

sind. Letztere zerstören durch ihre enzymatische Aktivität das mehrschichtige Periderm der Rute, welches für Pilze eine unüberwindbare Barriere darstellt. Dadurch entstehen Eintrittspforten, die von den im Rindenparenchym angesiedelten Pilzen genutzt werden, um in das Xylem vorzudringen.

Im Rahmen eines mehrjährigen Forschungsprojektes wurden in 75 Himbeeranlagen erkrankte Ruten gesammelt und mykologisch untersucht. Hierbei wurden zahlreiche pilzliche Erreger aus der Rinde und dem Xylem der Ruten isoliert, deren Bedeutung am Zustandekommen des Schadbildes aber zum Teil unklar ist. Deshalb wurde eine repräsentative Auswahl von Isolaten unterschiedlicher Herkunft in Infektionsversuchen unter praxisnahen Bedingungen hinsichtlich ihrer Pathogenität bzw. Aggressivität an der Hauptsorte 'Tulameen' geprüft. Die Pathogenität der Isolate wurde in Abhängigkeit des Fehlens oder Vorhandenseins eines Periderms bzw. von künstlichen Rinden- und Periderm-verletzungen untersucht. Die zu prüfenden Isolate wurden als Myzelscheiben ( $\varnothing$  0,5 cm) im unteren Rutenbereich (30-40 cm Rutenhöhe) und unterhalb der Triebspitze (ca. 150 cm Rutenhöhe) auf die Jungtuten gelegt und mit feuchter Watte sowie Parafilm umwickelt. Acht Wochen nach Inokulation wurden an jeder Inokulationsstelle jeweils 25 cm lange Rutenstücke herausgeschnitten und im Labor auf Befall hin ausgewertet. Dies umfasste eine Bonitur der Verbräunung des äußeren Rinden- und Xylemgewebes.

Die meisten Pilze besiedelten das äußere Rindengewebe schneller, wenn es zuvor verletzt worden war. Ohne Verletzung waren die entwickelten Rindenläsionen deutlich kleiner. *Botrytis cinerea* konnte die Rinde am schnellsten besiedeln. Die Läsionen waren bei Versuchsende mit über 80 cm<sup>2</sup> um ein vielfaches größer als die der anderen Erreger. Unter ihnen verursachte *Leptosphaeria* die größten Befallsstellen. *Fusarium avenaceum*, *Fusarium torulosum* und *Colletotrichum* verursachten signifikant kleinere Läsionen. Andere, wie *F. merismoides*, *Didymella*, *Alternaria* und *Cladosporium*, waren nur schwach aggressiv. Lediglich ausgehend von einer Verletzung waren sie in der Lage die Rinde geringfügig zu besiedeln. Die Bonituren des Xylems zeigen deutlich, dass ein vorhandenes Periderm von den Erregern nicht so schnell durchdrungen werden kann. *Leptosphaeria* breitete sich innerhalb des Versuchszeitraumes am schnellsten über Verletzungen des Periderms im Xylem aus und verursachte die größten Läsionen. Die signifikant kleineren Befallsstellen der übrigen Erreger, welche auf den Bereich der Verletzung begrenzt waren, zeigen, dass sich diese Pathogene - im Gegensatz zu *Leptosphaeria* - nur lokal im Xylem auszubreiten vermögen. Eine Besiedelung des Xylems erfolgte bei vielen Pilzen auch, wenn kein Periderm vorhanden war, allerdings in deutlich geringerem Ausmaß. Ein intaktes Periderm verhinderte weitgehend den Befall des Xylems. Kleinste Spuren von Läsionen, wie sie z. B. bei *Leptosphaeria* festgestellt werden konnten, deuten allerdings darauf hin, dass zumindest dieser Erreger über einen längeren Zeitraum hinweg das Abschlussgewebe zu überwinden vermag. Aufgrund der unterschiedlichen Intensität der Besiedelung der Rinde und des Xylems konnten die geprüften Erreger hinsichtlich ihrer Pathogenität bzw. Aggressivität in drei Gruppen unterteilt werden. Damit ist eine Bewertung der am Schadkomplex beteiligten Pilze möglich, welche Ansätze für gezielte Bekämpfungsmaßnahmen liefert.

## Virologie / Bakteriologie / Mykologie

097 - Lesker, T.; Göing, J.; Rose, H.; Schneider, C.; Korte, J.; Maiss, E.  
Leibniz Universität Hannover

### **DsRNA Screening – Isolation, molekulare Charakterisierung und phylogenetische Analyse der dsRNA möglicher Viren aus Gemüse-, Kräuter- und Zierpflanzen**

DsRNA Screening – Isolation, molecular characterisation and phylogenetic analysis of dsRNA of putative viruses from vegetables, herbs and ornamentals

Die Untersuchung von doppelsträngiger RNA (dsRNA) aus Pflanzen ist ein unspezifischer Test für mögliche Virusinfektionen, ohne weitere Information von Symptomen oder Sequenzen zu benötigen. Dabei ist es möglich Viren mit dsRNA als Genom oder ssRNA-Viren aufgrund ihrer replikativen Übergangsformen zu isolieren. Des Weiteren lassen sich mögliche subgenomische RNAs aufzeigen. Charakteristische dsRNA Bandenmuster (Anzahl, Größe und Konzentration) geben dabei eine erste Aufklärung über den gefundenen Virus. Weiterhin ist dsRNA neben einer Virusreinigung ein geeignetes Ausgangsmaterial zur Erstellung von Vollhängenklonen und ermöglicht eine exakte Endbestimmung.

Die eingesetzte modifizierte Isolationsmethode nach Dodds (1979) beruht auf einer spezifischen Bindung von dsRNA an Cellulose in Ethanol (15 %) und der Stabilität gegenüber DNasen und RNasen in Hochsalz-Puffern. Für die Aufreinigung wurden rund 10 g Blattmaterial, ein Phenol/Chloroform Extraktionspuffer und zwei mit Cellulose beladene Säulen verwendet. Die Doppelstrangnatur der RNA Präparation wurde durch einen RNase/DNase-Verdau und Agarose-Gelelektrophorese verifiziert. Einzelne dsRNA Banden wurden aus dem Gel eruiert und durch

Radom-RT-PCR, Klonieren und Sequenzierung weiter charakterisiert. Phylogenetische Analysen erfolgten mit MEGA4 über die Alignmentberechnung mit ClustalW und Erstellung der Stammbäume mit dem Neighbor-Joining-Algorithmus.

Aus verschiedenen gärtnerisch genutzten symptomlos erscheinenden Kulturpflanzen konnten in 15 von 20 untersuchten Arten bzw. Sorten dsRNAs gefunden werden. Die Anzahl der Fragmente betrug zwischen 1 und 8, wobei häufig Doppelbanden ähnlicher Größe zu erkennen waren. Die Länge der dsRNAs variierte von 0.5 - 14 kbp, wobei der Großteil bei ca. 1.5 kbp - 3.5 kbp lag. Die Ausbeute an dsRNA differierte stark zwischen einzelnen Fragmenten und den Arten im Bereich von typischen 50 ng bis weit über 1 mg je 10 g Pflanzenfrischgewicht.

