

sind und diese schnell besiedeln können. Ein Hauptziel ist es daher, potentiell invasive Unkrautarten herauszufinden und diese auf ihre mögliche Schädigung zu untersuchen. Denn diese können in kürzester Zeit große und weitreichende Ertragsverluste verursachen. So hat sich im Süden Europas z. B. bereits *Abutilon theophrasti* in Mais und Zuckerrüben zu einem ernstzunehmenden und schwer bekämpfbaren Unkraut entwickelt, dass sich im Zuge des Klimawandels weiter nördlich ausbreiten wird und momentan bereits in weiten Teilen Süddeutschlands zu finden ist. Aber auch *Iva xanthiifolia* hat ein solches Ausdehnungspotential.

Neben einer Zunahme bereits etablierter generalistischer und wärmeliebender Unkrautarten ist insbesondere auch das Auftreten sog. „Upstarters“ zu verfolgen. Hierunter verstehen wir opportunistische Unkrautarten, die bereits seit vielen Jahren in geringer Anzahl auf dem Acker zu finden sind, bislang jedoch noch keine Bedeutung hatten. Diese Arten könnten von den Veränderungen des Klimas überproportional profitieren und zu ernstzunehmenden „Problemarten“ werden. So treten z. B. seit einigen Jahren *Anchusa arvensis* und *Geranium*-Arten in ertragsmindernden Quantitäten in einigen Teilen Deutschlands im Raps auf – bereits als eine Folge des Klimawandels? In Mais werden bereits etablierte Hirse- und Amaranth-Unkräuter von der Klimaveränderung profitieren und ihre Verbreitung weiter nordwärts verlagern, was zu Verschiebungen von Dominanzverhältnissen innerhalb der Unkrautpopulationen führt, deren Lücken diese Arten besonders ausfüllen können.

Da mögliche Auswirkungen des Klimawandels im Agrarökosystem bisher kaum bekannt sind, untersuchen wir diese an ausgewählten Ackerunkräutern in den Kulturen Raps, Weizen, Mais und Zuckerrüben, um zukünftige Prognosen erstellen zu können. Neben der Bestimmung einzelner Pflanzenparameter wie Keimungsraten, Entwicklung, Blühphasen, Samenproduktion, Biomasse und Konkurrenzkraft möchten wir auch die Abundanzen in 50 Jahren modellieren. Besonderes Augenmerk liegt zudem auf agrarischen Einflussfaktoren wie Saattermine, Bestandesdichten und Bodentypen. Unsere Ergebnisse sollen dabei helfen, genaue agrarische Anpassungsstrategien auf die sich verändernde Unkrautflora zu entwickeln, denn der Klimawandel wird eine Verschiebung in den Unkrautspektren der Kulturarten hervorrufen, die den Pflanzenschutz vor neue Herausforderungen stellen wird.

#### Literatur

- [1] Patterson, D. T. (1995): Weeds in a Changing Climate, *Weed Science* 43: 685–701.  
 [2] Pysek, P., et al. (2005): Alien Plants in Temperate Weed Communities, *Ecology* 86 (3): 772–785.  
 [3] Walther, G.-R., et al. (2009): Alien species in a warmer world, *TREE* 1146: 686–693.

## Sektion 50 – Virologie / Bakteriologie / Mykologie

50-1 - Rabenstein, F.<sup>1)</sup>; Maiss, E.<sup>2)</sup>; French, R.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Julius Kühn-Institut; <sup>2)</sup> Leibniz Universität Hannover; <sup>3)</sup> University of Nebraska, Lincoln, USA

### Charakterisierung neuartiger Potyviren in Futtergräsern der Gattungen *Festuca* und *Dactylis* in Deutschland

Characterization of novel potyviruses occurring in grasses of the genus *Festuca* and *Dactylis* in Germany

