

Erwinia resistentie in Zantedeschia

eindverslag juni 2003

Ronald Snijder en Jaap van Tuyl



© 2003 Wageningen, Plant Research International B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Plant Research International B.V.

Onderzoekproject uitgevoerd in opdracht van DWK, PT, Geerlings Breeding, Van Den Bos Breeding, T.C.M. Klaver, Ceres Vitro, VCI en Callabulbs op Plant Research International van juni 1999 – juni 2003

Plant Research International B.V.

Auteurs : Ronald Snijder, Jaap van Tuyl
Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317-477000
Fax : 0317-418094
E-mail : ronald.snijder@wur.nl; jaap.vantuyl@wur.nl
Internet : <http://www.plant.wageningen-ur.nl>

Inhoudsopgave

INHOUDSOPGAVE	3
1 INLEIDING	3
1.1 ZANTEDESCHIA (ARACEAE)	5
1.2 INFECTIE DOOR ERWINIA	6
1.3 RESISTENTIETOETS	6
2 RESULTATEN	7
2.1 VERGROTEN GENETISCHE VARIATIE	7
2.2 VIER RESISTENTIETOETSEN	8
2.3 RESISTENTIENIVO COLLECTIE	9
2.3.1 <i>Sectie Zantedeschia</i>	10
2.3.2 <i>Gekleurdbloemige cultivars (sectie Aestivae)</i>	11
2.3.3 <i>Wilde accessies sectie Aestivae</i>	12
2.4 INTROGRESSIE RESISTENTIE UIT <i>Z. AETHIOPICA</i>	13
2.5 GENETISCHE ACHTERGROND RESISTENTIE	14
2.5.1 <i>Effect van plastoom-genoom interacties op groei-kracht en resistentie</i>	15
2.5.2 <i>Vererving resistentie</i>	17
2.5.3 <i>Interactie tussen resistentiegenen</i>	19
3 CONCLUSIES	21
4 TOEKOMST	22
REFERENTIES	23

1. Inleiding

Probleemomschrijving- en doelstelling:

Het gewas *Zantedeschia* heeft zich de afgelopen jaren razendsnel ontwikkeld als nieuw siergewas. De veredeling van *Zantedeschia* staat echter nog in de kinderschoenen. De ontwikkeling van kennis, technieken en materiaal op het gebied van *Zantedeschia* is van belang met het oog op de positie die het gewas in de toekomst kan verwerven in de Nederlandse sierteeltsector.

Eén van de belangrijkste problemen m.b.t. *Zantedeschia* is de gevoeligheid voor de bacterie *Erwinia carotovora*. Binnen een zeer korte tijd kan een gehele teelt vernietigd worden. Vooral gekleurdbloemige types (botanisch behorend tot de sectie *Aestivae*) zijn gevoelig. Teeltmaatregelen kunnen de ziekte slechts voor een gedeelte onder controle houden. Voorbeelden hiervan zijn een goede drainage, een luchtig medium, een stabiele groei-omgeving, een niet te hoge stikstofgift, niet te nat, gebruik van mulching en niet te vroeg rooien (Welsh & Clemens, 1992; Wright 1994; Funnell & MacKay, 1999; Wright & Burge, 2000; Wright et al., 2002).

Een sluitende bestrijdingsmethode van *Erwinia* is echter niet voorhanden, zodat het inbouwen van resistenties grote aandacht verdient. Dit kan op een aantal manieren, bijvoorbeeld via soortkruisingstechnieken en via genetische modificatie. Genetische modificatie is gebruikt in aardappel en tabak om resistentie tegen *erwinia* in te bouwen, maar hoewel transgene planten hiermee ontwikkeld zijn, waren deze slechts weinig resistenter (During et al., 1993; Wu et al., 1995; Allefs et al., 1996; Wegener et al., 1996; Ray et al., 1998; Arce et al., 1999; Serrano et al., 2000; Li et al., 2001; Wegener, 2002).

Soortkruisingstechnieken zijn beproefde technieken die voor *Zantedeschia* verder uitgewerkt dienen te worden. Binnen dit project zal de aandacht uitgaan naar inzicht in genetica van resistentie.

De speerpunten van het project zullen zijn:

- a) Vergroting van de genetische variatie d.m.v. opbouwen collectie
- b) Ontwikkeling van een *Erwinia*-resistentietoets
- c) Opsporen van resistentie tegen *Erwinia*
- d) Introduceren van *Erwinia*-resistentie uit *Z. aethiopica* in gekleurde *Zantedeschia*-sortiment door middel van soortkruisingstechnieken
- e) Bepalen genetische achtergrond van *Erwinia* resistentie binnen sectie *Aestivae*

1.1 *Zantedeschia* (Araceae)

Het genus *Zantedeschia* bestaat uit 8 soorten. In dit verslag zal de taxonomische opvatting van (Singh et al., 1996) aangehouden worden. In Tabel 1 staat hiervan een overzicht

Tabel 1. Overzicht van het genus *Zantedeschia* Sprengel volgens (Singh et al., 1996).

Soort	Ondersoort	Sectie
<i>Z. aethiopica</i>	-	<i>Zantedeschia</i>
<i>Z. odorata</i>	-	<i>Zantedeschia</i>
<i>Z. rehmannii</i>	-	<i>Aestivae</i>
<i>Z. jucunda</i>	-	<i>Aestivae</i>
<i>Z. elliotiana</i>	-	<i>Aestivae</i>
<i>Z. pentlandii</i>	-	<i>Aestivae</i>
<i>Z. albomaculata</i>	<i>Albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
	<i>Macrocarpa</i>	<i>Aestivae</i>
<i>Z. valida</i>	-	<i>Aestivae</i>

De meeste cultivars van het huidige sortiment van de zogenaamde “kleurcalla's” komen voort uit kruisingen tussen *Aestivae* soorten (Tabel 1). Tussen *Z. aethiopica* en soorten van de sectie *Aestivae* bestaan grote kruisingsbarrières. Naast embryo abortie bestaat er plastoom-genoom incompatibiliteit tussen *Z. aethiopica* en gentypen van sectie *Aestivae* (Chi 1990); (Yao et al., 1995)).

Z. odorata zou als brugsoort gebruikt kunnen worden ter overwinning van deze kruisingsbarrières (Yao et al., 1995). Deze soort valt morfologisch namelijk tussen *Z. aethiopica* en soorten van sectie *Aestivae* (Perry 1989). Hybriden tussen *Z. odorata* en *Z. aethiopica* hebben soms geen problemen met bladgroen ((Yao et al., 1994); (Yao et al., 1995)). Deze zijn dan fertiel en terug te kruisen naar *Z. aethiopica*. Echter, ze hebben nog steeds grote kruisingsbarrières met soorten van sectie *Aestivae* (Cohen, 1998). Hybriden tussen *Z. odorata* en soorten van sectie *Aestivae* zijn voor zover bekend nog niet verkregen. Deze zouden, gekruist met hybriden van *Z. odorata* en *Z. aethiopica*, wel levensvatbare hybriden kunnen opleveren.