Nach Klonierung und Sequenzanalysen konnten einige bekannte aber auch bislang unbekannte Viren hauptsächlich aus der Familie Partitiviridae und aus dem Genus *Endornavirus* nachgewiesen werden. Der überwiegende Teil der gefundenen dsRNA-Fragmente konnte den kryptischen Viren (Partitiviridae) zugeordnet werden, wobei häufig Mischinfektionen gefunden wurden. Kryptische Viren in Pflanzen besitzen ein bipartites doppelsträngiges RNA-Genom, welches in isometrische Partikel verpackt ist. Diese Viren nehmen aufgrund ihrer Apathogenität und der limitierten Übertragbarkeit eine Sonderstellung ein. Viren in Pflanzen verursachen zumeist Symptome am Wirt, lassen sich durch Vektoren oder mechanisch von Pflanze zu Pflanze übertragen und sind fähig sich im Wirt durch Zell zu Zell Transport auszubreiten. Kryptische Viren besitzen hingegen nur eine hohe Samenübertragbarkeit und werden ausschließlich durch Zellteilung in der Pflanze verteilt. In der Literatur gibt es bisher nur wenige Daten über kryptische Viren in Pflanzen. Die Ergebnisse zur Systematik stammen zumeist aus den 80er Jahren. Durch die Anwendung neuer Methoden sollen die früheren Untersuchungen bestätigt bzw. weiter fortgeführt werden. Weiterführende phylogenetische Betrachtungen der kryptischen Viren ergaben eine starke Sequenz-Diversität. Über die Stammbaum-erstellung konnten mehrere Gruppen herausgestellt werden. Die Sequenzähnlichkeiten innerhalb dieser Cluster waren insbesondere in den nicht kodierenden Bereichen sehr ausgeprägt. Weitere Sequenzeigenschaften wie die dsRNA-Fragmentgröße und die Abwesenheit bzw. das Vorhandensein und auch die Länge einer Polyadenylierung unterstützen die Aufteilung. Weiterhin zeigten einige dsRNA-Fragmente mehr Ähnlichkeiten zu obligaten Viren in filamentösen Pilzen, die ebenfalls der Familie Partitiviridae angehören, als zu anderen pflanzlichen kryptischen Viren auf.

Die gewonnenen Informationen können zur Verbesserung der Systematik der Virusfamilie Partitiviridae genutzt werden, insbesondere für das dazugehörige Genus Betacryptovirus, für das bisher keine Sequenzen zur Verfügung stehen. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse eine starke evolutionäre Beziehung von kryptischen Viren aus Pflanzen zu den Partitiviren aus Pilzen auf. Diese besitzen sehr ähnliche Eigenschaften und wurden in vielen pflanzenpathogenen Pilzen gefunden. Weiterführende Untersuchungen könnten Hinweise auf einen gemeinsamen Ursprung bzw. eine horizontalen Übertragung kryptischer Viren erbringen.

098 - Leinhos, G.<sup>1)</sup>; Müller, J.<sup>2)</sup>; Radtke, P.<sup>2)</sup>; Jehle, J.<sup>3)</sup>; Krauthausen, H.-J.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Landesbetrieb Landwirtschaft Hessen, Gartenbauzentrum Geisenheim c/o DLR-Rheinpfalz; <sup>2)</sup> Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz; <sup>3)</sup> Julius Kühn-Institut

### ***Iris Yellow Spot Virus* an Bund- und Speisezwiebeln – Verbreitung/Auftreten im Pfälzer Anbaugebiet und Isolatcharakterisierung**

*Iris Yellow Spot Virus* in onion crops – Distribution in the Palatinate and molecular characterization of isolates

Das durch den Virusvektor *Thrips tabaci* übertragene *Iris yellow spot virus* (IYSV, Gattung *Tospovirus*, Familie Bunyaviridae) trat erstmals im Sommer 2007 im Pfälzer Zwiebelanbaugebiet auf. In 9 von 25 Beobachtungsflächen wurden die länglich-ovalen, weißen bis strohfarbenen nekrotischen Läsionen am Laub von Bund- und Speisezwiebeln beobachtet und mittels DAS-ELISA als Symptome des *Iris yellow spot virus* (IYSV) bestimmt. Ab 2008 erfolgte der Nachweis auch über RT-PCR.

Die in der Literatur beschriebenen Primer erbrachten nur in wenigen Fällen positive RT-PCR-Nachweise, trotz eindeutiger Symptomatik und ELISA-Befunde. Mit selbst entwickelten Primern (z. B. JJ 1/2, 627bp) konnten positive Befunde auch molekular identifiziert werden. Die sequenzierten PCR-Produkte zeigten eine bis zu 99%ige Identität auf Nukleinsäure-Ebene mit bekannten IYSV-Stämmen aus Datenbanken. Eine phylogenetische Analyse der IYSV-Isolate aus dem Rheintal ergab, dass diese untereinander sehr nah verwandt waren und sich von anderen geographischen Herkünften unterschieden. Nur zwei Proben fielen aus diesem Cluster heraus und waren näher mit niederländischen Isolaten verwandt. Bei 96 vergleichend untersuchten Proben stimmten 93mal PCR-Befund und ELISA-Befund überein. Die Symptomatik war demgegenüber in vielen Fällen weniger eindeutig.

In Zusammenarbeit mit der regionalen Beratung (BOLAP GmbH, Speyer) wurde ein Monitoring initiiert, in dem bei den routinemäßigen Feldkontrollen von Trocken- und Bundzwiebelschlägen neben dem Auftreten von IYSV-Symptomen auch das Entwicklungsstadium der Kultur sowie die Befallsstärke durch *Thrips* sp. festgehalten wurde. 2008 wurden nur in zwei von insgesamt 50 Beobachtungsschlägen IYSV-Symptome gefunden und insgesamt war auch das *Thrips*-Vorkommen gering. Dagegen trat IYSV-Befall 2009 ab Ende Juni in abreifenden Sommertrockenzwiebelschlägen und in den zeitlich darauf folgenden Bundzwiebelbeständen des Spätherbstes wieder wesentlich häufiger und stärker auf. In elf von 31 Sommertrockenzwiebelschlägen und in fünf von 49 Bundzwiebelschlägen wurde IYSV Befall gefunden. In den Bundzwiebeln wurden Befallshäufigkeiten bis zu 50 % festgestellt. Auch 2010 sind bereits wieder erste Befallsherde bekannt geworden. An Porree wurde bisher kein Befall gefunden.

Es ist davon auszugehen, dass IYSV nicht mehr nur sporadisch auftritt, sondern nunmehr in der Anbauregion etabliert ist. Da die Bekämpfung des Virusvektors *Thrips tabaci* schon seit langem schwierig und unzureichend ist, muss mit einer weiteren Verbreitung des Virus gerechnet werden. Dies könnte insbesondere im Bundzwiebelanbau zu erheblichen Qualitätseinbußen führen; im Speisewiebelanbau sind Ertragsreduktionen aufgrund kleinerer Sortierungen zu befürchten. Aufgrund der großen ökonomischen Bedeutung der *Allium*-Kulturen im Rheintal sind dringend Bekämpfungskonzepte zu entwickeln und zu erproben.

099 - Lindner, K.<sup>1)</sup>; Kellermann, A.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Julius Kühn-Institut; <sup>2)</sup> Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

## **Das PVY Stammspektrum und die wirtschaftliche Relevanz im Pflanz- und Speisekartoffelbereich am Beispiel Bayerns**

Strain specification of PVY and its economic importance for ware and seed potatoes in Bavaria

Das *Potato virus Y* (PVY) ist das ökonomisch bedeutsamste Kartoffelvirus weltweit. Um PVY in eine Pflanzenschutz-strategie einzubeziehen, ist ein detailliertes Wissen zu Symptomen und Schadensumfang der Stammgruppen und Stämme des Krankheitserregers unerlässlich.

