
Sektion 14 - Virologie, Bakteriologie, Mykologie II

14-1 - Hess, M.¹⁾; Nyman, M.¹⁾; Hückelhoven, R.¹⁾; Weigand, S.²⁾; Hausladen, H.¹⁾

¹⁾ Technische Universität München

²⁾ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Neue Erkenntnisse zur Erregerbiologie von *Ramularia collo-cygni* und die Konsequenzen für die integrierte Bekämpfung des Blattfleckenkomplexes der Gerste

New insight into the biology of Ramularia collo-cygni and their consequences for the integrated control of the leaf spotting complex of barley

Der Blattfleckenkomplex der Gerste hat sich in den letzten Jahren zu der zentralen Ursache für qualitative und quantitative Ertragsverluste im Gerstenanbau entwickelt. Das aus den Ergebnissen des gemeinsamen Forschungsvorhabens der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft und der Technischen Universität München hervorgegangene Integrierte Bekämpfungsmodell konnte mehrjährig zeigen, wie eine angepasste Bekämpfungsstrategie zu einer ökonomisch verbesserten Ertragsabsicherung führt.

Die Erforschung des Blattfleckenkomplexes hat bestätigt, dass es sich um ein Zusammenspiel zwischen Umweltfaktoren, Pflanzenbiologie und dem Pilz *Ramularia collo-cygni* als biotischer Schadursache handelt. Durch die Etablierung moderner Untersuchungsmöglichkeiten konnten neue Einsichten in die Erregerbiologie gewonnen werden, die beispielsweise Rückschlüsse auf die Bedeutung verschiedener Ausbreitungswege wie dem windverbreiteten gegenüber dem samenbürtigen Inokulum liefern.

Einen sehr großen Einfluss auf die Epidemie zeigt die Seneszenz der Pflanze. Es konnte bei frühreifen Sorten oft ein deutlicher Befall beobachtet werden, bevor es bei später abreifenden Sorten zu dem Auftreten von Symptomen kommt. Bei einer hohen Variabilität in der Symptomatik wirken sie daher oft anfälliger.

Durch den Einsatz differenzierender Fungizidbehandlungen ergibt sich die Möglichkeit einer isolierten Betrachtung der Ertragsrelevanz des Komplexes, wodurch eine Grundvoraussetzung für die Beurteilung der Toleranz und des Einflusses verschiedener pflanzenphysiologischer Faktoren unter Feldbedingungen erreicht wird.

Die Ergebnisse aus aktuellen Untersuchungen werden vorgestellt und die Konsequenzen für die Weiterentwicklung der Kontrollmaßnahmen diskutiert.

14-2 - Böhme, F.; Miessner, S.; Tegge, V.; Erven, T.; Stammler, G.

BASF SE

Pathogenität von *Alternaria*-Arten an Kartoffeln und Tomaten

Pathogenicity of Alternaria species on potatoes and tomatoes

Ziel der Arbeiten war eine Untersuchung der Relevanz verschiedener *Alternaria*-Arten, insbesondere *Alternaria solani* und *Alternaria alternata* als Erreger der *Alternaria*-Blattfleckenkrankheit an Kartoffel und Tomate. In umfangreichen Monitoring-Studien in 2011 konnten in verschiedenen Proben Isolate beider Arten aus typischen Blatt-Läsionen von Kartoffelbeständen verschiedener europäischer Länder isoliert werden. Interessanterweise wurde dabei ein signifikanter Einfluss der Parameter nach der Probennahme wie z. B. die Temperatur während der Isolation auf die Isolationshäufigkeit beider Arten nachgewiesen. Niedrige Temperaturen (16 °C) begünstigten *A. solani*, höhere (22 °C) *A. alternata*. Um den Einfluss von Faktoren nach den Probenahmen zu minimieren, wurde ein molekulargenetisches Verfahren zur Quantifizierung entwickelt (quantitative real-time PCR), wobei die Proben idealerweise direkt nach Ernte bis zur Analyse eingefroren werden.