Er bestaat geen benaming voor cultivargroepen in het sortiment. Voor *Z. aethiopica* worden verschillende namen gebruikt: (witte) calla, aronskelk, zantedeschia. Voor de cultivars die afstammen van soorten uit de sectie *Aestivae* bestaan eveneens verschillende benamingen: calla's, gekleurde calla's, kleurcalla's, gekleurde zantedeschia.

1.2 Infectie door *Erwinia*

Voor de ontwikkeling van een resistentietoets is het kennis over het infectieproces nodig. Hier is daarom een literatuuronderzoek naar gedaan. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, de veroorzaker van zachtrot ('soft rot') in *Zantedeschia* (Wright, 1998), is een zeer algemeen voorkomend pathogeen. Bacteriën komen voor in open water en kunnen in de bodem overleven op plantenresten. Infectie door *Erwinia* vindt voornamelijk plaats via lenticellen (natuurlijke openingen over de gehele plant) en wondweefsel op de knol, liefst onder vochtige omstandigheden. In het veld begint de infectie vaak aan de basis van de bladeren en kan via de plant de knol bereiken (Pérombelon & Salmond, 1995).

De bacterie treedt de knol binnen, waarna onder bepaalde omstandigheden een snelle uitbreiding in de knol kan plaatsvinden. Een vochtig, warm (25°C) klimaat is optimaal voor bacteriegroei. Droge, hete condities remmen echter de bacteriegroei. Aangetaste planten vertonen in eerste instantie bladvergeling. Later knikken de bladstelen om en gaat de plant dood. De knol wordt gereduceerd tot een witachtige, slijmerige substantie. Het oogsten van bloemen is waarschijnlijk een belangrijke factor in de aantasting door *Erwinia*. Er wordt immers een wond gemaakt waardoor de bacterie de knol kan binnengaan. Ook zijn latente infecties van knollen aangetoond; de bacterie lijkt op het eerste gezicht niet aanwezig, maar wordt actief zodra de condities voor bacteriegroei verbeteren (Pérombelon & Salmond, 1995).

Een ander kritiek moment in de teelt van *Zantedeschia* is het rooien van de knollen. De knollen hebben dan een zachte huid, die gemakkelijk beschadigd wordt door diverse handelingen. Infectie treedt dan snel op, hetgeen leidt tot schade in de bewaarpartij. De bacterie kan slechts overblijven in de grond in de aanwezigheid van plantweefsel. In afwezigheid van plantweefsel zal de bacterie waarschijnlijk slechts drie tot zes weken kunnen overleven (Pérombelon & Kelman, 1980).

1.3 Resistentietoets

Een groot aantal resistentietoetsen is ontwikkeld om *Erwinia*-resistentie van aardappels te kwantificeren (Bain & Perombelon, 1988; Tzeng et al., 1990; Lojkowska & Kelman 1994; Allefs et al., 1995; Bisht et al., 1993; Haynes et al., 1997). Er zijn hierbij echter geen toetsen die individuele planten (zaailingen) kunnen toetsen zonder de planten te vernietigen. De kennis die bij aardappel is opgedaan kan gebruikt worden als basis voor het huidige onderzoek.

2 Resultaten

2.1 Vergroten genetische variatie

Er is een collectie opgebouwd van wilde *Zantedeschia* (Tabel 2).

Tabel 2. *Collectie*

PRI-nr	Soort	Sectie
99004	<i>Z. elliotiana</i>	<i>Aestivae</i>
99022	<i>Z. rehmannii</i>	<i>Aestivae</i>
00006	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>macrocarpa</i>	<i>Aestivae</i>
00031	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
00056	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
00057	<i>Z. rehmannii</i>	<i>Aestivae</i>
00058	<i>Z. albomaculata</i> hybride	<i>Aestivae</i>
00060	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>Albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
00061	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>Albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
00062	<i>Z. elliotiana</i>	<i>Aestivae</i>
00063	<i>Z. rehmannii</i>	<i>Aestivae</i>
00069	<i>Z. pentlandii</i>	<i>Aestivae</i>
00073	<i>Z. elliotiana</i>	<i>Aestivae</i>
00074	<i>Z. rehmannii</i>	<i>Aestivae</i>
00075	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
00076	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
018001	<i>Z. albo</i> ssp <i>albo</i> 'Helen O'Connor'	<i>Aestivae</i>
018002	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>macrocarpa</i>	<i>Aestivae</i>
018003	<i>Z. rehmannii</i> hybride	<i>Aestivae</i>
018004	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
018005	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
018006	<i>Z. albomaculata</i> ssp <i>macrocarpa</i>	<i>Aestivae</i>
018007	<i>Z. rehmannii</i>	<i>Aestivae</i>
018008	<i>Z. rehmannii</i>	<i>Aestivae</i>
018009	<i>Z. albomaculata</i>	<i>Aestivae</i>
018010	Solfatare2	<i>Aestivae</i>
00005	<i>Z. aethiopica</i> wild	<i>Zantedeschia</i>
00030	<i>Z. aethiopica</i> wild	<i>Zantedeschia</i>
00054	<i>Z. aethiopica</i> 'Pink Mist'	<i>Zantedeschia</i>
00901	<i>Z. aethiopica</i> 'Highwood'	<i>Zantedeschia</i>
99001	<i>Z. aethiopica</i> 'Calla Wit'	<i>Zantedeschia</i>
99005	<i>Z. aethiopica</i> 'Green Goddess'	<i>Zantedeschia</i>
99006	<i>Z. aethiopica</i> dwerg	<i>Zantedeschia</i>
99007	<i>Z. aethiopica</i> wild	<i>Zantedeschia</i>
99008	<i>Z. aethiopica</i> 'Crowborough'	<i>Zantedeschia</i>
99009	<i>Z. odorata</i> wild	<i>Zantedeschia</i>
99027	<i>Z. aethiopica</i> 'Giant Vanetti'	<i>Zantedeschia</i>
99144	<i>Z. aethiopica</i> 'Green Goddess'	<i>Zantedeschia</i>

2.2 Vier resistentietoetsen

Er zijn verschillende resistentietoetsen vergeleken:

- 1-bladsteeltoets
- 2-bladponstoets
- 3-knoltoets
- 4-knolschijftoets

1- Bladsteeltoets

Oudste bladeren (liefst uit de kas) worden afgesneden (cm lang) met een schoon mes. Bladschijven worden verwijderd met een schoon mes. Bladstelen worden 3x gewassen in steriel water, afgedept en aan de lucht gedroogd. Vervolgens worden de stelen in 5 ml inoculum gezet (1×10^5 bacteriën/ml (van isolaat PD 1784) Incubatie vindt plaats bij 20°C en 100% RV. De infectie wordt gemeten door de lengte van nog gezonde steel vanaf de bovenkant te meten in cm (nauwkeurig tot 0,5 cm).

