid in plant-pathogen interactions. *Current opinion in plant biology*, 8, 4, 409-414.
- Mayek-Pérez, N., García-Espinosa, R., López-Castaneda, C., Acosta-Gallegos, J., & Simpson, J. (2002). Water relations, histopathology and growth of common bean (Phaseolus vulgaris L.) during pathogenesis of Macrophomina phaseolina under drought stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 60, 185-195.
- Miedaner, T. (2010). *Grundlagen der Pflanzenzüchtung*. (D. Verlags-GmbH, Hrsg.)
- Moore, J. (1967). Relation of temperature to prune dwarf symptom expression on Italian prune leaves. *Phytopathology*, 57, 823.
- Mukasa, S., Rubaihayo, P., & Valkonen, J. (2006). Interactions between a crinivirus, an ipomovirus and a potyvirus in coinfecting sweetpotato plants. *Plant Pathology*, 55, 458-467.
- Myrta, A., Boscia, D., Potere, O., Kölber, M., Nemeth, M., Di Terlizzi, B., et al. (2001). Existence of two serological subclusters of Plum pox virus strain M. *Journal of Plant Pathology*, S. 845-848.
- Navratil, M., Safarova, D., Karesova, R., & Petrzik, K. (2006). Current status of Plum pox virus and sharka disease worldwide: Plum pox virus (PPV) in China. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 205-218.
- Nemchinov, L., & Hadidi, A. (1996). Characterization of the Sour Cherry Strain of Plum Pox Virus. *Phytopathology*, 86, 6, 575-580.
- Németh, M. (1986). *Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees*. Martinus Nijhoff.

- Nemeth, M. (1994). History and importance of plum pox in stone-fruit production. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24, 525-536.
- Neumüller, M. (2005). Die Hypersensibilität der Europäischen Pflaume (*Prunus domestica* L.) gegenüber dem Scharkavirus (Plum pox virus). *Dissertation Universität Hohenheim*.
- Neumüller, M., & Hartmann, W. (2008). The phenotypically quantitative nature of hypersensitivity of European plum (*Prunus domestica* L.) against the Plum pox virus and its description using the hypersensitivity index. *Horticultural Science (Prague)*, 35 (2), 50-64.
- Neumüller, M., Hartmann, W., & Stösser, R. (2007). Inheritance of hypersensitivity of European plum (*Prunus* × *domestica* L.) against Plum pox virus (PPV). *Acta Horticulturae*, 734, 69-76.
- Neumüller, M., Treutter, D., & Hartmann, W. (2010). Breeding for Sharka resistance and high fruit quality in European plum (*Prunus domestica* L.) at Weihenstephan: Breeding strategy and selection tools. *Acta Horticulturae*, 874, 221-227.
- Okie, W., & Hancock, J. (2008). *Temperate Fruit Crop Breeding*. (J. Hancock, Hrsg.) Springer Science + Business Media B.V.
- Okie, W., & Weinberger, J. (1996). *Plums in: Fruit Breeding Volume I, Tree and Tropical Fruits*. (J. Janick, & J. Moore, Hrsg.) John Wiley & Sons, Inc.
- Oldén, E. (1965). *Interspecific plum crosses*. Fjälkestad, Sweden.
- Pascal, T., Kervella, J., Pfeiffer, F., Sauge, M., & Esmenjaud, D. (1998). Evaluation of the interspecific progeny *Prunus persica* cv Summergrand × *Prunus davidiana* for disease resistance and some agronomic features. *Acta Horticulturae*, 465, 185-191.
- Polák, J. (2006). Hosts and symptoms of Plum pox virus: woody species other than fruit and ornamental species of *Prunus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 225-226.
- Polák, J., & Hauptmanová, A. (2009). Preliminary results in vivo thermotherapy of plum, apricot and peach cultivars artificially infected with PPV-M and PPV-D strains of Plum pox virus. *Horticultural Science (Prague)*, 36, 3, 92-96.
- Polák, J., Oukropec, I., Krsba, B., Pívalová, J., & Miller, W. (2003). Difference in reactions of apricot and peach cultivars to Plum pox virus: serological and symptomatological evaluation. *Horticultural Science (Prague)*, 30, 4, 129-134.
- Poolpol, P., & Inouye, T. (1986). Enhancement of Cucumber Mosaic Virus Multiplication by Zucchini Yellow Mosaic Virus in Doubly Infected Cucumber Plants. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 52, 22-30.
- Prichodko, Y. (2006). Current status of Plum pox virus and sharka disease worldwide: Plum pox virus (PPV) in Russia. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36, 205-218.
- Ramming, D., & Cociu, V. (1990). *Plums in: Genetic resources of Temperate Fruit*

