

Landwirtschaftskammer Weser-Ems, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenschutz, Oldenburg

***Cylindrocladium theae* (Petch) Subram. – ein neuer Blattfleckenerreger an Azaleen (*Rhododendron simsii* Planch.)**

***Cylindrocladium theae* (Petch) Subram. – a new fungus causing leaf spots on azalea (*Rhododendron simsii* Planch.)**

Von Christian Neubauer

Zusammenfassung

Es wird über den Pilz *Cylindrocladium theae* (Petch) Subram. berichtet, der erstmals in der Bundesrepublik Deutschland als Verursacher von Blattflecken an Azaleen (*Rhododendron simsii* Planch.) nachgewiesen werden konnte. Die Morphologie des Erregers wird beschrieben und mit der von *Cylindrocladium scoparium* Morgan, dem bekannten Erreger einer Stammgrundfäule, verglichen. In Infektionsversuchen wird die Pathogenität der beiden *Cylindrocladium*-Arten an Blättern und Stammgrund von Azaleen untersucht. Die Ergebnisse werden diskutiert und hinsichtlich der phytopathologischen Bedeutung von *C. theae* bewertet.

Stichwörter: *Cylindrocladium theae*, *Calonectria theae*, *Cylindrocladium scoparium*, Blattflecken, Stammfäule, *Rhododendron simsii*

Abstract

The first record of *Cylindrocladium theae* (Petch) Subram., a fungus causing leaf spots on azalea (*Rhododendron simsii* Planch.), is reported for Germany. The morphology of the fungus is described and is compared with that of *Cylindrocladium scoparium* Morgan, the wellknown causal agent of a stem rot. The pathogenicity of both *Cylindrocladium* species to leaves and stems of azalea is investigated. Results and phytopathological considerations are discussed.

Key words: *Cylindrocladium theae*, *Calonectria theae*, *Cylindrocladium scoparium*, leaf spot, stem rot, *Rhododendron simsii*

Einleitung

Im Sommer 1994 traten in einem norddeutschen Betrieb an Topf-azaleen (*Rhododendron simsii* Planch.) der Sorte 'H. Vogel' massiv braune Blattflecken auf (Abb. 1, 2). Die Flecke vergrößerten sich und führten zu einem Vergilben und Abfallen der Blätter. Mittlerweile wurde dieses Krankheitsbild auch in Süddeutschland und am Niederrhein beobachtet (HEUPEL, pers. Mittl.).

Aus den Befallsbereichen wurde jeweils ein Pilz der Gattung *Cylindrocladium* isoliert. Es handelte sich hierbei aber nicht um *Cylindrocladium scoparium* Morgan, der sich seit seinem ersten Auftreten 1970 als Verursacher einer Stammfäule an Azaleen zum mittlerweile wirtschaftlich bedeutendsten Schaderreger in dieser Kultur entwickelt hat. Ohnehin trat *C. scoparium* trotz seiner massiven Präsenz in der Praxis bisher noch nicht als Verursacher von Blattflecken in Erscheinung. Vielmehr konnte der aus den Blättern isolierte Pilz anhand seiner morphologischen Merkmale eindeutig als *Cylindrocladium theae* (Petch) Subram. bestimmt werden.

C. theae wurde in der Literatur zunächst ausschließlich als Erreger einer in Ceylon und Indien vorkommenden Blattfleckenerkrankung an *Thea sinensis* L. beschrieben (LOOS, 1949), bevor er 1970 erstmalig in den USA an Blättern von *Rhododendron obtusum* (Lindl.) nachgewiesen wurde (ALFIERI et al., 1972). In der uns zugänglichen deutschen Literatur ist *C. theae* bisher noch nicht erwähnt worden.

Im folgenden sollen die Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen dargestellt werden, da sie zur Unterscheidung der beiden *Cylindrocladium*-Arten von Bedeutung sind. Darüber hinaus wurde die Pathogenität von *C. theae* untersucht und mit der von *C. scoparium* verglichen, um die Bedeutung dieses neuen Erregers für die Praxis besser einschätzen zu können.