Viren der Familie *Potyviridae* bilden mit über 100 verschiedenen Arten die wirtschaftlich wichtigste Gruppe von Pflanzenviren. Gegenwärtig werden 7 offiziell anerkannte Genera unterschieden, wobei Viren aus den Genera *Bymovirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus* und *Tritimovirus* Gramineen-Arten infizieren können. Ein neues Genus mit der Bezeichnung *Poacevirus* wurden kürzlich vorgeschlagen, der gegenwärtig die beiden Virusarten *Triticum mosaic virus* (TriMV), isoliert aus Weizen, sowie *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV), isoliert aus Zuckerrohr, beinhaltet. Beide Viren werden vermutlich durch verschiedene Gallmilbenarten übertragen, obwohl dies bisher eindeutig nur für das TriMV belegt ist, für das *Aceria tosichella* als Vektor fungiert. Darüber hinaus ist diese Gallmilbenart auch als Vektor des *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) bzw. *Wheat mosaic virus* (former *High Plains virus*) bekannt; zwei Viren, die in den USA an Weizen und Mais erhebliche Ertragsverluste verursachen können. Das WSMV bildet den type member der Tritimoviren, die vier weitere Arten (*Brome streak mosaic virus* (BrSMV), *Oat necrotic mottle virus* (ONMV), *Wheat eglid mosaic virus* und ein kürzlich als Yellow oat-grass mosaic virus (YOgMV) bezeichnetes Virus aus *Trisetum flavescens*) umfassen.

In Deutschland wurden von uns zwei neue Viren aus den Gräserarten *Festuca gigantea* bzw. *Dactylis glomerata* isoliert und mit biologischen, serologischen und molekularen Methoden charakterisiert. In den Originalproben waren elektronenmikroskopisch gestreckte, flexible Viren nachweisbar, die eine Länge von ca. 750 in *D. glomerata* bzw. 900 nm in *F. gigantea* aufwiesen. In Ultradünnschnitten konnten für Potyviren charakteristische zytoplasmatische Einschlusskörper (pinwheel-shaped inclusion bodies) beobachtet werden, wobei die im Knaulgras gefundenen in ihrer Struktur mehr den durch das BrSMV verursachten ähnelten. Im Kontrast zu allen bisher bekannten Potyviren aus Gräsern verursachte das Isolat aus *Dactylis* chlorotische Lokalläsionen auf Blättern

inokulierter *Chenopodium quinoa* Pflanzen. Eine Rückübertragung auf verschiedene Gräserarten, vorwiegend aus dem Tribus *Aveneae* bzw. *Poeae*, war erfolgreich. Beide Virusisolate konnten in Hafer vermehrt, mittels Ultrazentrifugation gereinigt und für Antiserumgewinnung verwendet werden. Für beide Viren, deren Genomorganisation typisch für monopartite Potyviren ist, konnte die komplette Genomsequenz ermittelt werden. Anhand der phylogenetischen Analysen können diese Viren den beiden Genera *Tritimovirus* bzw. dem neuen Genus *Poacevirus* zugeordnet werden.

Ein weiteres Kriterium für die Zuordnung zu den beiden genannten Genera sind die für den jeweiligen Genus charakteristischen Schnittstellen der vom Virusgenom kodierten Proteasen (cleavage sites). Diese stimmen im Fall des *Festuca*-Virus weitgehend mit denen des TriMV bzw. SCSMV überein, während das *Dactylis*-Virus hier am meisten den beiden Mitgliedern des Genus *Tritimovirus* ONMV bzw. WSMV ähnelt. Für die beiden neuen Virusarten werden die Bezeichnungen *Cocksfoot streak mosaic virus* bzw. *Festuca necrotic streak virus* vorgeschlagen.