- and Nut Crops*. (J. Moore, Hrsg.) ISHS, Wageningen.
- Roggero, P., & Pennazio, S. (1984). Quantitative determination by ELISA of tobacco necrosis virus from necrotic local lesions in tobacco. *Journal of Virological Methods*, *8*, 283-291.
- Rubio, M., Audergon, J., Martínez-Gómez, P., & Dicenta, F. (2007). Testing genetic control hypotheses for Plum pox virus (sharka) resistance in apricot. *Scientia Horticulturae*, *112*, 361-365.
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P., & Dicenta, F. (2008). Study of long-distance movement of Plum pox virus (Sharka) as an alternative resistance-evaluation method in Prunus. *Scientia Horticulturae*, *118*, 223-227.
- Rubio, M., Pascal, T., Bachellez, A., & Lambert, P. (2010). Quantitative trait loci analysis of Plum pox virus resistance in Prunus davidiana P1908: new insights on the organization of genomic resistance regions. *Tree Genetics & Genomes*, *6*, 291-304.
- Salt, S., Tuzun, S., & Kuc, J. (1986). Effects of beta-ionone and abscisic acid on the growth of tobacco and resistance to blue mold. Mimicry of effects of stem infection by Peronospora tabacina Adam. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *28*, 2, 287-297.
- Salvador, B., García, J., & Simón-Mateo, C. (2006). Causal agent of sharka disease: Plum pox virus genome and function of gene products. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, *36*, 229-238.
- Salvador, B., García, J., & Simón-Mateo, C. (2006). Causal agent of sharka disease: Plum pox virus genome and function of gene products. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, *36*, 229-238.
- Scheibe, A. (1951). *Einführung in die Allgemeine Pflanzenzüchtung*. (S. E. Ulmer, Hrsg.)
- Scorza, R., Callahan, A., Levy, L., V. and, K. D., & Ravelonandro, M. (2001). Post-transcriptional gene silencing in plum pox virus resistant transgenic European plum containing the plum pox potyvirus coat protein gene. *Transgenic Research*, *10*, 201-209.
- Serce, C. U., Candresse, T., Svanella-Dumas, L., Krizbai, L., Gazel, M., & Caglayan, K. (2009). Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in orchards in the Ankara province of Turkey. *Virus Research*, *142*, 121-126.
- Silbereisen, R., Götz, G., & Hartmann, W. (1996). *ObstsortenAtlas*. (R. Silbereisen, Hrsg.) Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart.
- Spetz, C., & Valkonen, J. (2004). Potyviral 6K2 Protein Long-Distance Movement and Symptom-Induction Functions Are Independent and Host-Specific. *Molecular plant-microbe interactions*, *17*, 5, 502-510.
- Stakman, E. (1915). Relation between Puccinia graminis and plants highly resistant to its attack. *J. Agric. Res.*, *4*, 193-200.
- Svoboda, J., & Polák, J. (2010). Relative concentration of Apple mosaic virus coat protein in different parts of apple tree. *Horticultural Science (Prague)*, *37*, 22-26.

- Szemes, M., Kálmán, M., Myrta, A., Boscia, D., Németh, M., M., K., et al. (2001). Integrated RT-PCR/nested PCR diagnosis for differentiating between subgroups of plum pox virus. *Journal of Virological Methods*, *92*, 165-175.
- Torres, A. M., & Dangl, D. J. (2005). Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development. *Current opinion in plant biology*, *8*, 397-403.
- Vanderplank, J. (1984). *Disease Resistance in Plants*. Academic Press London.
- Xiong, L., Schumaker, K., & Zhu, J.-K. (2002). Cell Signaling during Cold, Drought, and Salt Stress. *The Plant Cell*, *14*, 165-183.
- Yasuda, M., Ishikawa, A., Jikumaru, Y., Seki, M., Umezawa, T., Asami, T., et al. (2008). Antagonistic Interaction between Systemic Acquired Resistance and the Abscisic Acid-Mediated Abiotic Stress Response in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *20*, 1678-1692.
- Zipfel, C. (2009). Early molecular events in PAMP-triggered immunity. *Current opinion in plant biology*, *12*, 414-420.

Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

<i>Tab. 2.1-1: Auszug verschiedener krautiger Pflanzen als Wirtspflanzen für PPV</i> Fehler! Textmarke nicht definiert.	
<i>Tab. 2.1-2: Auszug verschiedene Zier- und Wildarten von Prunus als Wirtspflanzen für PPV</i>	6
<i>Tab. 2.2-1: Produktion an Pflaumen (P. domestica und P. salicina) und Schlehen ausgewählter Länder des Europäischen Kontinents, sortiert nach Produktionsmengen</i>	11
<i>Tab. 5.1-1: Anzahl getesteter Nachkommen verschiedener interspezifischer Kreuzungskombinationen mit dem dazugehörigen Ploidigrad des jeweiligen Elters</i>	23
<i>Tab. 5.1-2: Anzahl getesteter Nachkommen verschiedener intraspezifischer Kreuzungskombinationen, gruppiert nach der verwandschaftlichen Beziehung zur Sorte 'Ortenauer'</i>	24
<i>Tab. 5.1-3: Exemplarische Berechnung der allgemeinen Kombinationsfähigkeit</i>	35
<i>Tab. 5.2-1: Einordnung von Nachkommenschaften unterschiedlicher interspezifischer Kreuzungskombinationen in die einzelnen Hypersensibilitätsklassen</i>	38
<i>Tab. 5.2-2: Verschiedene Möglichkeiten in der Anzahl der dominanten und rezessiven Allele von Prunus domestica × P. cerasifera-Hybriden in der Kreuzungskombination mit P. salicina und P. cerasifera</i>	41
<i>Tab. 5.2-3: Verschiedene Möglichkeiten in der Anzahl der dominanten und rezessiven Allele von Prunus domestica × Prunus spinosa-Kreuzungen</i>	42
<i>Tab. 5.2-4: Verschiedene Möglichkeiten in der Anzahl der dominanten und rezessiven Allele von Prunus domestica × P. cerasifera-Kreuzungen</i>	43
<i>Tab. 5.2-5: Kreuztabelle von getesteten Nachkommenschaften verschiedener Kreuzungskombination bezüglich statistischer Unterschiede in der Vererbung der Hypersensibilität</i>	52
<i>Tab. 5.2-6: Anzahl hypersensibler Nachkommen der hypersensiblen Sorte 'Jojo' mit verschiedenen Kreuzungspartnern</i>	57
<i>Tab. 5.2-7: Anzahl hypersensibler Nachkommen des hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 512' mit verschiedenen Kreuzungspartnern</i>	57
<i>Tab. 5.2-8: Anzahl hypersensibler Nachkommen des hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 4517' mit verschiedenen Kreuzungspartnern</i>	58
<i>Tab. 5.2-9: Verschiedene Möglichkeiten in der Anzahl der dominanten und rezessiven Allele von Kreuzungskombinationen mit der errechneten prozentualen Verteilung der Nachkommen auf die verschiedenen Allelkombinationen</i>	59