Morphologie und Differentialdiagnose

Die Untersuchungen wurden an zwei verschiedenen Herkünften von *C. theae* durchgeführt (43/1, 35/1), die zuvor jeweils aus befallenen Blättern der Sorte 'H. Vogel' isoliert worden waren. Zum Vergleich stand ein Isolat von *C. scoparium* (E62) zur Verfügung. Aus den Isolaten wurden Einsporlinien hergestellt, die auf einen Azaleenblättersagar (120 g Azaleenblätter, 20 g Agar, 1000 ml Aqua dest.) überimpft wurden. Dies garantierte eine gleichmäßige und intensive Ausprägung der Neben- und Hauptfruchtform.

In mikroskopischen Untersuchungen konnten die beiden Isolate 43/1 und 35/1 anhand der besonderen morphologischen Charakteristika eindeutig als *Cylindrocladium theae* bestimmt werden. Die Merkmale stimmten mit den in der Literatur für *C. theae* vorhandenen Beschreibungen überein (ALFIERI et al., 1972; PEERALLY, 1991). Gleichzeitig wurden auch die Unterschiede zu *Cylindrocladium scoparium* deutlich, die eine schnelle und eindeutige Differentialdiagnose ermöglichen (Tab. 1).

So sind die hyalinen, zylindrischen Konidien von *C. theae* dreifach septiert (Abb. 3), während die auf den ersten Blick identisch erscheinenden Sporen von *C. scoparium* lediglich nur ein Septum aufweisen. In Längenmessungen wurde für die Konidien der Isolate von *C. theae* eine Spannweite von 67,5 bis 94,2 µm ermittelt, wobei der Mittelwert bei 80,8 µm (43/1) bzw. 79,6 µm (35/1) lag. Im Vergleich hierzu erwiesen sich die Konidien von *C. scoparium* (E62) mit Längen zwischen 47,1 µm und 56,0 µm und einem Mittelwert von 50,8 µm als deutlich kleiner.

Wie für die Gattung *Cylindrocladium* typisch, bildet auch *C. theae* Konidienträger mit einer sterilen, hyphenähnlichen Verlängerung der Hauptachse aus, welche in einem apikalen Vesikel endet. Dieses Vesikel kann ebenfalls als taxonomisches Merkmal benutzt werden,

Tab. 1. Wichtige differentialdiagnostische Merkmale von *Cylindrocladium scoparium* und *Cylindrocladium theae*

Nebenfruchtform	<i>Cylindrocladium scoparium</i>	<i>Cylindrocladium theae</i>
Konidien	1fach septiert 47–57 × 5–6 µm	3fach septiert 75–85 × 5–6 µm
Konidienträger	Vesikel: ovale Form	Vesikel: längliche Form
Hauptfruchtform	<i>Calonectria morganii</i>	<i>Calonectria theae</i>
Ausbildung	Heterothallie Ausbildung nach Kreuzung kompatibler Stämme	Homothallie Ausbildung in Einsporkulturen
Fruchtkörper	rote bis rotbraune Perithezien	orangefarbene Perithezien
Ascosporen	1fach septiert 30–40 × 5–8 µm	3fach septiert 50–70 × 6–8 µm

um die beiden Arten zu unterscheiden. Während die Konidienträger von *C. scoparium* in einem leicht zu erkennenden, ellipsoiden Vesikel enden, weisen die Träger von *C. theae* längliche, im Ansatz kaum vorhandene Vesikel auf.

Ein weiterer Unterschied besteht in der Ausbildung der jeweiligen Hauptfruchtform *Calonectria*. Da *C. scoparium* ein heterothallischer Pilz ist, bildet er seine Fruchtkörper nur aus, wenn *in vitro* entsprechend sexuell kompatible Stämme gekreuzt werden (CROUS et al., 1993; NEUBAUER und ZINKERNAGEL, 1995). Es handelt sich in diesem Fall um rundliche, rötliche Perithezien, deren Asci jeweils 8 hyaline, einfach septierte, mehr oder weniger sichelförmig gebo-



Abb. 1. und Abb. 2. Natürlicher, durch *Cylindrocladium theae* verursachter Blattfleckenbefall an der Sorte 'H. Vogel'.

