

Stephanie Nehrlich

Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen

Morphologische und molekulare
Charakterisierung des Pathogens
Colletotrichum gloeosporioides
an *Gaultheria* mit dem Ziel der
Erschließung von Resistenzquellen



Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut

Kontakt/Contact:
Frau Dr. Sylvia Plaschil
Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen
Julius Kühn-Institut
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Erwin-Baur-Str. 27
06484 Quedlinburg

Die Schriftenreihe „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ veröffentlicht Doktorarbeiten, die in enger Zusammenarbeit mit Universitäten an Instituten des Julius Kühn-Instituts entstanden sind

The publication series „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ publishes doctoral dissertations originating from research doctorates completed at the Julius Kühn-Institut (JKI) either in close collaboration with universities or as an outstanding independent work in the JKI research fields.

Der Vertrieb dieser Monographien erfolgt über den Buchhandel (Nachweis im Verzeichnis lieferbarer Bücher - VLB) und OPEN ACCESS im Internetangebot www.jki.bund.de Bereich Veröffentlichungen.

The monographs are distributed through the book trade (listed in German Books in Print - VLB) and OPEN ACCESS through the JKI website www.jki.bund.de (see Publications)

Wir unterstützen den offenen Zugang zu wissenschaftlichem Wissen.
Die Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut erscheinen daher OPEN ACCESS.
Alle Ausgaben stehen kostenfrei im Internet zur Verfügung:
<http://www.jki.bund.de> Bereich Veröffentlichungen

We advocate open access to scientific knowledge. Dissertations from the Julius Kühn-Institut are therefore published open access. All issues are available free of charge under <http://www.jki.bund.de> (see Publications).

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation
In der Deutschen Nationalbibliografie: detaillierte bibliografische
Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek (German National Library)

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.dnb.de>.

ISBN 978-3-95547-029-6
DOI 10.5073/dissjki.2016.001

Herausgeber / Editor

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland
Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Quedlinburg, Germany

© Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen sowie der genannten Universität, 2016.
Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersendung, des Nachdrucks, des Vortrages, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf fotomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten.

Morphologische und molekulare Charakterisierung des Pathogens
Colletotrichum gloeosporioides an *Gaultheria*
mit dem Ziel der Erschließung von Resistenzquellen

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktorin der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation

von

Diplom-Agraringenieurin Stephanie Nehrlich

geboren am 02.02.1979 in Rostock

2016

Referentin: Prof. Dr. Traud Winkelmann

Korreferent: Prof. Dr. Thomas Debener

Tag der Promotion: 11.03.2015

meiner Mutter Ruth gewidmet

für meine Familie

Zusammenfassung

Gaultheria procumbens L. ist in der Herbstvermarktung eine der bedeutendsten Zierpflanzen. Die winterharte, mehrjährige und sich über Rhizome bzw. Samen vermehrende Art der Familie Ericaceae kann massiv vom ubiquitär vorkommenden pilzlichen Pathogen *Colletotrichum gloeosporioides* befallen werden. Hat sich der Erreger einmal im Bestand etabliert, kann dies mitunter zu Totalausfällen führen, in deren Folge die Betriebe den Anbau der Gaultherien aufgeben müssen. Eine Bekämpfung der Mykose stellt sich als besonders schwierig heraus, da das Pathogen latent in der Pflanze vorkommt und Fungizide nur in der juvenilen Phase erfolgversprechend eingesetzt werden können. Ältere Pflanzen erzeugen zudem einen sehr dichten Bestand, sodass das Fungizid nicht mehr an die Stängelbasis gelangen kann, wo das Pathogen hauptsächlich lokalisiert ist. Eine Alternative zum Einsatz von Pflanzenschutzmitteln stellt die Züchtung dar. Mit der Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen besteht die Möglichkeit der Entwicklung krankheitsresistenter Formen. Daher lagen die Schwerpunkte dieser Arbeit (1) in der Sammlung, Erhaltung, Vermehrung und Hybridisierung von *Gaultheria*-Arten, (2) in der Charakterisierung des Pathogens für die Entwicklung eines reproduzierbaren und praktikablen Resistenztests sowie (3) in der Resistenzevaluierung ausgewählter *Gaultheria*-Arten.

Insgesamt konnten 23 der 33 im Gewächshaus kultivierten *Gaultheria*-Arten erfolgreich auf Anderson-Medium mit Phytohormonzusätzen (9 µM/l Zeatin, 5,7 µM/l Indol-3-essigsäure) als In-vitro-Sprosskultur etabliert werden. Mit Hilfe von 185 Random Amplified Polymorphic DNA Markern erfolgte eine Verwandtschaftsanalyse in der Gattung *Gaultheria*, die die Basis für anschließende Artkreuzungen bildete. In deren Folge konnten drei interspezifische Hybriden aus *G. myrsinoides* x *G. procumbens* gewonnen und molekulargenetisch über RAPD Marker bestätigt werden. In-vitro-Untersuchungen zur Langzeitlagerung von *Gaultheria*-Pollen machten deutlich, dass Pollen von *G. procumbens* bei einer dreimonatigen Lagerung bei -20 °C noch bis zu 50 % und bei *G. shallon* bis zu 70 % keimfähig bleiben kann. Mit zeitlich zunehmender Tiefkühlagerung verringerte sich die Keimrate und ging nach sechs Monaten gegen Null.

Hinsichtlich des Pathogens *C. gloeosporioides* erfolgten Analysen zur Morphologie, Genetik und Virulenz. Anhand der Sequenzanalyse der rDNA-ITS-Region von 30 Isolaten und des Abgleichens der Sequenzen mit veröffentlichten Sequenzen der NCBI Datenbank via BLAST konnte gezeigt werden, dass neben *C. gloeosporioides* auch *C. acutatum* an *Gaultheria* vorkommt. Weiterführende Untersuchungen zum pathogenen Potential ergaben, dass *C. acutatum* apathogen ist.

In einem PCR-basierten Nachweis von *C. gloeosporioides* aus infiziertem Pflanzenmaterial unter Anwendung von Additiven und Touch-Down-PCR konnten nur unspezifische Amplifikate erzeugt werden.

In der Bewertung morphologischer Merkmale wie radiales Myzelwachstum, Koloniefarbe, Myzelstruktur, Setaen- und Konidienmassebildung sowie der Konidienlänge und -breite waren große Differenzen zwischen den 27 untersuchten Isolaten zu beobachten. Es wurden weiterhin Versuche zur Lokalisierung des Erregers an latent befallenen *Gaultheria*-Trieben durchgeführt mit dem Ergebnis, dass sich das Pathogen hauptsächlich im Wurzelbereich der Pflanze akkumuliert. Diese Resultate bildeten die Grundlage für Substratinfektionsversuche. Inokuliertes Substrat ermöglichte dabei innerhalb von vier Wochen eine Infizierung der Pflanze.

Mit den Resistenztestungen über die etablierte Methode der Stängelgrundapplikation konnte eine Art (*G. shallon*) gegenüber dem hoch virulenten Isolat (P-14) als gering anfällig eingestuft werden. Die Arten *G. procumbens*, *G. pumila* und *G. hispida* reagierten auf das hoch virulente Pathogen mit starken Symptomausprägungen und wurden daher als sehr anfällig eingeordnet.

(Schlagwörter: *Gaultheria*, *Colletotrichum*, Resistenz, *in vitro*, ITS, RAPD)

Abstract

Gaultheria procumbens L. is an important horticultural species in Germany. It is cultivated and used as an ornamental plant for the fall season. The perennial and hardy Ericaceous shrub propagates via seeds and rhizomes. Over the last years, German *Gaultheria* producers have suffered from enormous losses up to collapses of the whole crop due to the infection with the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. Only frequent applications of fungicides in the juvenile phase prevent the expansion of the pathogen. In older plants the application of fungicides is less effective and preventive, since the fungus colonizes the lower stem part which cannot be reached by fungicides. An alternative to the application of fungicides is the use of plant genetic resources as disease resistance donors and the development of resistant cultivars. Therefore, the focus of this work was (1) on the collection, maintenance, reproduction and hybridization of different *Gaultheria* species, on (2) the characterization of the pathogen for the development of a reproducible and practicable resistance test as well as (3) on the evaluation of resistance in selected *Gaultheria* species.

Overall, out 23 of 33 *Gaultheria* species cultivated in the greenhouse were successfully established on Anderson's medium as *in vitro* shoot cultures. In further cultivations on Anderson's medium supplemented with phytohormones (9 µM/l zeatin, 5,7 µM/l indole-3-acetic-acid) more shoots were successfully established from shoot segments than from shoot tips.

Genetic relationships in the genus *Gaultheria* were analysed using 185 Random Amplified Polymorphic DNA markers and formed the basis for interspecific hybridisations. Three interspecific hybrids of *G. myrsinoides* x *G. procumbens* were molecularly identified by RAPD markers. Studies on the long-term storage of *Gaultheria* pollen *in vitro* revealed that pollen from *G. procumbens* stored for up to three months at -20 °C retains 50 % and from *G. shallon* 70 % germinating rate. With temporal increasing cold storage germinating rate decreased and went to zero after six months.

Concerning to the pathogen *C. gloeosporioides* the morphological and genetic variability plus its virulence potential were investigated. Based on sequence analysis of the rDNA ITS region in comparison to published sequences in the BLAST database, *C. gloeosporioides* and *C. acutatum* were shown to infect *Gaultheria*. Studies on the pathogenic potential confirmed that *C. acutatum* is non-pathogenic.

In a PCR-based detection of *C. gloeosporioides* in infected *Gaultheria* plant material no specific amplicons were obtained, when applying additives and touch-down PCR programmes.

The evaluation of morphological characteristics such as radial mycelial growth, colony color, and structure of mycelium, setae formation and mass propagation of conidia as well as their length and width indicated huge differences between the 27 tested isolates.

Further experiments were performed on latently infected *Gaultheria* shoots. They

demonstrated that the pathogen accumulates mainly in the root zone of the plant. These results formed the basis for substrate infection experiments, in which contaminated substrate led to an infection of *Gaultheria* plants within four weeks. Resistance tests showed that *G. shallon* was less susceptible against a highly virulent isolate (P-14) than *G. procumbens*, *G. pumila* and *G. hispida* when applying a spore suspension at the stem base.

(Keywords: *Gaultheria*, *Colletotrichum*, resistance, *in vitro*, ITS, RAPD)

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Abstract	III
Inhaltsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VIII
Abbildungsverzeichnis	XI
Abkürzungsverzeichnis	XIV
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Die Gattung <i>Gaultheria</i> Kalm ex L.	2
2.1.1 Taxonomie, Morphologie und Verbreitungsgebiet	2
2.1.2 Züchtung/Hybridisierung.....	8
2.1.3 Vermehrung.....	9
2.1.4 Kultur und wirtschaftliche Bedeutung.....	9
2.2 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> an <i>Gaultheria</i>	11
3 Material und Methoden	17
3.1 <i>Gaultheria</i>-Arten	17
3.1.1 Pflanzenmaterial und Anzucht	17
3.1.2 RAPD-Verwandtschaftsanalyse	20
3.1.3 Etablierung einer In-vitro-Kultur	24
3.1.4 In-vitro-Vermehrung.....	24
3.1.5 Pollenvitalität und -Langzeitlagerung	25
3.1.6 Kreuzungsexperimente	26
3.1.7 Sterilaussaat von <i>Gaultheria</i> -Samen aus Kreuzungsexperimenten	26
3.1.8 Molekularer Hybridnachweis.....	27
3.2 <i>Colletotrichum</i>-Isolate	27
3.2.1 Herstellung von Monokonidienisolaten, deren Erhaltung und Langzeitlagerung	29
3.2.2 Herstellung von Inokulum	29
3.2.3 Morphologie und Konidiencharakterisierung der Isolate	30
3.2.4 Sequenzierung der rDNA-ITS-Region der Isolate	30
3.2.5 Inokulations-Methodenvergleich	36
3.2.6 Ermittlung der Virulenz von <i>C. gloeosporioides</i> -Isolaten	38
3.2.7 Ausbreitung des Erregers in der Pflanze.....	38

3.2.8	Inokulation über das Substrat	39
3.2.9	PCR-basierter Nachweis von <i>C. gloeosporioides</i> in der Pflanze.....	40
3.2.10	Resistenztestungen	41
3.3	Statistische Analysen.....	42
4	Ergebnisse.....	43
4.1	<i>Gaultheria</i>	43
4.1.1	Verwandtschaftsanalysen in der Gattung <i>Gaultheria</i>	43
4.1.2	Etablierung einer In-vitro-Kultur von <i>Gaultheria</i>	47
4.1.3	In-vitro-Vermehrung.....	51
4.1.4	Analysen zur Pollenvitalität und -Langzeitkonservierung.....	53
4.1.5	Interspezifische Kreuzungen in der Gattung <i>Gaultheria</i>	57
4.1.6	Molekularer Hybridnachweis.....	61
4.2	Pathogen <i>Colletotrichum</i>.....	65
4.2.1	Morphologie und Konidiencharakterisierung der <i>Colletotrichum</i> -Isolate	65
4.2.2	Verwandtschaftsanalysen der Isolate anhand der rDNA-ITS-Region.....	70
4.2.3	Vergleichende Inokulationsmethoden	74
4.2.4	Testung der Isolate auf Virulenz.....	76
4.2.5	Inokulationsversuche mit <i>C. acutatum</i>	78
4.2.6	Ausbreitung <i>C. gloeosporioides</i> in <i>G. procumbens</i>	79
4.2.7	Substratinokulation.....	80
4.2.8	PCR-basierter Nachweis von <i>C. gloeosporioides</i> in der Pflanze.....	81
4.2.9	Resistenztestungen	83
5	Diskussion.....	86
5.1	In vitro-Etablierung und -Vermehrung von <i>Gaultheria</i>	86
5.2	Verwandtschaftsanalyse in der Gattung <i>Gaultheria</i>.....	88
5.3	Pollenvitalitätstests und –Langzeitkonservierung anhand ausgewählter <i>Gaultheria</i>-Arten	90
5.3.1	Pollenvitalitätstests.....	90
5.3.2	Pollen–Langzeitkonservierung	91
5.4	Interspezifische Kreuzungen in der Gattung <i>Gaultheria</i> und molekulare Hybrididentifikation interspezifischer Kreuzungsprodukte	93
5.5	Morphologische und genetische Charakterisierung von <i>Colletotrichum</i>-Isolaten	98
5.5.1	Morphologie der Isolate	98
5.5.2	ITS-Sequenzanalysen der Isolate.....	100

5.6 Inokulationsmethoden und deren Anwendung in der Virulenzbeurteilung der Isolate.	102
5.7 Ausbreitung von <i>C. gloeosporioides</i> in <i>G. procumbens</i> und die Möglichkeit der Infektion über das Substrat	103
5.8 PCR-basierter Nachweis von <i>C. gloeosporioides</i> in Gaultherien	104
5.9 Resistenztestungen	105
Literaturverzeichnis.....	110
Danksagung.....	XVI
Lebenslauf	XVIII
Publikationen.....	XX
Anhang.....	XXII

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Die Gattung <i>Gaultheria</i> unterteilt sich in 10 Sektionen und 22 Serien (Middleton 1991a). Alle hier aufgeführten Arten wurden in dieser Arbeit verwendet.	3
Tab. 2: Bekannte Chromosomenanzahl der in dieser Arbeit verwendeten <i>Gaultheria</i> -Arten (nach Middleton und Wilcock 1990a)	8
Tab. 3: Die weltweit ökonomisch wichtigsten <i>Colletotrichum</i> -Arten an Kulturpflanzen.....	13
Tab. 4: Makro- und Mikroelemente sowie Vitamine des Anderson-Rhododendron-Mediums (Anderson 1980, 1984, Duchefa) als Basalmedium für die In-vitro-Kultur von <i>Gaultheria</i>	18
Tab. 5: Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten <i>Gaultheria</i> -Genotypen eingeteilt nach Sektion, Serie und Art.....	19
Tab. 6: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemisches für RAPD-PCR.....	22
Tab. 7: PCR-Programm für RAPD-PCR.....	22
Tab. 8: Sequenzen verwendeter RAPD-Primerkombinationen.....	22
Tab. 9: Nährmedium-Zusammensetzung nach Filiti und Montalti (1982).....	26
Tab. 10: Verwendete <i>Colletotrichum</i> -Isolate und deren Herkunft	28
Tab. 11: PCR-Primer für den zu amplifizierenden rDNA-Bereich (s. a. Abb. 5).....	32
Tab. 12: PCR-Reaktionsgemisch für die Amplifikation des rDNA-Bereiches.....	32
Tab. 13: Spezifisches PCR-Programm für die Amplifikation des rDNA-Bereiches im T-Gradient (Biometra).....	33
Tab. 14: Sequenzen infrarot-markierter Primer der Zyklus-Sequenzierung	34
Tab. 15: Premix der Zyklus-Sequenzierung.....	34
Tab. 16: Sequenzier-Reaktions-Ansatz für Sequenzier-PCR.....	34
Tab. 17: PCR-Programm für Zyklus-Sequenzierung	34
Tab. 18: Zusammensetzung des Polyacrylamid-Sequenziergels.....	35
Tab. 19: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemischs zum Nachweis von <i>C. gloeosporioides</i> in befallenem Pflanzenmaterial und dem dazugehörigen Thermocycler-Programm (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems).	41
Tab. 20: Touchdown-PCR-Programm	41
Tab. 21: Anzahl detektierter RAPD-Marker und Fragmente innerhalb der Gattung <i>Gaultheria</i> . Mit acht Operon-Primerpaaren konnten 185 polymorphe Marker bei 25 Arten detektiert werden.....	44
Tab. 22: Die mit dem Dice-Koeffizienten berechneten Ähnlichkeitsmaße repräsentieren den Vergleich der 25 <i>Gaultheria</i> -Arten sowie der drei <i>G. trichophylla</i> -Genotypen und <i>G. x wisleyensis</i>	45

Tab. 23: In-vitro-Etablierung von Sprosstestücken ausgewählter <i>Gaultheria</i> -Arten in Abhängigkeit unterschiedlicher Sterilisationszeiten und Kulturdauer. n = Anzahl der untersuchten Explantate.	49
Tab. 24: In-vitro-Etablierung von Sprossspitzen ausgewählter <i>Gaultheria</i> -Arten in Abhängigkeit unterschiedlicher Sterilisationszeiten und Kulturdauer. n = Anzahl der untersuchten Explantate.	50
Tab. 25: In-vitro-Vermehrung ausgewählter <i>Gaultheria</i> -Arten nach 8-wöchiger Kultur.	52
Tab. 26: In-vitro-Pollenkeimung frisch geernteter und gelagerter Pollen ausgewählter <i>Gaultheria</i> -Arten nach 24 Stunden Kultivierung auf Nährmedium nach Filiti und Montalti (1982).....	54
Tab. 27: Ergebnisse der Kreuzungen sowie die Anzahl der geernteten Kapseln, Samen und der daraus hervorgegangenen Sämlinge bzw. Pflanzen und die prozentuale Keimrate.	57
Tab. 28: Interspezifische Kreuzungskombinationen in der Gattung <i>Gaultheria</i> in 2007. Dargestellt sind die genetische Ähnlichkeit, Anzahl der Kreuzungen, geernteter Kapseln, Samen, Keimlinge und Pflanzen.....	58
Tab. 29: Interspezifische Kreuzungskombinationen in der Gattung <i>Gaultheria</i> in 2008. Dargestellt sind die genetische Ähnlichkeit, Anzahl der Kreuzungen, geernteter Kapseln, Samen, Keimlinge und Pflanzen.....	60
Tab. 30: Interspezifische Kreuzungskombinationen in der Gattung <i>Gaultheria</i> in 2009. Dargestellt sind die genetische Ähnlichkeit, Anzahl der Kreuzungen, geernteter Kapseln, Samen, Keimlinge und Pflanzen.	61
Tab. 31: RAPD-Analysen als molekularer Hybridnachweis von 27 Kreuzungskombinationen.....	62
Tab. 32: Durchschnittlich tägliches radiales Myzelwachstum der <i>Colletotrichum</i> -Isolate auf Hafermehlagar bei unterschiedlichen Temperaturen. Unterschiedliche Buchstaben hinter den Zahlen zeigen signifikante Differenzen zwischen den Isolaten (Tukey-Test, $\alpha=5\%$).....	66
Tab. 33: Morphologische Charakterisierung der untersuchten <i>Colletotrichum</i> -Isolate nach sieben Wochen, kultiviert bei 28 °C im Dunkeln. Unterschiedliche Buchstaben hinter dem Längen:Breiten-Verhältnis zeigen signifikante Differenzen zwischen den Isolaten (Tukey-Test der Studentisierten Spannweite (HSD), $\alpha=5\%$), n=50 Konidien.	69
Tab. 34: Nucleotid-Sequenz-Abgleich der erhaltenen Isolatsequenzen mittels NCBI-Datenbank unter Verwendung des BLAST-Algorithmus.	73
Tab. A1: Flüssige Chemikalien	XXII
Tab. A2: Feste Chemikalien	XXIII
Tab. A3: Detaillierte Beschreibung, der in dieser Arbeit verwendeten <i>Gaultheria</i> -Arten. Aufgeführt ist die Art und deren Sektionszugehörigkeit, das Vorkommen, die Größe und das Wachstum der Arten als auch Befruchtungsart, Chromosomenanzahl, Beerencharakterisierung und Blattgröße.....	XXV

Tab. A4: Verwendetes Pflanzenmaterial, dessen Bezug und Zugangsdatum, die Form des Zuganges als Samen (SA), Steckling (ST) oder Pflanze (Pfl) sowie die Herkunft gemäß der Angaben des Herausgebers..... XXXI

Tab. A5: In-vitro-Etablierung von Sprossspitzen ausgewählter *Gaultheria*-Arten in Abhängigkeit unterschiedlicher Sterilisationszeiten und Kulturdauer. n = Anzahl der untersuchten Explantate. XXXVI

Tab. A6: ITS-Sequenzen der verwendeten *Colletotrichum*-Isolate XLI

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Blüten von <i>G. procumbens</i> (links), <i>G. trichophylla</i> (Mitte) und <i>G. pyrolifolia</i> (rechts)	6
Abb. 2: Kapsel Früchte von <i>G. pumila</i> , <i>G. trichophylla</i> , <i>G. shallon</i> und <i>G. miqueliana</i> (von links nach rechts)	7
Abb. 3: <i>Gaultheria</i> -Anbau in der GbR Holz in Weeze im April (links). <i>G. procumbens</i> mit Blüten- und Kapselbesatz aus der Gewächshauskultivierung (rechts). .	11
Abb. 4: <i>Colletotrichum</i> -Befall an <i>G. procumbens</i> . Anfängliche Symptome äußern sich in vertrockneten Triebspitzen (links). Mit fortführender Pathogenese treten Verbräunungen an der Stängelbasis auf (Mitte), in deren Folge die Pflanze abstirbt. Für den Verbraucher erscheint die Pflanze vertrocknet.	15
Abb. 5: Schematische Darstellung der rDNA-ITS-Region für die Sequenzanalyse der <i>Colletotrichum</i> -Isolate, unterteilt in codierende (18 S-, 5.8 S- und 28 S-rDNA) und nicht codierende (ITS 1 und ITS 2) Bereiche sowie die verwendeten Primer NS7a, NS7, ITS5, ITS3, NL1, ITS4, NL4/ NL4a, NL6).	31
Abb. 6: Inokulierte <i>G. procumbens</i> aus den Virulenz- und Resistenzversuchen mit <i>C. gloeosporioides</i> . A bis E entsprechen hierbei den Boniturnoten 1-5 des Boniturschemas.....	37
Abb. 7: Beprobte Pflanzenabschnitte von <i>Gaultheria procumbens</i> L., Zeichnung verändert nach Britton und Brown (1913)	39
Abb. 8: UPGMA-Dendrogramm der <i>Gaultheria</i> -Arten basierend auf der genetischen Distanz von RAPD-Primern via Neighbour Joining-Methode gewichtet nach Nei (Saitou und Nei 1987).....	47
Abb. 9: In-vitro-Pollenkeimung nach 24 und 48 Stunden von <i>G. procumbens</i> im Verlauf einer Langzeit-Lagerung bei -20 °C. Parallel dazu wurde die Vitalität über den Farbstoff FDA ermittelt. Je Untersuchung wurden 3 x 100 Pollen ausgezählt. I=Standardabweichung.....	55
Abb. 10: In-vitro-Pollenkeimung nach 24 und 48 Stunden von <i>G. shallon</i> im Verlauf einer Langzeit-Lagerung bei -20 °C. Parallel dazu wurde die Vitalität über den Farbstoff FDA ermittelt. Je Untersuchung wurden 3 x 100 Pollen ausgezählt. I=Standardabweichung.....	56
Abb. 11: In-vitro-Keimung frisch entnommener <i>Gaultheria procumbens</i> -Pollen nach 24 Stunden im Komplex (A) und einzeln (B).....	56
Abb. 12: RAPD-Marker Identifikation interspezifischer Hybriden aus <i>G. myrsinoides</i> x <i>G. procumbens</i> (mittig) sowie der Hybride <i>G. x wisleyensis</i> (links). Kein Hybridstatus konnte für Nachkommen aus der Kreuzungskombination <i>G. procumbens</i> x <i>G. trichophylla</i> nachgewiesen werden.....	63
Abb. 13: Phänotypische Merkmalsausprägung interspezifischer Hybriden aus <i>G. myrsinoides</i> (A) x <i>G. procumbens</i> (B) im direkten Blatt- und Blütenvergleich. Die Abbildung C zeigt die Blüten und Blätter von <i>G. myrsinoides</i> (rechts im Bild), <i>G. procumbens</i> (links im Bild) und der Hybride (mittig im Bild). Die weißen Balken repräsentieren 1 cm.....	64

- Abb. 14: Durchschnittlich tägliche radiale Myzelzunahme (mm) der *Colletotrichum*-Isolate bei Temperaturen von 5 °C bis 35 °C nach 14 Tagen auf Hafermehlagar im Dunkeln kultiviert. Die Balken stellen die Standardabweichung dar. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Differenzen zwischen den Temperaturstufen (Tukey-Test, $\alpha=5\%$). 65
- Abb. 15: A) Bewachsene Hafermehlplatten verschiedener *C. gloeosporioides*- und *C. acutatum*-Isolate nach siebentägiger Kulturverfrierung bei 28 °C; die oberen Platten von links nach rechts zeigen P-24, P-08, P-20, P-09 und P-25, unten P-28, P-26 (*C. acutatum*) und P-23. B) Keimung einer Konidie auf Wasseragar nach 12 Stunden bei 28 °C. C) Konidien des Isolats P-14 mit einseitig abgerundetem Konidienende. 68
- Abb. 16: Auf der Basis der Neighbour-Joining-Analyse erstelltes Dendrogramm (mit Bootstrapwerten über 70 %) der sequentiellen ITS1-5.8S-ITS2-Region unterschiedlicher *Colletotrichum*-Arten. *Magnaporthe grisea* stellt die Außengruppe dar. 72
- Abb. 17: Einfluss verschiedener Inokulationsmethoden auf den Befall mit *C. gloeosporioides* (P-01) an *G. procumbens*. Dargestellt ist jeweils die Fläche unter der Befallskurve (AUDPC) je Variante. Je Versuch wurden 20 Pflanzen je Inokulationsmethode getestet (Tukey-Test der Studentisierten Spannweite (HSD), $\alpha=5\%$). $n=20$, I=Standardabweichung..... 75
- Abb. 18: Symptomausprägungen an *G. procumbens* 28 Tage nach Inokulation. Hierbei wurden verschiedene Inokulationsmethodiken getestet, mit dem Ziel der Etablierung eines praktikablen, einfach und schnell durchzuführenden Resistenztests an Gaultherien. 76
- Abb. 19: Isolat-Virulenztestungen an *G. procumbens*-Pflanzen via Stängelgrundapplikation 28 Tage nach Inokulation. Die hier dargestellten Isolate P-11 und P-29 sind als schwach virulent, die Isolate P-18 bzw. P-14 sind als hoch virulent eingestuft worden. 77
- Abb. 20: Virulenzspektrum der in dieser Arbeit verwendeten *C. gloeosporioides*-Isolate eingeteilt in schwach, moderat und hoch virulent. (Unterschiedliche Buchstaben bedeutet: signifikant voneinander verschieden; gleiche Buchstaben bedeutet: keine signifikanten Differenzen (Tukey-Test der Studentisierten Spannweite (HSD), $\alpha=5\%$). 77
- Abb. 21: Prüfung der Virulenz von *C. acutatum*-Isolaten aus der Deutschen Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) im Vergleich zum hoch virulenten *C. gloeosporioides*-Isolat (P-14) und der Wasserkontrolle an *G. procumbens*. $n=10$ 78
- Abb. 22: Nachweis von *C. gloeosporioides* in symptomlosen bewurzelten *Gaultheria*-Sprossen aus dem Gewächshaus. Je Pflanzenabschnitt wurden 4 x 10 bewurzelte Sprosse in zwei Wiederholungen überprüft. 79
- Abb. 23: Inokulation über das Substrat mit dem *C. acutatum*-Isolat (P-26) und dem schwach virulenten *C. gloeosporioides*-Isolat (P-21) im Vergleich zu dem hoch virulenten P-14-Isolat. Je Isolat wurden 5 Pflanzen in zweifacher Wiederholung geprüft. 80

Abb. 24: PCR-basierter Nachweis von <i>C. gloeosporioides</i> -Isolaten mit einem spezies-spezifischen Primer aus Myzel. Als Größenstandard (M) diente der GeneRuler 1 kb DNA Ladder von Thermo Scientific.....	81
Abb. 25: PCR-basierter Nachweis von <i>C. gloeosporioides</i> aus natürlich infizierten Gewächshauspflanzen sowie künstlich inokuliertem Blattmaterial. Als Isolat für die Inokulation wurde P-01 verwendet. M: Marker GeneRuler 1 kb DNA Ladder von Thermo Scientific.....	82
Abb. 26: PCR-basierter Nachweis von <i>C. gloeosporioides</i> in unterschiedlichen Verdünnungen mit In-vitro-Pflanzenmaterial. M: Marker GeneRuler 1 kb DNA Ladder von Thermo Scientific.....	83
Abb. 27: Resistenztestung an fünf ausgewählten <i>Gaultheria</i> -Arten gegen das schwach (P-21) und hoch virulente (P-14) <i>C. gloeosporioides</i> -Isolat.....	84
Abb. 28: Resistenztestungen an <i>G. procumbens</i> (links), <i>G. hispida</i> (Mitte) und <i>G. shallon</i> (rechts) mit der jeweilige Wasserkontrolle (jeweils links), dem schwach (P-21, mittig) und hoch virulenten (P-14 - rechts) <i>C. gloeosporioides</i> -Isolat.....	85
Abb. A1: Anteil der Pflanzen, die in innerhalb der verschiedenen Inokulationsmethodiken Symptome ausbildeten. Je Variante wurden 40 Pflanzen getestet. Das Schema der Boniturnoten ist dem Kapitel 3.2.5 zu entnehmen.	XL

Abkürzungsverzeichnis

3´	3´-Ende der Desoxyribose mit OH-Gruppe
5´	5´-Ende der Desoxyribose mit Phosphatrest
Abb.	Abbildung
A. bidest	Zweifach destilliertes Wasser (<i>Aqua bidestillata</i>)
ad	addiere (auffüllen)
A. dest.	Destilliertes Wasser (<i>Aqua destillata</i>)
atpB	Gen für die β -Untereinheit der ATP-Synthase
bp	Basenpaar
C.	<i>Colletotrichum</i>
ca.	zirka
CTAB	Hexadecetyltrimethylammoniumbromid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotid-Triphosphat
ddNTP	Didesoxyribonukleotid-Triphosphat
DSMO	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
et al.	<i>et alii</i> (lat. für und andere)
EtOH	Ethanol
Fa.	Firma
fmol	Femto mol
FDA	Fluorescein-Diacetat
G.	<i>Gaultheria</i>
GA ₃	Gibberellinsäure
IAA	Indol-3-essigsäure (Indole-3-Acetic-Acid)
ITS	Internal transcribed spacer
Kb	Kilobasenpaare
M	Molar
matK	Gen der Maturase K
Mio.	Millionen
mM	Millimol
n	Anzahl Wiederholungen
N	Normal
NAA	Naphthylessigsäure (-Isomer) (Naphthyl Acetic Acid)
NaAc	Natriumacetat
NaClO	Natriumhypochlorit
NaOH	Natriumhydroxid
Nr.	Nummer
nrITS	Nukleäre ribosomale internal transcribed spacer-Region
nm	Nanometer
n. n.	nicht nachgewiesen
n. s.	nicht signifikant
o. g.	oben genannt
PCR	Polymerase Kettenreaktion („polymerase chain reaction“)
PEG	Polyethylenglycol
PDA	Potato Dextrose Agar

ppm	parts per million
PVP	Polyvinylpyrrolidon
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
rbcl	Gen der Ribulose-1,5-Bisphosphat-Carboxylase
rDNA	Ribosomal DNA
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute („rotations per minute“)
s./s. a.	siehe/siehe auch
Tab.	Tabelle
Taq	Thermus aquaticus
TE	Tris-EDTA-Puffer
TRIS	Tris (hydroxymethyl-) aminomethan
z. B.	zum Beispiel
U	Einheit („unit“)
ü NN	über Normalnull
UPGMA	Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages

1 Einleitung

Die immergrüne und winterharte niederliegende Scheinbeere *Gaultheria procumbens* L. gehört zur Familie Ericaceae und zählt in Deutschland zu den 10 bedeutsamen Herbstpflanzen, mit steigender Tendenz in den Verkaufszahlen (Geschäftsbericht Landgard 2005). Neben *Viola*, *Calluna vulgaris*, *Primula* und *Pelargonium*, deren Erzeugung 2012 zwischen 285 und 88 Millionen Pflanzen lag, beläuft sich der Anbau von *Gaultheria* schätzungsweise auf 8 – 10 Millionen Pflanzen (persönliche Mitteilung Andrew Gallik 2014, Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen).

In den letzten Jahren kam es insbesondere in Jungpflanzenbetrieben zu enormen Ausfällen, denen Blatt- und Stängelläsionen sowie ein Absterben von Trieben und Zweigen vorausgingen. Als Verursacher hierfür konnte *Colletotrichum gloeosporioides* (teleomorph: *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding & Schrenk) benannt werden. Der Pilz ist als Phytopathogen weltweit an wirtschaftlich wichtigen Kulturpflanzen (Leguminosen, Johanniskraut, Erdbeere, Heidelbeere, Zitrusfrüchte, Kaffee, Kakao, etc.) bekannt (Bailey et al. 1992) und kann sowohl am Samen als auch auf Pflanzenresten überdauern. Diese wiederum bilden die Inokulumquelle für Neubestände. Eine Vermeidung der Ausbreitung des Pathogens ist häufig nur in der juvenilen Phase durch den Einsatz chemischer Pflanzenschutzmittel möglich. In älteren Beständen bieten diese Maßnahmen nur ungenügenden Schutz, da der Pilz vor allem im unteren Stängelbereich angesiedelt ist, wo Fungizide in diesem Entwicklungsstadium der Pflanze nur unzureichend hingelangen bzw. nicht ausreichend Wirkung zeigen. Darüber hinaus kann das Pathogen latent in der Pflanze vorhanden sein, sodass erst zu einem späteren Zeitpunkt Symptome auftreten. Aufgrund des hohen Inokulumdrucks, der massiven Ausbreitung des Pilzes sowie der unzureichenden chemischen Bekämpfung können die Folgen Totalausfall des Bestandes und einhergehend die Aufgabe des Gaultherien-Anbaus bedeuten. So besteht die Möglichkeit, dass Pflanzenbestände mit ca. 50.000 Gaultherien aus zweijähriger Kulturführung, mit gutem Wachstum, bedingt durch milde Winter total ausfallen (persönliche Mitteilung Rainer Wilke 2014).

2 Literaturübersicht

2.1 Die Gattung *Gaultheria* Kalm ex L.

2.1.1 Taxonomie, Morphologie und Verbreitungsgebiet

Der Tribus *Gaultheriadeae* der Familie Ericaceae umfasst die sechs Gattungen *Chamaedaphne* Moench, *Diplycosia* Blume, *Eubotrys* Nutt., *Gaultheria* Kalm ex L., *Leucothoe* D. Don und *Tepuia* Camp mit ca. 250 Arten (Bush et al. 2009a). Allein der monophyletischen Gattung *Gaultheria* werden, nach unterschiedlichen Literaturangaben, zwischen 120 und 170 Arten zugeordnet (Middleton 1997, Powell und Kron 2001, Brickell 2003, Huffman et al. 2008, Mabberley 2008, Bush et al. 2009b). Hauptsächlich auf dem Merkmal Struktur der Infloreszenz basierend ist die Gattung *Gaultheria* in zehn Sektionen und 22 Serien unterteilt (Tab. 1). Sieben Sektionen (1-7) enthalten jene Arten, die einzelne Blüten am Trieb ausbilden. Drei Sektionen (8-10) beinhalten die Arten, deren Blüten razemös und teilweise in extrem kurzen Spindeln (Sektion *Brossaeopsis*, Serie *Dumicolae*) (Airy-Shaw 1940) angeordnet sind (Middleton 1991a).

Tab. 1: Die Gattung *Gaultheria* unterteilt sich in 10 Sektionen und 22 Serien (Middleton 1991a). Alle hier aufgeführten Arten wurden in dieser Arbeit verwendet.

Sektion	Art	Habitat
1. <i>Gaultheria</i>	<i>G. procumbens</i> L.	Nordamerika
2. <i>Chiogenopsis</i> Middleton		
Serie <i>Trichophyllae</i> Airy-Shaw	<i>G. trichophylla</i> Royle., <i>G. thymifolia</i> Stapf	Ost-Himalaya und Südwestchina Ost-Himalaya und Südwestchina
Serie <i>Hispidulae</i> Airy-Shaw	<i>G. hispidula</i> (L.) Muhlenb.	Nordamerika, Japan, Himalaya
Serie <i>Novaguineensis</i> Middleton		
Serie <i>Pernettyoideae</i> Middleton		
3. <i>Amblyandra</i> Airy-Shaw	<i>G. adenostrix</i> (Miq.) Maxim. <i>G. humifosa</i> (Grah.) Rydb.	Nordamerika, Japan Nordamerika, Japan
4. <i>Chamaephyta</i> Middleton		
Serie <i>Antarcticae</i> Middleton		
Serie <i>Nubicolae</i> Middleton		
5. <i>Gymnocaulos</i> Middleton		
6. <i>Monoanthemona</i> Middleton		
Serie <i>Antipodae</i> Middleton	<i>G. amoena</i> A. C. Smith <i>G. antipoda</i> Forst. fil. <i>G. depressa</i> Hook. fil. <i>G. phillyreifolia</i> (Pers.) Sleum.	Westliches Südamerika, Neuseeland, Tasmanien, Neuguinea Neuseeland
Serie <i>Nummularioidae</i> Airy-Shaw	<i>G. nummularioides</i> D. Don.	Malaysia, Himalaya
Serie <i>Myrtilloideae</i> Middleton		
7. <i>Pernettya</i> (Gaud.) Middleton	<i>G. macrostigma</i> (Colenso) Middleton <i>G. mucronata</i> (L. fil.) Hook. & Arn. <i>G. myrsinoides</i> H.B.K. <i>G. parvula</i> Middleton = <i>G. nana</i> Wu & Hsu <i>G. pumila</i> (L. fil.) Middleton	Westliches Südamerika, Neuseeland, Tasmanien, Zentralamerika
8. <i>Pseudogaultheria</i> (Sleum.) Middleton	<i>G. insana</i> (Molina) Middleton.	Temperiertes Südamerika
9. <i>Brossaeopsis</i> Airy-Shaw		
Serie <i>Codonanthe</i>		
Serie <i>Dumicolae</i> Airy-Shaw		
Serie <i>Atjehensis</i> Airy-Shaw		

Sektion	Art	Habitat
10. <i>Brossaea</i> (L.) Middleton Subsektion <i>Dasyphyta</i> Middleton		
Serie <i>Domingenses</i>	<i>G. shallon</i> Pursh <i>G. erecta</i> Vent.	Kanada (Britisch Columbia) Zentralamerika
Serie <i>Tomentosae</i> Middleton	<i>G. tomentosa</i> H. B. K.	Südamerika
Serie <i>Reticulatae</i> Middleton Serie <i>Inspidae</i> Middleton	<i>G. reticulata</i> H. B. K. <i>G. strigosa</i> Benth.	Westliches Südamerika Westliches Südamerika
Serie <i>Parvifoliae</i> Middleton		
Subsektion <i>Botryphoros</i> Middleton Serie <i>Leucothoides</i> (Airy-Shaw) Middleton	<i>G. cuneata</i> Bean <i>G. forrestii</i> Diels <i>G. fragrantissima</i> Wall. <i>G. hookeri</i> Clarke <i>G. griffithiana</i> Wight var. <i>insignis</i> R.C. Fang <i>G. itoana</i> Hayata <i>G. miqueliana</i> Takeda	Westchina Himalaya, Südwestchina Himalaya, Südwestchina Himalaya, Südwestchina Himalaya, Südostasien, Malaysia
Serie <i>Gymnobotrys</i> (Airy-Shaw) Middleton	<i>G. leucocarpa</i> Bl.	Himalaya, Südostasien, Malaysia
Serie <i>Rupestres</i> Middleton	<i>G. rupestris</i> (L. fil.) Don.	Neuseeland
Serie <i>Nubigenae</i> Middleton	<i>G. apressa</i> A. W. Hill	Südaustralien, Tasmanien
Serie <i>Hispidae</i> Middleton	<i>G. hispida</i> R. Br.	Südaustralien, Tasmanien

Eine Einteilung aufgrund dieses Merkmals ist für die intragenerische Strukturierung jedoch nicht ausreichend, da unter anderem Arten existieren, die mitunter intermediäre Ausprägungen des Merkmals Infloreszenz zeigen. Ein Beispiel hierfür ist *G. antipoda* mit einzeln stehenden Blüten, die manchmal verkürzte oder dicht stehende razemös angeordnete Blüten, sogenannte pseudorazemöse Blütenstände, ausbildet (Bush et al. 2009ab).

Eine eigene Gattung stellte bis zum Ende der 1990er Jahre *Pernettya* Gaud. dar. Bereits 1948 gab es Annahmen, dass Pernettien wegen ihrer morphologischen und anatomischen Übereinstimmungen aus einer primitiven Form der *Gaultheria* entstanden sein mussten (Cox 1948). Damals wurden Pernettien aber, aufgrund ihrer morphologischen Fruchteigenschaften, als eine eigene Gattung gezählt (Hooker 1864, Sleumer 1935, 1985, Luteyn et al. 1995). Während die Früchte von *Pernettya* eine Beere ohne fleischigen Calyx bilden, besitzen Arten von *Gaultheria* (Middleton und Wilcock 1990b) einen fleischigen Calyx. Weitere Indizien für die Existenz separierter Gattungen sind die Befruchtungsform (Pernettien sind diözisch, Gaultherien gynodiözisch) und die Existenz von Viviparie ausschließlich bei *Pernettya* (Sleumer 1985).

Durch den Einsatz molekularer Techniken, basierend auf nrITS (Kerngenom) und *matK* und *atpB-rbcL* spacer (Chloroplastengenom) (Powell und Kron 2001), war es möglich, die Eingliederung von *Pernettya* in die Gattung *Gaultheria* zu unterstützen. Damit wurden die Studien von Middleton und Wilcock (1990b), die unter anderem auf Fruchteigenschaften, gleicher Chromosomengrundzahl ($x=11$) und den Beobachtungen zur Blattanatomie und Reproduktionsbiologie beruhten, gestützt, dass *Pernettya* nicht als eigene Gattung separiert werden darf.

Das **Verbreitungsgebiet** der Gattung *Gaultheria* erstreckt sich hauptsächlich auf die geographischen Gebiete Ostasien, Himalaya, Australasien und Neuseeland sowie Nord-, Mittel- und Südamerika, wo sie überwiegend endemisch beheimatet sind (Luteyn et al. 1995, Hermann und Cambi 2006, Freitas et al. 2006, Bush et al. 2009a).

Die Arten wachsen hier in subtropischen Regenwäldern (400 m Höhe), auf alpinen bis subalpinen Weiden in 4500 m Höhe sowie in trockeneren Waldgebieten und bevorzugen leichte, sandige bis mittlere, lehmige Böden (Middleton 1991b, Luteyn et al. 1995, Lu et al. 2010). Sie sind dabei in offenen, gut drainierten, unwegsamen, felsigen Arealen zu finden, wobei sie als Pionierpflanzen besonders auf zuvor durch Vulkane und Erdbeben zerstörten Flächen oder entlang von neu erbauten Felsstraßen vorherrschen (*G. glomerata*, *G. myrsinoides*) (Turner 1928, Middleton 1991b, Luteyn et al. 1995). Darüber hinaus sind Arten auf Extremstandorten wie erkaltetem Lavastrom angesiedelt (*G. hartwegiana* Klotzsch, Vulkan Izalco, El Salvador, *G. erecta*, Barú Vulkan, Panama) (Middleton 1991b, Luteyn et al. 1995). Gaultherien wachsen auf sauren, sehr sauren und pH-neutralen Böden im Vollschatten (dichter Wald), Halbschatten oder in voller Sonne. Sie benötigen eine permanente Bodenfeuchte, die nicht ins sumpfige gehen darf und sind z. T. trockentolerant (*G. procumbens* und *G. shallon*). Die Gattung toleriert geringe Temperaturen zwischen -35 °C (*G. procumbens*) bis -3 °C (*G. adenostrix*, *G. antipoda*, *G. depressa* var. *novaezealandiae*, *G. erecta*). Die Arten dieser Gattung können dabei vollkommen bis nicht winterhart sein.

Bei der nach dem kanadischen Arzt und Botaniker Gaultier (Fernald 1950, Gaerdt und Reide 1869) benannten Scheinbeere handelt es sich um bodendeckende, kriechende, aufrechte und/oder kompakte Sträucher, die in ihrer Größe zwischen 2 cm (*G. pumila* (L.f.) D. J. Middleton) und 10 m (*G. foliolosa* Benth.) variieren können (Luteyn et al. 1995, Middleton 1997).

Ihre wechselständigen, mittel- bis dunkelgrünen **Blätter** variieren stark in Größe (0,5 bis 15 cm lang und 0,2 bis 10 cm breit) und Form (lanzettenförmig, spitz zulaufend, schmal eiförmig, rundlich, gezähnt, borstig oder stachelig zugespitzt) (Middleton 1991b, Brickell 2003).

Die **Blüten** von *Gaultheria* sind razemös oder einzeln an 2 bis 20 mm langen Blütenstielen endständig oder axilliar, meist an neu gebildeten Trieben, angeordnet. Die zylindrischen bis urnenförmigen, seltener glockenförmigen, nickenden 3 bis 12 mm langen Blüten besitzen entlang des Blütenstiels je ein Tragblatt und zwei bis mehrere Vorblätter (Abb. 1). Sie sind vorwiegend fünfteilig (selten vierteilig) und verfügen über zumeist zehn (bzw. acht) Antheren, die am unteren Ende abgerundet und terminal geöffnet sind (Middleton 1991b, Luteyn et al. 1995). Sie sind mit wenigen Ausnahmen wie z. B. *G. forrestii* (Brickell 2003) ohne Duft und können in ihrer Farbe von weiß (*G. cuneata*, *G. miqueliana*, *G. procumbens*, *G. shallon*) über rosa (*G. mucronata*, *G. x wisleyensis*) bis hin zu einem dunklem Violett (*G. erecta*) variieren.



Abb. 1: Blüten von *G. procumbens* (links), *G. trichophylla* (Mitte) und *G. pyrolifolia* (rechts)

Der **Pollen** der Gaultherien ist vierflächig, isopolar. Schon in der ungeöffneten Blüte können sie vollreif sein (Luteyn et al. 1995). Diese Vormännigkeit (Protandrie) wurde bei *G. procumbens*, *G. shallon*, *G. nummularioides* sowie *G. punctata* Blume und einigen Individuen von *G. leucocarpa* aber auch bei nahezu allen lateinamerikanischen Arten beobachtet (Reader 1977, Mirick und Quinn 1981, Pojar 1974, Sleumer 1967, Luteyn et al. 1995). Weit verbreitet ist in dieser Gattung auch Gynodiözie (*G. rupestris*, *G. oppositifolia*) zusammen mit Protandrie (*G. mucronata*) (Sleumer 1985, Middleton 1991b).

Für die Bestäubung der Blüten, die z. T. selbstkompatibel sind, ist der Einsatz von Insekten nicht unbedingt erforderlich. Allerdings kann sich der Fruchtansatz durch Vögel (Kolibris) und Insekten wie Bienen und Schwebfliegen erhöhen (Pojar 1974, Stevens 1976, Reader 1977, Corcoran 1981, Middleton 1991b).

Am morphologischen Merkmal **Frucht** wurde, wie oben erwähnt, die taxonomische Einteilung von *Pernettya* und *Gaultheria* als eigene Gattungen kontrovers diskutiert. In der Gattung *Gaultheria* kommen sowohl fleischige Beeren und trockene Fruchtblätter (*Pernettya*) als auch trockene Kapseln umgeben von fleischig werdenden, sie umgebenden Fruchtblättern vor (Middleton 1991d, Luteyn et al. 1995). Die Früchte sind fünffach gegliedert, haben eine weiße (*G. miqueliana*, *G. cuneata*, *G. hookeri*), rosa (*G. mucronata*, *G. macrostigma*), rote (*G. depressa*, *G. humifosa*, *G. macrostigma*, *G. procumbens*), violette (*G. mucronata*) oder blaue (*G. mucronata*) bis tief schwarze Farbe (*G. leucocarpa*, *G. myrsinoides*, *G. shallon*) und können im Durchschnitt bis zu 15 mm groß werden (Abb. 2). Die orangefarbenen bis braunen Samen besitzen eine netzartige Oberflächenstruktur und sind ca. 1-1,2 mm lang und zweimal so lang wie breit (Luteyn et al. 1995).



Abb. 2: Kapsel Früchte von *G. pumila*, *G. trichophylla*, *G. shallon* und *G. miqueliana* (von links nach rechts)

Die Anzahl der somatischen **Chromosomen** variiert in der Gattung *Gaultheria* im hohen Maß. Basierend auf der Chromosomengrundzahl 11, 12 und 13 konnten Chromosomenzahlen von $2n=22$, 24, 26, 44, 48, 66, 88 und 96 ermittelt werden (Luteyn et al. 1995, Middleton und Wilcock 1990a). In der nachfolgenden Tabelle 2 ist die Anzahl der Chromosomen nach Middleton und Wilcock (1990a) für die in dieser Arbeit verwendeten *Gaultheria*-Arten aufgelistet.

Tab. 2: Bekannte Chromosomenanzahl der in dieser Arbeit verwendeten *Gaultheria*-Arten (nach Middleton und Wilcock 1990a)

Art	Serie	n	2n
<i>G. antipoda</i>	<i>Monoanthemona</i>		22
<i>G. cuneata</i>	<i>Brossaea</i>		22
<i>G. fragrantissima</i>	<i>Brossaea</i>	22	22
<i>G. hispida</i>	<i>Brossaea</i>		22
<i>G. hispidula</i>	<i>Chiogenopsis</i>		24
<i>G. insana</i>	<i>Pseudogaultheria</i>		66
<i>G. itoana</i>	<i>Brossaea</i>		26
<i>G. leucocarpa</i>	<i>Brossaea</i>	22	44
<i>G. mucronata</i>	<i>Pernettya</i>		66
<i>G. myrsinoides</i>	<i>Pernettya</i>		44
<i>G. procumbens</i>	<i>Gaultheria</i>	22, 24 und 44	22
<i>G. shallon</i>	<i>Brossaea</i>	44 und 48	88

Im Anhang dieser Arbeit befindet sich Tabelle A3 mit detaillierten Angaben zu Herkünften, Habitus, Größe und Wachstum, Art der Befruchtung, Chromosomenanzahl, Beeren- bzw. Kapsel­farbe sowie Länge und Breite der Blätter der in dieser Arbeit verwendeten Arten.

2.1.2 Züchtung/Hybridisierung

Eine Züchtung im klassischen Sinn gab es bei den Gaultherien bislang nicht. Momentan existiert nur eine europäisch geschützte *Gaultheria*-Sorte 'Vergaul' (*G. x wisleyensis* 'Jingle Bells'). Die in der Literatur beschriebenen Hybriden sind aus spontanen, natürlichen Kreuzungen vor allem in Mexiko, Südamerika, Asien und Neuseeland entstanden (Franklin 1964, Sleumer 1967, Middleton 1991b, Luteyn et al. 1995, Bush et al. 2009a). Die bekannteste Hybride *G. x wisleyensis* ist aus *G. mucronata* und *G. shallon* hervorgegangen. Sie blühte erstmalig 1929 im Garten

von Wisley (Großbritannien), in dem sich beide Elternpflanzen befanden. Aus alten Publikationen ist bekannt, dass der ursprüngliche Name *Gaulnettya wisleyensis* aufgrund der damals noch separierten Gattungen *Gaultheria* x *Pernettya* entstanden war. Da aber keine lateinische Beschreibung für diese Hybride vorlag und eine gültige Veröffentlichung durch den Internationalen Code für botanische Nomenklatur nicht existierte, war es Middleton (1991c), der durch seine Studien der Hybride *Gaultheria* x *wisleyensis* Marchant ex Middleton Hyb. nov. den Namen gab.

Eine weitere natürliche Hybride ist von Middleton (1991b) aus Ecuador beschrieben worden. Dabei handelt es sich um die Kreuzung *G. reticulata* x *G. myrsinoides*. Seine Kriterien für eine tatsächliche Hybridisierung waren intermediäre Blattgröße und -form sowie terminale, razemös angeordnete Blütenstände. Sowohl einzeln als auch razemös angeordnete Blüten waren hier an einer Pflanze zu finden (*G. reticulata* besitzt razemöse Blütenstände, *G. myrsinoides* bildet offene Einzelblüten) (Middleton 1991b). Aus Neuseeland sind die Hybriden *G. macrostigma* x *G. crassa*, *G. macrostigma* x *G. depressa* (Moore und Bannister 2000) und *G. crassa* Allen x *G. depressa* Hook. f. (lt. Angabe Arktisch Alpiner Garten, Chemnitz) bekannt.

2.1.3 Vermehrung

Vermehrt werden Gaultherien hauptsächlich über Samen. Diese lassen sich mit einem Sieb vom Fruchtfleisch getrockneter oder frischer „Beeren“ lösen (Wedel 1997). Das so gewonnene Saatgut wird über Oberflächenaussaat angezogen. Eine viermonatige Kältestratifizierung zur Keimung der Samen ist - entgegen Literaturangaben - nicht nötig (Mac Cárthaigh und Spethmann 2000, Brickell 2003).

Die vegetative Vermehrung wird über Rhizome (Mirick und Quinn 1981) oder bei einigen Arten über Stecklinge gewährleistet. Bei der Stecklingsvermehrung werden halbverholzte oder bewurzelte Schösslinge im Sommer geschnitten bzw. von der Mutterpflanze abgetrennt und in Erde überführt.

Eine In-vitro-Vermehrung ist nur bei *G. fragrantissima* bekannt (Ranyaphia et al. 2011).

2.1.4 Kultur und wirtschaftliche Bedeutung

Eine große wirtschaftliche Bedeutung besaßen die Gaultherien früher aufgrund ihres hohen Gehaltes an Salicylsäuremethylester, das als Rheuma-Mittel Verwendung fand.

Aufgrund der billigeren Herstellung synthetischer Stoffe besitzt das Naturprodukt Wintergrün-Öl heute kaum noch eine Bedeutung. In der mexikanischen Kultur wurden früher die Blätter der Gaultherien in Tempeln als Parfüm benutzt, während die Früchte gegessen oder als Anti-Rheumatikum, Antiseptikum, Tinktur, Analgetikum, Antineuralgikum, Fiebermittel, harntreibendes Mittel, Abführmittel oder Erkältungstee verwendet wurden. *G. erecta* Vent. wurde in Peru als Hustenmittel eingesetzt. Bei Arten aus Peru und Kolumbien gelten die Früchte der *G. vaccinooides* Weddell und *G. rigida* H. B. K. als toxisch (Luteyn et al. 1995).

G. yunnanensis (Franch.) Rehd. ist eine traditionelle chinesische Heilpflanze, die vorwiegend gegen rheumatische Arthritis, Schwellungen, Schmerzen und Erkältungen eingesetzt wird. Ein neu gefundener Inhaltsstoff, ein Dilacton, besitzt eine zytotoxische Wirkung auf Hep-2, HepG2 Leberzellen. (Li et al. 2010). Weitere Inhaltsstoffe dieser Art, Methylsalicylat-Glucoside, werden bei Zhang et al. (2011) als hemmend für Makrophagen (Fresszellen) beschrieben.

Heutzutage besitzt *G. shallon*, besser bekannt als Salal, wegen ihrer breiten Blätter und einheitlichen grünen Farbe eine große ökonomische Bedeutung als Beigrün in Blumensträußen. Entlang der nördlichen Pazifikküste fungiert die Pflanze wegen der enormen Rhizomausbreitung (mehr als 177 m Rhizomlänge/m² - Huffman 1994, Huffman et al. 1994) als Dünenstabilisator (Brown und Hafenrichter 1962). *G. shallon* ist hauptsächlich als immergrüner Busch an der pazifischen Küste im nordwestlichen Nordamerika beheimatet, wo sie als Wachstumskonkurrent vor allem in wirtschaftlich genutzten Koniferen-Wäldern (Wilkin et al. 2005) bekämpft wird.