Tab. 5.2-10: Im Hypersensibilitätstest bonitierte und errechnete Anteile an Nachkommenschaften in Prozent von Kreuzungskombination mit deren jeweilig postulierten Anzahl an dominanten und rezessiven Allelen	62
Tab. 6.1-1: Verdünnungsreihe mit den jeweilig gemittelten Extinktionswerten ohne und mit Abzug der Pufferextinktion	73
Tab. 6.1-2: Anzahl virusfreier und virusinfizierter Zuchtklonen in der jeweiligen Versuchsvariante 2008.	79
Tab. 6.1-3: Anzahl virusfreier und virusinfizierter Zuchtklonen in der jeweiligen Versuchsvariante 2009.	82
Tab. 6.2-1: Anzahl der im Versuch verwendeter Klone mit unterschiedlicher Anfälligkeit gegenüber PPV	90
Abb. 2.1-1: a Genomkarte des Scharkavirus	3
Abb. 2.1-2: Geografische Ausbreitung der Scharkakrankheit.	5
Abb. 2.1-3: Verschiedene Symptomausprägungen an Bäumen, die mit Scharkavirus befallen sind.	9
Abb. 2.2-1: Übersicht zur Systematik ausgewählter und für den Obstbau bedeutender Steinobstarten mit deren jeweiligem Ploidigrad	16
Abb. 5.1-1: Schematischer Ablauf der hypersensiblen Reaktion eines stark hypersensiblen Zuchtklons.	30
Abb. 5.1-2: Austrieb der veredelten Pflanzen mit getopften Unterlagen 2009 bei der Hypersensibilitätstestung	30
Abb. 5.2-1: Interspezifische Nachkommenschaften, der jeweiligen Hypersensibilitätsklassezugeordnet	37
Abb. 5.2-2: Hypersensible Reaktion interpezifischer Hybriden.....	39
Abb. 5.2-3: Verteilung der Nachkommen bezüglich der zugehörigen Hypersensibilitätsklasse der Kreuzungskombination 'Jojo' × 'Fellenberg' und deren reziproke Kreuzungskombination	44
Abb. 5.2-4: Verteilung der Nachkommen bezüglich der zugehörigen Hypersensibilitätsklasse der Kreuzungskombination 'Jojo' × 'Hanita' und deren reziproke Kreuzungskombination	45
Abb. 5.2-5: Verteilung von Nachkommen aus Kreuzungskombinationen zweier hypersensibler Zuchtklone mit gleichen oder unterschiedlichem Resistenzursprung	46
Abb. 5.2-6: Stammbaum der hypersensiblen Sorte 'Jojo' und der hypersensiblen Zuchtklone 'Hoh 512' und 'Hoh 4517'.	46
Abb. 5.2-7: Prozent hypersensibler Nachkommen aus Kreuzungskombinationen eines hypersensiblen Zuchtklons mit einem sensiblen Zuchtklon	48
Abb. 5.2-8: Verteilung von Nachkommenschaften aus Kreuzungskombinationen der Sorte 'Haganta', 'Jojo', 'Hoh 7172 und, 'Hoh 7087' mit der Sorte 'Harbella'	49
Abb. 5.2-9: Austrieb des stark hypersensiblen Zuchtklons 'Wei 5116' (Ortenauer × Ortenauer) bei beginnender hypersensibler Reaktion mit Blattspaltennekrosen.	50

<i>Abb. 5.2-10: Prozentuale Verteilung von Nachkommen auf die einzelnen Hypersensibilitätsklassen bei der Kombination zweier sensibler Kreuzungspartner.</i>	50
<i>Abb. 5.2-11: Hypersensible Reaktion am Austrieb der Zuchtklone 'Wei 227' und 'Wei 52' 6 Wochen nach der Veredlung.</i>	51
<i>Abb. 5.2-12: Verteilung von Nachkommenschaften aus Kreuzungskombinationen hypersensibler Zuchtklone mit quantitativ resistenten Zuchtklonen und von sensiblen Zuchtklonen mit quantitativ resistenten Zuchtklonen bezüglich Hypersensibilitätsresistenz.</i>	54
<i>Abb. 5.2-13: Kreuzungsschema mit dem Einfluss der quantitativ resistenten Sorte 'Cacaks Beste' auf den Anteil hypersensibler Nachkommen in der F2 beziehungsweise F3 Generation</i>	55
<i>Abb. 5.2-14: Gelelektrophoretisch aufgetrennte Amplifikate, die bei Nachweis von PPV in pflanzlichen Proben mittels PCR entstehen.</i>	55
<i>Abb. 6.1-1: Verlauf der Saugspannung, der Transpiration und der CO₂-Austauschrates mit zunehmender Austrocknung des Substrats.</i>	70
<i>Abb. 6.1-2: 'Docera 5' in einer Glasküvette.</i>	70
<i>Abb. 6.1-3: Mit Toluidinblau gefärbte histologische Schnitte durch Blätter eines PPV-infizierten Baumes der Sorte 'Hauszweitsche, Schüfer'.</i>	74
<i>Abb. 6.1-5: Sigmoider Kurvenverlauf der Kalibrationskurve mit der reduzierten Anzahl an Verdünnungen und dem definierten Messbereich von 20 bis 80 %.</i>	76
<i>Abb. 6.1-6: Wachstum, Virustiter, PPV-Bonitur und HI von zwei Versuchspflanzen des Zuchtklons 'Wei 499'.</i>	79
<i>Abb. 6.1-7: Boniturergebnisse der Versuchspflanzen des stark hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 4517'.</i>	79
<i>Abb. 6.1-8: Boniturergebnisse der Versuchspflanzen des quantitativ resistenten Zuchtklons 'Hoh 2043'.</i>	80
<i>Abb. 6.1-9: Boniturergebnisse der Versuchspflanzen der sensiblen Sorte 'Katinka'.</i>	81
<i>Abb. 6.1-10: Durchschnittliche Pflanzengröße der verwendeten Zuchtklone unter Optimal- und unter Stressbedingungen.</i>	82
<i>Abb. 6.1-11: Zusammenhang von Virustiter und PPV-Symptomausprägung beim mittelstark hypersensiblen Zuchtklon 'Wei 499'.</i>	83
<i>Abb. 6.1-12: Gelelektrophoretisch aufgetrennte Amplifikate, die bei Nachweis von PPV in pflanzlichen Proben mittels PCR entstehen.</i>	83
<i>Abb. 6.1-13: Pflanzengröße und hypersensible Reaktionen der resistenten Zuchtklone 'Hoh 4517' und 'Wei 499'.</i>	84
<i>Abb. 6.1-14: Aufnahmen aus dem Versuch „Einfluss abiotischer Stressfaktoren“.</i>	85
<i>Abb. 6.2-1: Infektion eines Reiser Mutterbaums durch Chip-Veredlung mit Edelreisern von Kirschbäumen der Sorte 'F12/1', die mit PDV und PNRSV infiziert sind.</i>	89

