

Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft

Zusammenfassungen der Arbeitskreisbeiträge



2008

Impressum

Redaktion: Dr. Falko Feldmann, Dr. Christian Carstensen

Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e. V.

Messeweg 11/12

D-38104 Braunschweig

Tel.: 0531 / 299-3213, Fax 0531 / 299-3019

E-mail: geschaeftsstelle@dpg.phytomedizin.org

www.phytomedizin.org

Inhalt

| | |
|--|----|
| AK Biologische Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten, 28.2.2008 | 1 |
| AK Mykologie, 13.03.2008..... | 8 |
| AK Nematologie, 14.02.2008 | 12 |
| AK Nutzarthropoden und Entomopathogene Nematoden, 08.12.2008 | 22 |
| AK Phytobakteriologie, 04.09.2008..... | 31 |
| AK Phytomedizin in Ackerbau und Grünland | |
| PG Krankheiten an Getreide, 11.02.2008 | 36 |
| PG Raps, 19.02.2008..... | 41 |
| PG Schädlinge in Getreide und Mais, 20.02.2008 | 42 |
| AK Phytomedizin in den Tropen und Subtropen, 07.10.2008 | 44 |
| AK Populationsdynamik und Epidemiologie, 06.03.2008..... | 58 |
| AK Viruskrankheiten der Pflanze, 27.03.2008 | 64 |
| AK Wirt-Parasit-Beziehungen, 13.03.2008 | 83 |

AK BIOLOGISCHE BEKÄMPFUNG VON PFLANZENKRANKHEITEN, 28.2.2008

PROJEKTVORSTELLUNG: STRATEGIEKOMBINATIONEN ZUR REGULIERUNG DES FALSCHEN MEHLTAUS AN GURKEN UNTER GLAS/ FOLIE

Andrea Nowak¹, Dr. Ute Gärber², Dr. Peggy Marx², Karin Bald¹, Dr. Annegret Schmitt¹

¹JKI Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen/Institut für biologischen
Pflanzenschutz, Heinrichstr. 243, D-64287 Darmstadt, Germany

²JKI Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen/Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und
Forst, Stahnsdorfer Damm 81, D-14532 Kleinmachnow, Germany

Contact: andrea.nowak@jki.bund.de

Die Infektion mit Falschem Mehltau (*Pseudoperonospora cubensis*) führt im ökologischen Gurkenanbau zu großen Ertragseinbußen. Bisher sind kupferhaltige Präparate die am häufigsten angewandten Mittel in der Bekämpfung dieser Pilzinfektion.

In dem Projekt ist die Erprobung unterschiedlicher Strategien und Strategiekombinationen geplant, um den Erreger mit nicht-chemischen Maßnahmen einzudämmen. Es werden verschiedene Gurkensorten auf ihre Toleranz beziehungsweise Resistenz gegen den Falschen Mehltau getestet, zudem wird der Einfluss der Klimaführung im Gewächshaus überprüft. Eine weitere mögliche Alternative zu Kupferpräparaten zu finden ist die Anwendung neuer biologischer Mittel aus Pflanzenextrakten und einem antagonistischen Mikroorganismus.

Die Versuche werden an getopften Pflanzen und unter Praxisbedingungen an mehreren Standorten in Deutschland durchgeführt, wobei der Schwerpunkt der Sortenversuche und der Untersuchungen zur Klimaführung beim JKI Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst liegt und der Schwerpunkt biologische Präparate beim JKI Institut für biologischen Pflanzenschutz.

Erste viel versprechende Ergebnisse aus den Sortenversuchen, den Versuchen zur Klimaführung und zur Wirksamkeit der biologischer Präparate liegen bereits vor. Die Praxisrelevanz wird mit Unterstützung von Bioland Beratung GmbH und der LVG Heidelberg geprüft.

WEINREBEN-ASSOZIIERTE MIKROORGANISMEN IN DER BIOLOGISCHEN KONTROLLE VON BOTRYTIS CINEREA

Florian Schmid, Gerit Moser, Gabriele Berg

Petersgasse 12, 8010 Graz, Österreich

Contact: florian.schmid@tugraz.at

Der Ascomycet *Botrytis cinerea* ist auf der einen Seite wichtig für die Herstellung von Süßweinen (Edelfäule), auf der anderen Seite richtet er durch die von ihm ausgelöste Grauschimmelfäule erheblichen Schaden an der Weinwirtschaft an. Aufgrund von auftretenden Resistenzen und aus ökologischen Überlegungen wächst das Interesse, neben den derzeit eingesetzten konventionellen und biologischen Fungiziden alternative, biologische Kontrollmöglichkeiten einsetzen zu können. Es wurden bereits eine Reihe von Mikroorganismen als potente Kontrollorganismen beschrieben und einige davon auch schon als solche eingesetzt.

Ziel dieser Arbeit ist es, weitere Mikroorganismen mit antagonistischer Wirkung gegen *Botrytis* aus dem natürlichen Lebensraum Weinrebe zu isolieren. Des Weiteren soll ein Einblick in die Ökologie der Weinreben-Assoziierten Mikroorganismen mit Hauptaugenmerk

auf die Antagonisten gegen *Botrytis* gegeben werden. In dieser Hinsicht konnten im Vergleich zwischen biologisch und konventionell kultivierten Weinreben erhebliche Unterschiede festgestellt werden. Welche Bedeutung nun diese Unterschiede für die Resistenz gegen Krankheiten und für die Anwendbarkeit von biologischen Kontrollorganismen haben, bleibt zu untersuchen.

UNTERSUCHUNG DER FUNKTIONELLEN UND STRUKTURELLEN DIVERSITÄT DER SKLEROTIEN-ASSOZIIERTEN MIKROORGANISMEN AN RHIZOCTONIA SOLANI KÜHN

Gass, Martina¹, Zachow, Christin¹, Grosch, Rita², Berg, Gabriele¹

¹Graz University of Technology, Institut für Umweltbiotechnologie, Petersgasse 12, 8010-Graz, Österreich

²IGZ, Theodor-Echtermeyer-Weg 1, 14979 Großbeeren, Deutschland

Contact: martinag@sbox.tugraz.at

Rhizoctonia solani, ein bodenbürtiges Pflanzenpathogen, ist für Ertragsverluste in einer Reihe ökonomisch wichtiger Kulturpflanzen verantwortlich. Da die effektive Kontrolle des Pathogens mit derzeit verfügbaren chemischen oder biologischen Mitteln nicht möglich ist, wurde eine neue Strategie zur Gewinnung effektiver biologischer Kontrollstämme entwickelt. Dazu wurden Sklerotien der Anastomose- Gruppe 1 in unterschiedlichen Erden inkubiert und die Sklerotien-assoziierten Mikroorganismen auf ihre strukturelle Zusammensetzung und antagonistischen Fähigkeiten hin untersucht. Die Sklerotien-assoziierten Pilz- und Bakterien-Gemeinschaften wurden durch Auftrennung von PCR Fragmenten der ribosomalen DNA, mit Hilfe der kultivierungsunabhängigen Methode des Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) analysiert. Die Untersuchung ergab, dass die Mikroorganismen-Population wesentlich durch die vorherrschenden Kulturbedingungen beeinflusst wurde. Daneben war eine Vereinheitlichung der Sklerotien-assoziierten Pilz- und Bakterien-Gemeinschaften mit zunehmender Inkubationsdauer in unterschiedlichen Erden erkennbar. Um Mikroorganismen näher zu charakterisieren, wurden 270 pilzliche und 141 bakterielle Isolate gewonnen, von denen 40 Bakterien (28,4%) und 12 Pilze (3,3%) antagonistische Aktivität gegen *R. solani* AG1 zeigten. Die Charakterisierung der Antagonisten umfasste die Beschreibung der antibiotischen Aktivität, die Untersuchung auf die Produktion von extrazellulären Enzymen (β -1,3-Glucanase, Chitinase und Protease) sowie die Produktion von Auxin. Ein repräsentativer Ausschnitt der antagonistischen Bakterien wurde durch Sequenzierung eines Teils der 16S rDNA identifiziert. Dabei wurden Stämme wie *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aurantiaca* und *Stenotrophomonas maltophilia* identifiziert.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIA ASSOCIATED TO LICHENS

Joao V de Castro Jr ¹, Henry Müller¹, Martin Grube², Massimiliano Cardinale², Gabriele Berg ¹

¹Institute of Environmental Biotechnology, Graz University of Technology, Petersgasse 12, Graz, STM, Austria

²Institute of Plant Sciences, University of Graz, Holteigasse 6, Graz, STM, Austria

Contact: joaovcj@hotmail.com

Bacteria associated to the lichens *Cladonia arbuscula*, *Umbilicaria cylindrica* and *Lecanora polytropa* were successfully isolated, cultured and characterized by using of selective culture

media and biochemical assays. The structural and functional diversity of these bacteria were done by using a combination of DNA-based analysis. The community DNA was isolated to obtain the structure of the bacterial communities by Single Strand Conformation Polymorphism analysis (SSCP). The presence of specific groups of bacteria was investigated; these results were obtained by the use of selected primers for *Pseudomonas*, *Burkholderia* and Alpha-proteobacteria. Dominant and unique bands were cutted out from the SSCP gels and sequenced to confirm the presence of Alpha-proteobacteria in lichens. Total of 263 bacteria were isolated and shared in groups according to profile based on 16S rDNA sequences (ARDRA) and it was selected one representant of each group to be sequenced. The assays carried out in culture media showed that some isolates are able to grow in absence of nitrogen, as well the production of some enzymes were also confirmed by the use of specific media. The capability to immobilize phosphate and production of siderophores was also detected by some microorganisms during the experiments. The presence of *Pseudomonas*, *Burkholdeira* and Alpha-proteobacteria were visualized among all the lichens tested. This study indicates that the thalli space of lichens contains a diverse, rich and very interesting population of bacteria and more studies should be conducted to understand much better the interaction and function of these bacteria in lichens.

UNTERSUCHUNGEN ZUR BEKÄMPFUNG DER SCHWARZFÄULE (GUIGNARDIA BIDWELLII) MIT MIKROORGANISMEN UND PFLANZENEXTRAKTEN

Koch, Eckhard¹, Weihrauch, Birgit¹, Ullrich, Cornelia I.¹, Enders, Melanie¹

¹JKI, Institut für biologischen Pflanzenschutz, Heinrichstr. 243, 64287 Darmstadt

Contact: eckhard.koch@jki.bund.de

Die Schwarzfäule der Rebe wird von dem Ascomyceten *Guignardia bidwellii* (Konidienstadium *Phyllosticta amelicida*) hervorgerufen. Die Krankheit, die in der Vergangenheit kaum in Erscheinung getreten war, führte in den Weinbaugebieten der Mosel im Jahre 2004 zu starken Ausfällen und tritt seither jährlich auf. Ziel eines BÖL-Projektes ist es, Fragen zur Biologie des Erregers zu klären und Maßnahmen zur Regulierung der Schwarzfäule im ökologischen Weinbau zu erarbeiten.

In histologischen Untersuchungen wurde beobachtet, dass die Sporen des Pilzes auf hydrophoben Oberflächen mit einem Keimschlauch auskeimen und Appressorien bilden. Konidiosporen und Ascosporen verhalten sich gleich. Aus den Appressorien treten Infektionshyphen aus, die sich subkutikulär über den antiklinalen Zellwänden ausbreiten und ein dichtes Myzelnetz bilden. In dieser Hinsicht weist die Schwarzfäule eine große Ähnlichkeit mit dem Apfelschorf auf.

In Laborversuchen wurden Bakterien und filamentöse Pilze in Schüttelkulturen angezogen, und die Kulturfiltrate in Konzentrationen von 1% und 10% in Agarmedien eingearbeitet. Bei der Konzentration von 1% wurde nur in wenigen Fällen eine Hemmung des Myzelwachstums beobachtet. In Versuchen an Topfreben hatten die 1%igen Kulturfiltrate nur eine ungenügende Wirksamkeit gegen die Schwarzfäule. Pflanzenversuche mit Suspensionen von Bakterienzellen oder Pilzsporen brachten ebenfalls unbefriedigende Ergebnisse. Eine vergleichsweise gute Wirkung hatte das *B. subtilis*-Präparat Serenade.

Bessere Ergebnisse als mit den Mikroorganismen wurden mit Pflanzenextrakten erzielt. Insgesamt wurden 27 ethanolische Pflanzenextrakte mit der Konzentration von 5% an Topfreben getestet. Dabei erwiesen sich insbesondere die Extrakte aus saponinhaltigen Pflanzen als sehr potent. Beispielsweise waren ethanolische und Wasser-Extrakte aus Primelwurzel noch bei der geringen Konzentration von 0,5% sehr gut wirksam. In einem

Versuch, bei dem verschiedene Pilze auf Primelwurzelextrakt-haltigen Nährböden kultiviert wurden, stieg die Empfindlichkeit in der Reihenfolge *Pythium ultimum* < *Rhizoctonia solani* < *Phoma valerianellae* < *Ascochyta pinodes* < *P. amelicida* an. Gute Ergebnisse wurden auch mit verschiedenen saponinhaltigen Extrakten der dänischen Firma Nor-Natur erhalten (z.B. Norponin, Quinoa, Nor-Spice Te). In der Vegetationsperiode 2007 wurden die Präparate Norponin und Nor-Spice Te im Freilandversuch getestet. Bei sehr starkem Befallsdruck in der Rebanlage wurde der Schwarzfäulebefall von diesen Präparaten nur ungenügend reduziert. Es wird vermutet, dass dieses Ergebnis mit der hohen Wasserlöslichkeit der Saponine zusammenhängt.

MIKROORGANISMEN AN WEIN: ANALYSE DER DIVERSITÄT UND AROMAPRODUKTION

Markus Verginer¹, Erich Leitner², Gabriele Berg¹

¹TU Graz, Institut für Umweltbiotechnologie, Petersgasse 12, 8010 Graz, Österreich

²Institut für Lebensmittelchemie und -technologie, Petersgasse 12, 8010 Graz, Österreich

Contact: markus.verginer@tugraz.at

Weine können in Abhängigkeit von der geographischen Lage ihres Anbaugebietes ein standortspezifisches Aromaprofil ausbilden, welches von erfahrenen Sommeliers eindeutig erkannt und zugeordnet werden kann. Bis heute existieren eine Reihe von Ansätzen, die das so genannte „Terroir“ zu erklären versuchen; ein eindeutiger wissenschaftlicher Nachweis der wesentlichen einflussgebenden Parameter ist jedoch noch nicht gelungen. Ziel der vorgestellten Arbeit war es, festzustellen, ob sich an den Früchten der Weinrebe *Vitis vinifera* standortspezifische Mikroorganismenpopulationen ausbilden, die durch ihre Produktion an Primär- und Sekundärmetaboliten in der Lage sind den lagespezifischen Charakter eines Weines zu prägen. Dazu wurden vier verschiedene Weinberge im Burgenland (Österreich), in denen die für diese Region typische Rotweinsorte Blaufränkisch angebaut wurde, beprobt. Neben kultivierungsabhängigen und -unabhängigen Untersuchungen zur Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulationen auf den Weintrauben wurden ein Verfahren zur Erfassung und Analyse der von den Mikroorganismen produzierten flüchtigen organischen Substanzen entwickelt. Dazu wurden sowohl Einzelisolate als auch Mischkulturen in GC-Probenröhrchen angezüchtet und der überstehende Gasraum anschließend durch HS-SPME-GC-MS untersucht. Die mikrobiologische Untersuchungen der Weintrauben ergaben eine unerwartet hohe Variabilität der Populationszusammensetzungen bereits innerhalb eines einzelnen Weinberges. Neben einigen Leitorganismen wurde eine Vielzahl von Mikroorganismen entdeckt, die nur in einzelnen Traubenproben nachgewiesen werden konnten. Durch die gaschromatographische Untersuchung von 127 Einzelisolaten konnte nachgewiesen werden, dass die Aromaprofile von Bakterien, Pilzen und Hefen jeweils signifikante Ähnlichkeiten zueinander aufwiesen und bei der statistischen Datenauswertung charakteristische Gruppen bilden. Bei der detaillierten Analyse der Aromaprofile einiger repräsentativer Mikroorganismen konnten zahlreiche Verbindungen identifiziert werden, die bereits aus Wein isoliert wurden bzw. die als aromabestimmend für Blaufränkisch gelten.

UNTERSUCHUNGEN ZUM WIRKMECHANISMUS UND ZUR WURZELBESIEDLUNG VON PSEUDOMONAS TRIVIALIS 3RE2-7 ALS BASIS FÜR DIE ENTWICKLUNG EINES BIOLOGISCHEN BODENHILFSSTOFFES

Müller, Henry¹, Zitzenbacher, Sabine¹, Cardinale, Massimiliano², Vogt, Wolfgang³, Berg, Gabriele⁴

¹Technische Universität Graz, Institut für Umweltbiotechnologie, Petersgasse 12, 8010 Graz, Österreich

²Karl-Franzens Universität Graz, Institut für Pflanzenwissenschaften, Holteigasse 6, 8010 Graz, Österreich

³Sourcon Padena GmbH&Co.KG, Hechinger Str. 262, 72072 Tübingen, Deutschland

⁴eTechnische Universität Graz, Institut für Umweltbiotechnologie, Petersgasse 12, 8010 Graz, Österreich

Contact: henry.mueller@tugraz.at

Die in Europa durch *Rhizoctonia solani* verursachten Schäden im Anbau vieler Kulturpflanzen sind von großer ökonomischer Relevanz, so dass die Entwicklung von Maßnahmen zur Kontrolle des phytopathogenen Pilzes von zentraler Bedeutung ist. Die biologische Bekämpfung von *R. solani* stellt aufgrund des speziellen Lebenszyklus und der Persistenz im Boden eine bedeutsame Alternative zum konventionellen Pflanzenschutz dar. Das aus der Endorhiza der Kartoffel stammende Bakterium *Pseudomonas trivialis* 3Re2-7 zeigte unter Feldbedingungen eine positive Wirkung auf das Wachstum sowie die Gesundheit von Kartoffel- und Gurkenpflanzen sowie Feldsalat. Im Rahmen der Kommerzialisierung durch die Sourcon Padena GmbH&Co.KG wurden erweiterte Studien an 3Re2-7 durchgeführt, die als Grundlage für die breite Anwendung des Isolates als Bodenhilfsstoff dienen. Bakterienzellen von 3Re2-7 waren fähig, den gesamten Wurzelbereich von *Rhizoctonia*-Wirtspflanzen, wie Radieschen, Zuckerrübe, Blumenkohl und Feldsalat, zu besiedeln. Auf Fluoreszenz basierende mikroskopische Aufnahmen zeigten eine Besiedlung insbesondere im oberen Drittel der Hauptwurzel in Form von Mikrokolonien. Auch unter kontrollierten, kompetitiven Bedingungen, also in Gegenwart anderer besiedlungsstarker Pseudomonaden, und in salinen Böden wurde die Rhizosphärenkompetenz bestätigt. Weiterhin belegten Studien zur Pflanzenwachstums-fördernden Wirkung von *P. trivialis* die Exsudation des Phytohormons Indol-3-Essigsäure *ad planta*.

CHARAKTERISIERUNG MIKROBIELLER ANTAGONISTEN GEGEN DEN PHYTOPATHOGENEN PILZ GAEUMANNOMYCES GRAMINIS VAR. TRITICI

Schreiner, Karin¹, Alexandra Hagn¹, Philippe Schmitt-Kopplin², Moritz Frommberger², Michael Schloter¹

¹Helmholtz Zentrum München, Institut für Bodenökologie, Ingolstädter Landstrasse 1, 85764 Neuherberg, Deutschland

²Helmholtz Zentrum München, Institut für Ökologische Chemie, Ingolstädter Landstrasse 1, 85764 Neuherberg, Deutschland

Contact: karin.schreiner@helmholtz-muenchen.de

Die durch den bodenbürtigen phytopathogenen Pilz *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (*Ggt*) hervorgerufene Schwarzbeinigkeit kann durch Monokultur der anfälligen Getreidearten eingedämmt werden. Normalerweise kommt es dabei während der ersten Vegetationsperioden zu einem starken Krankheitsausbruch, dem jedoch ein plötzlicher Rückgang des Befalls folgt, der sogenannte „Take-all Decline“ (TAD). Es wird spekuliert, dass diese natürliche

Biokontrolle auf der Entwicklung von Populationen antagonistischer Bodenmikroorganismen beruht.

In einem Gewächshausversuch wurde Sommergerste (*Hordeum vulgare*) unter Pathogendruck in Monokultur angebaut, um die Entwicklung eines *Ggt*-suppressiven Bodens zu stimulieren. Im Rahmen von sechs unmittelbar aufeinander folgenden Vegetationsperioden konnte ein stabiles TAD-Stadium etabliert werden. Mittels molekularbiologischer Fingerprints wurde gezeigt, dass die Struktur der bakteriellen Rhizosphärengemeinschaft während der TAD-Entwicklung massiven Veränderungen unterlag, die mit der Herausbildung spezifischer antagonistischer Populationen einhergingen. Multivariate Analysen legten die Vermutung nahe, dass die Pflanze die Schlüsselrolle bei der Selektion dieser Gemeinschaft spielt, dass aber die Induktion der antagonistischen Gene durch den Pathogenangriff erfolgt.

Während der ersten Vegetationsperiode wurden aus Rhizosphärenproben 180 bakterielle Isolate gewonnen, die bei *in vitro* Konfrontationstests das Wachstum von *Ggt* inhibierten. Phylogenetisch zählten die meisten dieser Antagonisten zu den Gattungen *Bacillus* und *Pseudomonas*. Unter Verwendung hochauflösender FTICR-Massenspektrometrie wurden die *Ggt*-inhibierenden Metaboliten je eines *Pseudomonas*- bzw. *Bacillus*-Stammes, die besonders starken Antagonismus zeigten, als zyklische Lipopeptide identifiziert. Das analysierte Isolat von *Bacillus subtilis* produzierte wie erwartet große Mengen des zyklischen Lipopeptids Surfactin. Obwohl die antagonistische Wirkung von Pseudomonaden im Allgemeinen auf 2,4-Diacetylphloroglucinol zurückgeführt wird, wurden auch für das *Pseudomonas*-Isolat zyklische Lipopeptide (Tensin und Amphisin) als die aktiven Komponenten identifiziert.

Die Studie zeigt, dass landwirtschaftlich genutzte Böden zahlreiche natürlich vorkommende mikrobielle Antagonisten phytopathogener Pilze beherbergen. Die Aufklärung komplexer Interaktionen in der Rhizosphäre führt zu einem besseren Verständnis der Pathogen-Suppressivität bestimmter Böden und eröffnet neue Wege, sie als Teil einer nachhaltigen Landwirtschaft auszuschöpfen.

ANALYSE DER BESIEDLUNGSMUSTER VON MIKROBIELLEN RHIZOCTONIA-ANTAGONISTEN AN ZUCKERRÜBENKEIMLINGEN

Zachow, Christin¹, Fatehi, Jamshid², Cardinale, Massimiliano³, Tilcher, Ralf⁴, Berg, Gabriele¹

¹*Technische Universität Graz, Institut für Umweltbiotechnologie, Petersgasse 12, A-8010 Graz, Österreich*

²*Mase laboratories AB, Bäcklösavägen 1, 756 51 Uppsala, Schweden*

³*Institut für Pflanzenwissenschaften, Karl-Franzens-Universität Graz, Holteigasse 6, 8010 Graz, Austria*

⁴*KWS SAAT AG, Grimsehlstraße 31, 37555 Einbeck, Deutschland*

Contact: christin.zachow@tugraz.at

Rhizoctonia solani KÜHN ist eines der wichtigsten bodenbürtigen Pathogene, das für Krankheiten an über 500 Pflanzen verantwortlich ist – darunter befinden sich viele landwirtschaftliche Nutzpflanzen. Für eine effektive Strategie zur biologischen Kontrolle des Pathogens *Rhizoctonia solani* AG2-2 (Anastomosegruppe AG, verantwortlich für die Späte Rübenfäule) ist die Kenntnis über die Fähigkeit der Antagonisten, die Wurzel zu kolonisieren nötig. In dieser Studie wurden effektive Werkzeuge zur Untersuchung der Besiedlung von Zuckerrübenkeimlingen durch bakterielle Antagonisten entwickelt. Durch die Integration des Plasmids pME6031 mit einem Genabschnitt für das fluoreszierende Dsred2-Protein und einer Tetracyclinresistenz in drei Antagonisten konnte, unter Zuhilfenahme der konfokalen Fluoreszenzmikroskopie, die Besiedlung der Mikroorganismen visualisiert werden. Dadurch

sollten die besten Kandidaten für einen Einsatz in der biologischen Kontrolle selektiert werden. Ein weiterer natürlicher Gegenspieler von *R. solani*, der aus der Zuckerrübenrhizosphäre isoliert wurde, ist der Pilz *Trichoderma gamsii*. Dieser Stamm wurde mit einem grün-fluoreszierenden Protein (GFP) transformiert.

Die mit den Transformanten inokulierten Zuckerrübensamen wurden in unterschiedliche Medien gesetzt (Keimtaschen, Wasseragar, sterile und unsterile Erde). Nach sieben Tagen wurden die Zuckerrübenkeimlinge zu Detektionszwecken geerntet und mittels der Epifluoreszenz- sowie der konfokalen Lasermikroskopie zur Sichtbarmachung von Dsred2 analysiert. Die markierten Bakterien konnten in allen Substraten an der Pflanzenwurzel lokalisiert werden. Die beste Wurzeladhärenz zeigte ein *Pseudomonas*-Endophyt. Dieser kolonisierte die Wurzeloberfläche in einer hohen Dichte, besonders die Zellgrenzen, die Verzweigungsstellen der Seitenwurzeln sowie Wurzel-umgebende Bodenpartikel. Ein *Pseudomonas*-Stamm bildete auf der Wurzeloberfläche Kolonien, ein *Serratia*-Stamm zeigte eine dichte Oberflächenbesiedlung. In weiteren Versuchen sollen die Interaktionen zwischen den bakteriellen Antagonisten und dem markierten *Trichoderma*-Stamm analysiert werden.

3 Study Group 'Mycology' 2008

Auftreten unterschiedlicher *Fusarium*-Spezies in Zuckerrüben

Daniela Christ, Elke Nitschke, Mark Varrelmann

Institut für Zuckerrübenforschung, Holtenser Landstr. 77,
37079 Göttingen, Deutschland
christ@ifz-goettingen.de

Phytopathogene *Fusarium*-Spezies spielen vor allem in Weizen- und Maiskulturen eine bedeutende Rolle. In den USA und Teilen Europas wurden jedoch auch deutliche Schäden im Zuckerrübenanbau beobachtet. In Deutschland sind derartige Symptome bisher noch nicht aufgetreten. Aufgrund von Freiland-Erhebungen besteht jedoch der Verdacht, dass es zu einem wirtspflanzenübergreifenden Befall in Weizen-Zuckerrübenfruchtfolgen kommen könnte. Derzeit gibt es noch keine Untersuchungen zum Artenspektrum von *Fusarium* in Zuckerrüben in Deutschland. Im Rahmen eines vom Forschungsverbund Agrar- und Ernährungswissenschaften Niedersachsen (FAEN) geförderten Projekts werden z. Zt. die Fusarieninfektion von Zuckerrüben in Niedersachsen und eine eventuelle Mykotoxinkontamination des Ernteguts untersucht.

Basierend auf einem mehrjährigen Feldversuch an zwei Standorten im Norden Göttingens wurden *Fusarium* spp. aus Zuckerrüben isoliert und sowohl morphologisch als auch DNAbasiert durch EF1 α -PCR mit anschließendem Restriktionsverdau identifiziert. Aus erntefrischen Rüben konnten 2006 am häufigsten *F. redolens* und *F. equiseti* isoliert werden. Da Zuckerrüben vor der Verarbeitung über längere Zeit gelagert werden, wurde zudem der Einfluss der Lagerdauer untersucht. Während der Lagerung lässt sich tendenziell eine Verschiebung zu einem verstärkten Befall mit *F. culmorum* erkennen. Die im Getreide hauptsächlich pathogene Art *F. graminearum* konnte über alle Behandlungsstufen hinweg nur in einem sehr geringen Prozentsatz isoliert werden.

Untersuchungen zur Sporangien-Entwicklung und zur Zellkernsituation während der Sporulation von *Plasmopara halstedii*, dem Erreger des Falschen Mehltaus der Sonnenblume

Timo R. Hammer, Otmar Spring

Universität Hohenheim, Institut für Botanik, Garbenstr. 30,
70599 Stuttgart, Deutschland
Contact: t-hammer@uni-hohenheim.de

Die Verbreitung von *Plasmopara halstedii* erfolgt über ausdauernde Oosporen und asexuell gebildete Sporangien. Die Sporangien werden an den Enden verzweigter Sporangienträgern gebildet, die aus den Stomata der Wirtspflanze heraus geschoben werden. Bisher ist nur wenig über die Entwicklungsprozesse und die Zellkernsituation während der Sporulation von *P. halstedii* bekannt. Für viele Untersuchungen werden jedoch genetisch homogene Stämme des Pathogens benötigt. Dafür ist entscheidend zu wissen, ob diese aus Einzel-Sporangien-Infektionen gewonnen werden können oder ob die im Sporangium differenzierten Zoosporen einen heterokaryotischen Ursprung haben.

In dieser Studie wurden deshalb die Sporulation selbst und vor allem die Anordnung und Zahl der Zellkerne während der einzelnen Phasen der Sporangien-Entwicklung bei *P. halstedii* untersucht. Der Zeitrahmen der einzelnen Sporulationsphasen der wurde rasterelektronenmikroskopisch bestimmt. Mit Hilfe von Fluoreszenzmikroskopie wurden dann die Verteilung der Zellkerne und die Ausbildung von Septen während der verschiedenen Sporulationsphasen des Pathogens überprüft.