50-2 - Vetten, H.-J.<sup>1)</sup>; Grigoras, I.<sup>2)</sup>; Gronenborn, B.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Julius Kühn-Institut; <sup>2)</sup> Institut des Sciences du Végétal, CNRS, Frankreich

### **Erster Nachweis eines *Nanovirus* für Deutschland und Zentraleuropa**

First report of a *Nanovirus* from Germany and Central Europe

Nanoviren wie das *Faba bean necrotic yellows virus* (FBNYV) und *Faba bean necrotic stunt virus* (FBNSV) haben ein zirkuläres, multipartites (aus acht Komponenten bestehendes) Einzelstrang-DNA-Genom, werden durch bestimmte Blattlausarten zirkulativ-persistent auf Leguminosen übertragen und sind in Nordafrika und im Nahen Osten z. B. an Fababohne, Kichererbse und Linse weit verbreitet. In Europa sind sie – abgesehen von einem sporadischen Auftreten des FBNYV in Spanien (Mallorca und Murcia) – bisher noch nicht gefunden worden. Aus zwei von 23 Blattproben von Erbsenpflanzen (*Pisum sativum*), die im Juli 2009 in einem Feld in der Nähe von Aschersleben (Sachsen-Anhalt) wegen virusähnlicher Symptome auffielen, konnte durch Blattlausübertragung (*Acyrtosiphon pisum*) ein Krankheitserreger isoliert werden, der auffällige Vergilbungs- und Stauchesympptome an Erbsen- und Fababohnensämlingen verursachte. Nachdem eine Vielzahl von Versuchen zum Nachweis eines *Luteovirus* oder anderer RNA-Viren gescheitert war, begannen wir das Vorliegen eines *Nanovirus* in Betracht zu ziehen.

Bei Verwendung eines Antiserums gegen FBNYV im DAS-ELISA beobachteten wir schwache, aber eindeutig positive Reaktionen mit den beiden Erbsenisolaten. Letztere reagierten auch schwach bis stark im TAS-ELISA mit sechs der 26 monoklonalen Antikörper (MAKs), die wir früher gegen FBNYV und FBNSV hergestellt hatten. Der Einsatz von „Rolling Circle Amplification“ (RCA) an einem Gesamt-DNA-Extrakt aus symptomtragenden Blättern ergab eine starke, hochmolekulare DNA-Bande, die sich nach Behandlung mit der Endonuclease AatII teilweise in ein Produkt von ca. 1 kb umwandeln ließ. Klonierung und Sequenzierung dieser DNA lieferten eindeutige Hinweise für das Vorliegen einer zirkulären DNA von 1.002 Nukleotiden, die als vollständige DNA-R-Komponente eines neuen Mitglieds der Gattung *Nanovirus* identifiziert wurde. Sie weist Nukleotidsequenzidentitäten von lediglich 73 bis 79 % mit den bisher bekannten Nanoviren auf. Nach Behandlung des hochmolekularen RCA-Produkts mit zehn weiteren Endonucleasen gelang danach auch die Klonierung der sieben anderen Komponenten des Nanovirusgenoms. Sequenzierung der acht DNAs zeigte, dass sie etwa gleich groß [von 978 (DNA-U1) bis 1.002 Nukleotiden (DNA-R) und in Bezug auf Lage und Orientierung von konservierten Bereichen und ORFs sehr ähnlich strukturiert sind. Das von uns charakterisierte *Nanovirus*-Isolat D15 wies mit anderen Nanoviren eine Gesamtnukleotidsequenzidentität von nur 61 bis 64 % und eine Hüllproteinsequenzidentität von lediglich 51 bis 57 % auf. Da es damit die molekularen Kriterien (Gesamtnukleotidsequenzidentität von < 75 % und Unterschiede in der Hüllproteinamino säuresequenz von > 15 %) für die Unterscheidung von Nanovirusarten ohne weiteres erfüllt, kann das Erbsenisolat D15 als Vertreter einer neuen Nanovirusart angesehen werden, für die der Name *Pea necrotic yellow dwarf virus* vorgeschlagen wird.