<i>Abb. 6.2-2: Gelelektrophoretisch aufgetrennte Amplifikate, die beim Nachweis von PDV, PNRSV und PPV in pflanzlichen Proben mittels Multiplex-PCR entstehen</i>	<i>91</i>
<i>Abb. 6.2-3: Gemittelte Boniturwerte von PPV, Blattspreitennekrosen (BSN), Rindennekrosen (RN) und Triebspitzendürre (TSD) von 'Hoh 4517', 'Jojo', 'Hoh 6774' und 'Katinka'</i>	<i>92</i>
<i>Abb. 6.2-4: Reaktionen von Pflanzen des Zuchtklons 'Hoh 4517' nach Inokulation mit verschiedenen Viren</i>	<i>93</i>
<i>Abb. 6.2-5: Reaktionen von Pflanzen der Sorte 'Jojo' nach Inokulation und Infektion mit verschiedenen Viren ..</i>	<i>94</i>
<i>Abb. 6.2-6: Reaktionen der gegenüber PPV sensiblen Sorte 'Katinka' nach Inokulation und Infektion mit verschiedenen Viren</i>	<i>95</i>
<i>Abb. 6.2-7: Reaktionen des mittelstark hypersensiblen Zuchtklons 'Hoh 6774' nach Inokulation und Infektion mit verschiedenen Viren</i>	<i>96</i>

Veröffentlichungen

- XXIst International Conference on Virus other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops
Neustadt/Weinstraße (Deutschland), Juli 5-10, 2009
Lichtenegger, L. Neumüller, M., Treuter, D., Hartmann, W.
The inheritance of the hypersensitivity resistance of European plum (*Prunus domestica* L.)
against the *Plum pox virus*.
- IInd EUFRIN Plum and Prune Working Group Meeting on Present Constraints of Plum Growing in
Europe
Craiova (Rumänien), Juli 20-22, 2010
Lichtenegger, L., Hartmann, W., Treutter, D., Neumüller, M.
Prunus domestica cultivar 'Ortenauer' confers hypersensitivity resistance to seedlings when
used as parent: Studies on the inheritance of hypersensitivity resistance to the *Plum pox virus*.
47. Gartenbauwissenschaftliche Tagung
Hannover (Deutschland), Februar 23-26, 2011
Lichtenegger, L., Hartmann, W., Treutter, D., Neumüller, M.
Die Vererbung der Hypersensibilitätsresistenz der Europäischen Pflaume (*Prunus domestica* L.)
gegenüber dem Scharkavirus (PPV).