Der Art *G. procumbens* (Abb. 3) kommt vor allem im Landschaftsgartenbau und als Zierpflanze eine besondere Bedeutung zu. Ihre 1,5 cm großen leuchtend roten Scheinbeeren, die bis zum kommenden Frühjahr an der Pflanze verbleiben, bilden diese einen starken Kontrast zum dunkelgrün glänzenden Laub. Dadurch haben die strauchförmigen Bodendecker vor allem im Herbst einen hohen Zierwert. Die auch Rebhuhnbeere, Amerikanisches Winter-/Immergrün, Teebeerenstrauch, Bergtee und Moosbeere genannte Topfpflanze kann 10 bis 100 cm hoch werden und ist hauptsächlich im östlichen Nordamerika beheimatet. Angezogen werden sie nach ein bis zwei Monaten Keimung in einem humusreichen kalkfreien Torfsubstrat, dessen pH-Wert zwischen 3,5 und 5 liegen sollte. Unter Voll- und Halbschatten im Gewächshaus

angezogen, geht *G. procumbens* nach zweijähriger Freilandkultur in 11 bis 13 cm große Töpfe in den Verkauf. Die Art bildet in Deutschland ab April bis Juni weiße urnenförmige nickende Blüten aus. Diese sind hermaphrodit und können sich somit selbst befruchten oder werden von Bienen bestäubt. Aus den Blüten entwickeln sich ab September rote Kapseln.



Abb. 3: *Gaultheria*-Anbau in der GbR Holz in Weeze im April (links). *G. procumbens* mit Blüten- und Kapselbesatz aus der Gewächshauskultivierung (rechts).

2.2 *Colletotrichum gloeosporioides* an *Gaultheria*

Neben *Botrytis cinerea* Pers., dem ubiquitär vorkommenden Grauschimmelerreger, *Phytophthora cinnamomi* Rands (Verursacher der Wurzel- und Stängelgrundfäule), *Cylindrocladium scoparium* Morgan (Erreger der Stammgrundfäule), *Rhizoctonia solani* Kühn (Schwarzfäule verursachend) ist das bedeutendste Pathogen an *G. procumbens* *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. und Sacc. (Stängelfäule). Diese Stängelfäule kann die höchsten Verluste (90 %) verursachen und dadurch zu einem Anbaustopp in Baumschul- oder Gartenbaubetrieben führen (Gallik und Wilke 2006). Den ersten Nachweis des Pathogens *C. gloeosporioides* bei *Gaultheria* lieferten Elmhirst und Hudgins (2003). Sie wiesen den Erreger in vier kommerziellen Baumschulen an der Küste von British Columbia in Kanada an *G. procumbens*-Sämlingen nach. Dabei isolierten und charakterisierten sie den Pilz und konnten ihn anhand artspezifischer Primer via PCR eindeutig als *C. gloeosporioides* spezifizieren. Die erste Klassifizierung der Gattung *Colletotrichum* mit 750 Arten wurde von von Arx (1957) erstellt. Sie beruhte auf morphologischen Merkmalen, berücksichtigte dabei aber u.a. das Virulenzspektrum und den Wirtspflanzenkreis nicht. Seit 1990, mit Be-

ginn des ersten internationalen Workshops zu *Colletotrichum* in Bath (GB), gibt es, angesichts zunehmender molekularer Techniken, immer mehr Erkenntnisse zur phylogenetischen Charakterisierung der Arten. Bis zum heutigen Zeitpunkt sind daher über 100 Arten akzeptiert (Cannon et al. 2012).

Die Gattung *Colletotrichum* gehört zu den *Deuteromycotina* (*Fungi imperfecti*) der Klasse *Coelomycetes* in der Ordnung *Melanconiales*. Sie ist die Nebenfruchtform von *Glomerella* (Stoneman) Spauld. und H. Schrenk, die wiederum zu den *Ascomycotina* der Klasse *Pyrenomycetes* und der Ordnung *Phyllachorales* zugeordnet ist und nur bei einigen Arten existiert. Die erstmalige Beschreibung von *Colletotrichum* sp. erfolgte erstmalig 1831 von Corda an *Apiaceae* (*Colletotrichum lineola*) (Cannon et al. 2012).

Aufgrund hoher ökonomischer Verluste und einer hohen Anzahl wissenschaftlicher Erkenntnisse zählt diese Gattung heutzutage global zu den 10 bedeutendsten pilzlichen Pflanzenpathogenen (Dean et al. 2012, O'Connell et al. 2012). Arten dieser Gattung treten weltweit als Vor- und Nachernteschädling an über 3200 Mono- und Dicotyledonen auf, insbesondere an wichtigen Kulturpflanzen, Gräsern, Kräutern und Zierpflanzen (Noireung et al. 2012, O'Connell et al. 2012). Typische Symptome sind dunkle, z.T. eingesunkene Flecken, Braunfäulen, Chlorosen und Nekrosen.

Colletotrichum-Arten infizieren dabei den Wirt über auskeimende Konidien, die in Acervuli (anamorph) gebildet werden, oder befallen Pflanzen über in Perithezien gebildeten Ascosporen (teleomorph). Mit der nachfolgenden Ausbildung eines melanisierten Appressoriums penetriert und infiziert der Erreger den Wirt entweder intrazellulär hemibiotroph oder subcuticular, intramural necrotroph (O'Connell et al. 2000). Die Penetration kann direkt oder über natürliche Öffnungen, wie Stomata oder Wunden erfolgen (Bailey et al. 1992, Bailey und Jeger 1992). Ist das Pathogen in die pflanzliche Zelle eingedrungen, kann es hier biotroph verbleiben, ohne äußerliche Symptome zu verursachen. Wegen dieser sogenannten latenten Phase gilt *Colletotrichum* als eines der bedeutendsten Nacherntepathogene weltweit. Die Ausfälle durch infizierte Früchte können dabei bis zu 100 % betragen (Prusky 1996). In der sich anschließenden nekrotrophen Phase des Erregers sterben die infizierten Zellen ab und die oben beschriebenen anthraknosetypischen Symptome werden sichtbar.

In Tabelle 3 sind die ökonomisch relevanten *Colletotrichum*-Arten und deren Wirte aufgelistet, die, basierend auf DNA-Sequenzierungen, als Erreger identifiziert werden konnten (Nirenberg et al. 2002, Wang et al. 2008, Su et al. 2011, Cannon et al. 2012). Dabei kann eine *Colletotrichum*-Art mehrere Wirte befallen und umgekehrt kann eine Wirtspflanze von mehreren Arten infiziert werden.

Tab. 3: Die weltweit ökonomisch wichtigsten *Colletotrichum*-Arten an Kulturpflanzen.

<i>Colletotrichum</i> -Art	Wirt
<i>C. acutatum</i> J. H. Simmonds	Erdbeere, Mandel, Apfel, Zitrone, Weintrauben, Paprika, Avocado (Guerber et al. 2003), Olive (Martin und Garcia-Figueres 1999), Lupine (Talhinhas et al. 2002),
<i>C. coccodes</i> (Wallr.) S. Hughes	Kartoffeln (Dillard 1992)
<i>C. fragariae</i> Brooks	Erdbeere (Phoulivong et al. 2010)
<i>C. gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. and Sacc.	Yam (Abang et al. 2002), Kaffee, Mango, Avocado, Erdbeere, Zitrone (Phoulivong et al. 2010), Mandel, Apfel (Freeman et al. 1998), Olive (Martin und Garcia-Figueres 1999), Soja (Chen et al. 2006)
<i>C. graminicola</i> (Ces.) Wilson	Süßgräser (Mais) (Nicholson 1992)
<i>C. lindemuthianum</i> (Sacc. and Magnus) Briosi and Cavara	Bohne (Tu 1992)
<i>C. lupini</i> (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn, comb. nov. var. <i>lupine</i>	Lupine (Nirenberg et al. 2002)

Der Befall an *Gaultheria procumbens* durch *C. gloeosporioides* beginnt mit kontaminiertem Saatgut. Befallene Pflanzen sterben ab, auf denen das Pathogen Konidien ausbildet, die wiederum mit dem Gießwasser auf benachbarte Pflanzen verbreitet werden. Die ersten Symptome treten hierbei am Stängelgrund auf. Es sind schwarze Läsionen sichtbar, die sich über den Trieb ausbreiten. Einzelne Triebe der Pflanze fangen an, sich fahlgrün zu verfärben und zu welken. Mit fortschreitender Pathoge-

nese werden weitere Triebe befallen (Abb. 4). Auf den Blättern entwickeln sich in Ausnahmefällen dunkle zonierte, eingesunkene Läsionen (Gallik und Wilke 2006). Das Laub kann sich rötlich braun verfärben. Die befallenen Früchte weisen schwarze Flecken auf, es entsteht eine braune Weichfäule, sie mumifizieren und das darin enthaltene Saatgut wird somit erneut kontaminiert (Wohanka 2006). Für den Verbraucher scheinen die Pflanzen vertrocknet zu sein.

Die ersten Annahmen, dass es sich um einen pilzlichen Erreger handelt, wurden erstmalig von Wedel (1997) dokumentiert. Er gab an, dass es sich dabei um die Hauptfruchtform *Glomerella* sp. handelt, deren Krankheitsverlauf von den oberen Pflanzenteilen ausgeht, wobei der Wurzelhals nicht betroffen ist. Erst die Untersuchungen von Diener (1997) und Wawra (1999) belegten, dass es sich bei dem Schaderreger um die Nebenfruchtform, *C. gloeosporioides* handelt, dem Hauptverursacher aller *Gaultheria*-Ausfälle. Eine wirksame Bekämpfung von *C. gloeosporioides* ist oft sehr schwierig, da der Erreger latent in der Pflanze vorkommt. Versuche zeigten, dass es bei einem Befall von 0,1 % des Saatgutes in der Kulturfolge, vor allem im Jungpflanzenbestand, zu massiven Ausfällen kommen kann (Gallik und Wilke 2005). Eine Eindämmung ist dann nur noch mit Pflanzenschutzmitteln gewährleistet, die allerdings an den Stängelgrund appliziert werden müssen, um eine maximale Wirkung garantieren zu können.

In Untersuchungen an der Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau in Bad Zwischenahn zum Einsatz von Fungiziden gegen *C. gloeosporioides* zeigten die Mittel Euparen M WG (Wirkstoff: Tolyfluanid), Polyram Combi (Wirkstoff: Metiram), Sportak (Wirkstoff: Prochloraz) und Sporogon (Wirkstoff: Prochloraz) die beste Wirksamkeit, wobei letztere Präparate (Sportak und Sporogon) zu Wachstumsdepressionen führen können (Diener 1997).

Als beste vorbeugende Bekämpfungsmöglichkeit erwies sich eine Heißwasserbehandlung des Saatgutes für 15 Minuten bei 50 °C (Neubauer und Wunder-Jatzkowski 1999). Im Rahmen einer Diplomarbeit zu Untersuchungen zur Heißwasserbehandlung des Saatgutes von *G. procumbens* (Bollmann 2005) an der Fachhochschule Osnabrück unter der Leitung von Professor Neubauer wurde hingegen die geringste Kontamination bei höchster Anzahl intakter Keimlinge mit 55 °C und 15 Minuten erzielt.



Abb. 4: *Colletotrichum*-Befall an *G. procumbens*. Anfängliche Symptome äußern sich in vertrockneten Triebspitzen (links). Mit fortwährender Pathogenese treten Verbräunungen an der Stängelbasis auf (Mitte), in deren Folge die Pflanze abstirbt. Für den Verbraucher erscheint die Pflanze vertrocknet.

Zielstellung

Da bei *G. procumbens* Pflanzenschutzmittel und Heißwasserbehandlung der Samen nur unzureichende Wirkung in der Bekämpfung des Pathogens *C. gloeosporioides* zeigen, war es Ziel der vorliegenden Arbeit, resistente bzw. tolerante *Gaultheria*-Genotypen zu identifizieren. Dazu mussten pflanzengenetische Ressourcen gesammelt und evaluiert werden, was die Entwicklung eines möglichst praktikablen, reproduzierbaren und quantifizierbaren Resistenztest einschloss.

Durch die Isolierung des Erregers *Colletotrichum gloeosporioides* aus befallenem Pflanzenmaterial sollte das Pathogen morphologisch und molekulargenetisch mittels Sequenzierung der rDNA-ITS-Region umfangreich charakterisiert werden. Zusätzlich wurde an der Entwicklung einer PCR-basierten Nachweismethode gearbeitet, die bedeutend für den Nachweis in der Latenzphase des Pathogen ist.

Da bisher keine Angaben zur Akkumulation des Erregers in einer latent befallenen *Gaultheria*-Pflanze vorliegen, sollten Erkenntnisse zur Erregerübertragbarkeit, z. B. über Stellflächen bzw. Pflanzsubstrat gesammelt werden. Darüber hinaus wurde untersucht, welche weiteren *Colletotrichum*-Arten einen Einfluss auf die Befallsentwicklung haben oder ob es sich bei diesem Pathogen-Wirt-Komplex um ein selektives Erregerspektrum handelt. Solche Erkenntnisse sind für die Praxis von hoher Bedeutung, um den Pflanzenschutzmitteleinsatz noch selektiver durchzuführen und Inokulumquellen zu vermeiden.

Parallel zu den umfangreichen phytopathologischen Untersuchungen wurde ein züchterischer Ansatz zur Bekämpfung der Mykose über die Entwicklung krankheitsresistenter Kultivare in der Gattung *Gaultheria* verfolgt. Außer dem oben genannten Schwerpunkt Resistenzevaluierung der verfügbaren *Gaultheria*-Genotypen wurde die genetische Distanz der Arten mit RAPD-Markern bestimmt, die Qualität und Langzeitlagerung von Pollen geprüft und die Erhaltung bzw. Vermehrung der pflanzen genetischen Ressourcen *in vitro* etabliert. Kreuzungskombinationen mit *G. procumbens* als mütterlicher und/oder väterlicher Elter wurden durchgeführt und potenzielle Arthybriden morphologisch und molekulargenetisch charakterisiert.

3 Material und Methoden

3.1 *Gaultheria*-Arten

3.1.1 Pflanzenmaterial und Anzucht

Insgesamt standen 139 Genotypen aus 37 Arten der Gattung *Gaultheria* zur Verfügung. Davon waren 31 Genotypen der Art *G. procumbens* zugeordnet. Das Material wurde als Saatgut, Steckling oder Pflanze in den Pflanzenbestand aufgenommen. *Gaultheria*-Arten, aus Samen *in vitro* angezogen, wurden mit 3 %iger Natriumhypochlorit-Lösung (NaClO, Firma Roth) in Eppendorf-Reaktionsgefäßen für 20 Minuten oberflächensterilisiert und anschließend drei Mal mit sterilem destilliertem Wasser gewaschen. Danach wurden die Samen auf Duchefa-Anderson-Medium (Anderson 1980, Anderson 1984) (Tab. 4) mit 9 g/l Plant Agar, 30 g/l Saccharose, 50 mg/l GA₃, 5 g/l PVP 10, 0,1 mg/l Timentin und einem pH-Wert von 5,0 (eingestellt mit NaOH) in 6 cm (∅) Petrischalen (Greiner Bio-One) so ausgelegt, dass diese sich nicht berührten, um Nachbar-Kontaminationen zu vermeiden. Nachfolgend wurden die Samen unter 24 h Licht (75,6 µMol/m²/s) bei 25 °C im Klimaschrank (CU-36-L, Percival Scientific, Inc., USA) kultiviert. Wenn sich nach ca. vier Wochen kräftige Sämlinge entwickelten, wurden diese auf modifiziertem Anderson-Medium (Anderson 1980, Anderson 1984) mit 9 g/l Plant Agar, 30 g/l Saccharose, 5 g/l PVP 10, 0,1 mg/l Timentin, einem pH-Wert von 5,2 (eingestellt mit NaOH) sowie einem Phytohormonzusatz von 9 µM/l Zeatin und 5,7 µM/l Indol-3-essigsäure (IAA) nach Mertens et al. (1996) für Sprosskulturen überführt. Die Pflanzen wurden bei Temperaturen von 20 °C ± 3 °C und einer Tageslänge von 16 Stunden (66,15 µMol/m²/s) weiterkultiviert. Die Überführung der Pflänzchen in Substrat in Klimakammern (20 °C, 60 % rel. Luftfeuchte, 16 h Licht, 10 k lux (135 µMol/m²/s), 8 h Dunkelheit) im Gewächshaus erfolgte in Minigewächshäusern auf beheizten Matten, unter Angießen mit dem Fungizid Previcur (Wirkstoff: Propamocarb-Hydrochlorid, Firma Maag, 0,15 %).

Tab. 4: Makro- und Mikroelemente sowie Vitamine des Anderson-Rhododendron-Mediums (Anderson 1980, 1984, Duchefa) als Basalmedium für die In-vitro-Kultur von *Gaultheria*

Nährstoffe		
Makroelemente	mg/l	mM
CaCl ₂ · 2H ₂ O	332,02	2,3
KNO ₃	480,00	4,7
MgSO ₄ · H ₂ O	180,54	0,7
NaH ₂ PO ₄	330,60	2,4
NH ₄ NO ₃	400,00	5,0
Mikroelemente	mg/l	µM
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,025	0,1
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,025	0,1
NaFeEDTA	73,400	200,0
H ₃ BO ₃	6,200	100,0
KJ	0,300	1,8
MnSO ₄ · H ₂ O	16,900	100,0
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0,250	1,1
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8,600	30,0
Vitamine und andere organische Bestandteile	mg/l	µM
Adenin sulphat	80,0	198,00
myo-Inositol	100,0	560,00
Thiamin	0,4	1,19

Kam das Pflanzenmaterial als Steckling, wurden die Schnittflächen der jüngsten gesunden Triebe mit dem Bewurzelungspulver Rhizopon[®] AA (2 % IAA, Ablauffrist Ende 2010 abgelaufen) behandelt und jeweils vier Triebe in 12er Pflanztöpfe gesteckt und in einer Klimakammer bei 25 °C und nahezu 100 % relativer Luftfeuchtigkeit unter Folie angezogen, bis sich Wurzeln bildeten. Danach wurden die bewurzelten Stecklinge vereinzelt und in 12er Töpfe getopft. Als Pflanzsubstrat wurde in allen Versuchen ein eigens zusammengestelltes 1:1 - Sand-Torf (Fa. Stender)-Gemisch verwendet. Alle verwendeten *Gaultheria*-Arten sind zusammengefasst in der nachfolgenden Tabelle 5 dargestellt. Die Nummerierung sowie Bezugsquelle und Art des Eingangs des Materials sind aus der Tabelle A4 im Anhang zu entnehmen.

Tab. 5: Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten *Gaultheria*-Genotypen eingeteilt nach Sektion, Serie und Art.

Sektion/ Serie	Art	Anzahl Genotypen
<i>Gaultheria</i>	<i>G. procumbens</i> L.	31
<i>Chiogenopsis</i>		
<i>Trichophyllae</i>	<i>G. trichophylla</i> Royle.	7
	<i>G. thymifolia</i> Stapf	2
<i>Hispidulae</i>	<i>G. hispidula</i> (L.) Muhlenb.	3
<i>Amblyandra</i>	<i>G. humifosa</i> (Grah.) Rydb.	1
	<i>G. adenostrix</i> (Miq.) Maxim.	3
<i>Monoanthemora</i>		
<i>Antipodae</i>	<i>G. amoena</i> A. C. Smith	1
	<i>G. antipoda</i> Forst. fil.	1
	<i>G. depressa</i> Hook. fi	6
	<i>G. phillyreifolia</i> (Pers.) Sleum.	2
<i>Nummularioidae</i>	<i>G. nummularioides</i> D. Don.	2
<i>Pernettya</i>	<i>G. macrostigma</i> (Colenso) Middleton	1
	<i>G. mucronata</i> (L. fil.) Hook. & Arn.	8
	<i>G. myrsinoides</i> H.B.K.	2
	<i>G. parvula</i> Middleton = <i>G. nana</i> Wu & Hsu	1
	<i>G. pumila</i> (L. fil.) Middleton	4
<i>Pseudogaultheria</i>	<i>G. insana</i> (Molina) Middleton.	4
<i>Brossaea</i>		
Subsektion <i>Dasyphyta</i>		
<i>Domingenses</i>	<i>G. erecta</i> Vent.	1
	<i>G. shallon</i> Pursh	16
<i>Reticulatae</i>	<i>G. reticulata</i> H.B.K.	1
<i>Tomentosae</i>	<i>G. tomentosa</i> H.B.K.	1
<i>Inspidae</i>	<i>G. strigosa</i> Benth.	1
Subsektion <i>Botryphoros</i>		
<i>Leucothoides</i>	<i>G. cuneata</i> (Rehd. Et Wils.) Bean	6
	<i>G. forrestii</i> Diels	1

	<i>G. griffithiana</i> Wight var. <i>insignis</i> R.C. Fang	1
	<i>G. hookeri</i> Clarke	3
	<i>G. itoana</i> Hayata	1
	<i>G. miqueliana</i> Takeda	9
<i>Gymnobotrys</i>	<i>G. leucocarpa</i> Bl.	1
<i>Hispidae</i>	<i>G. hispida</i> R. Br.	2
	<i>G. apressa</i> A. W. Hill	1
<i>Rupestres</i>	<i>G. rupestris</i> (L. fil.) Don.	1
Hybriden	<i>G. x wisleyensis</i>	5
	<i>G. crassa x depressa</i>	1
Arten ohne Sektionszugehörigkeit		
	<i>G. pyrolifolia</i> Hook. f. ex. C. B. Clarke	1
	<i>G. sp.</i>	5
	<i>G. rubra</i>	1
	<i>G. merrilliana</i> Hort.	1

3.1.2 RAPD-Verwandtschaftsanalyse

Die **Random Amplified Polymorphic DNA**-Technik (RAPD) basiert auf kurzen, 9-10 kb langen Oligonucleotid-Primern, die aus einer zufälligen DNA-Sequenz bestehen und deren GC-Gehalt mit mehr als 50 % determiniert ist. Diese Primer können aufgrund ihrer geringen Länge an mehreren Stellen des Genoms binden, so dass, statistisch gesehen, alle 10⁶ Basen eine Hybridisierung mit der Matrizen-DNA erfolgen kann. Aufgrund von Sequenzunterschieden ergeben sich somit artspezifische Bandenmuster.

3.1.2.1 DNA-Extraktion

Die Isolierung der genomischen Gesamt-DNA von 29 der 37 *Gaultheria*-Arten aus jungen Blättern erfolgte nach einem modifizierten Protokoll nach Rogers und Bendich (1985) mittels CTAB. Dazu wurden 0,1-0,2 g frisches Blattmaterial eingewogen, 2 min in einer Retsch-Mühle MM 300 (Retsch GmbH, Deutschland/Frequenz 30/s) zerkleinert und anschließend in 1,5 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäße übertragen und unter Zugabe von 700 µl Extraktionspuffer I (100 mM Tris, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 4 % CTAB, 1 % PVP 15, 0,1 % B-mercaptoethanol) stark schwenkend in einem Wärmebad bei 65 °C für 45 min inkubiert. Anschließend wurden 600 µl Chloroform-Isoamyl-Alkohol (24:1) dazugeben und die Proben erneut 5 min bei Raumtemperatur

stark geschwenkt. Nach 5-minütiger Zentrifugation bei Raumtemperatur und 13000 rpm (Hettich Rotina 420, Tuttlingen) wurden 500 µl Überstand in ein neues Reaktionsgefäß überführt, 50 µl Puffer II (10 % CTAB, 0,7 M NaCl₂) (10 % Volumen an Überstand) dazugegeben und gemischt. Unter Zugabe von 500 µl Chloroform–Isoamyl-Alkohol (24:1) wurden die Proben erneut stark geschwenkt, bei Raumtemperatur 5 min und 13000 rpm zentrifugiert und 500 µl des Überstandes wieder in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Die sich anschließende Zugabe von 500 µl Isopropanol (-20 °C) erfolgte so, dass beide Phasen gut durchmischt waren. Mit dem Sichtbarwerden von DNA-Fäden wurde die Suspension 10 min bei Raumtemperatur und 13000 rpm zentrifugiert, so dass nach Abgießen des Überstandes nur noch das DNA-Pellet im Reaktionsgefäß zurückblieb. Das Pellet wurde in 500 µl 70 %igem Ethanol gewaschen, erneut 10 min bei Raumtemperatur und 13000 rpm zentrifugiert und der Überstand abgegossen. Das im Reaktionsgefäß enthaltene Pellet wurde in einer Vakuumzentrifuge (Eppendorf Concentrator 5301) getrocknet und danach in 50 µl TE Puffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA) über Nacht gelöst. Nach Zugabe von 1 µl RNase A (10 mg/ml, Roche) und einstündiger Inkubation bei 37 °C im Wasserbad sowie nachfolgend der Zugabe von 1 µl Proteinase K (1 mg/ml, Roche) und weiterer einstündiger Inkubation im Wasserbad wurde der DNA-Gehalt mit dem Molekular Devices spektra max Plus 384 der Firma Molecular Devices (Sunnyvale, USA) bestimmt. Hierzu wurden die DNA-Proben 30 min schüttelnd gemischt, 3 s zentrifugiert (Hettich Rotina 420, Tuttlingen) und 5 µl der jeweiligen Probe mit 45 µl TE-Puffer in Mikrotiterplatten 5 min auf dem Vortexer durchmischt. Die Proben wurden erneut 1 s bei 20.000 rpm (Heraeus Megafuge 1.0) zentrifugiert und für den weiteren Gebrauch auf 8 ng/µl mit TE-Puffer verdünnt und bei -20 °C in Reaktionsgefäßen eingelagert.

3.1.2.2 RAPD-PCR

Mit der DNA wurde eine PCR nach den in Tabelle 6 und 7 dargestellten Schema und Bedingungen durchgeführt. Die eingesetzten RAPD-Operon-Primerpaare wurden zufällig ausgewählt und sind in Tabelle 8 aufgelistet.

Tab. 6: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemisches für RAPD-PCR

	Einsatzmenge	Gebrauchskonzentration
A. dest.	2,91 µl	
Polymerase Puffer (Invitak)	0,60 µl	1 x
MgCl ₂ (25 mM)	0,60 µl	2,500 mM
dNTPs	0,05 µl	100,000 µM
Ti-Taq (Hersteller JKI, nach Ferralli et al. 2007)	0,04 µl	0,033 U/µl
RAPD-Primer 1	0,10 µl	0,167 µM
RAPD-Primer 2	0,10 µl	0,167 µM
DNA	1,60 µl	8,000 ng/µl

Tab. 7: PCR-Programm für RAPD-PCR

Programmschritte	Temperatur	Zeit	Zyklenzahl
Denaturierung	95 °C	120 s	1
Denaturierung	95 °C	30 s	
Annealing	35 °C	30 s	45
Extension	72 °C	60 s	
Finale Extension	72 °C	600 s	1

Tab. 8: Sequenzen verwendeter RAPD-Primerkombinationen

Primer-Kombination	Primer 1	Sequenz (5'- 3')	Primer 2	Sequenz (von 5' zum 3'-Ende)
1	OPA 01	CAG GCC CTT C	OPA 02	TGC CGA GCT G
2	OPA 03	AGT CAG CCA C	OPA 04	AAT CGG GCT G
3	OPA 05	AGG GGT CTT G	OPA 06	GGT CCC TGA C
4	OPA 07	GAA ACG GGT G	OPA 08	GTG ACG TAG G
5	OPA 09	GGG TAA CGC C	OPA 10	GTG ATC GCA G
6	OPA 17	GAC CGC TTG T	OPA 18	AGG TGA CCG T
7	OPB 01	GTT TCG CTC C	OPB 02	TGA TCC CTG G
8	OPB 05	TGC GCC CTT C	OPB 06	TGC TCT GCC C
9	OPB 07	GGT GAC GCA G	OPB 08	GTC CAC ACG G
10	OPB 09	TGG GGG ACT C	OPB 10	CTG CTG GGA C
11	OPB 11	GTA GAC CCG T	OPB 12	CCT TGA CGC A

Die DNA-Proben wurden anschließend mit 6 µl Loading-Puffer (0,025 % Bromphenolblau, 0,025 % Xylencyanol, 10 mM EDTA, 98 % Formamid) versetzt und vor der gelelektrophoretischen Auftrennung für 300 s bei 95 °C denaturiert.

3.1.2.3 Gelelektrophorese und Auswertung

Der Auftrag der denaturierten PCR-Produkte auf ein ca. 38 x 50 cm großes, 4 %iges Acrylamidgel (64,8 ml Harnstoffdiluent, 10 ml Gel 30, 75 µl Temed, 384 µl APS-Ammoniumperoxodisulfat, alles Fa. Roth) erfolgte je *Gaultheria*-Art doppelt nebeneinander. Der Versuch wurde zweimal wiederholt, wobei zwei unabhängige PCR-Reaktionen durchgeführt wurden. Als Größenstandard diente der 100-Basenpaare-DNA-Ladder von Invitrogen, der auf 1 µl/ml verdünnt nach jeder 16. Probe auf das Gel aufgetragen wurde. Mit einer Leistung von 50 Watt und einer Temperatur von 50 °C erfolgte ein Pre-Run des Geles für 15 min in einer 1 x TBE-Pufferlösung (0,09 M Tris, 0,09 M Borsäure, 0,002 M EDTA). Es folgten zwei weitere Läufe mit einer Leistung von 40 bzw. 100 Watt und einer Temperatur von 50 °C für 10 bzw. 180 min. Das Anfärben der Banden mit Silbernitrat erfolgte in nachfolgend aufeinander aufbauenden Schritten: Fixierung der Banden in 10 %iger Essigsäure für 10 min, dreimaliges Waschen mit A. bidest für 3 min, 20 min Färbung der Banden mit Silbernitratlösung (1 %) und 10 s Waschen, Entwicklung bis zum Sichtbarwerden der Banden in 3 %iger Entwicklerlösung, Fixierung in 10 %iger Essigsäure für 5 min, 10 min Waschen in A. bidest. Alle Chemikalien und die Zusammensetzung der einzelnen Komponenten sind im Anhang unter Färbung der RAPD-Gele aufgelistet.

Anschließend wurden die einzelnen Gele mit dem Epson Expression 1640 XL eingescannt, ausgedruckt und die Größe der Banden unter Verwendung der Größen-Marker per Hand berechnet. Mit Hilfe der Größe der Banden konnten alle Operon-Primer innerhalb und zwischen den Versuchen miteinander verglichen werden. Unter Anwendung des Programms NTSYSpc (Numerical Taxonomy System) Version 2.20 M wurde die binäre 1/0 Datenmatrix unter Verwendung der Neighbour Joining-Methode nach Saitou und Nei (1987) als Dendrogramm dargestellt.

Alle Versuche wurden jeweils einmal wiederholt. Die Auswertung der DNA-Fragmente erfolgte nur an eindeutigen, freiliegenden, dominanten und sowohl in beiden Versuchen als auch in der Wiederholung vorhandenen Bandenpositionen. Polymorphe DNA

Banden wurden als vorhanden mit 1, als nicht vorhanden mit 0 und als nicht eindeutig mit 999 gekennzeichnet.

3.1.3 Etablierung einer In-vitro-Kultur

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die In-vitro-Etablierung in Abhängigkeit vom Gesundheitszustand des Pflanzenmaterials und nur von Teilen des *Gaultheria*-Bestandes. Dazu wurden junge, frisch ausgetriebene, gesunde Triebspitzen bzw. Sprossabschnitte mit Nodien von Gewächshauspflanzen entnommen mit 3 %iger NaClO-Lösung, je nach Größe des Ausgangsmaterials, für 5 bis 15 min oberflächensterilisiert und anschließend 3 x 3 min in sterilem A. dest. gewaschen. Das Pflanzenmaterial wurde nachfolgend in 1-2 cm lange Sprossspitzen- oder Sprossteilstücke zerteilt und unter sterilen Bedingungen in sterile Kulturgefäße auf Nährmedium überführt. Triebspitzen wurden hierbei jeweils einzeln in sterilen "De Wit"-Kulturröhrchen (Duchefa) kultiviert, drei bis fünf Axillarsprosse in Polystyrol-Zuchtbehälter (ø 68 mm, Höhe 66 mm, Greiner Bio-One). Als Nährmedium diente das auf einen pH-Wert von 5,2 eingestellte Basalmedium nach Anderson (1980, Anderson 1984) (Kapitel 3.1.1, Tab. 4). Die Pflanzen wurden bei Temperaturen von $20\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ bei $66,15\text{ }\mu\text{Mol/m}^2/\text{s}$ und einer Tageslänge von 16 Stunden kultiviert.

Jeweils die Anzahl neugebildeter Sprosse, etablierter, verbräunter und abgestorbener Explantate sowie Kontaminationen wurden bestimmt.

3.1.4 In-vitro-Vermehrung

Die weiterführende In-vitro-Vermehrung erfolgte auf dem in Kapitel 3.1.1 beschriebenen nach Mertens et al. (1996) modifizierten Anderson-Medium (Tab. 4). Erfolgreich etablierte Axillarsprosse bzw. Sprossspitzen wurden in 1,5–2 cm große Axillarspross- oder Triebspitzenstücke mit 1-2 Axillarknospen geschnitten, auf Medium überführt und bei Temperaturen von $20\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$, einer Lichtintensität von $66,15\text{ }\mu\text{Mol/m}^2/\text{s}$ und einer Tageslänge von 16 Stunden kultiviert. Es wurden nur die Genotypen ausgewählt, von denen ausreichend Pflanzenmaterial zur Verfügung stand. Von 23 Arten wurden die neugebildeten Seitensprosse nach 8 Wochen ausgezählt. Je nach Materialverfügbarkeit waren es im Minimum ein und im Maximum 24 (Sprossteilstücke) bzw. 13 (Sprossspitzen) Explantate.

3.1.5 Pollenvitalität und -Langzeitlagerung

Die Ausbildung des Pollenschlauches ist ein Maß für die Vitalität des Pollens. Um ausreichend vitalen Pollen zu unterschiedlichen Blühzeitpunkten der Mutterpflanze zur Verfügung zu haben, besteht die Möglichkeit der Pollenlagerung bei -18 °C bis -20 °C (Shivanna 2003).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Pollenvitalität von frisch entnommenen Pollen für sieben Tage bei 4 °C im Exsikkator gelagerten Pollen *in vitro* bestimmt. Hierzu wurden so viele Pollenkörner verwendet, wie aktuell vorhanden waren (Anzahl der Pollen s. Kapitel 4.1.4.1, Tab. 26), auf einem Nährmedium nach Filiti und Montalti (1982) (Tab. 9) in 6 cm Petrischalen ausgebracht und bei 25 °C und 16 h Licht ($75,6\text{ }\mu\text{Mol/m}^2/\text{s}$) und 8 h Dunkelheit bei 22 °C im Klimaschrank (CU-36-L, Percival Scientific, Inc., USA) inkubiert. Die Auszählung der gekeimten Pollenkörner erfolgte nach 24 Stunden (und zusätzlich 96 Stunden bei der Langzeitlagerung) unter dem Lichtmikroskop (Zeiss AxioVert 200M/ApoTome, Jena). Es wurden nur die Pollenkörner gezählt, deren Pollenschlauch genauso lang wie oder länger als der Durchmesser des Pollenkorns war.

Um die Vitalität von langzeitgelagerten Pollen zu testen wurden von jeweils frisch entnommenen, von 7 Tagen im Exsikkator bei 4 °C getrockneten sowie von bei -20 °C (1 bis 6 Monate) gelagerten Pollen, der vorher ebenfalls 7 Tage im Exsikkator getrocknet wurde, von 5-10 Blüten 3×100 Pollenkörner von je 3 Genotypen von *G. procumbens* (G 02) und *G. shallon* (G 72) entnommen. Die Pollenvitalität wurde, wie oben beschrieben, *in vitro* bestimmt. Parallel dazu wurde von denselben Pollenproben identische Mengen mit Fluoreszein-Diazetat (FDA) der Serva Feinbiochemica GmbH, Heidelberg angefärbt. Bei dieser nichtinvasiven Färbemethode dringt FDA über die Zellmembranen in das Zytoplasma ein und wird hier von Esterasen gespalten. Das entstandene bipolare Produkt kann die Zellwand nicht mehr durchdringen (Rotman und Papermaster 1966), so dass fluoreszierende Zellen mit dem Mikroskop detektiert und ausgezählt werden können. Bei nichtintakten Zellen würde das entstandene Fluoreszein wieder aus der Zelle heraustreten und in der Lösung fluoreszieren. Dazu wurde aus Stammlösung 1 (2 mg FDA werden in 1 ml Aceton (Firma Roth gelöst) und Stammlösung 2 (10 %ige Saccharoselösung) eine Gebrauchslösung hergestellt. Diese setzte sich aus 0,5 ml Stammlösung 1 und tröpfchenweiser Zugabe

der Stammlösung 2 zusammen. Es wurde so viel Saccharoselösung hinzugeben, bis sich eine milchig-trübe Verfärbung einstellte. Für die Herstellung der Pollen-Präparate wurden diese auf einem Objektträger mit der Färbelösung vermischt. Unter einem Fluoreszenz-Mikroskop (Zeiss SteREO Lumar 12.V, Jena, Filtersatz Lumar 38 HE, Anregung 493 nm, Emission 513 nm) wurden anschließend 3 x 100 Pollenkörner bei 100facher Vergrößerung ausgezählt. Dabei galt, dass nur intensiv leuchtende Pollen als lebensfähig, alle übrigen als nicht lebensfähig einzustufen waren.

Tab. 9: Nährmedium-Zusammensetzung nach Filiti und Montalti (1982)

Inhaltsstoffe	Menge in g/l
Saccharose	10,000
Borsäure (H ₃ BO ₃)	0,025
Ca(NO ₃) ₂ x 4H ₂ O	0,250
Difco Agar	10,000
pH	6,500

3.1.6 Kreuzungsexperimente

Im ersten Jahr (2007) wurden hauptsächlich mit allen blühenden *Gaultheria*-Arten im Gewächshaus interspezifische Kreuzungsexperimente mit *G. procumbens* als Vater oder als Mutter durchgeführt. In den Jahren 2008 und 2009 fanden hauptsächlich die Arten in das Kreuzungsprogramm Eingang, die sich als widerstandsfähig gegen das Pathogen *C. gloeosporioides* aber auch gegenüber anderen Umwelteinflüssen (Temperatur, Feuchtigkeit, Schaderreger) im Gewächshaus erwiesen.

Dazu wurden die Antheren der halb geöffneten oder z.T. geöffneten Blüten mit einer Pinzette entfernt und nach 24 Stunden mit Antheren der Vaterpflanze belegt. Die übrigen, jüngeren sich darüber befindlichen Knospen, wurden entfernt.

Je Kreuzungskombination wurden so viele Blüten emaskuliert und bestäubt, wie vorhanden waren. Stand ausreichend Material zur Verfügung, wurden mindestens 10 Blüten bestäubt. Alle durchgeführten Kreuzungskombinationen sind im Ergebnisteil (Kap. 4.1.5, Tab. 28-30) aufgelistet.

3.1.7 Sterilaussaat von *Gaultheria*-Samen aus Kreuzungsexperimenten

Ungefähr acht Wochen nach der Bestäubung wurden die Kapseln unreif geerntet, wie im Kapitel 3.1.1 beschrieben sterilisiert und die Samen heraus präpariert. Die Weiterkultivierung und Kulturbedingungen entsprachen denen im Kapitel 3.1.1.

3.1.8 Molekularer Hybridnachweis

Der molekulare Hybridnachweis wurde mit RAPD-Markern durchgeführt. Dazu wurde von In-vitro-kultivierten potenziellen Hybriden und deren Eltern genomische DNA via CTAB-Methode (s. Kapitel 3.1.2.1) extrahiert. Die Durchführung der RAPD-PCR erfolgte unter Verwendung der Operon-Primer OPB 06, 07 und 08 wie im Kapitel 3.1.2.2 in den Tabellen 6-8 beschrieben. Nach Auftrennung der Amplifikate auf einem 1,5 %igen Agarosegel (gelektrophoretische Auftrennung bei 400 mA und 100 V) in 0,5 x TBE-Puffer (Zusammensetzung s. Anhang unter Zusammensetzung der Lösungen/ RAPD-Methode), anschließender Färbung mit Ethidiumbromid (0,5 mg/l Endkonzentration) und Visualisierung der Banden mit dem Gel Imager (Intas Science Imaging Instruments GmbH) (Anregungswellenlänge Transilluminator: 254 nm) konnten die Banden detektiert werden.

3.2 *Colletotrichum*-Isolate

Von den insgesamt 30 verwendeten Isolaten (Tab. 10) sind 21 Isolate aus befallenen Stängelmaterial der in Tabelle A4 im Anhang aufgelisteten *Gaultheria*-Arten isoliert worden. Fünf Isolate wurden von der Fachhochschule Osnabrück durch Prof. Dr. C. Neubauer zur Verfügung gestellt sowie zwei Referenzisolate von Frau Dr. M. Heupel von der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen. Ein aus *Citrus* gewonnenes Isolat wurde aus der Deutschen Sammlung Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) bezogen und diente dem Nachweis der Pathogenität von *C. gloeosporioides* an *Gaultheria*.

Tab. 10: Verwendete *Colletotrichum*-Isolate und deren Herkunft

Isolat-Nr.	Herkunft	Isoliert aus Genotyp (G)
P-01	Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen	<i>G. procumbens</i>
P-02	Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen	<i>G. procumbens</i>
P-03	FH Osnabrück	<i>G. procumbens</i>
P-04	FH Osnabrück	<i>G. procumbens</i>
P-05	FH Osnabrück	<i>G. procumbens</i>
P-06	FH Osnabrück	<i>G. procumbens</i>
P-07	FH Osnabrück	<i>G. procumbens</i>
P-08	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> (G 02)
P-09	eigene Isolation	<i>G. cuneata</i> (G 13)
P-10	eigene Isolation	<i>G. trichophylla</i> (G 18)
P-11	eigene Isolation	<i>G. pumila</i> (G 37)
P-12	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> , Niederrhein
P-13	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> , Niederrhein
P-14	eigene Isolation	<i>G. pyroloides</i> (G 77)
P-15	eigene Isolation	<i>G. depressa</i> (G 14)
P-16	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> (G 36)
P-17	DSMZ	<i>Citrus</i>
P-18	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> (G 91)
P-19	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> (G 93)
P-20	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> (G 02)
P-21	eigene Isolation	<i>G. depressa</i> (G 14)
P-22	eigene Isolation	<i>G. mucronata</i> (G 30)
P-23	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> (G 51)
P-24	eigene Isolation	<i>G. miqueliana</i> (G 01)
P-25	eigene Isolation	<i>G. trichophylla</i> (G 19)
P-26	eigene Isolation	<i>G. mucronata</i> (G 40)
P-27	eigene Isolation	<i>G. hookeri</i> (G 33)
P-28	eigene Isolation	<i>G. procumbens</i> (G 36)
P-29	eigene Isolation	<i>G. x wisleyensis</i> (G 55)
P-30	eigene Isolation	<i>G. mucronata</i> (G 41)

3.2.1 Herstellung von Monokonidienisolaten, deren Erhaltung und Langzeitlagerung

Da die meisten *C. gloeosporioides*-Isolate aus *Gaultheria*-Pflanzen isoliert worden waren, war die Wahrscheinlichkeit der Kontamination mit Mikroorganismen sehr hoch. Um kontaminationsfreie Isolate zu erzeugen, wurden daher von allen Isolaten Monokonidien-Isolate angefertigt. Hierzu wurde eine Konidiensuspension auf 1×10^4 /ml eingestellt, je 30 μ l davon mit einem Drigalskispatel auf einem sterilen, mit Wasseragar (20 g/l Agar-Agar der Fa. Roth, Karlsruhe, A. dest.) beschickten Glas-Objektträger verteilt. Bei 28 °C und 12 h im Dunkeln keimten die Konidien und konnten anschließend einzeln unter dem Mikroskop (Zeiss AxioImager A1, Jena) detektiert werden. Ein einzelnes Hyphenfragment einer keimenden Konidie wurde mit einer sterilen Nadel auf eine Potato Dextrose Agar (PDA) enthaltende kleine Petrischale (im Durchmesser 6 cm) überführt und bei 25 °C im Dunkeln inkubiert. Waren die Petrischalen nach drei bis fünf Tagen bewachsen, konnte das Isolat auf Hafermehl-agar (30 g/l gemahlene Haferflocken, 15 g/l Agar-Agar der Firma Roth, Karlsruhe, ad 1000 ml A. dest.) in große Petrischalen (im Durchmesser 9 cm) überimpft werden. Nach sieben Tagen und einer Inkubation bei 28 °C im Dunkeln wurden die Konidien anschließend mit Wasser abgeschwemmt, eine Suspension von mindestens 1×10^6 Konidien/ml hergestellt und diese zur Langzeitlagerung in Glasperlen enthaltende Roti-Store Cryoröhrchen nach Herstellerangaben der Firma Roth, Karlsruhe aliquotiert und bei -80 °C eingelagert.

3.2.2 Herstellung von Inokulum

Für alle *C. gloeosporioides*-Experimente wurde auf tiefgefrorene Isolate in den Kryoröhrchen zurückgegriffen. Je Ansatz und Isolat wurden zwei Glasperlen mit einer sterilen Pinzette aus dem Kryoröhrchen entnommen und einzeln auf Hafermehl-Agar-Platten abgelegt. Die Inkubation erfolgte bei Raumtemperatur und einem natürlichen Tag-Nacht-Rhythmus für sieben Tage im Labor. Anschließend wurden unter Zugabe von sterilem A. dest. Konidien von der Platte abgeschwemmt und, je nach Versuchsansatz, auf die gewünschte Konzentration, unter Verwendung einer Thomakammer, eingestellt.

3.2.3 Morphologie und Konidiencharakterisierung der Isolate

Für die Beurteilung des radialen Myzelwachstums und der optimalen Wachstumstemperatur wurden 28 Isolate (mit Ausnahme der P-05 und P-09) für sieben Tage bei 28 °C auf Hafermehlagar angezogen. Anschließend wurde eine, im Durchmesser 5 mm große, mit Myzel bewachsene Agarscheibe ausgestanzt und in die Mitte einer 90 mm großen sterilen und mit Hafermehlagar (plus 200 ppm Streptomycin) gefüllten Petrischale platziert. Die Proben wurden bei Temperaturen von 5 °C, 10 °C, 16 °C, 23 °C, 28 °C, 30 °C, 35 °C und Dunkelheit im Universal Wärmeschrank und Klimaschränken (Memmert und RUMED 1301) der Firma Memmert (Schwabach) und RUMED (Laatzen) in jeder Temperaturstufe und je Isolat mit fünf Wiederholungen kultiviert. Eine Bewertung des radialen Wachstums sowie der Größe, Länge und Form von 50 Konidien je Isolat erfolgte nach drei bzw. sieben Tagen unter anderem unter dem Zeiss Stemi SV 6 – Mikroskop (Jena). Darüber hinaus wurden Koloniefarbe, Myzelstruktur, Setaen-Bildung (dickwandige, modifizierte Hyphe, Sutton 1980) und Konidienmassen-Produktion unter Zuhilfenahme des Zeiss SteREO Discovery V12 Mikroskops bewertet.

3.2.4 Sequenzierung der rDNA-ITS-Region der Isolate

Die nukleare genomische ribosomale DNA-ITS-Region ist ein hoch-konservierter, sich seriell wiederholender Bereich innerhalb des Genoms. Die RNA kodierende DNA-Sequenz der Ribosomen besteht dabei aus mehreren Einheiten. Eine Einheit umfasst hierbei folgende Bereiche (Abb. 5): externer transkribierter Spacer (ETS), 18S-rRNA-Gen (Small Subunit), interner transkribierter Spacer (ITS1), 5.8S-rRNA-Gen, interner transkribierter Spacer (ITS 2) und 28S-rRNA-Gen (Large Subunit). Eine Trennung zwischen der nächsten Einheit ist durch einen nicht-transkribierten Spacer gewährleistet (Hillis und Dixon 1991). Weil innerhalb der ITS-Bereiche eine hohe interspezifische Variabilität besteht und der Bereich der ribosomalen Gene gleichzeitig eine hohe Konserviertheit in Bezug auf evolutionäre Veränderungen besitzt, ist die Sequenzierung dieser Region für phylogenetische Studien sehr gut geeignet (Hillis und Dixon 1991, Bridge 2002).

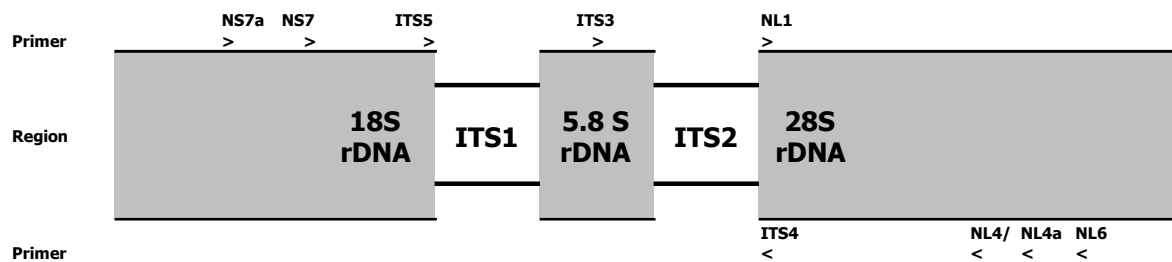


Abb. 5: Schematische Darstellung der rDNA-ITS-Region für die Sequenzanalyse der *Colletotrichum*-Isolate, unterteilt in codierende (18 S-, 5.8 S- und 28 S-rDNA) und nicht codierende (ITS 1 und ITS 2) Bereiche sowie die verwendeten Primer NS7a, NS7, ITS5, ITS3, NL1, ITS4, NL4/ NL4a, NL6).

3.2.4.1 DNA-Extraktion

Die gesamte pilzliche DNA wurde nach dem modifizierten Protokoll nach Rogers und Bendich (1985) mittels CTAB extrahiert. Nach dem Animpfen der einzelnen Isolate mit einer Perle aus der Kryokonservierung (s. Kapitel 3.2.1) auf Hafermehlagar wurden nach 7-10 Tagen, je nach Wuchs und Entwicklung, Konidienmasse bzw. Hyphen mit einem sterilen Spatel entnommen und in -20 °C vorgekühlten Tiegeln mit einem Pistill unter Zugabe von flüssigem Stickstoff zu Pulver zermahlt. Die Isolierung, Berechnung und Verdünnung der genomischen DNA aus gemörsertem Pilzmaterial erfolgte analog zu der unter Kapitel 3.1.2 beschriebenen DNA-Isolationsmethode.

3.2.4.2 DNA-Amplifikation

Die Amplifikation des zu sequenzierenden ribosomalen DNA-Bereichs wurde unter Verwendung der in Tabelle 11 aufgeführten Primer und des in der Tabelle 12 aufgeführten PCR-Reaktionsgemischs nach dem Thermocycler-Programm aus Tabelle 13 durchgeführt. Die Größe und die Qualität der Amplifikate wurden auf einem 1 %igem Agarosegel (2 g LE-Agarose - Gibco BRL, electrophoresis grade, 10 µl Ethidiumbromid, 1 % gesättigte Stammlösung der Firma Serva, ad 200 ml TBE-Puffer [5,4 g TRIS-Base, 27,5 g Borsäure, 40 ml EDTA-Lösung (0,5 M/l, pH 8,0), ad 1000 ml A.dest]) überprüft. Als Kontrolle für die Länge der DNA-Fragmente dienten 10 µl des 1 Kb DNA-Ladders (Invitrogen life technologies). Dazu wurden 3 µl der amplifizierten DNA mit 5 µl Loadingbuffer (10 mg/l Bromphenolblau - Fluka, 10 mg/l

Xylencyanol - Merck, 0,2 ml/l EDTA (0,5 M/l, pH 8,0), 50 ml/l Glycerin-peqlab Biotechnologie, 49,8 ml A. dest.) auf Parafilm platziert und nach mehrmaligem Durchmischen mit der Pipettenspitze in die Taschen des Gels übertragen. Die gelelektrophoretische Auftrennung erfolgte in 0,5 x TBE-Laufpuffer (5,4 g/l TRIS-Base, 27,5 g/l Borsäure - Roth, 40 ml EDTA-Lösung (0,5 M/l, pH 8,0), ad 1000 ml A. dest.) und einer Spannung von 250 V für die Dauer von 120 min. Überprüft wurde die Größe der Fragmente mit dem UV-Illuminator von Bachhofer unter UV-Aufsicht bei 254 nm. Die Fotodokumentation erfolgte mit einer Polaroidkamera (MP 4 mit UV-Filter, Kodak, Polaroid 667 IOS 300).

Tab. 11: PCR-Primer für den zu amplifizierenden rDNA-Bereich (s. a. Abb. 5)

Primer	Primersequenz	Fragmentgröße
NS7a ¹⁾	5´-AAG TTT GAG GCA ATA ACA GG-3´ - fw	400-450 bp
NL1 ²⁾	5´-GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG-3´ - fw	680 bp
NL4 ³⁾	5´-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-3´ - rev	680 bp
NL4a ³⁾	5´-TCC TTG GTC CGT GTT TCA AG - 3´ - rev	600-650 bp
NL6 ⁴⁾	5´-CGA AGT TTC CCT CAG GAT AG-3´ - rev	650 bp
ITS3 ⁵⁾	5´-GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC-3´ - fw	800 bp
ITS5 ⁵⁾	5´-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G - 3´	800 - 850 bp

¹⁾Nirenberg et al. 2002, ²⁾Kurtzman und Robnett 1997, ³⁾O´Donnell 1993, ⁴⁾G. Hagedorn/JKI/Berlin-Dahlem, ⁵⁾White et al. 1990

Tab. 12: PCR-Reaktionsgemisch für die Amplifikation des rDNA-Bereiches

Komponente	Einsatzmenge	Konzentration
A. bidest.	29,8 µl	
10 x Polymerase-Puffer (Invitek)	5,0 µl	
Mg-Acetat	3,0 µl	50 mM
dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP/Böhringer)	3,0 µl	10 mM je dNTP
Primer fw (NS7a, ITS5, ITS3, NL1)	2,0 µl	
Primer rev (NL6, NL4, NL4a)	2,0 µl	
Taq-Polymerase (Perkin Elmer)	0,2 µl	5 Units/µl
Template-DNA/Isolat	8,0 ng/µl	

Tab. 13: Spezifisches PCR-Programm für die Amplifikation des rDNA-Bereiches im T-Gradient (Biometra)

Vorgang	Temperatur	Zeit	Zyklenanzahl
Denaturierung	95 °C	4 min	1
Denaturierung	95 °C	1 min 30 s	
Annealing	56 °C	1 min	36
Extension	72 °C	2 min 30 s	
Finale Extension	72 °C	5 min	1

Die entstandenen PCR-Produkte sind unter Verwendung des QIAquick Spin Kit (QiaGen, Deutschland) nach Anleitung des Herstellers purifiziert und anhand des DyNA Quant 200 Fluormeters (Hoefer Pharmacia Biotech Inc, USA) nach abweichender Herstellervorschrift (s. Anhang unter ITS-Sequenzierung, Quantifizierung der DNA mit dem DyNA Quant) quantifiziert worden.

3.2.4.3 DNA-Zyklus-Sequenzierung und automatische Sequenzierung

Die DNA-Sequenzierung der 30 Isolate erfolgte nach dem Prinzip der Kettenabbruch- bzw. Didesoxynucleotidmethode nach Sanger et al. (1977). Bei dieser Methode werden fluoreszenzmarkierte Didesoxynucleotide (ddNTP) in die DNA eingebaut, die als Stoppnucleotide fungieren und einen Abbruch der Polymeraseaktivität verursachen. Die dadurch entstandenen unterschiedlich langen und markierten DNA-Fragmente können so automatisch auf dem DNA-Sequenziergerät (LI-COR 4000 L, MWG Biotech) detektiert werden.

Für die Sequenzierung wurden vier Einzelreaktionen durchgeführt. Je Reaktionsansatz wurden 8 µl bzw. 4 µl (für den ITS4 Primer) der aufgereinigten PCR-Produkte mit dem Infrarot-gelabelten Primern (synthetisiert durch MWG Biotech) (Tab. 14) enthaltenden Premix (Tab. 15) mit je 0,75 µl ddATP, ddCTP, ddGTP oder ddTTP versetzt (Tab. 16) und mit 5 µl Liquid Wax (Chill-out 14 Liquid Wax, MJ Research) überschichtet.

Tab. 14: Sequenzen infrarot-markierter Primer der Zyklus-Sequenzierung

Primer	Primersequenz	Größe
NS7 ¹⁾	5' - GAG GCA ATA ACA GGT CTG TGA TGC-3'	400 – 450 bp
ITS5 ¹⁾	5' - GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G – 3'	800 – 850 bp
NL4 ²⁾	5' - GGT CCG TGT TTC AAG ACG G – 3'	600 – 650 bp
NL4a ³⁾	5' - TCC TTG GTC CGT GTT TCA AG – 3'	600 – 650 bp
ITS4 ¹⁾	5' - TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC – 3'	888 bp
NL1 ⁴⁾	5' - GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG – 3'	600 bp

¹⁾ White et al. 1990 ²⁾ O'Donnell 1993 ³⁾ Nirenberg et al. 2002 ⁴⁾ Kurtzman und Robnett 1997

Tab. 15: Premix der Zyklus-Sequenzierung

Komponenten	Infrarot-Markierte Primer				
	NS7	NL4	NL1	ITS5	ITS4
Primer	1,00 µl	0,75 µl	0,45 µl	1,00 µl	0,65 µl
DMSO (Merck)	0,40 µl	0,40 µl	0,40 µl	0,40 µl	0,40 µl
A. bidest.	1,10 µl	1,35 µl	1,65 µl	1,10 µl	5,45 µl
Gesamtvolumen	2,50 µl	2,50 µl	2,50 µl	2,50 µl	6,50 µl

Tab. 16: Sequenzier-Reaktions-Ansatz für Sequenzier-PCR

Komponenten	Reaktionsansatz
Je Basenreaktion (A C G T)	0,75 µl
Template-DNA (100 fmol bzw. 50 fmol)	8,00 µl bzw. 4,00 µl (ITS4)
Primer-DMSO-Mix (s. Tab. 15)	2,50 µl bzw. 6,50 µl (ITS4)

Nach dem Zentrifugieren für 4 min bei 200 rpm wurde mit den Ansätzen nach dem in Tabelle 17 dargestellten PCR-Programm die Zyklus-Sequenzierung durchgeführt.