2- Bladponstoets

Zes ponsen van tenminste twee jonge bladeren van een jonge spruit worden afgesneden vlak na ontvouwen van de bladschijven. De bladschijven worden geïncubeerd in 5 ml inoculum (1×10^7 bacteriën/ml (van isolaat PD 1784) in een zgn. "12-well plaat". Na 2, 3, of 4 dagen worden waarnemingen genomen, afhankelijk van nivo van symptomen bij *Z. rehmannii* (99022) en 'Florex Gold' (99017), en na zes dagen voor sectie *Zantedeschia*. Het percentage gemacereerd bladponsweefsel wordt visueel geschat op een lichtbak. Planten van sectie *Zantedeschia* werden apart getest van *Aestivae* cultivars, vanwege het verschillende groeiseizoen en omdat de waarnemingen op een andere dag genomen werden. Bij het analyseren is Florex Gold op 100% gesteld om de resultaten van verschillende toetsen te kunnen vergelijken.

3-Knoltoets

Hele knollen worden gedesinfecteerd door ze te wassen in leidingwater en vervolgens 20 min. te steriliseren in 1% hypochloriet en daarna goed af te spoelen met leidingwater. Elke knol wordt verwond door een 200µl pipetpunt 5 mm in een knol te drukken. In het ontstane gaatje wordt 20µl inoculum (1×10^7 bacteriën/ml) gepipetteerd. Incubatie vindt plaats in 100% vochtige bakken in een klimaatcel (20°C). Na zes dagen wordt het gewicht gemeten van het geïnfecteerde weefsel door het geïnfecteerd weefsel weg te spoelen met water. Het gewichtverlies wordt bepaald door het verschil in knolgewicht vóór en na het wegen te bepalen.

4. Knolschijftoets

Gehele knollen worden met water gewassen en gesteriliseerd in hypochloriet (1% NaOCl; 20min) Hiervan worden knolschijven (1cm dik) gesneden, die in een laagje water worden geplaatst. De inoculatie vindt plaats met een schijfje labpapier ($\varnothing=0,5$ cm) dat in een bacteriesuspensie van (1×10^5 bacteriën/ml) is gedoopt. Dit natte papiertje wordt in het

midden van het knolschijfoppervlak geplaatst. Na twee dagen incubatie (20C, 100% RV) vindt observatie plaats als bij de knoltoets.

Deze vier resistentietoetsen zijn vergeleken aan de hand van zes *Aestivae*-cultivars en één cultivar van *Z. aethiopica* (Tabel 3 en Tabel 4)

Tabel 3. Vergelijking van vier resistentietoetsen (Snijder & Van Tuyl 2002)

Cultivar	bladsteeltoets	Knoltoets	Knolschijftoets	bladponstoets ³
	cm gezond	% ziek	% ziek	%ziek
'Crowborough'	18.5a	0 a	0 a	6 a
'Pink Persuasion'	13.6ab	11 b	16 b	55 bc
'Black Magic'	15.3ab	25 b	17 b	54 bc
'Best Gold'	15.6ab	60 c	18 b	40 b
'Galaxy'	15.9ab	niet gedaan	20 b	74 bc
'Treasure'	7.1b	82 c	24 bc	68 bc
'Sensation'	6.9ab	73 c	31 c	47 b
'Florex Gold'	10.9ab	75 c	41 d	80 c

De vier toetsen kunnen allemaal gebruikt worden voor het meten van het resistentienivo van planten. De knoltoets was het meest precies. De bladponstoets verdient de voorkeur voor het toetsen van zeldzame planten (zaailingen), daar deze toets niet destructief is. De bladponstoets is daarom gebruikt bij het toetsen van zaailingen en het toetsen van de collectie.

Voor veredeling verdient het de aanbeveling om in een vroeg stadium een selectie uit te voeren a.h.v. de bladponstoets en in een later stadium nogmaals te toetsen met de knoltoets of de knolschijftoets.

Tabel 4. Correlatie-coëfficiënten van de vier resistentietoetsmethoden (Snijder & Van Tuyl 2002).

Toets	Bladsteel	Knol	Knolschijf
Bladsteel	-	-	-
Knol	0.82	-	-
Knolschijf	0.67	0.89	-
Bladpons	0.55	0.64	0.62

2.3 Resistentienivo collectie

Het resistentie nivo van de collectie is getoetst met de bladponstoets. Deze toetsingen zijn uitgevoerd in verschillende jaren en in verschillende herhalingen. De resultaten zijn onderverdeeld in

- sectie *Zantedeschia* (*Z. aethiopica* en *Z. odorata*)
- sectie *Aestivae* – cultivars
- sectie *Aestivae* – wilde accessies

2.3.1 Sectie *Zantedeschia*

De sectie *Zantedeschia*, bestaande uit *Z. aethiopica* en *Z. odorata*, herbergt variatie van resistent in 'Crowborough' tot vatbaar in *Z. odorata* (Tabel 5). Alle genotypen waren resistentier dan de vatbare controle 'Florex Gold', inclusief *Z. odorata*, die het minst resistent was.

Tabel 5. Resistientienivo sectie *Zantedeschia* (% ziek bladpansweefsel)

PRI-no	Genotype	P		Klasse
		2001	2000	
99005	<i>Z. aethiopica</i> 'Green Goddess'		1a	R
99001	<i>Z. aethiopica</i> 'Calla White'		2ab	R
00030	<i>Z. aethiopica</i>	3a	8bc	R/MR
99008	<i>Z. aethiopica</i> 'Crowborough'	7ab	4ab	R
00901	<i>Z. aethiopica</i> 'Highwood'	3a	6abc	R
00054	<i>Z. aethiopica</i> 'Pink Mist'	6ab	12c	MR
99027	<i>Z. aethiopica</i> 'Giant Vanetti'	7ab	11c	MR
99006	<i>Z. aethiopica</i>	10ab		MR
99007	<i>Z. aethiopica</i>	10ab		MR
00005	<i>Z. aethiopica</i>	20ab	1a	MR
99144	<i>Z. aethiopica</i> 'Green Goddess'	28b		MR
99009	<i>Z. odorata</i>	50b	15c	V
99017	'Florex Gold'	100c	100d	ZV

R =Resistent

MR = matig resistent

V =vatbaar

ZV=zeer vatbaar

2.3.2 Gekleurdbloemige cultivars (sectie *Aestivae*)

Er bestaat een grote variatie voor vatbaarheid binnen de getoetste cultivars. *Z. rehmannii* (99022) was het meest resistent en 'Florex Gold' het vatbaarste. De meeste cultivars waren net zo vatbaar als 'Florex Gold' (100), alleen 'Neroli' (30), 'Coral Sunset' (38), 'Hazel Marie' (41), 'Shadow' (52), 'Black Eyed Beauty' (53) en 'Chianti' (61) waren resistenter dan 'Florex Gold'. Slechts de eerste drie van dit rijtje waren niet vatbaarder dan *Z. rehmannii* (99022) (8).