50-3 - Menzel, W.<sup>1)</sup>; Barg, E.<sup>2)</sup>; Vetten, H.-J.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ); <sup>2)</sup> Julius Kühn-Institut

### **Erster Nachweis des *Carrot thin leaf virus* für Deutschland und Europa und Untersuchungen zur Variabilität und Verbreitung**

Vor mehreren Jahren konnten wir aus einer Pastinakpflanze aus Braunschweig überraschend ein *Potyvirus* isolieren, welches durch Sequenzierung des 3'-Endes des Genoms eindeutig als Isolat des *Carrot thin leaf virus* (CTLV; Gattung *Potyvirus*) identifiziert werden konnte. Das CTLV war bis dahin nur aus den USA bekannt.

Mittels eines gegen das Pastinakisolat hergestellten Antiserums konnte CTLV in den Folgejahren vereinzelt in Möhren verschiedener Herkünften in Deutschland nachgewiesen werden. Serologisch lässt sich das CTLV eindeutig von den anderen an Umbelliferen vorkommenden Potyviren wie z. B. *Apium virus Y*, *Carrot virus Y* und *Celery mosaic virus* unterscheiden. CTLV verursacht an Möhre eine auffällige Fadenblättrigkeit, je nach Kulturbedingungen (insbesondere Gewächshaus) bleiben die infizierten Pflanzen auch völlig symptomlos.

Auf der Suche nach möglichen Überwinterungswirten wurde CTLV in zahlreichen Gierschproben verschiedener Standorte gefunden, die teilweise deutliche Virussympptome (Scheckung, Chlorosen) zeigten. Auch hier konnte an einzelnen Standorten ein deutliches Abschwächen der Symptome über den Sommer beobachtet werden. Da Giersch als weit verbreitete und ausdauernde Pflanzenart in Europa und Asien vorkommt, stellt sie eine mögliche Virusquelle dar. Untersuchungen des Hüllproteingens zeigten eine teils hohe Variabilität zwischen verschiedenen Isolaten. Die Aminosäuresequenzen des Hüllproteins variierten bis zu 14 %, wobei die Unterschiede insbesondere am N-Terminus vorliegen. In Versuchen mit der an Umbelliferen verbreiteten Lausart *Cavariella aegopodii* konnte eine Übertragbarkeit von Gierschisolaten des CTLV auf nicht-persistente Weise auf Möhre nachgewiesen werden.

50-4 - Maiss, E.<sup>1)</sup>; Menzel, W.<sup>2)</sup>; Vetten, H.-J.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Leibniz Universität Hannover; <sup>2)</sup> Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ);

<sup>3)</sup> Julius Kühn-Institut

## Molekulare Charakterisierung des *Parsley latent virus* (PILV)

### Molecular Characterization of *Parsley latent virus* (PILV)

Im Jahr 1979 beschrieben Bos et al. [1] das Vorkommen des *Parsley latent virus* (PILV) in Petersilie (*Petroselinum crispum*). In 17 von 24 getesteten Petersiliensorten aus fünf verschiedenen europäischen Ländern wurde das Virus nachgewiesen, jedoch zeigten die infizierten Pflanzen keinerlei sichtbare Symptome. Gereinigte Viruspartikel wiesen einen Durchmesser von ca. 27 nm auf, mit einem RNA Gehalt von 36 %. Das Molekulargewicht des Hüllproteins wurde mit ca. 22 kDa bestimmt. Ziel der hier vorgestellten Arbeiten war es, die komplette Sequenz des PILV zu ermitteln, um eine taxonomische Eingruppierung des Virus vornehmen zu können. Darüber hinaus sollten aktuelle Petersiliensorten auf das Vorhandensein des PILV getestet werden.