Tab. 17: PCR-Programm für Zyklus-Sequenzierung

Vorgang	Temperatur	Zeit	Anzahl Zyklen
Denaturierung	95 °C	120 s	1
Denaturierung	95 °C	15 s	
Annealing	60 °C (NS7 - 52 °C)	30 s	30
Extension	70 °C	30 s	

Den Amplifikaten wurden anschließend je 3 µl Formamid (Merck, Darmstadt) zugegeben. Die Denaturierung erfolgte bei 95 °C für 30 s. Danach wurden je Ansatz 1,4 µl in die Taschen eines 66 cm großen, 0,25 mm dicken, 4,3 %igen Polyacrylamid-Gels aufgetragen. Anschließend erfolgte die elektrophoretische Auftrennung (mit 1x TBE-Puffer, einer Spannung von 2000 Volt, 40 mA Stromstärke, bei 45 Watt und ei-

ner Temperatur von 45 °C) nach Größen. Die Zusammensetzung des Polyacrylamid-Sequenziergels ist aus Tabelle 18 zu entnehmen.

Tab. 18: Zusammensetzung des Polyacrylamid-Sequenziergels

Komponenten	Einsatzmenge
Harnstoff (Merck)	21,0 g
10 x TBE Long Run Puffer (s. Anhang unter ITS-Sequenzierung)	5,0 ml
A. bidest.	30,5 ml
DMSO	500,0 µl
Acrylamid Rapid Gel XL 40 % (USB Corporation)	65,8 ml
Sequenzier-Puffer	50,5 ml
APS (7 %) (Merck)	500,0 µl
TEMED (Roth)	100,0 µl

3.2.4.4 Auswertung der Sequenzen und phylogenetische Analysen

Die Auswertung der Gelbilder erfolgte halbautomatisch mit dem Programm Image Analysis 4.0 (LI-COR Inc. 1998). Waren Überschneidungen oder Basen falsch detektiert worden, wurden diese manuell korrigiert. Die so entstandenen einzelnen komplementären DNA-Stränge der Hin- und Rückreaktion wurden mit dem Sequencher 4.0.5 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, Michigan) unter Zuhilfenahme des Gelbildes in Übereinstimmung gebracht. Konnten einzelne Basen nicht zugeordnet werden oder war die Auswertung nur unzureichend, wurde die Sequenzierung wiederholt.

Das sich anschließende Alignment der Sequenzdaten der Isolate wurde mit dem Programm GeneDoc 2.7.000 (Nicholas et al. 1997) durchgeführt und bei Ungenauigkeiten erneut manuell korrigiert.

Mit dem Programm TreeCon 1.3 b erfolgten unter Verwendung des Neighbor-Joining Verfahrens nach Saitou und Nei (1987) die phylogenetischen Distanzanalysen.

Die Distanzen wurden nach dem Zwei-Parameter-Modell von Kimura (1980) berechnet, wobei eine Bootstrap-Analyse, zur Konfidenz des Dendrogrammes, mit 1500 Replikationen erfolgte. Parallel dazu wurden die am JKI (Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Pflanzenschutz von G. Hagedorn zur Verfügung gestellten) vorhandenen Sequenzen von *Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds (Genbank-Nr. BBA 67875/AJ301926), *C. fragariae* Brooks (Genbank-Nr. BBA

70340/AJ301912), *C. gloeosporioides* aus *Citrus* (Genbank-Nr. BBA 71473/AJ301988) und aus Papaya (Genbank-Nr. BBA 71367/AJ301979), *C. lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri et Cav. (Genbank-Nr. BBA 65483/AJ301958), *C. lupini* (Bondar) Nirenberg, Feiler et Hagedorn (Genbank-Nr. BBA 70344/AJ301916), *C. musae* (Berk. et Curt.) Arx (Genbank-Nr. BBA 70365/AJ301929), *C. trifolii* Bain et Essary (Genbank-Nr. BBA 70709/AJ301941) sowie die Außengruppe *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr (Genbank-Nr. AB026819) in die Verrechnung der Dendrogramme für die zu untersuchenden *C. gloeosporioides*-Isolate aus *Gaultheria* mit einbezogen und dienten als Referenz.

Die Überprüfung der Qualität der Sequenzen erfolgte mit Hilfe der NCBI-Datenbank unter Verwendung des BLAST (basic local alignment search tool, Altschul et al. 1990) – Algorithmus. Dabei wurde die Ergebnis-Nukleotidsequenz mit den vorhandenen *C. gloeosporioides*-Nukleotidsequenzen aus der Datenbank miteinander verglichen und anhand des E values, der gegen Null gehen sollte, statistisch abgesichert. In der tabellarischen Auswertung wurden die Resultate anhand des „Score“ dargestellt, der die quantitative Ähnlichkeit zur Suchsequenz angibt. „Query cover“ beschreibt die prozentuale Übereinstimmung der eingesetzten Nukleotid-Sequenz mit der Ergebnissequenz und die „Identity“ gibt Auskunft über die prozentuale Homologie der eingesetzten Sequenz zur Ergebnissequenz. Als Referenz sind die Akzessionsnummern aus der Datenbank aufgelistet.

3.2.5 Inokulations-Methodenvergleich

Da aus der Literatur nur unzureichende, weniger praxisorientierte und handhabbare Methoden zur gezielten Inokulation von *C. gloeosporioides* an *Gaultheria* bekannt sind, wurden verschiedene Applikations- und Inokulationstechniken geprüft. Dafür wurde ein von der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen aus *Gaultheria* gewonnenes Isolat (P-01, zwei Wochen alte Kultur) mit einer Suspension von 2×10^6 Konidien/ml in fünf verschiedenen Inokulationsvarianten an 14 Wochen alten (eigens angezogenen) *Gaultheria*-Sämlingspflanzen in zweifacher Wiederholung im Juni 2008 und im Februar 2009 getestet.

Folgende Behandlungen wurden durchgeführt:

1. Sprühinokulation der gesamten Pflanze mit 300 µl Konidien suspension aus 20 cm Entfernung mittels druckluftbetriebenen Zerstäuber (BIMLab, Firma Bio-Oz, Israel)
2. Tauchinokulation der oberirdischen Pflanzenteile
3. Stängelgrund-Inokulation mit 300 µl Konidien suspension, Applikation an der Stängelbasis mittels Pipette, ohne Verletzung
4. Wurzel-Tauchinokulation für 30 min, Wurzelspitzen mit A. dest. gewaschen, um 1-2 cm gekappt, anschließend Überführung in Substrat
5. Wurzel-Tauchinokulation ohne Kappung der Wurzeln für 30 min, anschließend Überführung in Substrat

Je Behandlungs-Variante wurden 20 Pflanzen verwendet und adäquat dazu jeweils die Wasserkontrolle durchgeführt. Die Inkubation erfolgte bei 25 °C, einer relativen Luftfeuchte von 90 % und einem 12-stündigen Tag-Nacht-Rhythmus in der Klimakammer. Symptome wurden durch eine Bonitur (Abb. 6) nach folgendem Schema wöchentlich über einen Zeitraum von sechs Wochen erfasst.

Boniturnote	Symptome
0	Ohne Symptome
1	Stängelgrundverbräunungen
2	25 % der Pflanze sind verbräunt oder vertrocknet
3	50 % der Pflanze sind verbräunt oder vertrocknet
4	75 % der Pflanze sind verbräunt oder vertrocknet
5	Pflanze abgestorben



Abb. 6: Inokulierte *G. procumbens* aus den Virulenz- und Resistenzversuchen mit *C. gloeosporioides*. A bis E entsprechen hierbei den Boniturnoten 1-5 des Boniturschemas.

Die Verrechnung der Boniturdaten erfolgte anhand der **Area Under Disease Progress Curve (AUDPC)** nach folgender Gleichung:

$$\text{AUDPC} = \sum_i^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i) \quad (\text{Campbell und Madden 1990})$$

n = Anzahl der Erhebungen

i = Erhebungszeitpunkt

y = Befallsstärke

t = Anzahl Tage zwischen zwei Boniturterminen

3.2.6 Ermittlung der Virulenz von *C. gloeosporioides*-Isolaten

Die Charakterisierung der Virulenz erfolgte an jungen *Gaultheria*-Sämlingspflanzen, die aus oberflächensterilisierten Samen (s. Kapitel 3.1.1) in Substrat angezogen worden waren. Hierzu wurden von den 30 monoklonialen *C. gloeosporioides*-Isolaten Suspensionen in einer Konzentration von 1×10^6 Konidien/ml hergestellt und 20 µl an die Stängelbasis der *G. procumbens*-Jungpflanzen mit einer Pipette appliziert. Die Auswertung erfolgte wöchentlich durch eine Bonitur (s. Kapitel 3.2.5) über einen Zeitraum von sechs Wochen. Der Versuch wurde mit je 10 Pflanzen pro Isolat und einer Wasserkontrolle dreimal wiederholt. Nach Verrechnung der Boniturdaten anhand der AUDPC-Gleichung (s. Kapitel 3.2.5) erfolgte die Differenzierung der Isolate in die drei Gruppen schwach, moderat und hoch virulent. Mit zwei Isolaten (schwach und hoch virulent) wurden nachfolgend die Resistenztestungen durchgeführt. Die Einstufung in schwach und hoch virulent basieren auf der Grundlage der AUDPC-Werte.

3.2.7 Ausbreitung des Erregers in der Pflanze

Ein eindeutiger *C. gloeosporioides*-Befall an *Gaultherien* lässt sich erst nach typischen Symptomausprägungen und mikroskopischer Bestimmung zweifelsfrei abklären. Latentes Pathogen-Vorkommen in der Pflanze kann visuell nicht erfasst werden.

Um die Ausbreitung des Erregers in der Pflanze zu prüfen, wurden jeweils 4 x 10 junge und dem äußeren Anschein nach symptomlose bewurzelte Sprosse von natürlich befallenen Pflanzen entnommen, mit 70 %igem Ethanol oberflächensterilisiert

und anschließend drei Mal mit sterilem destilliertem Wasser gewaschen. Danach wurde der Trieb wie in Abbildung 7 dargestellt, in acht Abschnitte zerteilt und auf Wasseragar bei 22 °C unter natürlichem Tag-Nacht-Rhythmus im Labor inkubiert. Nach zwei Tagen konnte gewachsenes Myzel von den Stängelabschnitten mit einer sterilen Öse entnommen und auf PDA überführt werden. Die Auswertung des Myzels und die Bestimmung des Erregers *C. gloeosporioides* anhand der Konidien wurden nach ca. fünf bis sieben Tagen mikroskopisch durchgeführt.

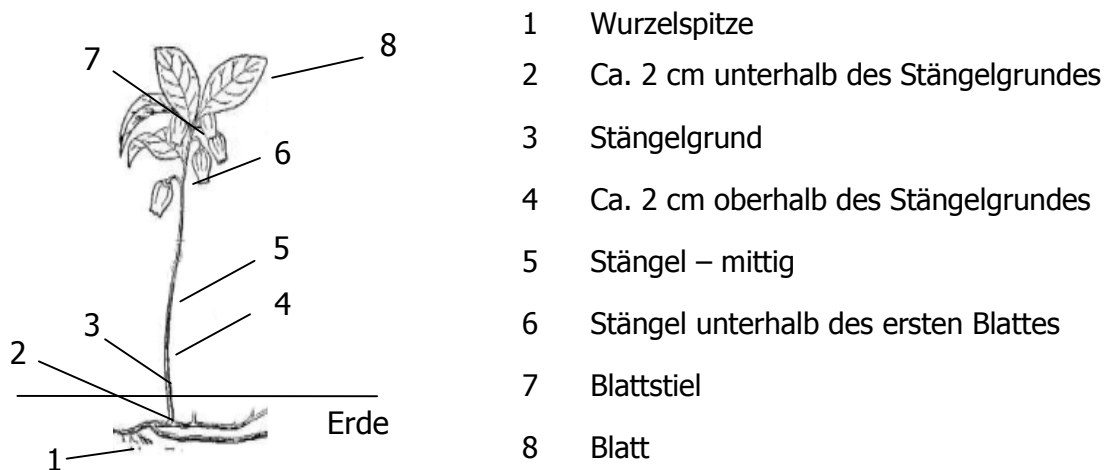


Abb. 7: Beprobte Pflanzenabschnitte von *Gaultheria procumbens* L., Zeichnung verändert nach Britton und Brown (1913)

3.2.8 Inokulation über das Substrat

Da noch nicht absichernd geklärt ist, ob der Erreger *Gaultheria*-Pflanzen auch über den Boden infizieren kann, wurde ein Pflanzloch in 20 g autoklaviertem Substrat (s. Kapitel 3.1.1) mit je 2 ml Konidien suspension (1×10^6 Konidien/ml) der Isolate P-14 (hoch virulent), P-21 (sehr schwach virulent) P-26 (nicht virulent) beimpft. Anschließend wurden 16 Wochen alte *G. procumbens* aus dem Freiland (GbR Gartenbau Holz), die eine Woche im Gewächshaus akklimatisiert wurden, in das Pflanzloch der vorbereiteten 7 cm-Töpfe pikiert. Parallel dazu wurde als Kontrollvariante die Behandlung mit Wasser durchgeführt. Je Variante wurden fünf Pflanzen beimpft. Die Inkubation erfolgte bei 25 °C, einer relativen Luftfeuchte von 90 % und einem 12-stündigen Tag-Nacht-Rhythmus. Eine Bonitur wurde wöchentlich nach der im Kapitel 3.2.5 beschriebenen 5-stufigen Skala über einen Zeitraum von sechs Wochen durch-

geführt. Die anschließende Verrechnung der Boniturdaten aus zwei Versuchswiederholungen erfolgte anhand der AUDPC-Gleichung (s. Kapitel 3.2.5).

3.2.9 PCR-basierter Nachweis von *C. gloeosporioides* in der Pflanze

Der molekulargenetische Nachweis von *C. gloeosporioides* in der Pflanze erfolgte über zwei *C. gloeosporioides*-spezifische Primer mit einer Fragmentgröße von 453 bp. Die Primer wurden von der Firma Metabion (Martinsried) produziert. Die aus der Literatur (Chen et al. 2006) entnommenen Sequenzen der ITS basierten Primer sind im Folgenden aufgelistet:

Colg1: 5´-AAC CCT TTG TGA ACA TAC C-3´

Colg2: 5´-CCC TCC GGA TCC CAG-3´

Für den Nachweis von *C. gloeosporioides* wurde die Gesamt-DNA mittels CTAB-Methode (s. Kapitel 3.2.4.1) aus gesundem In-vitro-Pflanzenmaterial, vom Stängelgrund und Triebspitze natürlich infizierter Pflanzen sowie künstlich inokulierter Pflanzenblätter isoliert und unter Verwendung des in Tabelle 19 dargestellten PCR-Reaktionsgemischs und Thermocycler-Programm amplifiziert. Parallel dazu wurde eine Touchdown-PCR unter Verwendung eines Gemisches aus gesundem In-vitro-Pflanzenmaterial und reiner pilzlicher DNA in einer Verdünnungsreihe von 1:1 bis 1:1x10⁶ gefahren (Tab. 20). Bei einer Touchdown-PCR handelt sich um eine spezielle Form der PCR mit dem Ziel der Erhöhung der PCR-Spezifität. Hierbei wird die Ausgangstemperatur im ersten Annealingzyklus um 5-10 °C höher angesetzt, um sich dann schrittweise (1-2 °C je Zyklus, in dieser Arbeit um 0,5 °C) der optimalen melting Temperatur (T_m) der Primer zu nähern (Koribe und Mattick 2008, Don et al. 1991). Zusätzlich zu der eingesetzten DNA und den verschiedenen PCR-Techniken kam Inhibitoren abfangende Q-Solution (Quiagen) zum Einsatz, die der Optimierung der PCR-Analysen diente.

Tab. 19: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemischs zum Nachweis von *C. gloeosporioides* in befallenem Pflanzenmaterial und dem dazugehörigen Thermocycler-Programm (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems)

PCR-Mix		Thermocycler-Schema			
Gebrauchskonzentration		Vorgang	Temperatur	Zeit	Zyklenanzahl
10 x Puffer (Invitex)	1 x	Denaturierung	94 °C	120 s	1
MgCl ₂ (25 mM)	2,5 mM	Denaturierung	94 °C	30 s	
dNTP	0,1 mM	Annealing	52 °C	30 s	45
Ti-Taq	1 U	Extension	72 °C	60 s	
Colg 1	0,4 µM	Finale Extension	72 °C	600 s	1
Colg 2	0,4 µM	Ende	4 °C	∞	
DNA-Template	8,0 ng/µl				
Q-Solution	0,2 µl				

Zur Dokumentation der Amplifikate wurden die PCR-Produkte auf Agarosegele aufgetragen, die DNA mit Ethidiumbromid (0,04 mg/l) angefärbt und mit dem Gel Imager (Intas Science Imaging Instruments GmbH, Anregungswellenlänge Transilluminator: 254 nm) erfasst.

Tab. 20: Touchdown-PCR-Programm

Vorgang	Temperatur	Zeit	Zyklenzahl
Denaturierung	94 °C	300 s	1
Denaturierung	94 °C	30 s	
Annealing	62 °C	30 s	12 Zyklen
Extension	72 °C	30 s	Je Zyklus -0,5 °C
Denaturierung	94 °C	30 s	
Annealing	56 °C	30 s	23 Zyklen
Extension	72 °C	30 s	
Finale Extension	72 °C	600 s	1

3.2.10 Resistenztestungen

Zur Überprüfung der Reaktion von *Gaultheria*-Arten gegen *C. gloeosporioides* wurden Pflanzen aus Samen (s. Kapitel 3.1.1) angezogen in Multitopfpaletten pikiert und in einem Klimaschrank der Firma Percival bei 25 °C, einer relativen Luftfeuchte von 90 % und 16 Stunden Licht für sieben Tage akklimatisiert. Je *Gaultheria*-Art sind so viele Sämlinge für die Resistenzuntersuchung verwendet worden, wie zur Verfügung standen (s. Kapitel 4.2.9). Die sieben Wochen alten, akklimatisierten Pflanzen wur-

den, wie in Kapitel 3.2.5 beschrieben, mit dem Erreger am Stängelgrund infiziert und die Resistenzreaktionen nach genannter Bonitur wöchentlich über einen Zeitraum von sechs Wochen bewertet. Anhand der AUDPC-Gleichung erfolgte die Verrechnung der Boniturdaten.

3.3 Statistische Analysen

Für die statistische Auswertung der Versuchsdaten wurde mit den Programmen SPSS (Version 15, Statistical Product and Service Solution for Windows), SAS (Version 9.2, Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., USA) und Excel gearbeitet. Die Verrechnung der Daten erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) und dem T-Test bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$.

4 Ergebnisse

4.1 *Gaultheria*

4.1.1 Verwandtschaftsanalysen in der Gattung *Gaultheria*

Die RAPD-PCR stellt eine Methode dar, bei der für einzelne Individuen/Arten anhand von Genom-Polymorphismen spezifische Bandenmuster erstellt werden. In der vorliegenden Arbeit wurden 25 *Gaultheria*-Arten mittels acht (von 22 getesteten) Decamer-Primerpaaren charakterisiert. Hierbei konnten 508 polymorphe Fragmente (Tab. 21) anhand von 185 Markern je Art für die Auswertung ermittelt werden.

Bei den Arten *G. insana*, *G. pyrolifolia* und *G. mucronata* waren in der Wiederholung innerhalb der Art keine Banden detektierbar. Deswegen konnte in der Auswertung auf nur eine Analyse zurückgegriffen werden. Waren in beiden Versuchen die Ausfälle bei Arten (*G. leucocarpa*, *G. rupestris*) aufgrund fehlender Amplifikationen zu groß, wurden diese nicht in die Auswertung mit einbezogen.

Tab. 21: Anzahl detektierter RAPD-Marker und Fragmente innerhalb der Gattung *Gaultheria*. Mit acht Operon-Primerpaaren konnten 185 polymorphe Marker bei 25 Arten detektiert werden.

Primer-Paar	Anz. detektierter Marker	Polymorphe Fragmente in der Gattung <i>Gaultheria</i> (%)	Anz. Fragmente in der Sektion <i>Gaultheria</i>	Anz. Fragmente in der Sektion <i>Chiogenopsis</i>	Anz. Fragmente in der Sektion <i>Amblyandra</i>	Anz. Fragmente in der Sektion <i>Monoanthea</i>	Anz. Fragmente in der Sektion <i>Pernettya</i>	Anz. Fragmente in der Sektion <i>PseudoGaultheria</i>	Anz. Fragmente in der Sektion <i>Brosseae</i>	Anz. Fragmente in Arten ohne Sektions-zuordnung
n= Anzahl Arten je Sektion			n=1	n=2	n=1	n=3	n=5	n=1	n=7	n=4
OPA 07/08	24	100	2	4	1	3	11	0	5	13
OPA 09/10	18	100	2	7	3	5	7	2	5	5
OPA 17/18	25	100	4	9	3	6	16	3	11	12
OPB 01/02	26	100	1	4	3	7	10	6	12	10
OPB 05/06	20	100	3	7	2	14	12	9	12	15
OPB 07/08	30	100	9	15	5	20	13	13	19	13
OPB 09/10	34	100	7	13	3	12	22	8	22	17
OPB 11/12	8	100	1	4	2	3	6	4	5	3
	Σ=185	Σ=100	29	63	22	70	97	45	91	88
			(15,7 %)	(34,1 %)	(11,9 %)	(37,8 %)	(52,4 %)	(24,3 %)	(49,2 %)	(47,6 %)

Tab. 22: Die mit dem Dice-Koeffizienten berechneten Ähnlichkeitsmaße repräsentieren den Vergleich der 25 *Gaultheria*-Arten sowie der drei *G. trichophylla*-Genotypen und *G. x wisleyensis*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
1	<i>G. adenothrix</i>	1																									
2	<i>G. cuneata</i>	0,488	1																								
3	<i>G. depressa</i>	0,310	0,281	1																							
4	<i>G. hispida</i>	0,500	0,433	0,658	1																						
5	<i>G. hispidida</i>	0,509	0,440	0,657	0,944	1																					
6	<i>G. hookeri</i>	0,298	0,298	0,413	0,431	0,441	1																				
7	<i>G. insana</i>	0,369	0,349	0,600	0,530	0,507	0,514	1																			
8	<i>G. griffithiana var. insignis</i>	0,327	0,522	0,349	0,375	0,345	0,377	0,455	1																		
9	<i>G. merrilliana</i>	0,326	0,537	0,310	0,379	0,444	0,298	0,381	0,667	1																	
10	<i>G. nummularioides</i>	0,261	0,217	0,262	0,286	0,286	0,556	0,348	0,192	0,292	1																
11	<i>G. phillyreifolia</i>	0,421	0,327	0,429	0,568	0,609	0,381	0,474	0,290	0,345	0,419	1															
12	<i>G. procumbens</i>	0,340	0,444	0,328	0,431	0,441	0,255	0,358	0,364	0,346	0,259	0,381	1														
13	<i>G. pumila</i>	0,300	0,321	0,417	0,444	0,486	0,358	0,486	0,212	0,267	0,313	0,548	0,529	1													
14	<i>G. pyrolifolia</i>	0,000	0,000	0,083	0,000	0,000	0,133	0,071	0,000	0,000	0,000	0,000	0,118	1													
15	<i>G. rubra</i>	0,333	0,345	0,378	0,533	0,556	0,369	0,468	0,246	0,300	0,338	0,693	0,375	0,595	0,000	1											
16	<i>G. thymifolia</i>	0,310	0,316	0,351	0,324	0,319	0,424	0,405	0,313	0,271	0,349	0,356	0,246	0,338	0,182	0,342	1										
17	<i>G. trichophylla</i> Pakistan	0,345	0,281	0,329	0,320	0,333	0,308	0,304	0,254	0,305	0,323	0,378	0,333	0,442	0,182	0,316	0,486	1									
18	<i>G. trichophylla</i> Indien	0,290	0,267	0,347	0,364	0,356	0,324	0,317	0,242	0,290	0,308	0,390	0,348	0,462	0,167	0,359	0,442	0,842	1								
19	<i>G. trichophylla</i> Nepal	0,281	0,190	0,256	0,304	0,316	0,314	0,268	0,203	0,246	0,324	0,354	0,306	0,434	0,160	0,321	0,430	0,821	0,833	1							
20	<i>G. macrostigma</i>	0,391	0,391	0,413	0,579	0,557	0,255	0,418	0,370	0,449	0,226	0,476	0,275	0,277	0,000	0,375	0,254	0,349	0,338	0,261	1						
21	<i>G. parvula</i>	0,433	0,345	0,486	0,605	0,556	0,313	0,447	0,303	0,323	0,313	0,480	0,308	0,395	0,000	0,494	0,347	0,378	0,368	0,329	0,738	1					
22	<i>G. miqueliana</i>	0,340	0,392	0,400	0,486	0,406	0,433	0,459	0,525	0,400	0,271	0,478	0,333	0,310	0,000	0,319	0,394	0,353	0,310	0,274	0,508	0,486	1				
23	<i>G. mucronata</i>	0,400	0,370	0,457	0,521	0,523	0,393	0,481	0,286	0,296	0,361	0,559	0,373	0,485	0,000	0,647	0,366	0,429	0,438	0,384	0,339	0,448	0,369	1			
24	<i>G. myrsinoides</i>	0,317	0,300	0,364	0,390	0,417	0,328	0,481	0,294	0,222	0,269	0,453	0,299	0,425	0,000	0,456	0,380	0,359	0,325	0,296	0,257	0,359	0,373	0,551	1		
25	<i>G. shallon</i>	0,305	0,281	0,247	0,351	0,319	0,338	0,338	0,394	0,295	0,333	0,301	0,246	0,253	0,071	0,320	0,293	0,347	0,316	0,256	0,328	0,368	0,472	0,418	0,494	1	
26	<i>G. x wisleyensis</i>	0,271	0,246	0,278	0,411	0,382	0,358	0,036	0,308	0,328	0,388	0,411	0,324	0,375	0,077	0,411	0,390	0,378	0,400	0,338	0,358	0,453	0,438	0,455	0,500	0,864	1

Anhand der Distanzmatrix, errechnet mit dem Dice-Koeffizienten, kann die genetische Übereinstimmung numerisch sichtbar gemacht werden. Der Wert 1 entspricht dabei einer völligen Übereinstimmung der Bandenmuster, der Wert 0 keinerlei Übereinstimmung. Bei den untersuchten *Gaultheria*-Arten variierten die Werte zwischen 0 und 0,944 (s. Tab. 22).

Mit dem sehr hohen Wert 0,944 zeigen *G. hispida* und *G. hispidida* aus der *Brossaea*-Sektion die größte genetische Übereinstimmung und damit die engste verwandtschaftliche Beziehung der untersuchten *Gaultheria*-Arten. Ebenso besteht eine enge Verwandtschaft zwischen *G. macrostigma* und *G. parvula* (0,738) aus der Sektion *Pernettya*, zwischen *G. x wisleyensis* als spontan entstandene Hybride mit dem väterlichen Elter *G. shallon* (0,864). Die drei Genotypen von *G. trichophylla*, die in ihrer geographischen Herkunft differierten, hatten eine sehr große Übereinstimmung (0,9). Die größte genetische Distanz und somit geringste Übereinstimmung (0–0,182) mit den übrigen Arten besaß *G. pyrolifolia* (Sektion *Brossaea*).

Basierend auf der Distanzmatrix wurde ein Dendrogramm mit der Neighbour-Joining-Methode generiert (Abb. 8). In diesem ist eine Unterteilung der untersuchten Arten in Sektionen nicht erkennbar, jedoch konnte eine Unterteilung in zwei Hauptgruppen abgeleitet werden. Die beiden Hauptgruppen konnten weiterhin in zwei Untergruppen bzw. in fünf Untergruppen unterteilt werden. Dabei clusterten vor allem *G. hispida* und *G. hispidida* mit einer nicht näher bestimmten *Gaultheria*-Art (*G. sp.*) zusammen, die *G. trichophylla*-Genotypen mit *G. thymifolia* aus der Sektion *Chiogenopsis* sowie die Hybride *G. x wisleyensis* mit dem väterlichen Elter *G. shallon*. Der mütterliche Elter *G. mucronata* war einer anderen Hauptgruppe zugehörig. Während *G. miqueliana* als einzelner Zweig ersichtlich ist, clustert *G. procumbens* gemeinsam mit *G. pumila*.

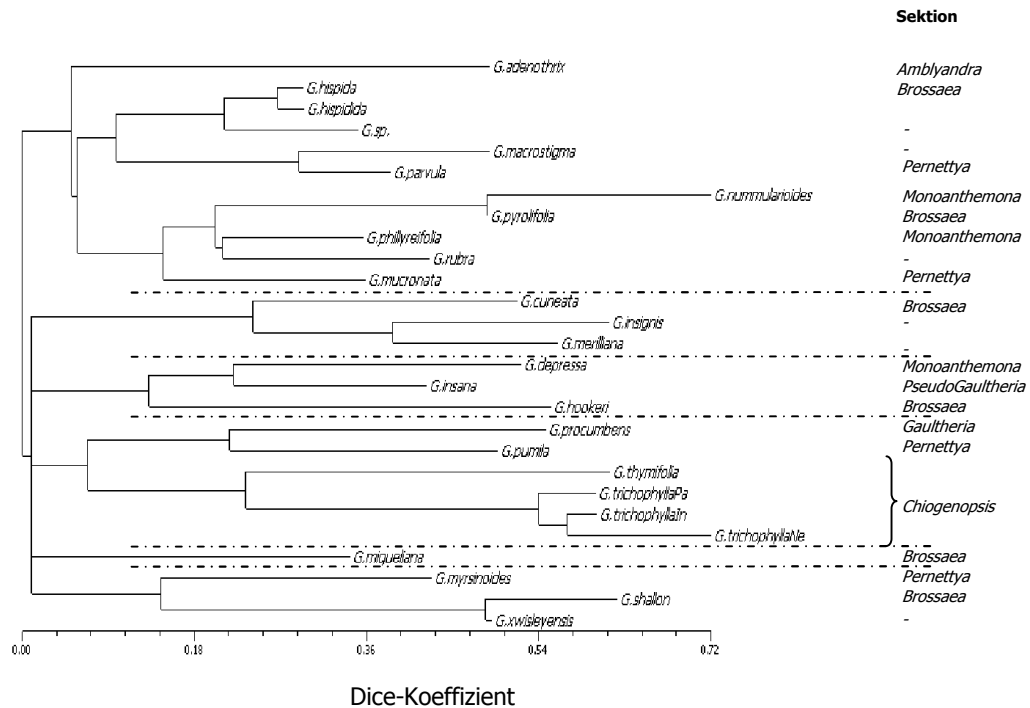


Abb. 8: UPGMA-Dendrogramm der *Gaultheria*-Arten basierend auf der genetischen Distanz von RAPD-Primern via Neighbour Joining-Methode gewichtet nach Nei (Saitou und Nei 1987).

4.1.2 Etablierung einer In-vitro-Kultur von *Gaultheria*

Für die In-vitro-Kultur von *Gaultheria* konnten 23 von 33 als Pflanze zur Verfügung stehende Arten (ca. 70 %) erfolgreich über Sprossspitzen und/oder Sprosstestücke etabliert werden. Es wurden unterschiedliche Oberflächensterilisationszeiten (5, 7, 8, 10, 12, und 15 Minuten) mit NaClO sowie die Auswertungszeiträume miteinander verglichen.

In Tabelle 23 sind die Ergebnisse der In-vitro-Etablierung mit den höchsten Etablierungsraten über die Sprosstestücke und in Tabelle 24 den höchsten Etablierungsraten über die Sprossspitzen von *Gaultheria* sp. für die untersuchten Arten zusammengefasst. Eine detaillierte Auswertung der In-vitro-Etablierung von *Gaultheria* ist der Tabelle A5 im Anhang dieser Arbeit zu entnehmen. Bezogen auf diese Tabelle (A5) konnte bei 23 Arten in 62 von 92 untersuchten Versuchsansätzen alle aufgesetzten Sprossspitzen etabliert werden. In Hinblick auf die Sprosstestücke war bei 34 von 92 Versuchsansätzen eine Etablierung erfolgreich. Insgesamt waren somit 17 Arten über Spross-Explantate auf Medium kultiviert worden. Keine Etablierung konnte in acht Ver-

suchsansätzen bei Genotypen von *G. mucronata*, *G. depressa* var. *novae-zealandiae* und *G. pumila* über Sprossspitzen und in 19 Versuchsansätzen bei Genotypen von *G. cuneata*, *G. depressa* var. *novae-zealandiae*, *G. leucocarpa*, *G. merrilliana*, *G. pumila*, *G. trichophylla* über Sprossteilstücke erzielt werden.

Bezüglich der Oberflächensterilisationszeiten wurde bei den Arten *G. cuneata*, *G. depressa* var. *novae-zealandiae*, *G. empetrifolia*, *G. merrilliana*, *G. mucronata*, *G. pumila*, deutlich, dass längere Sterilisationszeiten eine Verringerung der Etablierungsrate zur Folge hatten.

Kontaminationen waren hierbei marginal und wurden nur in einem Fall (*G. leucocarpa*) beobachtet. Dabei handelte es sich nicht um *C. gloeosporioides*.

Tab. 23: In-vitro-Etablierung von Sprosstestücken ausgewählter *Gaultheria*-Arten in Abhängigkeit unterschiedlicher Sterilisationszeiten und Kulturdauer. n = Anzahl der untersuchten Explantate.

Sprosstestück									
Botanischer Name	Genotyp-Nr.	Oberflächensterilisationszeit (min)	n	Anz. neugebildeter Sprosse	Anz. verbräunter Explantate	Anz. Kontamination	Anz. abgestorbener Explantate	Anz. etablierter Explantate	Auswertung nach Wochen
<i>G. adenostrix</i>	G 11	7	11	12	1	0	0	10	5
<i>G. cuneata</i>	G 03	7	12	24	0	0	0	12	4
<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i>	G 14	5	11	2	5	0	0	11	5
<i>G. empetrifolia</i>	G 80	5	22	22	0	0	0	22	5
<i>G. hispidida</i>	G 46	7	5	6	0	0	0	5	5
<i>G. hookeri</i>	G 33	7	5	9	0	0	0	5	5
<i>G. insana</i>	G 99	10	10	5	5	0	5	5	8
<i>G. itoana</i>	G 100	10	12	8	3	0	6	9	8
<i>G. leucocarpa</i>	G 20	5	14	3	2	1	1	11	5
<i>G. macrostigma</i>	G 21	5	9	17	0	0	6	9	5
<i>G. merrilliana</i>	G 86	10	21	18	9	0	0	13	8
<i>G. miqueliana</i>	G 97	10	13	6	6	0	0	7	8
<i>G. mucronata</i>	G 40	7	17	24	0	0	0	17	5
<i>G. myrsinoides</i>	G 48	10	18	15	0	0	0	18	7
<i>G. parvula</i>	G 23	5	16	30	0	0	0	16	5
<i>G. procumbens</i>	G 87	10	9	9	0	0	0	9	7
<i>G. pumila</i>	G 24	5	21	0	0	0	0	21	5
<i>G. rubra</i>	G 57	7	3	2	0	0	0	3	5
<i>G. rupestris</i>	G 26	7	10	14	0	0	0	10	5
<i>G. shallon</i>	G 38	10	15	15	0	0	0	15	8
<i>G. thymifolia</i>	G 16	12	34	0	22	0	0	12	6
<i>G. trichophylla</i>	G 90	10	8	7	0	0	0	8	7
<i>G. x wisleyensis</i>	G 54	7	6	13	0	0	0	6	5

Tab. 24: In-vitro-Etablierung von Sprossspitzen ausgewählter *Gaultheria*-Arten in Abhängigkeit unterschiedlicher Sterilisationszeiten und Kulturdauer. n = Anzahl der untersuchten Explantate.

Sprossspitzen									
Botanischer Name	Genotyp-Nr.	Oberflächensterilisationszeit (min)	n	Anz. neugebildeter Sprosse	Anz. verbräunter Explantate	Anz. Kontamination	Anz. abgestorbener Explantate	Anz. etablierter Explantate	Auswertung nach Wochen
<i>G. adenothrix</i>	G 11	7	3	3	0	0	0	3	5
<i>G. cuneata</i>	G 03	7	5	8	0	0	0	5	4
<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i>	G 14	5	9	0	0	0	3	6	5
<i>G. empetrifolia</i>	G 80	5	5	1	0	0	0	5	5
<i>G. hispidida</i>	G 46	7	3	0	0	0	0	3	5
<i>G. hookeri</i>	G 33	7	3	7	0	0	0	3	5
<i>G. insana</i>	G 99	10	5	5	0	0	0	5	8
<i>G. itoana</i>	G 100	10	4	1	1	0	1	3	8
<i>G. leucocarpa</i>	G 20	5	6	0	0	1	0	5	5
<i>G. macrostigma</i>	G 21	5	3	4	0	0	0	3	5
<i>G. merrilliana</i>	G 86	10	7	8	0	0	0	7	8
<i>G. miqueliana</i>	G 97	10	4	2	0	0	0	4	8
<i>G. mucronata</i>	G 40	7	7	3	0	0	0	7	5
<i>G. myrsinoides</i>	G 48	10	5	2	0	0	0	5	7
<i>G. parvula</i>	G 23	5	11	7	3	0	0	8	5
<i>G. procumbens</i>	G 87	10	5	6	0	0	0	5	7
<i>G. pumila</i>	G 24	5	9	0	0	0	0	9	5
<i>G. rubra</i>	G 57	7	3	3	0	0	0	3	5
<i>G. rupestris</i>	G 26	7	4	0	0	0	0	4	5
<i>G. shallon</i>	G 38	10	2	2	0	0	0	2	8
<i>G. thymifolia</i>	G 16	12	3	3	0	0	0	3	6
<i>G. trichophylla</i>	G 90	10	5	4	0	0	0	5	7
<i>G. x wisleyensis</i>	G 54	7	4	7	0	0	0	4	5

4.1.3 In-vitro-Vermehrung

Ziel dieser Arbeit war es, den vorhandenen *Gaultheria*-Bestand auch unter In-vitro-Bedingungen erhalten zu können. Daher wurde auf Versuche zur Bewurzelung bzw. zur Akklimatisierung verzichtet. Es erfolgten lediglich Untersuchungen zur In-vitro-Sprossvermehrung von *Gaultheria*-Arten. Hierbei wurden die etablierten Sprossexplantate (s. Kapitel 4.1.2) verwendet. Sprossteilstücke und Sprossspitzen wurden dabei getrennt bewertet.

Die Anzahl neugebildeter Sprosse je Explantat sowie die Vermehrungsrate aus Anzahl neugebildeter und Anzahl aufgesetzter Sprosse wurde nach acht Wochen ermittelt. Die Anzahl neugebildeter Sprosse je Sprossteilstück und Sprossspitze variierte dabei sowohl zwischen als auch innerhalb der Arten.

Die Werte in der Tabelle 25 lassen deutlich erkennen, dass bei der In-vitro-Kultur der Sprossteilstücke eine höhere Sprossneubildung möglich war als bei der Sprossspitzenkultur. Besonders bei den zehn *Gaultheria*-Arten *G. cuneata*, *G. hookeri*, *G. insana* (G 99), *G. itoana*, *G. merrilliana*, *G. miquelliana*, *G. mucronata*, *G. myrsinoides*, *G. parvula*, *G. procumbens* (G 103) wurden bei den Sprossteilstücken hohe Vermehrungsraten zwischen 1,5 und 3,0 ermittelt. Bei *G. depressa* var. *novae-zealandiae* und *G. procumbens* (G 52) konnten hohe Werte von 2,0 bzw. 3,0 beobachtet werden. Allerdings basierten diese Werte auf nur einem Explantat. Sehr niedrige Vermehrungsraten waren bei *G. insana* (G 31), *G. macrostigma*, *G. procumbens* (G 51), *G. rupestris* und *G. xwisleyensis* (G 54) zu beobachten.

Beim Vergleich der Arten in der Sprossspitzen-Kultur konnten nur bei fünf von 36 untersuchten Genotypen hohe Vermehrungsraten zwischen 1,7 und 3,0 ermittelt werden (*G. cuneata* (G 03), *G. hookeri*, *G. insana* (G 99), *G. itoana*, *G. merrilliana*). Sehr niedrige Vermehrungsraten zwischen 0 und 0,4 besaßen die Arten *G. adenostrix*, *G. cuneata* (G 03 und G 74), *G. depressa* var. *novae-zealandiae*, *G. empetrifolia*, *G. hispidida*, *G. macrostigma*, *G. leucocarpa*, *G. mucronata* (G 40), *G. procumbens* (G 08, G 09, G 36, G 53, G 87), *G. rupestris*, *G. shallon* und *G. xwisleyensis* (G 54, G 56). Die Arten *G. macrostigma*, *G. rupestris* waren *in vitro* nicht vermehrbar.

Tab. 25: In-vitro-Vermehrung ausgewählter *Gaultheria*-Arten nach 8-wöchiger Kultur

Nr.	Art	Sprosteilstücke			Sprossspitze		
		n	Anz. neu-gebildeter Sprosse	Ver-mehrungs-rate	n	Anz. neu-gebildeter Sprosse	Ver-mehrungs-rate
G 11	<i>G. adenothrix</i>	17	11	0,6	10	0	0,0
G 03	<i>G. cuneata</i>	12	22	1,8	10	26	0,0
G 13	<i>G. cuneata</i>	18	21	1,2	11	8	0,7
G 74	<i>G. cuneata</i>	14	8	0,6	5	0	0,0
G 14	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i>	1	2	2,0	0	0	0,0
G 80	<i>G. empetrifolia</i>	15	19	1,3	6	0	0,0
G 46	<i>G. hispidida</i>	4	5	1,3	3	1	0,3
G 33	<i>G. hookeri</i>	5	9	1,8	3	5	1,7
G 31	<i>G. insana</i>	10	1	0,1	2	1	0,5
G 99	<i>G. insana</i>	5	9	1,8	5	12	2,4
G 100	<i>G. itoana</i>	5	10	2,0	1	2	2,0
G 20	<i>G. leucocarpa</i>	4	3	0,8	6	0	0,0
G 21	<i>G. macrostigma</i>	9	0	0,0	3	0	0,0
G 86	<i>G. merrilliana</i>	23	48	2,1	1	3	3,0
G 97	<i>G. miqueliana</i>	7	12	1,7	3	4	1,3
G 22	<i>G. mucronata</i> 'Stag River'	19	35	1,8	1	1	1,0
G 40	<i>G. mucronata</i>	12	8	0,7	7	0	0,0
G 48	<i>G. myrsinoides</i>	13	20	1,5	1	1	1,0
G 23	<i>G. parvula</i>	14	38	2,7	8	7	0,9
G 08	<i>G. procumbens</i>	7	7	1,0	5	1	0,2
G 09	<i>G. procumbens</i>	2	2	1,0	2	0	0,0
G 36	<i>G. procumbens</i>	15	10	0,7	10	1	0,1
G 50	<i>G. procumbens</i>	17	16	0,9	2	2	1,0
G 51	<i>G. procumbens</i>	7	2	0,3	4	5	1,3
G 52	<i>G. procumbens</i>	1	3	3,0	1	1	1,0
G 53	<i>G. procumbens</i>	7	8	1,1	9	3	0,3
G 72	<i>G. procumbens</i>	8	7	0,9	7	6	0,9
G 87	<i>G. procumbens</i>	12	11	0,9	9	2	0,2
G 103	<i>G. procumbens</i>	13	20	1,5	13	9	0,7
G 26	<i>G. rupestris</i>	17	1	0,1	8	0	0,0
G 15	<i>G. shallon</i>	5	5	1,0	3	1	0,3
G 38	<i>G. shallon</i>	14	12	0,9	3	3	1,0
G 90	<i>G. trichophylla</i>	9	17	1,9	5	3	0,6
G 39	<i>G. x wisleyensis</i>	24	31	1,3	3	2	0,7
G 54	<i>G. x wisleyensis</i>	14	4	0,3	8	3	0,4
G 56	<i>G. x wisleyensis</i>	17	10	0,6	2	0	0,0

n=Anzahl der untersuchten Explantate

4.1.4 Analysen zur Pollenvitalität und -Langzeitkonservierung

4.1.4.1 Pollenkeimfähigkeit *in vitro*

Da im Untersuchungszeitraum die Arten zu unterschiedlichen Zeitpunkten blühten und neben den Untersuchungen zur Pollenkeimfähigkeit und –lagerung auch noch die Kreuzungsexperimente gewährleistet werden mussten, konnten nur 19 Genotypen von 13 Arten mit in die Untersuchungen einbezogen werden.

Wie aus Tabelle 26 ersichtlich, variierte die Pollenkeimung innerhalb und zwischen den Varianten frisch entnommener Pollen und Lagerung für eine Woche bei 4 °C im Exsikkator innerhalb der Genotypen in hohem Maße. Insgesamt konnte bei nur drei von 19 untersuchten Genotypen eine Pollen-Keimrate von mindestens 50 % ermittelt werden (52 % bei *G. procumbens*, 57 % bei *G. depressa* var. *novae-zealandiae* und 90 % bei *G. rupestris*). Bei 12 von 19 Genotypen wurde eine Pollenkeimfähigkeit von unter 10 % und davon bei sechs Genotypen von unter 5 % beobachtet. Wurden Pollen für eine Woche bei 4 °C im Exsikkator gelagert und dann auf Nährmedium ausgebracht, lag die Keimung generell unter 25 %, bei einem von vier untersuchten Genotypen sogar nur bei max. 1 %.

Tab. 26: In-vitro-Pollenkeimung frisch geernteter und gelagerter Pollen ausgewählter *Gaultheria*-Arten nach 24 Stunden Kultivierung auf Nährmedium nach Filiti und Montalti (1982)

Nr.	Art	Pollen/-lagerung	Anzahl ausgezählter Pollen	Anzahl gekeimter Pollen	Keimrate [%]
G 74	<i>G. cuneata</i>	frisch	100	0	0
G 14	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i>	frisch	115	65	57
G 80	<i>G. empetrifolia</i>	frisch	100	2	2
G 113	<i>G. hookeri</i>	frisch	100	8	8
G 21	<i>G. macrostigma</i>	Exsikkator/1 Woche/4 °C	100	0	0
G 81	<i>G. miqueliana</i>	frisch	100	1	1
G 23	<i>G. parvula</i>	frisch	100	7	7
G 02	<i>G. procumbens</i>	frisch	92	48	52
G 36	<i>G. procumbens</i>	frisch	103	13	13
G 50	<i>G. procumbens</i>	Exsikkator/1 Woche/4 °C	100	1	1
G 52	<i>G. procumbens</i>	frisch	100	8	8
G 53	<i>G. procumbens</i>	frisch	112	34	30
G 44	<i>G. procumbens</i>	frisch	124	22	18
G 26	<i>G. rupestris</i>	frisch	100	90	90
G 96	<i>G. shallon</i>	frisch	142	56	39
G 38	<i>G. shallon</i>	Exsikkator/1 Woche/4 °C	100	24	24
G 73	<i>G. shallon</i>	frisch	95	11	12
G 73	<i>G. shallon</i>	Exsikkator/1 Woche/4 °C	126	28	22
G 88	<i>G. shallon</i>	frisch	100	7	7
G 17	<i>G. trichophylla</i>	frisch	100	4	4

4.1.4.2 Pollen-Langzeitlagerung von *G. procumbens* und *G. shallon*

Eine mögliche Langzeitkonservierung von Pollen bei -20 °C wurde über einen Zeitraum von 6 Monaten durch Prüfung der Pollenvitalität mittels FDA-Färbung und Pollenschlauchwachstum *in vitro* (Abb. 11) nach 24 und 48 Stunden untersucht. *G. shallon*, eine sehr vitale und robuste Art und *G. procumbens* als Hauptuntersuchungsobjekt der vorliegenden Arbeit bilden eine große Menge Pollen und wurden deshalb für diese Untersuchungen verwendet.

In den nachfolgenden Abbildungen 9 und 10 sind die Pollen-Keimraten von *G. procumbens* und *G. shallon* über einen Zeitraum von einem Monat bis zu sechs Monaten dargestellt. Beide Arten wiesen eine Pollen-Keimrate von 40-60 % bei frisch geernteten Pollen auf. Wurden die Pollen beider Arten eine Woche bei 4 °C im Exsikkator dehydriert, fiel die Keimrate auf unter 5 %. Im Gegensatz dazu zeigte die Vitalitätsbe-

stimmung mit FDA um ca. 20 % (*G. procumbens*) bzw. 50 % (*G. shallon*) höhere Werte. Die Vitalität des Pollens, der im Exsikkator getrocknet und nachfolgend einen Monat bei -20 °C gelagert wurde, stieg in beiden Arten um ca. 5 % an. Sie erhöhte sich weiterhin bis zur Tiefkühlagerung von drei Monaten, jedoch gab es Unterschiede zwischen den Ergebnissen der In-vitro-Pollenkeimung und der FDA-Vitalitätsfärbung. Während die FDA-Färbung eine geringere Pollenvitalität von 36 % bei *G. procumbens* (Abb. 9) bzw. ca. 60 % bei *G. shallon* (Abb. 10) ergab, konnten bei beiden Arten auf Nährmedium nach 24 bzw. 48 Stunden höhere Werte ermittelt werden. Diese lagen bei *G. procumbens* zwischen 55 % und 65 % bzw. bei *G. shallon* zwischen 70 % und 85 %. Nach dem dritten Monat der Pollen-Tiefkühlagerung sank die Vitalität auf unter 50 % in beiden Arten, mit Ausnahme der Variante auf Nährmedium, ausgezählt nach 48 Stunden. Hier stieg sie auf 100 % an.

Fünf und sechs Monate nach Pollenlagerung sank die Vitalität auf nahezu null Prozent.

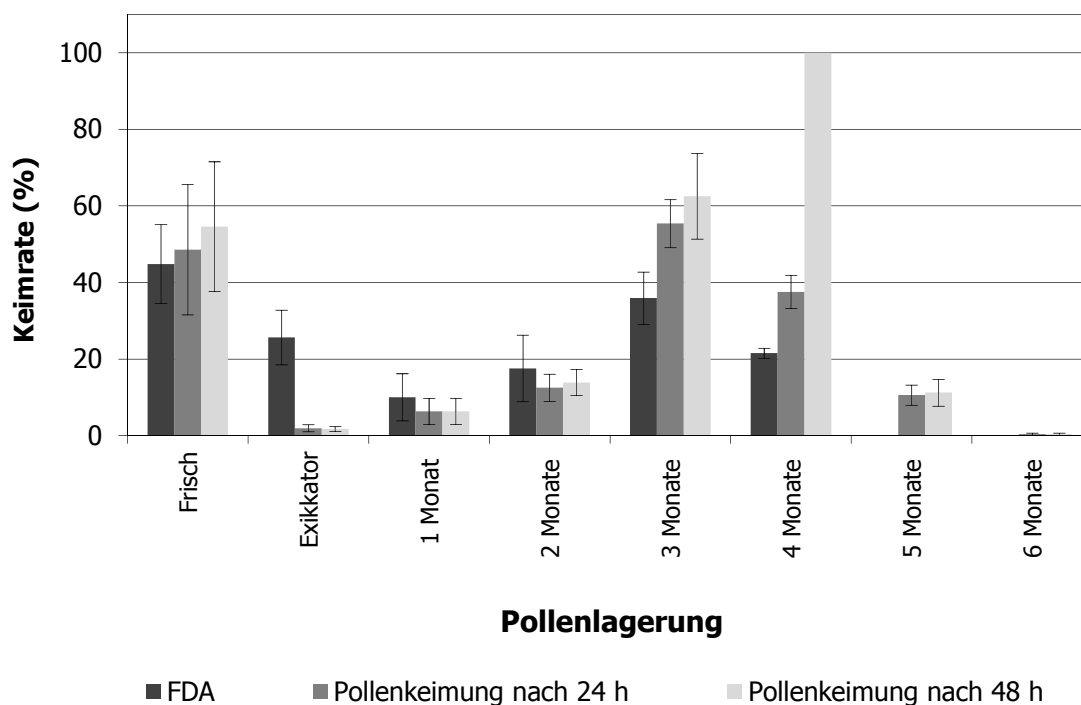


Abb. 9: In-vitro-Pollenkeimung nach 24 und 48 Stunden von *G. procumbens* im Verlauf einer Langzeit-Lagerung bei -20 °C. Parallel dazu wurde die Vitalität über den Farbstoff FDA ermittelt. Je Untersuchung wurden 3 x 100 Pollen ausgezählt. I=Standardabweichung

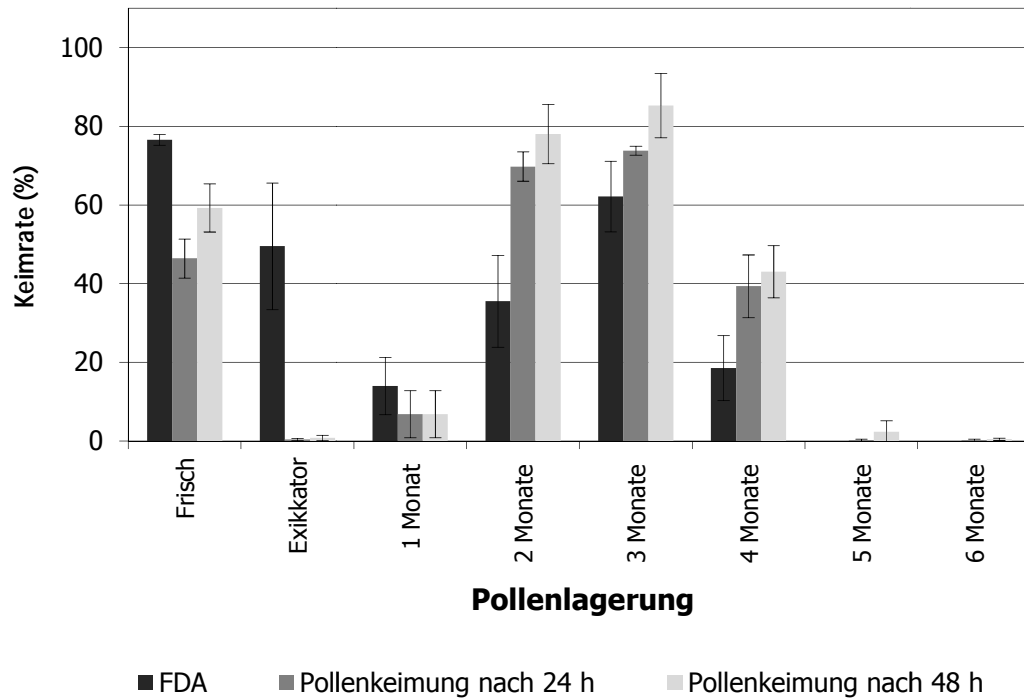


Abb. 10: In-vitro-Pollenkeimung nach 24 und 48 Stunden von *G. shallon* im Verlauf einer Langzeit-Lagerung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Parallel dazu wurde die Vitalität über den Farbstoff FDA ermittelt. Je Untersuchung wurden 3×100 Pollen ausgezählt. I=Standardabweichung

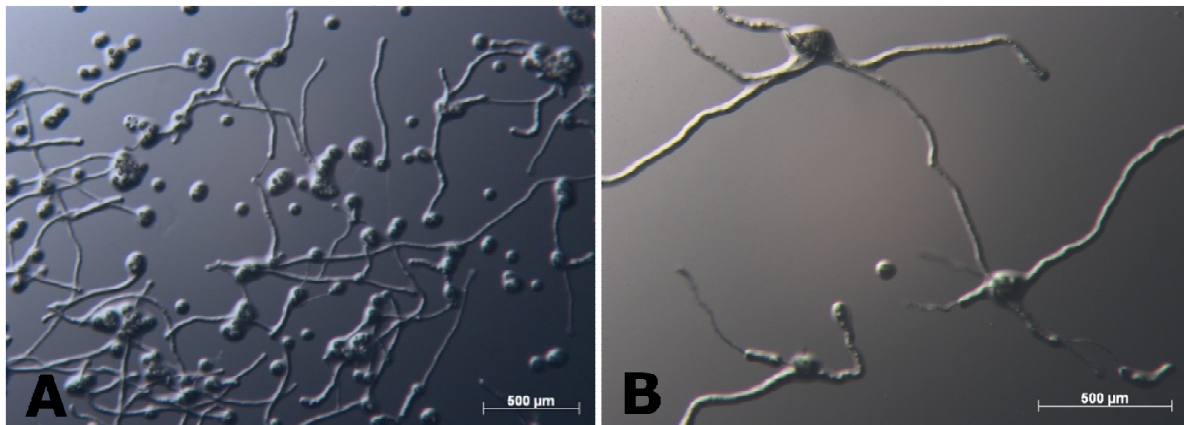


Abb. 11: In-vitro-Keimung frisch entnommener *Gaultheria procumbens*-Pollen nach 24 Stunden im Komplex (A) und einzeln (B).

4.1.5 Interspezifische Kreuzungen in der Gattung *Gaultheria*

Gaultherien neigen zur Dichogamie, d.h. die Reifezeitpunkte der männlichen und weiblichen geschlechtlichen Fortpflanzungsorgane sind heterogen. Gaultherien sind zudem vorwiegend proterandrisch veranlagt. Daraus ergaben sich vor allem Schwierigkeiten beim rechtzeitigen Entfernen der Antheren in den urnenförmig hängenden Blüten, die, bei unsachgemäßer Handhabung, leicht abbrechen konnten.

In den Jahren 2007, 2008 und 2009 wurden insgesamt 1730 *Gaultheria*-Blüten bestäubt. Davon wurden in 702 Kreuzungen *G. procumbens* als mütterlicher Kreuzungspartner und in 776 Kreuzungsexperimenten *G. procumbens* als väterlicher Kreuzungspartner verwendet. In 252 Kreuzungen war *G. procumbens* weder väterlicher noch mütterlicher Elter. Innerhalb des dreijährigen Untersuchungszeitraumes entwickelten sich 449 Kapseln, aus denen 3411 Samen präpariert und *in vitro* ausgesät wurden, wovon 114 keimten. Das entsprach einer Keimrate von 8,2 % (Tab. 27).