Tabel 6. Resistentie-nivo sectie *Aestivae*-cultivars (Snijder, Hendriks et al., 2003)

PRI-no	Cultivar/genotype	P ^{1,2}		Klasse
		2001	2000	
99022	<i>Z. rehmannii</i>	8a	62ab	V
00049	Neroli	30ab		V
00040	Coral Sunset	38abc		V
00051	Hazel Marie	41abc		V
00001	Shadow	52bc		V
00038	Black Eyed Beauty	53bc		V
00033	Chianti	61bc		V
00047	Ruby	66bcd		V
00035	Fandango	69bcd		V
00036	Pink Persuasion	60bcd		V
99014	Pink Persuasion	74bcd	93bc	V
00043	Best Gold	69bcd	43ab	V
99010	Best Gold	84bcd	72abc	V
00045	Hot Shot	76cd		V
00050	Celeste	77cd		V
99003	Majestic Red		74ab	V
00042	Sensation	82cd	32ab	V
99015	Sensation	94cd	86b	V
00039	Cameo	87cd		V
00048	Black Magic	66bcd	72b	V
99011	Black Magic	103d	37ab	V
00034	Galaxy	94cd	103bc	ZV
99012	Galaxy	95d	99bc	V
00041	Mango	100d		ZV
99016	Treasure	102cd	99bc	ZV
00052	Treasure		91bc	ZV
99017	Florex Gold	100d	100bc	ZV
00046	Florex Gold		100bc	ZV

2.3.3 Wilde accessies sectie Aestivae

Binnen de wilde accessies in sectie *Aestivae* bestaat veel variatie voor resistentie. Deze variatie is groter dan de variatie binnen cultivars, want er zijn niet alleen types die net zo vatbaar zijn als 'Florex Gold' (100) (zoals 'Solfatare' (94), *Z. elliotiana* 99004 (141) en *Z. pentlandii* (00069) (122), maar ook types die resistenter scoorden dan *Z. rehmarii* (99022) (44-62). Opmerkelijk zijn *Z. albomaculata* subsp. *macrocarpa* 018002 (10) en *Z. albomaculata* hybride 00058 (26-27) die beide resistenter scoorden dan *Z. rehmarii* (99022) (44-62). Dat betekent dat er niet alleen resistentie bestaat in *Z. rehmarii*, maar ook in *Z. albomaculata*. De soort *Z. albomaculata* is variabel voor resistentie, daar *Z. albomaculata* (018002) matig resistent (10) scoorde, terwijl *Z. albomaculata* (00076) in 2002 niet resistenter (75) scoorde dan 'Florex Gold' (100).

Tabel 7. Resistentie-nivo wilde Aestivae (Snijder et al., 2003)

PRI-no	Cultivar/Genotype	2002	2001	2000	Klasse
99022	<i>Z. rehmarii</i>	48ab	44a	62ab	V
00057	<i>Z. rehmarii</i>	24a	29a	57ab	MR
00058	<i>Z. albomaculata</i> hybrid		27a	26a	MR
018002	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>macrocarpa</i>	10a			MR
00063	<i>Z. rehmarii</i>			39a	V
00074	<i>Z. rehmarii</i>	39ab	34a		V
018007	<i>Z. rehmarii</i>	59b			V
018008	<i>Z. rehmarii</i>	65b			V
018006	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>macrocarpa</i>	48ab			V
00031	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>	55ab	45a		V
00056	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>	53ab	26a		V
00060	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>			56ab	V
018004	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>	53ab			V
00075	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>	63b			V
00076	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>	75bc	56a		V
00061	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>			81b	V
00006-1	<i>Z. albomaculata</i>	46ab	119b		V
018001	<i>Z. albomaculata</i> 'Helen O Connor'	63b	103b		V
018005	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>	68b	134b		V
018009	<i>Z. albomaculata</i> ssp. <i>albomaculata</i>	69b	127b		V
00073	<i>Z. elliotiana</i>	40ab	68ab		V
00062-1	<i>Z. elliotiana</i>			84b	V
018010	Solfatare		94b		ZV
99004	<i>Z. elliotiana</i>			141bc	ZV
00069-2	<i>Z. pentlandii</i>			122c	ZV
99017	Florex Gold	100c	100b	100c	ZV

2.4 Introgressie resistentie uit *Z. aethiopica*

Om hybriden te verkrijgen van *Z. aethiopica* en gekleurdbloemige cultivars zijn meerdere kruisingscombinaties gemaakt (Tabel 8).

Tabel 8. Genotypen gebruikt in kruisingen tussen *Aestivae*-types en *Z. aethiopica*

<i>Z. aethiopica</i>	Gebruikt als moeder		Gebruikt als vader	
	<i>Aestivae</i>		<i>Z. aethiopica</i>	<i>Aestivae</i>
Calla Wit	Flame	Neroli	Calla Wit	Flame
Crowborough	Majestic Red	Chianti	<i>Z. aethiopica</i> 99007	Majestic Red
Pink Mist	<i>Z. elliotiana</i> 99004	Hazel Marie	Crowborough	<i>Z. elliotiana</i>
<i>Z. aethiopica</i> 99006	<i>Z. rehmannii</i> 99022	Hot Shot	Pink Mist	Best Gold
	Best Gold	Sensation	Giant Vanetti	<i>Z. rehmannii</i> 99022
	Mango	Black Eyed Beauty		Treasure
	Florex Gold	Galaxy		Solfatare
	Solfatare	Golden Sun		
	Lilac Mist	Dominque		

In totaal zijn van 66 verschillende kruisingscombinaties 282 embryo's en embryozakken in weefselkweek gebracht. Hiervan kiemden 108, alle plantjes waren albino. De combinatie *Z. rehmannii* 99022 × *Z. aethiopica* 'Pink Mist' was het meest succesvol. Hiervan werden 61 embryo's gered, waarvan 49 kiemden, deze waren eveneens albino.