PILV enthält zwei einzelsträngige (+)RNAs. Die kompletten Sequenzen der RNA1 und RNA2 wurden mit 7.022 Basen bzw. 3.418 Basen ohne den 3'-poly(A)Schwanz bestimmt. Sowohl im 5'- wie im 3'-nicht translatiertem Bereich weisen beide RNAs Sequenzidentitäten auf, was darauf hindeutet, dass diese Bereiche eine Funktion bei der Replikation und/oder Verpackung der RNAs haben könnten. RNA1 und RNA2 zeigen jeweils ein durchgängiges offenes Leseraster (ORF), welches für RNA1 ein Protein mit einem MW von 256.8 kDa und für RNA2 ein MW von 114.7 kDa ergibt. Anhand von Sequenzanalysen und Motifvergleichen auf RNA1 kodierten Polyproteins kann auf das Vorliegen einer Helikase, einer RNA-abhängigen RNA Polymerase (RdRp), einer Protease vom Cystein-Typ (C-pro) und eines Proteasekofaktors (Pro-co) geschlossen werden. Das Polyprotein, kodiert durch RNA2, enthält am N-Terminus eine LDL-Movementproteinmotif. Des Weiteren sind in diesem Polyprotein drei Proteine mit Molekulargewichten um 22 kDa enthalten, welche die mutmaßlichen Hüllproteine repräsentieren. Sequenzvergleiche erbrachten die höchsten Ähnlichkeiten des PILV mit dem *Cherry rasp leaf virus* [2] und dem *Apple latent spherical virus* [3], so dass eine Einordnung in das Genus *Cheravirus* diskutiert wird.

Basierend auf den PILV Sequenzen wurden Oligonukleotide entwickelt, die es erlauben, mittels RT-PCR einen PILV Nachweis zu führen. In RT-PCRs wurden zehn Petersiliensorten (drei mit krausen Blättern, sieben mit glatten Blättern) auf das Vorkommen von PILV getestet. PILV wurde in keiner Petersiliensorte mit glatten Blättern nachgewiesen. In allen drei getesteten Petersiliensorten mit krausen Blättern ('Mooskrause 2', 'Afrodite', 'Gekruld/Triplex') konnte das PILV nachgewiesen werden. Weitere Untersuchungen sind geplant, die zeigen sollen, ob das Virus in allen gegenwärtig genutzten krausblättrigen Sorten verbreitet ist und wie sich der Virusbefall auf den Ertrag dieser Petersiliensorten auswirkt.

#### Literatur

- [1] Bos, L., Huttinga, H., and Maat, D. Z. (1979). *Parsley Latent Virus*, a new and prevalent seed-transmitted, but possibly harmless virus of *Petroselinum Crispum*. Netherlands Journal of Plant Pathology 85(3), 125-136.
- [2] James, D. (2004). Nucleotide sequence analysis and detection of *cherry rasp leaf virus*. Proceedings of the Sixth International Symposium on Virus and Virus-Like Diseases of Temperate Fruit Crops: Fruit Tree Diseases(657), 99-101.
- [3] Li, C. J., Yoshikawa, N., Takahashi, T., Ito, T., Yoshida, K., and Koganezawa, H. (2000). Nucleotide sequence and genome organization of *Apple latent spherical virus*: a new virus classified into the family Comoviridae. Journal of General Virology 81, 541-547.

50-5 - Thiel, H.; Varrelmann, M.  
Institut für Zuckerrübenforschung

### **Physikalische Interaktion zwischen dem Pathogenitätsfaktor P25 des *Beet necrotic yellow vein virus* und einem F-box Protein aus Zuckerrübe, welches an der Auslösung einer hypersensitiven Reaktion beteiligt ist**

Die viröse Wurzelbärtigkeit, die bei Zuckerrübe durch BNYVV verursacht und durch *P. betae* übertragen wird, ist durch Anbau teilresistenter Genotypen kontrollierbar. Das Virus, welches sich von infizierten Haarwurzeln in die Hauptwurzel ausbreitet, wird durch diese Genotypen in Replikation und Transport gehindert.

BNYVV besteht aus vier bzw. fünf RNA Segmenten und kodiert auf RNA3 das Genprodukt P25, welches für Ertragsminderung, Translokation des Virus im Wurzelsystem und Symptomausprägung verantwortlich ist. Um die weitgehend unbekannt Funktionen von P25 charakterisieren zu können, wurde erstmals mittels „yeast-two hybrid“ eine BNYVV infizierte Rz2 resistente Zuckerrüben cDNA Bibliothek auf Proteininteraktion mit P25 getestet. Die verbliebenen 35 cDNA Kandidaten wurden mittels Datenbankanalysen überprüft.