Tab. 27: Ergebnisse der Kreuzungen sowie die Anzahl der geernteten Kapseln, Samen und der daraus hervorgegangenen Sämlinge bzw. Pflanzen und die prozentuale Keimrate.

Jahr	Kreuzungen		total	Kapseln	Samen	Sämlinge	Keimrate %	Pflanzen
	mit <i>G. procumbens</i>	ohne <i>G. procumbens</i>						
2007	366	298	770	153	2270	207	7,3	104
2008	279	268	642	214	1065	10	0,9	10
2009	57	210	318	82	76	0	0,0	0
total	702	776	1730	449	3411	114	8,2	114

In der detaillierten Betrachtung der Ergebnisse waren 2007 die Kombinationen mit den Kreuzungspartnern *G. procumbens* x *G. adenostrix*, *G. procumbens* x *G. miqueliana*, *G. procumbens* x *G. shallon*, *G. procumbens* x *G. trichophylla*, *G. procumbens* x *G. xwisleyensis* Pink Pixie', *G. miqueliana* x *G. procumbens*, *G. myrsinoides* x *G. procumbens*, *G. miqueliana* x *G. mucronata* (Tab. 28) zumindest im Frucht- und Samenansatz am erfolgreichsten. Es konnten aus 153 Kapseln 2270 Samen entnommen werden, die mit einer Keimrate von 7,3 % zu 207 Sämlingen führten, aus denen sich 104 Pflanzen entwickelten.

Im Jahr 2008 bildeten sich aus den Kreuzungen *G. procumbens* x *G. miqueliana*, *G. shallon* x *G. parvula* und *G. procumbens* x *G. shallon* (Tab. 29) mit insgesamt 642 Einzelbestäubungen 214 Kapseln, aus denen 1065 Samen präpariert wurden. Daraus entstanden zehn Sämlinge und Pflanzen, was einer Keimrate von 0,9 % entspricht.

Das Kreuzungsjahr 2009 (Tab. 30) war im Vergleich zu den Jahren zuvor weniger erfolgreich. Insgesamt konnten aus 318 Einzelbestäubungen 82 Kapseln geerntet werden. Die daraus präparierten 76 Samen kamen nicht zur Keimung.

Tab. 28: Interspezifische Kreuzungskombinationen in der Gattung *Gaultheria* in 2007. Dargestellt sind die genetische Ähnlichkeit, Anzahl der Kreuzungen, geernteter Kapseln, Samen, Keimlinge und Pflanzen.

Genetische Ähnlichkeit	2007		Anzahl Kreuzungen	Geerntete Kapseln	Samen	Keimling	Pflanzen
0,245	<i>G. shallon</i>	<i>G. procumbens</i>	25	4	0	0	0
0,246	<i>G. procumbens</i>	<i>G. shallon</i>	94	16	276	3	0
0,246	<i>G. xwisleyensis</i> 'Jingle Bells'	<i>G. cuneata</i>	1	0	0	0	0
0,256	<i>G. shallon</i>	<i>G. trichophylla</i>	1	0	0	0	0
0,275	<i>G. macrostigma</i>	<i>G. procumbens</i>	12	0	0	0	0
0,299	<i>G. myrsinoides</i>	<i>G. procumbens</i>	29	5	295	11	3
0,324	<i>G. procumbens</i>	<i>G. xwisleyensis</i> 'Wisley Pearls'	7	0	0	0	0
0,324	<i>G. procumbens</i>	<i>G. xwisleyensis</i> 'Jingle Bells'	18	0	0	0	0
0,324	<i>G. procumbens</i>	<i>G. xwisleyensis</i> 'Pink Pixie'	30	10	509	5	5
0,324	<i>G. xwisleyensis</i> 'Jingle Bells'	<i>G. procumbens</i>	17	0	0	0	0
0,324	<i>G. xwisleyensis</i> 'Pink Pixie'	<i>G. procumbens</i>	91	31	120	0	0
0,333	<i>G. miqueliana</i>	<i>G. procumbens</i>	38	14	370	120	54

Ergebnisse

Genetische Ähnlichkeit	2007		Anzahl Kreuzungen	Geerntete Kapseln	Samen	Keimling	Pflanzen
0,333	<i>G. procumbens</i>	<i>G. miqueliana</i>	78	8	100	10	3
0,340	<i>G. adenothrix</i>	<i>G. procumbens</i>	2	0	0	0	0
0,340	<i>G. procumbens</i>	<i>G. adenothrix</i>	22	3	79	3	0
0,348	<i>G. procumbens</i>	<i>G. trichophylla</i>	59	13	36	8	5
0,348	<i>G. trichophylla</i>	<i>G. procumbens</i>	16	1	0	0	0
0,366	<i>G. tymifolia</i>	<i>G. mucronata</i>	5	0	0	0	0
0,368	<i>G. parvula</i>	<i>G. shallon</i>	1	0	0	0	0
0,369	<i>G. miqueliana</i>	<i>G. mucronata</i>	13	13	79	47	31
0,373	<i>G. mucronata</i>	<i>G. procumbens</i>	66	1	0	0	0
0,373	<i>G. procumbens</i>	<i>G. mucronata</i>	31	4	0	0	0
0,391	<i>G. adenothrix</i>	<i>G. macrostigma</i>	1	1	53	0	0
0,397	<i>G. mucronata</i>	<i>G. miqueliana</i>	10	3	57	0	0
0,418	<i>G. mucronata</i>	<i>G. shallon</i>	5	0	0	0	0
0,433	<i>G. adenothrix</i>	<i>G. parvula</i>	1	1	12	0	0
0,438	<i>G. xwisleyensis</i> 'Jingle Bells'	<i>G. miqueliana</i>	24	13	149	0	0
0,444	<i>G. procumbens</i>	<i>G. cuneata</i>	25	7	0	0	0
0,472	<i>G. shallon</i>	<i>G. miqueliana</i>	4	4	0	0	0
0,494	<i>G. myrsinoides</i>	<i>G. shallon</i>	19	0	76	0	0
0,529	<i>G. pumila</i>	<i>G. procumbens</i>	2	0	0	0	0
0,864	<i>G. shallon</i>	<i>G. xwisleyensis</i> 'Jingle Bells'	8	0	0	0	0
0,864	<i>G. xwisleyensis</i> Pink Pixie'	<i>G. shallon</i>	3	0	0	0	0
nicht ermittelt	<i>G. leucocarpa</i>	<i>G. miqueliana</i>	1	0	0	0	0
nicht ermittelt	<i>G. leucocarpa</i>	<i>G. mucronata</i>	9	0	0	0	0
nicht ermittelt	<i>G. procumbens</i>	<i>G. leucocarpa</i>	2	0	0	0	0

Tab. 29: Interspezifische Kreuzungskombinationen in der Gattung *Gaultheria* in 2008. Dargestellt sind die genetische Ähnlichkeit, Anzahl der Kreuzungen, geernteter Kapseln, Samen, Keimlinge und Pflanzen.

		2008	Anzahl Kreuzungen	Geerntete Kapseln	Samen	Keimling	Pflanzen
0,246	<i>G. procumbens</i>	<i>G. shallon</i>	178	67	654	42	2
0,246	<i>G. shallon</i>	<i>G. procumbens</i>	47	19	0	0	0
0,256	<i>G. trichophylla</i>	<i>G. shallon</i>	2	0	0	0	0
0,299	<i>G. myrsinoides</i>	<i>G. procumbens</i>	45	17	29	0	0
0,308	<i>G. procumbens</i>	<i>G. parvula</i>	31	16	11	0	0
0,308	<i>G. parvula</i>	<i>G. procumbens</i>	10	2	0	0	0
0,324	<i>G. procumbens</i>	<i>G. x wisleyensis</i> 'Jingle Bells'	58	3	0	0	0
0,324	<i>G. procumbens</i>	<i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	5	0	0	0	0
0,324	<i>G. x wisleyensis</i> 'Jingle Bells'	<i>G. procumbens</i>	25	12	0	0	0
0,324	<i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	<i>G. procumbens</i>	6	0	0	0	0
0,324	<i>G. x wisleyensis</i> 'Wisley Pearl Select'	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	0	0
0,328	<i>G. depressa</i>	<i>G. procumbens</i>	2	0	0	0	0
0,333	<i>G. procumbens</i>	<i>G. miqueliana</i>	7	2	15	4	0
0,333	<i>G. miqueliana</i>	<i>G. procumbens</i>	3	0	0	0	0
0,348	<i>G. trichophylla</i>	<i>G. procumbens</i>	3	0	0	0	0
0,368	<i>G. parvula</i>	<i>G. shallon</i>	5	3	0	0	0
0,368	<i>G. shallon</i>	<i>G. parvula</i>	64	20	29	10	10
0,369	<i>G. mucronata</i>	<i>G. miqueliana</i>	5	2	128	0	0
0,373	<i>G. mucronata</i>	<i>G. procumbens</i>	111	12	228	0	0
0,444	<i>G. cuneata</i>	<i>G. procumbens</i>	2	0	0	0	0
0,472	<i>G. miqueliana</i>	<i>G. shallon</i>	8	8	0	0	0
0,472	<i>G. shallon</i>	<i>G. miqueliana</i>	11	5	0	0	0
nicht ermittelt	<i>G. empetryfolia</i>	<i>G. procumbens</i>	4	0	0	0	0

Tab. 30: Interspezifische Kreuzungskombinationen in der Gattung *Gaultheria* in 2009. Dargestellt sind die genetische Ähnlichkeit, Anzahl der Kreuzungen, geernteter Kapseln, Samen, Keimlinge und Pflanzen.

Genetische Ähnlichkeit		2009	Anzahl Kreuzungen	Geerntete Kapseln	Samen	Keimlinge	Pflanzen
0,246	<i>G. procumbens</i>	<i>G. shallon</i>	3	1	0	0	0
0,246	<i>G. shallon</i>	<i>G. procumbens</i>	77	52	31	0	0
0,299	<i>G. myrsinoides</i>	<i>G. procumbens</i>	13	2	0	0	0
0,299	<i>G. myrsinoides</i>	<i>G. shallon</i>	43	4	0	0	0
0,308	<i>G. procumbens</i>	<i>G. parvula</i>	28	0	0	0	0
0,308	<i>G. parvula</i>	<i>G. procumbens</i>	75	12	45	0	0
0,333	<i>G. procumbens</i>	<i>G. miqueliana</i>	20	8	0	0	0
0,368	<i>G. parvula</i>	<i>G. shallon</i>	5	0	0	0	0
0,373	<i>G. procumbens</i>	<i>G. mucronata</i>	6	0	0	0	0
0,373	<i>G. mucronata</i>	<i>G. procumbens</i>	45	0	0	0	0
0,864	<i>G. shallon</i>	<i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	3	3	0	0	0

4.1.6 Molekularer Hybridnachweis

Der Hybridnachweis erfolgte mit drei Decamer-Primern. Von 27 aus der In-vitro-Aussaats regenerierten Pflanzen (Tab. 31) waren drei Arthybridisierungen molekular erfolgreich nachweisbar. Die drei Decamer-Primer differenzierten deutlich die Hybriden sowohl aus *G. myrsinoides* x *G. procumbens*, anhand von vier eindeutigen Bandenpositionen, als auch die aus *G. shallon* und *G. mucronata* natürlich entstandene Arthybride *G. x wisleyensis*, anhand von drei Bandenpositionen (Abb. 12). Bei den übrigen Kreuzungskombinationen ähnelten die Bandenmuster der Sämlingspflanzen denen der Mutterpflanzen (Bsp. *G. procumbens* x *G. trichophylla* - Abb. 12).

Tab. 31: RAPD-Analysen als molekularer Hybridnachweis von 27 Kreuzungskombinationen

Nr.	Genetische Ähnlichkeit	Kreuzungs-jahr	Kreuzungs-kombination	Hybrid-nachweis
H 01	0,333	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. miqueliana</i>	-
H 02	0,333	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. miqueliana</i>	-
H 03	0,324	2007	<i>G. procumbens</i> x <i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	-
H 04	0,348	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. trichophylla</i>	-
H 05	0,324	2007	<i>G. procumbens</i> x <i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	-
H 06	0,324	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	-
H 07	0,333	2007	<i>G. procumbens</i> x <i>G. miqueliana</i>	-
H 08	0,324	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	-
H 09	0,333	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. miqueliana</i>	-
H 10	0,246	2007	<i>G. procumbens</i> x <i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	-
H 11	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 12	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 13	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 14	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 15	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 16	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 17	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 18	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 19	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 20	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 21	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 23	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 24	0,246	2008	<i>G. procumbens</i> x <i>G. shallon</i>	-
H 25	0,299	2008	<i>G. myrsinoides</i> x <i>G. procumbens</i>	+
H 26	0,299	2008	<i>G. myrsinoides</i> x <i>G. procumbens</i>	+
H 27	0,299	2008	<i>G. myrsinoides</i> x <i>G. procumbens</i>	+

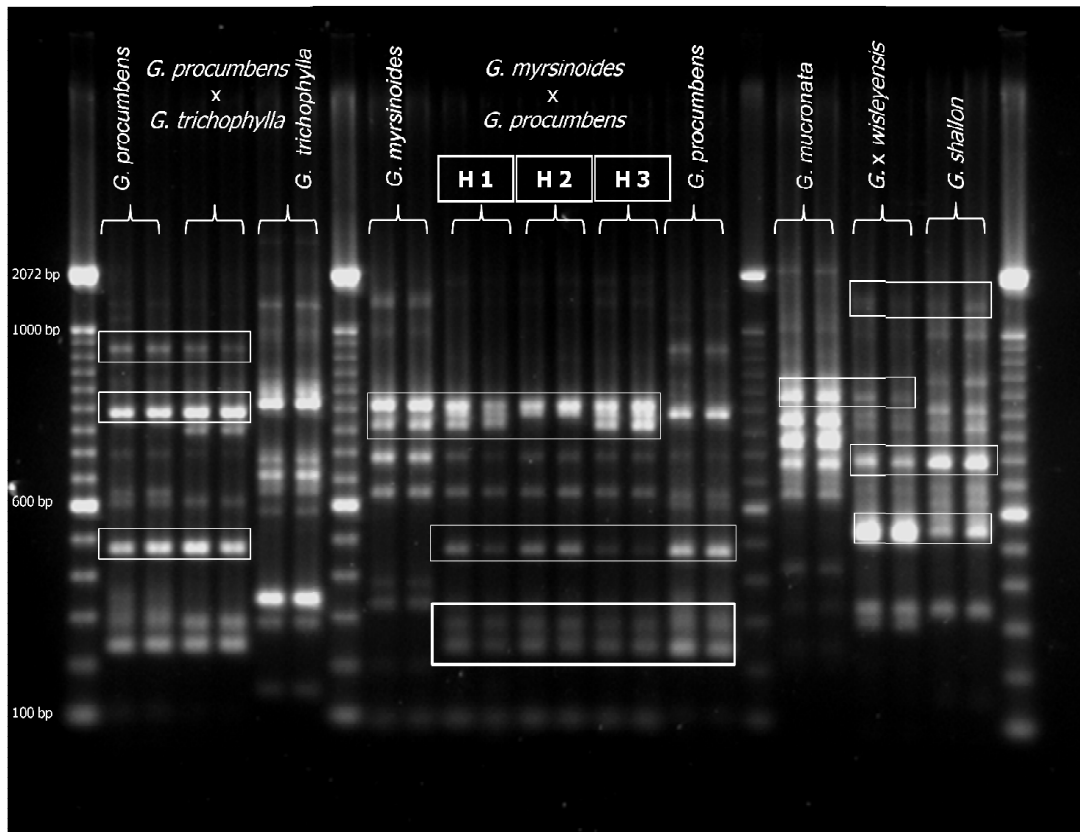


Abb. 12: RAPD-Marker Identifikation interspezifischer Hybriden aus *G. myrsinoides* x *G. procumbens* (mittig) sowie der Hybride *G. x wisleyensis* (links). Kein Hybridstatus konnte für Nachkommen aus der Kreuzungskombination *G. procumbens* x *G. trichophylla* nachgewiesen werden.

Im Untersuchungszeitraum blühte nur eine Hybride der Kreuzungskombination *G. myrsinoides* x *G. procumbens*, von deren Blüte Pollen entnommen wurde. Pollenschlauchwachstum auf Nährmedium konnte nicht beobachtet werden.

Morphologische Unterschiede zwischen den Arthybriden und deren Eltern waren hinsichtlich der Blatt- und Blütenform (vaterähnlich) marginal vorhanden (Abb. 13).

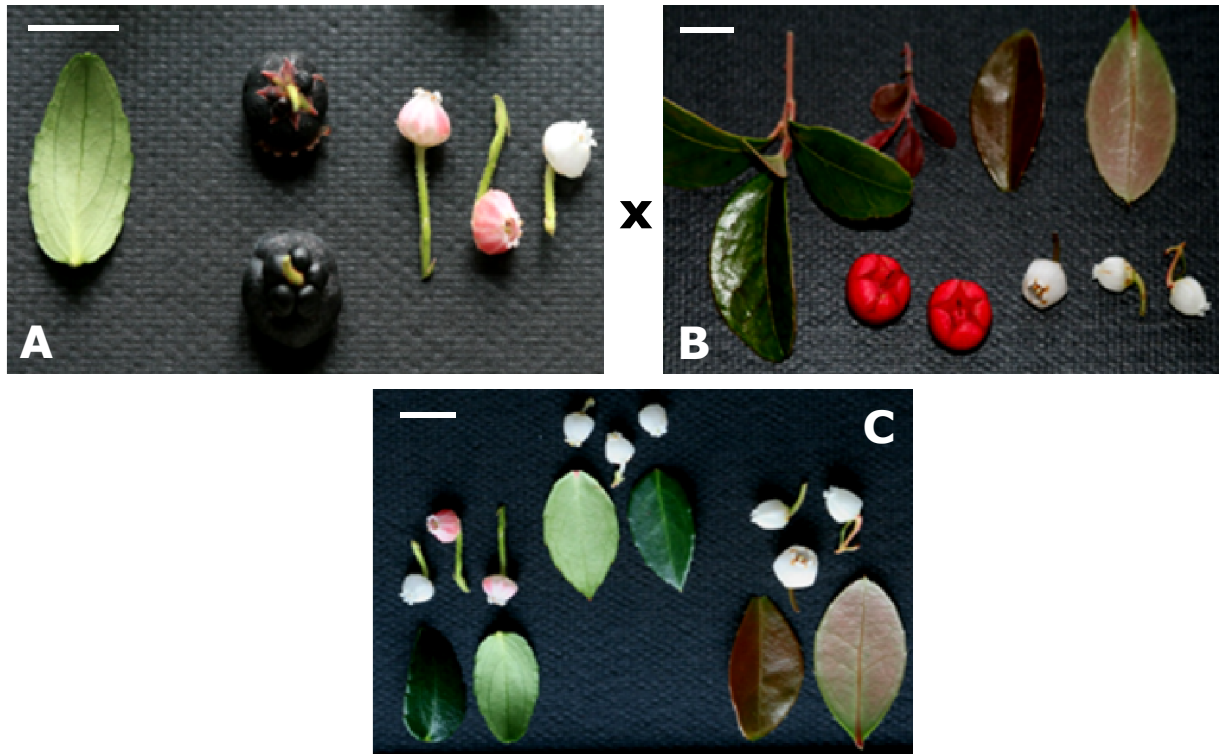


Abb. 13: Phänotypische Merkmalsausprägung interspezifischer Hybriden aus *G. myrsinoides* (A) x *G. procumbens* (B) im direkten Blatt- und Blütenvergleich. Die Abbildung C zeigt die Blüten und Blätter von *G. myrsinoides* (rechts im Bild), *G. procumbens* (links im Bild) und der Hybride (mittig im Bild). Die weißen Balken repräsentieren 1 cm.

4.2 Pathogen *Colletotrichum*

4.2.1 Morphologie und Konidiencharakterisierung der *Colletotrichum*-Isolate

Da drei Isolate (P-05, P-09 und P-22) sehr schlecht zu rekultivieren waren, wurden bei der morphologischen Auswertung nur 27 Isolate berücksichtigt. Alle 27 Isolate wuchsen in einem Temperaturbereich zwischen 10 °C bis 30 °C. Das Temperaturoptimum lag bei 23 °C (Abb. 14). Sowohl zwischen als auch innerhalb der Temperaturstufen unterschieden sich die Isolate im Wachstum signifikant voneinander. Das größte Wachstum mit 7,2 mm pro Tag wurde bei Isolat P-10 bei einer Temperatur von 16 °C beobachtet. In den Temperaturvarianten 5 °C und 35 °C war bei den meisten Isolaten kein Wachstum messbar (Tab. 32).

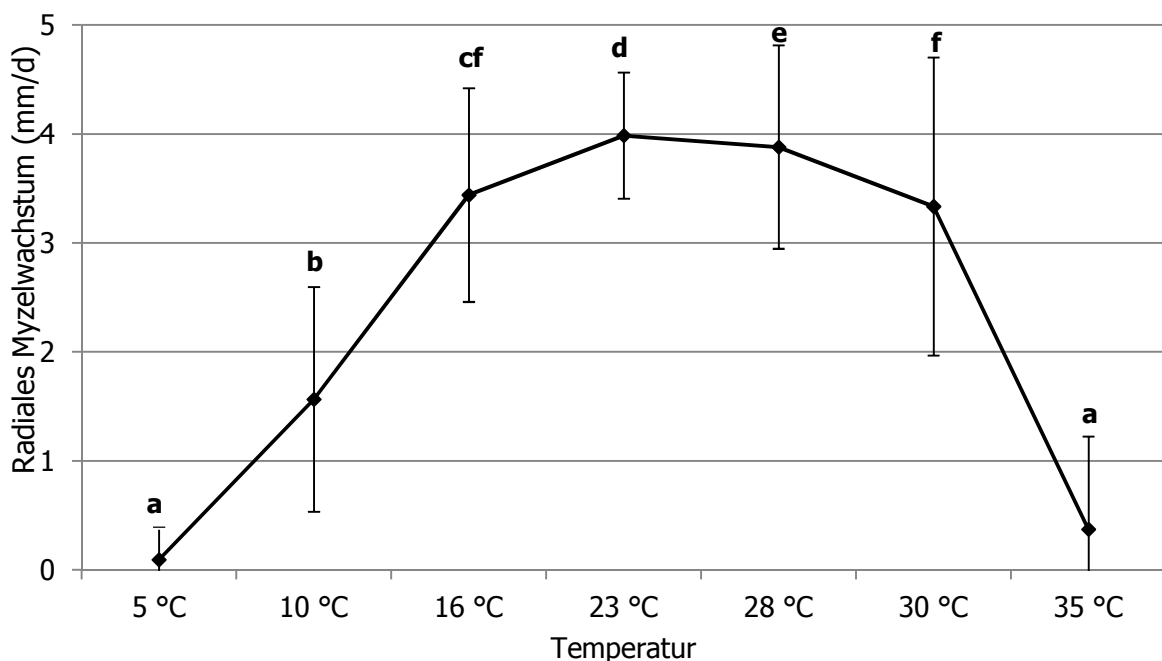


Abb. 14: Durchschnittlich tägliche radiale Myzelzunahme (mm) der *Colletotrichum*-Isolate bei Temperaturen von 5 °C bis 35 °C nach 14 Tagen auf Hafermehlagar im Dunkeln kultiviert. Die Balken stellen die Standardabweichung dar. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Differenzen zwischen den Temperaturstufen (Tukey-Test, $\alpha=5\%$).

Tab. 32: Durchschnittlich tägliches radiales Myzelwachstum der *Colletotrichum*-Isolate auf Hafermehlagar bei unterschiedlichen Temperaturen. Unterschiedliche Buchstaben hinter den Zahlen zeigen signifikante Differenzen zwischen den Isolaten (Tukey-Test, $\alpha=5\%$).

Isolat	Radiales Myzelwachstum (mm/d)						
	5 °C	10 °C	16 °C	23 °C	28 °C	30 °C	35 °C
P-01	0,0a	1,2b	3,2c	4,1d	5,6d	2,5c	0,0a
P-02	0,1a	2,6b	3,0c	4,3d	3,3c	2,8c	3,4c
P-03	0,0a	2,9b	3,3b	3,9c	4,0c	2,4b	0,0a
P-04	0,0a	0,8a	3,2b	5,3c	4,6c	2,7b	0,0a
P-06	0,0a	0,9b	3,6c	4,0c	3,5c	2,3d	0,0a
P-07	0,1a	2,8bc	3,0cd	3,4d	3,7e	2,6b	0,0a
P-08	0,0a	0,8b	2,5c	3,6d	4,1d	4,8e	0,0a
P-10	1,3b	4,2cd	7,1e	3,7c	4,9d	4,1c	0,0a
P-11	0,8a	2,7b	3,0bc	4,0d	4,0d	3,5cd	0,3a
P-12	0,0a	0,7b	2,9c	3,8d	3,6d	2,9c	0,0a
P-13	0,0a	0,7a	3,2bc	3,6bc	4,0c	3,1b	0,0a
P-14	0,0a	0,9b	4,0c	4,2c	4,0c	4,3c	0,0a
P-15	0,0a	0,9a	3,6b	4,4b	4,4b	4,1b	0,0a
P-16	0,0a	1,6b	2,6b	4,3c	4,0c	4,5c	0,0a
P-17	0,0a	2,9b	3,3bc	3,8cd	4,4d	3,1b	2,8b
P-18	0,0a	0,9ab	3,9c	4,1cd	4,7cd	4,9d	1,1b
P-19	0,0a	0,8b	4,1cd	4,0c	4,6d	4,4cd	0,8b
P-20	0,0a	1,7b	3,3c	3,8c	3,7c	3,7c	0,0a
P-21	0,2a	0,7ab	2,8c	3,1c	1,5b	1,4b	0,0a
P-23	0,0a	0,5a	3,8b	3,8b	3,9b	3,1b	0,0a
P-24	0,0a	1,4a	3,1b	4,2b	3,2b	4,3b	0,0a
P-25	0,0a	1,7b	2,8c	4,8e	3,4cd	3,9d	0,0a
P-26	0,0a	2,8bc	3,2c	4,4d	2,4b	0,0a	0,0a
P-27	0,0a	1,1a	4,5b	4,4b	4,3b	5,2b	0,8a
P-28	0,0a	0,9b	3,5c	3,8cd	4,2d	4,0cd	0,8b
P-29	0,0a	2,5d	2,5d	2,9d	1,8c	0,9b	0,0a
P-30	0,0a	0,8b	4,2c	4,1c	4,2c	4,7c	0,0a

Bei 24 von 27 Isolaten (86 %) war eine flockige Struktur des Myzels zu erkennen, die vier übrigen Isolate wuchsen ebenfalls flockig, waren im Aussehen aber kompakter (P-06, P-29, P-21 und P-26). Die Myzelfarbe erstreckte sich von hellgrau (13 Isolate), dunkelgrau (2 Isolate), blau-grau (1 Isolat) und schwarzgrau (1 Isolat) über beige

(4 Isolate), weiß-cremefarben (1 Isolat), weiß-dunkelbraun (1 Isolat) bis hin zu orange (3 Isolate) und pink-orange (2 Isolate) (Abb. 15).

Die Bildung von Setaen war bei 22 von 27 Isolaten nachzuweisen. Bei den übrigen sechs Isolaten (P-29, P-11, P-04, P-17, P-21 und P-10) konnten sie nicht auf den Agarplatten detektiert werden (Tab. 33).

Die Konidien waren hyalin, granuliert, unseptiert und in ihrer Form zylindrisch oder elliptisch. Die Konidienlänge und -breite wurde aus dem Durchschnitt von 50 gemessenen Konidien ermittelt (Tab. 32). Dabei variierte die Länge, Breite und Form im hohen Maß. So lagen die Werte für die Längenmessung zwischen 6,4 µm (P-26) und 20 µm (P-27) und die Breite zwischen 2,9 µm (P-26) und 5,7 µm (P-02). Das Gros der Isolat-Länge (82 %) lag zwischen 14,8 µm bis 18,6 µm. Drei Isolate waren kürzer (P-21, P-25 und P-26), ein Isolat länger (P-27). In Bezug auf die Konidien-Breite wiesen drei Isolate (P-06, P-26 und P-29) einen Wert von $\leq 4,0$ µm auf.

Hinsichtlich des Längen-Breiten-Verhältnisses gab es signifikante Differenzen zwischen den Isolaten. Die Werte lagen zwischen 2,4 (P-26) und 4,0 (P-27).

Morphologisch betrachtet zeigten nach sieben Tagen 24 Isolate (86 %) sowohl ein abgerundetes als auch ein spitz zulaufendes Konidienende und ein Isolat (P-29) jeweils zwei spitz zulaufende Enden. Bei drei Isolaten (P-02, P-11 und P-17) waren beide Enden der Konidien abgerundet (Tab. 33).

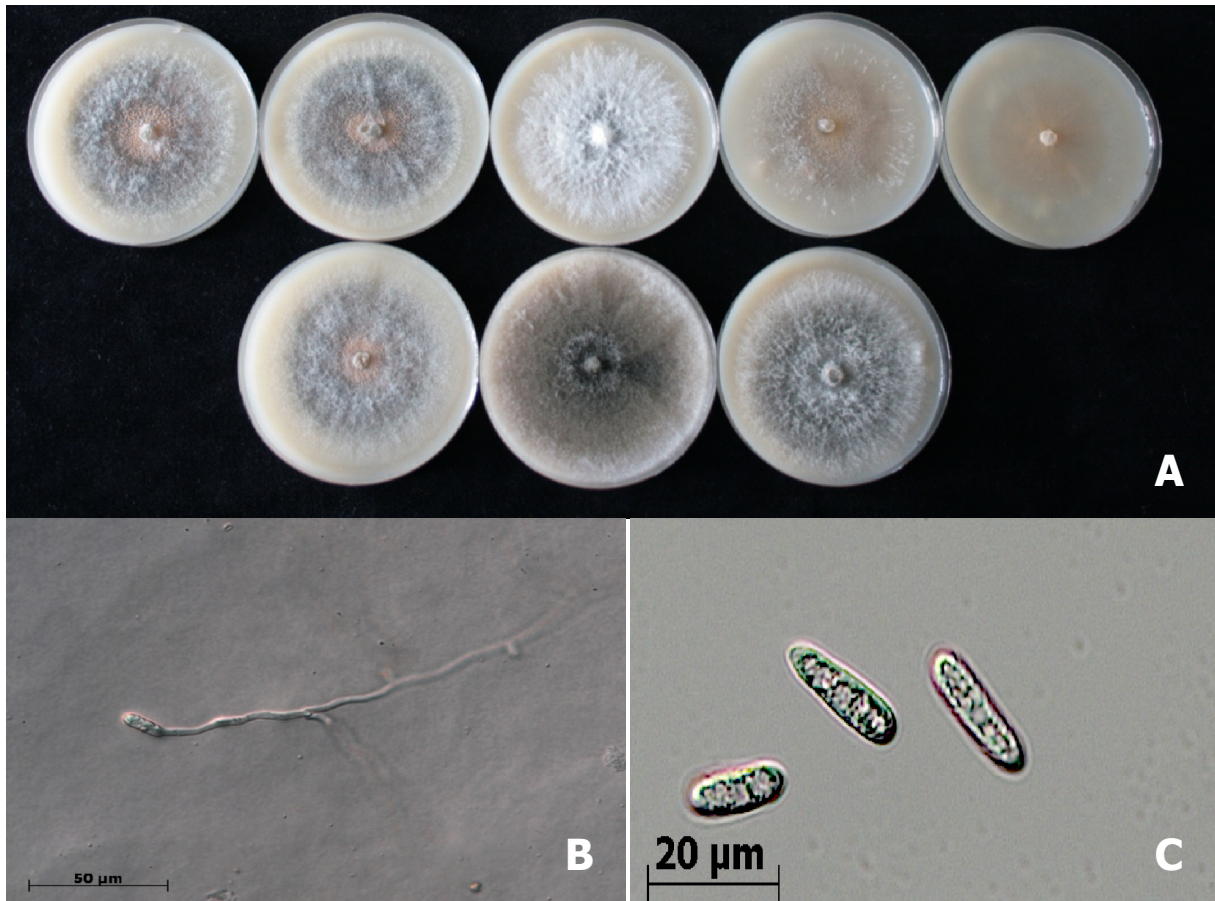


Abb. 15:A) Bewachsene Hafermehlplatten verschiedener *C. gloeosporioides*- und *C. acutatum*-Isolate nach siebentägiger Kulturvierung bei 28 °C; die oberen Platten von links nach rechts zeigen P-24, P-08, P-20, P-09 und P-25, unten P-28, P-26 (*C. acutatum*) und P-23.

B) Keimung einer Konidie auf Wasseragar nach 12 Stunden bei 28 °C.

C) Konidien des Isolats P-14 mit einseitig abgerundetem Konidienende.

Tab. 33: Morphologische Charakterisierung der untersuchten *Colletotrichum*-Isolate nach sieben Wochen, kultiviert bei 28 °C im Dunkeln. Unterschiedliche Buchstaben hinter dem Längen:Breiten-Verhältnis zeigen signifikante Differenzen zwischen den Isolaten (Tukey-Test der Studentisierten Spannweite (HSD), $\alpha=5\%$), $n=50$ Konidien.

Isolat	Konidien			Koloniefarbe	Myzelstruktur	Ausbreitung	Setae	Konidienschleim-masse
	Länge x Breite (μm)	Länge/Breite	Form der Konidienenden					
P-01	15,7 x 4,7	3,40 _{ef}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-02	15,1 x 5,1	3,00 _{hij}	beide abgerundet	weiß-cremefarben	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-03	15,2 x 5,4	2,80 _j	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-04	17,4 x 5,3	3,33 _{ef}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	weiß bis dunkelbraun	flockig	gleichmäßig radial	n.n.	-
P-06	15,3 x 4,0	3,85 _{ab}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	beige	kompakt flockig	gleichmäßig radial	+	-
P-07	15,4 x 5,4	2,88 _{ij}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	beige	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-08	17,2 x 5,2	3,32 _{ef}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-10	15,6 x 5,6	2,78 _j	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	beige	flockig	gleichmäßig radial	n.n.	+
P-11	17,7 x 5,1	3,49 _{de}	beide abgerundet	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	n.n.	+
P-12	17,1 x 4,9	3,49 _{cde}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-13	18,6 x 5,7	3,31 _{ef}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	-
P-14	18,4 x 5,0	3,74 _{abcd}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	dunkelgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	-
P-15	18,6 x 4,9	3,81 _{abc}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	dunkelgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	-
P-16	16,0 x 5,4	2,99 _{ghij}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	orange	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-17	14,9 x 5,1	2,93 _{ij}	beide abgerundet	orange	flockig	gleichmäßig radial	n.n.	+
P-18	16,0 x 4,8	3,35 _{ef}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	orange	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-19	15,7 x 4,8	3,31 _{ef}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-20	14,8 x 5,5	2,81 _j	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+

Ergebnisse

P-21	13,6 x 4,8	2,81 _j	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	kompakt flockig	gleichmäßig radial	n.n.	+
P-23	17,6 x 4,9	3,57 _{bcde}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-24	15,1 x 5,1	3,14 _{fghi}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-25	14,0 x 5,1	2,77 _j	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	pink-orange	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-26	6,4 x 2,9	2,25 _k	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	schwarz-grau	kompakt flockig	gleichmäßig radial	-	+
P-27	20,0 x 5,1	3,98 _a	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-28	18,1 x 4,7	3,89 _a	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	beige	flockig	gleichmäßig radial	+	+
P-29	15,0 x 4,0	3,82 _{ab}	beide spitz zulaufend	grau-blau	kompakt flockig	gleichmäßig radial	n.n.	+
P-30	16,9 x 4,4	3,88 _{ab}	1 x abgerundet, 1 x spitz zulaufend	hellgrau	flockig	gleichmäßig radial	+	-

+ = vorhanden

- = nicht vorhanden

n.n. = nicht nachgewiesen

4.2.2 Verwandtschaftsanalysen der Isolate anhand der rDNA-ITS-Region

Um die Monokonidien-Isolate nicht nur morphologisch, sondern auch genetisch zu charakterisieren, wurde der hochkonservierte rDNA-ITS1-5.8S-ITS2-Bereich von 27 Isolaten nach der Methode von Sanger et al. (1977) sequenziert. Mit einer Gesamtlänge von 1450 bp konnten von allen Isolaten die Sequenzen mit dem Universal-Primer-Paar ITS4/ITS5 für die gesamte ITS1-5.8S-ITS2-Region identifiziert werden (im Anhang Tabelle in A6 aufgelistet). Dabei wurden auch Teilbereiche der flankierenden 18S- und 28S-ribosomalen DNA mit sequenziert. Über die gesamte Sequenz sind alle Insertionen und Deletionen zusammengefasst worden. Die Anzahl der Basenpaare betrug in der der ITS1-Region ca. 172 und in der ITS2-Region 156 bp. Die mit der Homologisierung der Sequenzen eingefügten Lücken für das einheitliche Alignment waren, im ITS 1-Bereich mit 18 bp und im ITS 2-Bereich mit 19 bp, vergleichbar.

Anhand des nach der Neighbor-Joining-Methode erstellten Dendrogramms (Abb. 16) konnten zwei Gruppen innerhalb der *Colletotrichum*-Isolate detektiert werden. Die Gruppe I enthielt *Colletotrichum*-Isolate aus *Carica papaya*, *Lupinus*, *Gaultheria*, *Musa*, *Fragaria* und *Citrus* sowie *C. acutatum* aus Cyclamen. Die zweite Gruppe beinhaltete

Isolate aus *Trifolium* und *Phaseolus*. *Magnaporthe grisea* wurde als „outgroup“ verwendet.

Innerhalb der Gruppe I bilden die Isolate *C. lupini*, *C. acutatum* sowie die Isolate P-26, P-29 und P-22 eine Extragruppe, wobei sich das Isolat P-26 mit 91 %iger Bootstrapunterstützung eng mit den Isolaten *C. lupini* und *C. acutatum* gruppiert. Keine Unterschiede gab es zwischen den Isolaten P-29 aus *G. xwisleyensis* und P-22 aus *G. mucronata*. Eine zweite Einheit innerhalb der Gruppe I stellt das Isolat *C. gloeosporioides* aus *Carica papaya* dar, welches eine Abgrenzung zu den übrigen Isolaten zeigt, das aber mit 97 %iger Bootstrapunterstützung sehr eng mit den übrigen *Colletotrichum*-Isolaten aus der ersten Gruppe I gruppiert ist. Die dritte Einheit innerhalb der Gruppe I sind die zwei *C. gloeosporioides*-Isolate, die aus *Citrus* (P-17 und BBA 71473/AJ301988) isoliert wurden (Bootstrap-Wert von 100 %). Die beiden übrigen Isolate dieser Untergruppe *C. musae* und *C. fragaria* sind mit Bootstrap-Werten von unter 80 % als Gruppierung gut unterstützt.

Die vierte Untergruppe setzt sich aus den *C. gloeosporioides*-Isolaten zusammen, die aus *Gaultheria* stammen. Mit 98 %iger Wahrscheinlichkeit clustern alle Isolate in einer Gruppe.

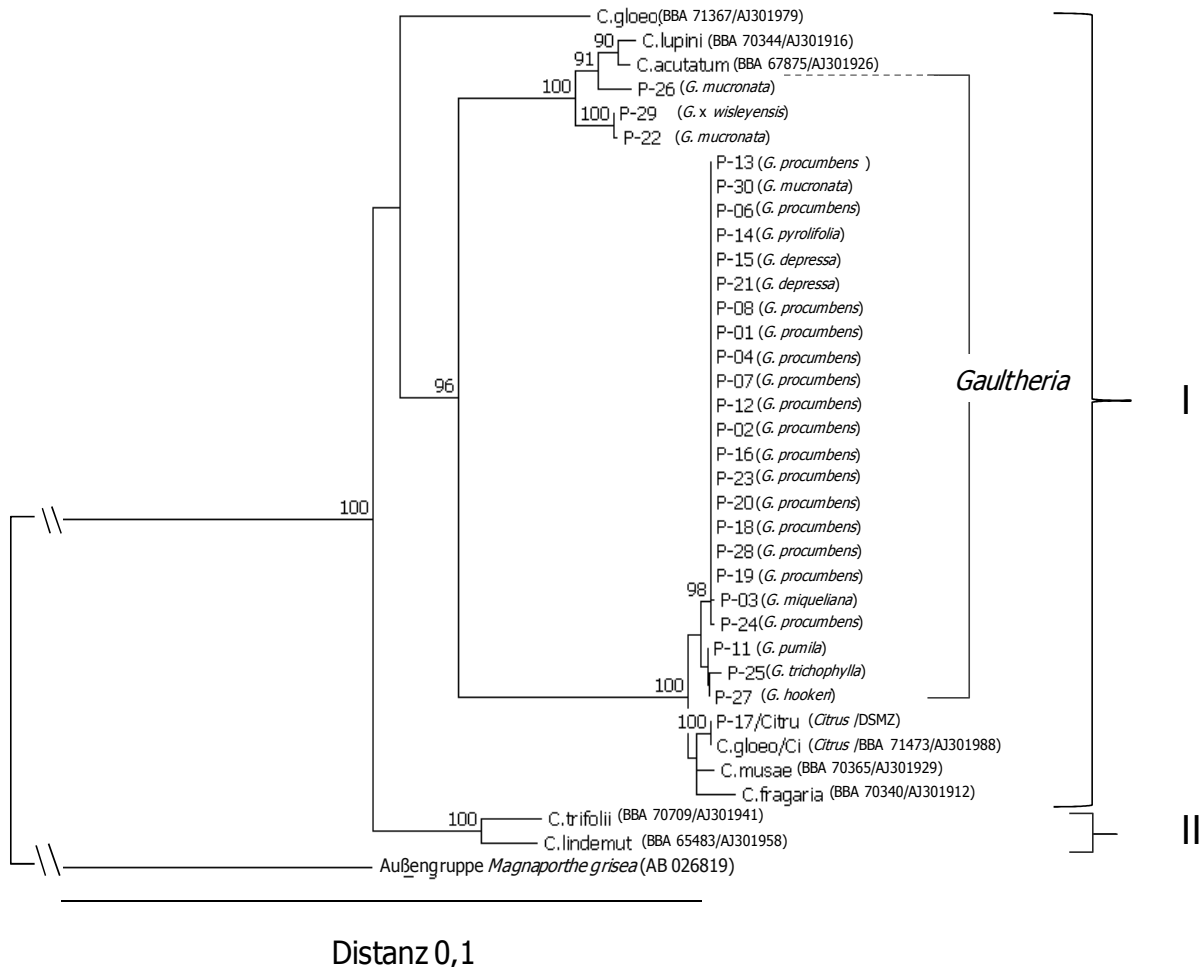


Abb. 16: Auf der Basis der Neighbour-Joining-Analyse erstelltes Dendrogramm (mit Bootstrapwerten über 70 %) der sequentiellen ITS1-5.8S-ITS2-Region unterschiedlicher *Colletotrichum*-Arten. *Magnaporthe grisea* stellt die Außengruppe dar.

Die Resultate des BLAST-Sequenz-Abgleiches (Tab. 34) bestätigen die Ergebnisse des Dendrogramms, das auf Grundlage des Neighbour-Joining-Verfahrens erstellt wurde. Mit einer Sequenzübereinstimmung von 99 % bw. 100 % und einem E value von 0,0 sind die Isolate P-22, P-26 und P-29 der Art *C. acutatum* zuzuordnen. Alle übrigen Isolate sind mit einer Übereinstimmung von 99 % bw. 100 % und einem E value von 0,0 der Art *C. gloeosporioides* zuzuordnen.

Tab. 34: Nucleotid-Sequenz-Abgleich der erhaltenen Isolatsequenzen mittels NCBI-Datenbank unter Verwendung des BLAST-Algorithmus.

Isolat	Art	Total score (bp)	Query cover (%)	E value	Identity (%)	Accession
P-01	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-02	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-03	<i>C. gloeosporioides</i>	2619	100	0,0	99	AJ301907.1
P-04	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-05	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-06	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-07	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-08	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-09	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-10	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-11	<i>C. gloeosporioides</i>	2604	100	0,0	99	AJ301908.1
P-12	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-13	<i>C. gloeosporioides</i>	2623	100	0,0	99	AJ301907.1
P-14	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-15	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-16	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-17	<i>C. gloeosporioides</i>	2628	100	0,0	100	AJ301988.1
P-18	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-19	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-20	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-21	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-22	<i>C. acutatum</i>	2634	100	0,0	99	AJ301987.1
P-23	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-24	<i>C. gloeosporioides</i>	2621	100	0,0	99	AJ301907.1
P-25	<i>C. gloeosporioides</i>	2549	100	0,0	99	AJ301908.1
P-26	<i>C. acutatum</i>	2632	100	0,0	99	AJ301910.1
P-27	<i>C. gloeosporioides</i>	2606	100	0,0	99	AJ301908.1
P-28	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1
P-29	<i>C. acutatum</i>	2641	100	0,0	100	AJ301987.1
P-30	<i>C. gloeosporioides</i>	2627	100	0,0	100	AJ301907.1

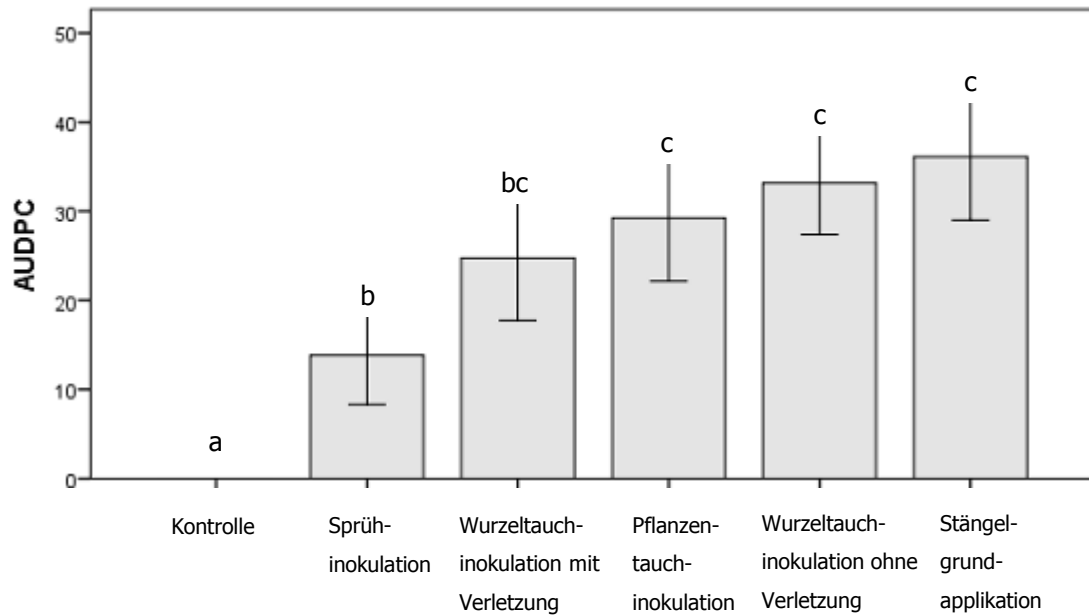
4.2.3 Vergleichende Inokulationsmethoden

Um herauszufinden, welche Inokulationsmethode für das vorliegende Pathosystem *Gaultheria/Colletotrichum* am verlässlichsten ist, wurden in zweifacher Wiederholung fünf Varianten miteinander verglichen. Die Abbildung 17 stellt die Fläche unter der Befallskurve je Variante (AUDPC) dar, die aus der Verrechnung der Boniturdaten hervorgeht. Die Versuche zum Methodenvergleich fanden zu unterschiedlichen Zeitpunkten statt, im Juni und im Februar. Obwohl die Voraussetzungen (Alter der Pflanzen, des Pilzes, Klimakammer-Bedingungen) gleich waren, unterschieden sich die Versuche in den Methoden Wurzeltauchinokulation mit und ohne Verletzung, Pflanzentauchinokulation und Stängelgrundapplikation. Zu der jeweiligen unbehandelten Kontrollvariante waren die Inokulationsmethoden signifikant verschieden.

In der Verrechnung beider Versuche mittels AUDPC-Daten wiesen die Varianten Wurzeltauchinokulation mit und ohne Verletzung, Pflanzentauchinokulation sowie Stängelgrundapplikation in einem Zeitraum von fünf Wochen einen ähnlichen Befallsverlauf mit AUDPC-Werten zwischen 25 und 35 auf. Dabei unterschieden sie sich statistisch nicht voneinander. Die Variante Sprühinokulation, mit AUDPC-Werten von 15, zeigte den geringsten Befall, der im Vergleich zur unbehandelten Kontrollvariante (AUDPC-Wert von 0) und den übrigen Methoden signifikant verschieden war (Abb. 18).

Im einzelnen betrachtet (s.a. Abb. A1 im Anhang) wurde bei der Inokulation über den Stängelgrund nach 35 Tagen eine 90 %ige Infektion (72,5 % Mortalität) der 14-Wochen alten Sämlinge erzielt. Im Gegensatz dazu führte die Wurzeltauchmethode mit Verletzung zu 72,5 % (52,5 % Mortalität) und ohne Verletzung zu 97,5 % Befall (75 % Mortalität). Wurden die ganzen Pflanzen in die Konidien suspension mit 2×10^6 Konidien/ml getaucht, waren am fünften Boniturtermin 80 % (50 % Mortalität) der *Gaultheria*-Sämlinge nachweislich mit dem Erreger infiziert. Bei der Sprühinokulation waren es bis zu 62,5 % (22,5 % Mortalität).

Wegen der praktikablen Handhabung, der Einfachheit und der geringen Gefahr, die Pflanzen zu verletzen, bot sich für die nachfolgenden Virulenztestungen der Isolate und die sich anschließenden Resistenztestungen der *Gaultheria*-Arten die Methode der Stängelgrundapplikation an.



Inokulationsvarianten

Abb. 17: Einfluss verschiedener Inokulationsmethoden auf den Befall mit *C. gloeosporioides* (P-01) an *G. procumbens*. Dargestellt ist jeweils die Fläche unter der Befallskurve (AUDPC) je Variante. Je Versuch wurden 20 Pflanzen je Inokulationsmethode getestet (Tukey-Test der Studentisierten Spannweite (HSD), $\alpha=5\%$). $n=20$, I=Standardabweichung

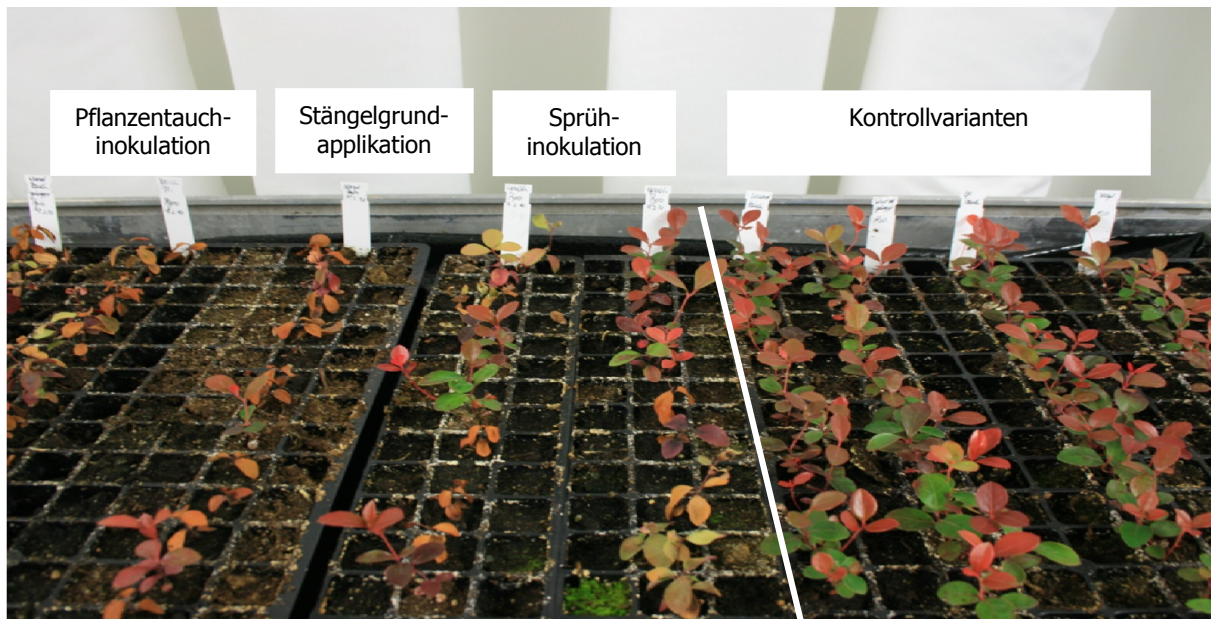


Abb. 18: Symptomausprägungen an *G. procumbens* 28 Tage nach Inokulation. Hierbei wurden verschiedene Inokulationsmethodiken getestet, mit dem Ziel der Etablierung eines praktikablen, einfach und schnell durchzuführenden Resistenztests an Gaultherien.

4.2.4 Testung der Isolate auf Virulenz

Aufgrund der vorherigen Ergebnisse wurden zur Testung der Isolate auf Virulenz die Versuche mit der Stängelgrundapplikation durchgeführt (Abb. 19). Anhand der statistischen Auswertung der AUDPC-Werte (Abb. 20) konnten die Isolate in schwach (9), moderat (6) und hoch virulent (13) eingestuft werden. Dabei lagen die Werte in der ersten Gruppe zwischen 6,2 und 19,0, in der zweiten Gruppe zwischen 30,8 und 77 und in der dritten Gruppe zwischen 80 und 121,9. Aus der Gruppe eins- schwach virulent - wurde das Isolat P-21 und aus der Gruppe drei- hoch virulent - das Isolat P-14 für alle nachfolgenden Inokulationsversuche ausgewählt.



Abb. 19: Isolat-Virulenztestungen an *G. procumbens*-Pflanzen via Stängelgrundapplikation 28 Tage nach Inokulation. Die hier dargestellten Isolate P-11 und P-29 sind als schwach virulent, die Isolate P-18 bzw. P-14 sind als hoch virulent eingestuft worden.

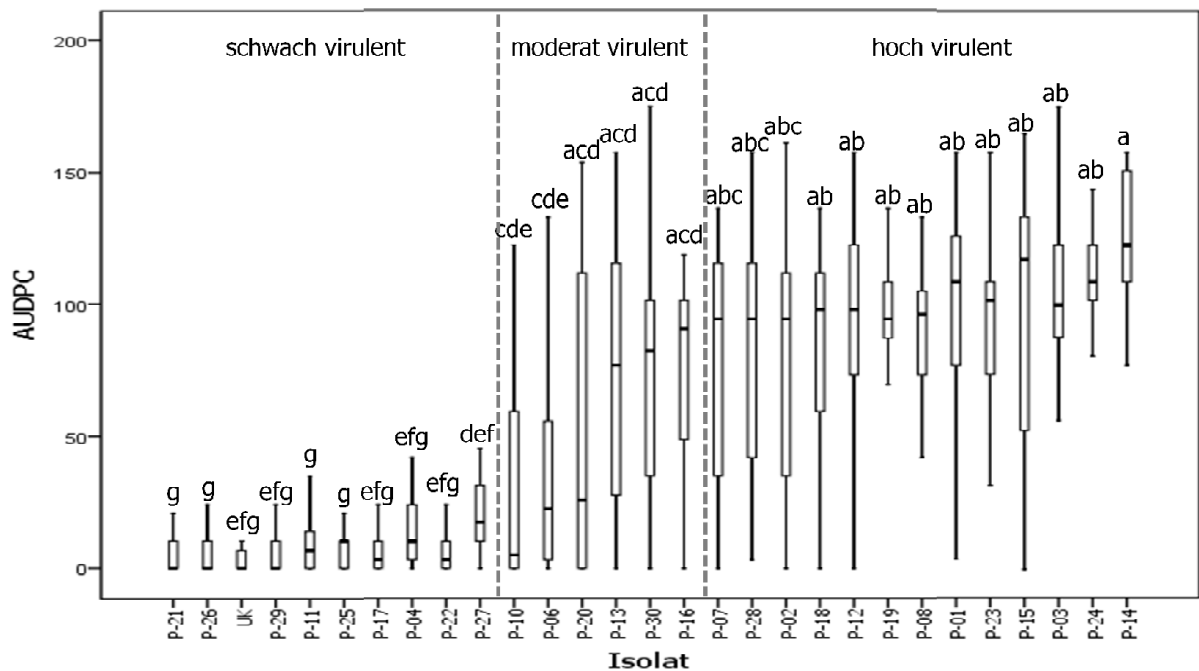


Abb. 20: Virulenzspektrum der in dieser Arbeit verwendeten *C. gloeosporioides*-Isolate eingeteilt in schwach, moderat und hoch virulent. (Unterschiedliche Buchstaben bedeutet: signifikant voneinander verschieden; gleiche Buchstaben bedeutet: keine signifikanten Differenzen (Tukey-Test der Studentisierten Spannweite (HSD), $\alpha=5\%$)).

4.2.5 Inokulationsversuche mit *C. acutatum*

Nach den Untersuchungen zur Morphologie der Isolate, als auch durch die Ergebnisse der Sequenzierung, dass das Isolat P-26 Ähnlichkeiten im Aussehen und Wachstum mit *C. acutatum* aufwies, sowie die durch die hohen Bootstrapwerte (91 %) gut gestützte Clusterung mit *C. acutatum* wurden gesonderte Inokulationsversuche durchgeführt. Unter Verwendung der Stängelgrundapplikation (Kapitel 3.2.5) wurde mit zwei *C. acutatum*-Isolaten aus der Deutschen Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) die Art als potentiell Pathogen an *Gaultheria* bewertet. Als Referenz diente das hoch virulente Isolat P-14. Die inokulierten Pflanzen entwickelten kaum oder gar keine Symptome (geringe AUDPC-Werte) (Abb. 21), sodass *C. acutatum* nicht als virulent an *Gaultheria* einzustufen ist. Die mit Sternchen gekennzeichneten Werte stellen Ausreißer dar und konnten nach Überprüfung der Koch'schen Postulate weder mit *C. gloeosporioides* noch mit *C. acutatum* in Verbindung gebracht werden.