gene Ascosporen mit einer Länge von 30 bis 50 µm enthalten. *C. theae* ist dagegen ein homothallischer Pilz, der auch in Einsporkulturen nach kurzer Zeit seine Hauptfruchtform *Calonectria theae* Loos hervorbringt (ALFIERI et al., 1972). Entsprechend bildeten die Isolate 43/1 und 35/1 vier Wochen nach Überimpfung auf der Agaroberfläche orangefarbene Perithezien aus (Abb. 4), während ein solcher Vorgang für das Isolat E62 nicht beobachtet wurde. Zudem unterschieden sich die Ascosporen von *C. theae* deutlich, da sie dreifach septiert und etwas länger waren (Abb. 5). Für die Ascosporen des Isolates 43/1 wurden eine Spannweite von 50,0 bis 70,0 µm und ein Mittelwert von 59,8 µm ermittelt.

Pathogenitätsversuche

Infektionsversuche wurden an 6 Monate alten, einmal gestutzten Jungpflanzen der Sorte 'H. Vogel' (9-cm-Topf) durchgeführt. Für die Blattinokulationen wurden von der Oberfläche 4 Wochen alter Kulturen mit Aqua dest. unter Zuhilfenahme eines Spatels Konidien abgespült. Die Sporenlösung wurde durch eine doppellagige Schicht Mullbinde filtriert und auf eine Konzentration von 5×10^4 Konidien/ml eingestellt, bevor sie auf die Blätter der Versuchspflanzen gesprüht wurde. Die Pflanzen wurden unmittelbar nach der Inokulation unter einem Folienzelt bei gesättigter Luftfeuchte (100 % r. Lf.) für verschiedene Zeitspannen (24 h, 48 h, 72 h) inkubiert. 7 Tage nach Inokulation wurden die Blätter der Pflanzen auf vorhandene Symptome bonitiert.

Für die Inokulationen am Stammgrund fanden nach der Methode von STEGMANN (1988) gemahlene, infizierte Roggenkörner Verwendung. Das Inokulum wurde in einer Menge von 0,5 g/Pflanze an den Stammgrund appliziert. 12 Wochen nach Inokulation wurde die Anzahl welkender bzw. abgestorbener Pflanzen erfaßt. Zusätzlich wurde der Versuch einer Reisolierung des Erregers unternommen. Hierzu wurde der Stammgrund von jeder Pflanze in 5 ca. 3 mm große Stücke zerteilt und auf einen Selektivnährboden ausgelegt. Nach einwöchiger Inkubation der Schalen bei 24 °C im Dunkeln erfolgte die Auswertung anhand der ausgewachsenen Kolonien.

Blätter von Pflanzen, die mit *C. theae* inokuliert worden waren, wiesen 5 Tage nach der Inokulation erste dunkelbraune Flecken auf (Abb. 6). Nachfolgend vergrößerten sich die Flecken nur langsam. Waren ca. 25 % der Blattfläche befallen, fingen die Blätter an zu vergilben und abzufallen. Die im Infektionsversuch beobachteten Symptome waren mit dem in der Praxis aufgetretenen Schadbild identisch. Aus den Blattflecken konnte jeweils *C. theae* reisoliert werden.

Voraussetzung für eine erfolgreiche Infektion war eine mindestens 24stündige Inkubationszeit unter einem Folienzelt. Dies weist darauf hin, daß der Erreger für eine Blattinfektion auf hohe Luftfeuchten (95–100 % r. Lf.) und längere Blattnässeperioden angewiesen ist. Allerdings scheint eine 24stündige Feuchtigkeitsperiode auszureichen, denn durch längere Inkubationszeiten (48 h–72 h) konnten die Infektionsraten nicht deutlich gesteigert werden. Auch eine Inokulation der Blätter mit Sporen von *C. scoparium* führte zu Infektionen, wobei eine Befallshäufigkeit von 13 % nicht überschritten wurde. Dagegen wies *C. theae* eine höhere Pathogenität auf, denn 7 Tage nach der Inokulation waren nicht nur mehr Blätter befallen, was sich in einer BH von 70 % ausdrückte, sondern die Befallsstärke lag auch höher. Die mit dem Isolat von *C. theae* inokulierten Blätter wiesen deutlich mehr und größere Flecken auf.