Zahlreiche Gewächshausversuche an Tomaten und Kartoffeln mit verschiedenen *A. solani* und *A. alternata* Isolaten ergaben, dass *A. solani* unter Variation verschiedener Bedingungen (Sporendichte, Medium der Sporensuspension, Nährstoffversorgung, unterschiedliche Verletzung des Blattgewebes [1], Temperatur, Kartoffelsorten, Entwicklungsstadium zur Inokulation) pathogen ist. In allen Versuchsansätzen mit *A. alternata* hingegen waren auch mit hohen Sporendichten kaum Infektionen zu erkennen. Auffällig war, dass *A. solani* an verschiedenen Kartoffelsorten im Gewächshaus ältere Blätter stärker infizierte als jüngere Blätter der oberen Blatttagen.

Feldversuche wurden mit verschiedenen Kartoffelsorten und künstlichen Infektionen mit verschiedenen *A. solani* und *A. alternata* Isolaten durchgeführt. Vergleichbar mit den Ergebnissen der Gewächshausversuche waren in allen mit *A. solani* infizierten Parzellen Krankheitssymptome schon nach 4 Tagen zu sehen, während *A. alternata* Isolate nicht infizierten.

Aufgrund der obigen Befunde (Isolation beider Arten aus typischen Läsionen und fehlende oder geringe Virulenz von *A. alternata*) sollte untersucht werden, ob *A. alternata* eine Infektion von *A. solani* benötigt und sich auf den Läsionen saprophytisch weiterentwickelt. Hierzu wurden Mischungen von Sporensuspensionen von Isolaten beider Arten in unterschiedlichen Verhältnissen hergestellt und anschließend Tomaten- und Kartoffelpflanzen in Gewächshaus und Feldversuchen damit inokuliert. Der Verlauf der Krankheit wurde bonitiert und im befallenen Pflanzenmaterial der relative Anteil von *A. solani* und *A. alternata* mit molekulargenetischen Verfahren bestimmt.

Literatur

(1) PHILIPPI J., 2011: Pathogenität und Bekämpfung von *Alternaria alternata* und *Alternaria solani* an Solanaceen. Diplomarbeit Universität Hohenheim 2011.

14-3 - Strehlow, B.; Struck, C.

Universität Rostock

Genetic variability among *Plasmiodiophora brassicae* collections from different regions in Germany

Genetische Variabilität von Plasmiodiophora brassicae-Feldisolaten aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands

Clubroot disease, caused by the soil-borne, obligate plant pathogen *Plasmiodiophora brassicae*, is an economically important disease of cruciferous crops including oilseed rape. Chemical control of the pathogen is not possible at present and cultural practices can only limit the infestation with *P. brassicae*. Therefore the development of resistant cultivars is considered the most economical and efficient method for clubroot control.

Different field isolates of *P. brassicae* could not be distinguished by phenotype except for virulence patterns. Therefore pathogenicity-based classifications are used to differentiate field isolates. These bioassays are time and space consuming and subject to varying environmental conditions. Molecular markers specific to isolates or pathotypes would be an efficient tool to identify *P. brassicae* field isolates.

The objectives of the current research were to develop a molecular approach to characterize *P. brassicae* populations concerning the genetic variability and genomic polymorphism directly related to pathotype classification. Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) were detected within and between field isolates from regions in Germany with different oilseed rape cropping intensity.

AFLP profiles of 12 field isolates from Southern Germany and 35 field isolates from Northern Germany were compared. Five selective AFLP Primer combinations were used to genotype these isolates, resulting in 137 amplicons with 73 (53 %) informative polymorphic bands. These polymorphic bands were used for genetic diversity analysis. Compared to the *P. brassicae* population from Northern Germany the southern isolates were more homogeneous, only 70 % instead of 95 % of the informative bands were polymorphic. Each field isolate had a specific AFLP pattern; within one field and one club the AFLP patterns showed no difference. Cluster analysis (Neighbour-joining method, NJ) divided the field isolates into three clusters primarily based on their geographical origin: All of the southern isolates belong to one cluster and most of the northern isolates assort to another cluster. Principal coordinate analysis (PCO) approved these results, but separated three *P. brassicae* isolates from fields close to Greifswald. In this region field isolates were detected with virulence towards the resistant cultivar 'Mendel'.