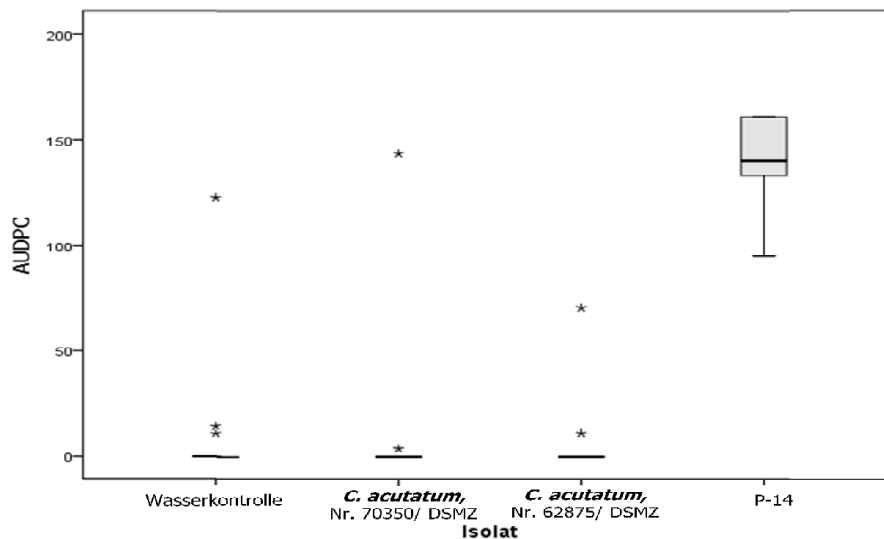


Abb. 21: Prüfung der Virulenz von *C. acutatum*-Isolaten aus der Deutschen Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) im Vergleich zum hoch virulenten *C. gloeosporioides*-Isolat (P-14) und der Wasserkontrolle an *G. procumbens*. n=10

4.2.6 Ausbreitung *C. gloeosporioides* in *G. procumbens*

In den Untersuchungen zur Ausbreitung des Pathogens innerhalb der *Gaultheria*-Pflanze konnte nachgewiesen werden (Abb. 22), dass sich der Erreger vor allem im Wurzelbereich der Pflanze konzentriert. In mehr als 70 % der untersuchten Sprosse wurde der Erreger aus dem Wurzelbereich reisoliert. Im Bereich des Stängelgrundes konnte ein Befall von 45 %, im Blatt und im Blattstiel von 5 % bzw. 7,5 % ermittelt werden. Die Untersuchungen machen deutlich, dass der Befall von der Wurzel bis zu den Blättern abnehmend ist.

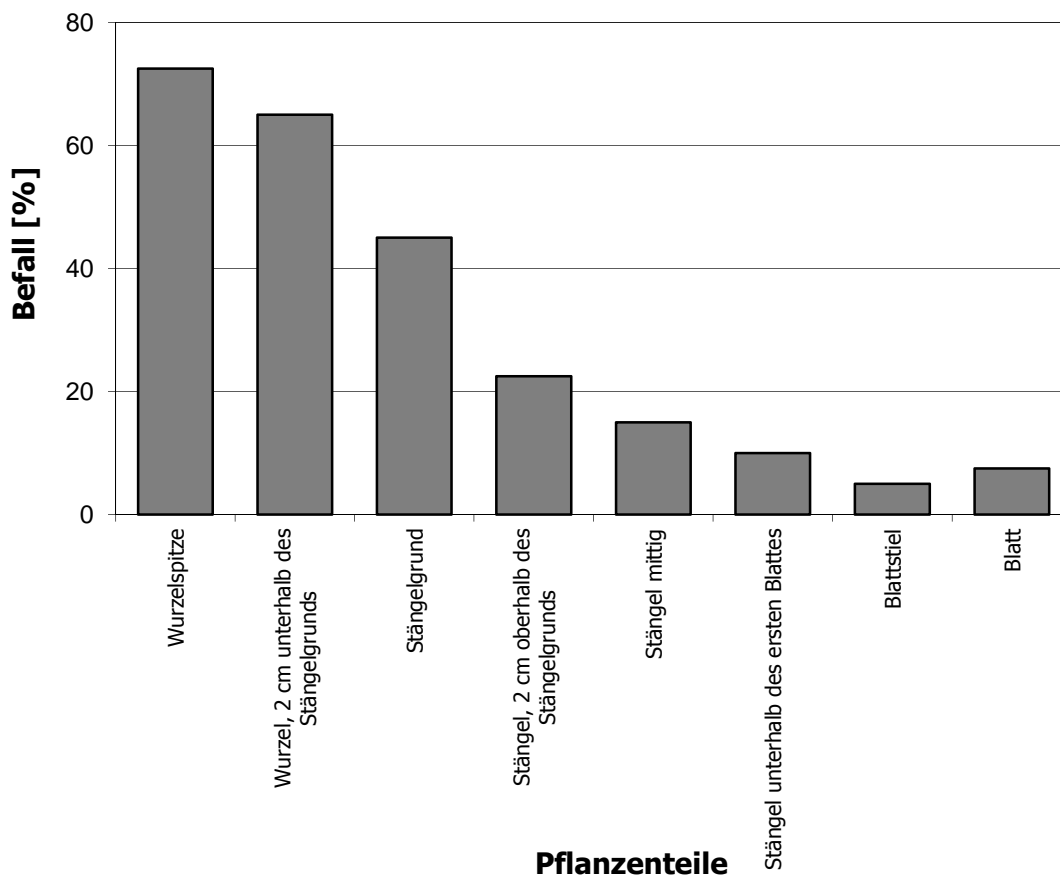


Abb. 22: Nachweis von *C. gloeosporioides* in symptomlosen bewurzelten *Gaultheria*-Sprossen aus dem Gewächshaus. Je Pflanzenabschnitt wurden 4 x 10 bewurzelte Sprosse in zwei Wiederholungen überprüft.

4.2.7 Substratinokulation

Aufgrund der Tatsache, dass der Erreger *C. gloeosporioides* bei *G. procumbens* besonders im Wurzelbereich nachweisbar war, wurde die Möglichkeit einer Inokulation über Substrat überprüft. Innerhalb eines Zeitraums von vier Wochen und mit einer zweifachen Wiederholung des Versuches wurde anhand des AUDPC ein Befallsmittelwert von 77 in der Variante mit dem hoch virulenten Isolat P-14 ermittelt. Sowohl in der unbehandelten Kontrollvariante als auch in der Variante mit dem als *C. acutatum* angenommenen Isolat P-26 konnte kein Befall über das Substrat nachgewiesen werden (Abbildung 23). In der Variante mit dem schwach virulenten P-21-Isolat wies nur eine Pflanze Symptome auf, die aber nach Anwendung der Koch'schen Postulate nicht auf *C. gloeosporioides* zurückzuführen waren.

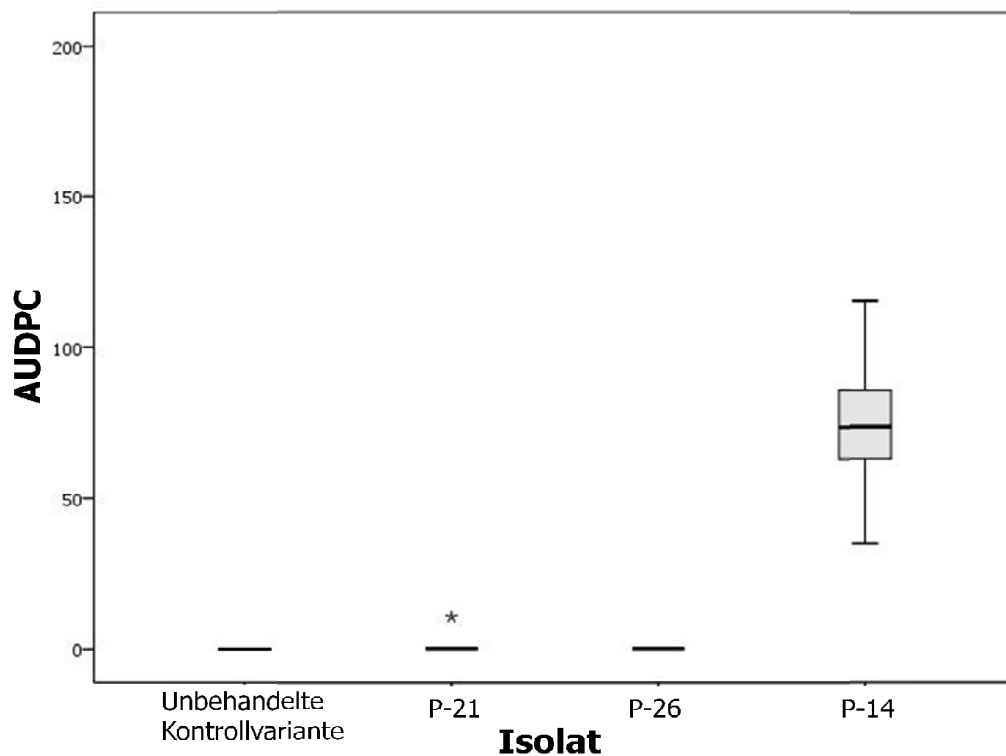


Abb. 23: Inokulation über das Substrat mit dem *C. acutatum*-Isolat (P-26) und dem schwach virulenten *C. gloeosporioides*-Isolat (P-21) im Vergleich zu dem hoch virulenten P-14-Isolat. Je Isolat wurden 5 Pflanzen in zweifacher Wiederholung geprüft.

4.2.8 PCR-basierter Nachweis von *C. gloeosporioides* in der Pflanze

Da *C. gloeosporioides* latent in *Gaultheria* vorkommt und ein Befall erst zu einem späteren Entwicklungsstadium eindeutig diagnostizierbar ist, wurde die Möglichkeit einer PCR-basierten Nachweismethode geprüft. Mit einem *C. gloeosporioides*-spezifischen Primer wurden sowohl befallenes Material aus dem Gewächshaus als auch mit dem Pathogen inokuliertes In-vitro-Pflanzenmaterial sowie reines Erregermaterial getestet. Die in Abbildung 24 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die artspezifischen Primer für den Nachweis von *C. gloeosporioides* geeignet waren. Die 435 bp-großen Fragmente ließen sich in allen Isolaten amplifizieren, d.h. in sechs von zehn Proben. In zwei Proben waren nur schwache Banden auf dem Gel zu erkennen (P-13). In zwei weiteren Proben konnten keine spezifischen Banden nachgewiesen werden (P-01 und P-08).

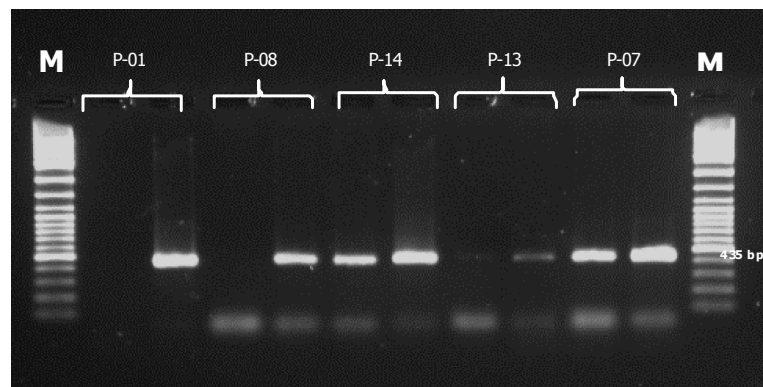


Abb. 24: PCR-basierter Nachweis von *C. gloeosporioides*-Isolaten mit einem spezies-spezifischen Primer aus Myzel. Als Größenstandard (M) diente der GeneRuler 1 kb DNA Ladder von Thermo Scientific.

Mit dem positiven Ergebnis aus den Vorversuchen zum *C. gloeosporioides*-Nachweis anhand spezifischer Primer wurden diese an Pflanzenmaterial getestet. In keinen der befallenen Stängelgrund-Proben (Gewächshaus) konnte *C. gloeosporioides* detektiert werden. Wurde aber Blattmaterial künstlich mit dem Erreger infiziert oder Triebspitzen aus befallenem Pflanzenmaterial aus dem Gewächshaus entnommen, führte dies zu spezifischen Amplifikaten (Abb. 25).

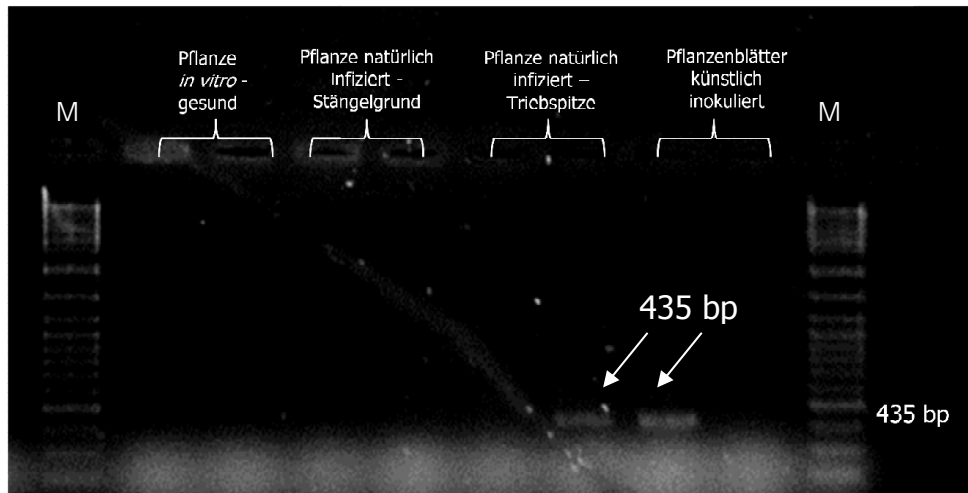


Abb. 25: PCR-basierter Nachweis von *C. gloeosporioides* aus natürlich infizierten Gewächshauspflanzen sowie künstlich inokuliertem Blattmaterial. Als Isolat für die Inokulation wurde P-01 verwendet. M: Marker GeneRuler 1 kb DNA Ladder von Thermo Scientific

4.2.8.1 Testung von Additiven, Verdünnungsreihen und Touch-Down-PCR

Anhand von Zusätzen, Verdünnungsreihen und der Anwendung einer sogenannten Touch-Down-PCR sollte die Spezifität der PCR erhöht werden. Durch die Verwendung von gesundem In-vitro-Pflanzenmaterial und reiner pilzlicher DNA in einer Verdünnungsreihe von 1:1 bis $1:1 \times 10^6$ konnten nur Fragmente in den Proben der reinen pilzlichen DNA sowie einer 1:1-Verdünnung mit pflanzlicher genomischer DNA gefunden werden. Sowohl in den Proben mit einer Verdünnung von 1:10 bis $1:1 \times 10^6$ als auch in der Probe mit gesundem Pflanzenmaterial waren keine Fragmente amplifiziert worden (Abb. 26).

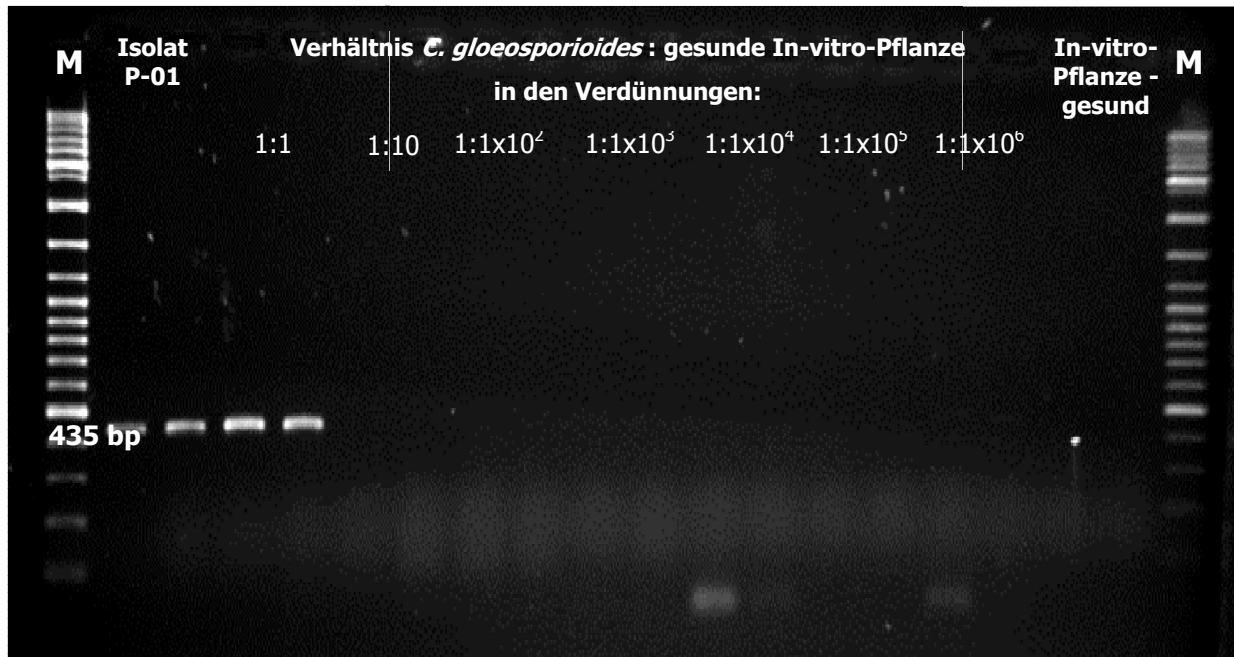


Abb. 26: PCR-basierter Nachweis von *C. gloeosporioides* in unterschiedlichen Verdünnungen mit In-vitro-Pflanzenmaterial. M: Marker GeneRuler 1 kb DNA Ladder von Thermo Scientific

4.2.9 Resistenztestungen

Die Resistenztestungen basierten alle auf dem unter 3.2.6 beschriebenen Stängelgrundapplikations-Test. Die beiden verwendeten Isolate P-14 (hoch virulent) und P-21 (schwach virulent) wurden aufgrund der Ergebnisse aus dem Isolat-Virulenz-Test (s. Kapitel 4.2.4) ausgewählt. Die Anzahl der untersuchten Pflanzen innerhalb der Art richtete sich nach Keimung der Samen. Folgende Arten wurden in dieser Untersuchung verwendet: *G. shallon* (n=10), *G. phyllireifolia* (n=6), *G. procumbens* (n=13), *G. pumila* (n=10), *G. hispida* (n=8).

Anhand der Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) konnten sowohl die Isolate als auch die Reaktionen der *Gaultheria*-Arten miteinander verglichen werden (Abb. 27).

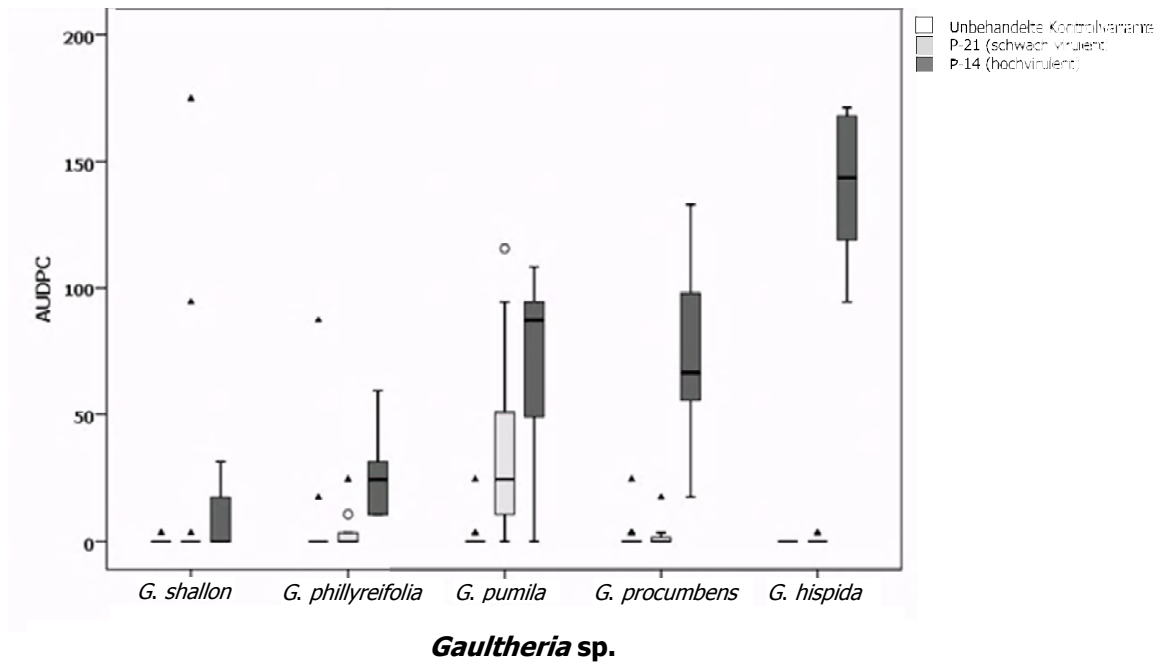


Abb. 27: Resistenztestung an fünf ausgewählten *Gaultheria*-Arten gegen das schwach (P-21) und hoch virulente (P-14) *C. gloeosporioides*-Isolat.

An allen fünf untersuchten *Gaultheria*-Arten wurden durch das hoch virulente Isolat P-14 Symptome verursacht. Symptome an Pflanzen der unbehandelten Kontrollvariante waren nicht auf das Pathogen zurückzuführen. Eine Re-Isolierung von *C. gloeosporioides* war negativ.

Besonders anfällig reagierten *G. procumbens* mit AUDPC-Werten zwischen 17,5 und 133, *G. pumila* mit AUDPC-Werten zwischen 0 und 108,5 und *G. hispida* mit AUDPC-Werten zwischen 94,5 und 171,5 (Abb. 27). Weitaus schwächere Symptome konnten an den Arten *G. shallon* und *G. phillyreifolia* beobachtet werden. Die AUDPC-Werte dieser beiden Arten lagen zwischen 0 und maximal 59,5 (s. a. Abb. 28).

Das schwach virulente Isolat P-21 verursachte nur vereinzelt Symptome an den Pflanzen. Anhand der Extrem-Werte, die in Abbildung 27 als Dreiecke dargestellt sind, konnten Symptome dokumentiert werden, die aber nicht auf den Erreger/das Isolat zurückzuführen waren, da eine Reisolierung negativ war. Im Gegensatz dazu konnte das schwach virulente Isolat jedoch bei *G. phillyreifolia* und *G. pumila* aus dem befallenen Material reisolieren werden, was eine Infektion bestätigte.

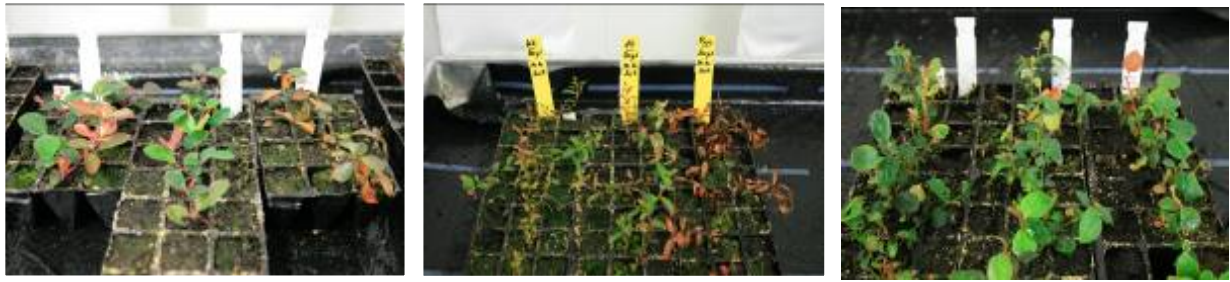


Abb. 28: Resistenztestungen an *G. procumbens* (links), *G. hispida* (Mitte) und *G. shallon* (rechts) mit der jeweilige Wasserkontrolle (jeweils links), dem schwach (P-21, mittig) und hoch virulenten (P-14 - rechts) *C. gloeosporioides*-Isolat.

5 Diskussion

Im Rahmen eines BMEL geförderten Innovationsprojektes zur Erschließung neuer Resistenzquellen in der Gattung *Gaultheria* gegen den Pilz *Colletotrichum gloeosporioides* (BLE, FKZ 28-1-41.015-06) lag der Schwerpunkt vor allem in der Etablierung eines geeigneten und schnell durchzuführenden Resistenztests zur Evaluierung möglicher Resistenzquellen.

Dazu wurden zunächst die aus *Gaultheria* und *Citrus* gewonnenen *Colletotrichum*-Isolate phänotypisch und molekulargenetisch charakterisiert. Die Testung verschiedener Inokulationstechniken und die Prüfung der Virulenz der Isolate schlossen sich an. Untersuchungen in symptomlosen bewurzelten *Gaultheria*-Sprossen gaben Aufschluss darüber, wo das Pathogen hauptsächlich lokalisiert ist und ob es somit über das Substrat verbreitet werden kann. Mittels PCR sollte eine direkte Nachweismethode von *C. gloeosporioides* in der Pflanze entwickelt werden. Ein etablierter Resistenztest ermöglicht Aussagen über das Resistenzniveau von *Gaultheria*-Arten.

Um Artkreuzungen bei *Gaultheria* gezielt durchführen und mögliche Resistenzen dadurch übertragen zu können, wurde der Verwandtschaftsgrad der zur Verfügung stehenden Arten innerhalb der Gattung mit RAPD-Markern untersucht. Pollenvitalitätstests und die Prüfung der Langzeitlagerung von Pollen sollten es ermöglichen, Artkreuzungen zu unterschiedlichen Blühzeitpunkten von mütterlichen und väterlichen Eltern durchzuführen.

Darüber hinaus wurde die In-vitro-Sprosskultur verschiedener *Gaultheria*-Arten als eine Methode der pathogenfreien vegetativen Vermehrung etabliert.

5.1 In vitro-Etablierung und -Vermehrung von *Gaultheria*

Da die Vermehrung von Gaultherien bisher hauptsächlich über Samen realisiert wird und die vegetative Vermehrung schwierig zu handhaben ist, war ein Ziel, möglichst alle zur Verfügung stehenden *Gaultheria*-Arten bzw. -Genotypen *in vitro* als Sprosskultur zu etablieren, pathogenfrei zu vermehren und als pflanzengenetische Ressource zu erhalten. Dass Gaultherien *in vitro* erfolgreich kultiviert werden können, zeigt derzeit nur eine Arbeit von Ranyaphia et al. (2011). In ihren Untersuchungen zur direkten Organogenese aus Blatt-, Internodium- und Wurzel-Explantaten von *G. fragrantissima*-Sämlingen konnten sie innerhalb von acht Wochen auf modifizier-

tem und mit 2-Isopentenyladenin (5,8 mg/l) oder Kinetin (4,6 mg/l) versetzten Anderson-Medium 12-16 Sprosse je Explantat erzeugen.

Ein wesentlicher Aspekt für eine erfolgreiche Etablierung sind hierbei die Auswahl des Explantattyps sowie die Dauer und Art der Oberflächensterilisation. In der vorliegenden Arbeit eignete sich das unverholzte und sehr junge Pflanzenmaterial sehr gut für die Etablierung (s. Kapitel 4.1.2). Die Verwendung von 3 %iger NaClO-Lösung bei unterschiedlichen Sterilisationszeiten zwischen 5 und 15 min war für die Etablierung ausreichend. Allerdings zeigte sich insbesondere bei den Arten *G. trichophylla* (Nepal), *G. pumila*, *G. merrilliana*, *G. depressa* var. *novae-zealandiae*, *G. cuneata*, dass längere Sterilisationszeiten zu geringem bzw. keinem Etablierungserfolg führten (Tab. A5 im Anhang). Waren die Sterilisationszeiten kürzer, konnten auch diese Arten erfolgreich etabliert werden. Anzunehmen wäre hier, dass sich die Konzentration der NaClO-Lösung mit 3 % bei längerer Einwirkzeit toxisch auf das Pflanzenmaterial auswirkte (Bhojwani und Razdan 1996). Alternativen wären die Konzentration zu verringern und die Dauer der Sterilisation zu verlängern (Davey und Anthony 2010).

Die Kontaminationsrate war nicht von der Länge der Sterilisationszeit abhängig. Sowohl bei kurzer als auch bei längerer Sterilisationsdauer blieben Kontaminationen in Hinblick auf Sprossspitzen und Sprossteilstücke mit nur einem Explantat marginal. Insgesamt konnten somit 23 von 33 Arten, die als Material im Gewächshaus zur Verfügung standen, *G. xwisleyensis* eingeschlossen, mit mehr als 50 % erfolgreich über Sprossspitzen und Sprossteilstücke *in vitro* etabliert (Tab. A 5 im Anhang) werden.

Die Weitervermehrung über Sprossspitzen und Sprossteilstücke mit 1-2 Axillarknospen auf Nährmedium nach Anderson (1984) modifiziert nach Mertens et al. (1996) war besonders bei *G. hookeri*, *G. insana*, *G. itoana* und *G. merrilliana* erfolgreich (s. Kapitel 4.1.3, Tab. 24). Insgesamt ließen sich die Arten bzw. Genotypen besser von Sprossteilstücken als von Triebspitzen als Ausgangsexplantat vermehren. Die Mikrovermehrung von *G. procumbens* war mit Vermehrungsraten von 1,0 bei Sprossteilstücken und 0,5 bei Sprossspitzen relativ gering. Es ist anzunehmen, dass der Erfolg der Mikrovermehrung mit dem oben genannten Nährmedium stark artabhängig ist. Möglich wären aber auch, dass veränderte Konzentrationen des Auxins IAA in Kombination mit den Cytokininen Zeatin, 2-Isopentenylaminopurin oder Thidiazuron so-

wie der Salze im Medium eine Sprossneubildung erhöhen können (McCown und Lloyd 1983, Anderson 1984, Ranyaphia et al. 2011).

Darüber hinaus sind das Vermeiden somaklonaler Variationen sowie die Überführung der In-vitro-Pflanzen ins Gewächshaus entscheidende Kriterien einer erfolgreichen Mikrovermehrung. Vorversuche zur Überführung wurden in dieser Arbeit mit nur mäßigem Erfolg durchgeführt und bedürfen weiterer, intensiverer Studien. Somaklonale Variationen wurden nicht beobachtet.

5.2 Verwandtschaftsanalyse in der Gattung *Gaultheria*

Anhand von Sequenzen kodierender und nicht kodierender Bereiche aus dem Chloroplastengenom wie *matK*, *ndhF*, *atpB-rbcL* Spacer, *trnL-trnF*, *trnS-G* und *rpl16*, sowie der nrITS-Region wurden verschiedene phylogenetische Studien an *Gaultheria* veröffentlicht (Powell und Kron 2001, Kron et al. 2003, Bush et al. 2009a, Bush et al. 2009b, Lu et al. 2010). Diesen Arbeiten lagen zahlreiche Arten zugrunde, dennoch beinhalteten sie drei Arten nicht, die in der vorliegenden Studie untersucht wurden. Die Verwandtschaftsanalyse in der Gattung *Gaultheria* in dieser Arbeit wurde mit RAPD-Markern nach Williams et al. (1990) durchgeführt. Die RAPD-PCR-Technik ist schnell und unkompliziert durchzuführen, basiert auf der Verwendung genomweiter Marker und ist weniger kostenintensiv als beispielsweise die AFLP- und SSR-Techniken. Allerdings ist die Wiederholung der Ergebnisse nicht immer gegeben. Daher ist es empfehlenswert, die gewonnenen Resultate zur Absicherung zu replizieren (Dos Santos et al. 1994, Nienhuis et al. 1995).

Unter Verwendung von nur eindeutigen identifizierbaren Banden konnten, bis auf die Arten *G. insana*, *G. pyrolifolia* und *G. mucronata*, alle Banden in der Wiederholung reproduziert werden (s. Kapitel 4.1.1). Mit der Auswertung der Ergebnisse, dargestellt in einem Dendrogramm (Abb. 8), ließen sich nur Arten der Sektion *Chinogenopsis* in einer eigenen Gruppe wiederfinden. Die hier enthaltenen Arten *G. trichophylla* und *G. thymifolia* sind auch bei Lu et al. (2010), mit hohen Bootstrapwerten unterstützt, zusammengefasst. Weitere Gruppierungen ließen sich hinsichtlich der Sektionen nicht vornehmen. Diese Ergebnisse spiegeln sich in den Arbeiten von Powell und Kron (2001), Bush et al. (2009b) und Lu et al. (2010) wider. Eine Gruppierung auf Sektionsebene war hier ebenfalls nicht möglich.

In der Betrachtung einzelner Arten innerhalb des Dendrogramms besteht eine enge Verwandtschaft zwischen den Arten *G. hookeri* und *G. nummularioides*. Diese Aussagen werden von Powell und Kron (2001) und Bush et al. (2009a) anhand von ITS- und *matK*- bzw. *ndhF*- Studien bestätigt. Ebenso, dass *G. parvula* und *G. macrostigma* eine gemeinsame Gruppe bilden, was bei Bush et al. (2009b) mit hoher Bootstrapunterstützung von 98 % bestätigt wurde. Nicht bestätigt werden kann in der vorliegenden Arbeit, dass *G. procumbens* und *G. pumila* eine Geschwisterklade bilden und eben so wenig, dass *G. miqueliana* eine Gruppe mit *G. myrsinoides* und *G. shallon* bildet. Möglicherweise ist dies auf das verwendete RAPD-Markersystem zurückzuführen. Es differenziert die Arten in ausreichendem Maß, produzierte aber im Vergleich zur AFLP-Technik weitaus weniger Markeranzahlen. Vergleichende AFLP-Untersuchungen an *Helleborus* ergaben beispielsweise die um ein vielfaches erhöhte Anzahl detektierter Marker (Meiners et al. 2010) bei ähnlicher Primeranzahl. Vorteile beider Techniken sind der relativ geringe Arbeitsaufwand und die ausreichende Unterscheidung auf niedrigem taxonomischen (Art-) Niveau (Hodkinson et al. 2000, Huang et al. 2002, Lopandic et al. 2005). Im Gegensatz dazu geben Sequenzdaten, die beispielsweise aus der ITS-Region gewonnen werden, Aufschluss über evolutionäre Veränderungen und können auf höherer (Gattungs-) Ebene differenzieren (Knoop und Müller 2009). Nachteilig sind hier die Beschränkung auf ein oder zwei Loci und die Länge des zu sequenzierenden Abschnitts.

Deutlich wurde in den Untersuchungen mittels RAPD-Technik, dass sich die vormals eigenständigen Gattungen *Pernettya* und *Gaultheria* gruppieren und somit eine genetische Differenzierung ausgeschlossen werden kann.

In Hinblick auf die geographischen Herkünfte der Arten ließen sich keine Gruppierungen erkennen.

5.3 Pollenvitalitätstests und –Langzeitkonservierung anhand ausgewählter *Gaultheria*-Arten

5.3.1 Pollenvitalitätstests

Einer der größten Einflüsse auf eine erfolgreiche Befruchtung bzw. Samenbildung und damit einhergehend auf den Erfolg von Züchtungsprogrammen ist die Lebens- und Keimfähigkeit des Pollens. Um diese zu bewerten, gibt es zahlreiche Methoden (Shivanna 2003). Die Bestimmung der Vitalität von frisch entnommenen und langzeitgelagerten Pollen kann z. B. durch Vitalfarbstoffe für Enzymaktivitäten und dem Vorhandensein von zellulärem Zytoplasma oder auf Grundlage der Pollenschlauchkeimung *in vitro* getestet werden. Als Vitalfarbstoffe werden unter anderem Anilinblau (Hauser und Morrison 1964), X-Gal (5-bromo-4-chloro-3-indoyle- β -galactoside / β -galactosidase-Aktivität) (Trognitz 1991), MTT (2,5-diphenyl Tetrazolium bromid /Dehydrogenaseaktivität) (Norton 1966), TTC (2-3-5-triphenyl Tetrzolium chlorid /Dehydrogenase-Aktivität) (Shivanna und Johri 1985) und FDA (Fluoresceindiaceat /Esterase-Aktivität) (Heslop-Harrison und Heslop-Harrison 1970, Heslop-Harrison et al. 1984) verwendet. Zur Prüfung der Pollenvitalität an *Gaultheria* wurde die FDA-Methode verwendet. Der Vorteil der Methode ist die schnelle und einfache Anwendbarkeit sowie das breite Einsatzgebiet in der Pflanzenzüchtung (z. B. bei *Cyclamen* – Reinhardt 2006, *Lilium longiflorum*, *Narcissus pseudonarcissus*, *Helleborus niger*, *Primula vulgaris* - Heslop-Harrison et al. 1984). Die Nachteile ergeben sich aus der teilweise fehlenden Korrelation zwischen den Ergebnissen und der tatsächlichen Keimung der Pollen *in vitro*, *in vivo* sowie der Samenproduktion (Taylor und Hepler 1997, Slomka et al. 2010). Es besteht außerdem die Möglichkeit, dass auch tote Pollen angefärbt werden können (Dafni und Firmage 2000). Deswegen wurde parallel zur FDA-Methode die Keimfähigkeit des Pollens *in vitro*, auf einem Nährmedium nach Filiti und Montalti (1982), bestimmt. Die Ergebnisse dieser Methode sind mit dem Samen- und Fruchtsatz oft besser korrelierbar (Visser 1955 in Dafni und Firmage 2000), allerdings stark von Temperatur (Aloni et al. 2001, Erickson und Markhart 2002, Reddy und Kakani 2007), der Zusammensetzung des Mediums (Taylor und Hepler 1997) und dem pH-Wert des Mediums abhängig (Dafni und Firmage 2000, Zaman 2009).

In Versuchen zur generellen Bestimmung der Pollenvitalität an ausgewählten und im Untersuchungszeitraum blühenden *Gaultheria*-Arten wurde in dieser Arbeit auf die In-vitro-Keimung zurückgegriffen, da diese mit wenig Zeitaufwand durchzuführen war. Der Fokus dieser Untersuchungen lag hierbei auf frisch entnommenen Pollen, da mit diesem oft umgehend *G. procumbens* bestäubt werden konnte. Von den 13 untersuchten Arten wiesen nur vier hohe bis sehr hohe Pollenkeimraten von > 40 % bis 90 % auf. Sehr niedrige Pollenkeimraten von 1 % - 8 % konnten für sechs Arten ermittelt werden (Tabelle 25). Zudem gab es Unterschiede zwischen den Genotypen innerhalb der Art *G. procumbens* mit Keimraten zwischen 8 % und 52 %. Weil die gewonnenen Resultate aber auf eine einmalige Untersuchung mit ca. 100 Pollenkörnern zurückzuführen sind, können sie nur als Tendenz bewertet werden. Ob die Keimung vom Medium, der Art und dem Genotyp abhängig ist, wie zahlreiche Studien belegen (Snow und Spira 1991, Dane et al. 2004, Ateyyeh 2005, Hedhly et al. 2005, Reddy und Kakani 2007), muss in weiteren Versuchen absichernd geklärt werden. So zeigten Untersuchungen von Vasil (1960), Dane et al. (2004), Deng und Harbaugh (2004) und Song et al. (2002), dass der Zuckergehalt im Medium und die Temperatur eine entscheidende Rolle bei der Keimung des Pollens spielt.

5.3.2 Pollen–Langzeitkonservierung

Die Pollenlangzeitlagerung als Methode für den Erhalt wertvoller genetischer Ressourcen und die Überbrückung zeitlicher Barrieren in Züchtungsprogrammen ist gerade im Zierpflanzenbau ein wichtiges Instrument gezielter Hybridisierungsprozesse. Voraussetzung für den Erfolg einer Langzeitlagerung ist der Erhalt von Lebens- und Keimfähigkeit der Pollen. Um diese zu gewährleisten, sind die Lagerungstemperaturen und Dehydrierungsprozesse entscheidende Faktoren.

Die Bestimmung der Pollenkeimraten bzw. Pollenvitalität von *G. procumbens* und *G. shallon* von frisch entnommenen und verschieden gelagerten Pollen erfolgte mit der FDA-Methode bzw. wurde auf dem speziellen Nährmedium *in vitro* bestimmt (Kap. 3.1.5). Dabei zeigte sich, dass frisch entnommener *G. procumbens* Pollen mit 50 % (*in vitro*) weniger keimfähig war als Pollen von *G. shallon* mit ca. 40 % (*in vitro*) bis 80% (FDA). Wurde der Pollen für 7 Tage bei 4 °C dehydriert, sank die

Keimrate bzw. Pollenvitalität beider Arten um 50 % bis 80 %. Danach nahm sie kontinuierlich zu und erreichte ihre höchsten Raten von 35 % bis 80 % nach 3 Monaten Lagerung bei -20 °C und vorheriger siebentägiger Exsikkatorlagerung bei 4 °C. Bei beiden Arten stimmten die Ergebnisse der In-vitro-Keimmethode und der FDA-Methode weitgehend überein. Der oft in der Literatur beschriebene nachteilige Aspekt der FDA-Methode hinsichtlich der Anfärbung toter Pollen konnte in dieser Arbeit nicht beobachtet werden. Vergleichbare Ergebnisse wurden in Untersuchungen von Vizintin und Bohanec (2004) an Gurkenpollen und Singh et al. (2013) an Sandmalvenpollen erreicht. In ihren Arbeiten bewirkten nur vitale Pollen Signale, während tote und /oder zerstörte Pollen nicht fluoreszierten. Offen bleibt aber, ob die In-vitro-Keimung mit der Situation auf der Narbe *in vivo* korreliert bzw. letztendlich mit der Befruchtung und Ausbildung von Samen zusammenhängt. Das konnte in dieser Arbeit nicht bestimmt werden.

Die Temperatur hatte im Verlauf der Untersuchungen auf die Lebensfähigkeit des Pollens in beiden Arten nur einen geringen Effekt. Sowohl bei frisch entnommenen Pollen als auch bei einer dreimonatigen Lagerung bei -20 °C waren die Ergebnisse ähnlich. Die Abnahme der Keimrate nach siebentägiger Trocknungslagerung im Exsikkator könnte auf die Verringerung der notwendigen Feuchtigkeit zurückzuführen sein. Pollen besitzen in ihrer Membran Phospholipide, die während der Dehydrierung von einer flüssig kristallinen Phase in eine Gelphase übergehen. Erfolgt nun eine unkontrollierte Hydrierung bleibt die Gelphase aufgrund unzureichender Wassersättigung erhalten und die Keimung wird verhindert bzw. ist stark reduziert (Shivanna 2003). Der Anstieg der Keimrate nach einmonatiger Lagerung bei -20 °C auf bis zu 65 % (*G. procumbens*) bzw. 85 % (*G. shallon*) ist möglicherweise der Tatsache geschuldet, dass die Membran des Pollens graduell in die flüssig kristalline Phase übergeht.

Generell ist eine Dehydrierung des Pollens vor einer Langzeitlagerung bei Temperaturen unter 0 °C vorteilhaft (Hanna und Towill 1995). Bei Hirse ermöglichte ein geringer Feuchtegehalt in tiefkühlgelagerten Pollen bei -20 °C die Aufrechterhaltung der Langzeit-Lebensfähigkeit von annähernd einem Jahr (Hanna 1990). Auch alle untersuchten *Gaultheria*-Arten wurden vor der Einlagerung bei -20 °C im Exsikkator dehydriert, dennoch blieben sie im Vergleich zu Pollen anderer Pflanzenarten nicht lange

keimfähig. Pollen von *Prunus laurocerasus* L. und *Prunus avium* L. waren noch nach zwei Jahren (-25 °C) (Sulusoglu 2014), von *Rhododendron* sp. nach 662 Tagen (-20 °C), von *Fragaria* sp. nach drei Jahren (bei -4 °C) und *Prunus* spp. nach 2,5 Jahren (-20 °C) (Shivanna 2003) vital. Ein letzter Beweis für die Nutzung derartiger Konservierungsmöglichkeiten ist aber der erfolgreiche Einsatz langzeitgelagerter Pollen in Kreuzungsprogrammen.

5.4 Interspezifische Kreuzungen in der Gattung *Gaultheria* und molekulare Hybrididentifikation interspezifischer Kreuzungsprodukte

Der Erfolg einer interspezifischen Kreuzung ist unter anderem von der Keimung und vom Wachstum des Pollenschlauches geprägt. Die Interaktion zwischen Pollen und Narbe ist hierbei in mehrere, aufeinander abgestimmte Schritte unterteilt. Initiiert wird sie dadurch, dass der Pollen auf die Narbe trifft, wobei dieser entweder durch ausreichend Narbensekret (feuchte Narben) oder durch das Vorhandensein optimal abgestimmter Kohlenhydratadhäsive (trockene Narben) gehalten und zum Keimen gebracht wird (Wheeler et al. 2001) (Narben von *Gaultheria* sind mit Narbensekret behaftet (Radcliffe et al. 2010)). Die Keimung des Pollens sowie das Pollenschlauchwachstums innerhalb des Griffels ist wiederum von anorganischen Komponenten, Enzymen, Sekundärmetaboliten und langkettigen Lipiden abhängig. Bei ihrer optimalen Zusammensetzung dringt der Pollenschlauch durch die Narbenpapille in den Stylus ein, wo er im Leit- und Transmissionsgewebe durch die Mikropyle in die Samenanlage wächst. Hier öffnet sich die Spitze des Pollenschlauches und entlässt die Gametenzellen und den vegetativen Kern in eine der Synergiden, die sich in unmittelbarer Nachbarschaft der Eizelle befinden. Einer der Kerne verschmilzt dabei mit dem Einucleus und bildet den Embryo, der zweite Kern verschmilzt mit den Polkernen, bildet den Endospermnucleus, in deren Folge das Endosperm entsteht. Der vegetative Kern und die Synergiden sterben dabei ab. Das für Angiospermien charakteristische doppelte Befruchtungssystem (Raven et al. 2006) ist stark abhängig von den „Lockstoffen“ der Synergiden. Die hier erzeugten Steuerungssignale navigieren den Pollenschlauch zu den Ovarien und scheinen artabhängig zu sein (Higashiyama et al. 2006).

Weiterhin hängt der Erfolg interspezifischer Kreuzungen vom Auftreten oder Fehlen prä- und postzygotischer Barrieren ab. Präzygotische Barrieren sind z. B. mangelnde Pollenfertilität oder asynchrone Blühzeiten, gehemmtes Pollenschlauchwachstum auf der Narbe aber auch ein gestörtes Wachstum bis zur Samenanlage durch z.B. fehlende „Lockstoffe“ der Synergiden. Postzygotische Barrieren können beispielsweise Nicht-Lebensfähigkeit von Hybrid-Embryonen, fehlende Blütenentwicklung der Hybriden, Hybridsterilität, der Mangel an Rekombination oder auch ein Zusammenbrechen der Hybride in späteren Generationen sein (Shivanna 2003). Die Embryo-Rescue-Methode bietet die Möglichkeit, einen Teil der postzygotischen Barrieren zu überwinden. Dabei werden noch nicht vollständig entwickelte Embryonen aus den Samen präpariert und der Embryo anschließend *in vitro* auf einem geeigneten Nährmedium kultiviert, um so ein vorzeitiges Absterben aufgrund fehlerhafter Endospermentwicklung zu verhindern (Mibus et al. 2011). Wichtige Faktoren hierbei sind der richtige Entnahmezeitpunkt der Samenanlage oder Embryonen aber auch die Wahl der Kreuzungspartner auf Art- und Akzessionsebene (Winkelmann et al. 2010, van Tuyl und De Jeu 1997). So kann es sein, dass bei Kreuzungspartnern mit ungleicher Griffellänge Pollenschläuche große Distanzen zu den Ovarien nicht überwinden können (Blakeslee 1945). Eine andere Möglichkeit, ein optimales Pollenschlauchwachstum und einhergehend eine Befruchtung zu gewährleisten, wäre die In-vitro-Bestäubung (Kanta et al. 1962).

Natürliche interspezifische Hybridisierungen innerhalb der früheren Gattungen *Gaultheria* und *Pernettya* wurden bereits 1864 in Neuseeland vermutet. Bis 1962 wurden 14 Hybriden beschrieben (Luteyn et al. 1995). Weitere Berichte aus Malvinas Island, Mexiko, Ecuador und Guatemala folgten. Die Annahme, dass es sich hierbei um potentielle Hybriden handelte, erfolgte anhand morphologischer Eigenschaften, wie Blatt-, Blüten- Pollen- und Fruchtmorphologie. Ob es sich dabei tatsächlich immer um bigenerische Kreuzungen handelte, muss angezweifelt werden. Nur darauf basierend, dass die potentiellen Eltern in unmittelbarer geographischer Nähe existieren bzw. sich die Verbreitungsgebiete überlappen und sie Veränderungen im Habitus aufweisen, ist noch kein Indiz für eine Hybridisierung. So gibt es Arten, wie beispielsweise *G. erecta*, die morphologisch sehr variabel sein können (Luteyn et al. 1995). Mit dem von Middleton (1991a) entwickelten infragenerischen Klassifikations-

modell, indem ein Hybrid-Index anhand verschiedener morphologischer Eigenschaften erstellt wird, konnten 18 natürliche Hybriden identifiziert werden. 17 weitere mögliche Hybriden, vorwiegend mit *G. erecta* als Elter, sind von Luteyn et al. (1995) beschrieben worden. Unter Anwendung des Klassifizierungsmodells von Middleton (1991a) wären die von Luteyn et al. (1995) beschriebenen Hybriden bestätigt.

Da in der Gattung *Gaultheria* hinsichtlich gezielter interspezifischer Hybridisierungen keine Arbeiten zu *G. procumbens* vorlagen, wurden vorwiegend Kreuzungskombinationen mit *G. procumbens* als mütterlichem (702 entspricht 40 % aller Kreuzungen) und väterlichem Elter (776, entspricht 45 % aller Kreuzungen) durchgeführt (s. Kapitel 4.1.5). Erfolgreiche Kreuzungen mit keimfähigen Samen konnten in Kombinationen mit *G. procumbens* als mütterlichem Elter und Vätern aus der Sektion *Brosseae* in zwei Kreuzungskombinationen, nämlich *G. procumbens* x *G. miqueliana* (120 Sämlinge und 54 Pflänzchen) und *G. procumbens* x *G. shallon* (45 Sämlinge und 2 Pflänzchen) generiert werden. Aus der Kombination von *G. trichophylla* aus der Sektion *Chiogenopsis* und *G. procumbens* wurden acht Sämlinge und fünf Pflänzchen generiert. Kreuzungen innerhalb der Sektion *Ambylyandra* mit *G. procumbens* x *G. adenostrix* ergaben drei Sämlinge jedoch keine Pflanzen und die Kreuzung *G. procumbens* x *G. xwisleyensis* fünf Sämlinge und fünf Pflänzchen. Bei Kreuzungen in der Sektion *Pernettya* mit *G. procumbens* als väterlicher Elter war die Kombination *G. myrsinoides* x *G. procumbens* mit elf Sämlingen und drei Pflänzchen erfolgreich. Vorteilhaft in dieser Kombination war die männliche Sterilität der Mutterpflanze. Der Grund für die fehlende Weiterentwicklung zu Pflanzen lag in der Schwachwüchsigkeit der Sämlinge. Aus den insgesamt 81 Sämlingen und 72 Pflänzchen wurden drei Hybriden aus der Kreuzungskombination *G. myrsinoides* x *G. procumbens* via RAPD-Analyse verifiziert. Auch Middleton (1991b) identifizierte anhand seines entwickelten Klassifizierungsmodells eine Hybride von *G. reticulata* (Sektion *Brosseae*) x *G. myrsinoides* (Sektion *Pernettya*), wenngleich es eine geringfügig größere morphologische Übereinstimmung mit der Mutter *G. myrsinoides* gab. Diese Beobachtungen erfolgten auch in dieser Arbeit. Bezüglich der Blatt- und Blütenmorphologie scheinen alle drei Hybriden dem mütterlichen Elter ähnlich zu sein, was ein Beleg dafür ist, dass die morphologischen Merkmale bei Hybridisierungen nicht immer intermediär vererbt werden.

Die oben beschriebenen Kreuzungskombinationen waren reziprok nicht erfolgreich, was auch schon bei *Hibiscus* (van Laere et al. 2007) beobachtet wurde.

Die geringen Kreuzungserfolge mit *G. procumbens* als Mutter sind damit zu erklären, dass prinzipiell Schwierigkeiten im Samen- und Fruchtausatz bei kastrierten und isolierten Blüten bestanden. Zwar ist *G. procumbens* zu einem gewissen Grad selbstkompatibel, produziert aber dennoch bei erzwungener Selbstbestäubung wenige bis gar keine Früchte bzw. Samen (Reader 1977, Mirick und Quinn 1981).

Ein weiteres Kriterium für die geringen Kreuzungserfolge könnten die unterschiedlichen Größen der Blüten sein. Möglich wäre, dass Pollenschläuche von Arten mit kleineren Blüten aufgrund der größeren Distanz innerhalb der Narbe die Ovarien nicht erreichen können. So besitzen beispielsweise *G. adenostrix*, *G. mucronata*, *G. trichophylla*, *G. macrostigma*, *G. pumila*, *G. parvula*, *G. depressa* und *G. empetrifolia* sehr kleine Blüten. Das Überwinden solcher präzygotischen Kreuzungsbarriere wäre durch das Entfernen der Narbe bzw. Teilen des Griffels (van Tuyl und De Jeu 1997) möglich. Erfolgreich wurde diese Methode an *Solanum* (Swaminathan 1955), *Nicotiana* (Swaminathan und Murty 1957), *Lilium* (van Tuyl et al. 1991), *Fritillaria* (Wietsma et al. 1994) und *Brassica rapa* (Bhat und Sarla 2004) angewendet.

Kreuzungsinkompatibilitäten können demnach von einer Vielzahl von Faktoren abhängen und müssen in der Gattung *Gaultheria* noch hinreichend untersucht werden. Dabei sollten umweltrelevante Parameter, wie Temperatur und relative Luftfeuchte, mit in die Untersuchungen einbezogen werden (Peet et al. 2002, Kakani et al. 2005, Acara und Kakani 2010, Nepi et al. 2010, Huang et al. 2011, Snider et al. 2011, Gao et al. 2014). Diese haben besonders Auswirkung auf die Vitalität der Pollen und dessen Keimfähigkeit. Tomaten erzeugten bei hoher Luftfeuchtigkeit (85 - 90 %) und hohen Temperaturen (32 - 35 °C) mehr Pollen mit erhöhter Vitalität, besseres Pollenschlauchwachstum und einen höheren Fruchtausatz (Huang et al. 2011). Umgekehrt reduzierte sich die Pollenvitalität bei *Cistus incanus* und *Myrtus communis* bei einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit (100 %) und gleichzeitig hohen Temperaturen (30 - 40 °C) (Aronne 1999). Auch der Wassergehalt im Pollen spielt eine entscheidende Rolle. Je niedriger, desto geringer ist die Lebensfähigkeit (Nepi et al. 2010). Nepi et al. (2010) unterscheiden zwei Typen der Hydratation. Als Beispiel dafür nennen sie *Cucurbita pepo* und *Petunia hybrida*, die sich neben dem Wassergehalt des Pollens

und der Morphologie auch noch im Stärke- und Saccharose-Gehalt unterscheiden. *C. pepo*-Pollen sind dabei stärkehaltig und saccharosearm und reduzieren ihren Wassergehalt mit verminderter relativer Luftfeuchtigkeit. Pollen von *P. hybrida* dagegen sind saccharosereich und beinhalten keine Stärke. Sowohl bei niedrigem, relativem Luftfeuchtigkeitsgehalt (30 %) als auch bei hoher relativer Luftfeuchte (75 %) konnte keine Veränderung in der Pollenkeimfähigkeit beobachtet werden. Alle Kreuzungsarbeiten an *Gaultherien* wurden im Gewächshaus bei Temperaturen von $22\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40 % durchgeführt. Veränderungen in diesen Parametern bzw. Untersuchungen zum Kohlenhydratgehalt sollten in zukünftigen Kreuzungsprogrammen mit *Gaultheria* berücksichtigt werden.

Der im oberen Abschnitt erwähnte molekulare Hybridnachweis mit RAPD-Markern (s. Kapitel 4.1.6) differenzierte die F1-Nachkommen anhand von drei Polymorphismen sehr gut. Angesichts geringer genetischer Distanzwerte konnten in der Kreuzungskombination *G. myrsinoides* x *G. procumbens* drei Hybriden verifiziert werden. Die durchgeführte Testung der F1-Pollen der Hybriden auf Keimung zeigte keine Vitalität. Es besteht hierbei die Möglichkeit, dass F1-Sterilität infolge fehlerhafter Homologie in der Chromosomenverteilung während der Meiose vorliegt (van Tuyl und Ki-Byung 2004). Alle übrigen Hybriden konnten anhand des RAPD-Banden-Musters der Mutterpflanze zugeordnet werden, was gegebenenfalls auf Selbstungen oder Apomixis zurückzuführen ist.

Die Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten interspezifischen Kreuzungsarbeiten lassen erkennen, dass gerade in Hinblick auf die Kastration aber auch in Hinblick auf präzygotische Kreuzungsbarrieren noch viel Forschungsbedarf besteht. Alle Kreuzungsnachkommen, mit Ausnahme *G. myrsinoides* (männlich steril) x *G. procumbens*, waren genetisch muttergleich. Um zukünftig Selbstbefruchtung zu vermeiden, ist es zu empfehlen, nach der Kastration der noch ungeöffneten Blüte diese zu isolieren (Eintüten). Auch können umfangreiche Untersuchungen zur Pollenvitalität gerade auf Genotyp-Ebene interessant sein, da das Pollenschlauchwachstum zwischen Genotypen von *G. procumbens* in hohem Maß differierte. Kombiniert werden sollten diese Fertilitätsuntersuchungen mit unterschiedlichen Zuckergehalten im Nährmedium, da möglicherweise ein Zusammenhang zwischen der niedrigen Pollenkeimrate von *Gaultheria* und dem Zuckergehalt des genutzten Nährmediums besteht.