Der Eukalyptusrost *Puccinia psidii* – molekulare Marker, phylogenetische Position und Gefährdungspotential natürlicher Ökosysteme

Molecular markers for the identification of the Eucalyptus rust, *Puccinia psidii*, reveal a surprising phylogenetic placement

Wolfgang Maier¹, Marlien Van der Merwe², Brenda D. Wingfield³, Carlos Perez⁴, Shaobin Zhong⁵, Robert A. Blanchette⁶, Michael J. Wingfield³

- 1 Universität Bochum, AG Geobotanik, Universitätsstraße 150, 44801 Bochum, Deutschland
- 2 School of Botany and Zoology, Building 116, Daley Rd, Australian National University, Canberra ACT 0200, Australia
- 3 Department of Genetics, Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI), DST/NRF Centre of Excellence in Tree Health Biotechnology (CTHB), University of Pretoria, Pretoria 0002, South Africa
- 4 Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Ruta 3 km 363, Paysandú, Uruguay
- 5 Department of Plant Pathology, North Dakota State University, Fargo, ND 58105, USA
- 6 Department of Plant Pathology, 1991 Upper Buford Circle, 495 Borlaug Hall, University of Minnesota, Saint Paul, MN 55108-6030, USA
wolfgang.maier@rub.de

Der Eukalyptus- oder Guavenrost *Puccinia psidii* befällt viele Vertreter der Myrtaceae. Dies betrifft sowohl Myrtaceen, die in seinem (wahrscheinlichen) Ursprungsgebiet in Südamerika vorkommen als auch solche, die zuvor noch nie mit ihm in Kontakt getreten waren wie z.B. in der südamerikanischen Forstindustrie verwendete australische Eukalyptusarten oder die die natürlichen Wälder Hawaiis dominierenden *Metrosideros*-Bäume. Wegen dieses enorm breiten Wirtsspektrums und den großen Schäden, die *P. psidii* vor allem an Jungpflanzen verursacht, gilt er nicht nur in Australien als einer der wichtigsten pflanzenpathogenen Quarantäneschadorganismen. Um diesen Pflanzenpathogen auch mit molekularsystematischen Markern detektieren zu können, sequenzierten wir zwei ribosomale Genregionen (ITS, LSU) und zwei proteinkodierende „single-copy“ Gene (EF1 α und β -tub). Diese Marker können somit in Zukunft für diagnostische Zwecke in der Quarantäne-Diagnostik verwendet werden. Außerdem kann mit ihrer Hilfe nach möglicherweise vorhandenen kryptischen Taxa innerhalb *P. psidii*s gefahndet werden und sie können auch einen erheblichen Beitrag zur definitiven Aufklärung des Lebenszyklus dieses Rostpilzes liefern. Überraschenderweise war *P. psidii* in unseren phylogenetischen Studien nie Teil der ansonsten monophyletischen *Puccinia*-/*Uromyces*-Gruppe. Dies deutet darauf hin, dass der Guavenrost möglicherweise zu einer anderen Rostgattung gehört.

Vegetative Kompatibilität zwischen Isolaten von *Verticillium dahliae* aus Ziergehölzen

Christian Neubauer, Christian Vogel, Benedikt Heitmann

Fachhochschule Osnabrück, Fachgebiet Phytomedizin,
Oldenburger Landstr. 24, 49090 Osnabrück
c.neubauer@fh-osnabrueck.de

Verticillium dahliae gilt als bedeutender Schaderreger in der Produktion von Ziergehölzen. Die nicht vorhandene Fähigkeit zur sexuellen Fortpflanzung wird durch Bildung von Anastomosen zwischen genetisch unterschiedlichen und kompatiblen Myzelien ausgeglichen, in deren Folge jeweils eine Zelle mit zwei verschiedenen Kernen, ein sog. Heterokaryon, hervorgeht. Innerhalb der Art *V. dahliae* werden weltweit sechs verschiedene Vegetative Kompatibilitätsgruppen (VCG) differenziert. Die Isolate einer Gruppe sind untereinander zur Anastomose- bzw. Heterokaryon-Bildung in der Lage, teilen einen gemeinsamen Genpool und zeichnen sich durch bestimmte Virulenzeigenschaften aus. Die Zugehörigkeit eines Isolates zu einer VCG wird über die Kreuzung komplementärer „nitrate non-utilizing“ (nit)-Mutanten verschiedener Isolate bestimmt, die bei vorhandener Kompatibilität sich in einer Heterokaryon-Bildung und Wildtypwachstum ausdrückt.

Im Rahmen eines Forschungsprojektes wurden aus Ziergehölzen 34 Isolate von *V. dahliae* isoliert und auf ihre vegetative Kompatibilität untersucht. Von den Einspor-Isolaten wurden zunächst verschiedene nit-Mutanten gewonnen, die miteinander gekreuzt wurden. Die Isolate konnten hierbei in zwei VCG's unterteilt werden. Isolate dieser beiden Gruppen wurden mit international verwendeten Referenzisolaten gekreuzt und den VCG's 2B und 4B zugeordnet. Mit der Zugehörigkeit zu einer VCG waren morphologische Merkmale korreliert. Die Isolate der VCG 4B wiesen Konidien mit einer durchschnittlichen Länge von 4,30 µm auf, während die Konidien der Isolate der VCG 2B mit einer durchschnittlichen Länge von 3,75 µm signifikant kleiner waren. Alle Isolate wurden hinsichtlich ihrer Virulenz an verschiedenen Ziergehölzen geprüft. Korrelationen zwischen der VCG der Isolate und ihren Virulenzeigenschaften werden diskutiert.

Bislang unbekannte Biodiversität der auf Brassicaceen parasitierenden Gattung *Albugo*

Sebastian Ploch, Marco Thines

Universität Hohenheim, Institut für Botanik(210),
Garbenstr. 30, D-70599 Stuttgart
thines@uni-hohenheim.de

Die obligat biotrophen Weißrosterreger der Ordnung Albuginales sind Pathogene zahlreicher Asteraceen, Amaranthaceen und Brassicaceen. Darunter befinden sich auch diverse Nutzpflanzen, wie Sonnenblume (*Helianthus annuus*), Senf (*Brassica juncea*), Portulak (*Portulaca oleracea*) und Amaranth (*Amaranthus tricolor*). Trotz der ökonomischen Bedeutung ist immer noch recht wenig über die verwandtschaftlichen Beziehungen dieser Krankheitserreger bekannt. Bisher ging man stets davon aus, dass die Spezies dieser Erreger ein weites Wirtsspektrum haben und zahlreiche Gattungen befallen. Neuere Untersuchungen legen jedoch nahe, dass innerhalb von *Albugo* auf Brassicaceen mehrere Arten existieren (VOGLMAYR and RIETHMÜLLER 2006, CHOI et al. 2007).

Für molekularphylogenetische Untersuchungen dieses Sachverhaltes wurde die *cox2*-Region von 63 Individuen der Gattung *Albugo*, darunter 12 auf *Cardamine*, sequenziert. *Wilsoniana* und *Pustula* Spezies dienten als Außengruppen. Die molekularphylogenetische Rekonstruktion zeigt neben einem großen Cluster, der die Individuen von *Albugo candida* verschiedener Wirte enthält, eine Schwestergruppe, welche die zwei anerkannten Arten *Albugo lepidii* und *Albugo koreana* sowie alle auf *Cardamine* untersuchten Weißroste beinhaltet. Durch das Bootstrapping in hohem Maße gestützt, trennen sich die Pathogene auf *Cardamine* in drei verschiedene Cluster und zeigen sich auch von den beiden anderen Spezies

A. lepidii und *A. koreana* deutlich separiert. Ein Cluster wird durch den Weißrosterreger der nordamerikanischen Art *Cardamine diphylla* gebildet; ein weiterer beinhaltet die Weißrostpathogene auf *C. hirsuta* und *C. pennsylvanica*. Der dritte Cluster wird von Pathogenen auf *C. pratense*, *C. matthioli*, *C. amara* und *C. bulbosa* gebildet.

Die eindeutige Abgrenzung zu den anderen gut abgesicherten *Albugo*-Arten und die Aufgliederung in drei Gruppen lässt den Schluss zu, dass es sich bei den auf *Cardamine* vorkommenden Weißrosten um drei distinkte Arten handelt. Um diese Arten taxonomisch korrekt beschreiben zu können, sind jedoch eingehende mikroskopische Untersuchungen erforderlich. Es ist vor dem Hintergrund der bislang aufgedeckten Diversität damit zu rechnen, dass zahlreiche weitere Arten innerhalb der Weißrosterreger auf Brassicaceen existieren, die bislang unentdeckt blieben.

References

- VOGLMAYR, H., A. RIETHMÜLLER, 2006: Phylogenetic relationships of *Albugo* species (white blister rusts) based on LSU rDNA sequence and oospore data. *Mycological Research* 110: 75-76.
CHOI, Y.-J., H.-D. SHIN, S.-B. HONG, M. THINES, 2007: Morphological and molecular discrimination among *Albugo candida* materials infecting *Capsella bursa-pastoris* worldwide. *Fungal Diversity* 27: 11-34.

Aufspaltung von *Bremia lactucae* in mehrere Arten

Fabian Runge¹, Marco Thines²

- 1 Universität Hohenheim, Institut für Botanik, Garbenstraße 30, 70593 Stuttgart-Hohenheim, Deutschland
- 2 Universität Hohenheim, Institut für Botanik, Garbenstraße 30, 70593 Stuttgart-Hohenheim, Deutschland
thines@uni-hohenheim.de

Bremia lactucae ist ein wichtiges Pathogen an Salat. Bisher wurde davon ausgegangen, dass es sich bei diesem Pathogen um eine einzige Art handelt, die mehrere Dutzend weitere Asteraceen befällt. VOGLMAYR et al. (2004) haben jedoch bei phylogenetischen Untersuchungen festgestellt, dass der *Br. lactucae* Komplex eine deutliche Heterogenität aufweist und es sich somit um mehrere nah verwandte Arten handeln könnte. Um dies genauer zu untersuchen wurde mit dem Primerpaar LR0 und DC6 die ITS Region der ribosomalen DNA (rDNA) Untereinheit amplifiziert. Die Variabilität der Fragmentgrößen der ITS-PCR, die durch Insertionen in der ITS2 Sequenz bedingt ist (THINES, 2007) war ähnlich groß, wie dies bei den *Plasmopara*-Arten beobachtet wurde. Während bei diesen die Fragmentgrößen zwischen 900bp und 3200bp liegen, wurden bei *Bremia* Fragmentgrößen im Bereich von ca. 1700bp bis 2900bp festgestellt.

Es zeigte sich, dass *Bremia*-Isolate von *Lactuca sativa*, *Carlina acaulis*, *Sonchus oleraceus*, *Leontodon hispidus* und *Cirsium arvensis* Fragmentgrößen von ca. 2500bp aufwiesen. *Bremia*-Isolate von *Senecio vulgaris* zeigten sogar Fragmentgrößen von ca. 2900bp. Im Gegensatz dazu zeigten *Bremia*-Isolate auf *Helichrysum* sp., *Arctium* sp. und *Centaurea jacea* ca. 2300bp große Amplifikate und *Bremia* auf *Taraxacum officinale* nur ca. 1700bp.

Angesichts der deutlichen Fragmentlängenunterschiede und der Heterogenität bei molekularphylogenetischen Untersuchungen, ist es wahrscheinlich gerechtfertigt, die Falschen Mehлтаupilze der Cichorioideae als einen Artkomplex aus zahlreichen unterschiedlichen Spezies anzusehen.

References

- THINES, M., 2007: Characterisation and phylogeny of repeated elements giving rise to exceptional length of ITS2 in several

downy mildew genera (Peronosporaceae). Fungal Genetics and Biology, 44: 199-207.

VOGLMAYR, H., A. RIETHMÜLLER, M. GÖKER, M. WEISS, F. OBERWINKLER, 2004: Phylogenetic relationships of *Plasmopara*, *Bremia* and other genera of downy mildew pathogens with pyriform haustoria based on Bayesian analysis of partial LSU rDNA sequence data. Mycological Research 108: 1011-1024.

Rekonstruktion der Phylogenie von *Sclerophthora*, einem auf Gräsern parasitierenden Oomyceten

Sabine Telle, Marco Thines

Universität Hohenheim, Institut für Botanik 210,
Garbenstrasse 30, D-70599 Stuttgart
sabine.telle@uni-hohenheim.de

Auf Gräsern parasitierende Falsche Mehlaupilze sind in tropischen und subtropischen Regionen bedeutsame Nutzpflanzenpathogene. Die Gattung *Sclerophthora*, mit der einzigen anerkannten Art *S. macrospora*, parasitiert zahlreiche Wild- und Nutzgräser, darunter auch wichtige Getreide wie *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Oryza*, *Secale*, *Triticosecale* und *Avena*. Das weite Wirtsspektrum von *Sclerophthora* wirft die Frage auf, ob sämtliche Isolate des Pathogens alle Wirtspflanzen parasitieren können und somit Ackerunkräuter und Wiesengräser als ein mögliches Reservoir für die Infektion der Kultur- und Ackerpflanzen dienen könnten.

Mit Hilfe molekularphylogenetischer Untersuchungen ist es möglich, die Verwandtschaftsverhältnisse dieses Komplexes näher zu untersuchen. Für die entsprechenden Analysen wurde eine Region der mtDNA untersucht (cox2), da diese auch für die Untersuchung historischer Herbarbelege genutzt werden kann, was das Spektrum der nutzbaren Belegen deutlich erweitert.

Die untersuchten *Sclerophthora*-Belege bilden ein Monophylum. Dieses gliedert sich nicht zu den Saprolegniomycetidae sondern zu den Peronosporomycetidae mit hoher Affinität zu den Peronosporaceae wie schon von THINES et al. (2008) gezeigt. Zudem weisen die *Sclerophthora*-Isolate eine lange unabhängige evolutive Vergangenheit auf, was aus der großen Astlänge ableitbar ist. Die phylogenetische Berechnung zeigt eine Aufspaltung in vier getrennte Cluster. Die *Sclerophthora*-Isolate von *Triticum* und *Phalaris* sind in mehreren Clustern zusammen mit zahlreichen weiteren Wirten zu finden. Dies stützt die These, dass die Verbreitung des Pathogens möglicherweise über Artgrenzen hinaus möglich ist. Andererseits sind die vier *Sclerophthora*-Isolate von *Sorghum* nur in einem Cluster vertreten. Das widerspricht in Teilen der These des weiten Wirtsspektrums. Die cox2-DNA-Region, die der phylogenetischen Berechnung zu Grunde liegt, zeigt jedoch nur wenige Substitutionen, weshalb möglicherweise vorhandene Pathovarietäten bislang nicht aufgelöst werden können. Die Verwendung variablerer DANN-Regionen und die Untersuchung weiterer Pathogen- und Wirtsarten wird hier weitergehende Schlussfolgerungen zulassen.

References

THINES, M., M. GÖKER, S. TELLE, M. RYLEY, K. MATHUR, Y.D. NARAYANA, O. SPRING, R.P. THAKUR, 2008: Phylogenetic relationships of graminicolous downy mildews based on cox2 sequence data. Mycological Research 112: 345-351.

Phytophthora hibernalis an Rosen

Roswitha Ulrich

RP-Giessen, „Pflanzenschutzdienst Hessen“ Botanische Diagnostik, Schanzenfeldstrasse 8, 25578 Wetzlar
roswitha.ulrich@rpgi.hessen.de

Ende März/Anfang April 2007 wurden an Containerrosen der Sorte „Chevy Chase“ die im Freiland unter einer Plane überwintert wurden Schäden beobachtet. Die Pflanzen zeigten blauviolett-schwarze, stängelumfassende Läsionen an der Rinde der Triebe. Die 1 bis 5 cm langen, etwas eingesunkenen Befallsstellen waren in verschiedenen Höhen z.B. an der Basis, in 7 cm Höhe und in 30 cm Höhe an den Rosen zu finden, wobei sich die Läsionen scharf zum gesunden Gewebe hin abgrenzten. Nach dem Anschnitt der verfärbten Rinde wurde darunter eine hellbraune Verfärbung sichtbar, die jedoch nicht weit in das Innere des Rosentriebes hineinreichte. Das innere Gewebe der Triebe war weiß. An allen Rosen waren oberhalb von älteren Befallsstellen vereinzelt abgestorbenen Triebe vorhanden, so dass davon auszugehen ist, dass der Befall zum Absterben der Triebe und letztendlich zum Tod der ganzen Pflanze führt.

Sowohl aus der Basis der abgestorbenen Triebe, wie auch aus den stängelumfassenden Läsionen in verschiedenen Höhen an der Pflanze, wurde *Phytophthora* isoliert, vereinzelt aus mehr diffusen Verfärbungen der Basis zusätzlich *Rhizoctonia*. Nach der Bestimmung durch Frau Dr. Werres von der BBA Braunschweig handelt es sich um *Phytophthora hibernalis*.

Schäden durch *Chalara thielavioides* an Rosen

Roswitha Ulrich

RP-Giessen, „Pflanzenschutzdienst Hessen“, Botanische Diagnostik, Schanzenfeldstrasse 8, 25578 Wetzlar
Contact: roswitha.ulrich@rpgi.hessen.de

Im September 2007 stellte ein Rosenbetrieb fest, dass 50% der Sommerokkulationen misslungen waren. Der wirtschaftliche Schaden für den Betrieb beträgt zwischen 30.000 bis 100.000 €. Bei schwach geschädigten Pflanzen war die, die Augen bedeckende Rinde der Unterlage schwarz verfärbt, wobei das Auge noch grün war. Bei dem größten Teil der Okkulationen waren sowohl die Augen, wie auch die Umgebende Rinde schwarz verfärbt. Vereinzelt ging die schwarze Verfärbung bis zu 2 mm in das umgebende Gewebe der Unterlage hinein. Bei feuchten Bedingungen bildete sich unter dem Veredlungsschnellverschluss auf dem schwarzen geschädigten Gewebe ein grau-weißer Belag. Die Unterlagen (*Rosa corymbifera* 'Laxa') waren gut gewachsen, kräftig und ansonsten gesund. Aus dem schwarzen Gewebe wurde der Pilz *Chalara thielavioides* isoliert. Die grauweiße Verfärbung um die Veredlungstelle herum war mit den für den Pilz typischen Mikrosklerotien durchsetzt. In dem weißen Belag unter dem Schnellverschluss konnten die typischen Phialiden und Sporen von *Chalara thielavioides* nachgewiesen werden. Nach der amerikanischen Literatur (Veröffentlichungen von 1940 und 1946) verursacht *Chalara thielavioides* die zu beobachtenden Symptome an Rosenveredlungen. Die Krankheit wird dort „Schwarze Fäule“ („Black Mold“) genannt. *Chalara thielavioides* ist ein Wundparasit, der überall im Boden vorkommt. Der Pilz liebt feuchtes Wetter mit Temperaturen um die 20°C. Sein Temperaturoptimum liegt zwischen 18 und 27,5°C. Abgetötet wird der Pilz erst durch Temperaturen über 50°C. Bisher ist *Chalara thielavioides* vor allem als Schaderreger an gelagerten Möhren bekannt. Nach Untersuchungen aus der Schweiz und aus Österreich kommt er in fast allen Böden in unterschiedlicher Konzentration vor. *Chalara thielavioides* hat einen sehr großen Wirtspflanzenkreis. Die Chlamydosporen des Pilzes können sehr lange im Boden überdauern.

Es ist nicht geklärt, warum der Schaden in diesem Jahr und in diesem Umfang in diesem Betrieb auftrat. Das feuchte und kühle Sommerwetter zum Zeitpunkt der Okkulation hat die Krankheit sicher gefördert. Zur Bekämpfung werden in erster Linie Hygienemaßnahmen empfohlen. Der Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln ist schwierig, da einige Mittel

durch ihre negative Auswirkung auf die Kallusbildung ausschneiden und bei den anderen Mitteln nichts über ihre Auswirkungen auf die Kallusbildung bekannt ist.

Kein Einheitsbrei: Die Variabilität kerncodierter ribosomaler DNA in Pilzen ist weitaus höher als bisher angenommen

Uwe K. Simon¹, Michael Weiß²

- ¹ Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Universität Würzburg, Julius-von-Sachs-Platz 2, 97082 Würzburg
- ² Lehrstuhl für Spezielle Botanik und Mykologie, Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 1, 72076 Tübingen
uwe.simon@uni-tuebingen.de

Kerncodierte ribosomale DNA (nu rDNA) liegt bei den meisten Eukaryoten in Form dutzender bis tausender Kopien vor. Außerdem ist sie ausreichend konserviert und doch variabel genug, um sowohl sehr entfernt als auch eng verwandte Organismen in Stammbäumen zueinander in Beziehung zu setzen. Daher wird nu rDNA in den meisten Studien eingesetzt, die Verwandtschaftsverhältnisse von Archaea, Bakterien, Pflanzen, Tieren und Pilzen zu ergründen suchen. Jüngste Ergebnisse eines Whole-Genome Shotgun Sequencing Projekts an Pilzen kamen zu dem Schluss, dass sich die Kopien der nu rDNA Loci innerhalb eines Individuums in hohem Maße gleichen, da kaum Variabilität zu Tage trat. Daraus wurde gefolgert, dass kerncodierte ribosomale Gene streng konzertiert evolvieren. Um diese Aussage zu überprüfen, klonierten wir PCR-Produkte von der kompletten kleinen Untereinheit (SSU), des D1-D3-Bereiches der großen Untereinheit (LSU), und das 5.8 S-Gen einschließlich der benachbarten internal transcribed spacers 1 und 2 (ITS) von vier Schadpilzen: *Mycosphaerella punctiformis*, *Davidiella tassiana*, *Teratosphaeria microspora* (Ordnung Capnodiales, Dothideomycetes, Ascomycota) und *Phoma exigua* var. *exigua* (Ordnung Pleosporales, Dothideomycetes, Ascomycota). Wir wollten herausfinden, wie polymorph (variabel) die einzelnen genetischen Regionen innerhalb eines Individuums sind und ob sich Unterschiede zwischen näher und entfernter verwandten Arten feststellen lassen. Zudem erfanden wir einen Test, um potentielle Lesefehler der Taq-Polymerase als Ursache für Polymorphismen auszuschließen.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass nu rDNA einen erheblich höheren Polymorphismusgrad aufweist als bisher angenommen. Zudem wurden deutliche Unterschiede sowohl zwischen den Genen eines Individuums einer Art als auch zwischen Individuen verschiedener Arten entdeckt. Beides widerspricht der These, dass kerncodierte ribosomale Gene konzertiert evolvieren. Überraschenderweise ergab unser Taq-Test, dass die Fehlerrate dieses in der Molekularbiologie weit verbreiteten Enzyms offenbar deutlich geringer ist als bisher angenommen.

Diese Befunde sind nicht nur wichtig für phylogenetische Forschungen und evolutive Fragestellungen. Auch auf ribosomalen Markern beruhende populationsgenetische Ansätze, die die Ausbreitung oder Dominanz einer Art oder eines Isolates untersuchen, sollten die hohe genetische Variabilität der nu rDNA berücksichtigen.

Quantifizierung der Echten Gurkenmehltau Erreger in Mischinfektionen mit PCR

Alexandra Wichura¹, Petr Karlovsky², Bernhard Hau³

- ¹ LWK Niedersachsen, Pflanzenschutzamt, Wunstorfer Landstr. 9, 30453 Hannover
- ² Georg-August-Universität Göttingen, Fachgebiet Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen
- ³ Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Herrenhäuser Str. 2a, 30419 Hannover
Alexandra.Wichura@lwk-niedersachsen.de

Podosphaera xanthii und *Golovinomyces orontii* sind endemische Erreger des Echten Mehltaus an Cucurbitaceae in Deutschland, die auch gemeinsam auf demselben Wirt/Blatt auftreten können. Die Befallsstärke der beiden Pilze wird durch unterschiedliche Klimaoptima beeinflusst, aber vermutlich auch durch weitere Faktoren. Um diese Faktoren benennen zu können, müssen die Dynamiken beider Pilze unter anderem auch in Mischinfektionen untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde eine quantitative kompetitive PCR entwickelt, durch die ein spezifischer Nachweis und eine Quantifizierung der Pathogene auf DNA-Ebene möglich ist. Mit einer getrennten Analyse von Myzel und Konidien sollten die epidemiologisch relevanten Parameter Befallsstärke und Sporulation erfasst werden. Für die Kultivierung verschiedener in Hannover gesammelter Isolate wurde eine in vitro Erhaltungsmethode modifiziert und etabliert. Primerpaare für die spezifische Amplifikation jedes Pilzes wurden entwickelt und die PCR-Bedingungen optimiert. Die Quantifizierung jedes Pilzes gelang durch die Verwendung eines homologen Kompetitors unter Einbeziehung der gebildeten Heteroduplizese. Beide Kompetitorfragmente wurden in ein Plasmid kloniert. Auf diese Weise konnte eine genaue vergleichende Quantifizierung der beiden Pilze erfolgen. Das Detektionslimit des Essays lag für beide Pilze bei 10 pg genomischer DNA. Zur experimentellen Überprüfung der entwickelten Methode wurde ein Klimakammerversuch durchgeführt, bei dem die Pilze jeweils getrennt und in einer Mischung auf Gurkenpflanzen inokuliert wurden. Die getrennte Analyse von Sporulation und Befallsstärke gelang durch das Absaugen der Konidien. In den beiden Einzelinokulationsvarianten konnte unter den getesteten Bedingungen ein konstantes Verhältnis zwischen dem jeweiligem Pilz-DNA-Gehalt und der Befallsstärke ermittelt werden. Mittels dieses Faktors war es möglich, die Befallsstärke jedes Pilzes in der Mischvariante zu bestimmen. Es konnte keinerlei gegenseitige Beeinflussung der beiden Pilze beim Koloniewachstum nachgewiesen werden. Unter Einbeziehung eines Korrekturfaktors für den unterschiedlichen DNA-Gehalt der beiden Pilze pro Befallsstärkeinheit ist somit ein Rückschluss von dem quantifizierten Pilz-DNA-Gehalt auf die Befallsstärke des Pilzes in einer Mischinfektion möglich. Eine Quantifizierung der Konidien durch den direkten Einsatz der Konidien suspension in den PCR-Ansatz gelang nur für *G. orontii*. Ein durchgeführter Vergleich der quantitativen kompetitiven PCR-Methodik mit einem Real-Time PCR-Assay mit externer Standardkurve zeigte eine hohe Korrelation zwischen den beiden Quantifizierungsstrategien. Die Real-Time-PCR hatte hierbei eine erhöhte Sensitivität.

AK NEMATOLOGIE, 14.02.2008

HETEROCHRONY AS A PREREQUISITE FOR MORPHOLOGICAL DIVERSITY IN DIPLOGASTRIDAE

Alexander Fürst von Lieven

Institut für Biologie / Zoologie der Freien Universität Berlin, AG Evolutionsbiologie,

Königin-Luise-Str. 1-3, 14195 Berlin, Germany

Contact: lieven@zedat.fu-berlin.de

Diplogastrids possess only three free living juvenile stages compared to the usual four (J1-J4) found in the majority of other Nematodes. Careful examination of diplogastrid eggs revealed that the J1 to J2 moult occurs before hatching. Since the same is true for all hitherto examined diplogastrids including Pseudodiplogasteroides that is sister group of all other diplogastrids, the anticipated moult can be regarded as an apomorphy of the diplogastrid stem species. Within the egg, the J1 does not feed and the corresponding J1 pharynx cuticle is not secreted. Pharynx cuticle secretion begins with formation of the J2 body cuticle. In diplogastrids with complicated mouthparts, the period between reaching worm shape (that is maintained by J1 cuticle) and the first secretion of pharynx cuticle is used for complex morphogenetic processes of those pharynx cells that contribute to formation of the stoma (the stegostom). The fact that the J1 stage does not feed as it is traversed within the egg facilitated the loss of J1 pharynx cuticle expression. The loss of the first round of pharynx cuticle secretion provides the period of time that is needed for complex stegostom morphogenesis. The heterochronic shift of the J1 stage into the egg period can therefore be regarded as a prerequisite for the origin of diplogastrid diversity that basically reflects a diversity of stegostom shape in correspondence with diverse feeding habits. (As opposed to rhabditids that feed on bacteria, Diplogastrids are also herbi-, fungi-, carni-, or omnivores.) This example shows how heterochronic changes in development provided new opportunities for morphological alterations in correspondence with the acquisition of new food resources.

TOWARDS SUSTAINABLE MANAGEMENT OF PLANT-PARASITIC NEMATODES IN SHORT CROP ROTATION SEQUENCES.

Andreas Westphal

Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University, 915 West State Street, West Lafayette, IN 47907, USA

Contact: westphal@purdue.edu

Management of plant-parasitic nematodes in the U.S. has relied heavily on chemical control and the use of host plant resistance. With the increasing concerns about chemical controls and the lack of cultivars resistant to nematode pests, implementing sustainable methods with minimal negative environmental effects is a top priority. Management of populations of plant-parasitic nematodes is most challenging in fields under short rotation sequences of multiple susceptible host crops or in the presence of multiple species of plant-parasitic nematodes. In sandy soils of southern Indiana, crop sequences of watermelon, soybean and corn do not suppress *Meloidogyne incognita*, and *Heterodera glycines* causes yield losses in soybean. In an integrated management approach, several aspects of this production system can be modified to improve the rotational benefits to the most *M. incognita*-sensitive watermelon. Small grains as cover crops can be replaced by Brassica cover crops with resistance to *M. incognita* or by crops with biofumigation potential. Cultivars of soybean can be chosen that carry resistance to *M.*

incognita to reduce its population densities. Although no single practice in this system eliminates the risk for damage by *M. incognita*, the combined effects of these practices allow for a more sustainable production of *M. incognita*-susceptible host crops in infested fields.

SOIL SUPPRESSION OF THE DISEASE COMPLEX OF SUDDEN DEATH SYNDROME AND SOYBEAN CYST NEMATODE

Andreas Westphal¹, Lijuan Xing¹, Tony J. Vyn²

¹*Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University, 915 West State Street, West Lafayette, IN 47907, USA*

²*Department of Agronomy, Purdue University, 915 West State Street, West Lafayette, IN 47907, USA*

Contact: westphal@purdue.edu

Heterodera glycines and sudden death syndrome (SDS), caused by Fusarium virguliforme, cause greater yield losses to soybean in the U.S. than any other known pathogen. In the disease complex, H. glycines increases the severity of foliar SDS symptoms on susceptible cultivars. Soil suppressiveness to plant pathogens belonging to prokaryotes, basidiomycetes, hyphomycetes, and plant-parasitic nematodes has been described. In this project, we tested whether soils exist that suppress the SDS complex. In soybean monoculture no-tillage infestation trials with F. virguliforme and natural or artificial infestations of H. glycines, more severe foliar SDS symptoms were detected in originally fumigated plots than in non-treated plots in the third year after infestation in three of five trials. In most trials, more H. glycines cysts were found at harvest in pre-season-fumigated than in non-treated plots, suggesting that the non-treated soils had become suppressive to the disease complex of H. glycines and SDS. Data from this project suggest that suppressiveness against the soil-borne disease complex exists and awaits exploitation for sustainable disease management.

INTEGRATION VON RAPS IN RÜBENFRUCHTFOLGEN

Augustin, Bernd

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum-Rhein Hessen-Nahe Hunsrück, Rüdeshheimerstr. 60-68, 55545 Bad Kreuznach

Contact: bernd.augustin@dlr.rlp.de

Durch die Reform der Zuckermarktordnung wird auch im Verbreitungsgebiet des Rübennematoden zunehmend Raps in Rübenerfruchtfolgen integriert. Anhand von zwei Monitoringflächen und eines mehrjährig konzipierten Fruchtfolgeexaktversuches wurde der Einfluss des erstmaligen Rapsanbaues auf die Rübennematodenpopulation untersucht.

Die Auswertung der Bodenproben erfolgte durch Auszählen der L2-Larven nach Schlupfinduktion mit dem Acetox-Verfahren. Die vergleichende Auswertung geteilter Proben nach der Magnesiumsulfatmethode (BBA Elsdorf) ergab eine gute Übereinstimmung der verschiedenen Methoden.