Im Laufe der letzten ca. 30 Jahre haben sich zwei neue Stämme des PVY, PVYNTN und PVYNW, herausgebildet, die zunehmend an Umfang und Bedeutung gewonnen haben. Beide Stämme sind vermutlich im Ergebnis von Rekombinationen der Stämme O und N entstanden und erweisen sich als infektionseffizienter als die „klassischen“ Stämme. Zudem ist insbesondere NTN in der Lage, Knollennekrosen zu verursachen, was zu deutlichen Qualitätseinbußen bei Kartoffelspeiseware führen kann. Beide Rekombinanten verursachen zudem Symptome an Kartoffelblättern, die sich von denen der O und N Stämme unterscheiden können. Im Rahmen der Pflanzkartoffelerzeugung erfolgen Feldselektionen infizierter Pflanzen ausschließlich und Bewertungen von Augenstecklingspflanzen (Ernteware) teilweise auf der Basis visueller Bonituren. Ziele der Arbeiten zum Thema sind deshalb, die durch PVY verursachten Symptome neu zu beschreiben und diese Schadbilder in einer Datenbank zu veröffentlichen sowie Verschiebungen im Stammspektrum und veränderte Virulenzen deutlich zu machen. Aus den gewonnenen Ergebnissen in Bayern können deutschlandweite Beratungsaussagen insbesondere für die Kartoffelvermehrungsbetriebe und das Anerkennungsverfahren abgeleitet werden. Zudem bilden die dargestellten Ergebnisse die Grundlage für ein gezieltes Vorgehen in der Resistenzzüchtung.

Im Rahmen der Bewertung atypischer PVY Blattsymptome aus dem Versuchsjahr 2009 wurden 96 gefriergetrocknete Proben von hoch PVY infizierten Kartoffelpflanzen, die als Infektionsmaterial für die LfL Verwendung finden, untersucht. Weiterhin sind 43 Blattproben aus der Feldinspektion und 137 Blattproben aus dem Nachkontrollanbau (beide Proben gefriergetrocknet) sowie 52 gefriergetrocknete und 14 frische Blattproben aus dem Augenstecklingstest (Beschaffenheitsprüfung) analysiert worden. Zudem wurden 184 symptomtragende Kartoffelknollen auf PVY getestet. Für die Zuordnung der symptomverursachenden PVY Isolate zu den PVY Stammgruppen kam der DAS ELISA mit PVYO (ADGEN-1052) und TAS ELISA mit PVYN (JKI 3C8/5B12) spezifischen monoklonalen Antikörpern zur Anwendung. Die Charakterisierung der PVY Stämme erfolgte mit der Multiplex PCR nach Lorenzen et al., 2006.

In dem untersuchten Blattmaterial konnten 111 PVYNTN Infektionen und 201 PVYNW Infektionen, von denen 11 als Mischinfektionen auftraten, sowie 2 PVYN und 2 PVYO Infektionen nachgewiesen werden. Für 37 Proben war keine PVY Infektion zu bestätigen. Das Infektionsmaterial der LfL wies zu 100 % PVYNW auf. In den weiteren Blattproben traten die Vertreter des PVYNTN Stammes und die des PVYNW Stammes nahezu paritätisch auf. Die „klassischen“ PVY Isolate PVYO und PVYN wurden jeweils nur zweimal diagnostiziert. Bezüglich des PVY Stammvorkommens deuten sich Sortenpräferenzen an. Die 184 Kartoffelknollen wiesen 159 PVYNTN Infektionen auf, in elf Fällen wurde PVYNW nachgewiesen, neun Infektionen davon traten in Mischinfektion mit PVYNTN auf. Für zwei Knollen mit Ringnekrosesymptomen war ausschließlich PVYNW nachzuweisen. Für 23 Knollen konnte kein PVY Befall diagnostiziert werden. Die Knolleneinsendungen bestanden aus 85 Knollen der Sorte

'Ditta', von denen 78 Knollen PVYNTN aufwiesen und 83 Knollen der Sorte 'Nicola', für die ebenfalls 78 PVYNTN Infektionen diagnostiziert werden konnten.

Es ist anzunehmen, dass die Kartoffelsorten bezüglich der Ausbildung von Knollennekrosen unterschiedlich stark auf eine PVY Infektion reagieren. 'Ditta' und 'Nicola' erweisen sich vermutlich als sehr anfällig. Zusammenfassend kann bestätigt werden, dass, übereinstimmend mit dem weltweiten Trend, die Rekombinanten NW und NTN mittlerweile das PVY Stammspektrum dominieren.

100 - Jelkmann, W.; Hergenahn, F.; Berwarth, C.  
Julius Kühn-Institut

### **Übertragung von *Little cherry virus-1* (LChV-1) durch *Cuscuta europea* auf krautige Wirtspflanzen**

Transmission of *Little cherry virus-1* (LChV-1) by *Cuscuta europea* to herbaceous host plants

In order to identify alternative hosts different *Cuscuta* species were investigated in transmission trials. LChV-1 and -2 were graft inoculated onto *Prunus avium* F12 rootstocks and parasited by *Cuscuta europea*. *N. occidentalis* '37B' served as receptor host plant and could be infected systemically with LChV-1. Transmissions were done in the greenhouse over a period of up to 6 months. Virus detection from *Cuscuta* and *N. occidentalis* tissue was done by RT-PCR. Virus transmission was not successful for LChV-2. Propagation of LChV-1 by mechanical transmission on *N. occidentalis* failed, however, the virus was serially transferred by grafting.

101 - Robel, J.; Langer, J.; Von Bargen, S.; Büttner, C.  
Humboldt-Universität zu Berlin

### **Die 3' nicht-kodierenden Regionen des *Cherry leaf roll virus* – identisch oder variabel?**

The 3' non-coding regions of *Cherry leaf roll virus* – identical or variable?

Das *Cherry leaf roll virus* (CLRV) ist ein weltweit verbreitetes Pflanzenvirus mit umfangreichem Wirtsspektrum, darunter zahlreiche Forst- und Obstgehölze. Das bipartite CLRV-Genom weist zwei positivorientierte, einzelsträngige und getrennt verpackte RNA-Moleküle auf. Das CLRV besitzt sowohl die längste 3' NCR (1538-1602 nt), als auch die kürzeste 5' NCR (11 nt) aller charakterisierten Nepoviren. Unter den bisher sequenzierten CLRV-Isolaten wurde ein CLRV-Isolat aus Himbeere identifiziert, welches im Gegensatz zu allen anderen CLRV-Isolaten in den 3' NCRs zwischen RNA1 und RNA2 Sequenzidentitäten von nur 73,4 % zeigte.

Bislang wurde davon ausgegangen, dass die 3' NCRs beider RNAs aller bekannten Nepoviren nahezu identisch sind, um wichtige funktionelle Elemente in diesem Genombereich zu konservieren. Die Variabilität dieses Genombereichs wurde anhand mehrerer unabhängiger Amplifikationsprodukte der beiden 3' NCRs verschiedener CLRV-Isolate durch restriction-fragment-length-polymorphism (RFLP)-Analysen mit den Restriktionsenzymen AluI, DraI und HincII untersucht. Die Restriktionsmuster geben erste Hinweise auf das Vorhandensein von 3' NCR-Varianten innerhalb replizierender RNA-Populationen, die von den aus bekannten Sequenzen abgeleiteten Bandenmustern (in silico-Restriktion) abweichen.