Ein nächster Schritt wären Analysen zur Visualisierung des Pollenschlauchwachstums durch die Narbenpapille in den Stylus zur Samenanlage *in situ* mit Anilinblau (Kho und Baer 1968), um Inkompatibilitäten schon im Stadium der Pollenadhäsion zu prüfen. Auch die gezielten Hybridisierungen anhand genetischer Distanzen sowie Chromosomengrundzahlen und Ploidiestufen können derartige Barrieren überwinden. Dazu wäre die Testung weiterer RAPD-Primer hilfreich, um die gewonnenen Ergebnisse zur Verwandtschaftsanalyse zu stützen.

Postzygotische Barrieren können mit dem Embryo Rescue-Verfahren überwunden werden. Dabei muss die Medienzusammensetzung sowohl für die embryonale Entwicklung als auch für die daraus regenerierten Pflänzchen optimiert werden, ebenso die Parameter für die Überführung des Pflanzenmaterials aus der In-vitro-Kulturführung ins Gewächshaus.

5.5 Morphologische und genetische Charakterisierung von *Colletotrichum*-Isolaten

5.5.1 Morphologie der Isolate

Seit Jahrzehnten werden morphologische Beschreibungen zur Beurteilung von pilzlichen Isolaten herangezogen. Auf der Basis von Wachstum unter verschiedenen Temperaturbedingungen, Konidienlänge, -breite und -form, Koloniefarbe, Myzelstruktur sowie Appressoria- und Setaenbildung wurden Isolate beurteilt und gegebenenfalls gruppiert (Kuramae-Izioka et al. 1996, Carrington et al. 2001, Abang et al. 2002, Nirenberg et al. 2002, Afanador-Kafuri et al. 2003, Photita et al. 2005, Damm et al. 2012). Erstmals wurden hier aus *Gaultheria Colletotrichum*-Isolate unterschiedlicher Herkunft isoliert, umfangreich charakterisiert und anhand der Myzelfarbe bzw. der Farbe der Konidienmasse in neun Gruppen unterteilt (s. Kapitel 4.2.1, Tab. 31). Dabei gab es zwei Gruppen, die durch die Farbe der Konidienmasse (orange und pink-orange) bestimmt wurden und sieben Gruppen, die durch die Myzelfarbe charakterisiert (hell-, dunkel-, blau- und schwarz-grau bzw. beige, weiß-cremefarben und weiß-dunkelbraun) wurden. Beim Vergleich von Konidienlänge und -breite ließen sich gesicherte Differenzen im Verhältnis Länge/Breite zwischen 2,4 (6,4 µm x 2,9 µm) und 4,0 (20,0 µm x 5,1 µm) ermitteln. Mit Ausnahme des Isolats

P-26, *C. acutatum*, (6,4 µm x 2,9 µm) lagen alle übrigen Isolate in einem Bereich zwischen 15,2-20,0 µm x 4,0-5,7 µm. Werden diese Werte mit denen für *Colletotrichum*-Arten in der Literatur verglichen, unterschieden sie sich kaum. So lagen die Werte z. B. bei Mango-Isolaten zwischen 10,7-24,1 µm x 4,0-6,7 µm (Kuo 1999), bei Kroton-Isolaten (*Codiaeum variegatum*) zwischen 10-25 µm x 2,5-3,7 µm (Barguil et al. 2008) und bei Sojabohne zwischen 8,0-14,9 µm x 2-6 µm (Chen et al. 2006). Im Rahmen einer Diplomarbeit zu vergleichenden Untersuchungen verschiedener *C. gloeosporioides*-Isolate an *G. procumbens* an der FH Osnabrück wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt. Die Größe der Konidien lag im Durchschnitt bei 14,8–19,7 x 3,6-5,1 µm (Witt 2005).

Ein weiteres Kriterium war die Form der Konidienenden. Anhand derer konnten drei Gruppen beschrieben werden: abgerundet und spitz zulaufend, beide Enden abgerundet oder beide Enden spitz zulaufend. Diese Eigenschaften sind ebenfalls mit denen in der Literatur vergleichbar, wobei für Isolate aus *G. procumbens* nur Konidien beschrieben wurden, deren Enden abgerundet und spitz bzw. beide Enden abgerundet waren (Witt 2005).

Ein weiterer wichtiger Parameter zur Isolatdifferenzierung ist die Wachstumsrate. Das in dieser Arbeit dargestellte Wachstum in mm/d bezog sich auf die radiale Ausbreitung. Die meisten der Isolate wuchsen am schnellsten auf Hafermehlagar bei Temperaturen von 23 °C (5,3 – 2,9 mm/d) und 28 °C (5,6 – 1,5 mm/d) in Dunkelheit. Auffällig war, dass die zwei schwach virulenten Isolate (P-21 und P-26) mit 1,5 mm/d bzw. 2,4 mm/d am langsamsten wuchsen. Vergleichend mit der Literatur bewegen sich die Temperaturbereiche in einem ähnlichen Rahmen. *C. gloeosporioides*-Isolate von *Mangifera indica* und *Capsicum annuum*, auf Potato Dextrose Agar kultiviert, wuchsen bei 25 °C täglich 11 bis 11,2 mm (5,5 mm bis 5,6 mm/d radial) im Durchmesser (Than et al. 2008). Isolate aus *Musa acuminata*, *Alpinia malaccensis* und *Euphorium thymifolia* wuchsen mit ähnlicher Schnelligkeit auf PDA von 8,4 bis 11,2 mm/d im Durchmesser bei 25 °C bzw. 30 °C (8,2 bis 11,4 mm). Dabei war es unerheblich, ob die untersuchten Isolatkulturen von Richard's V8-Agar oder von Malzextrakt-Agar abgeimpft wurden (Photita et al. 2005). Laut Aussagen von Freemann et al. (2000) liegt der optimale Temperaturbereich für das Wachstum von *C. gloeosporioides* zwischen 25 °C und 28 °C. Das Temperaturopti-

zum für das Wachstum einzelner Isolate lag der in der vorliegenden Arbeit zwischen 16 °C und 30 °C und damit deutlich unter dem von Freemann et al. (2000) angegebenen Optima.

5.5.2 ITS-Sequenzanalysen der Isolate

Colletotrichum gloeosporioides ist als Art morphologisch sehr heterogen. Die Verwendung nur morphologischer Eigenschaften als Grundlage intraspezifischer Isolat-Differenzierung ist daher nicht ausreichend (Bailey und Jeger 1992, Afanador-Kafuri et al. 2003, Weir et al. 2012). Deshalb wurden zusätzlich molekulare Analysen durchgeführt (s. Kapitel 4.2.2). Die ermittelten Größen der ITS1 und ITS2 Regionen mit 171 bp bzw. 156 bp stimmen dabei mit denen in der Literatur überein. Die Ergebnisse von Mills et al. (1992) an *C. gloeosporioides*-Isolaten wiesen 170 bp für die ITS 1 Region auf. Bei zwölf verschiedenen *Colletotrichum*-Isolaten der drei Arten *C. frutigenum*, *C. gloeosporioides* und *C. musae* war die ITS1 Region 180-181 bp groß (Sreenivasaprasad et al. 1994). Die ITS2 Region hingegen variierte in weiteren Untersuchungen von Sreenivasaprasad et al. (1996) (zitiert in Martin und Garcia-Figueres 1999) bei *C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. fragariae*, *C. gloeosporioides* und *C. musae* zwischen 152 und 153 bp. Sherriff et al. (1994) detektierten für die ITS2 Region 159 bp bei 27 *Colletotrichum*-Isolaten.

Basierend auf der Sequenzierung der rDNA-ITS-Region der Isolate (Abb. 16), clusterten 20 Isolate mit Bootstrapwerten von 98 % verlässlich zusammen. Die Isolate P-11, P-25 und P-24 aus *G. pumila* (Südamerika), *G. hookeri* (SW-China) und *G. trichophylla* (Pakistan) bildeten mit Bootstrap-Werten von unter 50 %, eine Untergruppe, die weder durch die Herkunft der Wirtspflanzen noch durch morphologische Eigenschaften in Beziehung gebracht werden können. Eine weitere Gruppe bildeten die Isolate P-29 aus *G. xwisleyensis* und P-22 aus *G. mucronata* (Südamerika). Morphologisch betrachtet war für das Isolat P-29 eine grau-blaue Koloniefarbe charakteristisch, für das Isolat P-22 eine durch die Konidienmasse bedingte pink-orange Färbung. Das Isolat P-26, welches ebenfalls aus *G. mucronata* isoliert wurde, entwickelte auf dem Medium ein schwarz-graues Myzel und unterschied sich in der Konidiengröße sowie dem Längen-/Breitenverhältnis der Konidien signifikant von den übrigen Isolaten. Interessanterweise clusterte dieses Isolat mit einer 91 %igen

Bootstrap-Absicherung mit *C. acutatum* bzw. *C. lupini*. Der Abgleich der Sequenzen mittels BLAST-Algorithmus bestätigte die Zuordnung zu *C. acutatum*. Aus der Literatur ist weder eine Infektion von Gaultherien mit *C. acutatum* noch mit *C. lupini* bekannt. Deswegen wurden Infektionsversuche via Stängelgrundapplikation mit *C. acutatum*-Isolaten aus der DSMZ durchgeführt. Als Kontrollisolat diente das hoch virulente Isolat P-14. Obwohl es Beispiele in der Literatur gibt, dass *C. acutatum* pathogen an Zierpflanzen vorkommt (*Leucospermum* sp., *Lobelia* sp., *Lupinus* spp., *Nerium oleander*, *Phlox* sp., *Chrysanthemum coronarium*, *Statice* sp., *Bergenia*-Arten und Azaleen (Bertetti et al. 2007, Damm et al. 2012, Reed et al. 1996, Brielmaier-Liebetanz und Nirenberg 2001, Talhinhos et al. 2002), ging von keinem der beiden DSMZ-Isolate eine Infektion aus. Hingegen wiesen *G. procumbens*-Sämlinge, die parallel dazu mit dem hoch virulenten Isolat P-14 inokuliert wurden, charakteristische Symptome auf. In der Literatur sind zahlreiche Pathosysteme beschrieben worden, in denen *C. acutatum* und *C. gloeosporioides* an einem Wirt vorkommen können (s. a. Kapitel 2.2, Tab. 3), so z. B. an Erdbeere, Mandel und Zitrone (Freeman et al. 1998). Dabei ist das Potential einer Kreuzinfektion jedoch von der Inokulumdichte des Pathogens abhängig (Alahakoon et al. 1994, Afanador-Kafuri et al. 2003).

Generell repräsentiert die ITS-Region nur einen geringen Anteil des Genoms (Freeman et al. 1998, Liu et al. 2012) und ist evolutionär zu konservativ (Cannon et al. 2012). Ebenso ist die Unterscheidung einzelner Untergruppen bzw. Genotypen innerhalb der *C. gloeosporioides*-Spezies mit der ITS-basierten Identifikation nicht ausreichend effektiv (Cannon et al. 2012). Gerade weil die in dieser Arbeit untersuchten *C. gloeosporioides*-Isolate morphologisch sehr variabel waren, ist anzunehmen, dass die Art durch die sexuelle Reproduktion mehrerer Genotypen ein hohes genetisches Rekombinationsvermögen besitzt (Freemann und Shabi 1996, Abang et al. 2003). Daher ist es zweckmäßig, dass neben der sequenzbasierten Identifikation in Zukunft auch mehrere Loci in phylogenetische Studien einbezogen werden. Neben der hochkonservierten ITS Region sollten zusätzliche Sequenzen von beispielsweise β -tubulin 2-Genen (Talhinhos et al. 2005) und Glutamin-Synthetase-Genen (Guerber et al. 2003) in weitere Analysen einfließen.

5.6 Inokulationsmethoden und deren Anwendung in der Virulenzbeurteilung der Isolate

Im Jahr 2001 konnte erstmalig *C. gloeosporioides* als Anthraknose-Verursacher an Gaultherien nachgewiesen werden. Zum Nachweis wurden in einer 22 °C (90 % rel. Luftfeuchte) temperierten Klimakammer 21 Tage alte *G. procumbens* Sämlinge per Hand mit 1×10^8 Koloniebildende Einheit/ml Sporensuspension besprüht, mit einer schwarzen Plastikfolie für 24 Stunden abgedeckt und über Kopf bewässert. Nach zehn Tagen waren 65, das entsprach 1 % der Sämlinge, infiziert und nach weiteren vier Tagen 90,5 % (Elmhirst und Hudgins 2003). Alle Inokulationsmethoden in dieser Arbeit waren zu den jeweiligen Kontrollvarianten signifikant verschieden (s. Kapitel 4.2.3, Abb. 17). Innerhalb der Inokulationsmethoden war die Methode der Sprühinokulation signifikant weniger effektiv als die Pflanzen- und Wurzeltauchinokulation sowie die Inokulation des Pflanzenmaterials über den Stängelgrund. Mit dem verwendeten Boniturschema konnten die Symptomausprägungen gut abgegrenzt, bewertet und anschließend verrechnet werden.

Wegen der leichten Handhabbarkeit, der nicht-invasiven Inokulation über den Stängelgrund und der gleichzeitig höchsten AUDPC-Werte (s. Kapitel 3.2.5) war dies die Methode der Wahl. Sie war schnell und unkompliziert durchzuführen und erreichte nach 35 Tagen eine 90 %ige Infektion (72,5 % Mortalität) der 14 Wochen alten Sämlinge.

Im Vergleich der Methoden fiel auf, dass in Bezug auf die Inokulation über den Wurzelbereich ein höherer Befallsgrad ohne Verletzung der Wurzeln zu verzeichnen war als mit Verletzung (durch Kappung der Wurzeln). Ähnliche Ergebnisse erzielten Abang et al. (2001, in Abang et al. 2003) an Yam. Sie fanden heraus, dass Wunden die Symptomausprägungen, verursacht durch *C. gloeosporioides*, nicht unbedingt intensivierten. Dafür können Gründe, wie eine erhöhte Phytoalexinakkumulation im Wurzelbereich der Pflanze (Bailey 1974) oder das Phytohormon Salicylsäure, das als Protektionsmolekül in der systemisch erworbenen Resistenz fungiert, ursächlich sein. Salicylsäure beschleunigt den natürlichen Zelltod, was dem biotrophen/hemibiotrophen Pathogen (Mendgen und Hahn 2002) die Nahrungsgrundlage entzieht. Ebenso könnten Lignifizierungen und Suberinisierungen beteiligt

sein. Diese Substanzen unterstützen die Wundheilung bei Pflanzen und sind zugleich an der Verhinderung einer Pilzinfektion beteiligt (Elstner et al. 1996).

Bei der Betrachtung der Ergebnisse der Sprühinokulation wiesen hingegen nur etwas mehr als die Hälfte der Sämlinge Symptome auf. Denoyes-Rothan und Guérin (1996) beobachteten ähnliche Resultate bei verschiedenen Inokulationstechniken mit *Colletotrichum acutatum* an Erdbeerpflanzen. Wurden die Pflanzen besprüht, waren die Symptomausprägungen nach zwei Wochen unbeständig und daher für Resistenztestungen ungeeignet. Wurde das Pflanzenmaterial in einer Lösung mit 2×10^6 Konidien je ml getaucht und zusätzlich mit einer Nadel verletzt, traten die Symptome konzentriert auf.

Die anschließend durchgeführte Beurteilung der Virulenz erfolgte mit Hilfe der Stängelgrundapplikation. Dadurch konnte eine Unterscheidung des Virulenzspektrums in die drei Gruppen schwach, moderat und hoch virulent realisiert werden. Alle getesteten Isolate erzeugten an *G. procumbens* *C. gloeosporioides*-typische Symptome, die unter Anwendung der Koch'schen Postulate auf das Pathogen zurückzuführen waren. Wie mehrfach in der Literatur beschrieben, existieren bei *C. gloeosporioides* Pathotypen (Kelemu et al. 1996, Freeman et al. 1998, Abang et al. 2006, Aduramigba-Modupe et al. 2012). Von 217 Isolaten aus Wasser-Yam konnten 18 Pathotypen identifiziert werden (Abang et al. 2006). Bei 104 Isolaten aus *Stylosanthes guianensis* (*Fabaceae*) waren es 57 Pathotypen, die an einem Differentialsortiment vorkamen (Kelemu et al. 1999, Djami-Tchatchou et al. 2013).

Es ist anzunehmen, dass innerhalb der aus *Gaultheria* gewonnenen *C. gloeosporioides*-Isolate Pathotypen existieren, da *C. gloeosporioides*-Isolate mit unterschiedlicher Virulenz an *G. procumbens* als Wirtspflanze auftraten. Die Virulenz eines Pathogens ist dabei genetisch bestimmt (Poehling und Verreet 2013). Aussagen darüber lassen sich anhand der Sequenzierung der rDNA-ITS-Region nur eingeschränkt treffen. Für eine Differenzierung wären hier Fingerprint-Methoden vorteilhaft (AFLP, SSR).

5.7 Ausbreitung von *C. gloeosporioides* in *G. procumbens* und die Möglichkeit der Infektion über das Substrat

Nach bisherigem Kenntnisstand findet eine Neuinfektion von Gaultherien durch *C. gloeosporioides* vor allem durch Saatgut, Spritzwasser oder abgestorbenes, befallenes Pflanzenmaterial am Stängelgrund statt (Schrage 2004, Wilke 2005). Eine

Übertragung in diesem Pathosystem über das Substrat wurde bis dato noch nicht geprüft. Untersuchungen in dieser Arbeit haben gezeigt, dass sich der Erreger besonders in den Wurzeln infizierter Pflanzen konzentriert (s. Kapitel 4.2.6, Abb. 22). Bei mehr als 70 % des untersuchten Pflanzenmaterials konnte das Pathogen aus diesem Bereich reisoliert werden. Die anschließenden Untersuchungen zur möglichen Infektion über das Substrat machten deutlich, dass Gaultherien auch über kontaminierten Boden mit dem Erreger befallen werden können (s. Kapitel 4.2.7). Mit diesen bestätigten Erkenntnissen sind beim Anbau von Gaultherien nicht nur Samen, sondern auch Stellflächen bzw. Substrat bei den Hygienemaßnahmen zu berücksichtigen.

Dass *Colletotrichum*-Arten Pflanzen über das Substrat infizieren, ist in der Literatur hinreichend beschrieben worden. So treten an Erdbeeren typische Anthraknose-Symptome auf, wenn sie in mit *C. acutatum* kontaminierter Erde kultiviert wurden (Denoyes-Rothan und Guérin 1996). Es zeigte sich, dass der Erreger an befallenen und vergrabenen Erdbeer-Früchten in Kalifornien bis zu neun Monaten im Boden pathogen bleiben kann (Eastburn und Gubler 1990). Auch *C. coccodes* (Wallr.) Hughes ist ein bodenbürtiger Pilz, der Kartoffeln und Tomaten befallen kann (Hornby 1968, Manning 1980, Flad und Bedlan 2004). Um den Erregerdruck von *Colletotrichum* an Kartoffeln zu minimieren, kann zusätzlich zur Knollenbeizung auch eine Furchenbehandlung mit dem Pflanzenschutzmittel ORTIVA® (Syngenta) durchgeführt werden (Struck et al. 2010). Im Zierpflanzenbau ist ORTIVA® mit dem Wirkstoff Azoxystrobin (0,1 %) als teilsystemisches Fungizid zugelassen. Es wäre zu überlegen, inwiefern eine Behandlung des Substrates ebenso sinnvoll wäre wie die Pflanzenapplikation. Darüber hinaus bergen möglicherweise Stellflächen ein Übertragungsrisiko. Bleiben Wurzelreste auf der Fläche, z. B. beim Herausnehmen einer befallenen Pflanze, zurück, können diese über Gießwasser nebenstehende Pflanzen kontaminieren.

5.8 PCR-basierter Nachweis von *C. gloeosporioides* in Gaultherien

Durch die Latenzphase des Erregers *C. gloeosporioides* in *Gaultheria* ist es für den Pflanzenproduzenten sehr schwer, befallenes Material frühzeitig zu erkennen und aus dem Bestand zu entfernen. Selbst einige in dieser Arbeit durchgeführte Versuche konnten nicht zur Auswertung gebracht werden, da es in den Kontrollvarianten im-

mer wieder zu einem Befall kam. Ein PCR-basierter Nachweis bietet die Möglichkeit, den Erreger schnell und sicher zu identifizieren ohne diesen vorher aufwendig *in vitro* kultivieren zu müssen.

Die in dieser Arbeit durchgeführten verschiedenen Techniken zum unmittelbaren Nachweis von *C. gloeosporioides* in befallenem Pflanzenmaterial brachten keine eindeutigen Ergebnisse (s. Kapitel 4.2.8). Mit dem verwendeten rDNA Primerpaar, basierend auf der ITS-Region, ließen sich mit reiner pilzlicher DNA Amplifikate ermitteln. Somit war die Primerspezifität gegeben. Der Nachweis in befallenem Pflanzenmaterial war nicht erfolgreich. Daraufhin wurde pilzliche DNA mit pflanzlicher DNA aus In-vitro-Material in einem Verhältnis von 1:1 vermengt, wobei Amplifikate entstanden. Bei einem Mischungsverhältnis von 1:10 bis 1:1.000.000 blieben Amplifikationen aus (Abb. 26). Die eingesetzte Touchdown-PCR zur Erhöhung der Primersensitivität und -Spezifität (Koribe und Mattick 2008) sowie der Zusatz von Additiven zum Abfangen von PCR-Inhibitoren brachten keine Erfolge. Bei Mills et al. (1992) war die Amplifikation eines 450 bp großen Fragmentes mit den Primer CgInt (GGC CTC CCG CCT CCG GGC GG) und ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) von *C. gloeosporioides* aus Tomatengewebe erfolgreich.

Eine weitere Möglichkeit den Erreger in der Pflanze auf Gattungsebene nachzuweisen bietet das ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)-Verfahren. Dieser Nachweis basiert auf einem Antigen-Antikörper-Prinzip. Antikörper, die in dieser Arbeit generiert wurden, reagierten kreuzreaktiv mit den ubiquitär auftretenden Erregern *Botrytis cinerea* Pers. und *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary und waren deshalb für den Nachweis von *C. gloeosporioides* in der Pflanze ungeeignet.

5.9 Resistenztestungen

Colletotrichum-Arten gehören weltweit zu den bedeutendsten pilzlichen Pathogenen. Der wirtschaftliche Schaden im Gaultherienanbau ist beträchtlich und besonders durch die Latenzphase des Erregers begünstigt. Mit dem Einsatz von Fungiziden können bislang noch gute Bekämpfungserfolge erzielt werden, langfristig ist die chemische Bekämpfungsmöglichkeit keine Option, da sowohl durch die latente Phase, die die Pflanzen als gesund erscheinen lässt, die hohe Variabilität des Erregers als auch durch den kontinuierlichen Gebrauch einiger wenig spezifisch wirkender Mittel lang-

fristig Fungizidresistenzen anzunehmen sind. So treten beispielsweise vermehrt Resistenzen von *C. gloeosporioides* gegenüber Benomyl auf. Benomyl ist ein organisches und systemisch wirkendes Fungizid, welches im Kaffee-, Mango- und Strandfliederanbau eingesetzt wird (Masaba und Waller 1992, Prior et al. 1992, Maymon et al. 2006). Die hier auftretenden Benomylresistenzen sind vor allem der Tatsache geschuldet, dass das Mittel sowohl als Vorernte- als auch als Nacherntefungizid eingesetzt wird.

Versuche an befallenen *G. procumbens* Pflanzen zeigten, dass sich der Ausfall durch den regelmäßigen Einsatz von Pflanzenschutzmitteln nicht verringern ließ (Gallik und Wilke 2006). Wie schon beschrieben können Fungizide nur im Jungpflanzenstadium erfolgreich eingesetzt werden, denn mit zunehmender Verdichtung des Bestandes ist die Applikation im unteren Stängelbereich unzureichend. Der Resistenzzüchtung könnte deshalb ein hoher Stellenwert zukommen.

Das Resistenzscreening in dieser Arbeit wurde an fünf Arten via Stängelgrundapplikation (s. Kapitel 3.2.10) mit zwei Isolaten (hoch virulent und schwach virulent) durchgeführt. Die fünf Arten reagierten auf das hoch virulente Isolat mit sehr schwachen (Stängelgrundverbräunungen) bis sehr starken (Absterben der Pflanze) Symptomausprägungen. Besonders anfällig zeigten sich die Arten *G. procumbens*, *G. pumila*, *G. hispida*, *G. phillyreifolia*. Als gering anfällig konnte *G. shallon* eingestuft werden. Der Befall zeigte sich hier in leichter Verbräunung an der Stängelbasis. Die Pflanzen starben im Gegensatz zu den übrigen Arten aber nicht ab. Auf das schwach virulent wirkende Pathogen reagierten *G. procumbens*, *G. phillyreifolia* und *G. pumila* moderat. In Hinblick auf *G. shallon* besteht die Vermutung, dass eine hohe Pathogentoleranz vorliegt, da diese während des gesamten Untersuchungszeitraumes von drei Jahren, im Gegensatz zu den übrigen Arten, im Gewächshaus nicht durch *C. gloeosporioides* abstarb.

Für die Beurteilung zur Resistenzreaktion ist dieser einfache und praktikable Test für weitere Resistenzevaluierungen bei *Gaultheria* geeignet, immer vorausgesetzt, dass pathogenfreies Pflanzenmaterial z. B. keimfähiges Saatgut existiert. Darüber hinaus wurden alle Resultate in Klimakammerversuchen erzielt. Inwiefern sich diese Ergebnisse auch auf das Gewächshaus oder Freiland übertragen lassen, ist zu überprüfen. Interessant wäre ebenso die Etablierung eines zeitsparenden In-vitro-Tests.

Fokunang et al. (2002a) untersuchten das Resistenzverhalten von zehn Cassava-Sorten gegenüber vier *C. gloeosporioides* f. sp. *manihotis* Isolaten *in vitro*. Sie führten parallel dazu selbige Tests im Gewächshaus und im Freiland durch. Sowohl im Gewächshaus als auch im Freiland spiegelten sich die Ergebnisse des In-vitro-Versuches hier wider.

Die Ergebnisse aus dem Resistenzscreening beschreiben eine Tendenz im Resistenzverhalten gegenüber *C. gloeosporioides*, allerdings müssen mehrere Isolate, aber vor allem auch weitere *Gaultheria*-Arten und *Gaultheria*-Genotypen in das Screening-Programm einbezogen werden. Denn in allen Versuchen war eine hohe Variabilität in der Anfälligkeit der Arten zu beobachten, was durch genetisch inhomogenes pflanzliches Ausgangsmaterial bedingt sein könnte.

Auf welchen Mechanismen diese Resistenzen bzw. Toleranzen gegenüber *C. gloeosporioides* beruhen, ist noch unklar. Ebenso, ob es sich dabei um eine vertikale oder horizontale Resistenz handeln könnte. An Avocado-Sorten konnten Djami-Tchatchou et al. (2013) anhand von 454 Sequenzdaten und quantitativer Real time-PCR nachweisen, dass in Pflanzen mit unterschiedlichem Befallsgrad Resistenz- und Abwehr-induzierte Gene involviert sind. Versuche an *Arabidopsis* mit *C. higginsianum* ergaben, dass auftretende Resistenzen bei intakten Pflanzen vor allem mit dem Salicylsäure- bzw. Ethylensyntheseweg assoziiert sind (Liu et al. 2007). Annehmbar wären aber auch Toxinresistenzen, Gewebelignifizierungen, Veränderungen im phenolischen Metabolismus oder in der Peroxidasaktivität sowie pflanzliche Toxine und pilzschädigende Substanzen (Friend 1981 zitiert in Fokunang et al. 2002b, Prusky et al. 2000).

Wichtig für eine Resistenzdefinition ist ebenso die Identifizierung von Pathotypen innerhalb von *C. gloeosporioides*, da die Dauer einer Resistenz vom Genotyp des Pathogens abhängig sein kann (Hallmann et al. 2007). Bei den untersuchten *Gaultheria*-Arten zeigte nur *G. pumila* eine ausgeprägte Anfälligkeit sowohl gegen das schwach (P-21) als auch das hoch virulente Isolat (P-14).

Weiterhin wäre zu prüfen, welchen Einfluss die Wachstumsgeschwindigkeit der einzelnen Isolate auf die Virulenz hat, da das schwach virulente Isolat P-21 mit 1,5 mm/d im Vergleich zu den übrigen Isolaten am langsamsten wuchs. Das hoch

virulente Isolat P-14 lag mit einer Wachstumsrate von 4,0 mm/d im oberen Mittelfeld, während P-01 (hoch virulent) mit 5,6 mm am schnellsten Myzel bildete.

Ausblick

Gaultheria procumbens wird massiv durch den pilzlichen Erreger *Colletotrichum gloeosporioides* befallen. Nach derzeitigem Kenntnisstand ist eine effiziente Bekämpfung des Pathogens mit den zur Verfügung stehenden Pflanzenschutzmitteln unzureichend bzw. unmöglich. Die Erzeugung resistenter Pflanzen durch Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen bietet daher eine Möglichkeit, die enormen Pflanzenausfälle in der *Gaultheria*-Produktion zu mindern. Das Potential einiger Arten (*G. shallon*), eine geringe Anfälligkeit gegenüber *C. gloeosporioides*-Isolaten zu besitzen, ist ein erster zukunftsweisender Schritt für die Etablierung resistenter Pflanzen. Weil in den Untersuchungen nur fünf *Gaultheria*-Arten als Sämlingspflanzen für die Resistenztestung zur Verfügung standen, ist es erforderlich, Testungen an weiteren Arten/ Genotypen durchzuführen. Testergebnisse aus dem Gewächshaus sollten anschließend im Freiland verifiziert werden. In diesem Zusammenhang muss das Pathogenitätspotential von Monokonidial-Kulturen der *C. gloeosporioides*-Isolate berücksichtigt werden, da diese morphologisch sehr variabel sein können. Das Pathogen besitzt zudem ein hohes genetisches Rekombinationsvermögen. Neben der sequenzbasierten Identifikation der ITS-Region können zusätzliche Sequenzen von beispielsweise β -tubulin 2-Genen und Glutamin-Synthetase-Genen in zukünftige Analysen einfließen.

Die erfolgreiche In-vitro-Sprossvermehrung der Gaultherie lässt sich auf weitere Arten/ Genotypen, unter Beachtung einer optimalen Nährstoffzusammensetzung bzw. Kombination der Phytohormonzusätze der Nährmedien, ausweiten. Ein wichtiges Ziel hierbei ist u.a. die In-vitro-Bewurzelung der Sprosse.

Darüber hinaus ist bei der Überführung der In-vitro-Pflanzen ins Gewächshaus eine Optimierung der Kulturbedingungen notwendig.

Hinsichtlich der Pollenkeimfähigkeit einzelner Arten und Genotypen sind weitere Untersuchungen mit höherer Anzahl an Pollenkörnern erforderlich. Entscheidende Kriterien sind dabei die Analyse der Pollenkeimung auf der Narbe, das Wachstum durch

den Griffel bis in die Samenanlage sowie die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Kreuzungsexperimente im Gewächshaus.

Erste Hybridisierungserfolge konnten bereits in dieser Arbeit erzielt werden, jedoch nur im geringen Umfang. Auf welchen Mechanismen mögliche Kreuzungsinkompatibilitäten (prä- und postzygotische Kreuzungsbarrieren) beruhen, muss detaillierter untersucht werden.

Literaturverzeichnis

- Abang MM, Green KR, Wanyera NW, Iloba C (2001):** Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. from yam (*Dioscorea* spp.) in Nigeria. In: Akoroda AO, Ngeve JM (eds) Root crops in the 21st century. Proceedings of the 7th Triennial Symposium of the International Society for Tropical Root Crops–Africa Branch, Cotonou, Bénin, S. 613-615 In: Abang MM, Winter S, Mignouna HD, Green KR, Asiedu R (2003): Molecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. African Journal of Biotechnology 2 (12), S. 486-496
- Abang MM, Winter S, Green KR, Hoffmann P, Mignouna HD, Wolf GA (2002):** Molecular identification of *Colletotrichum gloeosporioides* causing yam anthracnose in Nigeria. Plant Pathology 51 (1), S. 63-71
- Abang MM, Winter S, Mignouna HD, Green KR, Asiedu R (2003):** Molecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. African Journal of Biotechnology 2 (12), S. 486-496
- Abang MM, Asiedu R, Hoffmann P, Wolf GA, Mignouna HD, Winter S (2006):** Pathogenic and genetic variability among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from different yam hosts in the agroecological zones in Nigeria. Journal of Phytopathology 154 (1), S. 51-61
- Acara I, Kakani VG (2010):** The effects of temperature on in vitro pollen germination and pollen tube growth of *Pistacia* spp. Scientia Horticulturae 125 (4), S. 569–572
- Aduramigba-Modupe AO, Asiedu R, Odebode AC, Owolade OF (2012):** Genetic diversity of *Colletotrichum gloeosporioides* in Nigeria using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. African Journal of Biotechnology Vol. 11 (33), S. 8189-8195
- Afanador-Kafuri LMD, Maymon M, Freeman S (2003):** Characterization of *Colletotrichum* isolates from tamarillo, passiflora, and mango in Colombia and identification of a unique species from the genus. Phytopathology 93 (5), S. 579-587
- Airy-Shaw HK (1940):** Studies in the Ericales IV. Classification of the Asiatic species of *Gaultheria*. Kew Bullentin, S. 304-330
- Alahakoon WP, Brown AE, Sreenivasaprasad S (1994):** Cross-infection potential of genetic groups of *Colletotrichum gloeosporioides* on tropical fruits. Physiological and Molecular Plant Pathology 44, S. 93-103
- Aloni B, Peet MM, Pharr M, Karni L (2001):** The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annum*) pollen in relation to its germination. Physiologia Plantarum 112, S. 505-512
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990):** Basic Local Alignment Search Tool. Journal of Molecular Biology 215, S. 403-410
- Anderson WC (1980):** Tissue culture propagation of red and black raspberries, *Rubus idaeus* and *R. occidentalis*. Acta Horticulturae 112, S. 13-20
- Anderson WC (1984):** A revised tissue culture medium for shoot multiplication of Rhododendron. Journal of the American Society for Horticultural Science 109 (3), S. 343-347
- Apte GS, Bahulikar RA, Kulkarni RS, Lagu MD, Kulkarni BG, Suresh HS, Rao PSN, Gupta VS (2006):** Genetic diversity analysis in *Gaultheria fragrantissima* Wall. (*Ericaceae*) from the two biodiversity hotspots in India using ISSR markers. Current Science 91 (12), S. 1634-1640

- Aronne G (1999):** Effects of relative humidity and temperature stress on pollen viability of *Cistus incanus* and *Myrtus communis*. Grana 38, S. 364–367
- Ateyyeh AF (2005):** Improving *in vitro* pollen germination of five species of fruit trees. Agriculture Science 32 (2), S. 189-194
- Bailey JA (1974):** The relationship between symptom expression and phytoalexin concentration in hypocotyls of *Phaseolus vulgaris* infected with *Colletotrichum lindemuthianum*. Physiological Plant Pathology 4 (4), S. 477–488
- Bailey JA, Jeger MJ (1992):** *Colletotrichum*: Biology, pathology and control. CAB International
- Bailey JA, O' Connell RJ, Pring RJ, Nash C (1992):** Infection strategies of *Colletotrichum* species S. 88-120 In: *Colletotrichum*: Biology, pathology and control. Bailey, JA, Jeger, MJ, CABI Publishing
- Barguil BM, Júnior JEAB, de Oliveira SMA (2008):** Leaf spots on *Codiaeum variegatum* caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Summa Phytopathology, Botucatu 34 (2), S. 289
- Bertetti D, Gullino ML, Garibaldi A (2007):** Susceptibility of evergreen azalea cultivars to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. Horttechnology 17 (4), S. 501-504
- Bhat S, Sarla N (2004):** Identification and overcoming barriers between *Brassica rapa* L. em. Metzg. and *B. nigra* (L.) Koch crosses for the resynthesis of *B. juncea* (L.) Czern. Genetic Resources and Crop Evolution 51 (5), S. 455-469
- Blakeslee AF (1945):** Removing some of the barriers to crossability in plants. Proc. Amer. Philosoph. Soc. 89, S. 561-574 In: van Tuyl JM, de Jeu MJ (1997): Methods for overcoming crossing barriers.
- Bhojwani SS, Razdan MK (1996):** Plant tissue culture: theory and practice. Elsevier
- Bollmann D (2005):** Untersuchungen zur Heißwasserbeizung des Saatgutes von *Gaultheria procumbens*. Diplomarbeit, Fachhochschule Osnabrück
- Brickell C (2003):** Die große Pflanzenenzyklopädie A-Z. Dorling Kindersley Verlag, London
- Bridge P (2002):** The history and application of molecular mycology. Mycologist 16 (3), S. 90-99
- Brielmaier-Liebetanz U, Nirenberg HI (2001):** *Colletotrichum* cf. *acutatum* an Bergenien. in BDGL-Schriftenreihe 19, S. 94
- Britton N, Brown A (1913):** An illustrated flora of the Northern United States and Canada from Newfoundland to the parallel of the Southern Boundary of Virginia, and from the Atlantic ocean westward to the 102d Meridian. Volume 3, C. Scribner's sons, New York
- Brown RL, Hafenrichter AL (1962):** Stabilizing sand dunes on the Pacific coast with woody plants. Misc. Pub. 892, USDA Soil Conservation Service, S. 18 p In: Huffman DW, Zasada JC, Stein WI (2008): *Ericaceae*-Heath family - *Gaultheria* L. wintergreen S. 550-556 In: The Woody Plant Seed Manual. United States Department of Agriculture
- Bush CM, Lu L, Fritsch PW, Li D-Z, Kron KA (2009a):** Phylogeny of *Gaultherieae* (*Ericaceae*: *Vaccinoideae*) based on DNA sequence data from matK, ndhF, and nrITS. International Journal of Plant Science 170 S. 355-364
- Bush CM, Wagstaff SJ, Fritsch PW, Kron KA (2009b):** The phylogeny, biogeography and morphological evolution of *Gaultheria* (*Ericaceae*) from Australia and New Zealand. Australian Systematic Botany 22, S. 229-242

- Callan H (1941):** The cytology of *Gaulthetia wisleyensis* (Marchant) Rehder a new mode of species formation. *Annals of botany* 5 (4), S. 579-586
- Campbell CL, Madden LV (1990):** Introduction to plant epidemiology. John Wiley & Sons, New York
- Cannon PF, Damm U, Johnston PR, Weir BS (2012):** *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology* 73, S. 181-213
- Carrington ME, Roberts PD, Urs NVR, McGovern RJ, Seijo TE, Mullahey JJ (2001):** Premature fruit drop in saw palmettos caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 85 (2), S. 122-125
- Chen LS, Chu C, Liu CD, Chen RS, Tsay JG (2006):** PCR-based detection and differentiation of anthracnose pathogens, *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. truncatum*, from vegetable soybean in Taiwan. *Journal of Phytopathology* 154 (11-12), S. 654-662
- Corcoran CM (1981):** A revision of the Mexican and Guatemalan taxa of *Gaultheria* (*Ericaceae*). Dissertation, University of Wisconsin, Madison
- Cox HT (1948):** Studies in the Comparative Anatomy of the Ericales. II. *Ericaceae*-Subfamily *Arbutoideae*. *American Midland Naturalist* 40 (2), S. 493-516
- Dafni A, Firmage D (2000):** Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Systematics and Evolution* 222, S. 113-132
- Damm U, Cannon PF, Woundenberg JHC, Crous PW (2012):** The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology* 73, S. 37-113
- Dane F, Olgun G, Dalgic Ö (2004):** In vitro pollen germination of some plant species in basic culture medium. *Journal of Cell and Molecular Biology* 3, S. 71-76
- Darlington CD, Wylie AP (1955):** Chromosome atlas of flowering plants. Allen & Unwin Verlag
- Davey MR, Anthony P (2010):** Plant cell culture: essential methods. John Wiley & Sons
- Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD (2012):** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13 (4), S. 414-430
- Delph LF, Lively CM, Webb CJ (2006):** Gynodioecy in native New Zealand *Gaultheria* (*Ericaceae*). *New Zealand Journal of Botany* 44(4), S. 415-420
- Deng Z, Harbaugh BK (2004):** Technique for *in vitro* pollen germination and short-term pollen storage in *Caladium*. *Hortscience* 9 (2), S. 365-367
- Denoyes-Rothan B, Guérin G (1996):** Comparison of six inoculation techniques with *Colletotrichum acutatum* on cold stored strawberry plants and screening for resistance to this fungus in French strawberry collection. *European Journal of Plant Pathology* 102, S. 615-621
- Diener U (1997):** Pflanzenschutz bei Moorbeet-Pflanzen. *Deutscher Gartenbau* 19, S. 1098-1100
- Dillard HR (1992):** *Colletotrichum coccodes*: The pathogen and its hosts. S. 225-236) In: *Colletotrichum: Biology, pathology and control*. Bailey, JA, Jeger, MJ, CABI Publishing
- Djami-Tchatchou AT, Allie F, Straker CJ (2013):** Expression of defence-related genes in avocado fruit (cv. Fuerte) infected with *Colletotrichum gloeosporioides*. *South African Journal of Botany* 86, S. 92-100

- Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Bakerand K, Mattick JS (1991):** 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Research* 19 (14), S. 4008
- Dos Santos JB, Nienhuis J, Skroch P, Tivang J, Slocum MK (1994):** Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 87 (8), S. 909-915
- Eastburn DM, Gubler WD (1990):** Strawberry anthracnose: detection and survival of *Colletotrichum acutatum* in soil. *Plant Disease* 74 (2), S. 161-163
- Elmhirst JF, Hudgins EJ (2003):** First report of anthracnose of *Gaultheria procumbens* caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 87 (6), S. 751
- Elstner EF, Obwald W, Schneider I. (1996):** Phytopathologie. Allgemeine und biochemische Grundlagen. Spektrum Akademischer Verlag
- Erickson AN, Markhart AH (2002):** Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) to elevated temperature. *Plant Cell and Environment* 25, S. 123-130
- Ferralli P, Egan JD, Erickson FL (2007):** MakingTaqDNA polymerase in the undergraduate biology laboratory. *BIOS* 78 (2), S. 69-74
- Fernald ML (1950):** Gray's Manual of Botany. American Book Company, USA
- Filiti N, Montalti P (1982):** In vitro germination and tube growth of apple pollen as affected by cold storage. *Riv. Ortoflorofruitt. It.* 66, S. 361-368
- Flad US, Bedlan G (2004):** Biologie, Verbreitung und Charakterisierung von *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes, dem Erreger der Schwarzen Wurzelfäule der Tomaten und mögliche Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßnahmen.
- Fokunang CN, Dixon AGO, Ikotun T, Akem CN, Tembe EA (2002a):** Rapid screening method of cassava cultivars for resistance to *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *manihotis*. *Journal of Phytopathology* 150 (1), S. 6-12
- Fokunang CN, Dixon AGO, Ikotun T, Asiedu R, Tembe EA, Akem CN (2002b):** In vitro, greenhouse and field assessments of cassava lines for resistance to anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *manihotis*. *Mycopathologia* 154 (4), S. 191-198
- Franklin DA (1964):** *Gaultheria* hybrids at Pureora. *New Zealand Journal of Botany* 2, S. 367-379.
- Freemann S und Shabi E (1996):** Cross-infection of subtropical and temperate fruits by *Colletotrichum* species from various hosts. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 49, S. 395-404
- Freeman S, Katan T, Shabi E (1998):** Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease* 82 (6), S. 596-605
- Freeman S, Minz D, Jurkevitch E, Maymon M, Shabi E (2000):** Molecular analyses of *Colletotrichum* species from almond and other fruits. *Phytopathology* 90 (6), S. 608-614
- Freitas L, Galetto L, Sazima M (2006):** Pollination by hummingbirds and bees in eight syntopic species and a putative hybrid of *Ericaceae* in south-eastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 258, S. 49-61.

- Friend J (1981):** Plant phenolics, lignification in disease resistance. *Phytochemistry* 7, S. 197-261 In: Fokunang CN, Dixon AGO, Ikotun T, Asiedu R, Tembe EA, Akem CN (2002b): In vitro, greenhouse and field assessments of cassava lines for resistance to anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *manihotis*. *Mycopathologia* 154 (4), S. 191-198
- Fritsch PW, Zhou L, Lu I, Bartholomew B (2006):** The flowering plant genus *Gaultheria* (Ericaceae) in the Gaoligong Shan, along the border region of China and Myanmar. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 59 (6), S. 147-214
- Gallik A, Wilke R (2005):** *Colletotrichum* an Gaultherien: Auf Hygiene achten. *Zierpflanzenbau* 15, S. 41-43
- Gallik A, Wilke R (2006):** Krankheitsfreie Scheinbeeren im Topf. *Colletotrichum* als Hauptschaderreger an Gaultherien. *Der Gartenbau* 2, S. 2-4
- Gaerdth H, Reide F (1869):** Wredow´s Gartenfreund. Verlag von Rudolph Gaertner
- Gao YB, Wang CL, Wu JY, Zhou HS, Jiang XT, Wu J, Zhang SL (2014):** Low temperature inhibits pollen tube growth by disruption of both tip-localized reactive oxygen species and endocytosis in *Pyrus bretschneideri* Rehd. *Plant Physiology and Biochemistry* 74, S. 255-262
- Geschäftsbericht Landgard 2005,** Landgard eG, Straelen-Herongen, www.landgard.de, 16.01.2008
- Guerber JC, Liu B, Correll JC, Johnston PR (2003):** Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum sensu lato* by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia* 95 (5), S. 872-895
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, von Tiedemann A (2007):** Phytomedizin-Grundwissen für Bachelor. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart
- Hanna WW (1990):** Long-term storage of *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. pollen. *Theoretical and Applied Genetics* 79, S. 605-608
- Hanna WW, Towill LE (1995):** Long-term pollen storage S. 179-201 In: *Plant Breeding Reviews* 13. Janick, J. Wiley & Sons. Inc.
- Hauser JP, Morrison JH (1964):** The cytochemical reduction of nitro blue tetrazolium as an index of pollen viability. *American Journal of Botany* 51 (7), S. 748-752
- Hedhly A, Hormaza JI, Herrero M (2005):** Influence of genotype-temperature interaction on pollen performance. *Journal of Evolutionary Biology* 18, S. 1494-1502
- Hermann PM, Cambi VN (2006):** *Gaultheria nubigena* (Ericaceae), una especie rara en la Argentina. *Bulletin of the Botanical Society of Argentina* 41 (3-4), S. 317-322
- Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y (1970):** Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. *Stain Technology* 45 (3), S. 115-120
- Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y, Shivanna KR (1984):** The evaluation of pollen quality and a further appraisal of the fluorochromatic (FCR) test procedure. *Theoretical and Applied Genetics* 67, S. 367-375
- Higashiyama T, Inatsugi R, Sakamoto S, Sasaki N, Mori T, Kuroiwa H, Nakada T, Nozaki H, Kuroiwa T, Nakano A (2006):** Species preferentiality of the pollen tube attractant derived from the synergid cell of *Torenia fournieri*. *Plant Physiology* 142, S. 481-491

- Hillis DM, Dixon MT (1991):** Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. The quarterly review of biology 66 (4), S. 411-453
- Hodkinson TR, Renvoize SA, Chonghaile GN, Stapleton CMA, Chase MW (2000):** A comparison of ITS nuclear rDNA sequence data and AFLP markers for phylogenetic studies in *Phyllostachys* (*Bambusoideae*, *Poaceae*). Journal of Plant Research 113, S. 259-269
- Hooker, JD (1864):** Handbook of the New Zealand flora: a systematic description of the native plants of New Zealand and the Chatham, Kermadec's, Lord Auckland's, Campbell's, and Macquarrie's Islands. Reeve and Company, London
- Hornby D (1968):** Studies on *Colletotrichum coccodes*: III. Some properties of the fungus in soil and in tomato roots. Transactions of the British Mycological Society 51 (3-4), S. 541-553
- Huang J, Corke H, Sun M (2002):** Highly polymorphic AFLP markers as a complementary tool to ITS sequences in assessing genetic diversity and phylogenetic relationships of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and its wild relatives. Genetic Resources and Crop Evolution 49, S. 541-550
- Huang Y, Li Y, Wen X (2011):** The effect of relative humidity on pollen vigor and fruit setting rate of greenhouse tomato under high temperature condition. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, S. 1-20.
- Huffman DW (1994):** Regeneration of Salal (*Gaultheria shallon*) in the Central Coast Range Forests of Oregon. Canadian Journal of Botany 72(1), S. 39-51
- Huffman DW, Tappeiner JC, Zasada JC (1994):** Regeneration of Salal (*Gaultheria shallon*) in the Central Coast Range Forests of Oregon. Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique 72 (1), S. 39-51
- Huffman DW, Zasada JC, Stein WI (2008):** *Ericaceae*-Heath family - *Gaultheria* L. wintergreen S. 550-556 In: The Woody Plant Seed Manual. United States Department of Agriculture
- Kakani VG, Reddy KR, Koti S, Wallace TP, Prasad PVV, Reddy VR, Zhao D (2005):** Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. Annals of Botany 96 (1), S. 59-67
- Kanta K, Rangaswamy NS, Maheshwari P (1962):** Test-tube fertilization in flowering plant. Nature 194, 1214-1217, In: Reinert J, Bajai YPS (1977): Plant cell tissue and organ culture. Springer-Verlag, S. 412-464
- Kelemu S, Badel JL, Moreno CX (1996):** Virulence spectrum of South American isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* on selected *Stylosanthes guianensis* genotypes. Journal of Plant Disease 80, S. 1355-1358
- Kelemu S, Skinner DZ, Badel JL, Moreno CX, Rodriguez MX, Fernandes CD, Charchar MJ, Chakraborty S (1999):** Genetic diversity in South American *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from *Stylosanthes guianensis*, a tropical forage legume. European Journal of Plant Pathology 105 (3), S. 261-272
- Kho YO, Baer J (1968):** Observing pollen tubes by means of fluorescence. Euphytica 17, S. 298-302
- Kimura M (1980):** A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16, S.111-120

- Knoop V, Müller K (2009):** Gene und Stammbäume: Ein Handbuch zur molekularen Phylogenetik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2. Auflage
- Koribe DJ, Mattick J (2008):** Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. *Nature protocols* 3 (9), S. 1452-1456
- Kron KA, Judd WS, Stevens PF, Crayn DM, Anderberg AA, Gadek PA, Quinn CJ, Luteyn JL (2003):** Phylogenetic classification of *Ericaceae*: Molecular and morphological evidence. *The Botanical Review* 68 (3), S. 335-423
- Kuo K-C (1999):** Germination and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*. *Proceedings of the National Science Council ROC (B)* 23 (3), S. 126-132
- Kuramae-Izioka EE, Lopes CR, Souza NL, Machado MA (1996):** Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* spp. from citrus orchards affected by post-bloom fruit drop in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 103, S. 323-329
- Kurtzman CP, Robnett CJ (1997):** Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. *Journal of clinical microbiology* 35 (5), S. 1216-1223
- Li J, Li F, Lu Y-Y, Su X-J, Huang C-P, Lu X-W (2010):** A new dilactone from the seeds of *Gaultheria yunnanensis*. *Fitoterapia* 81, S. 35-37
- Liu B, Louws FJ, Sutton TB, Correll JC (2012):** A rapid qualitative molecular method for the identification of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides*. *European Journal of Plant Pathology* 132, S. 593-607
- Liu G, Kennedy R, Greenshields DL, Peng G, Forseille L, Selvaraj G, Wei Y (2007):** Detached and attached *Arabidopsis* leaf assay reveal distinctive defense responses against hemibiotrophic *Colletotrichum* ssp. *American Journal of Phytopathology* 20 (10), S. 1308-1319
- Lopandic K, Molnár O, Prillinger, H (2005):** Application of ITS sequence analysis, RAPD and AFLP fingerprinting in characterising the yeast genus *Fellomyces*. *Microbiological Research* 160, S. 13-26
- Löve und Löve (1973):** *Chiogenes* or *Gaultheria*, a question of generic definition. *American Rock Garden Society Bulletin* 31, S. 127-129 In: Middleton DJ (1991a): Infrageneric Classification of the Genus *Gaultheria* L. (*Ericaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society* 106, S. 229-258
- Lu L, Fritsch PW, Cruz BC, Wang H, Li D-Z (2010):** Reticulate evolution, cryptic species, and character convergence in the core East Asian clade of *Gaultheria* (*Ericaceae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57, S. 364-379
- Luteyn JL, Clemants SE, Diggs GM, Dorr LJ, Judd, WS Soersensen PD, Wallace GD (1995):** *Ericaceae* Part II. The superior-ovaryed genera (*Monotropoideae*, *Pyroloideae*, *Rhododendroideae*, and *Vaccinioideae* p.p.). *Flora Neotropica* 66, S. 384-488
- Mabberley DJ (2008):** Mabberley's Plant-book: A portable dictionary of plants, their classifications and uses. Cambridge University Press, 3d Edition
- Mac Cárthaigh D, Spethmann W. (2000):** Krüssmanns Gehölzvermehrung. Parey Buchverlag Berlin
- Manning WJ (1980):** Relationship of *Rhizoctonia solani* and *Colletotrichum coccodes* to basal stem canker of tomato. *Plant Disease* 64, S. 76-78
- Martin MP, Garcia-Figueres F (1999):** *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* cause anthracnose on olives. *European Journal of Plant Pathology* 105 (8), S. 733-741

- Masaba D, Waller JM (1992):** Coffee berry disease: The current status. S. 237-249 In: *Colletotrichum: Biology, pathology and control*. Bailey JA and Jeger MJ CAB International
- Maymon M, Zveibil A, Pivonia S, Minz D, Freeman S (2006):** Identification and characterization of benomyl-resistant and -sensitive populations of *Colletotrichum gloeosporioides* from static (*Limonium* spp.). *Phytopathology* 96 (5), S. 542-548
- McCown BH, Lloyd GB (1983):** A survey of the response of *Rhododendron* to in vitro culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 2, S. 77-85
- Meiners J, Debener T, Schweizer G, Winkelmann T (2010):** Analysis of the taxonomic subdivision within the genus *Helleborus* by nuclear DNA content and genomewide DNA markers. *Scientia Horticulturae*
- Mendgen K, Hahn M (2002):** Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. *Trends in Plant Science* 7 (8), S. 352-356
- Mertens M, Werbruk S, Samyn G, da Silva HBDM, Derbergh P (1996):** In vitro regeneration of evergreen azalea from leaves. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 45 (3), S. 231-236
- Mibus H, Serek M, Winkelmann T (2011):** Biotechnologische Methoden für die züchterische Verbesserung von Zierpflanzen. In: *Erstes Symposium Zierpflanzenzüchtung*. Schumann G, Stephan C, Harring G, Julius-Kühn-Archiv, 433, S. 18-29
- Middleton DJ, Wilcock CC (1990a):** Chromosome counts in the genus *Gaultheria* and related genera. *Edinburgh Journal of Botany* 47 (3), S. 303-313
- Middleton DJ, Wilcock CC (1990b):** A critical examination of the status of *Pernettya* Gaud. as a genus distinct from *Gaultheria*. *Edinburgh Journal of Botany* 47 (3), S. 291-301
- Middleton DJ (1991a):** Infrageneric Classification of the Genus *Gaultheria* L. (Ericaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 106, S. 229-258
- Middleton DJ (1991b):** Ecology, reproductive biology and hybridisation in the genus *Gaultheria* L. *Edinburgh Journal of Botany* 48, S. 81-89.
- Middleton DJ (1991c):** *Gaultheria x wisleyensis*: a not-so-new hybrid! *The Plantsman* 13, S. 188-189.
- Middleton DJ (1991d):** *Pernettya* or *Gaultheria*? *The Plantsman* 20, S. 167-177.
- Middleton DJ (1997):** *GAULTHERIA* Linnaeus. In *The European Garden Flora: a manual for the identification of plants cultivated in Europe, both out-of-doors and under glass* 5. *Dicotyledons* (Part III): *Limnanthaceae* to *Oleaceae*. Walters, SM, Cullen, J, Cambridge Univ. Press, Chapter 36.
- Mills PR, Sreenivasaprasad S, Brown AE (1992):** Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates using PCR. *Fems Microbiology Letters* 98 (1-3), S. 137-143
- Mirick S, Quinn JA (1981):** Some observations on the reproductive-biology of *Gaultheria procumbens* (Ericaceae). *American Journal of Botany* 68 (10), S. 1298-1305
- Moore SH, Bannister P (2000):** Aspects of the germination of some New Zealand Ericaceae. *Special Publication - Agronomy Society of New Zealand* 12, S. 83-90
- Nepi M, Cresti L, Guarnieri M, Pacini E (2010):** Effect of relative humidity on water content, viability and carbohydrate profile of *Petunia* hybrid and *Cucurbita pepo* pollen. *Plant Systematics and Evolution* 284, S. 57-64.

