



TC/51/27

ORIGINAL: englisch

DATUM: 20. Februar 2015

INTERNATIONALER VERBAND ZUM SCHUTZ VON PFLANZENZÜCHTUNGEN

Genf

TECHNISCHER AUSSCHUSS**Einundfünfzigste Tagung
Genf, 23. bis 25. März 2015**TEILÜBERARBEITUNG DER PRÜFUNGSRICHTLINIEN FÜR GARTENBOHNE
(DOKUMENT TG/12/9 REV.)*vom Verbandsbüro erstelltes Dokument**Haftungsausschluß: dieses Dokument gibt nicht die Grundsätze oder eine Anleitung der UPOV wieder*

1. Auf ihrer achtundvierzigsten Tagung in Paestum, Italien, vom 23. bis zum 27. Juni 2014, prüfte die Technische Arbeitsgruppe für Gemüsearten (TWV) eine Teilüberarbeitung der Prüfungsrichtlinien für Gartenbohne aufgrund von Dokumenten TG/12/9 Rev. und TWV/48/29 „*Partial Revision of the Test Guidelines for French Bean (Document TG/12/9 Rev.)*“ und schlug vor, die Prüfungsrichtlinien für Gartenbohne folgendermaßen zu überarbeiten (vergleiche Dokument TWV/48/43 „*Report*“, Absatz 97):
 - a) Vorschlag für die Überarbeitung der Merkmale 49 bis 52
 - b) Vorschlag zur Aufnahme eines überarbeiteten Formats für Krankheitsresistenzmerkmale in Abschnitt 8.2
2. Die vorgeschlagenen Überarbeitungen sind in der Anlage dieses Dokuments dargelegt.

[Anlage folgt]

Vorschlag für die Überarbeitung der Merkmale 49 bis 52*Derzeitiger Wortlaut:*

49. (+)	Resistance to Bean anthracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>)	Résistance à l'anthracnose du Haricot (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>)	Resistenz gegen Brennfleckenkrankheit (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>)	Resistencia a la antracnosis de la judía (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>)		
49.1 (*)	VS/ VG Race 6	Pathotype 6	Pathotyp 6	Patotipo 6		
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Goldrush, Masai, Michelet	1
	present	présente	vorhanden	presente	Booster, Pastoral	9
49.2	VS/ VG Race Kappa	Pathotype Kappa	Pathotyp Kappa	Patotipo Kappa		
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Goldrush, Masai, Michelet	1
	present	présente	vorhanden	presente	Booster, Pastoral	9

Vorgeschlagener neuer Wortlaut:

49. (+)	Resistance to " <u>Colletotrichum lindemuthianum</u> " (CI)	Résistance à " <u>Colletotrichum lindemuthianum</u> " (CI)	Resistenz gegen " <u>Colletotrichum lindemuthianum</u> " (CI)	Resistencia a " <u>Colletotrichum lindemuthianum</u> " (CI)		
49.1 (*)	VS/ VG Race 6	Pathotype 6	Pathotyp 6	Patotipo 6		
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Goldrush, <u>Masai</u> , <u>Michelet à longue cosse</u>	1
	present	présente	vorhanden	presente	Booster, Pastoral	9
49.2	VS/ VG Race Kappa	Pathotype Kappa	Pathotyp Kappa	Patotipo Kappa		
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Goldrush, <u>Masai</u> , <u>Michelet à longue cosse</u>	1
	present	présente	vorhanden	presente	Booster, Pastoral	9

Derzeitiger Wortlaut:

50. (*) (+)	VS/ VG	Resistance to Bean Common Mosaic Necrosis Virus (BCMNV)	Résistance au virus de la mosaïque nécrotique commune du Haricot (BCMNV)	Resistenz gegen Gewöhnliches nekrotisches Bohnenmosaikvirus (BCMNV)	Resistencia al virus del mosaico necrotico común de la judía (BCMNV)		
PQ		absent	absente	fehlend	ausente	Dufrix, Flandria	1
		present with necrosis	présente avec nécroses	vorhanden mit Nekrose	presente con necrosis	Booster, Odessa	2
		present without symptoms	présente sans symptômes	vorhanden ohne Symptome	presente sin síntomas	Bizet	3

Vorgeschlagener neuer Wortlaut:

50. (*) (+)	VS/ VG	Resistance to " <u>Bean</u> <u>common mosaic</u> <u>necrosis virus</u> " (BCMNV)	Résistance au " <u>Bean</u> <u>common mosaic</u> <u>necrosis virus</u> " (BCMNV)	Resistenz gegen " <u>Bean</u> <u>common mosaic</u> <u>necrosis virus</u> " (BCMNV)	Resistencia al " <u>Bean</u> <u>common mosaic</u> <u>necrosis virus</u> " (BCMNV)		
PQ		absent	absente	fehlend	ausente	Dufrix, Flandria	1
		present with necrosis	présente avec nécroses	vorhanden mit Nekrose	presente con necrosis	Booster, Odessa	2
		present without symptoms	présente sans symptômes	vorhanden ohne Symptome	presente sin síntomas	Bizet	3

Derzeitiger Wortlaut:

51. (+)	VS/ VG	Resistance to Halo Blight (<i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>)	Résistance à la graisse à halo (<i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>)	Resistenz gegen Fettfleckenkrankheit (<i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>)	Resistencia a la grasa (<i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>)		
		Race 6	Pathotype 6	Pathotyp 6	Patotipo 6		
QL		absent	absente	fehlend	ausente	Michelet (D)	1
		present	présente	vorhanden	presente	Masai (D), Vaillant (D)	9