Naast kruisingen tussen *Z. aethiopica* en types van sectie *Aestivae*, zijn ook kruisingen gemaakt met *Z. odorata*. Zo zijn er hybriden verkregen van *Z. odorata* en *Z. aethiopica* (Tabel 9)

Tabel 9. Hybriden van *Z. aethiopica* en *Z. odorata*

PRInr	moeder	Vader
99199	<i>Z. aethiopica</i> 99007	<i>Z. odorata</i>
99201	Crowborough	<i>Z. odorata</i>
99202	<i>Z. odorata</i>	Crowborough
99204	Crowborough	<i>Z. odorata</i>

Hybriden van *Z. aethiopica* en *Z. odorata* konden via normale zaadsetting verkregen worden. Alle planten met *Z. aethiopica* als moeder waren virescent (jong blad is bleek en kleurt groen naarmate de plant ouder wordt,

Figuur 1).



Figuur 1 Virescente hybride *Z. aethiopica* × *Z. odorata*

2.5 Genetische achtergrond resistentie

Om te bepalen of resistentie een genetische achtergrond heeft, zijn kruisingen gemaakt tussen genotypen met een verschillend nivo van resistentie (Tabel 10). Vervolgens zijn de resistentienivo's van de zaailingen en van hun ouders vergeleken

Tabel 10. Ouders gebruikt in kruisingen ter bepaling van genetische achtergrond resistentie

Genotype	Accessie	P
<i>Z. albomaculata</i>	00060	57 a ¹
<i>Z. albomaculata</i>	00061	86 bc ²
<i>Z. elliotiana</i>	00062-1	84 b ¹
<i>Z. rehmannii</i>	00063	44 a ¹
<i>Z. pentlandii</i>	00069	100 c ²

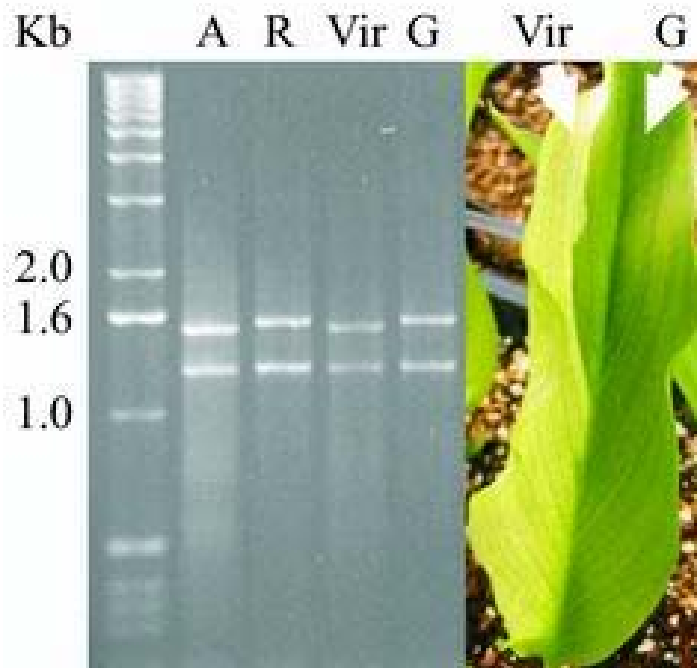
Tabel 11 Kruisingen gemaakt ten bate van studie vererving resistentie

Mother	Father					
	R1	P2	A1	A2	E1	P
<i>Z. rehmannii</i> (R1)			x	x	x	x
<i>Z. albomaculata</i> (A1)	x				x	x
<i>Z. albomaculata</i> (A2)	x	x			x	
<i>Z. elliotiana</i> (E1)	x	x	x	x		x
<i>Z. pentlandii</i> (P)	x		x		x	

2.5.1 Effect van plastoom-genoom interacties op groei­kracht en resistentie

Alvorens de hybriden zijn getoetst op resistentie, zijn ze beoordeeld t.a.v. diverse groei­karakteristieken om de groei­kracht te bepalen. Zo splitsten ze uit in blad­kleur en planten met bleek blad groeiden langzamer en waren zwakker. Met moleculaire merkers is bepaald dat de verschillende blad­kleur van planten van één familie veroorzaakt werd doordat deze planten verschillende blad­groentypes hadden (Figuur 2).

Figuur 2. Blad­kleur en bijbehorend plastide type



Tabel 12. Knolgewicht, planthoogte, aantal bladeren, chlorofylgehalte en vatbaarheid voor *Erwinia* van *Zantedeschia-soorthybriden* (Snijder & Van Tuyl, 2003)

Ouders		n	Chlorofyl (SPAD)	Knolgewicht (g)	Planthoogte (cm)	Aantal bladeren	Inf%	Plastidetype
Zreh00063, Z.albo00060	Groen	43	42.0 b	8.1 a	31.8 b	4.1 a	69 a	R
	Bleek	38	16.9 a	7.4 a	25.5 a	3.7 a	80 b	A
Z.reh00063, Z.albo00061	Groen	42	37.6 b	3.9 a	24.6 a	2.6 a	76 a	R
	Bleek	3	10.8 a	2.0 a	18.0 a	1.8 a	75 a	A
Z.reh00078, Z.albo00061	Groen	3	44.0 b	3.7 a	22.7 a	2.6 a	63 a	R
	Bleek	33	26.3 a	3.6 a	20.9 a	3.1 b	73 a	A
Z.reh00063, Z.ellio00062-1	Groen	14	38.9 a	7.2 b	28.4 a	2.6 a	76 a	R
	Bleek	2	**	1.5 a	**	**	75 a	E
Z.reh00078, Z.ellio00062-1	Groen	0						R
	Bleek	8	15.9	2.6	20.5	1.9	91 a	E
Z.reh00063, Z.pent00069-2	Groen	11	34.2 b	6.0 a	27.7 b	2.3 a	76 a	R
	Bleek	2	15.8 a	2.8 a	19.5 a	1.0 a	77 a	P
Z.albo00060, Z.ellio00062-1	d.groen	21	42.2 b	8.5 a	31.1 a	3.4 b	75 a	A
	l.groen	1	15.2 a	7.2 a	35.0 a	1.0 a	75 a	E
Z.albo00061, z.ellio00062-1	d.groen	10	46.2 b	8.3 b	38.7 b	3.6 a	86 b	A
	l.groen	30	33.7 a	6.1 a	32.8 a	2.7 a	77 a	E
Z.reh00063 selfing	groen	22	48.6	9.0	36.5	9.3		R

Z. rehmannii en *Z. albomaculata*

Hybriden van *Z. rehmannii* (00063, 00078) en *Z. albomaculata* (00060, 00061) met het plastide-type van *Z. rehmannii* zijn groeikrachtiger en resistenter dan planten met het plastide-type van *Z. albomaculata*.

Z. rehmannii en *Z. elliotiana*

Hybriden van *Z. rehmannii* (00063, 00078) en *Z. elliotiana* (00062-1) of *Z. pentlandii* (00069-2) met het plastide-type van *Z. rehmannii* zijn groeikrachtiger en resistenter dan planten met het plastide-type van *Z. elliotiana* of *Z. pentlandii*. Sommige planten met het plastide-type van *Z. elliotiana* of *Z. pentlandii* waren zelfs gestorven tijdens de rustperiode.