Danksagung

Bei meinem Doktorvater Prof. **Dieter Treutter** möchte ich mich für die Betreuung und für dessen Bereitschaft mich als Doktorand anzunehmen recht herzlich bedanken. Immer offen für Fragen oder Belange könnte man sich keinen besseren Doktorvater vorstellen.

Für die Übernahme des Vorsitzes des Prüfungsausschusses bedanke ich mich bei Frau Prof. **Brigitte Poppenberger-Sieberer**, die mir einen korrekten, zügigen und schnellen Abschluss der Promotion zum Schluss ermöglichte. Ebenso bedanke ich mich bei Frau Prof. **Astrid Forneck**, die sich als Zweitprüferin, trotz der räumlichen Distanz, zur Verfügung stellte.

Herzlichen Dank auch an nachfolgende Personen, die meine Arbeit unterstützt haben: Frau Dr. **Haibo Xuan**, vom Kompetenzzentrum Obstbau-Bodensee für durchgeführte Markeranalysen, in denen Nachkommen auf die Wirklichkeit der angenommenen Eltern der Kreuzungskombination untersucht wurden. Herrn **Florian Steinbacher** vom Gewächshaus- und Laborzentrum in Dürnast, der mir eine tatkräftige Hilfe bei meinen Vorversuchen zur Findung von Stressbedingungen in den Klimakabinen des Gewächshaus- und Laborzentrums war. Zur Quantifizierung des Virustiters, wurde ein quantitativer ELISA etabliert, bei dessen Entwicklung mir Herr PD Dr. **Karl Kramer** vom Lehrstuhl für Bioanalytik in Weihenstephan bei Problemen und offenen Fragen immer geholfen hat. Der **Familie Kiefer** von der Baumschule Kiefer in Ortenberg, für das Bereitstellen und den Schnitt von

virusinfizierten Edelreisern für meine Versuche zur Hypersensibilitätstestung. Frau Dr. **Margit Laimer Da Camara Machado** vom Institut für Angewandte Mikrobiologie (BOKU Wien) und Herrn **Michael Petruschke** von der Landesanstalt für Pflanzenschutz in Stuttgart für das Bereitstellen von mit PDV infizierten Reisermaterial. Frau Dr. **Christa Lankes** vom Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz (Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn) für die Sendung von mit PDV und PNRSV infizierten Edelreisern.

Insbesondere danken möchte ich Dr. **Michael Neumüller**, **Ina Tittel**, **Ralf Götzfried** und **Johannes Hadersdorfer**, sowie dem **gesamten Team vom Fachgebiet für Obstbau**. Neben dem beruflichen Arbeitsfeld als Kollegen sind Sie mir auch sehr gute Freunde geworden.

Zu guter letzt möchte ich mich auch bei meiner **Familie**, meinen **Eltern** und **Schwiegereltern** bedanken, die während meiner Promotion immer ein dankbarer Rückhalt waren.

Es bleibt nur noch zu sagen, die Arbeit am Fachgebiet für Obstbau in Weihenstephan bleibt ein Lebensabschnitt, den man nicht missen möchte.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Ludwig Lichtenegger
 geboren am 09. August 1982 in Regensburg
 wohnhaft in Maxhütte-Haidhof
 römisch-katholisch
 verheiratet
 deutscher Staatsbürger

Ausbildung

1989 – 1992	Grundschule in Pirkensee
1992 – 1993	Grundschule in Leonberg
1993 – 2002	Johann-Michael-Fischer Gymnasium Burglengenfeld, Abitur
07/2002 – 03/2003	Wehrdienst in Bremen und Schongau
02/2003 – 04/2007	Studium der Gartenbauwissenschaften an der Technischen Universität München, Abschluss als Dipl.-Ing. agr. Univ.
05/2007 – 03/2011	Doktorand am Fachgebiet Obstbau am Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt

Praktika und berufliche Erfahrung

2003	Praktikum im Zierpflanzenbaubetrieb Fischer in Burglengenfeld
2004	Praktikum in der Staudengärtnerei Extragrün in Attaching bei Freising
2005	DEULA-Kurs Gehölzpflege und Veredlung DEULA-Kurs: Technik im Gartenbau Praktikum im Landschaftsbaubetrieb Green Company in Freising
2011	Angestellter im Landschaftsbau bei der Firma Hochmuth
Seit 2012	Angestellter der Firma agrotop GmbH als Fachberater für Düsenteknik