Am Stammgrund waren die Verhältnisse umgekehrt. Hier erwies sich *C. theae* als nahezu apathogen, denn trotz massiver Inokulationen konnten keine Anzeichen einer Stammfäule beobachtet werden. Der Pilz schien nicht in den Stamm eingedrungen zu sein, denn nach Beendigung des Versuches lag die Reisolierungsrate bei lediglich 2 %. Die mit *C. scoparium* am Stammgrund durchgeführten Inokulationen führten dagegen zur bekannten und erwartenden Stamm-

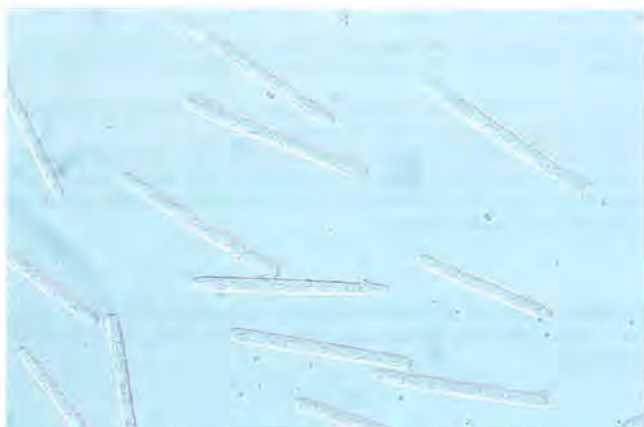
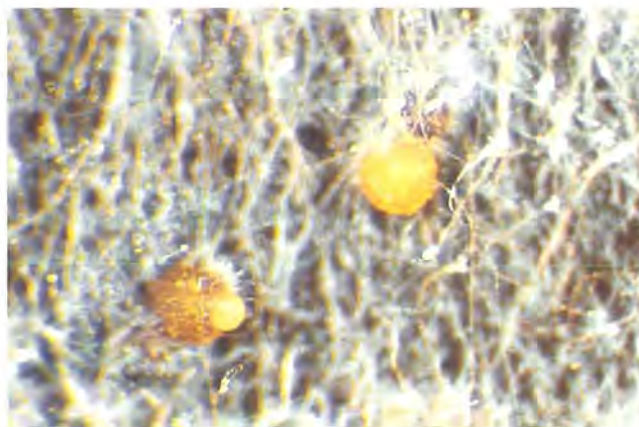
Abb. 3. Konidien des Erregers *C. theae*.Abb. 4. Perithezien der Hauptfruchtform *Calonectria theae* auf Agaroberfläche (links unten mit austretendem Ascosporenschleim).

Abb. 5. Ascosporen des Erregers.



Abb. 6. Blattflecken 5 Tage nach Inokulation.

fäule, 70% der inokulierten Pflanzen starben innerhalb von 12 Wochen ab. Aus dem Stammgrund aller Pflanzen wurde nach Versuchsende einheitlich *C. scoparium* isoliert.

Diskussion

Mit dem Pathogenitätstest konnten die Kochschen Postulate erfüllt werden, so daß *C. theae* als Verursacher der aufgetretenen Blattfleckenerkrankung anzusehen ist. In der amerikanischen Literatur wird neben *C. theae* auch *C. scoparium* als Blattfleckenenerreger an Azaleen beschrieben (ALFIERI et al., 1972; LINDERMANN, 1974a; MIMS et al., 1981). Allerdings beziehen sich die Berichte ausschließlich auf Azaleensorten von *R. obtusum*. HEIMANN (1976) konnte auch an Blättern von *R. simsii* nach der Inokulation mit Konidien von *C. scoparium* unter dem Einfluß hoher Luftfeuchtigkeit Blattflecken hervorrufen. In der gärtnerischen Praxis ist der Erreger in Verbindung mit diesem Schadbild bisher aber kaum in Erscheinung getreten. Dies ist verwunderlich, denn der Pilz ist als bodenbürtiger Stammfäuleerreger dort massiv präsent. Gleichzeitig bildet er an befallenen Pflanzenteilen und auf abgefallenen Blättern große Mengen infektionstüchtiger Konidien aus, die über Spritzwasser im Bestand verteilt werden. Dennoch ruft *C. scoparium* keine Blattfleckenerkrankung hervor, was vermutlich auf seine im Vergleich zu *C. theae* deutlich geringere Pathogenität im Blattbereich zurückgeführt werden kann.