Breeding of clubroot-resistant plants requires an understanding of pathogen diversity and the variation of pathogenicity in *P. brassicae* populations. Molecular markers specific to *P. brassicae* isolates may be an important tool in breeding strategies to develop durable clubroot resistance in oilseed rape.

14-5-Wolfarth, F.¹⁾; Schrader, S.¹⁾; Oldenburg, E.²⁾; Weinert, J.³⁾

¹⁾ Johann Heinrich von Thünen-Institut

²⁾ Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

³⁾ Landwirtschaftskammer Niedersachsen

Abbau von *Fusarium* Biomasse und Deoxynivalenol (DON) in Weizenstroh durch Nematoden und Collembolen in Abhängigkeit von der Bodentextur

Degradation of Fusarium biomass and deoxynivalenol in wheat straw by nematodes and collembolans depending on soil texture

In einem vierwöchigen Laborexperiment mit Schlüsselvertretern der Bodenfauna kamen die fungivore Collembolenart *Folsomia candida* und die fungivore Nematodenart *Aphelenchoides saprophilus* zum Einsatz. Der Untersuchung liegt die Hypothese zugrunde, dass die gewählten Bodentiere den Abbau von *Fusarium* und DON in Weizenstroh fördern und damit einen aktiven Beitrag zur Kontrolle eines pilzlichen phytopathogenen Schaderregers leisten.

In Minicontainern wurden die Tiere in verschiedener Anzahl und Kombination (Reinkultur und Mix) künstlich *Fusarium*-infiziertem und DON-kontaminiertem Weizenstroh ausgesetzt. In einem zweiten Ansatz wurde den Tieren Weizenstroh angeboten, welches nicht künstlich infiziert war. Außerdem existierte jeweils eine Kontrollvariante ohne Versuchstiere. Alle Minicontainer enthielten zusätzlich feuchten Boden getrennt nach unterschiedlicher Textur: Sand, Lehm oder Ton.

Nach zwei Wochen kam es in fast allen Varianten zunächst zu einem Anstieg der DON-Konzentration des infizierten Strohs. Nach vier Wochen allerdings waren die Konzentrationen in allen Varianten signifikant niedriger gegenüber der Startkonzentration. Der größte Abbau erfolgte in den gemischten Varianten (Collembolen und Nematoden). Die DON-Abbauraten im Stroh in Minicontainern mit Sand oder Lehm waren signifikant höher als in solchen mit Ton.

Aus den Ergebnissen lässt sich schließen, dass die eingesetzten Bodentiere den Abbau von DON fördern. Vor allem die Interaktion zwischen Collembolen und Nematoden erwies sich als entscheidend für die Reduzierung der DON-Konzentration in Weizenstroh. Demnach leisten die gewählten Versuchstiere einen wichtigen Beitrag zur Förderung der Bodengesundheit, insbesondere in Sand- und Lehmböden.

14-6 - Kumm, S.; Moritz, G.

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

***Wolbachia* in arrhenotoken Thripsarten**

Wolbachia in arrhenotokous thrips species

Thripse sind mit über 5500 Arten weltweit verbreitet. Einige Arten sind als Schaderreger im Agrar- und Zierpflanzenanbau bekannt. Schäden werden nicht nur durch die phytosuge und oftmals polyphage Lebensweise, sondern auch durch die Übertragung von Tospoviren verursacht. Tospoviren gehören zu den zehn gefährlichsten Pflanzenviren und sind innerhalb der Familie der Bunyaviridae die einzigen pflanzenpathogenen Vertreter. Bisher sind 14 Thysanopterenarten als Überträger von Tospoviren nachgewiesen (RILEY et. al., 2011).