CLRV-Isolate aus Rhabarber, Walnuss und Kirsche erwiesen sich in je drei unabhängigen RNA-Populationen als homogen innerhalb der 3' NCR von RNA1 und RNA2. Dagegen zeigt der Vergleich der RNA-Populationen des CLRV-Isolats aus Holunder eine größere Variantenvielfalt innerhalb des untersuchten Genombereiches. Bei den drei verwendeten Restriktionsenzymen treten jeweils zwei Restriktionsmuster der 3' NCR in gleicher Häufigkeit auf, so dass hier keine Konsensus-Sequenz für das Holunderisolat definiert werden kann.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen CLRV-Isolat-abhängige Unterschiede in der Homogenität der RNA1 und RNA2-3' NCR. Dies lässt vermuten, dass die 3' NCR auf RNA1 und RNA2 nicht generell vollständig konserviert sein muss, um funktionelle Strukturen bzw. die Replikationsfähigkeit des Virus zu erhalten. Die Sequenzierung der identifizierten 3' NCR-Varianten wird weitere Informationen über die Variabilität der CLRV-3' NCR liefern.

102 - Henkel, G.; Willmer, C.; Monien, S.; Mester, E.; Kaland, B.; Golecki, B.; Wunderlich, M.  
Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein

## **Überprüfung des Status Scharkafreiheit in Schleswig-Holstein**

Evaluation of the status „free of *Plum Pox Virus*” in Schleswig-Holstein

Das Scharka-Virus (PPV) tritt über die Jahre sporadisch und vereinzelt im nördlichsten Bundesland auf. Kann trotz der durchgeführten Rodungen in den Betrieben die Einstufung „Scharkafreiheit“ für schleswig-holsteinische Baumschul- und Obstbaubetriebe erhalten bleiben? Neben den gewerblichen Betrieben wurden auch Haus- und Kleingartenanlagen untersucht. Untersuchungen im Rahmen der Anbaumaterial-VO und der Pflanzenschau-VO in Baumschulen:

In 25 Baumschulen wurden visuelle, serologische (ELISA) und molekularbiologische Untersuchungen (PCR, Stammdifferenzierung mittels RT-PCR) während der Vegetationsperiode 2009 durchgeführt. In einem Betrieb waren 20 Bäume der Sorte 'Ersinger' positiv (Stamm M), davon zeigte ein Drittel Symptome. Drei weitere Bäume der Sorte 'Fruchtbare' waren ebenfalls positiv (Stamm D). Im zweiten Befallsbetrieb war die Unterlage 'Brompton' positiv (Stamm D). Die Scharka-Stämme unterscheiden sich u. a. bezüglich der Samenübertragbarkeit und der Effizienz bei der Vektorübertragung.

Am 14.7.09 wurde mittels ELISA 30 Proben aus Unterlagenbaumschulen analysiert. In den vier Unterlagentypen 'St. Julien A', 'Brompton', 'Pixy' und 'GF 655/2' konnte kein positiver Nachweis geführt werden.

Visuelle Blatt- und Fruchtbonitur in Obstbaubetrieben: Am 25. und 30.6.09 wurden in zehn Obstbaubetrieben (35 % der Pflaumenbetriebe und 62 % der Pflaumenanbaufläche in Schleswig-Holstein) Bonituren durchgeführt. Nur ein Baum der Sorte 'Elena' zeigte Symptome. Der PPV-Nachweis war positiv. Nach Aufforderung wurde der Baum gerodet. Problematisch ist die Tatsache, dass fruchttolerante Sorten bei Befall nur an wenigen Früchten Symptome zeigen und Blattsymptome maskiert sein können.

Überprüfung von Absterberscheinungen bei Pflaumen in Haus- und Kleingärten im Kreis Steinburg: Visuelle, serologische und molekularbiologische Untersuchungen wurden durchgeführt. Es liegt eine Vielzahl verschiedener Infektionen vor. Das Chlorotische Ringfleckenvirus, das Nekrotische Ringfleckenvirus, das Chlorotische Blattflecken-virus des Apfels, die Phytoplasmaose Europäische Steinobstvergilbung sowie das Bakterium *Pseudomonas* lassen sich in Haus- und Kleingärten zum Teil in Mischinfektionen nachweisen.

Bei den wenigen positiven Nachweisen in den gewerblichen Gehölzen handelt es sich in der Regel um Ausgangsmaterial, welches vor kurzem aus Südeuropa bezogen wurde. Die Ergebnisse untermauern, dass in Schleswig-Holstein davon auszugehen ist, dass Scharka bisher keine weite Verbreitung gefunden hat und so die Einstufung „Scharkafrei“ erhalten bleiben kann. In den Haus- und Kleingärten kommen verschiedene Viren, zum Teil in Mischinfektionen, vor.

103 - Henkel, G.; Willmer, C.; Monien, S.; Mester, E.; Kaland, B.; Golecki, B.; Wunderlich, M.  
Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein

## **Monitoring zu den Vektoren der Scharka-Krankheit in Schleswig-Holstein**

Vector screening of Plum Pox disease in Schleswig-Holstein

Durch das Monitoring sollte festgestellt werden, inwieweit die Überträger der Scharka-Krankheit in Schleswig-Holstein vorkommen, zu welchem Zeitpunkt sie als obligat wirtswechselnde Blattläuse in den Obstgehölzen auftreten und ob sie mit dem Scharka-Virus (PPV) beladen sind. Die vorgestellten Untersuchungen wurden im Jahr 2009 in jeweils zwei Baumschulen, Obstbaubetrieben und in ungespritzten Anlagen durchgeführt.

Qualitative Bestimmung und zeitliches Auftreten der Blattläuse: Grundlage hierfür waren zweimal pro Woche durchgeführte Klopfproben im Zeitraum vom 17.2. - 2.6.09 und vom 17.8. - 12.10.09 an sechs Standorten. 2009 war ein Jahr mit außergewöhnlich niedrigen Blattlauspopulationen. Die Kleine Zwetschenblattlaus (*Brachycaudus heichrysi*), die Große Zwetschenblattlaus (*Brachycaudus prunicola*), die Hopfenblattlaus (*Phorodon humuli*) und die Mehligige Zwetschenblattlaus (*Hyalopterus pruni*) wurden in unterschiedlicher Anzahl geklopft. Die Pfirsichblattlaus (*Myzus persicae*) konnte an keinem der sechs verschiedenen Beprobungsorten nachgewiesen werden. Die Aufwanderung der wirtswechselnden Blattlausarten konnte zeitlich wegen der geringen Individuendichte nicht näher bestimmt werden.

Auftreten der Grünen Pfirsichblattlaus (*Myzus persicae*) als effizienter Vektor: Mittels sechs Gelbschalen wurde überprüft, inwieweit überwinterte Imagines abgefangen werden können. Vom 17.2. - 6.4.09 wurden zweimal pro Woche die Fallen erneuert und ausgewertet. *Myzus persicae* konnte in den Fallen nicht nachgewiesen werden. Das geringe Vorkommen wurde auch in den parallel in Kartoffeln durchgeführten Untersuchungen festgestellt. Als Beifänge fanden sich hauptsächlich Dipteren in der Flüssigkeit.