Vorgeschlagener neuer Wortlaut:

51. (+)	VS/ VG	Resistance to " <u><i>Pseudomonas</i></u> <u><i>savastanoi</i> pv.</u> <u><i>phaseolicola</i></u> " (Psp)	Résistance à " <u><i>Pseudomonas</i></u> <u><i>savastanoi</i> pv.</u> <u><i>phaseolicola</i></u> " (Psp)	Resistenz gegen " <u><i>Pseudomonas</i></u> <u><i>savastanoi</i> pv.</u> <u><i>phaseolicola</i></u> " (Psp)	Resistencia a " <u><i>Pseudomonas</i></u> <u><i>savastanoi</i> pv.</u> <u><i>phaseolicola</i></u> " (Psp)		
		Race 6	Pathotype 6	Pathotyp 6	Patotipo 6		
QL		absent	absente	fehlend	ausente	<u>Michelet à longue</u> <u>cosse</u> (D)	1
		present	présente	vorhanden	presente	Masai (D), Vaillant (D)	9

Derzeitiger Wortlaut:

52.	VG	Resistance to Common Blight (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>), Isolate 422	Résistance à la graisse commune (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>), Isolate 422	Resistenz gegen Bohnenbrand (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>), Isolat 422	Resistencia a la grasa común (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>), Isolate 422		
(+)							
QL		absent	absente	fehlend	ausente	Echo (D), Keygold (D)	1
		present	présente	vorhanden	presente	Walley (US line) (D)	9

Vorgeschlagener neuer Wortlaut:

52.	VG	Resistance to " <u>Xanthomonas axonopodis</u> pv. <u>phaseoli</u> " (Xap)	Résistance à " <u>Xanthomonas axonopodis</u> pv. <u>phaseoli</u> " (Xap)	Resistenz gegen " <u>Xanthomonas axonopodis</u> pv. <u>phaseoli</u> " (Xap)	Resistencia a " <u>Xanthomonas axonopodis</u> pv. <u>phaseoli</u> " (Xap)		
(+)							
QL		absent	absente	fehlend	ausente	Echo (D), Keygold (D)	1
		present	présente	vorhanden	presente	Walley (US line) (D)	9

Vorschlag zur Aufnahme eines überarbeiteten Formats für Krankheitsresistenzmerkmale

Derzeitiger Wortlaut:

Zu 49: Resistenz gegen Brennfleckenkrankheit (*Colletotrichum lindemuthianum*)

Erhaltung der Pathotypen Vorkeimen des Saatgutes (ca. 4 bis 5 Tage)	Im Reagenzglas auf Glukose-Pepton-Agar Mindestens 2 mal 10 Bohnensamen werden zum Vorkeimen bei 20°C in Petrischalen in Vermikulit feucht ausgelegt. Nach Ankeimung (1-2 cm Wurzellänge) wird die Samenschale entfernt.
Inokulum und Inokulation	Anzucht auf GPA in 1 l-Klarglasflaschen, 12-14 Tage. Abkratzen des Inokulums mit Schaber. Die angekeimten Samen werden zwei Minuten in eine Sporensuspension von <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> getaucht. Konzentration 1 Mio. Sporen pro ml.
Aussaat:	Aussaat erfolgt in mit Sand gefüllten Töpfen, Abdeckung mit Sandschicht von 1 cm.
Kultur der Pflanzen:	Aufstellung der Töpfe im Phytotron bei 20°C und 16 Std. Tageslicht. Regelmäßige Wasserversorgung erforderlich, besondere Anforderungen an die Luftfeuchtigkeit bestehen nicht.
Auswertung:	Die Symptome treten während des Auflaufens der Pflanzen oder bis zu 10 Tagen danach auf. Die Bonitur kann nach 10- 14 Tagen erfolgen.
Bonitierungsschema:	<u>Resistenz vorhanden:</u> gesunde Pflanzen ohne Symptome oder leichte Reaktion mit kleinen punkt- und strichförmigen, oberflächlichen Nekrosen am Stengel. <u>Resistenz fehlend:</u> mittlere Reaktion mit bis zu 5 nekrotischen Flecken am Stengel oder starke Reaktion mit Nekrosen größer als 3 mm, tief in das Gewebe eingesenkt; bzw. Pflanzen sterben während oder nach Aufgang unter Nekrosebildung ab.

Vorgeschlagener neuer Wortlaut:

Zu 49: Resistenz gegen "Colletotrichum lindemuthianum" (Cl)

1.	Pathogen	"Colletotrichum lindemuthianum" (Cl)
2.	Quarantänestatus	Nein
3.	Wirtsart	<i>Phaseolus vulgaris</i>
4.	Quelle des Inokulums	GEVES (FR), Naktuinbouw (NL), INIA (ES)
5.	Isolat	6, Kappa
6.	Feststellung der Isolatidentität	an Differenzialsorten:

Alter Name des Pathotypen: Binärer Name des Pathotypen:			-	(nicht mehr in TG) Lambda	Kappa
			6	55	31
Differenzialsorte	Gen	Binär			
A Michelite		1	R	S	S
B Michigan Dark Red Kidney	Co-1	2	S	S	S
C Perry Marrow	Co-1 ³	4	S	S	S
D Cornell 49242	Co-2 (Are)	8	R	R	S
E Widusa	Co-1 ⁵	16	R	S	S
F Kaboon	Co-1 ²	32	R	S	R
G Mexico 222	Co-3	64	R	R	R
H PI 207262		128	R	R	R
I TO	Co-4	256	R	R	R
J TU	Co-5	512	R	R	R
K AB 136	Co-6	1024	R	R	R
L G 2333	Co-4-2/5/7	2048	R	R	R

7.	Feststellung der Pathogenität	an anfälliger Sorte
8.	Vermehrung des Inokulums	
8.1	Vermehrungsmedium	PDA (Potato Dextrose Agar)- oder Mathur-Medium (20-25°C)
8.2	Vermehrungssorte	-
8.3	Pflanzenstadium bei der Inokulation	Saatgut zum Durchtränken 5 Tage alte Keimlinge zum Besprühen
8.4	Inokulationsmedium	-
8.5	Inokulationsmethode	Durchtränken oder Besprühen von Keimlingen
8.6	Ernte des Inokulums	Abkratzen der Sporen mit einem Schaber von 7-20 Tagen alten Platten, die bei 20-25°C angezchtet werden
8.7	Prüfung des geernteten Inokulums	Zählen der Sporen und Anpassung an 10 ⁶ Sporen pro ml
8.8	Haltbarkeit/Lebensfähigkeit des Inokulums	Etwa 4 Stunden Langfristige Lagerung von Pathotypen: bei -80°C in 20% Glycerol
9.	Prüfungsanlage	
9.1	Anzahl der Pflanzen pro Genotyp	Mindestens 20 Pflanzen
9.2	Anzahl der Wiederholungen	-
9.3	Kontrollsorten	
	Anfällig:	Goldrush, Michelet à longue cosse, Masai
	Resistent für Pathotyp 6 und Pathotyp Lambda:	Booster, Pastoral
9.4	Gestaltung der Prüfung	-

9.5	Prüfungseinrichtung	Klimazelle
9.6	Temperatur	20-22°C
9.7	Licht	-
9.8	Jahreszeit	-
9.9	Besondere Maßnahmen	Pflanzen bei hoher Luftfeuchtigkeit aufbewahren
10.	Inokulation	
10.1	Vorbereitung des Inokulums	Kultur auf PDA- oder Mathur-Medium
10.2	Quantifizierung des Inokulums	Zählen der Sporen und Anpassen an 10 ⁶ Sporen pro ml
10.3	Pflanzenstadium bei Inokulation	Vorgekeimte Samen zum Durchtränken 5 Tage alte Keimlinge zum Besprühen
10.4	Inokulationsmethode	Es kann eine der folgenden beiden Methoden angewandt werden: - Durchtränken von vorgekeimten Samen in einer Sporensuspension für 2 Minuten. Die Samen werden nach der Inokulation in Erde angepflanzt. - Besprühen von Keimblättern mit Inokulumsuspension 5 Tage nach Aussaat
10.5	Erste Erfassung	7 Tage nach der Inokulation
10.6	Zweite Erfassung	12 Tage nach der Inokulation
10.7	Abschließende Erfassungen	14 Tage nach der Inokulation
11.	Erfassungen	
11.1	Methode	Visuelle Erfassung von Symptomen
11.2	Erfassungsskala	0: keine Symptome 1: schwache Reaktion mit geringer oberflächlicher Nekrose (Punkte oder Streifen) 2: nekrotische Läsionen, die länger als 3 mm und/oder tief in das Gewebe der Hypokotyle und/oder der Stengel eingesenkt sind 3: absterbende Pflanzen
11.3	Validierung der Prüfung	Kontrollsorten müssen erwartete Symptome zeigen
11.4	Abweicher	-
12.	Auswertung der Daten hinsichtlich der UPOV-Ausprägungsstufen	-
	Für das Durchtränken von Samen:	Resistent [9]: Klasse 0 und 1 Anfällig [1]: Klasse 2 und 3
	Für das Besprühen von Keimblättern:	Einige Nekroseflecken können am Stengel und einige in den Keimblättern von resistenten Sorten auftreten
13.	Kritische Kontrollpunkte	Überwachung des Inokulationsdrucks mit einer geeigneten Sorte, z.B. mit Pastoral. Diese Sorte hat eine schwächere Resistenz und kann ein Hinweis auf die Aggressivität der Prüfung sein.

Derzeitiger Wortlaut:

Zu 50: Resistenz gegen Gewöhnliches nekrotisches Bohnenmosaikvirus (BCMNV)

Erhaltung des Infektionsmaterials

Natur des Mediums:	Pflanze oder trockene Blätter
Besondere Bedingungen:	Gewächshauskultur (= Pflanzen) oder tiefgefrorene Blätter
Identifizierung:	Benutzung des Virusstammes „NL 3“
<u>Durchführung der Prüfung</u>	
Pflanzenstadium:	Zweiblattstadium
Temperatur:	Anzucht bei 20 bis 25°C, nach Inokulation 30°C für einen Zeitraum von 8 Tagen
Licht:	Normales Tageslicht, gegebenenfalls Schattierung
Anzucht:	Gewächshaus
Art der Inokulation:	Mechanisch, durch Verreiben des Inokulums auf Blättern
<u>Dauer der Prüfung</u>	
- Aussaat bis Inokulation:	8 bis 9 Tage
- Inokulation bis Erfassung:	6 bis 21 Tage
Anzahl der zu testenden Pflanzen:	60 (20 Töpfe à 3 Pflanzen)
<u>Methodenbeschreibung</u>	