- Neubauer C, Wunder-Jatzkowski M (1999):** *Colletotrichum* an Gaultherien - Untersuchungen und Bekämpfung. Gärtnerbörse Spezial – Azerca, S. 9-12
- Nicholas KB, Nicholas HB Jr., Deerfield DW (1997):** GeneDoc: analysis and visualization of genetic variation. Version 2.7, 2013. <http://www.psc.edu/index.php/research-programs/biomedical-applications>
- Nicholson RL (1992):** *Colletotrichum graminicola* and the anthracnose disease of maize and sorghum. S. 186-202 In: *Colletotrichum: Biology, pathology and control*. Bailey, JA, Jeger, MJ, CABI Publishing
- Nienhuis J, Tivang J, Skroch P, dos Santos JB (1995):** Genetic Relationships among Cultivars and Landraces of Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) as Measured by RAPD Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 120 (2), S. 300-306
- Nirenberg HI, Feiler U, Hagedorn G (2002):** Description of *Colletotrichum lupini* comb. nov. in modern terms. *Mycologia* 94 (2), S. 307-320
- Noireung P, Phoulivong S, Cai L, McKenzie EHC, Chukeatirote E, Jones EBG, Bahkali AH, Hyde KD (2012):** Novel species of *Colletotrichum* revealed by morphology and molecular analysis. *Cryptogamie /Mycologie* 33 (3), S. 347-362
- Norton JD (1966):** Testing of Plum pollen viability with tetrazolim salts. *Proceeding of the American Society for Horticultural Science* 89, S. 132-134
- O'Connell, R, Perfect, S, Hughes, B, Carzaniga, R, Bailes, J, Green, J (2000):** Dissecting the cell biology of *Colletotrichum* infection processes S. 57-77 In: *Colletotrichum - host specificity, pathology, and host-pathogen interaction*. Prusky D, Freeman S, Dickman MB, APS Press
- O'Connell RJ, Thon MR, Hacquard S, Amyotte SG, Kleemann J, Torres MF, Damm U, Buiate EA, Epstein L, Alkan N, Altmüller J, Alvarado-Balderrama L, Bauser CA, Becker C, Birren BW, Chen Z, Choi J, Crouch JA, Duvick JP, Farman MA, Gan P, Heimann D, Henrissat B, Howard RJ, Kabbage M, Koch C, Kracher B, Kubo Y, Law AD, Lebrun M-H, Lee Y-H, Miyara I, Moore N, Neumann U, Nordström K, Panaccione DG, Panstruga R, Place M, Proctor RH, Prusky D, Rech G, Reinhardt R, Rollins JA, Rounsley S, Schardl CL, Schwartz DC, Shenoy N, Shirasu K, Sikhakolli UR, Stüber K, Sukno SA, Sweigard JA, Takano Y, Takahara H, Trail F, van der Does HC, Voll LM, Will I, Young S, Zeng Q, Zhang J, Zhou S, Dickman MB, Schulze-Lefert P, van Themaat EVL, Ma L-J, Vaillancourt LJ (2012):** Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nature Genetics* 44 (9), S. 1060-1067
- O'Donnell K (1993):** *Fusarium* and its near relatives in the fungal holomorph: mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematic. In: Kurtzman CP, Robnett CJ (1997): Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. *Journal of clinical microbiology* 35 (5), S. 1216-1223
- Peet M, Sato S, Clément C, Pressman E (2002):** Heatstress increases sensitivity of pollen, fruit and seed production in tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) to non-optimal vapor pressure deficits. *ISHS Acta Horticulturae* 618, International Horticultural Congress: Environmental Stress and Horticulture Crops, S. 209-215.
- Photita W, Taylor PWJ, Ford R, Hyde KD, Lumyong S (2005):** Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. *Fungal Diversity* 18 S. 117-133

- Phoulivong S, Cai L, Chen H, McKenzie EHC, Abdelsalam K, Chukeatirote E, Hyde KD (2010):** *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. Fungal Diversity 44 (1), S. 33-43
- Poehling H-M, Verreet J-A (2013):** Lehrbuch der Phytomedizin. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 4. Auflage
- Pojar J (1974):** Reproductive dynamics of four plant communities of Southwestern British Columbia. Canadian Journal of Botany 52, S. 1819-1834
- Powell EA, Kron KA (2001):** An analysis of the phylogenetic relationships in the wintergreen group (*Diplycosia*, *Gaultheria*, *Pernettya*, *Tepuia*, *Ericaceae*). Systematic Botany 26 (4), S. 808-817
- Prior C, Elango F, Whitwell A (1992):** Chemical control of *Colletotrichum* infection in mangoes. S. 326-336 In: *Colletotrichum: Biology, pathology and control*. Bailey JA and Jeger MJ, CAB International
- Prusky D (1996):** Pathogen quiescence in postharvest diseases. Annual Review of Phytopathology 34, S. 413-434
- Prusky D, Kobiler A, Ardi R, Beno-Moualem D, Yakoby N, Keen NT (2000):** Resistance mechanisms of subtropical fruits to *Colletotrichum gloeosporioides*. S. 232-244 In: *Colletotrichum: Host specificity, pathology, and host-pathogen interaction*. Prusky D, Freeman S, Dickman MB
- Radcliffe CA, Affolter JM, Wetzstein HY (2010):** Floral morphology and development in Georgia Plume, *Elliottia racemosa* (Ericaceae), a rare coastal plain endemic. Journal of American Society of Horticultural Science 135 (6), S. 487-493.
- Ranyaphia RA, Maa AA, Borthakurb SK (2011):** Direct organogenesis from leaf and internode explants of *in vitro* raised wintergreen plant (*Gaultheria fragrantissima*). Science Asia 3, S. 186-194
- Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE (2006):** Biologie der Pflanzen. de Gruyter-Verlag, Berlin, 4. Auflage
- Reader (1977):** Bog ericad flowers: self-compatibility and relative attractiveness to bees. Canadian Journal of Botany 55 (17), S. 2279-2287 In: Huffman DW, Zasada JC, Stein WI (2008): Ericaceae-Heath family - *Gaultheria* L. wintergreen S. 550-556 In: The Woody Plant Seed Manual. United States Department of Agriculture
- Reddy RK, Kakani VG (2007):** Screening *Capsicum* species of different origins for high temperature tolerance by *in vitro* pollen germination and pollen tube length. Scientia Horticulturae 112, S. 130-135
- Reed PJ, Dickens JSW, O' Neill TM (1996):** Occurrence of anthracnose (*Colletotrichum acutatum*) on ornamental lupin in the United Kingdom. Plant Pathology 45 (2), S. 245-248
- Reinert J, Bajai YPS (1977):** Plant cell, tissue, and organ culture. Springer-Verlag, S. 412-464
- Reinhardt S (2006):** Vergleichende morphologische - anatomische und physiologische Untersuchung zur Samenanlagenqualität von *Cyclamen persicum* Mill.-unter besonderer Berücksichtigung der Saatgutqualität. Dissertation, Universität Jena
- Rogers SO, Bendich AJ (1985):** Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant-tissues. Plant Molecular Biology 5 S. 69-76

- Rotman, B, Papermaster, BW (1966):** Membrane properties of living mammalian cells as studied by enzymatic hydrolysis of fluorogenic esters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 55 (1), S. 134-141
- Saitou N, Nei M (1987):** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4), S. 406-425.
- Sanger F, Nickler S, Coulson AR (1977):** DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceeding of the National Academic Of Sciences of the United States of America* 74 S. 5463-5467
- Schrage, R (2004):** Aktuelle Probleme im Pflanzenschutz für Zierpflanzen. *Gartenbau* 4, S. 25-26
- Sherriff C, Whelan MJ, Arnold GM, Lafay J-F, Brygoo Y, Bailey JA (1994):** Ribosomal DNA sequence analysis reveals new species groupings in the genus *Colletotrichum*. *Experimental Mycology* 18, S. 121-138
- Shivanna KR, Johri BM (1985):** The angiosperm pollen: Structure and function. Wiley Eastern, New Delhi
- Shivanna KR (2003):** Pollen biology and biotechnology. Science Publishers, Enfield
- Shivanna KR, Sawhney VK (2005):** Pollen biotechnology for crop production and improvement. Cambridge University Press,
- Schumann GL, D´Arcy CJ (2006):** Essential Plant Pathology. American Phytopathological Society, St. Paul, USA
- Singh DK, Agnihorti RK, Ganie SA, Sigh G, Sharma R (2013):** Pollen fertility and scanning electron microscopic studies of *Sida cordifolia* L. *Indian Research Journal of Genetics and Biotechnology* 5 (2), S. 98-104
- Sleumer H (1935):** Ericaceae americanae novae vel minus cognitae III. *Notitzblatt Botanische Gärten Berlin-Dahlem* 207, Kapitel IV, S. 206-214
- Sleumer H (1967):** Ericaceae. *Flora Malesiana ser. I*, 6, S. 669-914 In: Middleton DJ (1991a): Infrageneric classification of the genus *Gaultheria* L. (Ericaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 106, S. 229-258
- Sleumer H (1985):** Taxonomy of the genus *Pernettya* Gaud. (Ericaceae). *Botanische Jahrbücher Systematik* 105 (4), S 449-480
- Słomka A, Kawalec P, Kellner K, Jędrzejczyk-Korycińska M, Rostański A, Kuta E (2010):** Was reduced pollen viability in *Viola tricolor* L. the result of heavy metal pollution or rather the tests applied? *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica* 52, S. 123-127
- Snider JL, Oosterhuis DM, Loka DA, Kawakami EM (2011):** High temperature limits *in vivo* pollen tube growth rates by altering diurnal carbohydrate balance in field-grown *Gossypium hirsutum* pistils. *Journal of Plant Physiology* 168 (11), S. 1168-1175
- Snow AA, Spira TP (1991):** Pollen vigour and the potential for sexual selection in plants. *Nature* 352, S. 796-797
- Song JJ, Nada K, Tachibana S (2002):** Suppression of S-adenosylmethionine decarboxylase activity is a major cause for high-temperature inhibition of pollen germination and tube growth in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant and Cell Physiology* 43, S. 619-627

- Sreenivasaprasad S, Mills PR, Brown AE (1994):** Nucleotide sequence of the rDNA spacer 1 enables identification of isolates of *Colletotrichum* as *C. acutatum*. Mycological Research 98 (2), S. 186-188
- Sreenivasaprasad S, Mills PR, Meehan BM, Brown AE (1996):** Phylogeny and systematics of 18 *Colletotrichum* species based on ribosomal DNA spacer sequences. Genome 39, S. 499-512 In: Martin MP, Garcia-Figueroles F (1999): *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* cause anthracnose on olives. European Journal of Plant Pathology 105 (8), S. 733-741
- Stevens PF (1976):** Taxonomic studies in the Ericaceae. Dissertation, University of Edinburgh, In: Middleton DJ (1991b): Ecology, reproductive biology and hybridisation in the genus *Gaultheria* L. Edinburgh Journal of Botany 48, S. 81-89.
- Struck G, Benker M, Räder T, Pawelzik E (2010):** Rhizoctoniabekämpfung durch eine gezielte Furchenbehandlung in Kartoffeln - Auswirkungen auf die inneren und äußeren Qualitätsfaktoren (Teil 2). In: 57. Deutsche Pflanzenschutztagung 428, S. 158-159, Julius Kühn-Institut
- Su Y-Y, Noireung P, Liu F, Hyde KD, Moslem MH, Bahkali AH, Abd-Elsalam KA, Cai L (2011):** Epitypification of *Colletotrichum musae*, the causative agent of banana anthracnose. Mycoscience 52, S. 376-383
- Sulusoglu M (2014):** Long term storage of cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) and sweet cherry (*Prunus avium* L.) pollens. International Journal of Biosciences 5 (1), S. 328-338
- Sutton B (1980):** The Coelomycetes – Fungi imperfecti with pycnidia acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute
- Swaminathan MS (1955):** Overcoming cross-incompatibility among some mexican diploid species of *Solanum*. Nature 176, S. 887-888
- Swaminathan MS, Murty BR (1957):** One-way incompatibility in some species crosses in the genus *Nicotiana*. The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 17, S. 23-26
- Talhinhas P, Sreenivasaprasad S, Neves-Martins J, Oliveira H (2002):** Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. Phytopathology 92 (9), S. 986-996
- Talhinhas P, Sreenivasaprasad S, Neves-Martins J, Oliveira H (2005):** Molecular and phenotypic analyses reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. Applied and Environmental Microbiology 71 (6), S. 2987-2998
- Taylor LP, Hepler PK (1997):** Pollen germination and tube growth. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 48, S. 461-491
- Than P, Jeewon R, Hyde KD, Pongsupasamit S, Mongkolporn O, Taylor PWJ (2008):** Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. Plant Pathology 57 (3), S. 562-572
- Trognitz, B (1991):** Comparison of different pollen viability assays to evaluate pollen fertility of potato dihaploids. Euphytica 56, S. 143-148
- Tu JC (1992):** *Colletotrichum lindemuthianum* on bean: population dynamics of the pathogen and breeding for resistance. S. 203-224 In: *Colletotrichum: Biology, pathology and control*. Bailey, JA, Jeger, MJ, CABI Publishing

- Turner EP (1928):** A brief account of the re-establishment of vegetation on Tarawera Mountain since the eruption of 1886. Transactions and Proceedings of the New Zealand Institute 59 (1), S. 60-66
- Van Laere K, Leus L, van Huylenbroeck J, van Bockstaele, E (2007):** Interspecific hybridisation between *Hibiscus syriacus*, *Hibiscus sinosyriacus* and *Hibiscus paramutabilis*. Euphytica 155 (1-2), S. 271-283
- Van Tuyl JM, van Dien MP, van Creij MGM, van Kleinwee TCM, Franken J, Bino RJ (1991):** Application of *in vitro* pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific *Lilium* crosses. Plant Science 74 (1), S. 115-126
- Van Tuyl JM, De Jeu MJ (1997):** Methods for overcoming crossing barriers. In: Shivanna KR, Sawhney VK (2005): Pollen biotechnology for crop production and improvement, Chapter 13
- Van Tuyl JM, Ki-Byung L (2004):** Interspecific hybridization and polyploidisation as tools in ornamental plant breeding. Horticulturae 612, S. 13-22
- Vasil IK (1960):** Studies on pollen germination of certain *Cucurbitaceae*. American Journal of Botany 47 (4), S. 239-248
- Visser T (1955):** Germination and storage of pollen. Mededelingen van de Landbouwhogeschool 55, S. 1-68 In: Dafni A, Firmage D (2000): Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. Plant Systematics and Evolution 222, S. 113-132
- Vizintin L, Bohanec B (2004):** In vitro manipulation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) pollen and microspores_ isolation procedures, viability tests, germination, maturation. Acta Biologica Cracoviensia 46, S. 177-183
- Von Arx JA (1957):** Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. Phytopathologische Zeitschrift 29, S. 413-468 In: Cannon PF, Damm U, Johnston PR, Weir BS (2012): *Colletotrichum* – current status and future directions. Studies in Mycology 73 (181), S. 181-213
- Wang W, Tang JH, Wang YC (2008):** Molecular detection of *Colletotrichum lindemuthianum* by duplex pcr. Journal of Phytopathology 156, S. 431- 437
- Wawra A (1999):** Neue Erkenntnisse: *Colletotrichum* – Tospoviren – *Trichoderma*. Deutscher Gartenbau 53 (10), S. 18-19 In: Witt S (2005): *Colletotrichum* sp. an *G. procumbens*-Vergleichende Untersuchungen verschiedener Isolat-Herkünfte. Diplomarbeit, Fachhochschule Osnabrück
- Wedel W (1997):** Erfahrungen mit der Intensiv-Kultur von *Gaultheria procumbens*. Deutsche Baumschule 5, S. 176-177
- Weir BS, Johnston PR, Damm U (2012):** The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. Studies in Mycology 73, S. 115-180
- Wheeler MJ, Franklin-Tong VE, Franklin FCH (2001):** The molecular and genetic basis of pollen–pistil interactions. New Phytologist 151, S. 565 – 584
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW (1990):** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Ed) (1990): PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York, S. 315-322

- Wietsma WA, de Jong KY, van Tuyl JM (1994):** Overcoming prefertilization barriers in interspecific crosses of *Fritillaria imperialis* and *F. raddeana*. Plant cell Incompatibility Newsletter 26, S. 89-92 In: van Tuyl JM, de Jeu MJ (1997): Methods for overcoming crossing barriers.
- Wilke (2005):** Ergebnisse einer Diplomarbeit zum Auftreten von *Colletotrichum gloeosporioides* an *Gaultheria procumbens* in NRW. 22.Tagung der Fachreferenten für Pflanzenschutz im Gemüse- und Zierpflanzenbau /Baumschule, S. 9
- Wilkin JE, Shamoun SF, Ritland K, El-Kassaby YA (2005):** Population genetics of *Gaultheria shallon* in British Columbia and the implications for management using biocontrol. Canadian Journal of Botany 83, S. 501-509.
- Williams JGK, Kubelik MK, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990):** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18, S. 6531-6535
- Winkelmann T, Doil A, Reinhardt S, Ewald A (2010):** Embryo rescue. In: Davey, M, Anthony, P (Eds.): Plant Cell Culture – Essential Methods. Wiley VCH Weinheim S. 79-95
- Witt S (2005):** *Colletotrichum* sp. an *G. procumbens*-Vergleichende Untersuchungen verschiedener Isolat-Herkünfte. Diplomarbeit, Fachhochschule Osnabrück
- Wohanka W (2006):** *Gaultheria procumbens*, S. 138-140 In: Pflanzenschutz im Zierpflanzenbau. Gerlach WWP, Gündel L, Lohrer T, Meier U, Merz F, Neubauer C, Schrage R, Wilke R, Eugen Ulmer KG
- Neubauer C., Wunder-Jatzkowski M (1999):** *Colletotrichum* an Gaultherien - Untersuchungen und Bekämpfung. Gärtnerbörse Spezial - Azerca, S. 8-12.
- Zaman MR (2009):** Effect of pH on *in vitro* pollen germination of fourteen cultivated wild species of cucurbits. Journal of Bio-Science 17, S. 129-133
- Zhang D, Liu R, Sun L, Huang C, Wang C, Zhang D-M, Zhang T-T, Du G-H (2011):** Anti-inflammatory activity of methyl salicylate glycosides isolated from *Gaultheria yunnanensis* (Franch.) Rheder. Molecules 16, S. 3875-3884

Danksagung

Frau **Prof. Dr. Traud Winkelman** Universität Hannover danke ich für die Betreuung und Unterstützung, die zum Gelingen der Dissertation beigetragen haben.

Herrn **Prof. Dr. Thomas Debener** danke ich in seiner Funktion als Koreferent und Prüfer. Ebenso möchte ich mich bei **Prof. Dr. Edgar Maiß** für seine Beteiligung als Vorsitzenden und Prüfer der Prüfungskommission bedanken.

Frau **Dr. Sylvia Plaschil** möchte ich für Ihr großes Engagement in der Betreuung dieser Arbeit, seitens des Julius Kühn-Instituts, bedanken.

Dem Projektpartner **Gartenbau Holz KG** danke ich für die Bereitstellung von Pflanzenmaterial und für die gute Zusammenarbeit.

Mein großer Dank gilt außerdem der **AG Dr. Rainer Krämer** mit Frau Malorny und Elke Zjaba für die Bereitstellung der Laborräume, die fachliche Unterstützung und die vielen anregenden, aufmunternden, interessanten und konstruktiven Gespräche über Mykologie. Dank der ausdrucksvollen und sehr illustrativen Erklärungen durch Frau Malorny bei der Bestimmung von Pilzen ist mir so manches Phytopathogen in Erinnerung geblieben.

Bei der **AG Dr. Budahn** möchte ich mich für die Einführung und Hilfestellung in die RAPD-Technik bedanken. Ganz speziell möchte ich mich aber bei Herrn **Dr. Budahn** für die unkomplizierte Mitfahrgelegenheit zum Magdeburger Bahnhof bedanken. Ohne Sie wäre ich wohl nicht so oft und so schnell nach Hause an die Ostsee gekommen.

Auch wenn die Ergebnisse mehr als unbefriedigend waren und somit nicht Bestandteil der Dr.-Arbeit wurden möchte ich mich bei der **AG Dr. Rabenstein** und hier im Besonderen bei Ursula „**Uschi**“ Apel für Ihre stete und herzliche Hilfe bei der Antikörpergenerierung bedanken. Die Zeit war immer knapp! und trotzdem fand ich bei Dir für meine Fragen immer offene Ohren und Türen.

Dagmar Franke danke ich für ihre Unterstützung im In-vitro-Labor.

Frau Lautenbach, Frau Ballhause und Frau Fessel möchte ich für Ihr unermüdliches Engagement beim Organisieren und Bereitstellen von Literatur in jeglicher Form sehr herzlich danken.

Herrn Dr. Schliephake danke ich für die Unterstützung in der statistischen Auswertung einzelner Versuche.

Antje Krüger, Dir möchte ich ganz besonders herzlich für die richtigen Worte und Allegorien im richtigen Moment danken!

Bedanken möchte ich mich auch bei der Unterstützung im In-vitro-Labor vor allem bei meiner Freundin **Mandy Püffeld**, bei **Sylvia Vetter** und **Mario Harke**.

Gregor Hagedorn und **Astrid Hansen** danke ich für die Einführung in die sequenziellen Arbeiten und für die Nutzung der Laborräume in Berlin-Dahlem.

Kerstin Diekmann, **Nadine Drechsler** und **Stephanie Blume** danke ich für das Korrekturlesen und zusammen mit **Julia Sparke (Meiners)** für die vielen hilfreichen Tipps, die zum Fertigstellen dieser Arbeit beitrugen.

Am meisten und herzlichsten möchte ich mich aber bei meiner Mutter **Ruth Nehrlich** für ihre aufopferungsvolle Unterstützung und Geduld gerade zum Ende dieser Arbeit bedanken. Ohne ihre großmütterliche Fürsorge wäre die Dissertation noch in der Warteschleife. Meinem Mann **Christian Schnell** danke ich für alles: unsere Kinder, Zeit, Interesse an meiner Arbeit, Fragen, Diskussionen, ... und seine unendliche Geduld.

Ein ebenso herzlicher Dank geht an meine liebe und sehr geschätzte Freundin **Stephanie Blume** für ihre unermüdliche Aufmunterung, Fürsprache, Beistand in guten wie in schwierigen Momenten und offenen Ohren für jede Situation.

Lebenslauf

ANGABEN ZUR PERSON

Name	Nehrlich, Stephanie
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Geburtsdatum	02.02.1979
Geburtsort	Rostock

BERUFLICHE TÄTIGKEITEN

07/2014–04/2015	Fortführende Projektbearbeitung am IPK, Genbank, Groß-Lüsewitz, Kartoffelsortiment
10/2012–04/2013	Wissenschaftliche Angestellte zur Bearbeitung des Projektes „Züchtung von Energiekartoffeln mit verbesserter <i>Phytophthora</i> -Resistenz unter Verwendung pflanzengenetischer Ressourcen und molekularbiologischer Markertechniken zur Erzeugung optimal nutzbarer Biomasse“ am IPK, Genbank, Groß-Lüsewitz, Kartoffelsortiment
10/2010–09/2012	Wissenschaftliche Angestellte am IPK, Genbank, Malchow/Poel, Sortimente Öl- und Eiweißpflanzen
04/2007–03/2010	Wissenschaftliche Angestellte zur Bearbeitung eines BMLV geförderten Kooperationsprojektes am Julius Kühn-Institut in Quedlinburg
05/2006–12/2006	Tätigkeit als wissenschaftliche Angestellte an der Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abt. Pflanzenschutz und Pflanzenpathologie
07/2005–12/2005	Bearbeiterin des Drittmittelprojektes: „Abwehr- und Bekämpfungsmöglichkeiten der Kleinen Kohlfliege in Winterraps“ Landespflanzenschutzdienst Rostock

HOCHSCHULSTUDIUM

10/1997-6/2005

Studium der Agrarökologie an der Universität Rostock, Spezialisierung Pflanzenbau und Phytopathologie, Diplomarbeit: Prüfung der Resistenz von Brassicaceaeen gegen *Verticillium longisporum* (Methodenvergleich)

ABSCHLUSS

Diplom-Agraringenieurin

PRAKTIKA

10/1999-12/1999

Spanien

03/2000-07/2000

Kuba

04/2003-06/2003

Mexiko

04/2005-06/2005

Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei M-V, Pflanzenschutzdienst Schwerin

04/2006-05/2006

Wissenschaftliche Hilfskraft, Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abt. Pflanzenschutz und Pflanzenpathologie

**BERUFLICHE
WEITERBILDUNG**

ABSCHLUSS

Kurs der Berufsausbildung- und Arbeitspädagogik

Ausbildereignungsprüfung

**STUDIENBEGLEITENDE
TÄTIGKEITEN**

01/2001-02/2001

Studentische Hilfskraft im Fachbereich Agrarökologie, Institut für Landnutzung, Acker- und Pflanzenbau

10/2003-11/2003
03/2004-05/2004

Studentische Hilfskraft im Fachbereich Agrarökologie, Institut für Landnutzung, Phytomedizin

Publikationen

Wissenschaftliche Artikel

Nehrlich S, Plaschil S, Krämer R (2010): Evaluation of resistance of *Gaultheria* to *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. Acta Horticulturae 855, S. 209-212

Nehrlich S, Willner E, Dehmer KJ (2012): Characterization and evaluation of genebank accessions as a pre-selection instrument for plant breeding objectives and strategies. In: Barth S, Milbourne D: Breeding strategies for sustainable forage and turf grass improvement. Springer-Verlag Dordrecht Heidelberg, Chapter 40, S. 301-305

Vorträge und Konferenzbeiträge

Nehrlich S, Plaschil S, Holz H-P (2008): Erschließung neuer Resistenzquellen in der Gattung *Gaultheria* gegen den Pilz *Colletotrichum gloeosporioides*. Innovationstage Bonn 2008, Abstract-Band, S. 33-34

Nehrlich S (2008): Resistenzevaluierung von *Colletotrichum gloeosporioides* an *Gaultheria* unter In-vitro-Bedingungen. Mitteilungen aus dem Julius Kühn-Institut 419, S. 20-21

Nehrlich S, Plaschil S, Krämer R (2009): Resistenzevaluierung von *Gaultheria procumbens* gegen *Colletotrichum gloeosporioides*. Fachreferententagung Pflanzenschutz, Braunschweig

Nehrlich S (2009): Untersuchungen zur Ausbreitung von *Colletotrichum gloeosporioides* in *Gaultheria*. Julius-Kühn-Archiv 424, S. 45-46

Nehrlich S, Plaschil S, Krämer R (2010): Untersuchungen zur Ausbreitung von *Colletotrichum gloeosporioides* in *Gaultheria procumbens*-Jungpflanzen. 46. Gartenbauwissenschaftliche Tagung, BHGL-Schriftenreihe Band 27, Stuttgart-Hohenheim

Nehrlich S, Löschner K, Dehmer KJ (2014): Combining plant genetic resources and molecular marker techniques to select potatoes with optimally utilizable biomass. EAPR, Brüssel

Poster

Nehrlich S, Plaschil S, Krämer R (2008): *Colletotrichum gloeosporioides* an *Gaultheria* – Vergleich von Inokulationsmethoden. 56. Pflanzenschutztagung Kiel. Mitteilungen aus dem Julius Kühn-Institut 417, S. 386-387

Nehrlich S, Plaschil S, Krämer R (2010): Evaluation of resistance of *Gaultheria* to *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. 23. Eucarpia Symposium, Sektion Zierpflanzen, Leiden, Niederlande

Nehrlich S, Weise S, Willner E, Scholz U, Dehmer KJ (2010): DiSTo2 – a diversity studies toolkit as a pre-selection instrument for plant breeding objectives and strategies relating to genebank accessions. Institutstag IPK Gatersleben

Nehrlich S, Willner E, Dehmer KJ (2011): Characterization and evaluation of genebank accessions as a pre-selection instrument for plant breeding objectives and strategies. 29. Eucarpia Symposium, Sektion Futterpflanzen und Ziergräser, Dublin, Ireland

Nehrlich S, Sampoux J-P, Willner E, Dehmer KJ (2012): Analysis of the spatial distribution of natural diversity of perennial ryegrass by using genebank data. Institutstag IPK Gatersleben

Nehrlich S, Löschner K, Dehmer KJ (2014): Selecting for high dry matter yields and dormancy in potato by combining plant genetic resources and molecular markers. Institutstag IPK Gatersleben

Anhang

Tab. A1: Flüssige Chemikalien

Chemikalie	Abkürzung	Hersteller
Ammoniumperoxodisulfat	APS	Roth, Karlsruhe
B-mercaptoethanol		Roth, Karlsruhe
Desoxyribonukleosidtriphosphat	dNTP	Invitek, Berlin
Dimethylsulfoxid	DMSO	Merck, Darmstadt
Essigsäure (100 %)	Eisessig	Roth, Karlsruhe
Ethylendiamintetraessigsäure (0,5M)	EDTA	Roth, Karlsruhe
Formaldehyd (37 %)	CH ₂ O	Merck, Darmstadt
Formamid	CH ₃ NO	Merck, Darmstadt/ Amersham Pharmacia Biotech, England
Gel 30		Roth, Karlsruhe
Isoamyl-Alkohol		Roth, Karlsruhe
Isopropanol		Roth, Karlsruhe
IR-Primer		MWG Biotech, Ebersberg
Magnesiumchlorid (25mM)	MgCl ₂	Inviteck, Berlin
Natriumthiosulfat-Pentahydrat	Na ₂ S ₂ O ₃	Roth, Karlsruhe
TiTag		JKI, Quedlinburg
Titriplex III		Merck, Darmstadt
Trichlormethan	Chloroform	Roth, Karlsruhe

Tab. A2: Feste Chemikalien

Chemikalie	Abkürzung	Hersteller
Agarose		Life Technologies, USA
Borsäure		Roth, Karlsruhe
Bromphenolblau		Serva, Heidelberg
Hexadecetyltrimethylammoniumbromid	CTAB	Ferak, Berlin
Ethidiumbromid		Serva, Heidelberg
Harnstoff		Roth, Karlsruhe
Natriumcarbonat	Na ₂ CO ₃	Roth, Karlsruhe
Natriumchlorid	NaCl	Roth, Karlsruhe
Natriumhydroxid	NaOH	Roth, Karlsruhe
Polyvenylpyrrolidone	PVP 15	Roth, Karlsruhe
Silbernitrat	AgNO ₃	Roth, Karlsruhe
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan	Tris	Roth, Karlsruhe
Xylencyanol		Serva, Heidelberg

Zusammensetzung der Lösungen für die RAPD-Gele:**Harnstoffdiluent**

252,0 g Harnstoff
 56,1 ml 10 x TBE Puffer
 220,2 ml dd H₂O

APS (10 %)

2 g Ammoniumperoxodisulfat
 20 ml dd H₂O

Zusammensetzung 10 x TBE-Puffer

0,90 M Tris
 0,90 M Borsäure
 0,02 M EDTA

1 x TBE Puffer

0,090 M Tris
 0,090 M Borsäure
 0,002 M EDTA

Färbung der RAPD-Gele:**Silbernitratlösung**

11,76 mM Silbernitrat
 21,66 mM Formaldehyd

Entwickler Lösung (Natriumcarbonat-Lösung)

94,34 mM Natriumcarbonat
 1,60 ml 1 % Natriumthiosulfat
 (800 µl Natriumthiosulfat-Pentahydrat, 2 l A. doppeldest.)
 21,66 mM Formaldehyd

ITS-Sequenzierung:

10x TBE-Puffer für Agarosegelelektrophorese je Liter

108,0 g TRIS
55,0 g Borsäure
40,0 ml EDTA-Stammlösung

Ad A. bidest. ad 1 l, Verwendung: 0,5 x TBE-Puffer

10x TBE-Lauf-Puffer für Polyacrylamidgelelektrophorese je Liter

162,0 g (1340 mM) TRIS-Base
27,5 g (450 mM) Borsäure
9,3 g (25 mM) Titriplex III

Ad A. bidest. 1 l, pH 1 x TBE bei 50 °C zwischen 8,3 und 8,7

Quantifizierung der DNA mit dem DyNA Quant 200, der Messwert bei 2000 entspricht hierbei einer DNA-Konzentration von 20 µl/ ml)

Farbstoff: H33258

10,000 mg Hoechst 33258
10,000 ml Dest. H₂O

Calfthymus DNA

20,000 ng/ µl dilution Sigma

Kapillare: Pharmacia Biotech

TNE-Puffer

12,110 g (100 mM) Tris-Base
3,720 g (10 mM) EDTA
116,890 g (2 M) NaCl

Ad A. bidest 0,800 l

pH 7,4 mit konzentrierter HCl, ad A. dest. auf 1l

Tab. A3: Detaillierte Beschreibung, der in dieser Arbeit verwendeten *Gaultheria*-Arten. Aufgeführt ist die Art und deren Sektionszugehörigkeit, das Vorkommen, die Größe und das Wachstum der Arten als auch Befruchtungsart, Chromosomenanzahl, Beerencharakterisierung und Blattgröße.

Sektion/Art	Vorkommen	Größe und Wachstum	Befruchtung	Anzahl	Beere	Blatt
			G=gynodiözisch H=hermaphrodit	Chromosomen		
1. <i>Gaultheria</i>						
<i>G. procumbens</i> L.	Nordamerika ^l , Temperate Nordamerika ^b	langsam wachsend, kriechend mit aufrechten Trieben bis 15 cm ⁿ		2n=22,n=22, 24, 44 ^k , 2n=24 ^d	dunkelrot ⁿ	2-5 cm x 1-3 cm ⁿ
2. <i>Chiogenopsis</i> Middleton						
<i>G. hispidula</i> (L.) Muhlenb.	Nordamerika, Japan, Himalaya ^l	kriechend ⁿ		2n=24 ^h 2n=22 ^k		2,5-10 mm x 1,5-6,5 mm ⁿ
<i>G. trichophylla</i> Royle.	Ost-Himalaya und Südwestchina ^l , China (West Yunann, Südosttibet, Sichuan), Burma, Bhutan, Indien, Nepal, Pakistan ^{bi}	ausbreitend, niederliegend Bodendecker bis 10 cm ⁿ , 7,5-15 cm, ausbreitend bis niederliegend ^g		2n= 44 ^k	Kapsel, blau, fleischiger Calyx ⁿ , Kapsel, blau, fleischiger Calyx ^g	2-10 mm x 1,5-4 (selten bis 8,5) mm ⁿ , 3-14 mm x 2-6 mm ^g
<i>G. trichophylla</i> Royle - Indien	Indien, Himalaya Rothag Pass, 4000 m ^x					
<i>G. trichophylla</i> Royle - Nepal	Nepal: Langtag Gebiet ^x					
<i>G. trichophylla</i> Royle Pakistan	Pakistan-Südwestchina, 2700-4500 m ^x					
<i>G. thymifolia</i> Stapf ex Airy Shaw	Ost-Himalaya und Südwestchina ^l	ausbreitend, niederliegend Bodendecker bis 15 cm ⁿ , 2,5-10 cm, Matten bildend, niederliegend ^g		2n=44 ^k	Kapsel, blass blau, fleischiger Calyx ⁿ , Kapsel, fleischig, weiß bis gelegentlich pink ^g	4-9 mm x 1-3 mm ⁿ 5-8,5 mm x 1,3-2,5 mm ^g

Anhang

Sektion/Art	Vorkommen	Größe und Wachstum	Befruchtung	Anzahl	Beere	Blatt
			G=gynodiözisch H=hermaphrodit	Chromosomen		
3. <i>Amblyandra</i> Airy-Shaw						
<i>G. humifosa</i> (Grah.) Rydb.	Nordamerika, Japan ^l Temperate Nordamerika ^b	kriechend, bis 10 cm ⁿ			Kapsel, rot, fleischiger Calyx ⁿ	4-20 mm x 4-14 mm ⁿ
<i>G. adenthrix</i> (Miq.) Maxim.	Nord Amerika, Japan ^l	kurzästig, Triebe bis 30 cm ⁿ		2n=22 ^k , 2n=44	Kapsel, fleischi- ger Calyx ⁿ	1-3 cm x 5- 20 mm ⁿ
6. <i>Monoanthe mona</i> Middleton						
<i>G. amoena</i> A. C. Smith	Westliches Südamerika, Neuseeland, Tasmanien, Neuguinea ^l	Halbstrauch, 10–30 cm ^j		2n=22 ^j	globöse Calyx, glabrous weiß ^j	(1-)1,5-2,6 (-3,5) x (0,7-)1-2 cm ^j
<i>G. antipoda</i> G. Forst. fil.	Neuseeland ^x , Australasia ^l , Neuseeland ^b , Tasmanien ^{cd}	aufrecht, ausbreitend, 2 m ⁿ	H ^e	2n=22 ^{cdk}	Kapsel, rot oder purpur, fleischi- ger Calyx ⁿ	7-15 mm x 5-12 mm ^{fn}
<i>G. depressa</i> Hook. fil	Neuseeland ^x , Australasia ^l	kurzästig, 30 cm ⁿ	H ^e	2n=22	Kapsel, weiß, pink oder rot, fleischiger Calyx ⁿ	3-10 mm x 3-7 mm ⁿ
<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i> D. A. Franklin	Neuseeland ^b		G ^e			
<i>G. phillyreifolia</i> (Pers.) Sleum.	Südamerika ^x , Temperier- tes Südamerika ^l	aufrecht, bis 2 m ⁿ			Kapsel, rot- braun, fleischi- ger Calyx ⁿ	8-22 mm x 3-10 mm ^f
7. <i>Pernettya</i> (Gaud.) Middleton						
<i>G. macrostigma</i> (Colenso) Middleton	Neuseeland ^{xmb} , Westliches Südamerika, Neuseeland, Tasmanien, Zentralamerika ^l	halb-aufrecht bis kurzäs- tiger, Busch 50 cm hoch, Matten bildend ⁿ	G ^e		Beere , pink bis rot, teilweise fleischiger Calyx ⁿ	6-12 mm x 1-1,5 mm ⁿ

Anhang

Sektion/Art	Vorkommen	Größe und Wachstum	Befruchtung	Anzahl	Beere	Blatt
			G=gynodiözisch H=hermaphrodit	Chromosomen		
<i>G. mucronata</i> (L. fil.) Hook. & Arn.	Südamerika ^x , (Westliches Südamerika, Neuseeland, Tasmanien, Zentralamerika) ^l , Südchile und Argentinien ^m , Temperiertes Südamerika ^b	aufrechter Busch bis 1,5 m hoch ⁿ	G ^e	2n=66	Beere , weiß, pink, violett bis blau, Calyx kaum verändert ⁿ	5-14 mm x 3-6 mm
<i>G. myrsinoides</i> Humb., Bonpl. & Kunth	Westliches Südamerika, Neuseeland, Tasmanien, Zentralamerika ^l , Bergen von Zentralamerika und den Anden von Südamerika ^m	kurzästiger bis halbaufrechter Busch ⁿ	G ^e	2n=44 ^k	Beere , pink bis schwarz, in einigen Formen leicht fleischig ⁿ	6-22 mm x 4-9 mm
<i>G. parvula</i> , Middleton; ex <i>P. nana</i> Colenso	Westliches Südamerika, Neuseeland, Tasmanien, Zentralamerika ^l	schmall kurzästig ⁿ	G ^e		Beereⁿ Beere , weiß oder pink, dünn fleischig ^m	2-4 mm x 0,5-1,5 mm ⁿ
8. <i>Pseudogaultheria</i> (Sleum.) Middleton						
<i>G. insana</i> (Molina) Middleton.	Temperiertes Südamerika ^l , Süd Chile, Argentinien ^m , Temperiertes Südamerika ^e	aufrecht, bis 50 cm ⁿ	Diözisch ^m	2n=44 ^k ; 2n=66 ^c ,	Beere , bräunlich rot, teilweise fleischiger Calyx ⁿ	2,5-5 cm x 1,2-2,5 cm
10. <i>Brossaea</i> (L.) Middleton						
<i>G. erecta</i> Vent.	Südamerika ^{xl}	aufrecht bis brückenförmig, Busch bis kleiner Baum (0,1-) 0,5-3 (-7,5) m ^{lg}		2n=22 ^j		(2-)5-11 cm x (1-) 2,5-6,5 cm ^j
<i>G. reticulata</i> H.B.K.	Südamerika ^x , Westliches Südamerika ^l	aufrecht, 0,1-6 m ^j		2n=44 ^k ; 2n=44 ^j		1,5-5,5(-7) x 0,8-2(-3) cm ^j

Anhang

Sektion/Art	Vorkommen	Größe und Wachstum	Befruchtung	Anzahl Chromosomen	Beere	Blatt
			G=gynodiözisch H=hermaphrodit			
<i>G. tomentosa</i> H.B.K.	Südamerika ^l	aufrecht, 0,2-4 m ^j		2n=22 ^j		(1,2-)2,5-5(-7,5) x 0,6-1,4(-2,4) cm ^j
<i>G. hispida</i> R. Br.	Südaustralien, Tasmanien ^l , Australien, Tasmanien ^b	aufrecht, bis 2 m ⁿ		2n=22 ^k	Kapsel, weiß, fleischiger Calyx ⁿ	1-5,5 cm x 5-16 mm ⁿ
<i>G. fragrantissima</i> Wall.	China ^x Himalaya, Südwestchina ^l	aufrecht bis kleiner Baum, bis 8 m ⁿ , Busch, selten kleiner Baum, 0,25-4 m, aufrecht, bogenförmig oder hängend ^g		2n=22 ^a	Kapsel, blau fleischiger Calyx Kapsel, fleischig, tiefes purpur bis schwarz ^g	3-14 mm x 1,5-7 cm ⁿ 6,9-17 x 2,4- 7,4 cm ^g
<i>G. cuneata</i> Bean	Westchina ^{xcd} Himalaya, Südostasien, Malaysia ^l	kurzästig, bis 50 cm ⁿ , 8-20 cm ^g		2n=22 ^{cdk}	Kapsel, weiß fleischiger Calyx ⁿ weiß bis rot, fleischig, Kapsel ^g	7-27 mm x 4-13 mm ⁿ 1,9-3,5 cm x 0,7-1,2 cm ^g
<i>G. forrestii</i> Diels	Himalaya, Südwestchina ^l	aufrecht, bis 1 m ⁿ			Kapsel, blau fleischiger Calyx ⁿ	4-9 cm x 2-3 cm ⁿ
<i>G. griffithiana</i> Wight var. <i>insignis</i> R.C. Fang	Himalaya ^{cdl} Südostasien, Malaysia ^l	Strauch, selten kleiner Baum, 1-6 m, aufrecht bis brücken- bzw. bogenförmig ^g		2n=44 ^{cdk}	Kapsel, tiefes purpur bis schwarz ^g	6,7-15,8 x 2,5-5,1 cm ^g
<i>G. hookeri</i> C. B. Clarke (<i>G. veitchiana</i> Craib)	Himalaya, Südwestchina ^l ,	aufrecht, bis 1,5 m ⁿ , 0,3-3 m, aufrecht bis gelegentlich kurzästig ^g			Kapsel, weiß bis violett fleischi- ger Calyx ⁿ , Kap- sel, blau bis blau stellenweise weiß, fleischig ^g	1-7 cm x 7- 30 mm ⁿ 3- 12,7 x (0,8-) 1,3-4 cm ^g

Anhang

Sektion/Art	Vorkommen	Größe und Wachstum	Befruchtung	Anzahl	Beere	Blatt
			G=gynodiözisch H=hermaphrodit	Chromosomen		
<i>G. itoana</i> Hayata	Himalaya, Südostasien, Malaysia ^l , Japan ^{cd} , Taiwan ^k	halb-aufrecht bis kurzästig, bis 20 cm ⁿ		2n=22 ^k , 2n=26 ^{cd}	Kapsel, weiß bis schwach pink, fleischiger Calyx ⁿ	7-14 x 3-7 mm ⁿ
<i>G. miqueliana</i> Takeda	Himalaya, Südostasien, Malaysia ^l	klein, schmal bis 30 cm ⁿ			Kapsel, weiß, fleischiger Calyx ⁿ	1,3-4 cm x 8-20 mm ⁿ
<i>G. leucocarpa</i> Blume	Südamerika ^x , Himalaya, Südostasien, Malaysia, Taiwan	aufrecht, bis 2 m ⁿ , 0,4-1,5 m, brückenförmig bis kletternd ^g	G ^e	2n=44 ^k	Kapsel, blau-schwarz, weiß oder pink, fleischiger Calyx ⁿ Kapsel, tief purpur bis schwarz, fleischig ^g	2-12 x 1-7 cm ⁿ 5,5 - 11 x 2,8 - 4,1 cm
<i>G. rupestris</i> (L. fil.) Don.	Neuseeland ^{bl}	aufrecht, 20-60 cm ⁿ	G ^e		Kapsel mit trockenem gleichbleibenden Calyx ⁿ	1-4 cm x 5-10 mm ⁿ
<i>G. apressa</i> A. W. Hill Synonym: <i>G. hispidida</i> R. Br.	Australien, Neuseeland ^{cd}			2n=22 ^{cd}		
<i>G. strigosa</i> Benth.	Südamerika ^x , Westl. Südamerika ^l				weiß ⁿ weiß ^j	(1,1-)1,5 cm-2,4 x 0,4-1 (-1,3) cm ^j

Anhang

Sektion/Art	Vorkommen	Größe und Wachstum	Befruchtung G=gynodiözisch H=hermaphrodit	Anzahl Chromosomen	Beere	Blatt
Arten ohne Sektionszugehörigkeit						
<i>G. merrilliana</i> Hort.						
<i>G. pyrolifolia</i> Hook. f. ex. C. B. Clarke	Himalaya, Ostnepal bis Südosttibet, Burma, 3300-4000 m ^x	3-50 cm, liegend ^g			Kapsel, fleischig, tiefes purpur ^g	1,4-3,7 x 0,8cm - 2,3 cm ^g
<i>G. rubra</i>	China, Temperiertes Asien ^x					
<i>Gaultheria x wisleyensis</i>		aufrecht, ausbreitend bzw. ausladend, bis 1 m ⁿ		2n=77 ^{cd}	Beere, purpurnes rot mit langem fleischigen Calyx die Basis umklammernd ⁿ	2,2-4,5 cm x 6-17 mm ⁿ

x = Angaben des Herausgebers (Bezugsquelle), (s. Tabelle A 4 im Anhang)

a) Apte et al. 2006 b) Bush et al. 2009b c) Callan 1941 d) Darlington und Wylie 1955 e) Delph et al. 2006 f) Franklin 1964
g) Fritsch et al. 2008 h) Löve und Löve 1973 i) Lu et al. 2010 j) Luteyn et al. 1995 k) Middleton und Wilcock 1990a
l) Middleton 1991a m) Middleton 1991b n) Middleton 1997

Tab. A4: Verwendetes Pflanzenmaterial, dessen Bezug und Zugangsdatum, die Form des Zuganges als Samen (SA), Steckling (ST) oder Pflanze (Pfl) sowie die Herkunft gemäß der Angaben des Herausgebers.

Nr.	Genotyp/Selektion	Bezug/Zugangsdatum	Samen (SA) Steckling (ST) Pflanze (Pfl)	Herkunft lt. Herausgeber
G 01	<i>G. miqueliana</i> Takeda	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 02	<i>G. procumbens</i> L.	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 03	<i>G. cuneata</i> (Rehd. Et Wils.) Bean	J. W. Goethe-Uni 205-0, 02.04.2007	ST	Unbekannt
G 04	<i>G. shallon</i> Pursh	Botan. Garten Frankfurt, J. W. Goethe-Uni 205-0, 02.04.2007	ST	Unbekannt
G 05	<i>G. procumbens</i> L.	Botan. Garten Frankfurt, J. W. Goethe-Uni 205-0, 02.04.2007	ST	Unbekannt
G 06	<i>G. cuneata</i> (Rehd. Et Wils.) Bean	Botan. Garten Frankfurt, J. W. Goethe-Uni 205-0, 02.04.2007	SA/ST	Unbekannt
G 07	<i>G. shallon</i> Pursh	Botan. Garten Frankfurt, J. W. Goethe-Uni 205-0, 02.04.2007	SA/ST	Unbekannt
G 08	<i>G. procumbens</i> L.	Botan. Garten Frankfurt, J. W. Goethe-Uni 205-0, 02.04.2007	SA	Unbekannt
G 09	<i>G. procumbens</i> L.	Ökolog.-Botan.-Garten Uni Bay- reuth,	ST	Unbekannt
G 10	<i>G. procumbens</i> L.	Ökolog.-Botan.-Garten, Uni Bay- reuth	SA	Unbekannt
G 11	<i>G. adenothrix</i> (Miq.) Maxim.	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1645, 11.04.2007		Japan
G 12	<i>G. antipoda</i> G. Forst	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz 56, 11.04.07,	Pfl	Neuseeland, Süd-Inseln, Lewis-Pass, 990 m
G 13	<i>G. cuneata</i> (Rehd. Et Wils.) Bean	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1646, 11.04.07 /27.06.07	Pfl	(West-China)
G 14	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i> D. A. Franklin	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 11.04.07 /27.06.07	Pfl	Neuseeland, Süd-Inseln, Lake Sylvester
G 15	<i>G. shallon</i> Pursh	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 11.04.07/27.06.2007	Pfl	Kanada, Brit. Kolumbien b. Sechelt, Caren Range, ca. 1200 m
G 16	<i>G. thymifolia</i> Stapf	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1649, 11.04.07	Pfl	(N-Burma, Yunnan)
G 17	<i>G. trichophylla</i> Royle	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 1, 11.04.07	Pfl	Indien, Himalaya Rothag Pass, 4000 m
G 18	<i>G. trichophylla</i> Royle	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 11.04.07	Pfl	Nepal: Langtag Gebiet
G 19	<i>G. trichophylla</i> Royle	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 11.04.07	Pfl	Pakistan-SW-China, 2700-4500 m
G 20	<i>G. leucocarpa</i> Blume	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1078, 11.04.07	Pfl/ST	(Süd-Amerika)
G 21	<i>G. macrostigma</i> (Colenso) Middleton	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz AC-1079, 11.04.07,	Pfl	Neuseeland, Rock and Pillar Rge. 10 km nördl. Middle March, 850 m
G 22	<i>G. mucronata</i> (L. f.) Hook. et Arn.	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1639, 11.04.07	Pfl	Süd-Argentinien, Stag River
G 23	<i>G. parvula</i> Middleton	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 11.04.07	Pfl	(Neuseeland) Süd-Insel, 600-1400 m
G 24	<i>G. pumila</i> (L.f.) D. J. Middleton = <i>G. empetrifolia</i>	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1498, 11.04.07	Pfl	Falkland-Inseln
G 25	<i>G. crassa</i> Allen x <i>depressa</i> Hook.f., Naturhybride	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 101, 11.04.07	Pfl	Neuseeland, Süd-Insel, Mt. Cook-Gebiet, Tas- man Valley, 1050 m
G 26	<i>G. rupestris</i> (L.f.) D. Don.	Forstbotan. Garten, Tharandt XX- THARF- S 1982/264, 11.04.07	ST	Botan. Garten Zürich
G 27	<i>G. miqueliana</i> Takeda	Forstbotan. Garten, Tharandt XX- O-THARF- S 1993/69, 11.04.2007	ST	Unbekannt
G 28	<i>G. shallon</i> Pursh	Forstbotan. Garten, Tharandt US- O-THARF-* S 1999/887, 11.04.2007	SA	Lake Mills, 150 m ü. NN, Olympic-NP Washington, USA

Anhang

Nr.	Genotyp/Selektion	Bezug/Zugangsdatum	Samen (SA) Steckling (ST) Pflanze (Pfl)	Herkunft lt. Herausgeber
G 29	<i>G. cuneata</i> (Rehd. Et Wils.) Bean	Forstbotan. Garten, Tharandt XX-O-THARF- S 1990/124, 11.04.07	ST	Botan. Garten der Uni Bergen, Norwegen
G 30	<i>G. mucronata</i> (L. f.) Hook. et Arn., 'Stag River'	Boomkwekerij Rein en Mark Bulk, Niederlande, 01.04.2007	Pfl	Unbekannt
G 31	<i>G. insana</i> (Molina) Middleton.	Boomkwekerij Rein en Mark Bulk, Niederlande, 01.04.2007	Pfl	Unbekannt
G 32	<i>G. x wisleyensis</i> 'Aalhorst'	Baumschule Plantentuin Esveld, Niederlande	Pfl	Unbekannt
G 33	<i>G. hookeri</i> Clarke = <i>G. veitchiana</i> Craib	Baumschule Plantentuin Esveld Niederlande,	Pfl/ST	Unbekannt
G 34	<i>G. insana</i> (Molina) Middleton.	Baumschule Plantentuin Esveld, Niederlande	Pfl	Unbekannt
G 35	<i>G. myrsinoides</i> H.B.K. 'Geofrey Herklot'	Baumschule Plantentuin Esveld, Niederlande	Pfl	Unbekannt
G 36	<i>G. procumbens</i> L.	Baumschule Plantentuin Esveld, Niederlande	Pfl	Unbekannt
G 37	<i>G. pumila</i> (L.f.) D. J. Middleton	Baumschule Plantentuin Esveld, Niederlande	Pfl	Unbekannt
G 38	<i>G. shallon</i> Pursh	Baumschule Plantentuin Esveld, Niederlande	Pfl	Unbekannt
G 39	<i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	Baumschule Plantentuin Esveld, Niederlande	Pfl	Unbekannt
G 40	<i>G. mucronata</i> (L. f.) Hook. et Arn. - männlich	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 41	<i>G. mucronata</i> (L. f.) Hook. et Arn. - weiblich	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 42	<i>G. depressa</i> Hook. fil	Jelitto Staudensamen GmbH	ST	Unbekannt
G 43	<i>G. miqueliana</i> Takeda	Jelitto Staudensamen GmbH	SA	Unbekannt
G 44	<i>G. procumbens</i> L.	Jelitto Staudensamen GmbH	SA/ST	Unbekannt
G 45	<i>G. shallon</i> Pursh	Jelitto Staudensamen GmbH	ST	Unbekannt
G 46	<i>G. hispidida</i> R. Br. = <i>G. apressa</i> .	B & T World Seeds, Frankreich	SA/ST	Unbekannt
G 47	<i>G. hispidula</i> (L.) Muhlenb.	B & T World Seeds, Frankreich	SA/ST	Unbekannt
G 48	<i>G. myrsinoides</i> H.B.K.	B & T World Seeds, Frankreich	SA/ST	Unbekannt
G 49	<i>G. procumbens</i> L.	B & T World Seeds, Frankreich	ST	Unbekannt
G 50	<i>G. procumbens</i> L. - 'Big Pearls'	Syngenta, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 51	<i>G. procumbens</i> L. - 'Winter Pearls' = Big Berry	Syngenta, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 52	<i>G. procumbens</i> L. - Auslese lange Beere	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Selektion Holz
G 53	<i>G. procumbens</i> L. - Auslese große Beere	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Selektion Holz
G 54	<i>G. x wisleyensis</i> 'Wisley Pearls' = <i>Gaulnettya</i>	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 55	<i>G. x wisleyensis</i> 'Wisley Pearl Select' = <i>Gaulnettya</i>	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 56	<i>G. x wisleyensis</i> 'Jingle Bells'	Quedlinburg, Blumenladen, 24.04.2007	Pfl	Unbekannt
G 57	<i>G. rubra</i>	Bonn, 26.04.2007	ST	Unbekannt
G 58	<i>G. shallon</i> Pursh	xx-0-Bonn-3294, 26.04.2007	SA	Unbekannt
G 59	<i>Gaultheria</i> sp.	China, 18.06.2007	SA/ST	China
G 60	<i>G. miqueliana</i> Takeda	Holz-Gartenbau GbR, Kleve	Pfl	Unbekannt
G 61	<i>G. adenothrix</i> (Miq.) Maxim.	USA, Corvallis PI 561150/CGAU 2.000, 21.06.2007	SA	Japan, Mt. Shirane

Anhang

Nr.	Genotyp/Selektion	Bezug/Zugangsdatum	Samen (SA) Steckling (ST) Pflanze (Pfl)	Herkunft lt. Herausgeber
G 62	<i>G. amoena</i> A. C. Smith	USA, Corvallis PI 548867/CGAU 20.000, 21.06.2007	SA	Ecuador, E of Laguna San Marcos
G 63	<i>G. strigosa</i> (L. fil.) Don.	USA, Corvallis PI 548874/CGAU 22.000, 21.06.2007	SA	Ecuador, 23 km E of Gualaceo in Paramos de Culebrillas
G 64	<i>G. reticulate</i> H.B.K.	USA, Corvallis PI 548872/CGAU 23.000, 21.06.2007, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service (USDA, ARS)	SA	Ecuador, Paroma de Tinajillas
G 65	<i>G. tomentosa</i> H.B.K.	USA, Corvallis PI 548873/CGAU 25.000, 21.06.2007, USDA, ARS	SA	Ecuador, Loma de Oro area
G 66	<i>G. erecta</i> Vent.	USA, Corvallis PI 548870/CGAU 26.000, 21.06.2007, USDA, ARS	SA	Ecuador, Cuenca-Las Cajas Recreational Area road
G 67	<i>G. phillyreifolia</i> (Pers.) Sleum.	USA, Corvallis PI 561161/CGAU 29.000, 21.06.2007, USDA, ARS	SA	Chile
G 68	<i>G. shallon</i> Pursh	USA, Corvallis CGAU 33/CGAU 33.000, 21.06.2007, USDA, ARS	SA	USA, Oregon
G 69	<i>G. hispidula</i> (L.) Muhlenb.	USA, Corvallis CGAU 39/CGAU 39.000, 21.06.2007, USDA, ARS	SA	USA, Vermont, Mt. Mansfield
G 70	<i>G. procumbens</i> L.	Botanischer Garten, Gießen, 27.06.2007	ST	Unbekannt
G 71	<i>G. shallon</i> Pursh	Botanischer Garten, TU Dresden, 62, Vancouver, Kanada, British Columbia, Coast Mountain, 28.06.2007	ST	Vancouver, Kanada, British Columbia
G 72	<i>G. procumbens</i> L.	Botanischer Garten, TU Dresden, 76, ehemalige Baumschule Tolkewitz/Dresden 28.06.2007	ST	Unbekannt
G 73	<i>G. shallon</i> Pursh	Fortsbotan. Garten, Tharandt US- O-THARF-* S 1999/887, 27.06.07	Pfl/ST	Lake Mills, 150 m ü. NN, Olympic-NP, Washing- ton, USA
G 74	<i>G. cuneata</i> (Rehd. Et Wils.) Bean	Fortsbotan. Garten, Tharandt, 27.06.07	Pfl/ST	Unbekannt
G 75	<i>G. griffithiana</i> var. <i>insignis</i> Wight	Fortsbotan. Garten, Tharandt, Steckling, 1997, 27.06.07	Pfl	unbekannt
G 76	<i>G. mucronata</i> (L. f.) Hook et Arn.	Fortsbotan. Garten, Tharandt, 27.06.07	Pfl	Unbekannt
G 77	<i>G. pyrolifolia</i>	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1495, 27.06.07	Pfl	Himalaya, O-Nepal bis SO-Tibet, Burma, 3300- 4000 m
G 78	<i>G. humifosa</i> (Grah.) Rydb.	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, R., C. Grah, RYDB, BIC cypress M's, 49° 20' N, 122° 48' W, 960 m, Vanc. 99/17 27.06.07	SA	Vancouver Island
G 79	<i>G. nummularoides</i> D. Don.	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 27.06.07	Pfl	Unbekannt
G 80	<i>G. empetrifolia</i> = <i>G. pumila</i> (L. fil.) Middleton	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1077, 27.06.07	Pfl	Süd-Amerika
G 81	<i>G. miqueliana</i> Takeda	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-1073, 27.06.07	Pfl	Japan
G 82	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i> D. A. Franklin	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 27.06.07	SA	Süd-Insel, Lake Pod ?
G 83	<i>Gaultheria</i> sp.	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, 27.06.07	SA	Unbekannt
G 84	<i>G. shallon</i> Pursh	Fortsbotan. Garten, Tharandt, 27.06.07	ST	Unbekannt
G 85	<i>G. cuneata</i> (Rehd. Et Wils.) Bean	Botan. Garten Marburg, Akznr.: 1973-1848, FAR-H, Heilpfl. und Gehölze, 08.08.2007	ST	Unbekannt