Trotz der außergewöhnlich milden Winterwitterung 2006/2007 erhöhte der Kulturraps unter rheinhessischen Anbaubedingungen (späte Saat) die vorhandene Population nicht. Die Untersuchung der Zystenentwicklung am Ausfallraps zeigte, dass die erste Nematodengeneration bei einer Temperatursumme von etwa 460°-Tagen (Temperatursumme > 8° C) abgeschlossen ist. Die ersten braunen Rübennematodenzysten traten bereits nach 340°-Tagen auf. Durch Glyphosateinsatz nach 266°-Tagen konnte eine Vermehrung der Nematoden

an Ausfallraps wirkungsvoll verhindert werden. Bei Kombination einer Rapsstoppelbearbeitung mit einer wirkungsvollen Ausfallrapskontrolle war trotz der milden Witterungsbedingungen eine deutliche Reduzierung der Nematodenpopulation erreichbar. Die Auswertung von Proben aus unterschiedlichen Bodentiefen zeigte, dass auf Flächen mit hohem Nematodenbesatz die Zone in 30-60 cm einen wesentlichen Teil der Population beherbergt, der deutlich geringeren Schwankungen unterliegt. Bei langfristigen Betrachtungen sollte dieser Bereich daher in die Untersuchungen einbezogen werden.

MORPHOLOGIE, TAXONOMIE, PHYLOGENIE UND REPRODUKTIONS- BIOLOGIE DES FREILEBENDEN NEMATODEN-TAXONS MYOLAIMUS

Bärman, Verena

AG Evolutionsbiologie, Institut für Biologie / Zoologie der Freien Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 1-3, 14195 Berlin, Deutschland

Contact: verena@baermanns.de

Vier neu entdeckte, bisher unbeschriebene Arten des freilebenden Nematoden-Taxons *Myolaimus* sind der Ausgangspunkt für die morphologische und taxonomische Revision der insgesamt 13 Arten in dieser Gruppe. Anhand eigener Beobachtungen zu den neu entdeckten Arten sowie der Auswertung von Literaturdaten zu den bisher beschriebenen Arten wurde eine umfassende Merkmalsmatrix erstellt, von der 23 Merkmale Eingang in eine phylogenetische Stammbaumrekonstruktion fanden. Anhand des Stammbaums und einer Diskussion über die Stellung von *Myolaimus* innerhalb der Secernentea konnte das Stammartmuster der Gruppe rekonstruiert werden. Das für freilebende Nematoden einzigartige Kopulationsverhalten, das bei *Myolaimus* durch das Fehlen der Spicula bei den Männchen gekennzeichnet ist, wurde für drei der neu entdeckten Arten detailliert beschrieben. Weiterhin wurden Daten zu Eiproduktion, Entwicklungsdauer und Änderung des Geschlechterverhältnisses der Nachkommen über die Reproduktionsphase einzelner Weibchen erhoben.

PREDATOR-NEMATODE INTERACTION IN SOIL FOOD WEB

Hohberg, Karin

Staatliches Museum für Naturkunde Görlitz

Contact: Karin.Hohberg@smng.smwk.sachsen.de

Nematodes are the most numerous metazoan soil inhabitants, often reaching densities of over one million individuals per square meter. Their activities affect microbial activity, rates of litter decomposition, nutrient cycling and plant growth. Many predators exploit the nematode pool, but little is known about the strength of these predator-prey interactions and the regulatory top-down influence on nematode species composition and population growth.

To provide deeper insights into the structuring forces of predator – nematode interaction, feeding rates and behaviour were investigated in a tardigrade (*Macrobiotus richtersi*) - nematode (*Pelodera teres*, *Acrobeloides nanus*) system. This intensive investigation revealed that 1) prey and predator behaviour, body sizes, temperature, substrate type and environmental richness, may influence interaction strength in soil food web; 2) consumed biomass is no measure for prey reduction, as both, optimal foraging behaviour of predator and defence behaviour of prey may lead to luxury consumption; and 3) consideration of environmental and behavioural is decisive to correctly interpret predator-prey interaction in the field.

WURZEL-LEAKAGE DURCH NEMATODEN: GIBT ES POSITIVE EFFEKTE AUF RHIZOSPÄRENPROZESSE?

Ruess, Liliane¹, Poll, Julia², Haase, Susan², Marhan, Sven², Kandeler, Ellen²

¹*Institut für Zoologie, TU Darmstadt, Schnittspahnstr. 3, 64827 Darmstadt*

²*Institut für Bodenkunde und Standortlehre, Universität Hohenheim, Emil-Wolff-Str. 27, 70599 Stuttgart*

Contact: ruess@bio.tu-darmstadt.de

Das Anstechen der Wurzelzellen durch pflanzenpathogene Nematoden und der damit verbundene Austritt von niedermolekularen Pflanzenmetaboliten erhöht den Kohlenstofffluss in die Rhizosphäre. Dieses „Leakage“ kann die Mikroorganismen dort fördern und über vermehrte Mineralisierung von Nährstoffen positiv auf die Wirtspflanze wirken. Gerste (*Hordeum vulgare*) wurde mit 0, 2000, 4000 und 8000 *Meloidogyne incognita* inokuliert und für 4 Wochen inkubiert. Die Effekte auf Wurzelmorphologie, Rhizodeposition und Bodenmikroorganismen wurden untersucht. Der Transport des pflanzenbürtigen Kohlenstoffes in die Rhizosphäre wurde mittels ¹³C₂ Puls-Labeling erfasst.

Die geringe Infektionsrate von 35 bis 60 Wurzelknötchen pro Pflanze hatte keine negativen Auswirkungen auf die Gerste. Die Wurzelbiomasse (2. Woche) und der Kohlenstoffgehalt im Spross (2. und 3. Woche) nahmen zu. Die Anzahl der Wurzelhaare war, bei gesteigerter Länge, geringer. Eine Woche nach Nematodenzugabe trat vermehrte Rhizodeposition von Gesamtzuckern, Gesamtaminosäuren und Carboxylaten (Fumarat) auf. Der Gehalt an Phospholipidfettsäuren (PLFAs) sowie an bakteriellen und pilzlichen PLFAs im Rhizosphärenboden war bei Inokulation mit 4000 und 8000 *M. incognita* reduziert, mit 2000 *M. incognita* dagegen erhöht (1. und 2. Woche). Der Transfer von Photoassimilaten in die mikrobielle Biomasse ging mit steigender Nematodendichte zurück.

Die Ergebnisse zeigen, dass positive Effekte auf Rhizosphärenprozesse durch „Leakage“ nur bei sehr geringen Befallsraten und zu einem frühen Zeitpunkt der Infektion zu erwarten sind. Nach der Etablierung der Wurzelknötchen stellen diese eine starke Senke für pflanzenbürtigen Kohlenstoff dar. Bereits niedrige Dichten an Nematoden haben deutliche Auswirkungen auf die Struktur der Rhizosphärengemeinschaft, und können dadurch Mineralisierungsprozesse im Boden sowie das Pflanzenwachstum beeinflussen.

TAXONOMISCHE UNTERSUCHUNG DER OBERFLÄCHENSTRUKTUR VON EIERN IN PLECTIDAE (NEMATODA).

Seiml-Buchinger, René

Freie Universität Berlin, Institut für Biologie/Zoologie, AG Evolutionsbiologie, Königin-Luise-Str. 1-3, 14195 Berlin, Germany

Contact: rseimlbuchinger@yahoo.de

Eine taxonomische Untersuchung der Oberflächenstruktur von Nematoden-Eiern gibt es vor allem für parasitische Arten, z.B. *Mermis*, *Tetrameres*, *Trichuris*, *Ascaris*, *Citellina*, ... (Christenson 1950 in Chitwood & Chitwood 175-190; Jairajpuri 2002 in Jairajpuri 214-236) Bei *Huffmanella* wurden sogar nur an Hand ihrer Ei-Morphologie neue Arten beschrieben, ohne ein adultes Individuum gefunden zu haben (Moravec & Campbell 1991, *Folia Parasitol.* 38:29-32; Moravec et al. 1998, *J. Parasitol.* 84:589-593). Bei freilebenden Nematoden hingegen gibt es recht wenige Erkenntnisse zu artspezifischen Oberflächenstrukturen der Eier. Bei den untersuchten Plectidae konnten zwei Grundtypen von Eiern gefunden werden, einmal mit einer einheitlich strukturlosen Oberfläche, zum anderen mit einer stachel- oder netzartigen

Oberfläche. Bei den strukturierten Eiern lassen sich artspezifische Merkmale herausarbeiten, welche als taxonomische Kriterien verwendet werden können. Dieses kann bei einigen nur morphometrisch „unterscheidbaren“ Arten zu einer sicheren und eindeutigeren Identifizierung führen, vor allem wenn nur wenige Individuen zur Verfügung stehen.

DIVERSITÄT FREI LEBENDER NEMATODEN IN BÖDEN VON NATURWÄLDERN

Zolda, Pamela

Universität Wien, Department für Naturschutzbiologie, Althanstraße 14, 1090 Wien

Contact: pamela.zolda@univie.ac.at

Naturwaldreservate, die seit längerem in Österreich eingerichtet und deren Schutz auf nationaler und internationaler Ebene gefördert werden, stellen Schlussgemeinschaften der Waldentwicklung mit einem großen biologischen Potenzial dar. Sie eignen sich besonders für eine langfristige Grundlagenforschung in Form eines Langzeitmonitorings. Für diese Form des Monitorings stellen frei lebende Bodennematoden eine aussagekräftige Indikatorgruppe dar, da sie meist in hohen Abundanzen auftreten und ihre Gemeinschaftsstruktur bzw. Diversität Rückschlüsse auf den Zustand des Bodens zulassen. In Form einer „baseline study“ wurde die Gemeinschaftsstruktur der frei lebenden Bodennematoden an 12 Naturwaldstandorten in Ostösterreich erstmals umfassend dokumentiert. Die Aufsammlung der Proben erfolgte an zwei Sammelterminen. Die Charakterisierung der Nematozösen erfolgte anhand ihrer Abundanz, generischen, trophischen und funktionellen Diversität. Faunistische Ähnlichkeiten wurden durch eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) dargestellt, die Verhältnisse des Bodennahrungsnetzes anhand des „weighted faunal analysis concepts“. Insgesamt wurden 73 Gattungen frei lebender Bodennematoden nachweisen. An den meisten Standorten dominierten die Gattungen *Filenchus*, *Acrobeloides* und *Aphelenchoides*. Die Gesamtabundanzen unterschieden sich zwischen den Jahreszeiten. Die geringsten Abundanzen zeigten die Böden der azonalen Auwaldgesellschaften.

Bakterienfressende Nematoden dominierten an acht Standorten, pilz/wurzelfressende Fadenwürmer erreichten vor allem in den Fichten Tannen Buchenwäldern hohe Dominanzwerte. Die Analyse der funktionellen Struktur (cp- Klassen) zeigte eine Dominanz von Generalisten (cp 2). Die Verhältnisse der Bodennahrungsnetze wurden durch die frei lebenden Bodennematoden als strukturiert, ungestört und wenig produktiv beschrieben. Dokumentiert durch bestimmte Gemeinschaftsparameter der Nematozösen konnte ein natürlicher Charakter der untersuchten Waldböden angenommen werden.

zusehen. Die nächste gemeinsame Tagung der beiden Arbeitskreise findet am 11./12. März 2009 an der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Kreisstelle Aachen/Düren/Euskirchen, Rütger-von-Scheven-Straße 44, 52349 Düren (Rheinland) statt. In Erinnerung an die erste Erwähnung des Rübensystemnematoden *Heterodera schachtii* in 1859 werden aktuelle Arbeiten zu *H. schachtii* sicherlich einen Schwerpunkt darstellen. Darüber hinaus sind aber auch Beiträge zu allen weiteren Aspekten der Nematologie (pflanzenparasitäre + freilebende Nematoden) herzlich willkommen.

Für den AK Nematologie: Dr. Johannes HALLMANN (JKI, Münster), Dr. Peter KNUTH (LTZ Augustenberg)
Für den AK Freilebende Nematoden: Dr. Liliane RUESS (TU Darmstadt)

Die Zusammenfassungen einiger Vorträge werden im Folgenden wiedergegeben.

Fütterung von Fisch- und Crustaceenlarven in der Aquakultur mit bakteriophagen Nematoden

Thomas Assheuer und Ralf-Udo Ehlers

Universität Kiel, Institut für Phytopathologie, AG Biotechnologie und biologischer Pflanzenschutz

E-Mail: assheuer@biotec.uni-kiel.de

Die Produktion mariner Organismen in Aquakultur hat in den letzten Jahren erheblich zugenommen. Die kontinuierliche Verfügbarkeit von Jungtieren ist eine wesentliche Voraussetzung für die Aquakulturindustrie. Fisch- und Crustaceenlarven benötigen anfangs meist lebende Beuteorganismen. Zurzeit werden dazu überwiegend Salinenkrebse der Gattung *Artemia* verwendet. Diese bilden als Überdauerungsstadium trockene Zysten, die im Handel erhältlich sind. Aus diesen schlüpfen bei Wasserzugabe binnen 24 h Nauplien, die als Futter angeboten werden. Artemien stammen aus Naturentnahmen. Sie sind teuer, nicht ständig verfügbar und können bei Crustaceen Viren übertragen. Um Artemien zu substituieren sollen bakteriophage Nematoden verwendet werden. So wird z. B. *Panagrellus redivivus* bereits vereinzelt eingesetzt. Diese Nematoden lassen sich in Fermentern massenhaft vermehren. Spezifische Anforderungen der Fisch- und Crustaceenlarven an die Beuteorganismen besonders hinsichtlich ungesättigter Fettsäuren lassen sich durch Anpassung der Kulturmedien erfüllen. Bevorzugt sollen Nematodenarten verwendet werden, die zur reversiblen Anhydrobiose fähig sind. Diese wären das ideale Substitut für Artemien, da sie im ausgetrockneten Zustand gut als Handelsware geeignet wären. Bisher wurde eine Sammlung mit 50 Nematodenstämmen angelegt, von denen acht in drei flüssigen Medien getestet wurden. Drei dieser Stämme (NFS 15, NFS 25 und NFS 30) zeigten hohe Vermehrungsraten im Schüttelkolben. Es wurden monoxenische Kulturen erzeugt und erfolgreich in Laborfermentern mit 1 - 10 Liter Nutzvolumen getestet. Zur Verbesserung der Reproduktionsleistung wurden Experimente zur Medienoptimierung mit Genetischen Algorithmen durchgeführt. Bei NFS 30 zeigte sich, dass 92,4 % der Nematoden eine Lagerung bei 50 % rel. Luftfeuchte 22 Tage überlebt haben. Im AWI Helgoland wurde die Eignung von *P. redivivus* und NFS 30 als Larvenfutter an der Garnele *Macrobrachium amazonicum* geprüft. Dabei lag die Trockenmasse pro Individuum nach fünf Tagen differenzierter Fütterung nur etwa bei einem Drittel verglichen mit Artemien. In den Nematodenvarianten stieg die Mortalität und die Entwicklung verlief verzögert. Somit sind Nematoden für *M. amazonicum* ungeeignet; weitere Fisch- und Crustaceenarten sollen geprüft werden.

(DPG AK Nematologie und Freilebende Nematoden)

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

Tagung der Arbeitskreise Nematologie und Freilebende Nematoden

In 2008 traf sich der Arbeitskreis „Nematologie“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG) gemeinsam mit dem Arbeitskreis „Freilebende Nematoden“ vom 14. bis 15. Februar an der Universität für Bodenkultur in Wien, Österreich. Für die Einladung sowie hervorragende Organisation vor Ort sei Prof. Dr. Florian GRUNDLER und seinem Team vom Institut für Pflanzenschutz, Department für Angewandte Pflanzenwissenschaften und Pflanzenbiotechnologie ganz herzlich gedankt. Ein ganz besonderer Dank gebührt auch Syngenta Crop Protection für die Übernahme der Kosten der Kaffeepausen und das gemeinsame Abendessen. An der Arbeitskreistagung nahmen 45 Teilnehmer aus Deutschland, Niederlande, Österreich und der Schweiz teil. In 19 Vorträgen und 3 Postern wurden aktuelle Arbeiten zu nematologischen Fragestellungen vorgestellt. Die Beiträge umspannten das breite Spektrum grundlagenorientierter und angewandter Arbeiten in der Nematologie, von morphologischen und taxonomischen Fragestellungen, über Diversität freilebender Nematoden bis hin zu Wirt-Parasit-Interaktionen und Bekämpfungsverfahren pflanzenparasitärer Nematoden. Sämtliche Kurzfassungen der Arbeitskreistagung sind auf der Homepage der DPG (www.phytomedizin.org) ein-

Langzeituntersuchungen zur Abundanzdynamik und Maßnahmen zur Regulation von *Heterodera schachtii* auf rekultivierten Neulandflächen des rheinischen Braunkohletagebaus

Matthias Daub und Josef Schlang†

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Aussenstelle Elsdorf, Dürenerstr. 71, 50189 Elsdorf
E-Mail: matthias.daub@jki.bund.de

Im Rahmen einer Forschungs Kooperation des Julius Kühn-Institutes mit der Gruppe Rekultivierung Land- und Forstwirtschaft der RWE Power AG wurden seit 1993 Untersuchungen zur Abundanzdynamik von *H. schachtii* und deren speziellen Ursachen auf rekultivierten Tagebauflächen durchgeführt. Die Abundanzen von *H. schachtii* können auf bewirtschafteten Neulandflächen mit einigen tausend bis zehntausend Eiern und Larven / 100 ml Boden die zwei- bis dreifache Höhe von Abundanzen auf Altland erreichen. Untersuchungen auf Neulandflächen zeigten, dass ausgehend von Abundanzen nahe der Nachweisgrenze von *H. schachtii* es im 3. Anbaujahr von Zuckerrüben zu Massenvermehrungen kommt. In den letzten Jahren werden im Zusammenhang mit wärmeren Sommertemperaturen starke Vermehrungen von *H. schachtii* auch schon zur 2. Rotations beobachtet, die sich dann auch ertragswirksam in Zuckerrüben auswirken können. Als Hauptursache für die Bedingungen auf Neulandböden wird das Fehlen antagonistischer Pilze, die Eier in der Zyste parasitieren, vermutet. Versuche mit resistenten Zwischenfrüchten und Einsatz organischer Bodenzusätze wurden auf Neu- und Altlandflächen angelegt, um die Möglichkeit einer Reduzierung bzw. vielleicht sogar Vermeidung solcher Massenvermehrungen des Nematoden zu testen. Die Ergebnisse und Beobachtungen aus den letzten Jahren werden vorgestellt und durch aktuelle Untersuchungsergebnisse ergänzt.

(DPG AK Nematologie und Freilebende Nematoden)

Untersuchungen zur Biofumigation in Deutschland

Johannes Hallmann¹, Paul Dahlin¹, Matthias Daub², Michaela Schlathöller³, Wolfgang Schütze⁴ und Rita Grosch⁵

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Toppheideweg 88, 48161 Münster

²Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Dürener Straße 71, 50189 Elsdorf

³P. H. Petersen Saat zucht Lundsgaard GmbH, Grundhof, Lundsgaard

⁴Julius Kühn-Institut, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

⁵Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau, Theodor Echtermeyer Weg 1, 14979 Großbeeren

E-Mail: johannes.hallmann@jki.bund.de

Die Biofumigation ist ein Verfahren, bei dem Kruziferenarten und -sorten mit hohen Glucosinolatgehalten angebaut und zum Zeitpunkt der Blüte, wenn die Glucosinolatgehalte am höchsten sind, zerkleinert und in den Boden eingearbeitet werden. Durch enzymatische Hydrolyse der Glucosinolate entstehen nematizid wirkende Isothiocyanate. Die nematizide Wirkung von sieben häufig auftretenden Isothiocyanaten wurde am Beispiel von *Meloidogyne hapla* bestätigt. Die stärkste nematizide Wirkung zeigte Benzylisothiocyanat mit 100 % Inaktivierung in 24 Stunden in der niedrigsten gewählten Konzentration von 0,01 µmol. Die Wirkung verschiedener Kruziferenarten und -sorten bei Anbau als Biofumigation wurde auf zwei Praxisbetrieben mit unterschiedlichem Nematodenspektrum untersucht. Verschiedene Sorten von Sareptasenf, Weißem Senf und Ölrettich sowie eine Mischung von Sareptasenf mit Ölrettich (Terraprotect RB) bzw. Sareptasenf mit Weißem Senf (Terra-

protect MB) wurden als Sommerzwischenfrucht angebaut. Zum Zeitpunkt der Einarbeitung wurde die Pflanzenfrischmasse und Pflanzentrockenmasse sowie der Glucosinolatgehalt ermittelt und vor Aussaat bzw. vier Wochen nach Einarbeitung der Besatz mit pflanzenparasitären Nematoden. Die Biofumigationsvarianten hatten nur eine geringe Wirkung auf *M. hapla*; da sie allesamt eine Vermehrung des Nematoden während der Anbauphase ermöglichten. Demgegenüber wurde *Pratylenchus* spp. (Mischpopulation von *P. penetrans* und *P. crenatus*) in allen Varianten reduziert; die Vermehrungsraten lagen zwischen 0,2 für Ölrettich cv. Colonel und 0,85 für Sareptasenf cv. Terrafit. Derzeit wird die Wirkung der Biofumigationsvarianten auf weitere pflanzenparasitäre Nematoden (*Heterodera schachtii*, *Ditylenchus dipsaci*, *Trichodorus* spp., *Tylenchorhynchus* spp.) untersucht sowie nach Sorten mit schlechter Wirtseignung für *M. hapla* für einen optimierten Einsatz in der Biofumigation gesucht. Durch züchterische und anbautechnische Verfahren soll weiterhin der Glucosinolatgehalt pro Fläche maximiert werden.

(DPG AK Nematologie und Freilebende Nematoden)

Ist die Umfallkrankheit des Maises durch Stängelälchen sortenabhängig?

Peter Knuth

LTZ Augustenberg, Außenstelle Stuttgart, Reinsburgstraße 107, 70599 Stuttgart

E-Mail: peter.knuth@ltz.bwl.de

Die vom Stängelälchen *Ditylenchus dipsaci* verursachte Umfallkrankheit des Maises tritt in Baden-Württemberg selten auf. Im Einzelfall kann ein Befall jedoch hohe Ertragsverluste, bis hin zum Totalausfall, verursachen. Beobachtungen aus der Praxis belegen, dass sich ökonomische Schäden auf einem mit Stängelälchen verseuchten Feld nicht in jedem Mais-Anbaujahr wiederholen. Um das Auftreten von Schäden durch Stängelälchen im Mais näher zu untersuchen, werden auf einem hochverseuchten Feld der Versuchsstation Ihinger Hof der Universität Hohenheim seit 1999 Versuche mit je 12 unterschiedlichen Maissorten durchgeführt. Die Untersuchungen sollen die Sortenabhängigkeit der Umfallkrankheit, den Wirtspflanzenstatus von Mais, die durch Stängelälchen verursachten Schadsymptome und den Einfluss bestimmter Witterungsereignisse auf das Auftreten von Schäden, klären. Die bisherigen Ergebnisse zeigen eine deutliche Sortenabhängigkeit, aber auch, dass selbst empfindliche Maissorten auf einem hochverseuchten Feld nicht in jedem Jahr geschädigt werden. *D. dipsaci* verursacht beim Mais keine Fäule aufgrund von zerstörtem Stängelgewebe, sondern kann bei bestimmten Sorten eine stark reduzierte Wurzelbildung induzieren. Die schlechte Bewurzelung ist letztlich für das Umfallen des Maises verantwortlich. Ob bestimmte Witterungsverhältnisse in der Jugendentwicklung des Maises vorliegen müssen, um diese Reaktion bei den empfindlichen Maissorten auszulösen, ist noch nicht geklärt.

(DPG AK Nematologie und Freilebende Nematoden)

Bewertung der Untersuchungsergebnisse zum Schadaufreten von *Pratylenchus* im Getreide 2007

Jan Kruse

Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei, Pflanzenschutzdienst, Graf-Lippe-Str. 1, 18059 Rostock

E-Mail: jan.kruse@lallf.mvnet.de

Bereits zum Ende des Winters 2006/2007 hin waren in Mecklenburg-Vorpommern teilweise schwere Schadsymptome an Wintergetreide, besonders Winterweizen, zu verzeichnen, die gelegentlich zu Umbruch und Neuansaat führten. Neben ande-

ren Faktoren, die durch den warmen Spätherbst 2006 und den darauf folgenden milden Winter beeinflusst wurden, wie z. B. die Übertragung von Viren durch Blattläuse, kam es auch zu einem ungewöhnlich starken Populationsaufbau bei Pratylenchen. Die besondere Beeinträchtigung der Pflanzen durch *Pratylenchus* spp. im vergangenen Jahr kann anhand der bereits über einen längeren Zeitraum hinweg beobachteten Besatzdichte in den Wurzeln belegt werden. Die wachsende Bedeutung von *P. neglectus* unter den Arten, die bisher im Zusammenhang mit Schäden im Getreide aufgefallen waren, wurde 2007 besonders deutlich. Dies war in den vergangenen Jahren nur im Ansatz erkennbar. Da Gerste auf die bisher in Mecklenburg-Vorpommern am häufigsten nachgewiesene Art *P. crenatus* besonders empfindlich reagiert, während *P. neglectus* Weizen am stärksten schädigt, ist mit zunehmender Bedeutung letzterer Art Weizen immer stärker von Schäden betroffen. Aber auch Schäden an Wintergerste durch *P. neglectus* sind häufig. Gelegentlich wird in diesem Zusammenhang auch der Roggen auffällig. Ein Konzept zur Vermeidung von Schäden durch solche polyphagen Schaderreger kann darauf beruhen, dass vor besonders empfindlichen Fruchtarten eine schlechte Wirtspflanze bzw. eine Fruchtart angebaut wird, die durch kurze Vegetationszeit, besonders intensive Bodenbearbeitung, geringe Durchwurzelung des Bodens u. a. die Nematodenvermehrung unterdrückt.

(DPG AK Nematologie und Freilebende Nematoden)

Molekularbiologische Charakterisierung nützlicher *Fusarium oxysporum*-Isolate und deren Rolle bei der systemischen Abwehrreaktion der Pflanze bei Nematodenbefall

Andreas Kurtz, Alexander Schouten, Kerstin Schäfer und Richard Sikora

Phytomedizin in Bodenökosystemen und Nematologie, INRES, Universität Bonn, Nussallee 9, 53115 Bonn
E-Mail: akurtz@uni-bonn.de

Pflanzen können durch Besiedlung mit endophytischen nicht-pathogenen *Fusarium oxysporum*-Isolaten eine systemische Resistenz gegen Nematoden erlangen. Dies bietet in einigen Anbausystemen eine biologische Bekämpfungsalternative zu synthetischen Nematiziden. Allerdings sind nicht alle nicht-pathogenen *F. oxysporum*-Isolate in der Lage, als Endophyten diese systemische Abwehrreaktion der Pflanze in ausreichendem Maße auszulösen. Deshalb konzentrieren sich unsere Untersuchungen auf die Identifikation viel versprechender, nicht-pathogener, *F. oxysporum*-Isolate unterschiedlicher geographischer Herkunft hinsichtlich ihrer Einsetzbarkeit zur biologischen Bekämpfung pflanzenparasitärer Nematoden an unterschiedlichen Kulturpflanzen. Hierzu werden die Sequenzen bestimmter genomischer Regionen analysiert und anhand von SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) spezifische Primer entwickelt, mit deren Hilfe die Anzahl zu testender Isolate in Gewächshausversuchen reduziert werden soll. Obwohl anzunehmen ist, dass der Pilz die pflanzliche Abwehrreaktion auslöst, konnte der exakte Mechanismus dieses Zusammenspiels nicht vollständig geklärt werden. Deshalb soll zweitens mittels molekularer Methoden eine Charakterisierung des Mechanismus der systemischen Resistenz der Pflanze erfolgen, indem verschiedene Befallsituationen simuliert werden: Alleinige Kolonisierung der Pflanze durch Nematoden bzw. Endophyten oder beider Organismen. Um zu bestimmen, ob Induced Systemic Resistance (ISR) oder Systemic Acquired Resistance (SAR) eine Schlüsselrolle bei der pflanzlichen Abwehrreaktion spielt, wird die *in planta*-Akkumulation von NPR1 und PR Protein Transkripten bestimmt und quantifiziert. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen zur Optimierung der biologischen Bekämpfung pflanzenparasitärer Nematoden genutzt werden.

(DPG AK Nematologie und Freilebende Nematoden)

Sind die Heteroderen uralte Phytoparasiten?

Dieter Sturhan

Arnehtstr. 13 d, 48159 Münster
E-Mail: sturhandh@web.de

Die mehr als 150 beschriebenen Arten zystenbildender Nematoden und verwandter, nicht-zystenbildender Heteroderiden zählen zu den hochevoluierten obligaten Phytoparasiten; die meisten der Arten zeigen eine ausgeprägte Wirtsspezialisierung. Die Ausbildung eines Nährzellensystems in den Wirtswurzeln ist Voraussetzung für die Entwicklung dieser sedentären Nematoden. Während die zystenbildenden Arten ein mehrkerniges Syncytium in den Wirtswurzeln induzieren, erzeugen Vertreter der meisten nicht-zystenbildenden, als „primitiv“ geltenden Gattungen eine einzige einkernige Riesenzelle. Die bisher bekannten Wirte der Zystennematoden zählen sämtlich zu den Unterklassen Caryophyllidae, Asteridae und Rosidae in der Angiospermen-Klasse Rosopsida sowie zu den Poales und verwandten Commelinidae, die zu den monocotylen Liliopsida gehören. Als Wirte der nicht-zystenbildenden Heteroderen sind dagegen unter anderem auch Pflanzenarten der phylogenetisch älteren Ranunculopsida und Magnoliopsida (Laurales, Magnoliales) bekannt; fünf Arten parasitieren sogar Vertreter der Gymnospermen, Ordnung Pinales. Die Verteilung der Wirtsspektren beider Nematodengruppen innerhalb der Heteroderidae legt die Annahme nahe, dass die Fähigkeit zur Induktion von Syncytien bereits von der Stammart der zystenbildenden Heteroderen (vor ca. 150 Mill. Jahren) erworben sein mag und die Anlage zur Bildung solcher „Gallen“ (als Mechanismus der Schadensbegrenzung anzusehen) ursprünglich bei allen höheren Angiospermen vorhanden war, doch im Laufe der Stammesgeschichte bei vielen Pflanzentaxa offensichtlich wieder verloren gegangen ist. Syncytien bei den Gramineen und anderen phylogenetisch jüngeren Monocotylen entstanden möglicherweise mehrfach unabhängig durch Wirtskreiserweiterung von auf dicotylen Rosopsida parasitierenden Zystennematoden. Die Ausbildung einer einzigen Riesenzelle als Voraussetzung für die sedentäre Lebensweise der nicht-zystenbildenden Heteroderen ist in der Stammesgeschichte der höheren Pflanzen eventuell schon wesentlich früher erfolgt (vor mehr als 250 Mill. Jahren?). Die „Grundlagen“ für die Wirtsspezifität der meisten Heteroderen sind vermutlich „außerhalb“ der Syncytien- oder Riesenzellenbildung zu suchen.