Z. albomaculata en *Z. elliotiana*

Hybriden van *Z. albomaculata* en *Z. elliotiana* met het plastide-type van *Z. albomaculata* zijn iets groeikrachtiger dan planten met het plastide-type van *Z. elliotiana*

Deze verschillen in groei en resistentie worden veroorzaakt door incompatibiliteit van plastiden en genomen van de verschillende soorten. Tabel 13 geeft de richtingen van compatibiliteit tussen de geteste genomen en plastomen. Het plastide-type van *Z. rehmannii* is compatibel in alle geteste

genetische achtergronden (*Z. rehmannii*, *Z. albomaculata*, *Z. elliotiana* en *Z. pentlandii*). Het plastide-type van *Z. albomaculata* is alleen compatibel met het eigen genoom en met dat van *Z. elliotiana*, terwijl het plastide-type van *Z. elliotiana* alleen volledig compatibel is met het eigen genoom.

Tabel 13. Richtingen van compatibiliteit van bladgroen en kernDNA

Hybride kern	Bladgroen			
	Reh	Albo	Ellio	Pent
RehmAlbo	++	±		
RehmEllio	++		±	
RehmPent	++			±
AlboEllio		++	+	

++= planten donkergroen blad en gezond

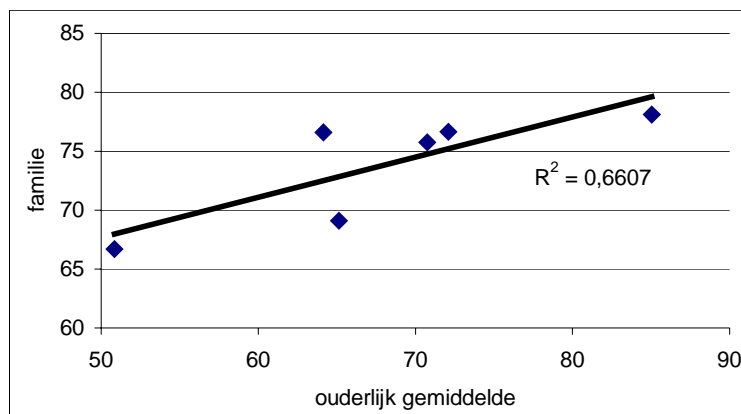
+ = planten met groen blad en gezond

± = planten met bleek blad en blijven achter in groei

Om de overerving van resistentie te bepalen, moeten zaailingen die lijden van incompatibiliteit tussen bladgroen en kernDNA (± in Tabel 13), daarom niet meegenomen worden van genetische analyse, omdat deze minder groeikrachtig zijn.

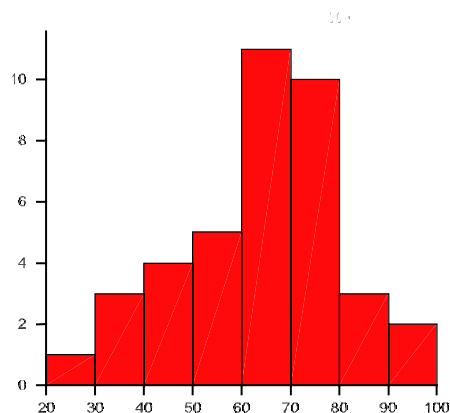
2.5.2 Vererving resistentie

Om te bepalen hoe resistentie vererft, zijn ouders met verschillende nivo's van resistentie vergeleken met hun ouders. Als resistentie vererft, dan moet de resistentie van nakomelingen gecorreleerd zijn aan de resistentie van de ouders. Figuur 3 laat zien dat er een positieve samenhang bestaat tussen het ouderlijk gemiddelde en het gemiddelde resistentienivo van de familie, wat bewijst dat er een genetische basis is achter resistentie.



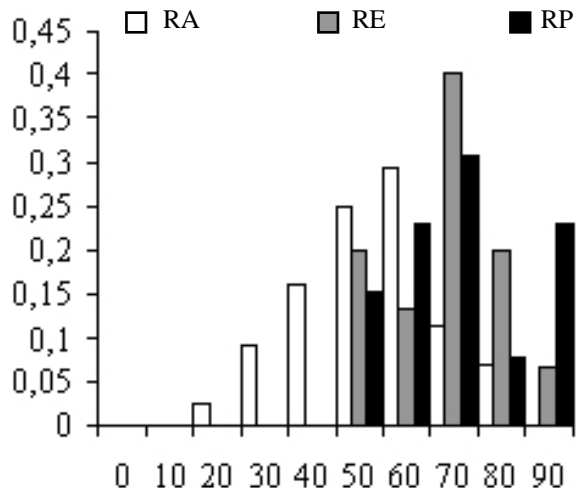
Figuur 3. Samenhang tussen resistentie van de ouders (gemiddelde van de ouders) en resistentie van overeenkomende familie. Planten die een incompatibel bladgroentype hadden, zijn niet meegenomen in de genetische analyse.

Om te bepalen op welke manier resistentie vererft, is bepaald hoe de nakomelingen uitsplitsen. Zo bleek dat het resistentienivo van de zaailingen continu verdeeld was. Dat betekent dat zaailingen van alle families niet een duidelijk uitsplitsing lieten zien, maar dat er een graduele verdeling was (Figuur 4)
 Figuur 4. Frequentieverdeling van resistentienivo van familie *Z.rehmannii* 00063 × *Z. albomaculata*



00060 zoals gemeten met de bladponstoets

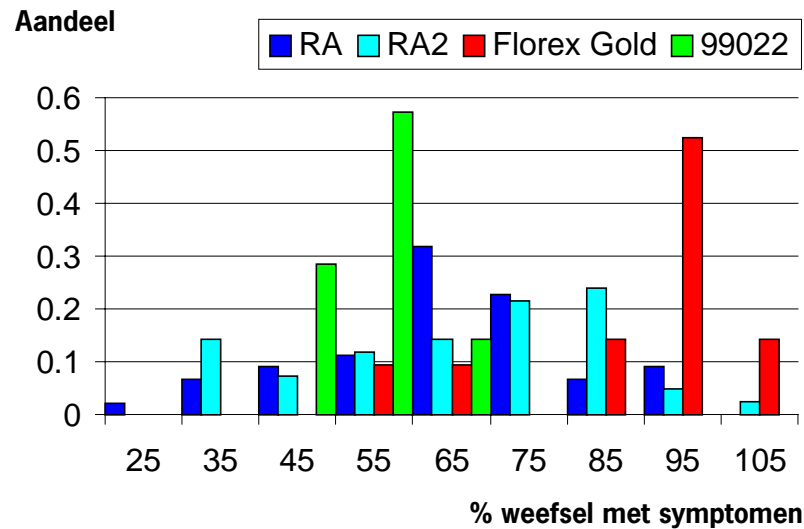
Deze continue verdeling betekent dat resistentie kwantitatief is en waarschijnlijk wordt bepaald door meerdere genen. Zaailingen van *Z. rehmannii* × *Z. albomaculata* varieerden meer dan zaailingen van *Z. rehmannii* × *Z. elliotiana* en van *Z. rehmannii* × *Z. pentlandii* (Figuur 5).