Untersuchung der Vektoren auf positive Beladung mit dem Scharka-Virus: Auf der Basis einer reversen Transcriptase-PCR-Reaktion wurden die verschiedenen Blattlausarten über die Vegetationszeit mehrmals auf positive Beladung mit dem *Plum Pox Potyvirus* untersucht. Trotz der häufigen Untersuchungen konnte in keiner Probe der Nachweis einer positiven Beladung der Tiere geführt werden.

Bis auf die Pfirsichblattlaus konnten alle relevanten Blattlausarten, welche als Scharka-Überträger in Frage kommen, nachgewiesen werden. Die Aufwanderung der Blattlausarten konnte wegen der geringen Individuendichte nicht näher bestimmt werden. Trotz der häufigen Untersuchungen auf positive Beladung der Tiere konnte in keiner Probe ein positiver Nachweis geführt werden.

104 - Darissa, O.; Willingmann, P.; Schäfer, W.; Adam, G.  
Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek

### **Ein neues Mykovirus aus *Fusarium graminearum*: seine Nukleinsäuresequenz, seine genomische Struktur und sein Effekt auf seinen Pilzwirt**

A novel double-stranded RNA mycovirus from *Fusarium graminearum*; nucleic acid sequence, genomic structure and effect on its fungal host

Ten *Fusarium graminearum* (F.g.) isolates from China were screened for the presence of dsRNA mycoviruses. One of the isolates, namely F.g. China 9 showed 5 dsRNA segments after agarose gel electrophoresis with sizes ranging from 2.4 to 3.5 Kbp. Isometric virus-like particles (VLPs) of about 40 nm were successfully purified from F.g. China 9 by means of CsCl ultracentrifugation and observed under the Transmission Electron Microscope. The five dsRNA segments were completely sequenced and a single ORF per segment was identified. Blast results showed that segment 1 possess RdRp conserved motifs, segment 5 has a C2H2 zinc finger domain, whereas segments 2 and 4 share no significant similarity to any published protein. Tandem Mass Spectrophotometry, VLPs surface protein labeling, SDS-PAGE and protein blast results support that 4 of the virus segments code for structural proteins of which segment 3 possibly codes for the outer capsid protein. Relative quantitative PCR studies of the 5 dsRNA segments isolated from purified VLPs suggested that the segments are encapsidated separately in unequal amounts. Genomic structure of F.g. China 9 virus and the phylogenetic study of the RdRp segment support that the virus would possibly candidate as a type species for a novel family of mycoviruses. Depending on the titer of the virus in the starting culture inoculums, the virus transmission through conidia ranges from 50-100 % as detected by RT-PCR. Accumulation of the virus in its fungal host dramatically reduces the mycelial growth rate, total conidia production, and alters its pigmentation.

105 - Thiele, K.<sup>1</sup>); Smalla, K.<sup>1</sup>); Braje, I.<sup>2</sup>); Rabenstein, F.<sup>1</sup>)  
<sup>1</sup>) Julius Kühn-Institut; <sup>2</sup>) Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz

### **Nachweis und molekulare Charakterisierung von *Acidovorax valerianellae*, dem Erreger von bakteriellen Blattflecken an Feldsalat (*Valerianella locusta* (L.) Laterr.)**

Leaf spots on corn salad, *Valerianella locusta* (L.) Laterr., caused by the bacterium *Acidovorax valerianellae* – insights into biology and development of diagnostic tools

Seit 1999 treten in Deutschland vermehrt schwarze Blattflecken an Feldsalat (*Valerianella locusta* (L.) Laterr.) auf, die auf einen Befall durch das Bakterium *Acidovorax valerianellae* (Av) zurückzuführen sind (Moltmann, 2000) und im Erwerbsanbau hohe Verluste verursachen. Zur Lösung der offenen epidemiologischen Fragen werden innerhalb dieses Projektes serologische und molekularbiologische Diagnosemethoden entwickelt. Weiterhin sollte mit der molekular-biologischen Charakterisierung des Erregers begonnen werden.

Zunächst wurden monoklonale Antikörper gegen das Typisolat des Erregers (16619, DSMZ Braunschweig) erzeugt, selektiert und mit bereits verfügbaren polyklonalen Kaninchenseren hinsichtlich Spezifität und Sensitivität verglichen. Die ausgewählten Hybridom-Klone produzieren hochspezifische anti-Av-Antikörper in hoher Konzentration. Mittels TAS-ELISA (triple antibody sandwich) kann der Erreger in infiziertem Pflanzenmaterial sowie in Saatgut sicher nachgewiesen werden. Erstmals konnten mittels Immunogold-Labeling und Transmissions-

Elektronenmikroskopie Av-Zellen in symptomtragenden Feldsalatblättern dargestellt werden. Die Bakterienzellen wurden in sehr hoher Dichte im Interzellularraum in den Randregionen der Läsionen gefunden, jedoch nicht in symptomfreien Blattregionen.

Da alle bisher eingesetzten PCR-Primer sehr unspezifisch waren und für *A. valerianellae* nur wenig Sequenzinformationen vorliegen, wurden einige durch BOX-PCR (Martin, 1992) generierte Amplifikate kloniert und sequenziert. Die dabei gewonnenen Sequenzdaten ermöglichten die Etablierung einer für Av spezifischen PCR. Alle vorhandenen Isolate konnten damit nachgewiesen werden, die Übertragbarkeit der Methode auf Saatgut und Boden wird gegenwärtig getestet.

Hinweise auf Übertragbarkeit des Erregers durch Boden und Saatgut (Grondeau, 2009) konnten bestätigt werden. Auf Böden, in die im Herbst 2009 (in Schifferstadt) und März 2010 (in Quedlinburg) infiziertes Blattmaterial eingemischt wurde, konnte nach Lagerung in Containern im Freiland an Feldsalat-Fangpflanzen Befall nachgewiesen werden. Die Inkubation erfolgte unter dauerfeuchten Bedingungen in einer Klimakammer (Tag 20 °C, Nacht 15 °C, 16 Stunden Licht).

Über einen Zeitraum von drei Monaten traten Av-Symptome an den ausgesäten Fangpflanzen auf und konnten serologisch diagnostiziert werden. Bei dem leicht degenerierbaren Feldsalatgewebe entspricht dies etwa dem notwendigen Zeitraum für die natürliche Zersetzung des Pflanzenmaterials. Als weitere potentielle Infektionsquelle konnte das Saatgut bestätigt werden. Zur Klärung der Frage, ob aus kontaminiertem Saatgut eine Übertragung auf das daraus zu produzierende Saatgut zu erwarten ist, wurden 2007 und 2008 je zwei Saatgutpartien (natürlich kontaminiert mit *A. valerianellae* und nicht kontaminiert) gesät und die Pflanzen bis zur Saatgutbildung kultiviert. Das daraus produzierte Saatgut (Ernte 2008 und 2009) wurde mit unterschiedlichen Verfahren (Sweatbox-Test, Anzucht, TAS-ELISA) in einem Ringversuch durch verschiedene Diagnoselabore auf Kontamination geprüft. Eine Übertragung des Befalls vom Ausgangssaatgut auf das produzierte Saatgut konnte damit nachgewiesen werden. Die Ergebnisse von herkömmlichen (Anzucht) und neu etablierten Methoden (TAS-ELISA) korrelieren miteinander.