1. Gewinnung des Inokulationsmaterials. Für die Toleranzprüfung wird der Virusstamm „NL 3“ eingesetzt, der weitgehend alle vorkommenden Stammgruppen des „Gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus“ berücksichtigt. Zunächst werden etwa Anfang Frühjahr Buschbohnenpflanzen der Sorte „Dufrix“ oder einer anderen sehr virusanfälligen Sorte mit virushaltigem Preßsaft aus eigener Erhaltungskultur oder gefriergetrockneten Blättern (z. B. vom Institut für Biochemie und Viruskrankheiten der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig (= Stamm „NL 3“)), im Abreibverfahren infiziert. Diese infizierten Pflanzen dienen rund zwei Monate später der Produktion von virushaltigem Preßsaft, mit dem die Inokulation des Prüfsortiments erfolgt.

2. Inokulation. Zur Inokulation wird der virushaltige Preßsaft mit Wasser verdünnt (ca. 1 Teil Preßsaft auf 2 Teile Wasser). Nach Bestreuen der beiden Blätter mit Karborundum oder Celite wird der verdünnte Preßsaft mittels eines Schaumstoffschwämmchens leicht verrieben. Circa 15 bis 20 Minuten danach werden die Blätter mit Wasser abgespült (Gießkanne mit feiner Brause).

3. Inkubation. Nach der Inokulation muß die Lufttemperatur im Gewächshaus für mindestens eine Woche auf möglichst 30°C gehalten werden (Wichtig!!! Einhaltung der Temperatur tagsüber und auch nachts). Erste Läsionen können sich bereits nach 3 bis 4 Tagen einstellen. Topnekrosen werden bereits eine Woche nach der Inokulation sichtbar. Bei anfälligen Sorten zeigen sich die typischen Symptome (= Mosaik) nach etwa 2 Wochen. Etwa 3 Wochen nach der Inokulation kann die abschließende Bonitur erfolgen.

4. Auswertung. Die erste Bonitur erfolgt am 6. Tag nach der Inokulation. Das Schadbild des Bohnenmosaiks und das der Schwarzbeinigkeit unterscheiden sich wie folgt:

i) Schadbild des Bohnenmosaiks: Aufhellung der Blätter; hell- und dunkelgrünes Mosaik; dunkelgrüne Partien zwischen den Rippen blasig aufgewölbt; schmale chlorotische Bänder entlang der Rippen und der Rand des Blatts abwärts gerollt. Verschiedene Symptome können in unterschiedlicher Ausprägungsstärke beobachtet werden. Das Schadbild des Mosaiks kann mit dem Bonitierungsschema 1 bis 9 (1 = symptomlos, 9 = stärkste Ausprägungsstufe) aufgezeichnet werden. Wenn eine Sorte unter Prüfung keine Mosaiksymptome aufweist, während anfällige Standardsorten es tun, sollte die genannte Sorte als resistent gegen Mosaik beurteilt werden.

ii) Schadbild der Schwarzbeinigkeit: Man kann zwei Typen von Nekrose (insbesondere wenn die Sorte mit dem Stamm „NL3“ geprüft wird) unterscheiden, die beide als „Schwarzbeinigkeit“ bezeichnet werden können:

Lokale Nekrose (lokale Überempfindlichkeit): charakterisiert durch ein auf einem Teil der Blattspreite lokalisiertes braunes nekrotisches Geflecht (Rippen);

Systemische Nekrose (Topnekrose): charakterisiert durch eine schnelle Entwicklung der Nekrose überall am Stengel, am Blattstiel und an den Wurzeln, wobei sich eine Topnekrose oder auch eine totale Nekrose der Pflanze entwickelt. (Die Gefäßbündel des Stengels, der Blattstiel und schließlich die Wurzeln werden braun, wenn im Stadium der jungen Pflanze inokuliert wird (deswegen als „Schwarzbeinigkeit“ bezeichnet).)

Sorten bzw. Stämme, die das Erscheinungsbild der Schwarzbeinigkeit (die lokale Überempfindlichkeit und die Topnekrose) zeigen, erweisen sich im Feldanbau im allgemeinen als resistent gegenüber dem Bohnenmosaik.

Im Verlauf der Resistenz gehen die meisten Lokalläsionen in Topnekrosen über.

Bemerkungen:

Die Genetik der Resistenz gegen Gewöhnliches Bohnenmosaikvirus (BCMV) und/oder Schwarzbeinigkeit basiert auf einigen unspezifischen und spezifischen rezessiven Genen, von denen einige Allele sind. Drijfhout hat mindestens 4 Gene gefunden, nämlich:

bc-u
bc-1/bc-1²
bc-2/bc-2²
und bc-3

Das überwiegende Nekrosegen 'I' beeinträchtigt diese Resistenzgene. Die rezessive Form ,I⁺, in Verbindung mit bc-3 und bc-2², gibt eine vollständige Resistenz gegen BCMV und Schwarzbeinigkeit (Beispielssorte: Great Northern 31).

(Für weitere Informationen: siehe Drijfhout (1978)).