(DPG AK Nematologie und Freilebende Nematoden)

Report on the Annual Meeting of the Working Group “Nematology”

In 2008 the Working Group „Nematology“ of the German Phytomedical Society (Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, DPG) met with the Working Group “Free Living Nematodes” from February 14 to 15, at the University of Natural Resources and Applied Life Sciences in Vienna, Austria. For the kind invitation and excellent local arrangements the organizers warmly thank Prof. Florian Grundler and his team from the Department of Plant Protection. Sincere thanks are also given to Syngenta Crop Protection for sponsoring the coffee breaks and the dinner. The total attendance was 45 participants from Germany, The Netherlands, Austria and Switzerland who presented 19 oral presentations and three posters. Presentations covered the broad field of Nematology from fundamental and applied aspects in plant nematology all the way to nematode ecology and molecular aspects of plant-nematode interactions. A complete overview of all abstracts can be viewed at the homepage of the DPG (www.phyto-medizin.org). The next joint meeting of the two working groups will be held from March 11-12, 2009 at the Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Kreisstellen Aachen/Düren/Euskirchen, Rütger-von-Scheven-Straße 44, 52349 Düren (www.landwirtschaftskammer.de/dueren). This meeting will commemorate the first reference of the beet cyst nematode *Heterodera schachtii* in 1859 with a special section considering actual research on *H. schachtii*. However, all other aspects of fundamental and applied nematology are also welcomed.

Johannes Hallmann and Peter Knuth, Working Group “Nematology”

Liliane Rueß, Working Group “Free Living Nematodes”

Starch serves as carbohydrate storage in nematode-15 induced syncytia

J. Hofmann¹, D. Szakasits¹, A. Blöchl², M. Sobczak³, S. Daxböck-Horvath¹, W. Golinowski³, H. Bohlmann¹, F.M.W. Grundler¹

- ¹ Institute of Plant Protection, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria, julia.hofmann@boku.ac.at
- ² Department of Chemical Ecology and Ecosystem Research, University of Vienna, Austria
- ³ Department of Botany, Warsaw University of Life Sciences, Poland

The plant parasitic nematode *Heterodera schachtii* induces specific syncytial feeding sites in the roots of *Arabidopsis thaliana* from where it withdraws all required nutrients. Therefore, syncytia have to be well supplied with assimilates and generate strong sinks in the host plant's transport system. Import mechanisms and consequent accumulation of sucrose in syncytia were described recently. In this work, we studied the starch metabolism of syncytia. Using high-performance liquid chromatography and microscopic analyses, we demonstrated that syncytia store carbohydrates by starch accumulation. Further, we monitored the expression of genes involved in the starch metabolic pathway by gene chip analysis and quantitative reverse transcription-PCR. Finally, we provide functional proof of the importance of starch synthesis for nematode development using T-DNA insertion lines. We conclude that syncytia accumulate starch as a carbohydrate buffer to compensate for changing solute uptake by the nematode and as long-term storage during juvenile development.

Occurrence of *Meloidogyne enterolobii* in Switzerland

S. Kiewnick¹, G. Karssen², J. Brito³, M. Oggenfuss¹, J. Frey¹

- ¹ Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Research Station ACW, Plant Protection, Schloss P.O.Box 184, CH-8820 Wädenswil, Switzerland, sebastian.kiewnick@acw.admin.ch
- ² National Nematode Collection, Wageningen University, P.O. Box 8123, 6700 ES Wageningen, The Netherlands
- ³ Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, 1911 SW 34th Street, Gainesville, FL 32608, USA

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are the economically most important nematodes species in Switzerland, causing damage in greenhouse and plastic tunnel vegetable production systems. Due to the limited availability of control measures, the use of root-knot nematode resistant tomato and cucumber rootstock is the standard method to avoid yield losses caused by *M. incognita*, *M. arenaria* and *M. javanica*. However, in recent years severe root galling was found on resistant rootstock of tomato and cucumber, respectively, in several greenhouses in north-east Switzerland. Based on morphological features the root-knot nematode species responsible was tentatively identified as *M. mayaguensis*. This species has been identified in Africa, Central American and Caribbean countries, the United States and France. Although not listed as a quarantine nematode, it is now considered to be one of the most pathogenic root-knot nematodes known. It can overcome a number of genes that code for resistance: the *Mi* gene in tomato, the *N* gene in pepper, and others. For confirmation, reference material of *M. mayaguensis* populations from Florida and Brazil, respectively, were used for comparison of the sequence data of the COI, ITS and mtDNA 63bp repeat region and all sequence data confirmed the correct species identification. However, additional comparative genomic studies based on the COI (310bp) and ITS (723bp) region with type material of *M. enterolobii* from China revealed that the Swiss populations as well as the reference material from the United States and Brazil were 100% identical. Further studies on the isozymes esterase (EST), malate dehydrogenase (MDH) and the morphology of females and second stage juveniles confirmed the presence of the species *M. enterolobii* in Switzerland. Future studies will now focus on extending the survey on tropical root-knot nematode species in Switzerland and to conduct more detailed comparative genomic studies to determine to origin of this species and how it entered Swiss greenhouse production systems.

Studies on the use of biofumigation in the Netherlands

G. Korthals, J. Visser, J. Lamers, L. Molendijk

Applied Plant Research (PPO-AGV), Wageningen University and Research, P.O. Box 430, 8200 AK Lelystad, The Netherlands, gerard.korthals@wur.nl

This research project concentrates on biofumigation, as an alternative for chemical soil disinfestation against soil-borne pathogens like nematodes and fungi. Biofumigation is a new technique, by growing specific (green manure) crops (mainly crucifers) and incorporating these crops into the soil. By incorporating the crops, the contents (among else some toxic breakdown products) diffuse through the soil and can help to improve

soil health. Within this project 16 different crops were tested under field conditions. The impact of the crops on nematodes (*Pratylenchus penetrans*), fungi (*Verticillium dahliae*) as well as the cash crop (Potatoes) grown afterwards were tested in a randomized block design. Till now it seems that most crops can be seen as a host plant for nematodes, and that the supposed population decrease due to the biofumigation effect does not compensate this negative effect. However, on the quantity and quality of the potatoes, there was an overall positive effect of most biofumigation crops. If the biofumigation crops and the techniques to grow and to incorporate them can be improved, biofumigation might be a new alternative to improve soil health.

Development of the wilting symptoms in pine seedlings inoculated with *Bursaphelenchus vallesianus* and *B. mucronatus* in comparison to *B. xylophilus*

J. Polomski

WSL, Ecological Genetic and Evolution, Zürcherstrasse 111, 8903 Birmensdorf, Switzerland, janina.polomski@wsl.ch

Pathogenic potential of the sapwood nematodes of the genus *Bursaphelenchus* has been rarely investigated, except for *B. xylophilus* being a dangerous quarantine pathogen on various pine species. Only *B. xylophilus* has clearly been proven to damage or kill adult trees in forests. However, an inoculation experiment of pine seedlings in greenhouse showed a highly pathogenic potential of *B. mucronatus* and *B. vallesianus* isolated from dying pines in Switzerland. The external and internal disease symptoms caused by the two species followed a pattern similar to that described for *B. xylophilus*. This indicates similar mechanisms of the wilting processes for the pathogenic *Bursaphelenchus* species. Necrosis of the epithelial cells of resin canals and parenchyma cells of rays were the first symptoms observed. Needle discoloration was delayed by few days to the internal symptoms and increased dramatically during the advanced stage of disease. The pathogenic potential of nematodes strongly correlated with high temperature and water stress. However, to date little is known about the mechanisms responsible for the strong differences in the pathogenicity potential between *B. xylophilus* and other *Bursaphelenchus* species.

Heterodera schachtii triggers neo-morphogenesis in *Arabidopsis* roots

D. Szakasits¹, P. Heinen², D. Kreil³, J. Hofmann¹, K. Wieczorek¹, F. Grundler¹, H. Bohlmann¹

- ¹ Institute of Plant Protection, Department of Applied Plant Sciences and Plant Biotechnology, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria, dagmar.szakasits@boku.ac.at
- ² Institute of Plant Protection, Department of Applied Plant Sciences and Plant Biotechnology, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria
- ³ WWTF Chair of Bioinformatics, Department of Biotechnology, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria

The cyst nematode *Heterodera schachtii* is a biotrophic plant parasite which can cause significant economic losses on sugar beet but can also complete his life cycle on a variety of other plants including *Arabidopsis*. Juveniles invade the roots of host plants and induce a syncytium on which the nematode feeds throughout his life. The syncytium develops from a single cell inside the central cylinder through incorporation of neighbouring cells. How the induction and the development of the syncytium is achieved is unknown. We have studied the transcriptome of syncytia induced by *Heterodera schachtii* in *Arabidopsis* roots. Pure material from syncytia was obtained through microaspiration and used for RNA isolation. This RNA was amplified, labelled, and used for the hybridization of Affymetrix GeneChips. Our results show that a variety of genes is up- or down-regulated in syncytia. Results have been validated for selected genes by real time PCR and in situ RT-PCR. In addition, promoter::GUS lines are being prepared. Genes which are strongly upregulated in syncytia are not only of scientific interest but may also be used as targets for applications to engineer nematode-resistant plants. Closer inspection of the up-regulated genes revealed, that different pathways for genes that are normally specific for certain tissues other than roots, are induced in the syncytium. A principal component analysis of available transcriptome data has shown that syncytia have more in common with seeds and pollen than with roots.

AK NUTZARTHROPODEN UND ENTOMOPATHOGENE NEMATODEN, 08.12.2008

THE APPLICATION OF MACH-ZEHNDER TRANSMISSION-LIGHT INTERFERENCE MICROSCOPY AS A TOOL FOR ANALYSIS OF PHAKOPSORA PACHYRHIZI (ASIAN SOYBEAN RUST) INFECTION STRUCTURES

Marco Löhner, Uwe Conrath, Ulrich Schaffrath

Department of Plant Physiology, RWTH Aachen University, D-52056 Aachen, Germany

Contact: schaffrath@bio3.rwth-aachen.de

Mach-Zehnder transmission-light interference microscopy allows sophisticated observation of living cells without the draw-backs of fixation or staining. By measuring optical path differences the dry mass and water content of cells can be determined with extreme accuracy using the refractive index increment. This method, originally developed in the 1960s, has been used in forensic medicine did not achieve wide acceptance because of the complexity of the data analysis and the need for purpose built microscopes. Recent refinement of the method using software assisted analysis, has again drawn attention to Mach-Zehnder interference microscopy. Here, we present the first application of this method in a phytopathological context. Specifically, we are interested in the infection process of the Asian soybean rust fungus, *Phakopsora pachyrhizi*. Germinating Uredospores penetrate the epidermal host cell directly, which is uncommon among the majority of rust fungi where penetration via stomata is the rule. Using Mach-Zehnder-Interferometry we estimated the osmotic potential (ψ s) in *P. pachyrhizi* appressoria which supports the hypothesis that the mechanical force generated by the appressoria would be sufficient to facilitate penetration into host epidermal cells.

PARASITOIDE ALS NÜTZLINGE IM RAPSANBAU: WICHTIGE ARTEN UND MÖGLICHKEITEN IHRER FÖRDERUNG BEI BEWIRTSCHAFTUNGSMAßNAHMEN.

Nadine Neumann, Dr. Bernd Ulber

Georg-August-Universität, DNPW Agrarentomologie, Grisebachstraße 6, 37077 Göttingen

Contact: nneuman@gwdg.de

Die Populationsdichten aller wirtschaftlich bedeutenden Schadinsekten im Raps werden in wechselndem Ausmaß durch spezialisierte solitäre Larvenparasitoide (Hymenoptera: Ichneumonidae) reguliert. Die Parasitierungsraten liegen in der Regel zwischen 20 und 50 %, in einigen Fällen sogar über 80 %. Die Schlupfwespendichten werden u.a. durch die Bewirtschaftungsmaßnahmen beeinflusst. Neben dem Einfluss der Insektizide sind die im Boden der abgeernteten Rapsfelder überwinterten adulten Schlupfwespen insbesondere der Bodenbearbeitung zur Bestellung der Folgekultur ausgesetzt. In Feldversuchen mit unterschiedlichen Bodenbearbeitungsverfahren nach Winterraps wurde die Schlupfabundanz der Rapsglanzkäferparasitoide *Tersilochus heterocerus* und *Phradis interstitialis* durch die Bearbeitung mit Kreiselegge bzw. Pflug signifikant gegenüber dem Grubber und der Direktsaat verringert. Die Schädigung der Parasitoide wird dabei durch die Schlupfbehinderung aufgrund der Tiefenlage nach Pflugeinsatz sowie durch direkte Beschädigung der Kokons mit der Kreiselegge verursacht. Die Hauptaktivität der Parasitoide liegt im Zeitraum der Rapsblüte, so dass sie besonders durch Insektizidmaßnahmen in der Blüte beeinflusst werden können. Im Feldversuch wurde die Wirkung der Insektizide Karate Zeon und Biscaya auf die Parasitierungsleistung untersucht. Es zeigte sich, dass die Parasitierungsrate der

Rapsglanzkäferlarven in den behandelten Flächen signifikant gegenüber den unbehandelten Parzellen reduziert war. Die Parasitierungsraten des Kohltriebrüssler und Rapsstängelrüssler unterschieden sich zwischen den Insektizidvarianten und der Kontrolle nicht signifikant. Anders als die Parasitoide des Rapsglanzkäfers, die ihre Wirte in den Rapsknospen und -blüten finden, suchen die Parasitoide der Stängelschädlinge (*Tersilochus obscurator* bzw. *Tersilochus fulvipes*) ihre Wirtslarven im unteren Drittel des Bestandes, wo sie durch die Filterwirkung der Blüten und Blätter vor den Insektizidmaßnahmen weitgehend geschützt sind.

CHERRY LEAF ROLL VIRUS (CLRV) - GENOME ORGANISATION OF THE RNA1

Susanne von Barga¹, Juliane Langer¹, Artemis Rumbou², Jana Gentkow³, Carmen Büttner⁴

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Section Phytomedicine, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Germany

²Humboldt-Universität zu Berlin, Section Phytomedicine, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Germany

³Leibniz-Institute of Plant Biochemistry, Weinberg 3, 06120 Halle, Germany

⁴Humboldt Universität zu Berlin, Section Phytomedicine, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Germany

Contact: susanne.von.barga@agrar.hu-berlin.de

The complete organisation of the Cherry leaf roll virus genome, a virus which affects many fruit trees and other woody hosts, has not been determined to date. However, partial sequence information of the bipartite virus which is available of the 3' proximal portion including the complete 3' non-coding region (NCR) of the genomic RNA1 and RNA2 has lead to the classification as a subgroup c nepovirus. Full-length sequences of the RNA1 of two CLRV isolates from different host plants (CLRV-395 originating from *Rheum rhabarbarum* and CLRV-E326 from *Juglans regia*) were obtained and compared with other nepoviruses. The genomic structure of the CLRV-RNA1 coding for a polyprotein corresponds with other established subgroup c nepoviruses like Tomato ringspot virus (ToRSV), Blackcurrant reversion virus (BRV) and Peach rosette mosaic virus (PRMV). The polyprotein of the rhubarb isolate (ORF12-6350 nt; 2112 amino acids) contains a N-terminal protease cofactor (PCo), adjacent is a nucleotide-binding protein-domain (NTB), followed by the sequences coding for the genome-linked viral protein (VPg), a protease (Pro) and the viral replicase (RdRp). Putative protein functions were predicted by identification of characteristic sequence motifs. The region coding for the CLRV-VPg protein was identified with the computer programs NetPicoRNA V1.0 and NetCorona V1.0., and exhibited highest similarities to the corresponding ToRSV-VPg. Predicted specific protease recognition sequences in the CLRV isolates (Q1121/S1122 and Q1150/S1151) also corresponded to ToRSV.

DIAGNOSIS AND CHARACTERIZATION OF GEMINIVIRUSES INFECTING BOLIVIAN PLANTS BASED ON RCA AMPLIFICATION

Wyant, Patricia, Schäfer, Benjamin, Horn, Judith, Krenz, Björn, Jeske, Holger

Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart, Deutschland

Contact: patricia.wyant@bio.uni-stuttgart.de

Geminiviruses constitute the largest and economically important family of plant DNA viruses, they represent a diverse group of viruses that infect a broad range of plants and cause

devastating crop diseases for important crops like beans, cassava, cotton, maize, pepper, sugar beet, sweet potato, and tomato, which provide staple food in subsistence agriculture. The aim of this study was to characterize geminiviruses from New World, infecting plants from Bolivia, by using the RCA technique combined with RFLP and direct sequencing of the RCA products. Seven symptomatic samples were tested for the presence of geminivirus by RCA followed by digestion with HpaII. The restriction products were separated by gel electrophoresis to monitor restriction length fragment polymorphism. All samples had positive result for amplification of small circular DNA and were therefore submitted to a partial digestion with Sau3AI enzyme followed by gel electrophoresis and elution of fragments from 2.8kb to 5.0kb, which were inserted into pGreen0029. Presence of inserts was confirmed by blue/white screening followed by colony RCA and RFLP with XbaI and PstI. The clones that presented the inserts were then sequenced using universal primers M13F/R. The generated sequences were analyzed by the Blast algorithm and assorted using the software Vector NTI Advance 10 (Invitrogen).

Using this technique we obtained full genome sequences – DNA-A and DNA-B components of two samples and component A of other two samples. The analysis of the sequences revealed that the samples RCA-31, RCA-33 and RCA-34 belong to the species *Sida micrantha* Mosaic Virus, while the analysis of the component A of the RCA-35 presents 78% identity to *Sida* yellow mosaic virus-[Brazil] (GenBank accession number AY090558.1). The component A of RCA-31 showed 92% of identity with the isolate A2 (AJ557451.1). RCA-33 DNA-A presented identity of 92% with the isolate A2 (AJ557451.1) and DNA-B 85% with the isolate B1 (AJ557452.1). DNA-A of RCA-34 showed 92 % identity with the isolate A2 (AJ557451.1), and DNA-B was 84% similar to the isolate B1 (AJ557452.1).

The random fragmentation of RCA products has shown to be a suitable tool for sequencing unknown viruses as it dismisses the knowledge of the viral sequence, allowing the detection of new species of geminiviruses and the generation of data about those viruses.

Report on the 27th Annual Meeting of the Working Group ‘Beneficial Arthropods and Entomopathogenic Nematodes’

The 27th Annual Meeting of the Working Group ‘Beneficial Arthropods and Entomopathogenic Nematodes’ of DPG and DGaE was held in December, 08-09, 2008 at Julius Kühn-Institute Braunschweig. The meeting was well organized by Dr. Martin Hommes and his colleagues from the Institute for Plant Protection in Horticulture and Forests Braunschweig.

Fourty-seven participants from research institutions, universities, extension services and biocontrol companies attended the meeting.

During the two and a half days, 18 contributions (oral presentations and scientific films) were presented which covered the following topics: beneficials in agro-ecosystems, biocontrol in horticulture and fruit growing with entomopathogenic fungi, nematodes, predatory mites and insects. Furthermore, two new scientific video films were presented.

The meeting closed with a general discussion on the prospective activities of the working group and the election of a new head because Prof. Dr. Bernd Freier had to give up this position for an increasing number of tasks in other fields of plant protection. The group elected unanimously Dr. Annette Herz from the Institute for Biological Control Darmstadt (JKI) as new head of the working group.

The next meeting will take place on November 24-25, 2009 in 25373 Ellerhoop, Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Gartenbauzentrum. The following abstracts of the contributions were edited by Ute Müller, Prof. Dr. Bernd Freier and Sigrid von Norsinski (JKI Kleinmachnow).

Prof. Dr. Bernd Freier and Prof. Dr. Ralf-Udo Ehlers

The box-tree pyralid *Diaphania perspectalis* in Baden-Württemberg

R. Albert

Center for Agricultural Technology Augustenberg, LTZ, Office Stuttgart, Germany; reinhard.albert@ltz.bwl.de

The box-tree pyralid *Diaphania perspectalis* (WALKER) (Lepidoptera, Pyralidae), synonym: *Glyphodes perspectalis*, originates from Eastern Asia (Japan, China, Korea), where it is a severe pest of all box-tree species.

The pest has three generations per year in Baden-Württemberg like in the area of its origin. Population density increases considerably from generation to generation. Its well camouflaged green colored larvae with black spots and hairs live at first between leaves span together and feed on the epidermis (upper and lower surface) of the leaves. Later the larvae often stay at daylight in a self woven bag inside the box-tree. It has 6 (to 7) larval stages. The moth’s wings are white with a broad black edge. Completely black individuals with only two white points on the wings are also found. Flying moths were still observed at the end of November and the beginning of December of 2008.

Pheromones composed of 5 parts (Z)-11-Hexadecenal, 1.25 parts (E)-11-Hexadecenal and 1 part (Z)-11-Hexadecenal-1-ol were tested in co-operation with the company Pherobank, Wageningen, the Netherlands, in the year 2008. However, compared to light trap catches of the moth the number of attracted and caught males was relatively small. Further attempts for the monitoring of the pest by means of pheromone traps are planned for the year 2009.

An eradication of this invasive pest is nearly impossible with the many infestation areas in and around Baden-Württemberg

(Basel (CH), Kehl, Kornwestheim, Lörrach, Offenburg, Rheinfelden, Weil am Rhein, etc.) and in other regions of Germany (Aachen, Neuss (Rommerskirchen, Mönchengladbach), and towns (Hemmingen-Westerfeld, Hanau, Salzbergen (Emsland). Therefore control should have the aim not to eradicate the pest but to reduce it to lower numbers. That requires a careful, area-wide monitoring of the box-trees for infestations by the moth. Improvements of the trap design and probably of the pheromone composition are necessary. In a nursery it was proven that the moth invaded from China via the Netherlands.

Trichogramma brassicae parasitized the eggs of the moth in laboratory and caused high mortality. Chemical control of the moth seems to be possible using ‘Bayer Garten Schädlingfrei Calypso’ (9 g Thiacloprid/1 l Bayer Garten Schädlingfrei Calypso) and ‘Schädlingfrei Neem’ or ‘NeemAzal-T/S’ (Azadirachtin).

New pests – known control methods: First experience with *Trichogramma* releases against the box-tree pyralid *Diaphania perspectalis* and the banana moth *Opogona sacchari* in Germany

O. Zimmermann¹, R. Albert², B. Wührer³

- 1 Julius Kühn-Institute, Institute for Biological Control, Darmstadt, Germany; Olaf.Zimmermann@jki.bund.de
- 2 Center for Agricultural Technology Augustenberg, Germany;
- 3 AMW Nützlinge Pfungstadt, Germany

Plant imports regularly result in the introduction of new pest lepidoptera into Germany. The use of *Trichogramma* egg parasitoids is always an important, biological control option which reduces the emergence of pest larvae.

The box-tree pyralid *Diaphania perspectalis* was officially reported for the first time in Europe in the Upper Rhine Valley in 2007. It damages *Buxus* species grown in gardens, and parks. The larvae live first between leaves woven together, later in silk sacks and are difficult to reach with pesticides. They overwinter, so feeding can start as early as March. The eggs can be controlled by *T. brassicae* which is used against the related European corn borer. *Trichogramma* releases in 2008 have not yet been evaluated but laboratory tests have shown a high rate of parasitism.

The banana moth *Opogona sacchari* has been found in tropical greenhouses for several years now. It damages a wide range of host plants, e.g. *Yucca*, palm trees and Bromeliaceae. Control with entomophagous nematodes has been successful but only on Bromeliaceae and *Yucca*. Control of the hidden larvae inside the plant tissue is very difficult and the egg laying sites are unknown. The use of *T. evanescens* which is effective against related pests should be possible. A recapture test showed that *Trichogramma* can penetrate even hairy palm tree surfaces. *Trichogramma* was released in green houses in 2007 and 2008, but neither parasitized nor non-parasitized *O. sacchari* eggs were found.

The European Plant Protection Organization (EPPO) has placed *D. perspectalis* on its “alert list” of new pests. *O. sacchari* is already listed as a quarantine pest (EPPO A2/154). Both pests must be reported to the local plant protection services. There are several open questions on their biology and parasitism by *Trichogramma*. Further investigations are urgently needed to develop effective control strategies.

Control of the bark beetle predator *Nemosoma elongatum* L. by kairomones

M. Müller

Dresden University of Technology, Institute of Silviculture and Forest Protection, Chair of Forest Protection, Tharant, Germany; michael.mueller@forst.tu-dresden.de

Nemosoma elongatum predaes bark beetle species in various coniferous and deciduous forests. Possibilities to control this bark beetle predator using the principle of allochthonous kairomones were discussed. Results from aggregation trials in spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) forests and spruce-beech (*Picea abies* [L.] Karst. – *Fagus sylvatica* L.) mixed forests are shown. The analysis of theoretical predation rates is hopeful to develop an adapted system of bark beetle regulation and predator breeding in future.

Advancement of beneficial insects on potato fields using biological plant protection products

S. Kühne, U. Priegnitz

Julius Kühn-Institute, Institute for Strategies and Technology Assessment in Plant Protection, Kleinmachnow, Germany; stefan.kuehne@jki.bund.de

Three spray variants ((Neem 25 g a.i./ha + B.t.t. 100 g a.i./ha (+ 4 days), B.t.t. 60 g a.i./ha + B.t.t. 100 g a.i./ha (+ 4 days) and an untreated control to regulate the Colorado beetle in potato fields were arranged in a randomized complete block design with the treatments replicated four times. The trial was carried out on the experimental field of the Julius Kühn-Institute in Dahnsdorf (Brandenburg Land), which is certified according to EC Eco directives. At the beginning, ten plants per variant were randomly chosen and marked. They were checked every week for the number of Colorado beetles, their larvae, the percentage of feeding damage to the potato plants and for the various beneficials (e. g. ladybirds, syrphids, lacewings, spiders). The treated variants showed a significantly reduced loss of leaf surface due to larvae feeding. After 24 days it achieved only 15% as compared to the control averaging 70%.

In the period under investigation all spray variants showed a growing number of beneficial insects compared to the untreated control as a result of the high leaf loss due to beetle feeding and the more and more decreasing habitat for aphids and their antagonists. Most aphid predators were found 23 days after the beginning of the experiment in the Spinosad variant averaging 3 aphid predators/plant compared to the control with only 1 aphid predator/plant. The result is statistically safe ($\alpha = 0,05$; simulate method). The ladybirds (Coccinellidae) are the most frequent beneficials with a total of four species. The Asian ladybird (*Harmonia axyridis*), which was found first in the experimental field in 2007, had a percentage of 33% in 2008. The same is true of *Coccinella septempunctata*. *Adalia variegata* ranked third with 20%. *Adalia bipunctata* and *Propylea 14punctata* had less than 10%.

Effects of elevated temperature on the natural control of aphids on wheat by the ladybirds *Coccinella septempunctata* und *Harmonia axyridis*

S. Kregel, B. Freier

Julius Kühn-Institute, Institute for Strategies and Technology Assessment in Plant Protection Kleinmachnow, Germany; bernd.freier@jki.bund.de

The effect of 3 K elevated temperatures on the natural control of aphids on wheat by the ladybirds *Coccinella septempunctata* und *Harmonia axyridis* was studied in climate chambers and a laboratory climate chamber experiment. Previous experiments showed that *C. septempunctata* realised the highest predatory effects at 25°C. However, usually these values were achieved only for a few hours per day in June when aphid outbreaks occur.

In the present experiments, two different temperature regimes were used: 18.7°C (day: 16 h 22°C, night: 8 h 12°C) and 21.7°C (day: 25°C, night: 15°C). The first temperature regime corresponds to current temperatures in Central Germany during June and the second one ran at 3 K temperature increase. Both climate regimes had a short dry stress period (reduced watering during G.S. 73–75). The climate chamber experiment was conducted with four treatments (control, aphids (*Sitobion avenae*), + *C. septempunctata*, + *H. axyridis*) and eight replicates (caged pots with each 18 wheat tillers) in each temperature regime. Population dynamics were weekly monitored.

Surprisingly, the temperature regimes did not differ in infestation development although previous investigations showed that the aphid populations are optimally growing at approx. 22°C. The impact of higher dry stress on plants seemed to compensate the impact of increasing infestation in the warm regime. The infestation-reducing effect of coccinellids was similar in both temperature regimes but remarkable (mean –43%). Furthermore, there were no differences observed between the two ladybird species.

The additional laboratory climate chamber experiment was performed to collect data on development time and mortality of eggs, larvae and pupae, furthermore on feeding rates and weights of emerged adults of the two coccinellids at the same temperature regimes. The experiment began with 30 eggs in each temperature variant. The elevated temperature accelerated the development, but no differences between the species were observed. The higher mortality in *H. axyridis* eggs and larvae at normal temperature was contrary to results in another experiment. The absolute feeding rates of both coccinellids were clearly higher (by 30 and 33% respectively) at elevated temperatures. In both temperature regimes *C. septempunctata* adults fed on significantly more aphids than those of *H. axyridis*. While *H. axyridis* fed on more aphids per mg body weight than *C. septempunctata* at normal temperature, both coccinellids species consumed approx. the same prey amount at elevated temperatures.

Finally, the results have not yet shown a relative benefit from elevated temperatures to one of the two coccinellids and natural control.

Aerial dispersal of spiders in Middle East Germany – Modelling of meteorological and seasonal parameters

M. Rensch, C. Volkmar, J. Spilke

Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Faculty of Natural Sciences III, Institute for Agricultural and Food Sciences, Germany

For the last years, there has been a growing awareness of the role of spiders acting as natural enemies of insect pests in agro-ecosystems. But often the spider density in a field is affected by crop management and pesticide use. So the migration from source areas is important for the efficiency of natural pest control by spiders. But little is known on how weather parameters influence the composition and number of long-term flights of spiders. From April to October 2003, airborne spiders were collected at a height of 12.2 meters using a Rothamsted insect survey trap in Aschersleben (Saxonia-Anhalt). In parallel, meteorological conditions were continuously measured at the bottom of the trap. In addition, the year

was subdivided into three subsequent periods to account for different life cycles of spider species as well as the cultivation of the agroecosystem. The composition of the aeronautic spider fauna was dominated by four distinct families. First analyses show that Linyphiidae (42%, 2003), Theridiidae (35%, 2003), Tetragnathidae (9%, 2003) and Araneidae (8%, 2003) compose the prevalent spider species. The sexual ratio of aeronautic spiders showed 77.4% juvenile, 9.2% male and 13.4% female animals.

A generalized linear mixed model in SAS is used to calculate which meteorological aspects have a significant impact on long distance flights of spiders depending on family, sex, species, and seasonal changes. First modelling data indicate different preferences of spider families as well as males and females with regard to weather parameters and time of flight during the year.