Interessant zeigte sich ein F-box Protein, welches an der Induktion einer Zelltodreaktion nach transients Agroexpression in *N. benthamiana* beteiligt ist. F-box Proteine sind an der Proteindegradation als Komplexproteine der E3 Ligase identifiziert worden und binden durch bestimmte Proteindomänen Zielproteine, die am 26S Proteasom abgebaut werden. Nach Herstellung von Vollängen-Klonen aus resistenten und anfälligen Zuckerrübenlinien konnte die Interaktion mit P25 *in vitro*, wie auch die Zelltodinduktion in Tabak durch Expressionsnachweis von PR-Proteinen bestätigt werden. Final soll die F-box Expression im infizierten und gesunden Blatt- und Wurzelgewebe mittels Northern Blot überprüft und eine Beteiligung des F-box Proteins am BNYVV Resistenzmechanismus gezeigt werden.

50-6 - Bornemann, K.; Varrelmann, M.  
Institut für Zuckerrübenforschung

### **Beladung von *Polymyxa betae* mit verschiedenen Isolaten des *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) und Analyse der resistenzüberwindenden Eigenschaften**

Die viröse Wurzelbärtigkeit der Zuckerrübe wird durch BNYVV ausgelöst, welches durch *Polymyxa betae* übertragen wird. Die Virustypen A und B besitzen vier RNAs, wobei die Typen P und J eine zusätzliche fünfte RNA besitzen, welche im P-Typ für eine höhere Aggressivität verantwortlich gemacht wird. Trotz der Verwendung von Genotypen mit dem Resistenzgen Rz1 kommt es an mehreren Standorten in den USA und Spanien seit einigen Jahren zu Resistenzüberwindungen. Als Ursache hierfür wird der steigende Selektionsdruck auf den Pathogenitätsfaktor P25 angesehen. Durch den Anbau von Rz1-toleranten Sorten kommt es möglicherweise zu einer erhöhten Mutationshäufigkeit auf einem bestimmten Abschnitt auf dem P25-Gen. Es ist unklar, ob *P. betae* an der Resistenzüberwindung beteiligt ist.

In Gewächshausversuchen sollte gezeigt werden, ob die Pathogenität von unterschiedlichen BNYVV-Isolaten von der Vektorpopulation beeinflusst wird. Dazu wurde erstmals eine BNYVV-Beladung eines *P. betae*-haltigen Bodens mit verschiedenen resistenzüberwindenden BNYVV-Isolaten durchgeführt. Als Inokulum diente hierzu ein *C. quinoa* Presssaft. Anschließend wurden die Bodenproben mit gleicher Vektorpopulation, jedoch unterschiedlichen BNYVV-Isolaten, für einen Resistenztest mit anfälligen, Rz1- sowie Rz1+Rz2-Hybriden eingesetzt. Eine Beladung von *P. betae* konnte nachgewiesen werden. Die im Feld und in Gewächshausversuchen beobachteten Rz1-resistenzüberwindenden Eigenschaften eines französischen P-Typ Isolates und eines A-Typ Isolates aus Imperial Valley (USA) konnten mit dieser Methode reproduziert werden.

50-7 - Fischer, M.  
Julius Kühn-Institut

### ***Fomitiporia mediterranea* (Basidiomycetes) als Weißfäule-Erreger an Esca-erkrankten Reben: Sporulation und Wirtsbesiedelung im Freiland**

Von den mittelmeerischen Anbaugebieten ausgehend, hat die Esca-Krankheit vor etwa zehn Jahren auch die zentraleuropäischen Weinbau-Regionen erreicht. Der jährlich sichtbare Befall kann hier inzwischen bis zu 5 % und mehr der Stöcke betreffen, mit über die Jahre zunehmender Tendenz. Verursacht wird die Krankheit von verschiedenen Pilzen, die wohl in einer Sukzession aufeinanderfolgen. Die mitosporischen Pilze *Phaeoconiella chlamydospora* und/oder *Phaeoacremonium aleophilum* würden demnach bereits in Pflanzgut zu finden sein. Die

durch den Basidiomyceten *Fomitiporia mediterranea* (Fmed) verursachten Symptome kommen dagegen erst in Ertragsanlagen, ab einem Alter von etwa 5 Jahren, sichtbar vor. Der Anteil der von Fmed befallenen Rebstöcke kann in älteren Anlagen 100 % erreichen; dieser innere Befall korreliert demnach nicht mit der sichtbaren Symptomatik.