Vorgeschlagener neuer Wortlaut:

Zu 50: Resistenz gegen "Bean common mosaic necrosis virus" (BCMNV)

1.	Pathogen	"Bean common mosaic necrosis virus" (BCMNV)
2.	Quarantänestatus	Nein
3.	Wirtsart	<i>Phaseolus vulgaris</i>
4.	Quelle des Inokulums	GEVES (FR), Naktuinbouw (NL), INIA (ES)
5.	Isolat	NL3 oder NL5 (Pathogenität Gruppe VI)
6.	Feststellung der Isolatidentität	An Differenzialsorten Widusa und Top Crop; Widusa (I) muß Topnekrose oder Adernekrose aufweisen; Top Crop (bc-1, I) darf nur lokale Nekrose aufweisen
7.	Feststellung der Pathogenität	An anfälliger Sorte
8.	Vermehrung des Inokulums	
8.1	Vermehrungsmedium	-
8.2	Vermehrungssorte	Dufrix oder Flandria
8.3	Pflanzenstadium bei der Inokulation	Erstes Blatt entfaltet (8-12 Tage)
8.4	Inokulationsmedium	PBS (Phosphat-gepufferte Salzlösung) und Karborundum
8.5	Inokulationsmethode	Verreiben
8.6	Ernte des Inokulums	Wahl von Blättern mit Mosaik und/oder Blatt, das sich 14 Tage nach der Inokulation an anfälliger Sorte rollt
8.7	Prüfung des geernteten Inokulums	-
8.8	Haltbarkeit/Lebensfähigkeit des Inokulums	Sehr lange in trockenen oder gefriergetrockneten Blättern
9.	Prüfungsanlage	
9.1	Anzahl der Pflanzen pro Genotyp	20
9.2	Anzahl der Wiederholungen	2
9.3	Kontrollsorten	
	Anfällig:	Dufrix, Flandria
	Resistent mit Nekrose:	Booster, Odessa
	Resistent ohne Nekrose:	Bizet
9.4	Gestaltung der Prüfung	Gewächshaus oder Klimakammer
9.5	Prüfungseinrichtung	Gewächshaus
9.6	Temperatur	Anfangs 5-7 Tage nach der Inokulation: 25° Tag / 18°C Nacht oder 30°C Tag und Nacht Nach 5-7 Tagen: 25°C Tag und Nacht
9.7	Licht	Vergleiche Anmerkung 13.
9.8	Jahreszeit	-
9.9	Besondere Maßnahmen	Blätter nach der Inokulation abspülen, um Schaden durch Karborundum zu verhindern
10.	Inokulation	
10.1	Vorbereitung des Inokulums	Mazeration in PBS
10.2	Quantifizierung des Inokulums	-
10.3	Pflanzenstadium bei Inokulation	erstes Blatt entfaltet (8-12 Tage nach Aussaat)
10.4	Inokulationsmethode	Verreiben
10.5	Erste Erfassung	6 Tage nach der Inokulation
10.6	Zweite Erfassung	9 Tage nach der Inokulation
10.7	Abschließende Erfassungen	14 Tage nach der Inokulation
11.	Erfassungen	
11.1	Methode	Visuelle Erfassung

11.2	Erfassungsskala	1: Mosaik und/oder Rollen des Blattes 2: Topnekrose, Adernekrose und/oder kleine nekrotische Läsionen 3: keine Symptome
11.3	Validierung der Prüfung	Kontrollsorten müssen erwartete Symptome zeigen
11.4	Abweicher	-
12.	Auswertung der Daten hinsichtlich der UPOV-Ausprägungsstufen	Klassifizierung in drei Klassen entsprechend der Erfassungsskala: 1: Resistent fehlend 2: Resistent vorhanden mit Nekrose 3: Resistent vorhanden ohne Nekrose
13.	Kritische Kontrollpunkte	Temperaturabhängige Ausprägung von Symptomen bei einigen Sorten, Nekrose nimmt mit steigender Temperatur zu. Licht kann die Entwicklung von Symptomen auch fördern.

Derzeitiger Wortlaut:

Zu 51: Resistenz gegen Fettfleckenkrankheit (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*)

Erhaltung der Pathotypen

Natur des Mediums:

Identifizierung:

Infizierte trockene Blätter

Auf der Grundlage vorläufiger Versuche besitzen die europäischen Pathotypen (die wahrscheinlich zum afrikanischen Pathotyp von J.D. Taylor und H.R.I. Wellesbourne gehören) eine höhere Virulenz als die US-Pathotypen 1 und 2. Die Aggressivität des Erregers wird durch die Größe der Flecken auf den Hülsen einer empfindlichen Sorte gemessen. Die zum Test angewandten Isolate sollen Fettflecken von mindestens 3 mm Durchmesser auslösen.

Durchführung der Prüfung

Pflanzenstadium:

Die ersten und zweiten (dreiblättrigen) Blätter mit einer Länge von 2-3 cm

Temperatur:

Tag: 24°C; Nacht: 18°C

Feuchtigkeit:

100 % relative Feuchtigkeit, bis die inokulierten Blätter voll entwickelt sind

Anzucht:

Im Gewächshaus

Inokulum:

Bakteriensuspension mit einer Konzentration von 10^8 Bakterienzellen pro ml

Art der Inokulation:

Mechanisch, unter Verwendung einer Kamelhaarbürste

Dauer der Prüfung

- Inokulation bis Erfassung:

Bis zur vollen Entwicklung der infizierten Blätter

Anzahl der getesteten Pflanzen:

10-20 Pflanzen

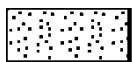
Vermehrung des Bakteriums:

Bouillon-Agar (2 g Na_2HPO_4 , 2 g NaH_2PO_4 , 3 g NaCl, 25 g Bouillon-Agar pro 1000 ml destilliertes Wasser)

Bemerkungen:

- Blattreaktionen werden heute häufig untersucht. Die Reaktion der Hülse ist polygenetischer Natur, und es besteht keine genetische Verbindung zwischen Blattreaktion und Hülsenresistenz. Es gibt zur Zeit keine Sorten mit Hülsenreaktion.
- Resistent bedeutet genetisch, daß dieser Wirt, unter An- oder Abwesenheit der Modifizierer, das rezessive Resistenzgen besitzt; im Fall der Anwesenheit der Modifizierer sind die Quellen für diese Gene: PI 150 414 (USA), CNRA-HW5A (Fr.).
Im Stadium des vollentwickelten Blattes können die Verletzungen bewertet werden. Die unterschiedlichen Symptomtypen sind unten wiedergegeben.

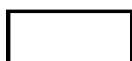
Legende der nachfolgenden Illustrationen:



gesundes Gewebe



mit Wasser durchtränkte Verletzung ohne Entfärbung



toxisch chlorotisches Gewebe



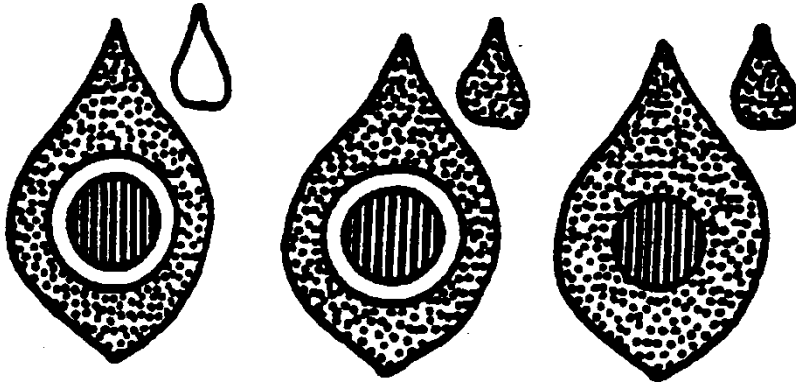
mit Wasser durchtränkte Verletzung ohne Entfärbung



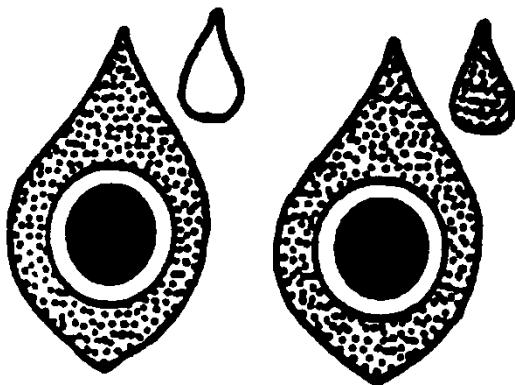
einige braunrote übersensitive nekrotische Flecken von der Größe einer Zelle

Bonitierungsschema

Resistenz fehlend

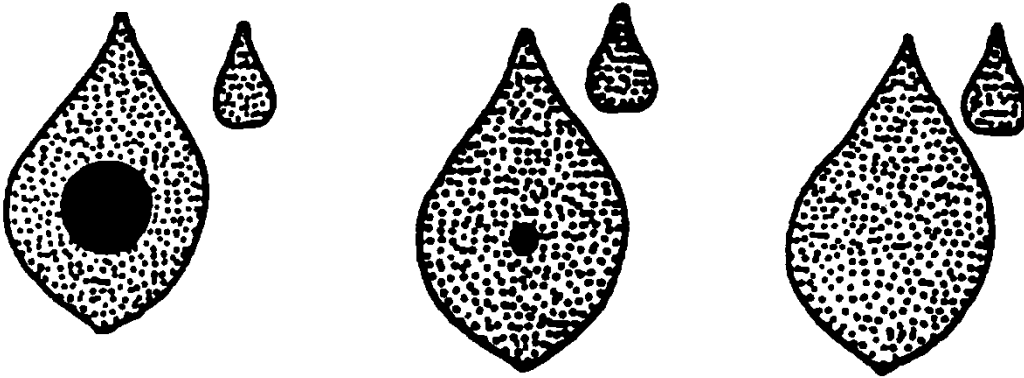


mit Wasser durchtränkte Verletzung mit
toxisch chlorotischem Ring, systemische
Chlorose;
mit Wasser durchtränkte Verletzung mit
Ring, keine systemische Chlorose;
mit Wasser durchtränkte Verletzung
ohne Ring, keine systemische Chlorose



entfärbte mit Wasser durchtränkte Verletzung
mit Ring, systemische Chlorose;
entfärbte mit Wasser durchtränkte Verletzung
mit Ring, keine systemische Chlorose

Resistenz vorhanden



Nekroseflecke mit 1-2 mm Durchmesser, keine systemische Chlorose oder einige braunrote übersensitive nekrotische Flecken von der Größe einer Zelle oder gesunde, nicht infizierte Pflanze

Vorgeschlagener neuer Wortlaut:

Zu 51: Resistenz gegen "Pseudomonas savastanoi pv. phaseolicola" (Psp)