The model will be used to further elucidate the possible use of airborne spiders as biomarkers for integrated crop management and organic farming to reduce insecticide expenditure. In addition, it will allow predicting recolonisation rates and migration tendencies.

Domestication of nematodes for use in plant protection

R.-U. Ehlers

Department for Biotechnology and Biological Control,
Institute for Phytopathology, Christian-Albrechts-University
Kiel, Germany; ehlers@biotec.uni-kiel.de

Entomopathogenic nematodes (EPN) are important biocontrol agents used against grubs, weevils, chrysomelids (western corn rootworm), sciarids, tipulids, thrips, lepidopterans and other pest insects. Since they can be produced in liquid culture, the product costs have been significantly reduced. EPN possess many attributes which make them excellent biocontrol agents. They are safe to humans and the environment and providing they are applied at favorable environmental conditions they can easily reach or even surpass control results obtained with chemical insecticides. However, several traits could be improved to even better exploit their potential for pest control. Improvements can be achieved by genetic selection. The reproduction potential in liquid culture of *Heterorhabditis bacteriophora* has already been improved and yields have increased from 100,000 to over 300,000 dauer juveniles per ml. A pre-requisite for success of genetic selection is a high heritability of a trait, which is reasonably high for traits like reproduction potential and tolerance to high temperature and desiccation. Desiccation tolerance is measured as survival at water activity (aw-value) below one. Through genetic selection the mean tolerated aw-value was reduced from 0.95 to 0.81. Several wild type strains have been characterized and the most tolerant strain tolerated an aw-value of 0.77. The best 10% of the population even tolerated 0.61. These will now be crossed into the foundation strain. Domestication using genetic selection and cross breeding to improve beneficial traits in EPN is a powerful technique to further enhance the tolerance of EPN to environmental extremes and thus increase their control potential and shelf life.

Use of entomopathogenic nematodes against the western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*)

R.-U. Ehlers¹, S. Toepfer², U. Kuhlmann²

¹ Department for Biotechnology and Biological Control, Institute for Phytopathology, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Germany ; ehlers@biotec.uni-kiel.de

² CABI – Bioscience, Rue de Grillons 1, 2800 Delemont, Switzerland;

Since the introduction of the western corn rootworm (WCR) into Germany in July 2007, effective control measures must be used to reduce the further establishment of the invasive pest. These rules are laid down in EU Directive 2006/565/EC. In 2008 maize seeds had been treated with Clothianidin. Translocation of this active ingredient to flowers in the vicinity of the corn fields caused a severe mortality among bees. As a consequence the authorisation of Clothianidin has been suspended since May 2008. Transgenic corn with resistance to WCR larvae has not yet been authorized in the EU. An alternative control measure is the use of entomopathogenic nematodes (EPN). Among all EPN tested, *Heterorhabditis bacteriophora* came out best in laboratory and field evaluations. During the last three years more than 20 field trials in Hungary and Austria have produced excellent control results for *H. bacteriophora*. EPN can be applied at 1.5 billion per hectare (10^9 EPN/ha) during sowing or when the WCR larvae occur in May/June. Plants were infested with 150 WCR eggs per plant. Adult reduction ranged from 50 to 80% and root damage was reduced below the economic damage level. Finally, *H. bacteriophora* is an appropriate and safe agent to control the WCR and can substitute the use of Clothianidin in German maize production.

Influence of chitosan on selection behaviour, mortality and development of *Frankliniella occidentalis*

J. Meyer, H.-M. Poehling

Institute of Plant Diseases and Plant Protection, Leibniz
University Hannover, Germany

(No abstract)

Parasitoids as natural enemies of pests on oilseed rape: Key species and adaptation of cultural practices for enhancing biological control

N. Neumann, B. Ulber

Georg-August-University Goettingen, DNPW, Entomology,
Germany; nneuman@gwdg.de

Populations of economically important pests of winter oilseed rape (OSR) are regulated to some extent by specialist solitary larval endoparasitoids (Hymenoptera: Ichneumonidae). Levels of parasitism commonly range between 20 to 50%, occasionally exceeding 80%. Husbandry techniques such as insecticide application and tillage may have adverse impact on the abundance of parasitoids. As parasitoids overwinter in the soil of OSR fields post-harvest, they may be affected by tillage before sowing the following crop.

In field experiments comparing different tillage treatments after harvest of OSR, the abundance of adult pollen beetle parasitoids (*Tersilochus obscurator* and *Phradis interstitialis*) emerging in the following spring was significantly reduced by ploughing or rotary harrowing as compared to tillage by grubber or direct drilling. Damage to parasitoids may result mainly from shifting the parasitoid cocoons deeper into the soil by ploughing or from direct damage by rotating tines of the rotary harrow.

Parasitoids are mainly active in crops of winter OSR during flowering. Consequently, they are particularly vulnerable to insecticides applied during this period. Field experiments were conducted to study the effect of lambda-cyhalothrin and thiacloprid on the abundance and effectiveness of parasitoids on winter OSR. In insecticide treated plots, the level of parasitism of pollen beetle larvae was significantly reduced compared to untreated plots. Parasitism of cabbage stem weevil and rape stem weevil by *Tersilochus obscurator* and *T. fulvipes*,

respectively, did not differ significantly between treated and untreated plots. While parasitoids of *M. aeneus* are mainly foraging for their hosts on top of crop canopy, parasitoids of stem weevils are active close to ground level, where they are less exposed to insecticide sprays due to the filtering effect of flowers and leaves.

Side-effects of pesticides used in the integrated production of apples in Brazil on the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) (Neuroptera: Chrysopidae)

A. Grutzmacher¹, J. Just², H. Vogt²

- ¹ Federal University of Pelotas (UFPEL), Department of Phytosanitary, Faculty of Agronomy "Eliseu Maciel", Pelotas-RS, Brazil; anderson.grutzmacher@pq.cnpq.br
- ² Julius Kühn-Institute, Institute for Plant Protection in Fruit Crops and Viticulture, Dossenheim, Germany; heidrun.vogt@jki.bund.de

The green lacewing *Chrysoperla carnea* (Neuroptera, Chrysopidae) is a cosmopolitan foliage-dwelling predator found in a wide range of agricultural habitats. Our study aimed at providing information on the effects of pesticides commonly used or in test in Brazil in apple orchards on all developmental stages of *C. carnea*. We examined direct mortality and sublethal effects, and persistence for harmful products. The experiments were carried out using standard methods developed by the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". We tested the maximum field recommended rate of three insecticides: Delegate[®] WG (a.i. Spinetoram), Entrust[®] 80 W (a.i. Spinosad), Actara[®] 250 WG (a.i. Thiamethoxan); five fungicides: Unix[®] 750 WG (a.i. Cyprodinil), Shirlan[®] 500 SC (a.i. Fluazinam), Systhane[®] E.C. (a.i. Miclobutanil), Mythos[®] SC 300 (a.i. Pirimetanil), Nativo[®] SC 300 (a.i. Tifloxystrobin + a.i. Tebuconazol); one acaricide/insecticide: Vertimec[®] 18 EC (a.i. Abamectin) and one fungicide/acaricide: Kumulus[®] DF (a.i. sulphur). Four of the pesticides affected survival of *C. carnea* on treated glass plates: Actara[®] caused 100% mortality in larvae and adults (IOBC class 4). Delegate[®] was moderately harmful to adults (class 3), even if applied at one-third rate, whereas to larvae, it was slightly harmful (class 2) at full rate and harmless (class 1) at one-third rate. Entrust[®] was harmless (class 1) to larvae, but moderately harmful (class 3) to adults. Nativo[®] was slightly harmful (class 2) to larvae, and harmless (class 1) to adults. In all larval exposure tests with high adult emergence rate, reproduction was consistent with the control. Regarding persistence of the three insecticides, Actara[®] was highly persistent, causing 100% mortality for >30 days. Delegate[®] and Entrust[®] caused only low mortalities to larvae on 3-day old residues (12.5% and 6.3%, respectively). Eggs and pupae in their cocoons were not affected by these insecticides.

Who's who of beneficials and the potential use of diagnostic molecular markers to improve their characterization

A. Herz

Julius Kühn-Institute, Institute for Biological Control, Darmstadt, Germany; annette.herz@jki.bund.de

The 2008 update of the "List of biological control agents widely used in the EPPO region", published by EPPO, and of the catalogue of beneficials ("Nützlinge in Deutschland"), published by the JKI, list 91 and 89 species (including nematodes), respectively, which are commercially produced for use in biological control. Correct identification of these species is an essential prerequisite for their efficient mass rearing and use. It is also a requirement in countries where a regulation of

invertebrate biological control agents has already been implemented. Species determination based on morphological traits requires to consult an official expert for the particular taxon. Molecular diagnostic tools can help to facilitate species identification also for non-experts, to allow differentiation among strains and to check species identity on mass production and for quality control. A search in the GenBank database revealed that for most of the 89 species currently sold in Germany, one or several relevant nucleotide sequences (mtDNA: Cytochrome oxidase I & II, 16S & 12S rRNA coding regions; nuclear rDNA: 18S & 28S rRNA coding regions, internally transcribed spacers ITS1 & ITS2) are published. The level of intra- and inter-specific divergence of these markers needs to be explored before their usefulness for species differentiation is proven. Whereas ITS2 sequences of about one third of the 160 species in the genus *Trichogramma* are known, only a few species of the genus *Amblyseius* are recorded in GenBank and information on most of the other taxa is incomplete. "DNA-barcoding" of species by exploration of a 658-bp fragment of the mitochondrial COI gene as molecular marker as suggested by the "Barcode of Life Initiative" may be a useful concept to accumulate the needed information for important beneficials rather quickly. At this stage, 9 species of *Trichogramma* and 4 species of *Amblyseius* are registered in this archive.

Control of a new spider mite in indoor areas

B. Jäckel, J. Moldnar

Plant Protection Service Berlin, Germany; barbara.jaeckel@senstadt.verwalt-berlin.de

In a city like Berlin the cultivation of indoor plants is a new service and an important contribution to the income of horticulture. The arrangement of indoor plants is varying very much and combines tropical and subtropical plants or trees.

Danger arises from the introduction of unknown animal inhabitants of plants as a result of the world-wide import of big-plants from other continents for modern indoor greening. Despite intensive control by the plant quarantine service it is not always possible to detect potential pests on import, when they hide in leaf-axes and partially under the bark at very low population density. After planting, monitoring is inalienable over a longer period to discover the inhabitants early. Often intensive diagnosis is required.

Control of these new pests is especially complicated with indoor plants. Chemical methods often must not be applied, and biological control methods are not practicable or known.

In a building with indoor plants in Berlin we had found a spider mite on *Cinnamomum camphora*. As the spider mites' population increases, it will move to the upper surface of the leaves. The leaves will be damaged and fall. Identification of the spider mite species has not yet been finished.

The Plant Protection Service Berlin has developed a method for mass rearing of the new spider mite, using another host plant - *Aesculus hippocastanum*. It is used to test biological control methods. *Amblyseius cucumeris*, *Amblyseius degenerans*, *Amblyseius californicus*, *Amblyseius swirskii*, *Typhlodromus pyri*, *Phytoseiulus persimilis* were tested under laboratory conditions. *Amblyseius californicus* reduced the spider mite on plants sufficiently.

Field test of the impact of four insecticides on European earwig, *Forficula auricularia*, in an apple orchard

H. Vogt¹, J. Just¹, A. Grutzmacher^{1,2}

- ¹ Julius Kühn-Institute, Plants, Institute for Plant Protection in Fruit Crops and Viticulture, Dossenheim, Germany; heidrun.vogt@jki.bund.de

² Federal University of Pelotas (UFPEL), Department of Phytosanitary, Faculty of Agronomy "Eliseu Maciel", Pelotas-RS, Brazil; anderson.grutzmacher@pq.cnpq.br

The European earwig *Forficula auricularia* (Dermaptera: Forficulidae) is an important predator of psyllids and aphids, including the woolly apple aphid. Resurgence of the latter pests is often connected to the use of pesticides which harm earwigs. A field test was carried out in 2008 with four new-generation insecticides used in apple production (CALYPSO – a.i. 480 g/l thiacloprid, SPINTOR – a.i. 480 g/l spinosad, STEWARD – a.i. 300 g/kg indoxacarb and TEPPEKI – 500 g/kg flonicamid) to study their effects on earwig populations. Earwigs are nocturnal and hide in shelters during the day. We installed bamboo tubes as artificial shelters.

Each shelter was made from three tubes glued together. The tubes were open at one end and closed at the other by the internodium. The shelters were fixed to the tree trunk in vertical position with their closed end to the top to protect them against rain. Once the shelters were well occupied by earwigs, and earwigs were in the 4th instar, the insecticides were applied (4 replicates of 7 trees per plot); control plots were left untreated. The numbers of earwigs in the shelters of 5 trees per plot were assessed for up to 10 weeks post-application by knocking the earwigs out of the tubes, collecting them in a plastic bag and photographing them for later counts from the digital images. Immediately afterwards, the earwigs were released back to the appropriate tree. All insecticides caused significant reductions (Henderson & Tilton) in the earwig numbers as compared with control populations. Within two weeks post-application, reductions were most pronounced for indoxacarb with a maximum of 76%, followed by thiacloprid with 60%, spinosad with 59% and flonicamid with 48%. Six weeks post-application, the population effects were still about -50% for indoxacarb and thiacloprid, and were reduced to about -30% for flonicamid and spinosad.

Pathogenicity of three entomopathogenic fungi against different stages of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*

A. Ali, H. Sermann, C. Büttner

Humboldt University of Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Section of Phytomedicine, Germany; helga.sermann@agrar.hu-berlin.de

The objective of this study is to determine the pathogenicity of three entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium muscarium* and *Paecilomyces fumosoroseus* to eggs, old larvae and adults of *C. capitata* under laboratory conditions.

The fungi were pathogenic to the emerged flies (3×10^6 conidia/cm²; 25°C and 70% R.H). After 14 days, 66% of flies were dead through *L. muscarium* and 74% through *B. bassiana*. The lowest mortality of 49% caused *P. fumosoroseus* in comparison to the control with 13%. In case of *L. muscarium* about 63% of dead flies were moulded. Mouldiness was high (85%) by *B. bassiana* and low (20%) by *P. fumosoroseus*.

The old larvae were average sensitive to the entomopathogenic fungi. After treatment with *L. muscarium* and *B. bassiana* (2×10^6 sp/cm²) the emergence of adults was reduced to 46% and 44% respectively in comparison to the control with 74%.

The eggs were not susceptible and the emerged larvae from the treated eggs were not infected and could develop to pupae. *P. fumosoroseus* caused the highest mortality (32%) among the fungi.

These results indicate that *B. bassiana* and *L. muscarium* were highly pathogenic to the adult stage and have mid pathogenicity to the larval stage of *C. capitata*.

Key words: Pathogenicity, entomopathogenic fungi, Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium muscarium* and *Paecilomyces fumosoroseus*.

Persistence of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* Zare & Gams under outdoor conditions

S. Lerche, H. Sermann, C. Büttner

Humboldt University of Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Section of Phytomedicine, Germany; lerche74@hotmail.com

Positive results from laboratory trials to prove the effectiveness of the entomopathogenic fungus *L. muscarium* against endophytic damaging larvae of the horse chestnut leafminer moth *Cameraria ohridella* DESCHKA & DIMIC led to following outdoor trials. One aspect of the test was to determine the persistence of the fungus, which was used as commercial product Mycotal® (Koppert, NL) and as strain V24 from the Phytomedicine Department. Different variants tested several spore concentrations and the influence of an oil-containing addit (Koppert, NL). The trial took place on 3 years old horse chestnut seedlings. Persistence was determined 1, 7, 14 days past application of the suspension (dpa) through the numbers of colony forming units (cfu) after impressing the leaves on agar plates.

Despite most unfavourable weather conditions, the fungus could be detected until 14 dpa, with differences between the variants. The application of the fungus led to moulding of larvae within the mines.

The sporulation results prove the ability of the fungus to germinate, infect and kill the larvae followed by growth and sporulation on the cadaver under outdoor conditions. Furthermore, the results show the persistence of *L. muscarium* on the plant leaves during trial.

Further investigations follow.

Behaviour and development of *Clitostethus arcuatus* (Coccinellidae, Scymninae)

(Video documentation)

U. Wyss

Institute of Phytopathology, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Germany; uwyss@phyto.med.uni-kiel.de

The behaviour and development of *Clitostethus arcuatus* (Rossi), a small indigenous ladybird beetle, known to predate on whitefly species, was recorded on tobacco leaves that were heavily infested by the greenhouse whitefly *Trioletodes vaporariorum*. The video documentation (duration 14 minutes) first shows adult beetles searching for prey. Preferred stages of attack are young and old puparia, the brim of which is cut open by the strong and sharp mandibles of the beetle. Food removal from the injured puparia is assisted by pronounced extra-oral digestion. Body contents are gradually dissolved by repeated regurgitations until the puparia are sucked dry within about 20 minutes. Subsequent sequences show the mating behaviour of the beetles and the hatching processes of 1st instar larvae (L₁ larvae). When deposited eggs are surrounded by numerous eggs and crawlers, the hatched larvae start feeding on them even before the cuticle has completely hardened. Older 1st instar larvae (as well as all other larval instars) have orange gut contents that shrink to small spots after defaecation. All instars (L₁-L₄) show a characteristic locomotion pattern when in search for prey. They attach the end of their abdomen (pygopodium) by a rubbing action onto the leaf surface, then stretch their body and search by moving

their head sideway in different directions. In the absence of prey, the pygopodium is detached, pulled forward half way and attached again. In this way locomotion resembles that of caterpillars of geometrid moths. The moulting process is shown for all larval instars. L₁ and L₂ larvae usually feed on crawlers and occasionally also on eggs, the contents of which are sucked dry within a few minutes. L₃ and L₄ larvae prefer older nymphal whitefly instars as prey. In every case food removal by the larvae is accompanied by extensive extra-oral digestion. The film ends with sequences that show the pupation process and the emergence of young beetles from the pupa.

The film was presented by J. Rademacher (Katz Biotech AG, Baruth).

Remarks on the biology of *Encarsia tricolor* parasitoid of the cabbage whitefly (*Aleyrodes proletella*)

(video documentation)

O. Zimmermann¹, U. Wyss², J. Leopold

- ¹ Julius Kühn-Institute, Institut for Biological Control, Darmstadt, Germany; olaf.zimmermann@jki.bund.de
- ² Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institute of Phytopathology, Germany

The cabbage whitefly (*Aleyrodes proletella*) (Hom., Aleyrodidae) is one of the most important cabbage pests in Germany. Its control is very difficult because insecticide

spraying cannot cover the cabbage plant completely. The development of the pest mainly takes place on the under-surface of the leaves. After spraying, the pest recovers in a relatively short time due to its high reproduction rate. Host plants are all kinds of cabbage (*Brassica* sp.), but also damage to ornamental plants (*Pointsettia*) has been reported. Biological antagonists of *A. proletella* are predators such as *Clitostethus arcuatus* (Col., Coccinellidae) and several parasitoids of the genus *Encarsia* (Hym., Aphelinidae) with the indigenous species *E. tricolor*, *E. inaron* and at a lower abundance *E. formosa*.

The video documentation (13 1/2 minutes) shows the biology of the cabbage whitefly. The sexual dimorphism of the adults, egg clusters, the crawling first-stage nymphs and older nymphal stages are documented as well as an emerging adult from a pupa. The parasitization of the nymphal stages 3-4 and puparia of the cabbage whitefly by *E. tricolor* is shown as well as the host-feeding behaviour that represents another mortality factor for the pest apart from parasitism. The pupae of *E. tricolor* and *E. formosa* are remarkably different. The male development of *E. tricolor* clearly shows ectoparasitic characteristics, which needs further investigation.

Currently there are several ongoing studies on the biological control of the cabbage whitefly by *E. tricolor*. In Northern Hesse, cage and field studies, including netting as a mechanical control method, showed a low efficacy. However, in the Upper Rhine Valley released parasitoids could establish and control the pest.

The DVD video documentary of a host-parasitoid-system is intended as an educational tool to present the basic biology of a new biological control method.

Mitteilungen und Nachrichten

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

Tagung des DPG-Arbeitskreises „Phytobakteriologie“ – 2008

Am 4. und 5. September 2008 war der Arbeitskreis Phytobakteriologie der DPG mit seiner jährlichen Tagung in den Räumen der Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau (LVG) in Erfurt zu Gast. Herr Dr. Ralph-Peter NUSSBAUM von der Thüringischen Landesanstalt hatte die Organisation vor Ort übernommen und perfekt durchgeführt. 21 Vorträge mit Themen aus der molekularbiologischen Forschung bis zur angewandten Phytobakteriologie boten den ca. 40 Teilnehmern einen Überblick über das Fachgebiet und ein reiches Spektrum an Informationen. Abgeschlossen wurde die Veranstaltung durch eine Führung über das Freigelände der Versuchsanstalt, wo weitere phytobakteriologische Fragen am Objekt diskutiert werden konnten.

Für den AK Phytobakteriologie:
stellvertretende AK-Leiterin Dr. Esther MOLTSMANN
(LTZ Augustenberg, Außenstelle Stuttgart)

Die Zusammenfassungen einiger Vorträge werden im Folgenden wiedergegeben.

Identifizierung und Differenzierung von *Erwinia amylovora* und epiphytischer Erwinien mit PCR Analysen (Identification and differentiation of *Erwinia amylovora* and epiphytic Erwinias by PCR analyses)

Isabel GEHRING¹, Klaus GEIDER²

¹HIP Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 360, 69120 Heidelberg
E-Mail: IGehring@hip.uni-heidelberg.de

²Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Schwabenheimer Straße 101, 69221 Dossenheim

Die Verbreitung des Feuerbrands (*Erwinia amylovora*) kann durch die Besiedlung der Blüten von Kernobstbäumen durch epiphytische, nicht-pathogene Erwinien verringert werden.

Ein wichtiges Kriterium für den Einsatz von Antagonisten zur biologischen Kontrolle des Feuerbrands ist ihr Überleben auf der Blüte. Voraussetzung für notwendige Populationsuntersuchungen ist die Identifizierung der einzelnen Bakterienarten auf der Blüte. Für die Identifizierung von Erwinien mittels PCR wurden die konservierten Sequenzen von „house keeping“-Genen, wie zum Beispiel *recA* (Rekombinase A) oder *gpd* (Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase), untersucht. Innerhalb der Sequenzunterschiede wurden spezifische Primer gewählt, die in der 3' Sequenz nur für eine Erwinienart spezifisch sind. Mit dieser Methode konnten *E. amylovora*, *E. tasmaniensis*, *E. billingiae*, *E. mallotivora*, *E. persicina*, *E. psidii*, *E. pyrifoliae* und *E. rhapontici* mit Hilfe einer „two step PCR“ unterschieden werden. Mittels PCR wurden die Epiphyten auf Blüten im Freiland identifiziert und durch RealTime-PCR quantifiziert. In Freilandversuchen wurde mit dieser Methode untersucht wie lange die eingesetzten Epiphyten auf der Blütenoberfläche überleben und in wieweit sie sich auf benachbarte Bäume verbreiten.

Sequenzunterschiede finden sich auch innerhalb *E. amylovora* Stämmen. Der amerikanische *E. amylovora* Stamm Ea273 unterscheidet sich geringfügig vom deutschen *E. amylovora* Stamm Ea1/79. Ein „Single Nucleotid Polymorphism“ (SNP)

befindet sich im *galE* Gen. Zur Unterscheidung dieser beiden *E. amylovora* Stämme wurde die selbe PCR Technik angewandt, wie zur Identifizierung der Epiphyten. Die getesteten amerikanischen und kanadischen *E. amylovora* Stämme geben in der PCR nur mit den für Ea273 spezifischen Primern ein Signal, die europäischen und neuseeländischen *E. amylovora* Stämme nur mit den für Ea1/79 (isoliert in Deutschland) spezifischen Primern. Es könnte also ein Zusammenhang zwischen diesen Befallsgebieten bei der weltweiten Verbreitung des Feuerbrands bestehen.

(DPG AK Phytobakteriologie)

Die Feuerbrandantagonisten *Erwinia tasmaniensis* und *E. billingiae* in Labor- und Feldversuchen (The fire blight antagonists *Erwinia tasmaniensis* and *E. billingiae* in lab and field studies)

Marina GERNOLD, Isabel GEHRING, Annette WENSING, Klaus GEIDER

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Schwabenheimer Straße 101, 69221 Dossenheim
E-Mail: Marina.Gernold@jki.bund.de

Bei den Bekämpfungsversuchen in der Feuerbrandversuchsanlage Kirschgartshausen wurden u. a. auch die epiphytischen Bakterien *Erwinia tasmaniensis* und *Erwinia billingiae* eingesetzt. In den Jahren 2007 und 2008 zeigte der *E. tasmaniensis*-Stamm Et1/99 eine gute Hemmwirkung im Bereich von 65 % bei der Reduktion der Symptombildung. *E. billingiae* Eb661 war in dieser Beziehung deutlich weniger effektiv, obwohl der Stamm in Laborversuchen mit Blüten und auf Scheiben unreifer Birnen der Wirkung von *E. tasmaniensis* entsprach. *E. billingiae* kann von Pflanzenoberflächen gut isoliert werden und ist auch in nekrotischem Gewebe nach Feuerbrandinfektionen als Sekundärflora vorhanden, während *E. tasmaniensis* vor allem in Blüten vorkommt. Die Genom-Sequenz beider Antagonisten wurde in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin bestimmt und aus einigen chromosomalen Abschnitten spezifische PCR primer abgeleitet. Damit lassen sich nicht nur Bakterien-Populationen an Pflanzen auf Vorkommen der Antagonisten testen, sondern durch Sequenzierung der PCR-Fragmente auch Stammunterschiede feststellen. *E. tasmaniensis* aber auch *E. amylovora* produzieren eine Substanz mit Absorption von kurzwelligem Licht. Nach Bestrahlung von Zellkulturen wurden Überlebensraten von *E. tasmaniensis* und *E. billingiae* bzw. *E. amylovora* Wildtyp und eine Mutante im *ycfA*-Gen verglichen.

(DPG AK Phytobakteriologie)

Kastaniensterben in Nordrhein Westfalen: Blutende Kastanien durch neuen Krankheitserreger (Bacteria as possible causal agent of Horse Chestnut bleeding canker)

Monika HEUPEL

Landwirtschaftskammer Nordrhein Westfalen, Pflanzenschutzdienst, Siebengebirgsstr. 200, 53229 Bonn
E-Mail: monika.heupel@lwk.nrw.de

Im Jahr 2006 ist erstmalig ein neues Krankheitssymptom an Rosskastanien (weißblühende und rotblühende Rosskastanie) in Nordrhein Westfalen häufiger beobachtet und intensiver untersucht worden. Die Symptome wurden an einzelnen Bäumen aber auch in Alleen beobachtet.

Auffällig für das neue Schadbild sind einzelne blutende Stellen sowie Risse und Dellen am Hauptstamm sowie an den Ästen. Typisch ist die Laubaufhellung infizierter Rosskastanienbäume. Mit zunehmender Erkrankung ist das Welken und Ab-

sterben einzelner Äste und ganzer Bäume zu beobachten. Betroffen sind einerseits junge 5 bis 15 Jahre alte Bäume und ebenso mehrere Jahrzehnte alte Bestände mit großem Stammumfang.

Als Krankheitserreger wurden Bakterien der Spezies *Pseudomonas syringae* isoliert und identifiziert. Infektionsversuche durch eine niederländische Arbeitsgruppe haben die Infektiosität des Erregers inzwischen bestätigt. Eine Auswahl der isolierten Bakterienkeime wurde molekularbiologisch untersucht. Die Identität der Keime mit den Sequenzen der niederländischen und belgischen Isolate wurde nachgewiesen.

In Nordrhein Westfalen sind bisher insgesamt 119 Proben von Rosskastanien mit typischen Schadsymptomen auf Krankheitsbefall durch Bakterien untersucht worden. In insgesamt 45 Untersuchungen konnten Bakterien der Art *Pseudomonas syringae* aus den Symptomen isoliert werden. Bislang ist kein Befall in Baumschulen aufgetreten.

Das Ausmaß der Schäden in Nordrhein Westfalen ist besonders groß in einigen Ruhrstädten und insgesamt im Westen des Landes. Derzeit stehen zur Bekämpfung von Bakteriosen keine direkten Maßnahmen zur Verfügung. Für sämtliche Schnitt- und Fällmaßnahmen wird eine Desinfektion der Werkzeuge empfohlen, um der Verschleppung von Erregern vorzubeugen.

(DPG AK Phytobakteriologie)

Infektionsquellen des Feuerbrands (*Erwinia amylovora*)

Esther MOLTSMANN

Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg – Außenstelle
Stuttgart, Reinsburgstr. 107, 70197 Stuttgart
E-Mail: esther.moltmann@ltz.bwl.de

Der Infektionszyklus des Feuerbrands im Frühjahr beginnt damit, dass ein geringer Teil der überwinternden Canker (Rindenbrandstellen des Vorjahres) aktiv wird und Feuerbrandbakterien in die Umgebung abgibt. Sie gelangen auf die offenen Blüten, vermehren sich dort bei entsprechender Witterung und rufen schließlich die gefürchteten Blüteninfektionen hervor. In 2007 und 2008 war eine Cankeraktivität an Birn- und Apfelbäumen mit Vorjahresbefall während der Birnen- bzw. Apfelblüte durch Abtupfen mit Wattestäbchen nachweisbar. Die Oberfläche der aktiven Canker war dabei in 2007 auffällig feucht, in 2008 dagegen unauffällig trocken. Wie Untersuchungen in 2006 bereits zeigten, können auch Blüten befallener Birnbäume frühe Infektionsquellen sein. In 2008, nicht aber in 2007, konnten diese Beobachtungen erneut gemacht werden. Während der Birnenblüte war die Witterung so ungünstig, dass nach den Prognosemodellen Blüteninfektionen nicht möglich waren. Trotzdem wurde mit Hilfe einer nested PCR in noch ungeöffneten Blüten im Ballonstadium und später auch geöffneten Blüten Feuerbrandbakterien nachgewiesen. Erste infizierte Blüten wurden bereits bei Blühbeginn gefunden. Die Feuerbrandbakterien waren auch in Blüten benachbarter Apfelbäume und im von dem beprobten Birnbaum abtropfenden Regenwasser nachweisbar. In Blüten von Apfelbäumen, Weißdorn und Quitte mit Vorjahresbefall dagegen wurden in 2008 keine Feuerbrandbakterien gefunden. Erst als die Prognosemodelle Infektionsgefahr angaben, waren sie in Apfelblüten einer Anlage nachweisbar. In der Praxis der Feuerbrandbekämpfung stellen befallene Birnbäume durch die frühzeitige Besiedlung der Blüten durch Feuerbrandbakterien eine große Gefahr für benachbarte Apfelanlagen dar. Langjährige praktische Erfahrungen mit der Abwehr des Feuerbrands bestätigen die Befunde.