*F. mediterranea* bildet perennierende krustenförmige Fruchtkörper vor allem im Stammkopf-Bereich sichtbar erkrankter Reben; über *Vitis* hinaus wird im Schwerpunkt des Auftretens, dem Mittelmeerraum, eine Reihe anderer Laubgehölze besiedelt. Die der Verbreitung dienenden Basidiosporen werden in Abhängigkeit von der Tagesmitteltemperatur gebildet. An Fruchtkörpern im Freiland befestigte Sporenfallen zeigen demnach eine maximale Sporenfreisetzung bei Durchschnittstemperaturen von  $> 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; im Frühjahr können Fruchtkörper innerhalb weniger Tage vom inaktiven in einen aktiven Zustand übergehen; begleitet wird dieser Vorgang in der Regel von einer charakteristischen Veränderung des äußeren Erscheinungsbildes. Regen-Ereignisse haben offensichtlich wenig Einfluss auf die Anzahl der freigesetzten Sporen, führen aber zu erhöhten Sporenfängen in Arealen frei von Fruchtkörpern. In der Luft vorhandene Sporen werden anscheinend durch Regen ausgewaschen und führen auf diese Weise zu verstärktem Infektionsdruck.

Die Daten zur Sporulation wurden aus mehrjährigen Versuchen an Standorten im Weinbaugebiet Baden gewonnen und lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Start Sporulation: bei Durchschnittstemperaturen  $> 10\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Ende März, April)
- Ende Sporulation: bei Durchschnittstemperaturen  $\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Ende November, Dezember)
- Dauer Sporulation: recht einheitlich für verschiedene Fruchtkörper, 190 – 250 d
- Sporulation und Regen: wenig erhöht durch/nach Regen
- Sporenverbreitung und Regen: erhöht durch/nach Regen.

Während der Standzeit der jeweiligen Rebe kommt es zu wiederholten Infektionen mit Fmed; die daraus resultierenden verschiedenen Individuen existieren Seite an Seite in der Wirtspflanze und lassen sich durch Paarungstests der isolierten heterokaryotischen Mycelien nachweisen. Im Gegensatz dazu kann ein einzelnes Individuum des Pilzes auch den gesamten Stock besiedeln, entsprechend einer räumlichen Dimension von 1 m und mehr.

Die vom Pilz verursachte Weißfäule wird erst in älteren Reben deutlich, vor allem benachbart zu Schnittwunden, die als bevorzugte Eintrittspforte dienen. Über ein nested-PCR-Verfahren, basierend auf dem Bereich ITS1-5.8S-ITS2 und darauffolgendem Einsatz der spezifischen Primer Fmed1 und Fmed2 [1], lässt sich Fmed in Einzelfällen bereits an Schnittwunden und im dazu benachbarten Holz nachweisen. Ob es sich dabei um bereits etabliertes Mycel und/oder lediglich um eingewehte Sporen handelt, kann nicht entschieden werden – Kultivierungsversuche aus diesem Bereich bleiben regelmäßig ohne Ergebnis.

Fruchtkörper von Fmed finden sich bevorzugt an Totstöcken; unter geeigneten Bedingungen kann die Anzahl von Fruchtkörpern rasch zunehmen, die Entfernung von Totstöcken aus betroffenen Anlagen ist im Sinne einer langfristigen Kontrolle von Fmed jedenfalls sinnvoll.