1.	Pathogen	"Pseudomonas savastanoi pv. phaseolicola" (Psp)
2.	Quarantänestatus	Nein
3.	Wirtsart	<i>Phaseolus vulgaris</i>
4.	Quelle des Inokulums	GEVES (FR), Naktuinbouw (NL), HRI (GB), INIA (ES)
5.	Isolat	Pathogen 6
6.	Feststellung der Isolatidentität	Alle Differenzialsorten sollten anfällig sein (Canadian Wonder, A52, Red Mexican UI3, Mesunka, A53, A43, Guatemala 196-B)
7.	Feststellung der Pathogenität	An anfälliger Sorte
8.	Vermehrung des Inokulums	
8.1	Vermehrungsmedium	King's B oder Hefe-Dextrose-Agar bei 27°C
8.2	Vermehrungssorte	-
8.3	Pflanzenstadium bei der Inokulation	Erstes Blatt (9-14 Tage nach Aussaat)
8.4	Inokulationsmedium	Leitungswasser oder Kochsalzlösung (0,85% NaCl)
8.5	Inokulationsmethode	-
8.6	Ernte des Inokulums	4 Tage nach dem Beginn der Reinkultur
8.7	Prüfung des geernteten Inokulums	-
8.8	Haltbarkeit/Lebensfähigkeit des Inokulums	Die Anzahl von Subkulturen vor der Inokulation sollte nicht mehr als 2 betragen und die Inokulation sollte innerhalb von 2-3 Tagen erfolgen.
9.	Prüfungsanlage	
9.1	Anzahl der Pflanzen pro Genotyp	20
9.2	Anzahl der Wiederholungen	2
9.3	Kontrollsorten	
	Anfällig	Michelet à longue cosse
	Resistent	Masai, Vaillant
9.4	Gestaltung der Prüfung	-
9.5	Prüfungseinrichtung	Gewächshaus oder Klimazelle
9.6	Temperatur	22/20°C Tag/Nacht oder 20°C Tag und Nacht
9.7	Licht	-
9.8	Jahresezeit	-
9.9	Besondere Maßnahmen	Hohe Luftfeuchtigkeit während der ersten 1-3 Tage nach der Inokulation erforderlich
10.	Inokulation	
10.1	Vorbereitung des Inokulums	Abspülen von Bakterien von der Platte mit Leitungswasser und Hinzufügen von 2 g Karborundum pro 100 ml oder Abspülen von Bakterien mit Kochsalzlösung (0,85% NaCl)
10.2	Quantifizierung des Inokulums	10 ⁸ cfu/ ml oder 1-2 voll entwickelte Platten pro 100 ml Wasser für 100 Pflanzen
10.3	Pflanzenstadium bei Inokulation	Erstes Paar Blätter entfaltet sich (9-14 Tage nach Aussaat)
10.4	Inokulationsmethode	Verreiben mit einem Schwämmchen oder Inokulation durch Besprühen der Blätter unter Druck (2 bar) bis zum Ablauf. Zu diesem Zweck können verschiedene Arten von Geräten verwendet werden: ein Zerstäuber oder ein Farbpinsel mit Druckzufuhr.
10.5	Erste Erfassung	7 Tage nach der Inokulation
10.6	Zweite Erfassung	14 Tage nach der Inokulation
10.7	Abschließende Erfassungen	-

11.	Erfassungen	
11.1	Methode	Visuelle Erfassung
11.2	Erfassungsskala	
	Resistent [9]	Keine Symptome oder nekrotische Punkte
	Anfällig [1]	Hellgrüner Ring um kleine Läsionen Mit Wasser durchtränkte („ölige“) Läsionen (wenige oder viele) Mit Wasser durchtränkte Läsionen, die später zu nekrotischer Deformation und Chlorose an ersten dreiblättrigen Blättern führen Nekrose an Stengeln Absterbende Pflanzen
11.3	Validierung der Prüfung	Kontrollsorten müssen erwartete Symptome zeigen
11.4	Abweicher	-
12.	Auswertung der Daten hinsichtlich der UPOV-Ausprägungsstufen	11.2
13.	Kritische Kontrollpunkte	Die Inokulation verursacht möglicherweise Schäden an anfälligen und resistenten Pflanzen. Erhaltung des Isolats: Es ist zu beachten, daß die Kolonie möglicherweise nach 3 Wochen auf der Platte abstirbt.

Derzeitiger Wortlaut:

Zu 52: Resistenz gegen Bohnenbrand (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*), Isolat 422

Erhaltung der Pathotypen

Natur des Mediums:

Infizierte trockene Blätter

Durchführung der Prüfung

Pflanzenstadium:

Die ersten und zweiten (dreiblättrigen) Blätter mit einer Länge von 2-3 cm

Temperatur:

Tag: 26°C; Nacht: 20°C

Feuchtigkeit:

100 % relative Feuchtigkeit während der Inokulation und während der ersten beiden folgenden Tage, danach normale relative Feuchtigkeit

Anzucht:

Im Gewächshaus

Inokulum:

Bakteriensuspension mit einer Konzentration von 10^8 Bakterienzellen pro ml

Art der Inokulation:

Mechanisch, unter Verwendung einer Kamelhaarbürste

Dauer der Prüfung

- Inokulation bis Erfassung:

Bis zur vollen Entwicklung der infizierten Blätter

Anzahl der getesteten Pflanzen:

10-20 Pflanzen

Vermehrung des Bakteriums:

20 g Hefeextraktpulver, 20 g Glukose, 20 g CaCO₃,

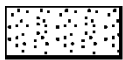
20 g Agaragar pro 1000 ml destilliertes Wasser

Bemerkungen:

- Isolat 422 ist beim Vegetable Research Institute, 1775 Budapest, P.O.Box 95, Ungarn, erhältlich.