Anhang

Nr.	Genotyp/Selektion	Bezug/Zugangsdatum	Samen (SA) Steckling (ST) Pflanze (Pfl)	Herkunft lt. Herausgeber
G 86	<i>G. merrilliana</i> Hort.	Botan. Garten Marburg, Akznr.:1979-1608, FRH-H, 08.08.2007	ST	Unbekannt
G 87	<i>G. procumbens</i> L.	Botan. Garten Marburg, Akznr.:2002-43, FRH-H, 08.08.2007	Pfl/ST	Unbekannt
G 88	<i>G. shallon</i> Pursh	Botan. Garten Marburg, Akznr.:1978-2457, FRH-R, 08.08.2007	ST	Unbekannt
G 89	<i>G. hookeri</i> = <i>G. veitchiana</i> Craib	Botan. Garten Marburg, Akznr.:1982-1078, FRH-H, 08.08.2007	ST	Unbekannt
G 90	<i>G. trichophylla</i> Royle	Botan. Garten Marburg, Akznr.:1975-878, FAP-A(3), 08.08.2007	ST	Unbekannt
G 91	<i>G. procumbens</i> L.	Gönnebek, Ribnitz, Deutsch- land, 20. 09.2007	Pfl	Unbekannt
G 92	<i>G. procumbens</i> L. 'Very Berry'	Kiepenkerl, 25.10.2007	Pfl	Unbekannt
G 93	<i>G. procumbens</i> L.	Holz-Gartenbau GbR, Kleve, 25.10.2007	Pfl	Unbekannt
G 94	<i>G. procumbens</i> L.	Blumenladen, 30.10.2007, keine Informationen verfügbar	Pfl	Unbekannt
G 95	<i>G. procumbens</i> L.	Blumenladen, 30.10.2007	SA	Unbekannt
G 96	<i>G. shallon</i> Pursh	Blumen Hof Böhling, Neuenkirchen – Delmsen, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 97	<i>G. miqueliana</i> Takeda	Blumen Hof Böhling, Neuenkirchen – Delmsen, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 98	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i> D. A. Franklin	Marohn & Häger Pflanzen GmbH, Apen, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 99	<i>G. insana</i>	Blumen Hof Böhling, Neuenkirchen – Delmsen, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 100	<i>G. itoana</i> Hayata	Marohn & Häger Pflanzen GmbH, Apen, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 101	<i>G. procumbens</i> L.	Gartenbau Wensing, Kleve, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 102	<i>G. procumbens</i> L.	AEV Silber oHG, Ottersberg, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 103	<i>G. procumbens</i> L.	Marohn & Häger Pflanzen GmbH, Apen, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 104	<i>G. procumbens</i> L.	Van der Zalm, Niederlande, 13.11.2007	Pfl	Unbekannt
G 105	<i>G. mucronata</i> (L. f.) Hook. et Arn.	Blumenladen, 09.11.2007	SA	Unbekannt
G 106	<i>Gaultheria</i> sp.	Chile	Pfl.	Chile
G 107	<i>G. mucronata</i> (L. f.) Hook. et Arn.	Baumschule Renke zur Mühlen, 19.02.2008	SA	Unbekannt
G 108	<i>G. mucronata</i> (L. f.) Hook. et Arn.	Messe Gartenträume, Magde- burg, 04.02.08	SA	Unbekannt
G 109	<i>G. procumbens</i> L.	Baumschule Renke zur Mühlen, 19.02.2008	Pfl	Unbekannt
G 110	<i>G. procumbens</i> L.	Gärtnerei Otten GbR, Jever- Clevens, 19.02.2008	Pfl	Unbekannt
G 111	<i>G. procumbens</i> L.	Gärtnerei Otten GbR, Jever- Clevens, 19.02.2008	SA	Unbekannt
G 112	<i>G. procumbens</i> L.	Gärtnerei Otten GbR, Jever- Clevens, 19.02.2008	SA	Unbekannt
G 113	<i>G. hookeri</i> Clarke = <i>G. veitchiana</i> Craib)	Holz-Gartenbau GbR, Kleve, aus Bestand, 03.04.2008	Pfl	
G 115	<i>G. shallon</i> Pursh	Kanada	SA	Vancouver Island
G 116	<i>G. procumbens</i> L.	Jelitto Staudensamen GmbH, 12/2008	SA	Unbekannt
G 117	<i>G. depressa</i> Hook. fil	Jelitto Staudensamen GmbH, 12/2008	SA	Unbekannt

Anhang

Nr.	Genotyp/Selektion	Bezug/Zugangsdatum	Samen (SA) Steckling (ST) Pflanze (Pfl)	Herkunft lt. Herausgeber
G 118	<i>G. miqueliana</i> Takeda	Jelitto Staudensamen GmbH, 12/2008	SA	Unbekannt
G 119	<i>G. shallon</i> Pursh	Jelitto Staudensamen GmbH, 12/2008	SA	Unbekannt
G 120	<i>G. hispida</i> R. Br.	B & T World Seeds, Frankreich, 2008	SA	Unbekannt
G 121	<i>G. hispida</i> prov Tas	B & T World Seeds, Frankreich, 2008	SA	Unbekannt
G 122	<i>G. hispidula</i> (L.) Muhlenb.	B & T World Seeds, Frankreich, 2008	SA	Unbekannt
G 123	<i>G. insana</i>	B & T World Seeds, Frankreich, 2009	SA	Unbekannt
G 124	<i>G. miqueliana</i> Takeda	B & T World Seeds, Frankreich, 2008	SA	Unbekannt
G 125	<i>G. phillyreifolia</i> (Pers.) Sleum. var. <i>alba</i>	B & T World Seeds, Frankreich, 2009	SA	Unbekannt
G 126	<i>G. procumbens</i> L.	B & T World Seeds, Frankreich, 2009	SA	Unbekannt
G 127	<i>G. procumbens</i> 'Very Berry'	B & T World Seeds, Frankreich, 2009	SA	Unbekannt
G 128	<i>G. shallon</i> Pursh	B & T World Seeds, Frankreich, 2008	SA	Unbekannt
G 129	<i>Gaultheria</i> sp. (<i>G. fragrantissima</i> = <i>G. forrestii</i> ?)	Saatgut Holz-Gartenbau GbR, Kleve, 01.04.2009, 2 beige	SA	Unbekannt
G 130	<i>Gaultheria</i> sp. (<i>G. fragrantissima</i> = <i>G. forrestii</i> ?)	Saatgut, Holz-Gartenbau GbR, Kleve, 01.04.20093 dunkelbraun	SA	Unbekannt
G 131	<i>G. miqueliana</i> Takeda	B & T World Seeds, Frankreich, 2008, 2.4.2009	SA	Unbekannt
G 132	<i>G. pumila</i> white (L. fil.) Middleton = <i>G. empetrifolia</i>	B & T World Seeds, Frankreich, 2008, 2.4.2009	SA	Unbekannt
G 133	<i>G. nummularioides</i> D. Don.	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-, 07.07.09	Pfl	Unbekannt
G 134	<i>G. trichophylla</i> Royle	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-, 07.07.09	Pfl	Pakistan
G 135	<i>G. trichophylla</i> Royle	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-, 07.07.09	Pfl	Indien
G 136	<i>G. trichophylla</i> Royle	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-, 07.07.09	Pfl	Nepal
G 137	<i>G. adenothrix</i> (Miq.) Maxim.	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-, 07.07.09	Pfl	Unbekannt
G 138	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i> D. A. Franklin	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-, 07.07.09	Pfl	Unbekannt
G 139	<i>G. thymifolia</i> Stapf	Arktisch-Alpiner-Garten Chemnitz, AC-, 07.07.09	Pfl	Unbekannt

Tab. A5: In-vitro-Etablierung von Sprossspitzen ausgewählter *Gaultheria*-Arten in Abhängigkeit unterschiedlicher Sterilisationszeiten und Kulturdauer. n = Anzahl der untersuchten Explantate.

Nr.	Art	Sterilisationszeit (min)	Anz. Infektionen insgesamt	Anz. Verbräunungen insgesamt	n	Anz. Verbräunungen	Anz. etablierter Sprossteilstücke	Anz. neugebildeter Sprosse	n	Anz. etablierter Sprossspitzen	Anz. neugebildeter Sprosse	Anz. Wo nach Auswertung
					Sprossteilstücke				Sprossspitzen			
G 11	<i>G. adenothrix</i>	7	0	0	11	1	10	12	3	3	3	5
G 11	<i>G. adenothrix</i>	7	0	0	8	0	8	9	5	5	1	4
G 11	<i>G. adenothrix</i>	8	0	0	16	2	14	11	2	2	1	8
G 13	<i>G. cuneata</i>	7	0	0	11	0	11	18	5	5	0	4
G 03	<i>G. cuneata</i>	7	0	0	12	0	12	24	5	5	8	4
G 13	<i>G. cuneata</i>	8	0	0	7	2	5	1	2	2	2	6
G 13	<i>G. cuneata</i>	10	0	0	21	4	18	17	4	4	6	7
G 85	<i>G. cuneata</i>	12	0	4	1	1	0	0	10	6	0	6
G 13	<i>G. cuneata</i>	12	0	0	4	4	0	0	2	2	2	6
G 85	<i>G. cuneata</i>	15	0	7	1	1	0	0	10	3	0	6
G 85	<i>G. cuneata</i>	15	0	5	0	0	0	0	10	5	0	6
G 74	<i>G. cuneata</i>	10	0	0	13	0	13	11	4	4	0	7
G 14	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i>	5	0	0	11	5	11	2	9	6	0	5
G 14	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i>	8	0	5	15	15	0	0	5	0	0	8
G 14	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i>	8	0	1	8	7	1	1	3	2	1	6
G 14	<i>G. depressa</i> var. <i>novae-zealandiae</i>	12	0	4	14	11	3	1	4	0	0	6
G 80	<i>G. empetrifolia</i>	5	0	0	22	0	22	22	5	5	1	5
G 80	<i>G. empetrifolia</i>	8	0	6	5	0	5	4	9	3	1	8
G 46	<i>G. hispidida</i>	7	0	0	5	0	5	6	3	3	0	5
G 33	<i>G. hookeri</i>	7	0	0	5	0	5	9	3	3	7	5
G 99	<i>G. insana</i>	10	0	0	10	5	5	5	5	5	5	8

Anhang

Nr.	Art	Sterilisationszeit (min)	Anz. Infektionen insgesamt	Anz. Verbräunungen insgesamt	Sprosstleistücke				Sprossspitzen			Anz. Wo nach Auswertung
					n	Anz. Verbräunungen	Anz. etablierter Sprosstleistücke	Anz. neugebildeter Sprosse	n	Anz. etablierter Sprossspitzen	Anz. neugebildeter Sprosse	
G 31	<i>G. insana</i>	8	0	0	10	0	10	2	3	3	0	8
G 100	<i>G. itoana</i>	10	0	1	12	3	9	8	4	3	1	8
G 20	<i>G. leucocarpa</i>	5	1	0	14	2	11	3	6	5	0	5
G 20	<i>G. leucocarpa</i>	8	0	0	12	12	0	0	1	1	1	6
G 20	<i>G. leucocarpa</i>	12	0	0	12	9	3	0	2	2	2	6
G 21	<i>G. macrostigma</i>	5	0	0	9	0	9	17	3	3	4	5
G 21	<i>G. macrostigma</i>	8	0	0	13	12	1	0	3	3	3	8
G 21	<i>G. macrostigma</i>	8	0	0	10	4	6	6	2	2	2	6
G 21	<i>G. macrostigma</i>	12	0	0	14	8	6	6	3	3	3	6
G 86	<i>G. merrilliana</i>	10	0	0	21	9	13	18	7	7	8	8
G 86	<i>G. merrilliana</i>	12	0	9	0	0	0	0	10	1	0	6
G 86	<i>G. merrilliana</i>	12	0	8	6	6	0	0	10	2	0	6
G 86	<i>G. merrilliana</i>	12	0	4	0	0	0	0	6	2	0	6
G 86	<i>G. merrilliana</i>	12	0	5	0	0	0	0	10	5	0	6
G 86	<i>G. merrilliana</i>	15	0	4	0	0	0	0	10	6	0	6
G 86	<i>G. merrilliana</i>	15	0	3	5	5	0	0	10	7	0	6
G 86	<i>G. merrilliana</i>	15	0	3	0	0	0	0	10	7	0	6
G 86	<i>G. merrilliana</i>	15	0	0	0	0	0	0	1	1	0	6
G 97	<i>G. miqueliana</i>	10	0	0	13	6	7	6	4	4	2	8
G 40	<i>G. mucronata</i>	15	0	1	20	15	5	4	2	1	1	6
G 40	<i>G. mucronata</i>	7	0	0	17	0	17	24	7	7	3	5
G 40	<i>G. mucronata</i>	10	0	0	19	15	4	5	2	2	0	6
G 41	<i>G. mucronata</i>	10	0	2	24	7	17	10	2	0	1	6
G 41	<i>G. mucronata</i>	10	0	1	18	7	11	15	3	2	3	6
G 41	<i>G. mucronata</i>	15	0	0	32	17	15	14	3	3	2	6
G 41	<i>G. mucronata</i>	15	0	0	20	10	10	12	4	4	3	6
G 30	<i>G. mucronata</i> 'Stag River'	10	0	0	16	6	10	4	3	3	3	6

Anhang

Nr.	Art	Sterilisationszeit (min)	Anz. Infektionen insgesamt	Anz. Verbräunungen insgesamt	Sprosstleistücke				Sprossspitzen			Anz. Wo nach Auswertung
					n	Anz. Verbräunungen	Anz. etablierter Sprosstleistücke	Anz. neugebildeter Sprosse	n	Anz. etablierter Sprossspitzen	Anz. neugebildeter Sprosse	
G 22	<i>G. mucronata</i> 'Stag River'	10	0	0	27	4	23	17	5	5	5	7
G 30	<i>G. mucronata</i> 'Stag River'	15	0	0	22	13	9	6	3	3	3	6
G 48	<i>G. myrsinoides</i>	10	0	0	18	0	18	15	5	5	2	7
G 23	<i>G. parvula</i>	5	0	3	16	0	16	30	11	8	7	5
G 23	<i>G. parvula</i>	8	0	0	12	3	9	10	2	2	2	6
G 23	<i>G. parvula</i>	12	0	0	17	4	13	11	2	2	2	6
G 87	<i>G. procumbens</i>	7	0	0	6	1	6	4	3	3	3	5
G 72	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	15	0	13	9	5	5	3	7
G 36	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	13	2	11	9	6	6	7	7
G 103	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	18	2	18	16	11	11	9	7
G 87	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	9	0	9	9	5	5	6	7
G 08	<i>G. procumbens</i>	5	0	0	9	0	9	2	6	6	1	4
G 09	<i>G. procumbens</i>	5	0	0	5	1	4	5	2	2	4	4
G 36	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	10	0	10	1	6	6	4	8
G 50	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	15	0	15	15	4	4	0	8
G 51	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	10	1	9	4	6	5	3	8
G 53	<i>G. procumbens</i>	10	0	0	15	0	15	4	7	7	8	8
G 52	<i>G. procumbens</i>	12	0	0	10	0	10	3	6	6	2	8
G 24	<i>G. pumila</i>	5	0	0	21	0	21	0	9	9	0	5
G 24	<i>G. pumila</i>	8	0	2	14	14	0	0	2	0	0	6
G 37	<i>G. pumila</i>	8	0	2	7	7	0	0	2	0	2	6
G 24	<i>G. pumila</i>	12	0	1	12	12	0	0	1	0	0	6
G 37	<i>G. pumila</i>	12	0	3	9	9	0	0	3	0	3	6
G 57	<i>G. rubra</i>	7	0	0	3	0	3	2	3	3	3	5
G 26	<i>G. rupestris</i>	7	0	0	10	0	10	14	4	4	0	5
G 26	<i>G. rupestris</i>	7	0	0	8	0	8	1	4	4	0	5
G 38	<i>G. shallon</i>	10	0	0	15	0	15	15	2	2	2	8

Anhang

Nr.	Art	Sterilisationszeit (min)	Anz. Infektionen insgesamt	Anz. Verbräunungen insgesamt	Sprossteilstücke				Sprossspitzen			Anz. Wo nach Auswertung
					n	Anz. Verbräunungen	Anz. etablierter Sprossteilstücke	Anz. neugebildeter Sprosse	n	Anz. etablierter Sprossspitzen	Anz. neugebildeter Sprosse	
G 15	<i>G. shallon</i>	10	0	0	8	1	7	6	4	4	2	7
G 16	<i>G. thymifolia</i>	8	0	2	28	27	1	0	3	1	3	6
G 16	<i>G. thymifolia</i>	12	0	0	34	22	12	0	3	3	3	6
G 17	<i>G. trichophylla</i> Indien	8	0	3	11	11	0	0	5	2	0	8
G 18	<i>G. trichophylla</i> Nepal	8	0	2	8	4	4	2	2	0	0	6
G 18	<i>G. trichophylla</i> Nepal	12	0	0	10	2	8	5	2	2	0	6
G 90	<i>G. trichophylla</i>	10	0	0	8	0	8	7	5	5	4	7
G 32	<i>G. x wisleyensis</i> 'Aalhorst'	8	0	0	8	4	4	3	1	1	2	6
G 32	<i>G. x wisleyensis</i> 'Aalhorst'	12	0	0	12	3	9	7	2	2	1	6
G 56	<i>G. x wisleyensis</i> 'Jingle Bells'	7	0	0	17	0	17	17	2	2	0	5
G 56	<i>G. x wisleyensis</i> 'Jingle Bells'	10	0	0	6	0	6	1	1	1	0	7
G 39	<i>G. x wisleyensis</i> 'Pink Pixie'	10	0	0	21	0	21	27	3	3	2	8
G 55	<i>G. x wisleyensis</i> 'Wisley Pearl Select'	10	0	0	30	16	14	5	2	2	2	6
G 55	<i>G. x wisleyensis</i> 'Wisley Pearl Select'	15	0	0	30	13	17	8	2	2	2	6
G 54	<i>G. x wisleyensis</i> 'Wisley Pearls'	7	0	0	4	0	4	7	2	2	5	5
G 54	<i>G. x wisleyensis</i> 'Wisley Pearls'	7	0	0	6	0	6	13	4	4	7	5
G 54	<i>G. x wisleyensis</i> 'Wisley Pearls'	10	0	1	16	0	16	13	2	1	1	7

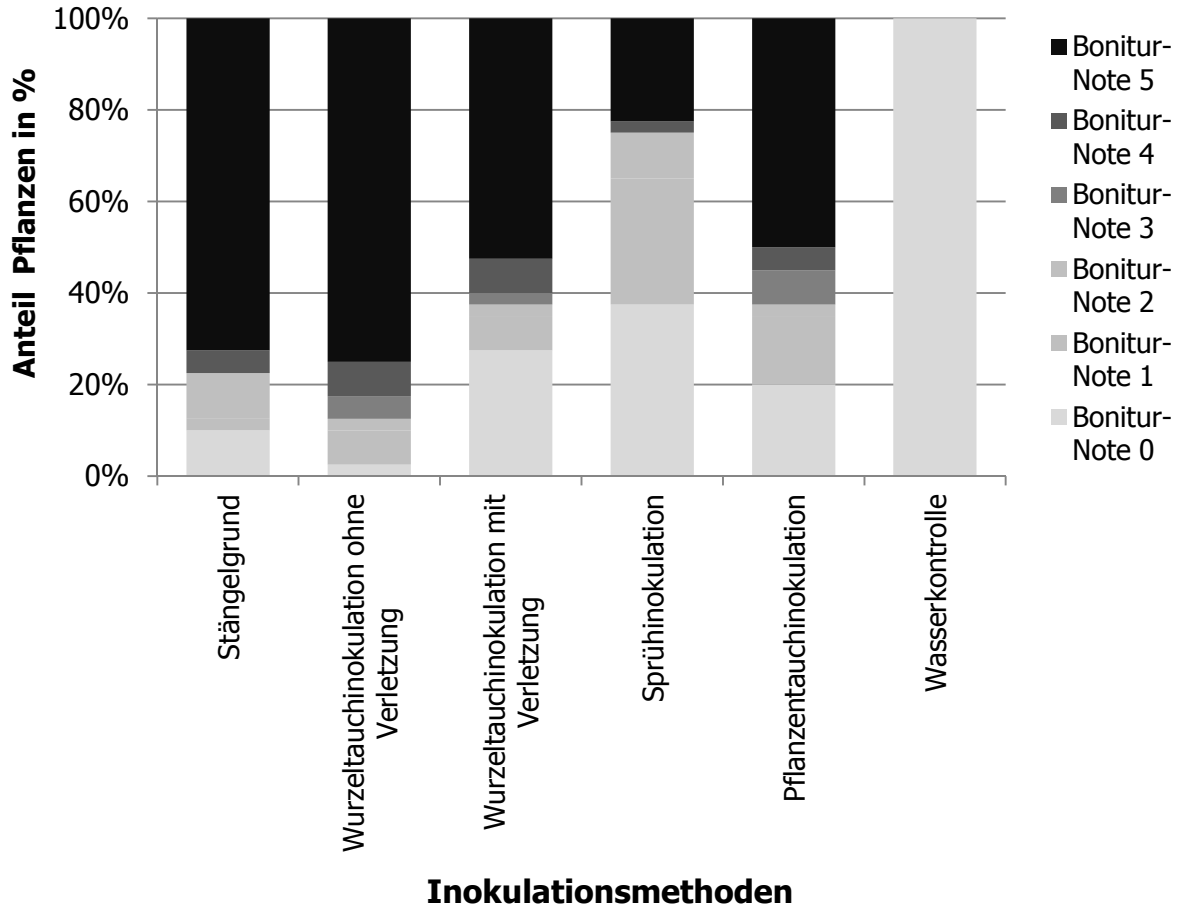


Abb. A1: Anteil der Pflanzen, die in innerhalb der verschiedenen Inokulationsmethodiken Symptome ausbildeten. Je Variante wurden 40 Pflanzen getestet. Das Schema der Boniturnoten ist dem Kapitel 3.2.5 zu entnehmen.

Tab. A6: ITS-Sequenzen der verwendeten *Colletotrichum*-Isolate

	1				50
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	CCAGCGAGTT	CTCCCTTGGC	CGGAAGGCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCC
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAT	AGAAATGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	CCAGCGAGTA	CTCCCTTGGC	CGGAAGGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	CCAGCGAGTA	CTCCCTTGGC	CGGAAGGCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	CCAGCGAGTT	CTCCCTTGGC	CGGAAGGCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-01	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-02	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-03	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-04	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-06	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-07	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-08	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-11	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-12	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-13	CCAGCGAGTA	CTTCCTTAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-14	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-15	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-16	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-17	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-18	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-19	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-20	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-21	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-22	CCAGCGAGTT	CTCCCTTGGC	CGGAAGGCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCC
P-23	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-24	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-25	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-26	CCAGCGAGTT	CTCCCTTGGC	CGGAAGGCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCC
P-27	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-28	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
P-29	CCAGCGAGTT	CTCCCTTGGC	CGGAAGGCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCC
P-30	CCAGCGAGTA	CTTCCTTGAC	TTAAAAGTCC	GGGTAATCTT	GTTAACTCT
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	CCAGCGAGTC	CTTCCTTGGC	CGAGAGGCC	GGGTAATCTT	GTTAACTGT
	31				100
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-01	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-02	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-03	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-04	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-06	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-07	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-08	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-11	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-12	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-13	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-14	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-15	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-16	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-17	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-18	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-19	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-20	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-21	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-22	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC

Anhang

P-23	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-24	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-25	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-26	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-27	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-28	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-29	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
P-30	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC
Außengruppe <i>M. grisea</i>	GTCGTGCTGG	GGATAGAGCA	TTGCAATTAT	TGCTCTTCAA	CGAGGAATCC

	101				150
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
<i>C. gloeosporioides</i> <i>Citrus</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
<i>C. gloeosporioides</i> <i>Papaya</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
<i>C. lindemuthianum</i> <i>Phaseolus</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
<i>C. trifolii</i> <i>Trifolium</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-01	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-02	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-03	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-04	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-06	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-07	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-08	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-11	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-12	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-13	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-14	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-15	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-16	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-17	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-18	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-19	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-20	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-21	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-22	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-23	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-24	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-25	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-26	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-27	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-28	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-29	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
P-30	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT
Außengruppe <i>M. grisea</i>	CTAGTAAGCG	CAAGTCATCA	GCTTGCGTTG	ATTACGTCCC	TGCCCTTTGT

	151				200
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
<i>C. gloeosporioides</i> <i>Citrus</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
<i>C. gloeosporioides</i> <i>Papaya</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
<i>C. lindemuthianum</i> <i>Phaseolus</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
<i>C. trifolii</i> <i>Trifolium</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-01	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-02	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-03	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-04	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-06	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-07	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-08	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-11	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-12	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG

Anhang

P-13	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-14	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-15	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-16	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-17	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-18	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-19	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-20	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-21	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-22	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-23	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-24	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-25	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-26	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-27	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-28	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-29	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
P-30	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	TGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG
Außengruppe <i>M. grisea</i>	ACACACCGCC	CGTCGCTACT	ACCGATTGAA	CGGCTCAGTG	AGGCTTTCCGG

201

250

<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	ACTGGCCCAG	AGAGGCGGGC	AAC.C..GCC	AC.TCAGGGC	CGGAAAGTTA
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	ACTGACCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	ACTGGCTCAG	AGAGGTGGGC	AACT...ACC	AC.TCAGAGC	CGGAAAGTTA
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	ACTGGCCCAG	AGAGGTGGGC	AACT...ACC	AC.TCAGGGC	CGGAAAGTTA
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	ACTGGCCCAG	AGAGGCGGGC	AAC.C..GCC	AC.TCAGGGC	CGGAAAGTTA
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	ACTGGCCCAG	AGAGGTGGGC	AACT...ACC	AC.TCAGGGC	CGGAAAGTTA
P-01	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-02	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-03	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-04	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-06	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-07	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-08	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-11	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-12	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-13	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-14	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-15	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-16	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-17	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-18	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-19	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-20	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-21	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-22	ACTGGCCCAG	AGAGGTGGGC	AACT...ACC	AC.TCAGGGC	CGGAAAGTTA
P-23	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-24	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-25	ACTGATCTAG	GNNNNNNNN	NNNNNTTCGC	CNCT...GGT	CGGAAAGTTA
P-26	ACTGGCCCAG	AGAGGTGGGC	AACT...ACC	AC.TCAGGGC	CGGAAAGTTA
P-27	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-28	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
P-29	ACTGGCCCAG	AGAGGTGGGC	AACT...ACC	AC.TCAGGGC	CGGAAAGTTA
P-30	ACTGATCTAA	GGGAGGAGGC	AACTCTTCCC	CC.T...GGT	CGGAAAGTTA
Außengruppe <i>M. grisea</i>	ACTGGCCCAG	AGAGGTGGGC	AAC.C..ACC	ACTCATGTGC	CGGAAAGTTG

251

300

<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT

Anhang

<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
<i>C. trifolii</i> <i>Tri folium</i>	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-01	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-02	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-03	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-04	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-06	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-07	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-08	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-11	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-12	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-13	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-14	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-15	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-16	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-17	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-18	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-19	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-20	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-21	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-22	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-23	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-24	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-25	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-26	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-27	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-28	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-29	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
P-30	TCCAAACTCG	GTCATTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT
Außengruppe <i>M. grisea</i>	TACGAACTCG	GTCGTTTAGA	GGAAGTAAAA	GTCGTAACAA	GGTCTCCGTT

301

350

<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TACCGCTC . .	TATAACCCTT
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TACCGCTCCT	TACAACCCTT
<i>C. lindemuthianum</i> <i>Phaseol us</i>	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TATAACCCTT
<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TACCGCTC . .	TATAACCCTT
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TGCAACCCTT
<i>C. trifolii</i> <i>Tri folium</i>	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTCC . .	ATAACCCTT
P-01	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-02	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-03	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-04	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-06	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-07	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-08	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-11	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-12	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-13	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-14	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-15	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-16	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-17	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-18	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-19	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-20	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-21	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-22	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TACCGCTC . .	TACAACCCTT
P-23	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-24	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-25	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-26	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TACCGCTC . .	TATAACCCTT
P-27	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-28	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT
P-29	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TACCGCTC . .	TACAACCCTT
P-30	GGTGAACCAG	CGGAGGGATC	ATTACTGAGT	TTACGCTC . .	TACAACCCTT

Anhang

Außengruppe <i>M. grisea</i>	GGTGAACCAG CGGAGGGATC ATTACTGAGT TGAAAAAC.. TCCAACCCC.	
	351	400
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	TGTGAACATA CCT..AACC GTTGCTTCGG CGGGCAGGGG AAGCCTCTC.	
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	TGTGAACATA CCTAC.AACT GTTGCTTCGG CGGGTAGG.. ..G..TCCCC	
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	TGTGAACATA CCTAC.AACT GTTGCTTCGG CGGGTAGG.. ..G..TCTCC	
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	TGTGAACATA CCC.CAAAC. GTTGCTTCGG CGGGCAGCCG GAG...CCCA	
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	TGTGAACATA CC.A..AACC GTTGCTTCGG CGGGC.GGG. AGG..TC...	
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	TGTGAACGTA CCT..AACC GTTGCTTCGG CGGGCAGGGG AAGCCTCTC.	
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGTAGG.. ..G..TCCCC	
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	TGTGAACATA CCT..AACC GTTGCTTCGG CGGGCAGGG. AGG..TCC..	
P-01	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-02	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-03	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-04	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-06	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-07	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-08	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-11	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-12	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-13	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-14	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-15	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-16	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-17	TGTGAACATA CCTAC.AACT GTTGCTTCGG CGGGTAGG.. ..G..TCTCC	
P-18	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-19	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-20	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-21	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-22	TGTGAACATA CCT..AACC GTTGCTTCGG CGGGCAGGGG AAGCCTCTC.	
P-23	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-24	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-25	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGTAGG.. ..G..TCTCC	
P-26	TGTGAACGTA CCT..AACC GTTGCTTCGG CGGGCAGGGG AAGCCTCTC.	
P-27	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGNAGG.. ..G..TCTCC	
P-28	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
P-29	TGTGAACATA CCT..AACC GTTGCTTCGG CGGGCAGGGG AAGCCTCTC.	
P-30	TGTGAACATA CCTAT.AACT GTTGCTTCGG CGGGCAGG.. ..G..TCTCC	
Außengruppe <i>M. grisea</i>	TGTGAACATA ACCTCTGTC. GTTGCTTCGG CGGGCACG.. ..	
	401	450
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GCGGGCC.TC CCCTCCCGG.CGCCGG .CCCC..ACC ACGGGGACGG	
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC...CC ...GGG.CGG	
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	GCG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCTCC..... ..GGG.CGG	
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	GC.....T. CCGTC...GC CCGGAGCCG. ...CCGT.CT .CGGCG.CG.	
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	CG..CC.TC CCC.CC.... ..T.G .CCCCG.... .C.TCG.CGG	
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	GCGGGCC.TC CCCTCCCGG.CGCCGG CCCCC..ACC ACGGGGACGG	
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GTG....AC CC.TCCCGGC C...C.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	GC..... .C.TCCC..CC.CCGG .CCCCG.... .C.TCG.CGG	
P-01	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-02	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-03	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-04	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-06	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-07	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-08	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-11	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-12	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-13	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-14	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-15	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-16	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-17	GCG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCTCC..... ..GGG.CGG	
P-18	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-19	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-20	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-21	GTG....AC CC.TCCCGGC C...T.CCCG CCCCC..... ..GGG.CGG	
P-22	GTGGGCGGAC CC.TCCCGG.CGCCGG .CCCCGT..C ACGGGGGGCGG	

Anhang

P-23	GTG AC	CC . TCCCGGC	C . . . T . CCCG	CCCCC GGG . CGG
P-24	GTG AC	CC . TCCCGGC	C . . . T . CCCG	CCCCC GGG . CGG
P-25	GTG AC	CC . TCCCGGC	C . . . T . CCCG	CCCCC GGG . CGG
P-26	GCGGGCC . TC	CCCTCCCGG CGCCGG	CCCCC . . ACC	ACGGGGACGG
P-27	GTG AC	CC . TCCCGGC	C . . . T . CCCG	CCCCC GGG . CGG
P-28	GTG AC	CC . TCCCGGC	C . . . T . CCCG	CCCCC GGG . CGG
P-29	GTGGGCGGAC	CC . TCCCGG CGCCGG	. CCCCCT . . C	ACGGGGGCGG
P-30	GTG AC	CC . TCCCGGC	C . . . T . CCCG	CCCCC GGG . CGG
Außengruppe <i>M . gri sea</i> CCCG	CC

451

500

<i>C . acutatum</i> <i>Cyclamen</i> GGC	CCG	CCG	AGG	A . AACC . AAA	CTCT . ATTTA	CACGACGTCT
<i>C . fragariae</i> <i>Fragaria</i>	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
<i>C . gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
<i>C . gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	CCCCA . . . C	CCG	CCG	CCG	ACCACC . AAA	CTCT . ATTTA	AACGACGTCT
<i>C . l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i> GGC	CCG	CCG	AGG	AAAACCC . AA	CTCT . ATTTT	AACGACGTCT
<i>C . lupini</i> <i>Lupinus</i> GGC	CCG	CCG	AGG	A . AACC . AAA	CTCT . ATTTA	CACGACGTCT
<i>C . musae</i> <i>Musa</i>	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
<i>C . trifolii</i> <i>Tri folium</i> GGC	CCG	CCG	AGG	AAAACCCAA	CTCTTATTTT	AACGACGTCT
P-01	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-02	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-03	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-04	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-06	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-07	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-08	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-11	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-12	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-13	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-14	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-15	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-16	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-17	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-18	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-19	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-20	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-21	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-22 A . CG	CCG	CCG	AGG	A . AACC . AAA	CTCT . ATTTA	CACGACGTCT
P-23	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-24	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-25	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-26 GGC	CCG	CCG	AGG	A . AACT . AAA	CTCT . ATTTA	CACGACGTCT
P-27	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-28	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
P-29 AGCG	CCG	CCG	AGG	A . AACC . AAA	CTCT . ATTTA	CACGACGTCT
P-30	G . . TCGG	C	CCG	CCG	ATAACC . AAA	CTCTGATTT .	AACGACGTTT
Außengruppe <i>M . gri sea</i>	GGAGGTTCAA	AACTCTTATT	TTTTCCAGTA

501

550

<i>C . acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	CTTCTGAGTG	GCACAAGCAA	ATAATTA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
<i>C . fragariae</i> <i>Fragaria</i>	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
<i>C . gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
<i>C . gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	CTTCTGAGTG	GCACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
<i>C . l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	CTTCTGAGTG	GCACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
<i>C . lupini</i> <i>Lupinus</i>	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
<i>C . musae</i> <i>Musa</i>	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
<i>C . trifolii</i> <i>Tri folium</i>	CTTCTGAGTG	GCACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-01	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-02	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-03	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-04	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-06	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-07	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-08	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-11	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-12	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCA	AAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT

Anhang

P-13	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-14	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-15	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-16	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-17	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-18	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-19	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-20	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-21	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-22	CTTCTGAGTG	GCACAAGCAA	ATAATTAATA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-23	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-24	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-25	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-26	CTTCTGAGTG	GCACAAGCAA	ATAATTAATA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-27	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-28	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-29	CTTCTGAGTG	GCACAAGCAA	ATAATTAATA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
P-30	CTTCTGAGTG	GTACAAGCAA	ATAATCAAAA	CTTTTAACAA	CGGATCTCTT
Außengruppe <i>M. grisea</i>	TCTCTGAGCC	TGAAAGACAA	ATAATCAAAA	CTTTCAACAA	CGGATCTCTT

551

600

<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
<i>C. lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-01	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-02	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-03	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-04	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-06	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-07	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-08	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-11	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-12	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-13	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-14	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-15	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-16	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-17	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-18	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-19	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-20	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-21	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-22	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-23	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-24	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-25	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-26	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-27	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-28	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-29	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
P-30	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT
Außengruppe <i>M. grisea</i>	GGTTCTGGCA	TCGATGAAGA	ACGCAGCGAA	ATGCGATAAG	TAATGTGAAT

601

650

<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCTCGCCA
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
<i>C. lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-01	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA

Anhang

P-02	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-03	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-04	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-06	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-07	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-08	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-11	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-12	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-13	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-14	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-15	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-16	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-17	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-18	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-19	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-20	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-21	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-22	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCTCGCCA
P-23	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-24	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-25	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-26	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCTCGCCA
P-27	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-28	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
P-29	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCTCGCCA
P-30	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCA
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	TGCAGAATTC	AGTGAATCAT	CGAATCTTTG	AACGCACATT	GCGCCCGCCG

	651				700
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GCATTCTGGC	GAGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCACC
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCACC
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCACC
<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	GCATTCTGGC	GAGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCACC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
<i>C. trifolii</i> <i>Tri folium</i>	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCACC
P-01	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-02	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-03	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-04	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-06	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-07	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-08	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-11	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-12	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-13	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-14	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-15	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-16	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-17	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-18	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-19	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-20	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-21	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-22	GCATTCTGGC	GAGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCACC
P-23	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-24	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-25	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-26	GCATTCTGGC	GAGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCACC
P-27	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-28	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
P-29	GCATTCTGGC	GAGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCACC
P-30	GCATTCTGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	GTATTCCGGC	GGGCATGCCT	GTTTCGAGCGT	CATTTCAACC	CTCAAGCTCT

	701				750
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GCTTGGTTTT	GGGGCCCC . A	CGGCACACGT	GGGCCCTTAA	AGGTAGTGGC

Anhang

<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CAGCTGATGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
<i>C. glaeosporioides</i> <i>Citrus</i>	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CAGCCGATGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
<i>C. glaeosporioides</i> Papaya	GCTTGGCGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTTCCGT	AGGCCCCGAA	ATACAGTGGC
<i>C. lindemuthianum</i> <i>Phaseolus</i>	GCTTGGCGTT	GGGGCTTCCA	CGGCTGACGT	GGGCCCTCAA	AGCAGTGGC
<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	GCTTGGTTTT	GGGGCCCC . A	CGGCACACGT	GGGCCCTTGA	AGGTAGTGGC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CAGCAGATGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
<i>C. trifolii</i> <i>Trifolium</i>	GCTTGGCGTT	GGGGCTTCCA	CGGCTGACGT	GGGCCCTCAA	AGCAGTGGC
P-01	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-02	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-03	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CG . CTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-04	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-06	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-07	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-08	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-11	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CAGCTGATGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-12	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-13	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-14	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-15	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-16	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-17	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CAGCCGATGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-18	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-19	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-20	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-21	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-22	GCTTGGTTTT	GGGGCCCC . A	CGGCCGACGT	GGGCCCTTAA	AGGTAGTGGC
P-23	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-24	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-25	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CAGCTGATGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-26	GCTTGGTTTT	GGGGCCCC . A	CGGCCGACGT	GGGCCCTTAA	AGGTAGTGGC
P-27	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CAGCTGATGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-28	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
P-29	GCTTGGTTTT	GGGGCCCC . A	CGGCCGACGT	GGGCCCTTAA	AGGTAGTGGC
P-30	GCTTGGTGTT	GGGGCCCT . A	CGGCTGACGT	AGGCCCTCAA	AGGTAGTGGC
Außengruppe <i>M. grisea</i>	GGCTTGGTGT	TGGGGCGCCC	GGGCCCTCCG	CGGCCCGGGG	CCCCAAGTT

751

800

<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	AC . TAACGTC	TGCACTGGG
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
<i>C. glaeosporioides</i> <i>Citrus</i>	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
<i>C. glaeosporioides</i> Papaya	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACATACCACC	TGCACTGGG
<i>C. lindemuthianum</i> <i>Phaseolus</i>	GGACCCTCGC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACATACCACC	TGCACTGGG
<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	AC . TAACGTC	TGCACTGGG
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
<i>C. trifolii</i> <i>Trifolium</i>	GGACCCTCGC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACATACCACC	TGCACTGGG
P-01	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-02	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-03	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-04	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-06	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-07	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-08	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-11	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-12	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-13	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-14	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-15	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-16	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-17	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-18	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-19	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-20	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-21	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-22	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	AC . TAACGTC	TGCACTGGG
P-23	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-24	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-25	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TGCACTGGG
P-26	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	AC . TAACGTC	TGCACTGGG

Anhang

P-27	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TCGCACTGGG
P-28	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TCGCACTGGG
P-29	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	AC.TAACGTC	TCGCACTGGG
P-30	GGACCCTCCC	GGAGCCTCCT	TTGCGTAGTA	ACTTTACGTC	TCGCACTGGG
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	CATCGGCGGG	CTCGGCGGTA	CACTGAGCGC	AGTAAAACGC	GGTAAAACGC

	801				850
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	CCAATTTTTT	AC.A..GGTT
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	CCAATTTT..	.CCAAAGGTT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	CCAATTTT..	.CCAAAGGTT
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	ATCCGGAGGG	.ACTCCTGCC	GTAAAACCCC	CCAATTTT..	CC.AAAGGTT
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	ACCCGCAGGG	CACTCCTGCC	GTAAAACCCC	CCAATTTT.A	AC.AA.GGTT
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	ATCC.GGAGG	G.ACTCTTGC	CGTAAAACCC	CCCAATTCCT	TAC.A.GGTT
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	CCAATTTT..	.CCAAAGGTT
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	ACCCGCAGGG	CACTCCTGCC	GTAAAACCCC	CCAATTTTTT.	AC.AA.GGTT
P-01	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-02	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-03	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-04	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-06	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-07	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-08	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-11	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-12	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-13	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-14	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-15	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-16	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-17	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	CCAATTTT..	.CCAAAGGTT
P-18	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-19	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-20	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-21	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-22	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	CAAATTTTTT	.C.A..GGTT
P-23	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-24	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-25	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-26	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	CAAATTCCTT	AC.A..GGTT
P-27	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-28	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
P-29	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	CAAATTTTTT	.C.A..GGTT
P-30	ATCCGGAGGG	.ACTCTTGCC	GTAAAACCCC	C.AATTTT..	.CCAAAGGTT
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	GAACCTCGTT	CGGATCGTCC	CGGCGTGCTC	CAGCCGCTAA	ACCCCAATT

	851				900
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-01	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-02	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-03	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-04	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-06	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-07	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-08	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-11	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-12	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-13	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-14	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC

Anhang

P-15	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-16	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-17	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-18	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-19	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-20	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-21	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-22	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAC	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-23	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-24	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-25	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-26	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-27	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-28	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-29	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAC	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
P-30	GACCTCGGAT	CAGGTAGGAA	TACCCGCTGA	ACTTAAGCAT	ATCAATAAGC
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	TTTTAAAGGT	TGACCTCGGA	TCAGGTAGGA	ATACCCGCTG	AACTTAAGCA

	901				950
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCCC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
<i>C. fragari ael</i> <i>Fragaria</i>	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
<i>C. gl oespori oi des</i> <i>Ci trus</i>	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
<i>C. gl oespori oi des</i> Papaya	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
<i>C. I i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCCC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
<i>C. Lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCCC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCCC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-01	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-02	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-03	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-04	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-06	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-07	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-08	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-11	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-12	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-13	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-14	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-15	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-16	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-17	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-18	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-19	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-20	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-21	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-22	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCCC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-23	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-24	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-25	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-26	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCCC	AGTAACGGCG	AGTGAAGC . G
P-27	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-28	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-29	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCCC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
P-30	GGAGGAAAAG	AAACCAACAG	GGATTGCCTC	AGTAACGGCG	AGTGAAGCGG
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	TATCAATAAG	CGGAGGAAAA	GAAACCAACA	GGGATTGCC	CAGTAACGGC

	951				1000
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC . CA	GG . CCCGAGT	TGTAATTTGC
<i>C. fragari ael</i> <i>Fragaria</i>	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC . TA	GG . CCCGAGT	TGTAATTTGC
<i>C. gl oespori oi des</i> <i>Ci trus</i>	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC . CA	GG . CCCGAGT	TGTAATTTGC
<i>C. gl oespori oi des</i> Papaya	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCCCC	GGGTCCGAGT	TGTAATTTGC
<i>C. I i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCCCCA	GGGCCCGAGT	TGTAATTTGC
<i>C. Lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC . CA	GG . CCCGAGT	TGTAATTTGC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC . CA	GG . CCCGAGT	TGTAATTTGC
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCCCCA	GGGCCCGAGT	TGTAATTTGC
P-01	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC . CA	GG . CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-02	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC . CA	GG . CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-03	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC . CA	GG . CCCGAGT	TGTAATTTGC

Anhang

P-04	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-07	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-08	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-11	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .TA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-12	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-13	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-14	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-15	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-16	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-17	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-18	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-19	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-20	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-21	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-22	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-23	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-24	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-25	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .TA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-26	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-27	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .TA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-28	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-29	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
P-30	CAACAGCTCA	AATTTGAAAT	CTGGCCC .CA	GG .CCCGAGT	TGTAATTTGC
Außengruppe <i>M . gri sea</i>	GAGTGAAGCG	GCAACAGCTC	AAATTTGAAA	TCTGGCCCCC	CGG .CCCGAG

	1001				1050
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	AGAGGATGCT	TTTGGCGCGG	TGCCTTCCGA	GTTCCCTGGA	ACGGGACGCC
<i>C. fragari ael</i> <i>Fragaria</i>	AGAGGATGCT	TTTGGTGCGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	AGAGGATGCT	TTTGGTGCGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Papaya</i>	AGAGGATGCT	TTTGGCGCGG	TGCCTTCCGA	GTTCCCTGGA	ACGGGACGCC
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	AGAGGATGCT	TTTGGCGCGG	TGCCTTCCGA	GTTCCCTGGA	ACGGGACGCC
<i>C. lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	AGAGGATGCT	TTTGGCGCGG	TGCCTTCCGA	GTTCCCTGGA	ACGGGACGCC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	AGAGGATGCT	TTTGGTGCGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
<i>C. tri fol ii</i> <i>Tri fol i um</i>	AGAGGATGCT	TTGGGCGCGG	TGCCTTCCGA	GTTCCCTGGA	ACGGGACGCC
P-01	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-02	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-03	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-04	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-06	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-07	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-08	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-11	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-12	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-13	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-14	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-15	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-16	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-17	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-18	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-19	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-20	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-21	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-22	AGAGGATGCT	TTTGGCGCGG	TGCCTTCCGA	GTTCCCTGGA	ACGGGACGCC
P-23	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-24	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-25	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-26	AGAGGATGCT	TTTGGCGCGG	TGCCTTCCGA	GTTCCCTGGA	ACGGGACGCC
P-27	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-28	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
P-29	AGAGGATGCT	TTTGGCGCGG	TGCCTTCCGA	GTTCCCTGGA	ACGGGACGCC
P-30	AGAGGATGCT	TTTGGTGAGG	TGCCTTCCAA	GTTCCCTAGA	ACGGGACGCC
Außengruppe <i>M . gri sea</i>	TTGTAATTTG	CAGAGGATGC	TTTTTGGTGAG	GCACCTACCG	AGTCCCCTGG

	1051				1100
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACGGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAGGCTC
<i>C. fragari ael</i> <i>Fragaria</i>	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAGGCTC
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAGGCTC
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Papaya</i>	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACGGTTGGAC	ACCAAGCCTG	TGTAAGGCTC

Anhang

<i>C. lindemuthianum</i> Phaseolus	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACGGTTGGAC	ACCAAGCCTG	TGTAAAGCTC
<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACGGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
<i>C. trifolii</i> <i>Trifolium</i>	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACGGTTGGAC	ACCAAGCCTG	TGTAAAGCTC
P-01	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-02	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-03	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-04	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-06	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-07	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-08	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-11	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-12	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-13	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-14	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-15	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-16	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-17	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-18	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-19	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-20	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-21	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-22	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACGGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-23	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-24	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-25	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-26	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACGGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-27	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-28	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-29	ATAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACGGTTGGAC	ACCAAGCCTT	TGTAAAGCTC
P-30	AGAGAGGGTG	AGAGCCCCGT	ACAGTTGGAC	ACCGAGCCTT	TGTAAAGCTC
Außengruppe <i>M. grisea</i>	AATGGGGCGC	CATAGAGGGT	GAGAGCCCCG	TATGGTAGGA	CGCCGAACCT

	1101				1150
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCTAAATG	GGAGGTACAT
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
<i>C. glabrosporioides</i> <i>Citrus</i>	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
<i>C. glabrosporioides</i> <i>Papaya</i>	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
<i>C. lindemuthianum</i> <i>Phaseolus</i>	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
<i>C. lupini</i> <i>Lupinus</i>	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCTAAATG	GGAGGTACAT
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
<i>C. trifolii</i> <i>Trifolium</i>	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-01	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-02	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-03	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-04	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-06	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-07	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-08	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-11	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-12	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-13	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-14	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-15	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-16	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-17	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-18	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-19	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-20	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-21	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-22	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCTAAATG	GGAGGTACAT
P-23	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-24	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-25	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-26	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCTAAATG	GGAGGTACAT
P-27	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-28	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
P-29	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCTAAATG	GGAGGTACAT

Anhang

P-30	CTTCGACGAG	TCGAGTAGTT	TGGGAATGCT	GCTCAAAATG	GGAGGTATAT
Außengruppe <i>M. grisea</i>	CTGTAAAGCT	CCTTCGACGA	GTCGAGTAGT	TTGGGAATGC	TGCTCTAAAT
	1151				1200
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	TTCTTCTAAA	GCTAAATATT	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
<i>C. fragari</i> ael <i>Fragaria</i>	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
<i>C. gl oeospori oi desl</i> <i>Ci trus</i>	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
<i>C. gl oeospori oi desl</i> Papaya	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
<i>C. I i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	TTCTTCTAAA	GCTAAATATT	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
<i>C. lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	TTCTTCTAAA	GCTAAATATT	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-01	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-02	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-03	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-04	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-06	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-07	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-08	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-11	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-12	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-13	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-14	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-15	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-16	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-17	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-18	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-19	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-20	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-21	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-22	TTCTTCTAAA	GCTAAATATT	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-23	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-24	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-25	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-26	TTCTTCTAAA	GCTAAATATT	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-27	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-28	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-29	TTCTTCTAAA	GCTAAATATT	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
P-30	TTCTTCTAAA	GCTAAATACC	GGCCAGAGAC	CGATAGCGCA	CAAGTAGAGT
Außengruppe <i>M. grisea</i>	GGGAGGTAAA	TTTCTTCTAA	AGCTAAATAC	CGGCCAGAGA	CCGATAGCGC

	1201				1250
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
<i>C. fragari</i> ael <i>Fragaria</i>	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
<i>C. gl oeospori oi desl</i> <i>Ci trus</i>	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
<i>C. gl oeospori oi desl</i> Papaya	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
<i>C. I i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
<i>C. lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-01	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-02	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-03	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-04	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-06	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-07	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-08	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-11	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-12	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-13	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-14	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-15	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-16	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-17	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-18	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-19	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-20	GATCGAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA

Anhang

P-21	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-22	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-23	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-24	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-25	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-26	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-27	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-28	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-29	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
P-30	GATCGAAAAGA	TGAAAAGCAC	TTTGAAAAGA	GGGTAAACA	GCACGTGAAA
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	ACAAGTAGAG	TGATCGAAAG	ATGAAAAGCA	CTTTGAAAAG	AGGGTTAAAA

	1251				1300
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
<i>C. fragari ael</i> <i>Fragaria</i>	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
<i>C. gl oeospori oi des</i> Papaya	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
<i>C. lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-01	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-02	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-03	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-04	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-06	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-07	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-08	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-11	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-12	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-13	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-14	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-15	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-16	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-17	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-18	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-19	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-20	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-21	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-22	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-23	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-24	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-25	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-26	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-27	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-28	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-29	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
P-30	TTGTTAAAAG	GGAAGCGCTT	GTGACCAGAC	TTGCGTCCGG	TGAATCACCC
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	AGTACGTGAA	ATTGTTGAAA	GGGAAGCGCT	TGTGACCAGA	CTTGCGCCGG

	1301				1350
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	ACAGGCCAGC	ATCAGCTTGC
<i>C. fragari ael</i> <i>Fragaria</i>	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
<i>C. gl oeospori oi des</i> Papaya	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	GGCTCTCGCG	GC . CGGGGCA	CTCCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
<i>C. lupi ni</i> <i>Lupi nus</i>	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	ACAGGCCAGC	ATCAGCTTGC
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	GGCTCTCGCG	GC . CGGGGCA	CTCCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-01	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-02	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-03	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-04	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-06	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-07	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-08	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-11	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-12	AGCTCTCGCG	GCT . GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC

Anhang

P-13	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-14	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-15	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-16	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-17	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-18	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-19	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-20	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-21	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-22	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	ACAGGCCAGC	ATCAGCTTGC
P-23	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-24	AGCTCTCGCG	GCTCGGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-25	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-26	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	ACAGGCCAGC	ATCAGCTTGC
P-27	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-28	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
P-29	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	ACAGGCCAGC	ATCAGCTTGC
P-30	AGCTCTCGCG	GCT .GGGGCA	CTTCGCCGGC	TCAGGCCAGC	ATCAGCTCGC
Außengruppe <i>M . gri sea</i>	GCGGATCATC	CAGCGTTCTC	G .CT .GGTGC	ACTCCGCCCG	GTTCAGGCCA

		1351			1400
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	CGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTGG	CTCCTCTCGG	GGAGTGTTAT
<i>C. fragari ael</i> <i>Fragari a</i>	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Papaya</i>	CGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTGG	CTCCCTCCGG	GGAGTGTTAT
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	CGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTGG	CTCCTCTCGG	GGAGTGTTAT
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTCCGG	GGAGTGTTAT
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTGG	CTCCCTCCGG	GGAGTGTTAT
P-01	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-02	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-03	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-04	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-06	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-07	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-08	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-11	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-12	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-13	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-14	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-15	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-16	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-17	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-18	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-19	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-20	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-21	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-22	CGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTGG	CTCCTCTCGG	GGAGTGTTAT
P-23	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-24	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-25	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-26	CGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCCTCTCGG	GGAGTGTTAT
P-27	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-28	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
P-29	CGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTGG	CTCCTCTCGG	GGAGTGTTAT
P-30	TGTC .GGGGA	CAAAAGCTTC	AGGAACGTAG	CTCTCTTCGG	GGAGTGTTAT
Außengruppe <i>M . gri sea</i>	GCATCGGTTT	TCGCCGGGGG	ACAAAGGCTT	CGGGAACGTG	GCTCCTTTCG

		1401			1450
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	AACCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
<i>C. fragari ael</i> <i>Fragari a</i>	AGCCTGTTGC	ACAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	AGCCTGTTGC	ACAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
<i>C. gl oeospori oi des</i> <i>Papaya</i>	AGCCCGTTGC	ACAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	AGCCCGTTGC	ACAATACCCT	TCGGTGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	AGCCTGTTGC	ACAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	AGCCCGTTGC	ACAATACCCT	TCGGTGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-01	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG

Anhang

P-02	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-03	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-04	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-06	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-07	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-08	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-11	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-12	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-13	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-14	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-15	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-16	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-17	AGCCTGTTGC	ACAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-18	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-19	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-20	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-21	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-22	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-23	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-24	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-25	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-26	AGCCTGTTGT	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-27	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-28	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-29	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
P-30	AGCCTGTTGC	ATAATACCCT	TCGGCGGGCT	GAGGTACGCG	CTCCGCAAGG
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	GGGAGTGTTA	TAGCCCGTTG	CGTAATACCC	CGGCGGGGAC	CGACGACCCG

	1451	1500
<i>C. acutatum</i> <i>Cyclamen</i>	ATGCTGGCGT	AATGGTCA.. .. .
<i>C. fragariae</i> <i>Fragaria</i>	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Ci trus</i>	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
<i>C. gl eoospori oi des</i> <i>Papaya</i>	ATGCTGGCGT	AATGGTCA.. .. .
<i>C. l i ndemuthi anum</i> <i>Phaseol us</i>	ATGCTGGCGT	AATGGTCA.. .. .
<i>C. l upi ni</i> <i>Lupi nus</i>	ATGCTGGCGT	AATGGTCA.. .. .
<i>C. musae</i> <i>Musa</i>	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
<i>C. tri fol i i</i> <i>Tri fol i um</i>	ATGCTGGCGT	AATGGTCA.. .. .
P-01	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-02	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-03	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-04	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-06	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-07	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-08	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-11	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-12	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-13	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-14	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-15	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-16	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-17	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-18	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-19	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-20	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-21	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-22	ATGCTGGCGT	AATGGTCA.. .. .
P-23	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-24	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-25	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-26	ATGCTGGCGT	AATGGTCA.. .. .
P-27	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-28	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
P-29	ATGCTGGCGT	AATGGTCA.. .. .
P-30	ATGCTGGCAT	AATGGTCA.. .. .
Außengruppe <i>M. gri sea</i>	GCTTCGGCAA	GGATGCTGGC GTAATGGTCA .. .