Literatur

- [1] Fischer, M. 2006. Biodiversity and geographic distribution of basidiomycetes causing esca-associated white rot in grapevine: a worldwide perspective. *Phytopathologia Mediterranea* 45: S30-S42.

50-8 - Mühlbach, H.-P.; Tantau, H.; Schulze, J.; Vogel, S.; Valdez Aguirre, N.; Schultz, D.  
Universität Hamburg

### **Multiple biotic agents associated with dieback disease of *Dalbergia sissoo* Roxb. in Bangladesh**

Dieback of sissoo (*Dalbergia sissoo*) has been recognized since 1993 as a dramatic threat for timber production and forestry on the Indian subcontinent. Abiotic and biotic factors are discussed, but the causal agent(s) have not yet been identified unequivocally.

Our studies are focused on the molecular characterization of putative pathogens in specimen from dieback affected sissoo trees collected at various sites in Bangladesh. *Fusarium oxysporum* and *Lasiodiplodia theobromae*, pathogens of dieback of various tropical trees, were identified via ribosomal ITS sequencing, while *Fusarium solani*, claimed to be one of the major causes of sissoo dieback, was not detected. In search for viral infection, virus-like particles of 60 – 130 nm in diameter were observed by electronmicroscopy. Isolation of dsRNA allowed cloning and sequencing of cDNA fragments with similarity to viral RdRp. Bacteria were isolated by standard techniques of microbiology. Sequences of 16S rDNA and typical bacterial genes (RNAPol, RNaseP, gyrase, oprI, AtpD, gacA) revealed that still unassigned bacteria belonging to genus *Pseudomonas* were associated with sissoo

dieback. Hypersensitivity assays revealed its phytopathogenic potential. Sissoo seedlings infiltrated with bacterial isolates showed typical damages and allowed reisolation of the bacterial strain used.

In conclusion, our data provide clear evidence for a diverse aetiology of sissoo dieback, with bacteria, fungi, and viruses together being involved.

50-9 - Leclerque, A.; Kleespies, R.G.

Julius Kühn-Institut

### ***Rickettsiella*: Phylogenetik und Infektionsbiologie eines entomopathogenen Bakteriums**

Die Bakteriengattung *Rickettsiella* umfasst intrazelluläre Pathogene eines breiten Spektrums von Arthropoden. Typische zytologische Merkmale sind die intravakuoläre Replikation und die häufige Assoziation mit Proteinkristallen. Neben den drei anerkannten Arten *Rickettsiella popilliae*, *R. grylli* und *R. chironomi* unterscheidet die man gegenwärtig zahlreiche, meist nur schwer einzuordnende *Rickettsiella*-Pathotypen. Die Anwendung molekular-taxonomischer Techniken hat insbesondere aufgrund unbefriedigender Ergebnisse der 16S rRNA-Sequenzierung zu einer Kontroverse um die systematische Stellung dieser „Insekten-Rickettsien“ geführt.

Vor diesem Hintergrund wurde gestützt auf die erste für dieses Taxon verfügbare Genomsequenz – diejenige des Pathotyps *Rickettsiella armadillidii* – die systematische Position der Gattung auf der Basis proteinkodierender Gene bestimmt, d. h. insbesondere unabhängig vom Rekurs auf 16S rRNA-Gensequenzen. Die kombinierte Anwendung von phylogenetischer Rekonstruktion und Signifikanztests ergab, dass sowohl *R. armadillidii* wie auch einige weitere Pathotypen der Gammaproteobakterienordnung Legionellales zuzuordnen sind und nicht etwa „Rickettsien“ (im taxonomischen Sinne, d. h. Angehörige der Alphaproteobakterienordnung Rickettsiales) nahestehen. Aus der stattdessen bestehenden nahen Verwandtschaft mit den Bakteriengattungen *Legionella* und *Coxiella* ergeben sich sowohl Ansätze für die infektionsbiologische Grundlagenforschung an *Rickettsiella* als auch Rückschlüsse für eine mögliche Verwendung im biologischen Pflanzenschutz.