(DPG AK Phytobakteriologie)

Biologische Feuerbrandkontrolle mittels Bakteriophagen und Bacteriocinen (Biological fire blight control with bacteriophages and bacteriocines)

Ina MÜLLER, Wilhelm JELKMANN, Klaus GEIDER

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen,
Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Schwabenheimer
Straße 101, 69221 Dossenheim
E-Mail: Ina.Mueller@jki.bund.de

Das Bakterium *Erwinia amylovora* ruft u. a. bei Äpfeln, Birnen und Quitten Feuerbrand hervor und verursacht dadurch große Ertragseinbußen. Eine Bekämpfung ist durch das Antibiotikum Streptomycin möglich, das jedoch zur Anhäufung von Antibiotika-Resistenzen führen kann und dessen Anwendung in Europa daher streng reglementiert ist. Eine weitere Möglichkeit zur biologischen Bekämpfung ist der Einsatz von *Erwinia*-spezifischen Bakteriophagen oder Bacteriocinen.

Verschiedene in Nordamerika isolierte *E. amylovora*-spezifische Bakteriophagen, wurden auf einen abweichenden Wirtsbereich für Isolate des Feuerbrandersregers untersucht. Eine EPS-Depolymerase in der Phagenhülle kann die EPS-Kapsel der Bakterien abbauen. *E. amylovora*-Stämme mit hoher EPS-Produktion waren gegenüber Phagen besonders empfindlich. Wie durch PCR und Restriktionsenzymverdau sowie durch Sequenzanalysen (in Kooperation mit dem MPI für Molekulare Genetik, Berlin) gezeigt werden konnte, bestehen im Genom der Bakteriophagen zum Teil deutliche Unterschiede. Auf Grundlage der Sequenz der Phagen phi-Ea1h und phi-Ea116 wurden verschiedene PCR-Primerpaare synthetisiert, die u. a. im Depolymerase-Gen der Phagen binden. Mit den PCR-Signalen und den vorhandenen Nukleotidsequenzen ließen sich die Phagen in mindestens zwei Gruppen einordnen.

Die Effizienz der Phagen wurde in Verdünnungen auf Apfelblüten und unreifen Birnen getestet. Beim Birnentest zeigte einer der untersuchten Phagen eine deutliche Reduktion der typischen Feuerbrandsymptome. Aufgrund starker Schwankungen in den Kontrollen waren Blütentests nicht klar auszuwerten.

Das von einem der Phagen produzierte Lysozym führte nach induzierter Expression in *E. coli* und *E. amylovora* zu einer deutlichen Reduktion der Zellzahl. Das Enzym schädigt Gram-negative Bakterien von außen kaum. Daher soll in einem Modellsystem das *lyz*-Gen über einen broad-host range Vektor in eine *E. amylovora*-Population transferiert und dort exprimiert werden. Ein Bacteriocin von *E. coli* hatte auch nach Expression des Gens in *E. amylovora* keinen Effekt auf das Überleben der Zellen.

(DPG AK Phytobakteriologie)

Rückblick auf 25 Jahre Bakteriosenforschung

Georg POSCHENRIEDER, Sigrid THEIL

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz,
Lange Point 10, 85354 Freising
E-Mail: georg.poschenrieder@lfl.bayern.de

Bereits in den frühen 1980er Jahren hat der Seuchenzug des Feuerbrandersregers (*Erwinia amylovora*) bayerisches Gebiet erreicht. Dies war der eigentliche Anlass, sich von 1983 an in der Abteilung Pflanzenschutz der ehemaligen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau – jetzt Landesanstalt für Landwirtschaft – schwerpunktmäßig mit pflanzlichen Bakteriosen zu beschäftigen. Im Lauf der Jahre wurden unzählige Praxisproben aus ganz Bayern zur bakteriologischen Untersuchung eingereicht, hauptsächlich von den Beratern der Ämter für Landwirtschaft und Forsten, der Erzeugerringe des Landeskuratoriums für pflanzliche Erzeugung (LKP), von den Kreisfachberatern für

Gartenkultur und Landespflege der Landratsämter, von der Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau Veitshöchheim, der Forschungsanstalt für Gartenbau Weihenstephan sowie von Privaten (Züchtern, Landwirten, Gärtnern, Hobbygärtnern). Dabei wurde dank einer immer besseren bakteriologischen Diagnostik eine Vielzahl von Bakteriosen nachgewiesen, darunter einige, deren Auftreten zum ersten Mal für Deutschland dokumentiert worden ist: Bakteriosen an Zierpflanzen (z. B. Lobelien, diverse Stauden), Gemüse (z. B. Aubergine, Petersilie, Rucola), Gehölze (z. B. Himbeeren, Kulturhaseln) sowie Getreide (Weizen, Gerste).

Da bakterielle Schaderreger auch für den Kartoffelanbau eine ständige Bedrohung darstellen, wurde ihnen von Beginn an erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt. So wurden in den späten 1980er Jahren erste Fälle der Bakteriellen Ringfäule (Erreger: *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*) und – ab Mitte der 1990er Jahre – der Schleimkrankheit (Erreger: *Ralstonia solanacearum*) in Bayern festgestellt. Durch die jahrelange konsequente Umsetzung der Bekämpfungs- und Vorsorgemaßnahmen wurden Befallsherde wirksam getilgt, so dass eine flächenmäßige Ausbreitung dieser gefährlichen Quarantänebakterien in den bayerischen Kartoffelanbaugebieten nachhaltig verhindert werden konnte.

Neben den Untersuchungen zur Epidemiologie des Ringfäuleerregers begannen 1997 erste Erhebungen über das Vorkommen des Schleimkrankheitserregers in bayerischen Oberflächengewässern und ufernah wachsenden Wildkräutern in Regionen mit Kartoffelanbau sowie in der Nähe von Kartoffelverarbeitungsbetrieben. Die Ergebnisse des mehr als zehnjährigen Monitorings zeigten, dass zwar nur einzelne Gewässer (10 von insgesamt etwa 70) abschnittsweise mit dem Erreger kontaminiert sind, aber aufgrund zahlreicher Funde von latent infizierten Wirtspflanzen (z. B. Bittersüßer Nachtschatten, Große Brennnessel, Ufer-Wolfstrapp) mit einer permanenten Belastung der betroffenen Gewässer gerechnet werden muss. Daher wurden sogenannte Allgemeinverfügungen erlassen, die eine Beregnung und Bewässerung von Kartoffel- und Tomatenpflanzen mit Oberflächenwasser aus den kontaminierten Gewässerabschnitten verbieten.

In den zurückliegenden Jahren wurde systematisch eine Stammsammlung für die wichtigsten, in Deutschland auftretenden bakteriellen Schaderreger aufgebaut. Ziel war es, jederzeit authentische Referenzkulturen z. B. zur Durchführung von Resistenzuntersuchungen, bei der Weiterentwicklung und Validierung von Diagnoseverfahren oder für die Prüfung von Desinfektionsmitteln zur Verfügung zu haben. Im Lauf der Zeit wurden zahlreiche Bakterienisolate in Amtshilfe – bisweilen auch im Austausch – an Universitätsinstitute, Fachhochschulen, Forschungsanstalten und Pflanzenschutzämter für wissenschaftliche Zwecke (z. B. zur Anfertigung von Promotions- und Diplom- bzw. Masterarbeiten) abgegeben.

Zusammenfassend lässt sich im Rückblick auf 25 Jahre Bakteriosenforschung feststellen, dass bakterielle Pflanzenkrankheiten ubiquitär sind und den Anbau wichtiger landwirtschaft-

licher und gärtnerischer Kulturen ernsthaft gefährden können, wie es etwa das Feuerbrandjahr 2007 der breiten Öffentlichkeit vor Augen führte.

(DPG AK Phytobakteriologie)

***Erwinia rhapontici* und *E. persicina* als geeignete Antagonisten gegen Feuerbrand?** (*Erwinia rhapontici* and *E. persicina* as control agents against fire blight?)

Annette WENSING¹, Matthias ULLRICH¹, Isabel GEHRING², Klaus GEIDER²

¹Jacobs University Bremen, School of Engineering and Sciences

²Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Dossenheim,

E-Mail: a.wensing@jacobs-university.de

Ein potentieller Biokontrollorganismus muss nicht nur gute antagonistische Eigenschaften aufweisen, er sollte sich auch als Epiphyt etablieren können um die Wirtspflanze über einen längeren Zeitraum schützen zu können. In vielen Studien wird daher gezielt in der natürlichen Umgebung des Pathogens nach geeigneten Antagonisten gesucht. Unter den Bakterien, die Apfelblüten besiedeln, isoliert man immer wieder auch *Erwinia rhapontici* und *E. persicina*. Beide finden sich sowohl auf symptomlosen Blüten, als auch auf anderen Pflanzenteilen und scheinen eine gute epiphytische Fitness aufzuweisen. Auch ihre nahe Verwandtschaft mit *E. amylovora* macht sie als mögliche Antagonisten zur Feuerbrandbekämpfung interessant. Allerdings sind sowohl *E. persicina* als auch *E. rhapontici* als Pflanzpathogene beschrieben worden (Blattflecken an Leguminosen, verfärbte Samen bzw. Fäule an Rhabarber). Um zu überprüfen, inwieweit hier ein Ausbringen der Bakterien bedenklich ist, wurden die Typstämme *E. persicina* CFBP3622 und *E. rhapontici* CFBP3618 sowie einige Freilandisolate auf ihre Phytopathogenität hin untersucht. Keimungsversuche (Weizen, Kresse, Bohne) sowie unterschiedliche Inokulationsmethoden an Bohnenpflanzen und Rhabarber führten weder zu verminderten Keimraten noch zur Ausbildung von Symptomen. Auch verursacht keiner der getesteten Stämme eine hypersensitive Reaktion (HR) auf Tabak (cv. Samsun), auch nicht nach Inkubation in Inducing Medium. Eine PCR Analyse mit gegen hrpL gerichteten Primern lieferte kein Produkt für *E. persicina*, in *E. rhapontici* zeigten sich mehrere Banden, die durch Sequenzierung weiter untersucht wurden.

Da keiner der beiden Typstämme eine HR verursacht, stellt sich die Frage, inwiefern es sich bei *E. persicina* und *E. rhapontici* um eine einheitliche Gruppe von phytopathogenen Bakterien handelt. Möglicherweise gibt es für diese Arten sowohl phytopathogene als auch epiphytische Isolate, oder aber es handelt sich bei den beschriebenen Bakteriosen um ein opportunistisches Verhalten der Bakterien an bereits geschädigtem Pflanzengewebe. Dass es sich bei den genannten Typstämmen um eigenständige Phytopathogene handelt, ist ohne ein funktionelles hrp System unwahrscheinlich.

(DPG AK Phytobakteriologie)

Report on the Annual Meeting of the Working Group Phytobacteriology 2008

The working group “Phytobakteriologie” (phytobacteriology) of the Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft (German Phytomedical Society, DPG) met on 4–5 September 2008 at the Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau (LVG) in Erfurt. The meeting was perfectly organized by Dr. Ralph-Peter Nussbaum of the Thüringische Landesanstalt. The 21 reports ranged from molecular biological research to applied phytobacteriology and presented a nice overview over our field and a rich spectrum of information to the 40 participants. The meeting concluded with a guided tour of the station’s experimental fields and greenhouses where phytobacteriological problems could be discussed in more detail.

Prof. Dr. Matthias Ullrich (Jacobs University Bremen) and Dr. Esther Moltmann (Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg, Stuttgart)

Identification of transcriptional regulators responsible for the temperature-dependent expression of *Pseudomonas syringae* levansucrase gene

D. Zhurina¹, A. Arndt², H. Weingart¹, M. Brocker³, M. Bott³, B. Eikmanns² & M. Ullrich¹

- 1 School of Engineering and Sciences, Jacobs University Bremen, Bremen, Germany; d.zhurina@jacobs-university.de
- 2 University of Ulm, Ulm, Germany
- 3 Institut für Biotechnologie 1, Forschungszentrum Jülich, Jülich, Germany

Production of virulence factors, such as toxins and exopolysaccharides, in a temperature-dependent manner plays a crucial role in virulence and epiphytic fitness of pathogenic bacteria. In the plant pathogenic bacterium, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* PG4180, synthesis of the exopolysaccharide levan is mediated by 2 levansucrases, encoded by *lscB* and *lscC*. Expression of these genes is temperature-dependent: maximum mRNA production occurs at 18°, when the pathogen is highly virulent, and is repressed at 28°, its optimal growth temperature. The exact mechanisms of levansucrase gene expression regulation remain to be uncovered.

Our results suggest the presence of at least three regulatory proteins involved in temperature-dependent expression of *lscB* in *P. syringae*. Two of them belong to the growing family of H-NS-like proteins and seem to have repressor functions by binding to the *lscB* upstream sequence under non-inductive conditions (i.e. 28°C). The third regulatory protein termed LscR seems to counteract repression by blocking DNA binding of the 16-kDa HNS-like repressor. This data are supported by the Northern Blotting results, which imply that changeable binding ability and not presence of the repressors determine levansucrase expression. Mutant construction and analysis in order to prove this hypothesis are underway.

Detection and differentiation of *Erwinia* species by MALDI-TOF analysis of proteins from whole cells

K. Geider¹, A. Freiwald² & S. Sauer²

- 1 JKI, Institute for Plant Protection, Dossenheim, Germany; klaus.geider@jki.bund.de
- 2 MPI for Molecular Genetics, Berlin, Germany

The genus *Erwinia* comprises phytopathogenic and non-pathogenic species. The latter can be applied for competition of *E. amylovora* to control fire blight. The species *Erwinia tasmaniensis* and *E. billingiae* were isolated from the apple and pear flora. *E. persicina* has been isolated from many plant surfaces, *E. rhapontici* was often detected in lesions from fire blight and both may also be suitable as fire blight antagonists. We designed specific PCR primers for detection and differentiation of *E. amylovora* and *E. pyrifoliae*, causing Asian pear blight, and also of *E. billingiae* and *E. tasmaniensis*. TaqMan probes can identify simultaneously *Erwinia* species by real-time PCR in bacterial samples from flowers treated for control of fire blight. For fast detection and differentiation of strains of *Erwinia*-species, the protein patterns of whole cells were analyzed by MALDI TOF profiles. This only requires over night cultures in nutrient broth to obtain cell pellets stored in 70% ethanol for detection of protein masses in a mass spectrometer. The patterns were analysed with a software program developed by Bruker Daltonik (Leipzig) and matched for differentiation of *Erwinia* species in a dendrogram. For identification of strains in the genus *Erwinia*, patterns were matched in a score scheme. MALDI TOF analysis is useful for rapid identification including *E. amylovora* and *E. rhapontici* from plant tissue, whereas real-time PCR allows quantitative determination of strains in the genus *Erwinia* even at a low bacterial level.

Influence of pH on growth and survival of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*

D. Greilinger & U. Persen

Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), Institute of Plant Health, Spargelfeldstr. 191, 1190 Vienna, Austria; doris.greilinger@ages.at

To exploit alternative ways for limiting the spread of the plant disease fire blight without using antibiotics, it is important to understand the mechanisms known to hinder bacterial plant infection. One such mechanism used for preventing blossom infection with *Erwinia amylovora* in pomiculture is the reduction of external pH. pH-reducing buffers in combination with antibacterial compounds constitute the effective properties in several commercially available plant protection products. Thus, we were interested in the effects of different pH-conditions on *E. amylovora* growth and survival. Research questions addressed were if pH-preferences for growth are species- or strain-specific and if strain-aggressiveness correlates with pH-sensitivity in *E. amylovora*. Preliminary results indicate general pH-preferences for growth of *E. amylovora* irrespective of the host plant species. The comparison of bacterial growth at a slightly acidic pH, however, indicates a relationship between sensitivity to acid pH and the strain aggressiveness reported in the literature. These findings give rise to further questions about the adaptability of *E. amylovora* to pH-stress and the consequences of pH-adaptation on its infectivity. In the long run the adaptive capability of *E. amylovora* will influence the efficiency of pH-reduction as one mechanism for preventing fire blight infections.

TolC contributes to resistance towards phytoalexins and is involved in virulence of *Erwinia amylovora*

N. Al-Karablieh, H. Weingart & M. Ullrich

School of Engineering and Sciences, Jacobs University
Bremen, Bremen, Germany; n.alkarablieh@jacobs-
university.de

The enterobacterium *Erwinia amylovora* causes fire blight on several plant species with economic importance such as apple and pear. Infected plants produce phytoalexins, i.e. flavonoids, isoprenoids, and alkaloids as biochemical defense mechanisms against pathogens. A successful pathogen develops resistance mechanisms to combat the effect of these toxic compounds. The outer membrane protein, TolC in *E. amylovora*, might mediate resistance toward these phytoalexins through its interaction with AcrAB. To prove this hypothesis, a single *tolC* mutant and a double mutant of *acrB-tolC* were constructed in *E. amylovora* strain 1189. The minimal inhibitory concentrations of different antimicrobial compounds and phytoalexins were determined for these mutants in comparison to the wild type and *acrB* mutant. Results indicated that the mutants were considerably more susceptible than the wild type but similar to the *acrB* mutant suggesting that both, AcrAB and TolC, might interact in expelling toxic compounds in *E. amylovora*. All mutants and the wild type elicited hypersensitive reactions on tobacco plants demonstrating that the type III secretion system was not affected by mutations of *tolC* or mutation of *acrB-tolC*. Both Survival and virulence assays on apple plants showed that the pathogenicity and the ability of *E. amylovora* to colonize plant tissue are impaired by single mutation of *tolC* and double mutation of *acrB-tolC*. Comple-

mentation of mutants restored the phenotypes as the wild type. Our results strangely suggest that TolC as outer membrane protein play an important role as a virulence factor of *E. amylovora* in resistance towards apple phytoalexins through its interaction by AcrAB to form AcrAB-TolC complex and it is required for successful colonization in a host plant.

Recent studies on the biocontrol of fireblight (*Erwinia amylovora*) with BIOZELL 2000 B, an etheric oil of *Thymbra spicata*

W. Zeller, K. Abo-Elyousr & O. Yegen

Julius Kühn-Institut, Institut für biologischen Pflanzenschutz,
Darmstadt; bi@jki.bund.de

Latest results with the natural product based on an etheric oil of thyme, BIOZELL 2000B, which was developed with Turkish colleagues (YESEN et al. 2002) will be presented. The natural compound was tested on the efficacy against fireblight (*Erwinia amylovora*) and on its resistance induction activity. For the studies M26 apple rootstock was used as host plant. Moreover as marker of resistance in physiological studies enzyme activities of β -glucosidase and PR-protein (chitinase) were estimated. The treatment with BioZell-2000B resulted in a marked reduction of the disease index. This was correlated with a decreasing effect on the growth of bacteria during the course of infection. In the physiological studies significant changes in the activities of β -glucosidase and chitinase were found after treatment. Thus the biocontrol effect was correlated with a resistance induction in the host plant of the apple rootstock M26.

MITTEILUNGEN

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

Arbeitskreis Integrierter Pflanzenschutz - Projektgruppe Krankheiten im Getreide

Die 21. Tagung der Projektgruppe (PG) Krankheiten im Getreide des Arbeitskreises (AK) Integrierter Pflanzenschutz fand am 11. und 12. Februar 2008 im Julius Kühn-Institut - Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen in Braunschweig statt. Schwerpunktthemen waren u. a.: Ährenfusariosen und Mykotoxine in Getreide, Fungizidresistenz, nichtparasitäre und *Ramularia*-Blattflecken an Gerste.

Die nächste Tagung ist am 2. und 3. Februar 2009 in Braunschweig geplant.

(PG-Leiter: Dr. Helmut TISCHNER, Freising)

Die Zusammenfassungen der Vorträge werden im Folgenden wiedergegeben.

Produktabhängige Prozesse der Belagsbildung und Belagsverteilung bei der Spritzapplikation von Fungiziden

Heribert Koch

DLR-RNH, Rüdeshheimer Str. 66, 55545 Bad Kreuznach
E-Mail: heribert.koch@dlr.rlp.de

Videoaufzeichnungen des Anlagerungsprozesses von Spritztröpfchen während der Ausbringung von Pflanzenschutzmitteln zeigen einen enormen Effekt des Pflanzenschutzmittels. Auf Grund der Formulierung werden die Flüssigkeitseigenschaften zum Teil erheblich beeinflusst, so dass je nach Produkt sehr geringe Belagsmassen und sehr geringer Bedeckungsgrad entstehen oder aber auch hohe Anlagerungsraten und hoher Bedeckungsgrad infolge der Spreitung der anhaftenden Tropfen. Eindeutig zeigen Belagsmessungen höhere Belagsmassen bei grobtropfiger Applikation. Der Bedeckungsgrad bei den Rapsfungiziden kann bei ca. 2 % oder bei 90 % liegen. Die angelagerte Stoffmenge kann sich um den Faktor 5 unterscheiden. Beispielhaft wurden solche Videoaufzeichnungen mit Fungiziden an Raps, Weizen und Weinreben durchgeführt. Dabei wird sehr deutlich, wie die Oberflächeneigenschaften des Zielobjekts und die Flüssigkeitseigenschaften zu sehr unterschiedlichen Belagsstrukturen führen. Ebenso wurde der Effekt von Zusatzstoffen aufgezeichnet. Bei einigen Produkten werden Belagsmasse und Bedeckungsgrad erhöht, bei anderen kann es unmittelbar zum Abfließen kommen. Deshalb können allgemeine Aussagen zum Zusatz von Additiven nicht getroffen werden. Es erhebt sich insgesamt die Frage, welche Bedeutung diese Unterschiede hinsichtlich der biologischen Wirksamkeit haben. Weitere Informationen siehe: www.Pflanzenschutz.rlp.de

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Fungizidresistenz im Getreidebau - Übersicht zur Situation in Deutschland

Friedrich G. Felsenstein und Bernhard Jaser

EpiLogic GmbH, Hohenbachernstraße 19-21, 85354 Freising, Deutschland
E-Mail: Friedrich.Felsenstein@epilogic.de

Im Rahmen eines bundesweiten Ringprojekts wird alljährlich ein Resistenzmonitoring im Getreide durchgeführt. Die Untersuchungen ermöglichen auch eine Analyse der Anpassungsdy-

namik sowie eine Abschätzung künftiger Entwicklungen. Die Erhebungen erfassen die Mehlauf Formen bei Weizen, *Triticale* und Gerste, den Weizenbraunrost, *Septoria tritici*, DTR sowie Netzflecken an Gerste. Die Stichproben werden entweder mittels einer Sporenfalle direkt aus der Luft während der Fahrt durch das jeweilige Anbaugelände gewonnen, oder es wird auf Proben aus Feldbeständen zurückgegriffen. Im Labor kommen biologische sowie molekulargenetische Analyseverfahren zur Anwendung.

Strobilurine. Die Resistenzbildung gegenüber dieser Wirkstoffgruppe unterliegt einem monogenen Steuerungsmodus und dementsprechend einer potentiell starken Anpassungsdynamik. Bei der Mutation G143A, die eine sehr stark ausgeprägte Resistenz hervorruft, kann dies bei einem Vorkommen in der regionalen Pilzpopulation von > 50 % zur vollkommenen Wirkungslosigkeit, auch bei empfohlener Aufwandmenge, führen. Beim Weizenmehltau finden sich in Deutschland bereits seit Jahren vielerorts solch hohe Häufigkeiten. Allerdings stehen bei Mehltau genügend Wirkstoffalternativen zur Verfügung. Bei *Septoria tritici* hingegen, wo ebenfalls inzwischen allgemein Häufigkeiten nahe oder > 50 % vorliegen, bieten sich gegenwärtig nur wenige Wirkstoffalternativen an. Ähnlich sieht es beim Pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* aus, das in Nord- und Mitteldeutschland ebenfalls bereits höhere Populationsanteile an G143A aufweist. Beim Weizenbraunrost und bei der Netzfleckenkrankheit an Gerste trat hingegen die Mutation G143A überhaupt noch nicht in Erscheinung. Neben der Mutation G143A finden sich bei einigen Erregern auch noch die Mutationen F129L und G137R, die jedoch nur eine relativ geringe Resistenz hervorrufen und in Deutschland bisher nur von absolut untergeordneter Häufigkeit und praktischer Relevanz sind.

SBI's (Azole und Morpholine). Hier ist die polygene Steuerung bei der Resistenzbildung die Grundlage. Um immer resistenter zu werden, muss der Pilz immer mehr dafür notwendige Gene in sich akkumulieren. Diese Art der Anpassung vollzieht sich deshalb grundsätzlich nur schrittweise („Shifting“) und oftmals recht langsam über Jahre. Zusätzlich sind aufgrund genetischer Rekombination biologische Grenzen im Anpassungspotential gesetzt. Ein starker Wirkungsverlust ist deshalb eher selten zu beobachten. Über die Jahre, nach einer Phase der Anpassung, folgte bisher immer eine Stabilisierung(sphase) in einer Art Seitwärtstrendkanal, in dem sich dann das Sensitivitätsniveau je nach Selektionsdruck auf und ab bewegt. An mehreren Beispielen (Weizenmehltau - Azol, Weizenmehltau - Morpholin, *Septoria tritici* - Azol) lässt sich dies gut darstellen, ebenso die Einpendelung auf einem wirkstoffspezifisch unterschiedlich hohen Anpassungsniveau.

Ausführliche Informationen finden sich unter www.epilogic.de/Aktuelles (Ergebnisbericht)

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Diagnose von *Ramularia collo-cygni*, Auftreten des Blattfleckenkomplexes und die Konsequenzen für die Krankheitsbekämpfung nach den Erfahrungen 2007

Michael Heß und Hans Hausladen

Lehrstuhl für Phytopathologie der Technischen Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Am Hochanger 2, 85350 Freising
E-Mail: m.hess@lrz.tum.de

Der Blattfleckenkomplex bezeichnet eine abrupte Abreife aufgrund des Zusammenwirkens von bestimmten abiotischen und

biotischen Faktoren. Typisch ist das Auftreten auf oberen Blattetagen und eine deutliche Kontrolle, die durch den gezielten Einsatz bestimmter Fungizide erreicht werden kann. Ein starkes Auftreten, wie es in den letzten Jahren zunehmend im Gerstenanbau beobachtet worden ist, verhindert die Ausschöpfung des vollen Ertragspotentials der Pflanzen. Eine zentrale Rolle im Verständnis dieser Abreifeerscheinung spielt das Auftreten des Pilzes *Ramularia collo-cygni*. Die sichere Zuordnung der Symptome mit klassischen Methoden über die Sporulation des Erregers ist jedoch meist erst spät, nach fast vollständiger Nekrotisierung der Blätter möglich. Ergebnisse aus Ringversuchen aus den Jahren 2006 und 2007 zeigen die weite Verbreitung des Erregers. Untersuchungen mit Hilfe von hochsensitiven Methoden (PCR, ELISA) weisen darauf hin, dass dem plötzlichen und massiven Ausbruch der Krankheit eine zum Teil längere Latenz vorausgeht.

Traditionelle Bekämpfungsstrategien und derzeit etablierte Prognosemodelle erfassen den Krankheitskomplex nur unzureichend. Die beste Kontrolle wird durch den gezielten Einsatz bestimmter Fungizide erreicht. Bisherige Untersuchungen zeigen, dass vor allem späte Applikationstermine dieser Fungizide eine gute Wirkung erreichen. Zu diesem Zeitpunkt ist jedoch eine ausreichende Kontrolle früh auftretender Pathogene nicht mehr möglich.

Das Jahr 2007, mit seiner ungewöhnlich warmen Witterung, Trockenphasen und feuchten Abreife, führte zu einem allgemein hohen Krankheitsauftreten über einen langen Zeitraum der Vegetation. Der Einfluss unterschiedlicher Fungizidstrategien auf das Pathogenauftreten und den Ertrag wird vorgestellt. Eine gute Ausschöpfung des Ertragspotentials war nur möglich, wenn über die Pathogenkontrolle hinaus auch der Blattfleckenkomplex berücksichtigt wurde.

Voraussetzung für eine optimierte Bekämpfungsstrategie ist die frühe und sichere Diagnose der relevanten Schaderreger. Der Vergleich verschiedener Diagnosemethoden im Rahmen der Ringversuche zeigt, dass dies bei *Ramularia collo-cygni* mit klassischen Methoden (Sichtbonitur, Binokular) nicht möglich ist.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

EU-Projekt ENDURE und Fallstudie „Weizen“

Marga Jahn und Bernd Hommel

Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Strategien und Folgenabschätzung im Pflanzenschutz
E-Mail: marga.jahn@jki.bund.de

Im Exzellenznetzwerk (NoE) ENDURE (European Network for the Durable Exploitation of crop protection strategies) arbeiten im 6. EU-Forschungsrahmenprogramm - zunächst für den Förderzeitraum 01.01.2007 bis 31.12.2010 - unter der Koordination des INRA (FR) 16 Partner aus zehn europäischen Ländern zusammen. Über Integration, Wissenstransfer und gemeinsame Aktivitäten in der Forschung sollen wichtige Beiträge für Entwicklung und Nutzung von nachhaltigen Strategien im Pflanzenschutz geleistet werden. Insgesamt sind mehr als 250 Wissenschaftler, darunter mehr als 20 aus dem Julius Kühn-Institut (JKI), aktiv beteiligt. Das Aktionsprogramm beinhaltet vier Schwerpunkte:

(a) Integrierende Aktivitäten, d. h. konzeptionelle Arbeiten zur Sicherung einer langfristigen Strategie, Aufbau eines virtuellen Labors, Organisation des Wissenschaftler austauschs, Aufbau einer Wissensdatenbank; (b) Forschungsaktivitäten, d. h. Fallstudien zur Optimierung und Reduzierung des Pflanzenschutzmittelaufwandes in ausgewählten Kulturen, Entwicklung innovativer Pflanzenschutzstrategien, Folgenabschätzung, Vertiefung der Kenntnisse über Wirt-Schaderreger-Systeme; (c) Aktivitäten zur Verbreitung von Wissen, d. h. Pflege der Homepage www.endure-network.eu, Programme zu Trai-

ning und Ausbildung, Aufbau eines ENDURE Information Centre, und (d) Managementaktivitäten im NoE.