Figuur 5. Verdeling van resistentie binnen *Z. rehmannii* × *Z. albomaculata* (RA), *Z. rehmannii* × *Z. elliotiana* (RE) en van *Z. rehmannii* × *Z. pentlandii* (RP)

De families van de vatbare *Z. elliotiana* en *Z. pentlandii* splitsen dus minder uit. Waarschijnlijk hebben deze ouders geen resistentiegenen ingebracht en is de variatie van hun nakomelingen daarom kleiner dan de variatie van *Z. rehmannii* × *Z. albomaculata*. De vatbare *Z. albomaculata* (00061) heeft echter een familie met *Z. rehmannii* (00063) die in tegenstelling tot de families van de eveneens vatbare *Z. elliotiana* en *Z. pentlandii* wel een groot variatie heeft. Figuur 2 laat zien dat de variatie van *Z. rehmannii* (00063) × *Z. albomaculata* (00060) en van *Z. rehmannii* (00063) × *Z. albomaculata* (00061) vergelijkbaar zijn. Dit zijn kunnen betekenen dat de vatbare *Z. albomaculata* (00061) in tegenstelling tot de vatbare *Z. elliotiana* (00062-1) en *Z. pentlandii* (00069-2) wél resistentiegenen bevat.

Figuur 9 laat zien dat families van *Z. rehmannii* en *Z. albomaculata* (RA en RA2) planten bevatten die resistenter waren dan de partieel resistente controle *Z. rehmannii* (99022).



Figuur 6. Frequentieverdeling van resistentie per familie en bij de referentiecultivars, bepaald met de bladponstoets; RA= familie van *Z. rehmannii* (00063) en *Z. albomaculata* (00060); RA2= familie van *Z. rehmannii* (00063) en *Z. albomaculata* (00061)

Deze hogere resistentie in zaailingen van *Z. rehmannii* en *Z. albomaculata* is te verklaren als er in deze ouders verschillende resistentiegenen zitten. Deze genen tellen als het ware hun aandeel aan resistentie op en resulteren gecombineerd in een nog resistenter genotype dan de ouders. Dit geeft aan dat resistentiegenen van verschillende achtergrond elkaar kunnen complementeren en dat er interactie bestaat.

2.5.3 Interactie tussen resistentiegenen

In 2002 is getracht om door middel van kruising potentiële resistentiegenen te combineren. Het doel hiervan is om te bepalen of er interactie bestaat tussen resistentiegenen van verschillende herkomsten (zie *Tabel 14*).

Tabel 14. Samenbrenging van resistentiegenen van verschillende herkomsten.

Moeder	Vader		Type kruising	Resistentie ouders	
Genotype	Nummers				
<i>Z. rehmannii</i>	99022, 00057, 00074, 00063	<i>Z. albomaculata</i> subsp. <i>albomaculata</i>	00031, 00056, 00060, 00061	R×AA	MR×V/MR
<i>Z. rehmannii</i>	99022, 00057	<i>Z. albomaculata</i> hybride	00058	R×A	MR×MR
<i>Z. rehmannii</i>	99022, 00074	<i>Z. albomaculata</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	018002, 018006	R×AM	MR×MR
<i>Z. albomaculata</i> subsp. <i>Albomaculata</i>	00031, 00056, 00060	<i>Z. rehmannii</i>	00057, 99022, 00063	AA×R	V×MR/V
<i>Z. albomaculata</i> subsp. <i>Albomaculata</i>	00056	<i>Z. albomaculata</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	018006	AA×AM	V×MR
<i>Z. albomaculata</i> subsp. <i>Macrocarpa</i>	018002	<i>Z. albomaculata</i> subsp. <i>albomaculata</i>	00056	AM×AA	MR×V
<i>Z. elliotiana</i>	00073	<i>Z. albomaculata</i> subsp. <i>macrocarpa</i>	018006	E×AM	V×MR

Zaailingen van alle bovenstaande kruisingscombinaties zijn ontwikkeld en worden opgekweekt. Zaailingen uit de kruisingscombinatie *Z. rehmannii* (99022) × *Z. albomaculata* hybride (00058) konden alleen na embryo rescue verkregen worden, wat betekent dat er een kruisingsbarrière tussen sommige soorten. Resistentietoetsing is nog niet mogelijk geweest omdat alle zaailingen uit de kruisingen van Tabel 12 nog niet groot genoeg waren.

3 Conclusies

- Vier resistentietoetsen die gebruik maakten van verschillende plantenweefsels (bladstelen, bladpansen, knollen en knolschijven) waren met elkaar in overeenstemming
- In de bladponstoets was geen enkele *Zantedeschia* volledig resistent tegen *Erwinia*
- In de bladponstoets was *Z. odorata* vatbaarder dan *Z. aethiopica*
- Het is niet mogelijk om resistentie van *Z. aethiopica* direct in te kruisen in *Aestivae*, omdat alle 100 hybriden die voortkwamen uit 66 kruisingscombinaties, albino waren.
- In de bladponstoets waren de meeste *Aestivae* cultivars niet resistentier dan 'Florex Gold'.
- In de bladponstoets waren *Z. rehmannii* en *Z. albomaculata* resistentiebronnen, terwijl *Z. elliotiana* en *Z. pentlandii* gevoelig waren; binnen *Z. albomaculata* en *Z. rehmannii* bestond variatie voor resistentie
- Resistentie tegen *Erwinia* is kwantitatief, omdat de verdeling van resistentie binnen interspecifieke families continu verdeeld was.
- Plastoom-genoom interacties kunnen groeikracht sterk verminderen en planten die lijden van plastoom-genoom incompatibiliteit moeten uitgesloten worden van genetische analyses voor resistentie, omdat deze planten minder groeikrachtig waren.

4 Toekomst

De interactie die bestaat tussen resistentiegenen van *Z. rehmannii* en *Z. albomaculata* geeft aan dat *Z. rehmannii* en *Z. albomaculata* verschillende resistentiemechanismen bevatten. Inzicht in deze interactie maakt het mogelijk om resistentieveredeling te optimaliseren.