Etwa 50 Isolate wurden auf Sequenzunterschiede der 16S-rRNA-Gene mittels Amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) (Vanechoutte, 1992) und Unterschiede in der Genomorganisation mittels BOX-PCR [2] getestet. Die Isolate ließen sich mit Hilfe der Restriktionsmuster der 16S-rRNA-Gene in zwei etwa gleich große Gruppen einteilen, die sich in ihrem Bandenmuster durch eine Bande unterschieden. Durch Sequenzierung der 16S-rRNA-Gene wurde dieser Unterschied auf einen Basenaustausch zurückgeführt, der eine zusätzliche Schnittstelle für das eingesetzte Restriktionsenzym schafft.

Die durch BOX-PCR erzeugten Bandenmuster zeigen ebenfalls Unterschiede zwischen den Isolaten und lassen sich drei Gruppen zuordnen. Zwei dieser BOX-Gruppen korrelieren mit der einen ARDRA- bzw. 16S-Variante, die dritte BOX-Gruppe umfasst alle Isolate der anderen ARDRA-Variante.

Bei der Herstellung von neuen Isolaten aus belastetem Saatgut wurde festgestellt, dass Erreger beider 16S-Varianten parallel vorkommen. Gegenwärtig wird mit Inokulationsversuchen überprüft, ob sich diese Varianten in ihrer Pathogenität unterscheiden.

106 - Nabhan, S.<sup>1)</sup>; Felgentreu, D.<sup>2)</sup>; Wydra, K.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Leibniz Universität Hannover; <sup>2)</sup> Julius Kühn-Institut; <sup>3)</sup> Georg-August-Universität Göttingen

### **Physiological fingerprinting and molecular characterization for identification and characterization of Soft Rot, pectolytic bacterial strains from Syria**

A collection of 30 pectolytic enterobacterial strains was sampled from potato fields in Syria between years 2002 to 2004. The strains were confirmed as soft rot pathogen by investing virulence assays on potato tubers, pepper slices, tomato plants and their ability to utilize pectin on CVP medium. Moreover, 33 reference strains of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc), *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* (Pco), *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis*, *Pectobacterium atrosepticum* (Pba), and *Dickeya* species (*Dickeya* spp.) included in the study for comparison. For the 63 strains, different method were used for identification, started with biochemical tests, fatty acid methyl ester analysis (FAME), metabolic fingerprinting using 95 carbon sources (GN Biolog assay), PCR using different primers targeting the Pel genes family, The16S-23SS intergenic transcribed spacer-PCR (ITS-PCR) and Restriction Fragment Length Polymorphism analyses (ITS-RFLP) (Toth et al. 2001). Additional RFLP approach still under investigation using some conserved housekeeping genes which present in both genera *Pectobacterium* and *Dickeya*.

The aim of our study was to determine the characteristics of pectolytic bacterial strains associated with the soft rot and blackleg disease of potato in Syria. The advantage of this study is that the genus *Pectobacterium* was representative with all of the known species and subspecies which could enable us to detect and to know more

about the diversity within this taxon, especially at the level of the species *Pectobacterium carotovorum* when most of last studies either indicate atypical strains (biochemically), or none clustered strains (genetically) which reflect the highly polymorphism between *P. carotovorum* strains studied in different geographical origin and hosts.

The result showed that the topology of the trees constructed either by FAME characteristic or by the physiological criteria obtained from the numerical analysis of the GN biolog data is not consensus to the result of the molecular methods.

Each of the GN biolog and AFLP could reflect the lifestyle of the strains according to their ecological niche more than to reflect the genetic material which carried by the DNA of a strain. RFLP targeted different PCR-amplicons gave more precise view to the polymorphism present in each of the species and subspecies of the *Pectobacterium* genus which reflect the diversity within this taxon, more detailed result will be shown in the poster.

107 - Gehring, I.<sup>1)</sup>; Wensing, A.<sup>2)</sup>; Geider, K.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Heidelberger Institut für Pflanzenwissenschaften; <sup>2)</sup> Jacobs University Bremen; <sup>3)</sup> Julius Kühn-Institut

### **Nukleotid-Polymorphismus zur Differenzierung and Klassifizierung von Bakterien der Gattung *Erwinia* und ihre Detektion durch MALDI-TOF Analyse**

Single nucleotide polymorphisms for differentiation and classification of bacteria in the genus *Erwinia* and their detection by MALDI-TOF analysis

Isolierte Stämme des Feuerbrandregers wurden durch Sequenzabweichungen im *galE*-Gen über PCR differenziert. Entsprechend konnten auch Feldisolate den Pflanzen-assoziierten *Erwinia*-Arten zugeordnet und dies durch Analyse der Proteinmuster ganzer Zellen bestätigt werden.

108 - Kubel, M.<sup>1)</sup>; Gehring, I.<sup>2)</sup>; Geider, K.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin; <sup>2)</sup> Heidelberger Institut für Pflanzenwissenschaften;

<sup>3)</sup> Julius Kühn-Institut

### **Genomvergleich von Bakterien in der Gattung *Erwinia* zur Bekämpfung des Feuerbrands**

Genome comparisons of bacteria in the genus *Erwinia* controlling fire blight

Die Genome der antagonistischen Bakterienarten *Erwinia billingiae* und *E. tasmaniensis* wurden sequenziert, annotiert und miteinander verglichen. Dadurch konnten Stoffwechselleistungen und ihr Verhalten auf Blüten in Gegenwart des Feuerbrandregers *E. amylovora* abgeschätzt werden.

109 - Müller, I.; Jelkmann, W.; Geider, K.

Julius Kühn-Institut

### **Molekulare Analyse von *Erwinia amylovora* Phagen**

Molecular analysis of *Erwinia amylovora* phages

Die Genome einiger *Erwinia amylovora* Phagen wurden sequenziert und ihre Lyseeigenschaften verglichen. Die Feuerbrandbekämpfung könnte durch diese Phagen und deren Gene erweitert werden.

110 - Zamani-Noor, N.; Koopmann, B.; Von Tiedemann, A.

Georg-August-Universität Göttingen

### ***Ramularia* leaf spots on barley – importance of seed transmission and latent systemic spread**

*Ramularia collo-cygni* has gained increasing importance as the causal agent of a novel leaf spot disease on barley, *Ramularia* leaf spot (RLS). This pathogen has been studied more intensely in recent years with regard to its life cycle, particularly the sources of inoculum and spread of the fungus between different fields and seasons. Results from our previous real time-PCR studies provided clear evidence for a systemic symptomless growth of the fungus

from contaminated seeds into emerging plants. The fungus spreads into shoots and leaves and finally into grains in a symptom-less manner.

Similar results were obtained by other groups suggesting that RLS is a seed-borne disease. However, there is no direct proof that seed contamination is a key factor for the outbreak of RLS epidemics in the field. In order to evaluate the importance of latent seed-borne infection vs. leaf infection with airborne conidia, we used seed dressings and consecutive applications of foliar fungicides during plant development to produce pathogen-free plants and seeds. The efficacy of the seed dressing fungicide ZARDOX G (a. i. Cyproconazole and Imazalil) and the systemic foliar fungicide PROLINE (a. i. Prothioconazole) on fungal systemic spread was assessed during different growth stages by means of real time PCR. Results have shown that none of the two fungicides was able to entirely suppress latent systemic fungal development in the plants when used separately. ZARDOX G seed dressing together with foliar applications of PROLINE in early growth stages (39-41) had the strongest inhibitory effect on fungal development. PROLINE applied in later growth stages (65-69) gave a lower level of control.