Das Institut für Strategien und Folgenabschätzung im JKI ist an der Fallstudie „Weizen“ aktiv beteiligt. Unter dänischer Leitung (Aarhus University) konstituierte sich eine aus acht Partnern (DE, DK, FR, GB, HU, IT, NL, PL) bestehende Gruppe. Neben den Ländern mit intensiver Produktion auf Flächen im siebenstelligen Hektarbereich sind solche mit niedrigerer Anbauintensität und solche mit geringerer, aber intensiv bewirtschafteter Anbaufläche vertreten. Zunächst wurden Informationen zum Krankheitsauftreten und -management zusammengetragen und diskutiert. Im Ranking der am häufigsten auftretenden Krankheiten sind in den meisten Ländern *Septoria*-Blattdürre, Braunrost und Schwarzbeinigkeit dominierend. Weitere wichtige Daten, z. B. das Sortenspektrum im Zusammenhang mit Anbauhäufigkeit und Krankheitsresistenz, wurden erhoben. Der Focus der Studie liegt auf IPM-Strategien, deren Evaluierung und Umsetzung. Nach den bisherigen Erkenntnissen ist die Anwendung von Schwellenwert- und Vorkersagesystemen bei weitem (noch) nicht ausreichend. Nach Ende der Förderung soll in einer europäischen Plattform - „EU-RO-Wheat“ - weiter zusammengearbeitet werden.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Beitrag der Strobilurine zur Bekämpfung wichtiger Getreidekrankheiten

Günter Prigge, Jochen Prochnow und Josef Appel

BASF SE, 67117 Limburgerhof
E-Mail: guenter.prigge@basf.com

Anhand umfangreicher, europaweit durchgeführter Monitoring-Untersuchungen der letzten Jahre, wird die Resistenzsituation wichtiger Getreidepathogene dargestellt.

Bei *Septoria tritici* ist europaweit ein hoher Anteil resistenter Allele mit der Targetmutation G143A nachzuweisen. Dennoch konnte in Feldversuchen gezeigt werden, dass der Strobilurinwirkstoff Pyraclostrobin (F 500) auch bei einem hohen Anteil resistenter Allele in der Gesamtpopulation noch einen Beitrag zur Kontrolle von *Septoria tritici* leisten kann.

Die Ergebnisse des Monitoring-Programms 2006/07 in Schweden, Dänemark, Frankreich und Deutschland zu DTR zeigen, dass in den selben Proben sowohl G143A- als auch F129L-Mutationen vorhanden sein können. Anders als bei *Septoria tritici* verbleibt die Mutation G143A bis jetzt auf stabilem Niveau. In Versuchen 2006/07 zeigten Pyraclostrobin-haltige Spritzfolgen ungeachtet des Resistenzniveaus unverändert gute Feldwirkungen.

Bei Netzflecken konnte bisher nur die Mutation F129L nachgewiesen werden. Selbst an Standorten mit einem sehr hohen Anteil dieser Mutation unterscheidet sich die Feldwirkung von Pyraclostrobin nicht von Standorten ohne Mutation. Es ist weiterhin von einer verlässlichen Feldwirkung auszugehen.

Die europaweiten Monitoring-Ergebnisse zur *Rhynchosporium*-Blattfleckenkrankheit in der Gerste und zu Braunrost in Weizen zeigen sowohl 2006 als auch 2007 keinerlei Veränderungen zu den Vorjahren. Es wurden keine resistenten Isolate gefunden.

Der Braunrost war 2007 europaweit die dominierende Krankheit. An allen Standorten konnten strobilurin-haltige Produkte diesen Erreger überzeugend kontrollieren.

Strobilurine werden ihren wichtigen Platz in der Krankheitsbekämpfung behalten. Sie sollten nur in Kombination mit robusten Aufwandmengen von leistungsstarken Azolen eingesetzt werden.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Auftreten von Braunrost 2007 - Bekämpfung mit verschiedenen Wirkstoffen

Bernd Rodemann

Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland

E-Mail: bernd.rodemann@jki.bund.de

Nachdem in den letzten Jahren bei verschiedenen pilzlichen Blattpathogenen wie *Drechslera tritici-repentis*, *Septoria tritici*, *Drechslera teres* und *Erysiphe graminis* Sensitivitätsverluste bis hin zur Resistenzbildung festgestellt wurden, trat in 2007 *Puccinia recondita* epidemieartig auf. Die vermutete Abnahme der Sensitivität von Braunrostherkünften gegenüber den Azolen und Strobilurinen konnte in europaweit durchgeführten Monitoringstudien nicht belegt werden.

Gründe für das Auftreten dieses biotrophen Schaderregers liegen vielmehr in der milden Witterung des Oktobers 2006, als in den Kulturen Weizen, Gerste, Roggen und Triticale sehr viele Infektionen („Grüne Brücke“) erfolgten. Während der Wintermonate kam es zu keiner Reduktion der *Puccinia*-Population, so dass im Frühjahr 2007 ein hohes Inokulumpotential mit mehr als 80 % befallener Pflanzen im Weizen vorhanden war. Darüber hinaus wurde festgestellt (Lind, BAZ, 2007), dass das bisher wirksame Resistenzgen Lr 37 kaum noch den Befall mit *Puccinia recondita* verhindern kann. Da dieses Resistenzgen in mehr als 50 % der bedeutendsten deutschen Winterweizensorten vorhanden ist, konnte sich diese Krankheit intensiv ausbreiten. Wurden Weizensorten angebaut, in denen mehrere Resistenzgene kombiniert wurden, konnte der Braunrostbefall zufriedenstellend kontrolliert werden.

In Freilanduntersuchungen in der Region Braunschweig-Hannover zur Bekämpfung von *Puccinia recondita* konnte gezeigt werden, dass durch eine Spritzfolge mit einer zweifachen Fungizidapplikation in BBCH 31/32 und 59 in Abhängigkeit von den verwendeten Wirkstoffen ein guter Bekämpfungserfolg zu erzielen war.

Besonders die Behandlungen mit strobilurinholdigen Mitteln (z. B. Diamant oder Amistar) zeigten hohe Wirkungsgrade von über 70 % auf den Blattetagen F bis F-2. Gegenüber einer unbehandelten Kontrolle konnten Mehrerträge von 180-200 % erreicht werden. Abnehmende Sensitivität der *Puccinia*-Population gegenüber den Strobilurinen konnte im Freiland nicht nachgewiesen werden. Auf parallel eingesandten Pflanzenproben wurde sowohl in Biotesten als auch mittels einer PCR-Überprüfung keine Mutation gefunden.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Auftreten von Ährenfusariosen und Mykotoxinen in Sachsen und Ergebnisse der Vor- und Nachernteuntersuchungen von Winterweizen 2007

Andela Thate, Susanne Schumann, Gudrun Hanschmann und Yvonne Urban

Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft

E-Mail: Andela.Thate@smul.sachsen.de

Zur Weizenblüte 2007 lagen optimale Witterungsbedingungen für Ährenfusarium-Infektionen vor. Für befallsgefährdete Flächen wurde deshalb eine Blütebehandlung empfohlen. Schon die visuelle Befallserhebung zur Partiiellen Weißfährigkeit in der Milchreife lieferte dann an mehreren Standorten die ersten Indizien für erhöhte Infektionsraten durch *Fusarien* beim Weizen. Die nachfolgenden, detaillierten Untersuchungen bestätigten ein höheres Befallsniveau als in den Vorjahren und somit ebenfalls höhere Mykotoxingehalte (DON) im Erntegut. Das Niveau des Befallsjahres 2002 wurde jedoch nicht erreicht. Ernteproben mit einem DON-Gehalt über 1250 µg/kg DON

stammten vorrangig von Schlägen mit mindestens 2 Risikofaktoren (z. B. pfluglos bestellte Flächen mit Mais- bzw. Weizen-vorfrucht). Das Ausgangsinfektionspotential war auf solchen Schlägen vermutlich so hoch, dass sowohl die Widerstandskraft relativ „gesunder“ Sorten versagte, als auch die Wirkungsgrade einer gezielten Blütebehandlung nicht ausreichten. Die Aussagekraft von Vorernte-Untersuchungen hinsichtlich der DON-Gehalte wurden 2007 anhand von 38 ausgewählten Weizenflächen überprüft. Zur Vor- und Nachernte wurden parallel die DON-Gehalte jeder Körnerprobe mit der HPLC, dem Fast-DON-ELISA (Fa. R-Biopharm), zwei serologischen Schnelltesten (Fa. R-Biopharm, Fa. Neogen) sowie einer Auszählmethode (nur Nachernte) ermittelt. Wie bereits 2006 bestätigten alle durchgeführten Tests, dass Vorernteuntersuchungen (7 - 10 Tage vor der Ernte) für Weizenschläge sinnvoll sind und der landwirtschaftlichen Praxis in Sachsen empfohlen werden können. Dies gilt insbesondere für *Fusarium*-Risikoflächen, wenn der Landwirt rechtzeitig über eine Separierung von Erntepartien entscheiden muss. Die Übereinstimmung der ermittelten Vorernte-DON-Werte der einzelnen Testmethoden im Vergleich zu den Nachernte-DON-Werten der HPLC lagen zwischen 79 und 87 %. Nur für den Schnelltest der Fa. Neogen ergaben sich größere Abweichungen, so dass dieser Test weiterer Prüfung bedarf. Für den Fast-DON-ELISA ergab der Vergleich mit den HPLC-Ergebnissen zur Vor- und Nachernte eine Übereinstimmung von 85 % bzw. 92 % und somit eine ausreichende Genauigkeit. Damit ist der ELISA für Serienuntersuchungen, beispielsweise bei der aufnehmenden Hand sehr zu empfehlen, da dieses Testverfahren gleichzeitig eine eindeutige, quantitative Aussage ermöglicht. Der Schnelltest RIDA Quick DON (Fa. R-Biopharm) ist gut handhabbar und aufgrund des geringeren technischen Aufwandes etwas preisgünstiger als der ELISA. Der Schnelltest zeichnete sich durch eine hohe Empfindlichkeit aus, die sich in den mit der HPLC übereinstimmenden Ergebnissen von 95 % (Vorernte) und von 85 % (Ernte) der getesteten Proben widerspiegelt. Der Schnelltest wird zur Orientierung bei Einzelfallentscheidungen in der Praxis z. B. bei der Feldbeprobung vor der Ernte empfohlen. Die visuelle Beurteilung der DON-Belastung anhand von Körnerauszählungen (Methode LfL Bayern) ergab 2007 bei der Nacherntebeprobung eine Übereinstimmung von 88 % mit den entsprechenden HPLC-Werten. Als nachteilig ist bei dieser Auszählung die hohe Subjektivität der Auswertung einzuschätzen, die stark vom Wissen und der Erfahrung des jeweiligen Mitarbeiters bestimmt wird. Nur bei sehr niedrigem oder sehr hohem *Fusarium*-Befall kann in der Regel eine akzeptable Aussage getroffen werden. Somit ist die Auszählmethode nur zu einem ersten Screening nutzbar und weitere laboridiagnostische Untersuchungen sind in jedem Fall notwendig.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Fusarium-Vorerntemonitoring 2007 - ein Pilotprojekt des Bayerischen Müllerbundes und der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft

Stephan Weigand und Peter Eiblmeier

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, Lange Point 10, 84354 Freising

E-Mail: stephan.weigand@lfl.bayern.de

Mit der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 sind seit 1. Juli 2006 verbindliche Grenzwerte für Mykotoxine in Getreideerzeugnissen festgesetzt worden. Für das Leittoxin DON sind bei un- verarbeiteter Getreide maximal 1,25 mg/kg erlaubt. Sowohl Landwirte als auch Handel und Verarbeiter haben ein besonderes Interesse, belastete Partien frühzeitig zu erkennen, um ein Inverkehrbringen zu vermeiden. Meist geschieht dies im Rahmen von Qualitätsmanagementsystemen.

Um bereits vor der Ernte eine Abschätzung der DON-Gehalte von Winterweizenpartien in Bayern zu erhalten, wurde 2007

ein *Fusarium*-Vorerntemonitoring als gemeinsames Pilotprojekt des Bayerischen Müllerbundes und der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) durchgeführt. Etwa 7 bis 14 Tage vor der Ernte wurden von insgesamt 73 teilnehmenden Landwirten je Schlag 200 Ähren nach einer Probenahmeanleitung geerntet und zusammen mit einem Schlagdatenblatt zur DON-Analyse an die LfL versandt. Die Auswahl der Landwirte und die Organisation des Versandes wurde vom Müllerbund und den beteiligten 25 Mühlen übernommen.

Die Proben wurden mit der ELISA-Methode gemessen und das Analysenergebnis mit einem Fachkommentar dem Landwirt direkt und in anonymisierter Form über den Müllerbund auch an die Mühlen weitergeleitet. Die Aussagekraft der Vorerntewerte wurde durch eine vergleichende Untersuchung des Erntegutes (Probenahme durch den Landwirt, Messung mit ELISA und HPLC) bewertet.

Auf 47 % der Schläge war Mais die Vorfrucht. 39 % der Betriebe bestellten den Weizen pfluglos, die Kombination Maisvorfrucht und pfluglos trat allerdings nur bei 7 % der Proben auf. Ein vergleichsweise hoher Anteil von 41 % der Betriebe führte ein gezielte *Fusarium*-behandlung durch. Rund 50 % der DON-Werte (sowohl der Ähren- als auch der Ernteproben) lagen unter der Nachweisgrenze der ELISA-Methode (0,11 mg/kg). Damit deutete das Vorerntemonitoring bereits frühzeitig an, was die wesentlich umfangreicheren Nachernte-Messungen im Rahmen der Besonderen Erntermittlung später auch bestätigten, dass 2007 in Bayern kein ausgeprägtes „*Fusarium*-jahr“ war. Auch der Vergleich von Vorernte- und Ernteproben zeigte einen relativ guten Zusammenhang ($r^2 = 0,48$). Dies belegte die grundsätzliche Eignung eines Vorerntemonitorings zur Abschätzung der saisonalen DON-Gehalte. Eine stärkere Regionalisierung war vor allem wegen der geringen Probenzahl, der bayernweit niedrigen *Fusarium*-belastung und der geringen regionalen Variabilität weiterer Risikofaktoren nicht möglich. Das Pilotprojekt wurde sowohl von den teilnehmenden Mühlen als auch von den beteiligten Landwirten sehr positiv beurteilt. Dies konnte durch eine abschließende Fragebogen-Erhebung festgestellt werden.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Sensitivität verschiedener *cyp51* Haplotypen von *Septoria tritici* gegenüber Sterolbiosynthesehemmern

Gerd Stammler¹, Maren Carstensen² und Martin Semar¹

¹BASF AG, Agrarzentrum Limburgerhof

²Universität Würzburg, Julius von Sachs Institut

E-Mail: gerd.stammler@basf.com

Nach der Verbreitung der Strobilurin-Resistenz in *Septoria tritici* sind Fungizide aus der Gruppe der Sterolbiosynthesehemmer die Basis zur Kontrolle dieses Pathogens. In intensiven europaweiten Monitoring-Studien zur Bestimmung der Sensitivität von *S. tritici* gegenüber Azolen konnte in 2003/2004 eine Verschiebung zu höheren ED₅₀ Werten in Mikrotitertests festgestellt werden, die sich in 2006 und 2007 stabilisiert hat.

Mutationen im Targetgen (*cyp51*) werden als ein Grund für erhöhte ED-Werte diskutiert. Mittels *cyp51*-Sequenzierung von mehr als 1000 Isolaten unterschiedlicher regionaler Herkunft konnten mehrere Aminosäureaustausche identifiziert werden. Einige dieser Austausche können singular vorkommen, während andere immer nur in Kombination zu finden sind. Nahezu alle identifizierten Haplotypen lassen sich in zehn Klassen (R-Typen) einteilen, die durch Aminosäure-Austausche an den Positionen 136, 137, 379, 381, 459, 461 und/oder Deletionen an 459, 460 (oder 461, 462) definiert sind.

Analysen verschiedener Versuchsstandorte in Frankreich und Großbritannien ergaben, dass an allen Standorten die *S. tritici*-Populationen Gemische der verschiedenen Haplotypen mit

unterschiedlicher Häufigkeit sind. Diejenigen Haplotypen, die durch die Mutation I381V in Kombination mit der Deletion 459/460 sowie ohne oder mit dem Austausch A379G (Typ R7- bzw. R7+) charakterisiert sind, machen den überwiegenden Anteil der Populationen aus. Wildtyp-Isolate sind nur noch selten zu finden.

Korrelationen des R-Typs mit der Sensitivität (ED₅₀) gegenüber Epoxiconazol im Mikrotitertest zeigten, dass innerhalb eines R-Typs eine breite ED₅₀-Variabilität besteht. Isolate mit erhöhten ED₅₀ Werten waren meist dem Typ R7+ zuzuordnen, jedoch wurden auch Isolate dieses Typs mit niedriger oder mittlerer ED₅₀ gefunden. Daraus lässt sich folgern, dass der Haplotyp des Targetgens nur einen begrenzten Einfluss auf die Sensitivität gegenüber Epoxiconazol hat.

In Gewächshausversuchen mit Isolaten mit den niedrigsten und höchsten ED₅₀-Werten waren bei Behandlung mit einem Drittel und der vollen registrierten Aufwandmenge von Epoxiconazol keine Wirkungsunterschiede zwischen den Isolaten festzustellen. Zudem wurde in Feldversuchen keine Korrelation zwischen ED₅₀-Werten und der Feldwirkung von Epoxiconazol gemessen.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Vorkommen des *Fusarium*-toxins Deoxynivalenol in pflanzlichen Produkten des ökologischen Landbaus

Elisabeth Oldenburg¹, Herwart Böhm² und Hans Marten Paulsen²

¹Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Pflanzenbau und Bodenkunde, Bundesallee 50, 38116 Braunschweig

²Johann Heinrich von Thünen-Institut (vTI), Institut für ökologischen Landbau, Trenthorst 32, 23847 Westerau

E-Mail: elisabeth.oldenburg@jki.bund.de

Um die Risiken eines *Fusarium*-Befalls und einer damit potentiell einhergehenden Mykotoxin-Kontamination besser einschätzen zu können, wurde ein mehrjähriges Monitoring auf dem ökologischen Versuchsbetrieb Trenthorst der FAL zum Vorkommen von Deoxynivalenol (DON) in Körnerfrüchten, Stroh, Grünland-Aufwüchsen und Futterpflanzen durchgeführt.

Von den insgesamt analysierten Proben (n = 932) aus den Jahren 2003 bis 2005 waren 28 % DON positiv (= 0,22 mg DON/kg). Bei den Körnerfrüchten wurden fallweise in Sommerweizen, Sommergerste, Hafer und Triticale DON-Gehalte im Bereich von 0,23 bis 1,17 mg/kg festgestellt. Die korrespondierenden Strohproben waren dagegen häufiger mit DON bis maximal 5,01 mg/kg belastet. Auch wurden in Gras- und Klee-gras-Mischungen DON-Gehalte im Bereich von 0,23 bis 1,4 mg/kg nachgewiesen.

Aus diesen Ergebnissen lassen sich keine besonderen Befalls- bzw. Kontaminationsrisiken für Produkte des ökologischen Landbaus ableiten.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

Entstehung nekrotischer Blattflecken an Gerste hervorgerufen durch *Ramularia collo-cygni* unter Berücksichtigung der Ontogenese der Pflanze sowie ackerbaulicher Maßnahmen

Andres Schützendübel, Dörte Wallner und Andreas von Tiedemann

Georg-August-Universität Göttingen, Abteilung Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz,

E-Mail: aschuet1@gwdg.de

Der Verlust photosynthetisch aktiver Blattfläche durch nekrotische Blattflecken ist eines der häufigsten Schadsymptome in Getreide. Hervorgerufen werden diese Nekrosen durch abiotische

Stressfaktoren wie Licht oder Pathogene, die nach Penetration und Kolonisation nekrotischen Zelltod im Wirt auslösen. Ein pilzlicher Pathogen, der in den letzten Jahren in Europa an Gerste immer bedeutender wird, ist *Ramularia collo-cygni* (RCC). Es ist wenig über die Interaktion zwischen RCC und Gerste bekannt. Eine erfolgreiche pathogene Interaktion scheint aber vom Entwicklungsstadium der Gerste abzuhängen. Um einen möglichen Zusammenhang zwischen den Altersstadien in der Gerste, dem altersbedingten Zusammenbruch der pflanzlichen Schutzsysteme und einer Entstehung nekrotischer Blattflecken hervorgerufen durch RCC herzustellen, wurden in der Wintergerstensorte Franziska in einem Feldversuch sowohl die pflanzlichen Schutzsysteme, wie auch die Entwicklung von RCC in der Pflanze in den späten Phasen der Ontogenese untersucht. Darüber hinaus konnten im Rahmen eines weiteren Feldversuches erste Erkenntnisse zum Einfluss der Fruchtfolge und Bodenbearbeitung auf die Entstehung und Intensität der RCC Symptomatik in Winter- und Sommergerste gewonnen werden. Mittels eines neu entwickelten *in vitro* System wurde erstmals die Ausbreitung und Penetration von RCC auf Blättern der Sommergerste qualitativ durch Environmental-Elektron-Scanning-Microscopy (ESEM) und quantitativ mit molekularen Methoden verfolgt. Damit konnten wichtige Fortschritte in der Untersuchung zur Inkubationszeit und Entwicklung der Pathogenese von RCC gemacht werden.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

PG RAPS, 19.02.2008

Es wurden keine Beiträge veröffentlicht.

Ergebnisprotokoll der 18. Tagung des DPG-Arbeitskreises Integrierter Pflanzenschutz, Arbeitsgruppe "Schädlinge in Getreide und Mais"

Am 18. Treffen der Arbeitsgruppe am 20. und 21. Februar 2008 im Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) in Braunschweig nahmen etwa 40 Personen teil. Der Teilnehmerkreis setzte sich zusammen aus Vertretern des amtlichen Pflanzenschutzdienstes, von Behörden, der Industrie und der Forschung. Schwerpunkte dieser Tagung waren das Schadaufreten von Maisschädlingen, Getreideblattläusen/BYDV und Weizengallmücken. Darüber hinaus wurden erste Ergebnisse eines Projektes zur Erbsengallmücke vorgestellt.

Bei der vorab durchgeführten Wahl wurde Herr Dr. RODEMANN einstimmig von allen anwesenden DPG-Mitgliedern zum Leiter des Arbeitskreises „Integrierter Pflanzenschutz“ gewählt.

Zu Beginn der Tagung erfolgten **Kurzberichte aus den Bundesländern** zur Populationsdynamik von Schädlingen in Getreide, Mais und Leguminosen, zur wirtschaftlichen Bedeutung der entstandenen Schäden und übertragenen Krankheiten sowie zu aktuellen Problemen. Dabei wurde wiederholt auf die durch Getreideviren verursachten, teilweise erheblichen Schäden im Wintergetreide in 2007 hingewiesen. Insbesondere das durch Getreideblattläuse übertragene BYDV konnte aufgrund des sehr milden Winters stark ausgebreitet werden, da die im Herbst 2006 zugeflogenen Blattläuse in den Beständen überlebten. Bundesweit reagierten die Landwirte im Herbst 2007 mit verstärkter Saatgutbehandlung oder/und Spritzanwendungen mit Insektiziden. In einigen Regionen wurde auch der Saatzeitpunkt vorsorglich nach hinten verlegt, um das Risiko einer Virusinfek-

tion zu vermindern. Insbesondere in Bayern wurde in 2007 ein stärkeres Aufkommen von Zikaden und Getreidehähnchen im Getreide sowie der Gelben Weizenhalmfliege (*Clorops pumilio-nis*) in Randbereichen von Sommerweizen- und Gerstenbeständen festgestellt. Auch bei den Maisschädlingen wurden im Jahr 2007 allgemein erhöhte Flugaktivitäten registriert. Der Maiszünsler breitete sich weiter nach Norden aus, ist aber bislang noch nicht in Schleswig-Holstein nachgewiesen worden. Mittels Pheromonfallen wurden 2007 in Baden-Württemberg und Bayern die ersten Maiswurzelbohrer auf deutschem Boden gefangen.

Maisschädlinge

Herr ZELLNER (LfL Bayern) berichtete in seinem Vortrag über die Diabrotica-Befallsituation in Bayern, dass die Schadtiere in drei Regionen gefunden wurden: Flughafen München (1 Käfer), St. Marienkirchen, Inntal (4 Käfer), Passau, Donautal (236 Käfer). Aufgrund der sehr hohen Anzahl gefundener Individuen in der Donautal-Region sei anzunehmen, dass die Einwanderung erster Käfer bereits in den Vorjahren erfolgte. Auf Österreichischem Gebiet war der Maiswurzelbohrer im Jahr 2007 nur noch 87 km von der Bayrischen Grenze entfernt. Die erforderlichen Quarantänemaßnahmen stießen bei den betroffenen Landwirten auf Ablehnung, da sie durch den Fruchtwechsel erhebliche Verluste bis hin zur Existenzgefährdung erleiden würden. Eine Saatgutbehandlung für Maisflächen in Nachbarschaft zu bisherigen Befallsflächen sowie auf exponierten Flächen wurde empfohlen. Frau MEYER (Feinchemie) stellte einen kombinierten Einsatz der Mittel Pyrinex und Invite EC gegen den Maiswurzelbohrer vor, der sich bereits in Ungarn bewährt hat. Bei Invite handelt es sich um einen Melonenextrakt mit dem Wirkstoff Cucurbitacin, der als Lockstoff und Fraßstimulator dient. Herr FELKE (JKI) informierte über den Start eines Kooperationsprojektes unter Beteiligung des JKI, der ProPlant GmbH sowie den Pflanzenschutzdiensten mehrerer Bundesländer zur Erstellung eines softwaregestützten Prognosemodells zur Verbesserung der Bekämpfung des Maiszünslers. Dabei sollen folgende biologische Daten erhoben werden: Falterschlupf (in Schlupfkäfigen), Falterflug (Lichtfalle), Ersteiablage (Eiablagekäfig), Eiablage und Larvenschlupf (tägliche Bonitur auf Pflanzen). Das Modell ist ausgelegt für ganz Deutschland. Ziel ist die Optimierung des Bekämpfungszeitpunktes und der Bekämpfungsentscheidung. Herr KRÜSSEL (LWK Niedersachsen) berichtete über die Etablierung des Maiszünslers in den bekannten Befallsregionen der vergangenen Jahre in Niedersachsen, jedoch wären die Befallshäufigkeiten in 2007 nur sehr gering gewesen. Als problematisch stufte er die Zunahme des Maisanbaus in Niedersachsen ein.

Getreideblattläuse / BYDV

Herr KLÜKEN (Uni Hannover) präsentierte Ergebnisse von Untersuchungen zur Entwicklung eines Vorhersagemodells für die Gradation von Getreideblattläusen. Ziel war es, eine verlässliche Bekämpfungsentscheidung bereits im frühen Entwicklungsstadium (BBCH 51, Fungizidabschlussbehandlung) zu erarbeiten. Bisherige Untersuchungen aus den vergangenen Jahren hatten immer wieder ergeben, dass erst zum Ende der Weizenblüte der günstigste Zeitpunkt für eine Bekämpfungsentscheidung gegen Getreideblattläuse gegeben ist, was jedoch in der Praxis wenig Akzeptanz findet. Die Auswertung umfangreicher historischer und auch eigener Daten ergab dabei einen statistischen Zusammenhang zwischen einzelnen meteorologischen Parametern, wie z. B. den mittleren Temperaturen im Februar oder Daten aus Saugfallenfängen, und dem Auftreten einer Gradation der Großen Getreideblattlaus im Sommer. Eine abschließende Validierung des Modells in der Praxis steht noch

aus. Herr KRÜSSEL (LWK Niedersachsen) wies in seinem Vortrag auf die hohe Belastung des Ausfallgetreides in Niedersachsen mit BYDV hin. Durchschnittlich waren mit 35% erheblich mehr virusbelastete Pflanzen festgestellt worden als im Jahr 2006. Allerdings zeigten die Getreideblattläuse aufgrund der niedrigeren Temperaturen im Herbst 2007 deutlich geringere Flugaktivitäten, so dass die Befallsdichten im Wintergetreide um den Faktor 10 niedriger lagen als im Herbst 2006. Dennoch war die Belastung der jungen Getreidepflanzen mit einem Befallsgrad von 10 bis 15% in unbehandelten Parzellen im Herbst 2007 erheblich höher als 2006, was auf den erhöhten Anteil Virus beladener geflügelter Blattläuse zurückzuführen ist (14% im Gegensatz zu 4,8% im Jahr 2006). Die Artenzusammensetzung unterschied sich nach Auswertung der Saugfallenfänge zwischen den Jahren: 2006 dominierte die Große Getreideblattlaus, 2007 war es die Haferblattlaus. In neuen Untersuchungen des Diagnoselabors wurde festgestellt, dass unter günstigen Bedingungen bis zu 100% der Blattläuse das BYDV übertragen können. Als kürzeste Übertragungszeit wurden 1,5 Stunden ermittelt. Auch in Schleswig-Holstein wurden nach Angaben von Herrn PETERSEN (LK Schleswig-Holstein) im Herbst 2007 umfangreiche Untersuchungen zur Virusbelastung von Pflanzen und Blattläusen in Mais, Ausfallgetreide und den Getreideaussaaten durchgeführt. Ausgehend von einem hohen Ausgangsbefall mit einem großen Anteil an virusbelasteten Blattläusen im Mais und Ausfallgetreide kam es zu einem frühen Zuflug in die Getreidebestände. Dort kam es aufgrund der nachfolgend niedrigen Temperaturen allerdings nicht zu einer stärkeren Ausbreitung des BYDV, so dass eine relativ entspannte Ausgangssituation für das Frühjahr 2008 vorlag.

Nach neueren Erkenntnissen unterscheidet man anhand der Genomorganisation beim Komplex BYDV zwischen zwei Virengruppen (BYDV und CYDV) mit jeweils mehreren Stämmen, wie Herr GÖTZ (JKI) mitteilte. Antiseren zum Nachweis des Virus gibt es mittlerweile für vier Virusstämme. Es werden immer Einzelpflanzen analysiert. Neben den serologischen Nachweisverfahren (ELISA und TPIA) kommt auch das molekularbiologische Verfahren RT-PCR zum Einsatz. Ziel laufender Untersuchungen sei es, ein unspezifisches Nachweisverfahren zu entwickeln. Bei der Untersuchung von Blattläusen ist der Nachweis davon abhängig, welche Blattlausart gefunden wird. Es wurde in der Runde darüber diskutiert, ob eher Mischproben oder Einzelproben analysiert werden sollten. Herr GÖTZ berichtete weiterhin über die Situation der von *Polymyxa graminis* übertragenen bodenbürtigen Viren (drei Virusarten in Europa, z. B. BYMV) im Getreide. Die Virusausbreitung kann nur durch den Anbau virusresistenter Gerstensorten oder von Weizen gehemmt werden. Problematisch ist, dass sich immer wieder neue Virusisolate entwickeln, die Resistenzen brechen können.

Anschließend stellte Herr SCHRÖDER (LVL Brandenburg) Untersuchungen zu den Auswirkungen des Befalls mit BYDV auf verschiedene Getreidearten und Gräser vor. Stark betroffen waren in der Gräservermehrung das Lieschgras und das Wiesenlieschgras. Besonders empfindlich reagierten auch das Sommergetreide sowie Wintergerste und Winterroggen. Immer in Jahren, in denen die Traubenkirschen- oder Haferblattlaus dominierte, gab es in der Vergangenheit stärkere Virusprobleme.