Het was niet mogelijk om het aantal resistentiegenen te bepalen van *Z. rehmannii* of van *Z. albomaculata*. In de vatbare achtergrond van 'Florex Gold' zou het mogelijk zijn om met behulp van moleculaire merkers een betere schatting te maken van het aantal resistentiegenen en hun lokatie van *Z. rehmannii* en *Z. albomaculata*.

De rol van Pythium in infectie door erwinia is onduidelijk. Het zou kunnen dan Pythium een precursor is van erwinia. Inzicht in de rol van Pythium zal resistentieveredeling eveneens optimaliseren.

Referenties

- Allefs, J., W. v. Dooijeweert, et al., (1995). "Factors affecting potato soft-rot resistance to pectolytic *Erwinia* species in a tuber-slice assay." Journal of Phytopathology **143**(11-12): 705-711.
- Allefs, S., E. R. d. Jong, et al., (1996). "Erwinia soft rot resistance of potato cultivars expressing antimicrobial peptide tachyplesin I." Molecular Breeding **2**(2): 97-105.
- Arce, P., M. Moreno, et al., (1999). "Enhanced resistance to bacterial infection by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in transgenic potato plants expressing the attacin or the cecropin SB-37 genes." American Journal of Potato Research **76**(3): 169-177.
- Bain, R. A. and M. C. M. Perombelon (1988). "Methods of testing potato cultivars for resistance to soft rot of tubers caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*." Plant Pathology **37**(3): 431-437.
- Bisht, V. S., P. S. Bains, et al., (1993). "A simple and efficient method to assess susceptibility of potato to stem rot by *Erwinia carotovora* subspecies." American Potato Journal **70**(8): 611-616.
- Chi, Y.-H. (1990). A study of incompatibility within the genus *Zantedeschia*. Palmerston North, New Zealand, Massey University.
- During, K., P. Porsch, et al., (1993). "Transgenic potato plants resistant to the phytopathogenic bacterium *Erwinia carotovora*." Plant Journal **3**(4): 587-598.
- Funnell, K. A. and B. R. MacKay (1999). Directions and challenges of the New Zealand calla industry, and the use of calcium to control soft rot. International symposium on development of bulbous flower industry, Taichung, Taiwan, R.O.C., 14-15, January, 1999. T. F. Sheen, J. J. Chen and T. C. Yang. [S.I.], Taiwan Seed Improvement and Propagation Station: 30-31.
- Haynes, K. G., W. J. E. Potts, et al., (1997). "Evaluation of the reliability of determining soft rot resistance in potatoes by the tuber slice method." American Potato Journal **74**(4): 265-275.
- Li, Q., C. B. Lawrence, et al., (2001). "Enhanced disease resistance conferred by expression of an antimicrobial magainin analog in transgenic tobacco." Planta **212**(4): 635-639.
- Lojkowska, E. and A. Kelman (1994). "Comparison of the effectiveness of different methods of screening for bacterial soft rot resistance of potato tubers." American Potato Journal **71**(2): 99-113.
- Pérombelon, M. C. M. and A. Kelman (1980). "Ecology of the soft rot *Erwinias*." Annual Reviews of Phytopathology **18**: 361-387.
- Pérombelon, M. C. M. and G. P. C. Salmond (1995). Bacterial soft rots. Pathogenesis and host specificity in plant diseases : histopathological, biochemical, genetic and molecular bases. U. S. Singh, R. P. Singh and K. Kohmoto. Oxford, Pergamon. **1**: 1-20.
- Perry, P. L. (1989). "A new species of *Zantedeschia* (Araceae) from the western Cape." South African Journal of Botany **55**(4): 447-451.
- Ray, H., D. S. Douches, et al., (1998). "Transformation of potato with cucumber peroxidase: expression and disease response." Physiological and Molecular Plant Pathology **53**(2): 93-103.
- Serrano, C., P. Arce Johnson, et al., (2000). "Expression of the chicken lysozyme gene in potato enhances resistance to infection by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*." American Journal of Potato Research **77**(3): 191-199.
- Singh, Y., H. Baijnath, et al., (1996). "Taxonomic notes on the genus *Zantedeschia* Spreng. (Araceae) in southern Africa." South African Journal of Botany **62**(6): 321-324.

- Snijder, R. and J. M. van Tuyl (2003). "Plastome-genome incompatibility and biparental plastid inheritance affect vigour of interspecific hybrids of *Zantedeschia* (Araceae) section *Aestivae*." in preparation.
- Snijder, R. C., M. M. W. B. Hendriks, et al., (2003). "Genetic variation in *Zantedeschia* spp. (Araceae) for resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*." Euphytica(submitted).
- Snijder, R. C. and J. M. v. Tuyl (2002). "Evaluation of tests to determine resistance in *Zantedeschia* spp. (Araceae) to soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*." European Journal of Plant Pathology **108**: 565-571.
- Tzeng, K. C., R. G. McGuire, et al., (1990). "Resistance of tubers from different potato cultivars to soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*." American Potato Journal **67**(5): 287-305.
- Wegener, C., S. Bartling, et al., (1996). "Pectate lyase in transgenic potatoes confers pre-activation of defence against *Erwinia carotovora*." Physiological and Molecular Plant Pathology **49**(6): 359-376.
- Wegener, C. B. (2002). "Induction of defence responses against *Erwinia* soft rot by an endogenous pectate lyase in potatoes." Physiological and Molecular Plant Pathology **60**: 91-100.
- Welsh, T. E. and J. Clemens (1992). "Protected cropping of *Zantedeschia* tubers and cutflowers in New Zealand." Acta Horticulturae **319**: 335-340.
- Wright, P. J. (1994). Controlling soft rots in callas, Crop&Food research: **1999**.
- Wright, P. J. (1998). "A soft rot of calla (*Zantedeschia* spp.) caused by *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora*." New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science **26**(4): 331-334.
- Wright, P. J. and G. K. Burge (2000). "Irrigation, sawdust mulch, and Enhance(R) biocide affects soft rot incidence, and flower and tuber production of calla." New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science **28**(3): 225-231.
- Wright, P. J., G. K. Burge, et al., (2002). "Effects of cessation of irrigation and time of lifting of tubers on bacterial soft rot of calla (*Zantedeschia* spp.) tubers." New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science **30**: 265-272.
- Wu, G., B. J. Shortt, et al., (1995). "Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H2O2-generating glucose oxidase in transgenic potato plants." Plant Cell **7**(9): 1357-1368.
- Yao, J. L., D. Cohen, et al., (1994). "Plastid DNA inheritance and plastome-genome incompatibility in interspecific hybrids of *Zantedeschia* (Araceae)." Theoretical and Applied Genetics **88**(2): 255-260.
- Yao, J. L., D. Cohen, et al., (1995). "Interspecific albino and variegated hybrids in the genus *Zantedeschia*." Plant Science Limerick **109**(2): 199-206.