- Die Reaktion der Hülse gegen *X. phaseoli* ist zur Zeit noch nicht eindeutig.

Legende der nachfolgenden Illustrationen:



gesundes Gewebe



(2) absterbendes Gewebe



chlorotisches Gewebe



(3) einige braunrote übersensitive nekrotische Flecken von der Größe einer Zelle

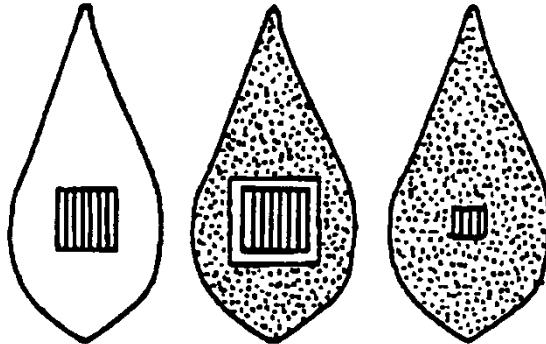
Bonitierungsschema

Wenn chlorotisches Gewebe (1) und/oder absterbendes Gewebe (2) festgestellt wird, sollte die Sorte als nicht resistent bezeichnet werden.

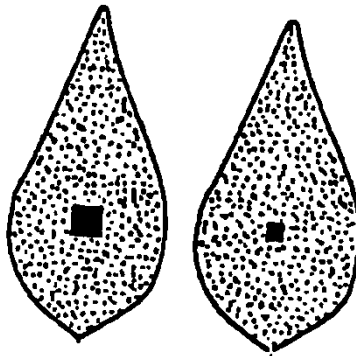
Wenn nur einige braunrote übersensitive nekrotische Flecken (3) von der Größe einer Zelle festgestellt werden, sollte die Sorte als resistent bezeichnet werden.

Mögliche Kombinationen der Symptome

Resistenz fehlend



Resistenz vorhanden



Vorgeschlagener neuer Wortlaut:

Zu 52: Resistenz gegen "Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli" (Xap)

1.	Pathogen	"Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli" (Xap)
2.	Quarantänestatus	Ja
3.	Wirtsart	<i>Phaseolus vulgaris</i>
4.	Quelle des Inokulums	Vegetable Research Institute, Budapest (HU)
5.	Isolat	Isolat 422
6.	Feststellung der Isolatidentität	-
7.	Feststellung der Pathogenität	-
8.	Vermehrung des Inokulums	
8.1	Vermehrungsmedium	Hefe-Glukose-Agar (20 g Hefeextraktpulver, 20 g Glukose, 20 g CaCO ₃ , 20 g Agar pro 1000 ml destilliertes Wasser)
8.2	Vermehrungsort	-
8.3	Pflanzenstadium bei der Inokulation	Erstes Paar Blätter 2-3 cm lang
8.4	Inokulationsmedium	-
8.5	Inokulationsmethode	100 % relative Luftfeuchtigkeit in den 2 Tagen nach der Inokulation, danach normale Luftfeuchtigkeit
8.6	Ernte des Inokulums	-
8.7	Prüfung des geernteten Inokulums	-
8.8	Haltbarkeit/Lebensfähigkeit des Inokulums	-
9.	Prüfungsanlage	
9.1	Anzahl der Pflanzen pro Genotyp	-
9.2	Anzahl der Wiederholungen	-
9.3	Kontrollsorten	-
9.4	Gestaltung der Prüfung	-
9.5	Prüfungseinrichtung	
9.6	Temperatur	26/20°C Tag/Nacht oder 28/25°C Tag/Nacht
9.7	Licht	-
9.8	Jahreszeit	-
9.9	Besondere Maßnahmen	100% relative Luftfeuchtigkeit in den 2 Tagen nach der Inokulation, danach normale Luftfeuchtigkeit
10.	Inokulation	
10.1	Vorbereitung des Inokulums	-
10.2	Quantifizierung des Inokulums	10 ⁸ cfu/ml
10.3	Pflanzenstadium bei Inokulation	-
10.4	Inokulationsmethode	Mechanisch, mit Kamelhaarbürste oder Inokulation durch Besprühen der Blätter unter Druck (2 bar) bis zum Ablauf. Zu diesem Zweck können verschiedene Arten von Geräten verwendet werden: ein Zerstäuber oder ein Farbpinsel mit Druckzufuhr.
10.5	Erste Erfassung	7 Tage nach der Inokulation
10.6	Zweite Erfassung	14 Tage nach der Inokulation
10.7	Abschließende Erfassungen	Wenn infizierte Blätter voll entwickelt sind
11.	Erfassungen	
11.1	Method	-
11.2	Erfassungsskala	Visuell
	Anfällig [1]	Starke Nekrose ist manchmal von einem sich ausbreitenden Ring von chlorotischem Gewebe umgeben

	Resistent [9]	bräunliche oder rote nekrotische Flecken von der Größe einer Zelle
11.3	Validierung der Prüfung	-
11.4	Abweicher	-
12.	Auswertung der Daten hinsichtlich der UPOV-Ausprägungsstufen	11.2
13.	Kritische Kontrollpunkte	-

[Ende der Anlage und des Dokuments]