111 - Hörmann, V.<sup>1)</sup>; Goßmann, M.<sup>1)</sup>; Junge, H.<sup>2)</sup>; Büttner, C.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Humboldt-Universität zu Berlin; <sup>2)</sup> ABiTEP GmbH

### **Morphologische Charakterisierung von *Persiciospora moreau* und *Melanospora zamiae* in *Fusarium* spp.-Isolaten von Spargel- und Gurkenpflanzen**

Morphological characterization of *Persiciospora moreau* and *Melanospora zamiae* in isolates of *Fusarium* spp. of asparagus- and cucumber plants

Kulturen von *Fusarium oxysporum* und *F. proliferatum* auf PDA (potato-dextrose-agar) und einem speziellen nährstoffarmen Agar (SNA), die im Juni 2007 aus beprobten Spargelstangen einer mehrjährigen Anlage im Land Brandenburg isoliert wurden, waren ebenso mit Perithezien unbekannter hyperparasitischer Pilze besiedelt, wie die im Juli aus der Stängelbasis von niederbayrischen Freilandgurkenpflanzen gewonnenen *F. solani*- und *F. avenaceum*-Isolate, die auch auf SNA und PDA kultiviert worden waren.

Mittels Licht- und Elektronenmikroskopie wurden die Perithezien und Ascosporen anhand von morphologischen Merkmalen wie Form, Farbe und Größen näher charakterisiert. So hatten die Perithezien, die in den *F. oxysporum*- und *F. proliferatum*-Spargelisolaten vorkamen, einen Durchmesser von ca. 250 µm, einen relativ kurzen Hals mit einer Länge von etwa 80 µm und einer Breite von ca. 50 µm. An der Öffnung des Peritheziums, der Ostiole, waren sehr kurze Anhängsel bzw. Setae ausgebildet. Die Perithezien waren anfangs goldgelb und später bräunlich gefärbt. Die ellipsoidisch geformten Ascosporen waren ca. 20 µm lang und ca. 8 µm breit und wiesen eine dunkelbraune Farbe auf. Die Oberfläche der Ascosporen hatte eine pfirsichkernartige, aufgeraute Struktur. An beiden, schwach zugespitzten Enden der Ascosporen waren zwei leicht eingesunkene Keimporen zu erkennen. Aufgrund dieser morphologischen Charakteristika konnte der in den Spargelisolaten vorkommende Hyperparasit nach Cannon und Hawksworth (1982) als *Persiciospora moreau* P.F. Cannon und D. Hawksw. identifiziert werden. Die Perithezien aus den *F. solani*- und *F. avenaceum*-Gurkenisolaten waren kleiner als die von *Persiciospora moreau*, ihr Durchmesser betrug ca. 230 µm. Sie waren anfangs rötlich-braun, später dunkelbraun gefärbt und hatten einen Hals mit einer Länge von ca. 220 µm, an deren Spitze auch eine sehr kurze Setae ausgebildet war. Die zitronenförmigen Ascosporen waren ca. 13-15 µm lang und 8-10 µm breit. Sie wiesen eine glatte Oberfläche auf und hatten an den beiden, schwach zugespitzten Enden, leicht nach innen gewölbte Keimporen. Nach Cannon und Hawksworth (1982) konnte der hyperparasitische Pilz als *Melanospora zamiae* Corda bestimmt werden. Sowohl *Persiciospora moreau*, als auch *Melanospora zamiae* sind der Familie der Ceratostomataceae, Ordnung Sordariomycetes, Klasse Melanosporales, Abteilung Ascomycota im Reich Fungi zuzuordnen.

#### Literatur

Cannon, P. F., Hawksworth, D. L. (1982): A re-evaluation *Melanospora* Corda and similar Pyrenomycetes, with a revision of British species. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 84, 115-160.

112 - Stahlmann, H.; Jaber, L.R.; Vidal, S.  
Georg-August-Universität Göttingen

### **Interaktion von entomopathogenen Endophyten mit dem Ackerbohnenrost *Uromyces viciae-fabae***

Interactions of entomopathogenic endophytes with faba bean rust (*Uromyces viciae-fabae*)

Um kommerziell kompetitiver zu sein, ist es für biologische Pflanzenschutzmittel wichtig, einen breiten Anwendungsbereich vorzuweisen. Der entomopathogene Pilz *Beauveria bassiana* wird derzeit zur direkten biologischen Bekämpfung von Insekten und Milben eingesetzt. Der Pilz vermag jedoch auch in einer Pflanze (endophytisch) zu wachsen, um bei Fraß den Herbivoren zu infizieren. Diese endophytische Lebensweise von *B. bassiana* besitzt zudem das Potential, ein Antagonist pflanzenpathogener Pilze zu sein. Unsere Studien am Ackerbohnenrost (*Uromyces viciae-fabae*) zeigen jedoch, dass dies nicht immer der Fall sein muss und in speziellen Fällen ein Pathogenbefall sogar verstärkt auftreten kann.

113 - Behn, A.; Varrelmann, M.  
Institut für Zuckerrübenforschung

### **Etablierung von Suppressiver Subtraktiver Hybridisierung (SSH) zur Isolation und Identifizierung von Resistenz spezifischen und *Rhizoctonia solani* induzierten Genen in Zuckerrüben**

Use of Suppressive Subtractive Hybridization (SSH) to isolate and identify resistance and *Rhizoctonia solani* induced genes in sugar beet

*Rhizoctonia solani* Kühn ist der Erreger der Späten Rübenfäule der Zuckerrübe. Eine Bekämpfungsmöglichkeit stellt der Anbau von *Rhizoctonia* resistenten Sorten dar. Die quantitative Resistenz der Zuckerrübe wird durch mehrere bisher unbekannte Faktoren kontrolliert und daher polygen vererbt. Zu den einzelnen Abwehrmechanismen der Zuckerrübe gegen *R. solani* gibt es bislang wenige Informationen.

Zur Isolation und Identifizierung von Resistenz spezifischen und *R. solani* induzierten Genen wurde die Suppressiver Subtraktiver Hybridisierung (SSH) etabliert. Dafür wurden resistente und anfällige homogene Zuckerrübenlinien angezogen und mit *R. solani* infiziert. Bis kurz nach Auftreten der ersten Symptome erfolgten in mehreren Zeiternten RNA Extraktionen, und die Gesamt-RNA beider Genotypen mit und ohne Inokulation wurde zur Isolierung von polyA<sup>+</sup> RNA eingesetzt, welche für die Erstellung der differentiellen cDNA-Bibliothek mittels SSH eingesetzt wird. Die RNA des resistenten Genotypen dient zunächst als Experimental- („tester“), die des anfälligen als Referenzprobe („driver“). Die Methode wird zweifach durchgeführt, jeweils mit resistenten bzw. anfälligen Genotypen als „tester“, um einen Verlust von nur schwach exprimierten Sequenzen zu vermeiden. Die amplifizierte PCR-Produkte der subtraktiven Hybridisierung werden anschließend kloniert und sequenziert. Anhand der Ergebnisse der Sequenz-datenbankvergleiche und anschließendem differentiellen Northern-Expressionsnachweis soll die Beteiligung der erhaltenen Kandidatengene an der Abwehr von Zuckerrüben gegen *R. solani* nachgewiesen werden.