Der Reproduktionsmechanismus der Thysanopteren beruht auf Haplodiploidie, wobei sich die Männchen aus haploiden und die Weibchen aus diploiden Eiern entwickeln. Die Mehrzahl der Arten vermehrt sich durch Arrhenotokie. Dabei entstehen aus unbefruchteten (haploiden) Eiern Männchen und aus befruchteten (diploiden) Eiern Weibchen. Einige Arten haben reine Weibchenpopulationen und vermehren sich durch Thelytokie. Dabei produzieren die Weibchen diploide Eier ohne Befruchtung. Wir konnten für die sich thelytok vermehrende Art, *Hercinothrips femoralis*, nachweisen, dass Bakterien der Gattung *Wolbachia* diese Reproduktionsform induzieren (KUMM und MORITZ, 2008). Wurden die infizierten Weibchen mit Antibiotika behandelt, so führte dies zur Entstehung von Männchen. Diese wiesen eine normale Spermatogenese auf. Sie waren in der Lage, sich mit den Weibchen zu paaren und die Spermatheka der Weibchen war mit Spermien gefüllt. Bisher ist es experimentell allerdings nicht gelungen, eine sich thelytok vermehrende *H. femoralis* Population in eine arrhenotoke umzuwandeln. *Wolbachien* verursachen neben der Induktion von Thelytokie verschiedene andere reproduktive Störungen in ihren Wirten, unter anderem „Male killing“, Feminisierung genetischer Männchen und cytoplasmatische Inkompatibilität. Cytoplasmatische Inkompatibilität ist das am weitesten verbreitete Phänomen, das durch *Wolbachien* verursacht wird (HOFFMANN and TURELLI, 1997). Dabei handelt es sich um eine Paarungsunverträglichkeit des männlichen Wirtes mit uninfizierten Weibchen.

Ein erweitertes Screening verschiedener Thysanopterenarten mittels verschiedener *Wolbachia*-spezifischer Primer ergab, dass auch einige arrhenotoke Arten (*Echinothrips americanus*, *Suocerathrips linguis*) mit

Wolbachien infiziert sind. Verschiedene Kreuzungsexperimente mit adulten *E. americanus* deuten darauf hin, dass *Wolbachia* cytoplasmatische Inkompatibilität bei dieser Art hervorruft. Dies wäre der erste Nachweis einer cytoplasmatischen Inkompatibilitäts-Induktion durch Bakterien bei Thripsen.

Es wurden Experimente mit verschiedenen Kreuzungen zwischen *Wolbachia*-infizierten und *Wolbachia*-freien Individuen durchgeführt. Nicht-infizierte Männchen und Weibchen wurden durch Antibiotika-Behandlung gewonnen. Wie bei cytoplasmatischer Inkompatibilität bei haplodiploiden Arten zu erwarten, war die Anzahl der Nachkommen in den Kreuzungen zwischen nicht-infizierten Weibchen und infizierten Männchen reduziert und zeigte ein deutlich Männchen-dominierendes Geschlechterverhältnis. Im Screening war weiterhin auffällig, dass Tospovirusvektoren nie positiv auf Wolbachien getestet wurden, so dass sich hier neue und interessante Forschungsansätze für den Pflanzenschutz ergeben.

Literatur

- HOFFMANN, A. A., TURELLI, M., 1997. Cytoplasmic incompatibility in insects. In *Influential passengers: inherited microorganisms and invertebrate reproduction* (ed. S. L. O'NEILL, A. A. HOFFMANN und J. H. WERREN), pp. 42-80. Oxford University Press.
- KUMM, S., MORITZ, G., 2008. First detection of *Wolbachia* in arrhenotokous thrips species (Thysanoptera: Thripidae and Phlaeothripidae) and its role in reproduction. *Environ. Entomol.* 37 (6): 1422-1428.
- RILEY, D. G., JOSEPH, S. V., SRINIVASAN, R., DIFFLE, S., 2011. Thrips vectors of tospoviruses. *Journal of Integrated Pest Management* 1 (2), 11-110.