Das so gegensätzliche Auftreten der beiden *Cylindrocladium*-Arten mag auch in der unterschiedlichen Biologie der Erreger be-

gründet sein. Eine Ausbildung der Hauptfruchtform von *C. scoparium* wurde unter praktischen Bedingungen bisher nicht beobachtet. Dies ist auf die sehr ungleichmäßige Verteilung sexuell kompatibler Stämme zurückzuführen (NEUBAUER und ZINKERNAGEL, 1995). Dagegen bildet *C. theae* als homothallischer Pilz an auf der Substratoberfläche liegenden, abgefallenen Blättern Perithezien aus. Die aus den Fruchtkörpern ausgeschleuderten Ascosporen gelangen vermutlich auf obere Blattoberflächen und verursachen Primärinfektionen, die Ausgangspunkt für eine weitere Ausbreitung der Erkrankung sind. Zu den gleichen Schlußfolgerungen kommt auch LINDERMANN (1974a, b). Er mißt der Ausbildung der Hauptfruchtform in der Epidemiologie des Erregers deshalb eine große Bedeutung bei.

Faßt man die bisherigen Erkenntnisse über *C. theae* zusammen, dürfte der Pilz in Zukunft primär als Erreger einer Blattfleckenenerkrankung von Bedeutung sein und weniger als Verursacher von Wurzel- oder Stammfäulen. Das Auftreten des Erregers war bisher auf Einzelfälle beschränkt, deren Anzahl in den letzten 3 Jahren allerdings zunahm. Betroffen war in allen Fällen die Sorte 'H. Vogel', die sich auch in Infektionsversuchen im Vergleich zu anderen Sorten als am anfälligsten erwies. Es bleibt abzuwarten, ob sich *C. theae* zu einem wirtschaftlich bedeutenden Schaderreger entwickelt.

Literatur

ALFIERI, S. A., R. G. LINDERMANN, R. H. MORRISON und E. K. SOBERS, 1972: Comparative pathogenicity of *Calonectria theae* and *Cylindrocladium scoparium* to leaves and roots of azalea. *Phytopathology* 62, 647-650.

- CROUS, P. W., A. C. ALFENAS und M. J. WINGFIELD, 1993: *Calonectria scoparia* and *Calonectria morganii* sp. nov., and variation among isolates of their *Cylindrocladium* anamorphs. Mycological Research **97**, 701–708.
- HEIMANN, M., 1976: Die *Cylindrocladium*-Krankheit an Azaleen und deren Bekämpfung. Deutscher Gartenbau **30**, 1091–1095.
- LINDERMANN, R. G., 1974a: The role of abscised *Cylindrocladium*-infected azalea leaves in the epidemiology of *Cylindrocladium* wilt of azalea. Phytopathology **64**, 481–485.
- LINDERMANN, R. G., 1974b: Ascospore discharge from perithecia of *Calonectria theae*, *C. crotolariae*, and *C. kyotensis*. Phytopathology **64**, 567–569.
- LOOS, C. A., 1949: *Calonectria theae* n. sp. – The perfect stage of *Cercospora theae* Petch. Brit. Mycol. Soc. Trans. **32**, 13–18.
- MIMS, F., D. M. BENSON und R. K. JONES, 1981: Susceptibility of Leucothoe, Hybrid Rhododendron, and Azalea to *Cylindrocladium scoparium* and *C. theae*. Plant Disease **65**, 353–354.
- NEUBAUER, CH. und V. ZINKERNAGEL, 1995: *Calonectria morganii* (Crous, Alfenas & Wingfield), die Hauptfruchtform von *Cylindrocladium scoparium* Morgan, Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten u. Pflanzenschutz **102**, 323–325.
- PEERALLY, A., 1991: The classification and phytopathology of *Cylindrocladium* species. Mycotaxon **40**, 323–366.
- STEGMANN, W., 1988: Untersuchungen zur Pathogenese, Epidemiologie und Bekämpfung der Stammgrundfäule an *Rhododendron simsii* (*Cylindrocladium scoparium*). Dissertation, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Universität Hannover.

Kontaktanschrift: Dr. Christian Neubauer, Landwirtschaftskammer Weser-Ems, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenschutz, Sedanstr. 4, D-26121 Oldenburg