114 - Burgdorf, N.; Rodemann, B.  
Julius Kühn-Institut

### ***In vitro*-Biotestverfahren zur Bewertung der Resistenz von Zuckerrübenkeimlingen gegenüber Wurzelbranderregern**

*In vitro*-Biotest method for resistance evaluation of sugar beet seedlings against root rot pathogens

Veränderungen der Klimabedingungen, das Verbleiben von Ernterückständen als auch eingeeengte Fruchtfolgen können Einfluss auf das Auftreten der Schaderreger des Wurzelbrandkomplexes an Zuckerrüben üben, weshalb mit verstärkten Jungpflanzenausfällen, dem „damping-off“, während der Auflaufphase zu rechnen sein könnte.

Zur Beurteilung der Resistenz von Zuckerrüben-Keimlingen gegenüber *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Aphanomyces cochlioides* und *Pythium ultimum* wurde ein schnell anwendbares Mikrotiterplatten-Testverfahren entwickelt. Mit diesem Verfahren lassen sich Sorten und Genotypen hinsichtlich der Resistenz im Jungpflanzenstadium gegenüber den Schaderregern beurteilen. Zudem kann die Wirksamkeit von Saatgut-Pillierungen mit fungiziden Wirkstoffen an Zuckerrüben-Keimlingen gegenüber den Erregern bewertet werden.

In mit Wasseragar beschickten Mikrotiterplatten werden Keimlinge für drei Tage in der Klimakammer angezogen und anschließend mit einer Myzelsuspension an der Wurzelspitze inokuliert. Die Platten werden in der Klimakammer ohne Licht inkubiert, und nach weiteren vier bis sieben Tagen werden die Befallssymptome Verbräunung und Absterben der Keimwurzel nach einer Boniturskala in Befallsklassen eingeteilt, woraus sich der „Root Rot Index“ (RRI) berechnen lässt. Die Ergebnisse zeigen deutliche signifikante Variation in der Ausprägung des Root Rot Index von Keimlingen von Zuckerrübensorten gegenüber *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Aphanomyces cochlioides* und *Pythium ultimum*. Der RRI der getesteten Genotypen liegt bei Infektionsversuchen mit *Pythium ultimum* zwischen 90 % in einer anfälligeren und 20 % in einer toleranteren Sorte.

Des Weiteren konnte durch in die Pillierung eingebrachte Wirkstoffe, wie zum Beispiel Pyrisclostrobin und Fludioxonil, der Root Rot Index an Keimlingen bei Inokulation mit *Rhizoctonia solani* um bis zu 75 % gesenkt werden. Zudem sind signifikante Unterschiede in der Höhe des RRI bei verschiedenen Isolaten innerhalb einer Art ersichtlich.

Die Anwendung dieser Testmethodik ermöglicht sowohl eine schnelle Selektion von Zuckerrübensorten und Genotypen, die gegenüber einem Frühbefall resistent sind, als auch eine leicht handhabbare Beurteilung fungizider Wirkstoffe, was in anschließenden Gewächshaus- und Freilandstudien zu validieren ist.

## Nematologie

115 - Hallmann, J.<sup>1)</sup>; Daub, M.<sup>1)</sup>; Schlathölder, M.<sup>2)</sup>; Schütze, W.<sup>1)</sup>; Grosch, R.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Julius Kühn-Institut; <sup>2)</sup> P. H. Petersen Saatzucht GmbH; <sup>3)</sup> Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e. V.

### Mit Biofumigation pflanzenparasitäre Nematoden bekämpfen?

Is Biofumigation a suitable method for control of plant-parasitic nematodes?

Die Biofumigation ist ein Verfahren zur Bekämpfung bodenbürtiger Schaderreger basierend auf den in Brassicaceen enthaltenen Glukosinolaten. In wärmeren Regionen (z. B. U.S.A., Australien, Italien) wird dieses Verfahren bereits erfolgreich in der Praxis eingesetzt. Über dessen Wirkung in gemäßigten Klimaregionen ist bisher aber nur wenig bekannt. In einem vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz durchgeführten Forschungsvorhaben (Programm zur Innovationsförderung) wurde untersucht, inwieweit dieses Verfahren auch für die Bekämpfung pflanzenparasitärer Nematoden im gemäßigten Klima geeignet ist. Die Wirkung verschiedener Isothiocyanate auf *Meloidogyne hapla* und *Pratylenchus penetrans* wurde *in vitro* ermittelt. In Feldversuchen wurde die Wirkung verschiedener Sorten von Weißem Senf, Ölrettich und Sareptasenf bzw. Sortenmischungen bei Anbau als Biofumigation (= Umbruch zur Hauptblütezeit) auf pflanzenparasitäre Nematoden untersucht.

Verschiedene Glucosinolate bilden unterschiedliche Isothiocyanate, und entsprechend unterschiedlich ist auch deren Wirkung auf pflanzenparasitäre Nematoden. Die beste Wirkung wurde mit Allyl-Isothiocyanat (aus Sinigrin, in Sareptasenf enthalten) erzielt. Bereits Konzentrationen von 0,01 µmol führten zu einer vollständigen Abtötung juveniler Tiere von *Meloidogyne hapla*.

Demgegenüber war die Wirkung bei *Pratylenchus penetrans* deutlich geringer und betrug bei 0,1 µmol Allyl-Isothiocyanat lediglich 50 %. Bei *P. penetrans* zeigte sich zudem, dass die juvenilen Stadien anfälliger auf den Wirkstoff reagierten als adulte Tiere. Die Isothiocyanate Benzyl-, Butyl-, Ethyl-, Methyl-, Phenyl- und 2-Phenylethylisothiocyanat zeigten insgesamt eine geringere Wirkung gegen *M. hapla* als Allyl-Isothiocyanat, wobei die Unterschiede zwischen den Wirkstoffen teils beträchtlich waren.

In den Feldversuchen konnte nur vereinzelt eine Wirkung gegen pflanzenparasitäre Nematoden festgestellt werden. Insgesamt wurde beobachtet, dass Kulturen, die bereits während der Anbauphase zu einer Vermehrung der Nematoden führen, diese durch nachfolgende Biofumigation nicht mehr unter den Ausgangsbesatz reduzieren können. Entsprechend wichtig ist es, Sorten für die Biofumigation einzusetzen, an denen sich die primär schädigenden Nematoden nicht vermehren können. Dies wurde auf Flächen mit *M. hapla* durch Anbau von Ölrettich cv. 'Contra' umgesetzt. Auf diesen Flächen konnte eine gute Reduzierung von *M. hapla* erreicht werden, die tendenziell sogar höher lag als bei der Schwarzbrache. Im Vergleich zum Anbau von Ölrettich cv. 'Contra' als Fangpflanze oder überwinterte Zwischenfrucht zeigte die Biofumigation jedoch keine bessere Wirkung. Im Hinblick auf *Pratylenchus* spp. (*P. crenatus*, *P. neglectus*) war die Wirkung der Biofumigation mit Ölrettich cv. 'Contra' insgesamt geringer als bei *M. hapla*, andererseits zeigte die Biofumigation hier eine tendenziell bessere Wirkung im Vergleich zu den Varianten Fangpflanze und Standard.