Gallmücken, andere Getreideschädlinge

In einem ersten Vortrag zu diesem Themenkomplex berichtete Frau FEUERHAHN (Dänemark) über ihre Erfahrungen mit der Orangeroten Weizengallmücke in Dänemark. Dort hatten 2007 landesweite Feldversuche sowie ein landesweites Monitoring mit Pheromonfallen an 79 Standorten stattgefunden. Ihre Beobachtung war, dass die Weizengallmücken sich auch erfolgreich über die Nebentriebe der Weizenpflanzen vermehren konnten,

wenn die Haupttriebe das empfindliche Stadium bereits überschritten hatten. Frau FEUERHAHN arbeitete an einem Modell zur Prognose des Weizengallmückenfluges anhand von Temperatursummen. Herr HEIMBACH (JKI) gab einen Überblick über die Ergebnisse des auch 2007 bundesweit durchgeführten Gallmückenringversuchs, in dem ein Monitoring des Fluges per Pheromonfallen sowie umfangreiche Ährenbonituren und Larvenfänge per Weißschalen erfolgten. An nahezu allen Standorten waren zwar relativ hohe Flugdichten, jedoch nur eine geringe Koinzidenz zwischen Gallmückenflug und zur Eiablage geeignetem Entwicklungsstadium des Winterweizens festzustellen. Die Ährenbonitur darf nicht zu früh, aber auch nicht zu spät erfolgen (BBCH 73-79). Das Aufstellen von Weißschalen zum Auffangen der in den Boden abwandernden Larven erscheint sinnvoll. Herr PETERSEN (LK Schleswig-Holstein) zeigte anhand vierjähriger Daten, dass sich die Orangerote Weizengallmücke in S.-H. zunehmend ausbreitet, sich die Pheromonfallen auch in der Praxis für die Feststellung des Gallmückenfluges gut eignen und die Bestände sich durch eine einmalige Behandlung, am besten zu Beginn des Ährenschiebens, auch bei guter Koinzidenz gut gegen Ährenbefall schützen lassen. Die ersten Sattelmücken erschienen in Schleswig-Holstein aufgrund der milden Witterung bereits Ende April. Es folgte dann ein verzerrter Schlupf bis weit in den Juni hinein. Ihre Verbreitung blieb begrenzt mit lokal zum Teil starkem Befallsdruck. Doch auch die Sattelmücken verpassten im Jahr 2007 den günstigsten Zeitraum für eine erfolgreiche Entwicklung. Für ihre Bekämpfung reicht wie bei den Weizengallmücken eine einmalige Insektizidanwendung aus, je nach Befallsflug zwischen BBCH 33 und 47. Gelbschalen oder gelbe Leimtafeln eignen sich für die Feststellung des Flugbeginns der Sattelmücken. Herr TAYLOR (Limagrain-Nickerson) betrachtete die Resistenzsituation verschiedener Weizensorten gegenüber Weizengallmücken. Für die Vergleichsbonituren wendete er in einem Screeningversuch am Standort Rosenthal ein einfaches und effizientes Verfahren an, die so genannte "Dänische Methode". Dabei wurden je Sorte 20 Ähren über Nacht in Plastikbeuteln gelagert und danach die ausgewanderten Larven gezählt. Auch das Aufstellen von Weißschalen (175 cm²) zum Auffangen der abwandernden Larven stellte sich als sehr effektiv heraus. Aktuell wurde die Weizensorte Skalmjeje in Dänemark offiziell als resistent eingestuft. Es gibt Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Fusarium- und Weizengallmückenresistenz. Darüber hinaus berichtete Herr TAYLOR über das Vorkommen und die Verbreitung der auf Weizengallmücken spezialisierten parasitischen Wespe *Macroglenes penetrans*. Frau VOLKMAR (Uni Halle) stellte Untersuchungen zum Befall von Weizenpflanzen mit Thripsen und Weizengallmücken an 95 Sorten vor. Im Vergleich zwischen den Erfassungsmethoden für den Gallmückenflug lieferten Pheromonfallen deutlich bessere Ergebnisse als Weißschalen. Es wurden Ährenproben zur Feststellung des Befalls durch Thripse und Weizengallmücken genommen. Dabei stellte sich als günstigster Zeitpunkt für die Untersuchungen sortenübergreifend das Stadium BBCH 73-75 heraus. Einen hohen Thripsbefall wiesen unter anderen die Sorten Glasgow, Potential und Skalmjeje auf.

Abschließend berichtete Herr MATTHES (LLFG, Sachsen-Anhalt) über die ersten Ergebnisse des UFOP-Projektes Erbsengallmücke, die auch als Projektinfo unter www.isip.de einsehbar sind.

Der nächste Termin des Arbeitskreises für das 19. Treffen wurde auf den 18./19. Februar 2009 festgelegt und findet in direktem Anschluss an die Tagung des DPG-AK Raps im Julius Kühn-Institut in Braunschweig statt.

Gert PETERSEN (LK Schleswig-Holstein)
und Udo HEIMBACH (JKI Braunschweig)

Report on the Annual Meeting of the Working Group Phytomedicine in the Tropics and Subtropics 2008

The working group “Phytomedizin in den Tropen und Subtropen” (Phytomedicine in the Tropics and Subtropics) of the Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft (German Phytomedical Society, DPG) met this year at the annual Conference Tropentag 2008 – International Research on Food Security, Natural Resource Management and Rural Development in Hohenheim. The Tropentag is hosted by the universities of Bonn, Hohenheim and Göttingen/Kassel-Witzenhausen (alternating venues), and organized by the hosting universities in collaboration with the Council for Tropical and Subtropical Research (ATSAP e.V.) and BEAF/GTZ.

The theme of this year’s Tropentag was “Competition for Resources in a Changing World: New Drive for Rural Development”. The conference took place October 7-9, 2008 in Stuttgart, Hohenheim, Germany. Around 850 participants from 72 countries have registered for the conference making it one of the most important international conferences on development-oriented research in Europe.

During the conference more than 400 presentations were given, the majority during the guided poster sessions. Issues related to phytomedicine and plant protection were covered during the oral and posters sessions “Integrated Pest Management” and during the sessions “Biocontrol and natural enemies”, “Biopesticides, Mycorrhiza and others” and “Weeds and Invasive Plants”.

The oral session on “Integrated Pest Management” had a special focus on the activities of the International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE). Presentations from ICIPE focussed on Biological Control of insect pests, including economic and human health aspects, the ‘Convention of Biological Diversity’ and ‘Access and benefit sharing’ issues related to classical biological control.

Next year the Tropentag will take place October 6-8, 2009 in Hamburg.

Dr. Björn Niere (Julius Kühn-Institut, Münster), Prof. Dr. Richard A. Sikora (Universität Bonn) and Dr. Monica Frosch (Regierungspräsidium Giessen)

Overview of ICIPE Research Activities

C. Borgemeister

International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Kenya

Over two-thirds of Africa’s population comprises small-scale farmers, on whose productivity their own socio-economic development, as well as the nutritional security of the urban dwellers, relies. Moreover, smallholders contribute up to 50% of the fruits and vegetables exported from Africa. Therefore, the management of arthropods, which greatly constrain the growth and output of small-scale farmers, is a major factor in enhancing Africa’s development.

A complex of indigenous and invasive borers species ruins between 20–40% of cereal yields, an amount that would be enough to feed 27 million people in the continent. Storage pests, such as the larger grain borer, can inflict losses of up to 90% in maize. The horticultural industry, one of the fastest, and most dynamically growing businesses in Africa falls prey to a plethora of pests, including fruit flies, which ruin up to 50% out of some fruit varieties. In addition, disease vectors, in particular blood-feeding insects and ticks, which transmit

debilitating or fatal diseases, threaten livestock, on which many people in the continent rely for their every day survival.

Bearing in mind that majority of small-scale farmers cannot afford synthetic pesticides, which are in any case often harmful to people and the environment, icipe addresses the complex arthropod-related challenges through the development of affordable, environmentally-friendly, and sustainable strategies. icipe’s regional stemborer biocontrol project has brought down the pest populations by as much as 70%. The Centre’s programmes to control pests of beans, brassicas, tomatoes and a range of horticultural crops, is helping to improve the nutrition and health of smallholders, while at the same time supporting them to comply with strict export regulations for their produce.

In the case of livestock, ICIPE’s has focused on the control of the tsetse menace through the development of repellents, attractants and traps, tailor-made for different African communities including pastoralists such as the Maasai. In pilot field studies, these approaches have shown a 70% reduction in the prevalence of trypanosomiasis, the deadly tsetse-transmitted disease. ICIPE’s research is designed to harness indigenous knowledge, build institutional capabilities and empower communities to exploit the continent’s tremendous potential.

Biological Control of the Diamondback Moth, Reduced Pesticide Use and Impact on Farmers’ Health in Crucifer Production in Kenya and Tanzania

D. Mithöfer¹, A. Jankowski², B. Löhr³ & H. Waibel²

- 1 International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Kenya
- 2 Leibniz Universität Hannover, Institute of Development and Agricultural Economics, Germany
- 3 Independent consultant, Germany

Previous assessments of classical biological control (BC) of the diamondback moth concentrated on the impact of the BC agent, *Diadegma semiclausum*, on production costs, yield and revenue in cabbage production in Kenya and Tanzania. Results showed that BC led to a reduction of pesticide use and increased revenue for farmers who did not use pesticides. Farmers who use pesticides as well as having the BC agent established do not maximise the full benefit of BC due to a negative interaction between the two control strategies. This paper expands the impact assessment to the human health dimension of cabbage farmers first and then extends to kale producers.

The health assessment is based on a random sample of 1250 cabbage farmers from Kenya and Tanzania; the extension covers 249 randomly sampled kale farmers from Kenya. Both surveys capture the production with and without the presence of the BC agent. The analysis is conducted by using a non-linear zero-inflated Poisson regression model.

Results in cabbage production show that the BC agent reduces the incidence of pesticide-related acute illness symptoms within a household by about 20%, all other factors being equal. Use of more toxic pesticides (as per WHO definition) as well as not washing hands after application increase health problems. Surprisingly increased use of protective clothing increases health symptoms, too. However, this is supported by the literature and explained by e.g. inappropriate material for

protective clothing. Preliminary results indicate a higher positive health impact of the BC in kale production since the crop remains longer in the field and thus relies on a higher number of pesticide applications.

In sum, the findings show that by assessing only the direct financial impact of a BC program, the overall impact is underestimated. Findings further stress the need to assign an economic value to such indirect non-financial impacts of an intervention. From a development perspective findings indicate the need to increasing farmers' knowledge on appropriate production systems, which maintain the BC, appropriate handling of pesticides and personal hygiene after spraying.

Classical Biological Control and Access and Benefit Sharing Regimes

F. Haas

ICIPE, Environmental Health Division, Kenya

Based on the assumption that biodiversity is better protected if benefits from its sustainable use accrue to its owner, the Convention of Biological Diversity (CBD) introduced two principles. Firstly, countries have sovereign rights over their biodiversity and thus the right to determine ownership, and secondly, 'Access and Benefit Sharing'. Access to biodiversity should be facilitated provided that Benefits arising from sharing are equitably distributed amongst the involved parties.

These sensible principles are confronted with high expectations of a 'green-gold-rush', i.e. high and direct monetary benefits, which has led to complicated, seemingly stalling, negotiations under the CBD. There is therefore a call for a legally binding international regime against a backdrop of many countries implementing their own legislations on ABS, mainly in expectation of a company developing product which generates monetary benefits over many years.

Clearly, this is not the case in the activities of classical biological control, where natural enemies are established by public research institutes, and in essence, contributing to a public good for all.

Conflicts arise from this mismatch of expectations, in terms of speed of research and biocontrol needs, and documentation, which is felt particularly painful by the biocontrol community as they very much work along the lines of the CBD to the benefit of all. Further, there are international regulations and good practices already in place such as those in the IPPC, suiting the increasing application of biocontrol.

The CBD further assumes a bilateral mechanism for access and benefit sharing, e.g. a country holding a certain species and company or research institute demanding this species. However as many species are distributed over many countries, a multilateral approach is probably more appropriate, such as the one applied in the ITPGRFA.

This talk is to inform a wider scientific public on the issue arising from the ABS regulations and to encourage it to participate in the CBD process. We can only change the situation when we actively approach the decision-makers and national focal points for the CBD/ABS negotiations.

Progress on *Striga* Mycoherbicide Research: Time for Scaling-Up?

A. Elzein¹, J. Kroschel², P. Marley³, B. Fen⁴, A. Avocanh⁴ & G. Cadisch¹

¹ University of Hohenheim, Institute of Plant Production and Agroecology in the Tropics and Subtropics, Germany

² International Potato Center (CIP), Integrated Crop Management Division, Peru

³ Ahmadu Bello University, Institute for Agricultural Research, Nigeria

⁴ International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Biological Control Station, Benin

Striga spp. are presenting severe constraints to cereal and legume production in semi-arid regions of Sub-Saharan Africa. An integrated approach to *Striga* management is required for which biocontrol represents a crucial component. *Fusarium oxysporum* f. sp. *strigae* (isolates Foxy 2 and PSM197) are virulent and potential biocontrol agents against *S. hermonthica*. Extensive research aiming at facilitating and enhancing their field application has been carried out since the last decade. In terms of safety, the isolates are highly host specific to the genus *Striga* only, and do not produce any mycotoxic compounds that present health risks, and therefore their use pose no threat to humans or mammals. Genetic characterisation of these isolates has shown that these isolates are similar and having unique DNA sequences that enabled them to be classified as a new forma specialis (f. sp. *strigae*), which could ensure their bio-safety and thus greatly improve the acceptance of their use as mycoherbicides. Massive production of inoculum of these isolates was optimised based on simple, and low cost methods using locally available agricultural by-products. For practical use, the isolates were developed into Pesta granular formulation or delivered as seed treatment technology. Both delivery technologies showed compatibility and great potential and efficacy in controlling *Striga* under both controlled and field conditions, as well as maintaining excellent shelf-life after one year of storage that would be sufficient for their use under practical conditions of storage, handling and delivery. Integration of these mycoherbicide products (granular and seed coating) showed synergy and enhanced field efficacy with *Striga*-resistant sorghum and maize cultivars, some co-coated fungicides, and demonstrated excellent control efficacy of *Striga* and improved crop performance in West Africa. Thus, these isolates are fulfilling all necessary requirements for being potential mycoherbicide candidates for scaling up to support and enhance the existing *Striga* control measures at farm level in Sub-Saharan Africa. Strategies about how to utilise these progresses to formulate successful integrated *Striga* control methods adoptable and applicable by subsistence farmers will be proposed.

Transaction Costs Analysis of Hired Labour Use in Pest Management: The Empirical Study of Fruit Trees Farming in Thailand

E. Irawan¹, V. Beckmann¹ & J. Wesseler²

¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Department of Agricultural Economics and Social Sciences, Germany

² Wageningen University, Department of Social Sciences, The Netherlands

Pest management is one of important activity in fruit trees farming. Having a look at the detail, it shows that pest management activity involves sort of tasks with distinct attributes. Depending on the strategy being employed, a set of tasks may vary from one to the other farms. Calendar based spraying strategy, for instance, may involve simple tasks such as pesticides spraying, while the others, such as IPM strategies, may consist of wide range set of tasks from simple to the more complex ones. This paper reports empirical investigation of the effect of pest management tasks on the likelihood of hired farm labour employment using transaction costs economic framework. It is argued that the hired farm labors are not randomly assigned to perform pest management tasks, but rather to the tasks that are easier to monitor, applied repetitively, and do not require specific skills. Accordingly, the main

hypothesis we derived is that pest management tasks labeled as IPM strategy is most likely to be performed under farm labour organisation comprised largely of family laborers. The results are summarised as follows: (1) The conditional probability of the form of farm labour organisation shows that (i) pest monitoring seems likely to be family labour business, (ii) pest management tasks labeled as IPM strategy is more likely to be performed under farm labour organisation comprised largely of family labour, and (iii) the use of hired labour seems likely to be under supervision of family labour. (2) Estimates of probit model of durian farming furthermore confirm that the attributes of pest management task is the most important factor determining the likelihood of employing hired farm labour in pest management. However, the estimate of probit model of tangerine farming cannot provide statistical evidence similar to durian farming model due to the less variation of pest management tasks applied by tangerine farm household.

Contribution of *Pseudomonas proradix*[®] and *Bacillus amilolyquefaciens* FZB42 on Healthy Plant Growth of two Tomato Affected by Soil Sickness

Y. Yusran, M. Weinmann, G. Neumann, V. Römheld & T. Müller

University of Hohenheim, Institute of Plant Nutrition, Germany

The use of antagonistic microorganism in biological control of root disease is becoming an important alternative or supplement to chemical pesticides. At present, an increasing number of commercial products based on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) is becoming available world wide. Many of them contain strains of *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., etc. Some biocontrol strategies have been proposed for controlling root pathogens, but practical applications are still limited. This is largely due to the lack of unequivocal answers to key questions concerning the relationship which the biocontrol agent may establish with the plant, and the mechanisms by which it may directly influence the pathogen or indirectly influence the plant's own resistance. Further, single studies have shown the potential of beneficial rhizobacteria to interact synergistically with indigenous, site specific and adapted arbuscular mycorrhiza fungi (AMF).

Single tomato seeds of two varieties (Moneymaker and Hellfrucht Hillmar) were cultivated in pots containing 50 g substrate (Einheitserde Type P, Einheitserde und Humuswerke Gebr. Patzer, Sinntal-Jossa, Germany). Then, the two weeks-old seedlings were transplanted to bigger pots containing 1 kg replant disease soils/sand mixture (3:1). Fertilised with 100 N, 50 P, 150 K, 50 Mg, 0,06 Fe mg kg⁻¹. *Pseudomonas proradix*[®] (Sourcon Padena, Tübingen-Germany) (1,5 × 10¹⁰ cfu l⁻¹) and *Bacillus amilolyquefaciens* FZB42 (Rhizovital ABiTEP, Berlin-Germany[®]) (100 gr/l) or none of both were applied by root dipping.

Soil inoculation with Proradix[®] and FZB42 significantly improved the root and shoot biomass production of the two tomato varieties growing on pathogen-infected soil. Roots of both tomato varieties were not only healthier but also showed a significantly higher colonisation by arbuscular mycorrhiza fungi (AMF), indicating that the AMF infection potential in the soils was not generally low but rather suppressed directly by pathogens or indirectly as consequence of poor root development. The concentration of macro and micronutrients in tomato shoots was higher in the Proradix[®] and FZB42 treated plants when compared to the untreated control. The result obtained suggest an important role of rhizosphere interactions for the expression of bio-control mechanisms by inoculation with effective *Pseudomonas* and *Bacillus* strains independent of simple antagonistic effects.

Allelopathic Effect of Intercropping with Marigold and Common Rosemary on Tomato Early Blight Disease Development

A. Koocheki, L. Alimoradi & G. Azizi

Ferdowsi University of Mashhad, Dept. of Agronomy, Mashhad, Iran

In order to evaluate the allelopathic effects of intercropping with marigold and Common Rosemary on tomato early blight disease development Intercropped systems promote biological diversity, improve the use of natural resources, diminish the risk of crop losses and can provide barriers to the spread of plant diseases. Medicinal plants can grow in intercropping. Common Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and marigold (*Tagetes erecta* L.) are multipurpose crops with remedial, ornamental, medical and pharmaceutical uses, and reported antimicrobial properties. Tomato early blight, caused by *Alternaria solani*, is perhaps the most common leaf disease in this crop and is considered one of the main diseases affecting tomato production in Iran. In this experiment, we evaluated the effects of marigold intercropped with tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and Common Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on *A. solani* on tomato leaf damage in farm condition. Results showed that intercropping with marigold and common rosemary induced a significant ($P < 0.05$) reduction in tomato early blight caused by *A. solani*, by means of two different mechanisms. The first mechanism was the allelopathic effects of marigold and common rosemary on *A. solani* conidia germination. The second way was by altering the microclimatic conditions around the canopy, particularly by reducing the number of hours per day with relative humidity $\geq 92\%$, thus diminishing conidial development. The third mechanism was to provide a physical barrier against conidia spreading. When intercropped with tomato, Common Rosemary plants worked also as a physical barrier and promoted reductions in the maximum relative humidity surrounding the canopy, but to a lesser extent than marigold.

Relationship Between Prevention of Early Damage of Insect Pests and Cotton Yield in Sudan

H. Abdelgader

Agricultural Research Corporation, Crop Protection Research Center, Sudan

Seed treatments promote seedling establishment, help ensure yield and reduce quality losses due to many pests and diseases. Protecting cotton plant from the attack of early-season insect pests and diseases is of prime importance to ensure a healthy and strong establishment of this strategic crop. The present study tried to measure the susceptibility of cotton flea beetles (*Podagrica* spp.), as indicator of early insect pests, to some single and/or mixtures of pesticides as a preventive control measure against early season pests of cotton in Sudan. Two field experiments were planned in the study using a number of seed dressers and two varieties of cotton (Barac 67 B and Barakat 90). Visual counts in the field were used to evaluate the effects of seed dressing treatments. Counting shot holes resulting from flea beetle adults feeding assessed flea beetle damage. Results showed that using the ant microbial bronopol alone did not prevent flea beetle damage. Treatments containing imidacloprid significantly reduced damage in the experiments, but not 10 weeks after sowing in field experiments. The relationship between damage caused through early flea beetle damage and reduction in yield was measured through simple regression analysis. The regression analysis indicated that the correlation coefficient measured between early damage (30 days after sowing) and yield of cotton can

be used to explain third of the variability in yield. However the correlation coefficient was lower when the damage was recorded later (60 days after sowing). The relationship between damage and yield was found to vary between the two varieties tested.

The Consequences of Defoliation of Gum Arabic Tree (*Acacia senegal*) by Tree Locust (*Anacridium melanorhodon melanorhodon*) for the Gum Producers: A Case-Study in North Kordofan State, Sudan

H.M.A. Elamin¹, M. Roth² & M. E. Taha¹

- ¹ University of Kordofan, Department of Gum production, Gum Arabic Research Centre, Sudan
- ² Technische Universität Dresden, Institute of Forest Botany and Forest Zoology, Germany

Gum Arabic is one of the main crops produced in the traditional rain-fed agricultural sector of Sudan. It is a non-timber forest product harvested from gum Arabic tree (mainly *Acacia senegal* var. *senegal*). Gum Arabic provides on average 12% of the gross domestic product of the country and accounts for about 15–10% of the income of the gum producers and other farmers in the gum belt across Sudan, respectively.

The most serious pest of gum Arabic tree is the tree locust *Anacridium melanorhodon melanorhodon* Walker. A study conducted in North Kordofan State focused on the estimation of the degree of defoliation by outbreaks of the tree locust and on socio-economic consequences for local gum Arabic producers. Moreover the study tries to cover the reactions of the local gum producers on tree locust outbreaks and the possibilities for compensation of the (financial) losses.

Defoliation of gum Arabic tree by the pest resulted in a loss of yield connected with a reduction of the benefits to the local communities practicing gum production as one of the main activities. The study showed highly significant differences in crop yield before (183.88 kg ha⁻¹) and after (105.73 kg ha⁻¹) tree locust outbreak. The pest reduced the per hectare benefits from gum production from 292.6 to minus 21.2 Sudanese Pound (SDG). In addition, tree locust outbreak leads to a delay of the tree tapping time from October to January/February due to the effects of the pest on foliage of gum Arabic tree.

The study was considered to be base not only for policy makers to avoid the economical losses but also for more research work concerning the ecology of the insect and the strategies of control.

Quarantine Management on Fruits and Vegetables Eliminating Millipede Infestation Caused by *Spinotarsus caboverdus* (Diplopoda: Odontopygidae)

B. Nascimento¹ & H. Sermann²

- ¹ National Institute for Research and Agricultural Development, Department of Agriculture and Livestock, Cape Verde
- ² Humboldt-Universität zu Berlin, Department of Phytomedicine, Germany

The demand for a good quality of native fruits and vegetables with export potential from Santo Antão Island is increasing, due to a developing tourist market. Unfortunately there is a high infestation with the millipede *Spinotarsus caboverdus*. The infestation and damages on fruits and vegetables on the field appear also during the storage period.

The objective of this research is to develop a management for fruits and vegetables against quarantine pest, *Spinotarsus caboverdus* (Pierrard). The effective treatment is necessary for

vegetables and fruits, which will be exported from Santo Antão Island to other islands of the archipelago of Cape Verde. We look for the effective treatment, without negative influence on the treated vegetables and fruits, low-cost and without environmental consequences.

All tests were conducted with naturally infested products with millipede. The effect of each treatment on the infestation and the quality of products was observed.

Moderate heat of 40°C and 45°C was used to eliminate live millipedes on fruits and vegetables. Effectiveness of these two temperatures was applied during 18 hours. At 45°C and 18 hours duration the mortality of *S. caboverdus* was 100%.

In a second way hot water immersion at 40°C and 45°C with duration of 20 minutes was also investigated for lethal effect on millipedes. The mortality of millipedes at 45°C after 20 minutes was 100% too.

In a third case it was tested an ambient water immersion at 25°C of fruits and vegetables with different time of immersion of 10, 15 and 20 minutes. The objective of using ambient water immersion was to turn out of the millipedes from the products. In results of these test 20 minutes at 25°C are enough to push out 100% of millipede from the crops.

The investigation shows, that the millipede infestation can be eradicated in the post harvest phase of vegetables.

Integration of Calneem Oil and *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae), a Parasitoid of Pyralid Moths, against *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) in Stored Rice

C. Adarkwah¹, C. Reichmuth², C. Büttner¹, S. Prozell³, M. Schöller³, M. Shopna⁴ & D. Obeng-Ofori⁵

- ¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Germany
- ² Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry (BBA), Germany
- ³ Biological Consultants Ltd., Germany
- ⁴ Caldor Trading Ltd, NIA, United Kingdom
- ⁵ University of Ghana, Crop Science Department, Ghana

The worldwide growing demand for 'clean food' and better ecological approaches to pest control has been the stimulus for further research into the use of neem extracts to control stored pests. Calneem is a new commercial product that was extracted from the neem tree (*Azadirachta indica*). It is an oil extract from pure neem seed kernels collected, crushed and used in Ghana against stored product pest insects. Calneem is a biopesticide produced and marketed in Ghana by AQUA AGRIC Community Projects (AACP). Experiments were carried out in the laboratory to assess the compatibility of calneem oil and the parasitic wasp *Habrobracon hebetor* against *Corcyra cephalonica*. 50 ml of cracked rice were placed in 1 l glass jars and 20 last instar larvae of *C. cephalonica* were added. 10 freshly emerged adults of *H. hebetor* were introduced into all the glass jars. Treatments comprised control grain without neem, grain treated with only neem, grain treated only with *H. hebetor* and grain treated with neem and *H. hebetor*. The calneem oil was applied as mixture in which the oil was dissolved in water using soap as emulsifier. It was applied at four contents (0.5% v/v, 1.0% v/v, 2.0% v/v and 3.0% v/v) Each treatment was replicated four times. The openings of the glass were sealed with a piece of cloth and rubber band and then placed in a growth cabinet (temperature 25°C and 65–70% relative humidity). Progeny emergence was recorded in all the different treatments after 3 weeks. In the samples that were not exposed to neem and *H. hebetor*, out of the 20 larvae of *C. cephalonica* almost all developed into adults. The Calneem dosages and *H. hebetor* significantly reduced the emergence of *C. cephalonica* in all the treatments compared to the control. Generally, the combi-

nation of neem and parasitoids was not more effective compared to one of these two treatments alone. The scope of the presented results will be discussed.

Host Specificity of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Botryodiplodia theobromae* Isolates from Mango, Papaya and Rambutan and their Response to *Trichoderma harzianum*

S.W. Wijeratnam, Y. Dharmatilaka & D. Weerasinghe

Industrial Technology Institute, Post-Harvest Laboratory, Food Technology Section, Sri Lanka

Anthraxnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) and stem end rot (*Botryodiplodia theobromae*) are the two most prevalent post harvest diseases that contribute significantly to post harvest loss of papaya, mango and rambutan in Sri Lanka. The problem is compounded by the home garden system of horticulture practised in Sri Lanka. The objective of this study was to test the ability of these pathogens to cause disease by cross infection between crops and to provide information that would facilitate an integrated non chemical means of controlling post harvest loss due to disease. Thus *C. gloeosporioides* and *B. theobromae* were isolated from respective disease carrying mango, papaya and rambutan fruits. Pure cultures of each isolate were maintained on potato dextrose agar at 28°C. The antagonistic effect of a local isolate of *Trichoderma harzianum* was tested via in vitro bio assays against the above isolates. Host specificity trials were conducted on mango (var. Karthakolomban) and papaya (var. Red Lady) at the 10% – 25% stage of maturity and rambutan (cv. Malwana special selection), at full ripe stage. Cross inoculation potential of isolates was confirmed by testing the ability of the respective organisms to produce characteristic disease symptoms when inoculated onto each of the above host tissue. Lesion diameter was recorded over 5 days with fruits incubated at 28°C ± 2°C. *T. harzianum* was observed in vitro to be antagonistic to all isolates of the respective anthracnose and stem end rot causing pathogens. While the three *C. gloeosporioides* isolates produced disease lesions on all hosts, respective isolates were observed to produce larger lesions (diameter 2.9 cm – 5.8 cm) on their original host compared with the alternate hosts (diameters 1.1 cm – 2.6 cm). However, the three *B. theobromae* isolates were equally effective in causing stem-end rot on the three hosts examined.

Use of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Improve Mycorrhisation, Nutrient Acquisition and Plant Health of Tomato Affected by Soilborne Pathogens

Y. Yusran, M. Weinmann, G. Neumann, V. Römheld & T. Müller

University of Hohenheim, Institute of Plant Nutrition, Germany

Biological strategies to control plant diseases are regarded as environmental friendly alternatives to agrochemicals which may contribute to the development of sustainable cropping systems under humid tropical conditions. Only few studies have investigated the synergistic action of beneficial microorganisms such as *Pseudomonas* spp. and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to improve the growth and resistance of plants against soilborne diseases. The objective of this study was to test the efficiency of *Pseudomonas proradix*[®] (Proradix[®], Sourcon Padena, Tübingen, Germany) to improve mycorrhisation, nutrient acquisition and plant health of tomato, an important cash crop in Indonesia, affected by the aggressive root pathogen *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis and Shomaker (FORL).

Tomato seeds (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Money Maker) were pre-cultivated in pots containing 50 g loamy clay soil/sand mixture (3:1) with and without Proradix[®] (1.5×10^{10} cfu per pot), without and with AMF-inoculum (about 8000 propagules of *Glomus intraradices* strain 510; Mycotec Biotechnik Gbr, Hannover, Germany). Subsequently the three weeks old seedlings were transplanted to pots containing 2 kg soil/sand mixture, fertilised with 100 N, 50 P, 150 K, 50 Mg, 0.06 Fe mg kg⁻¹ loamy clay soil. Top and bottom layer of the substrate contained soil/sand mixture only. The middle layer of the substrate was mixed with a spore suspension of FORL strain 11r (provided by Prof. J.C. Tello Marquina, Universidad De Almería, Spain) at a rate of 4.5×10^7 spores in 10 ml water per 100 mg substrate. As a control, only sterile water was added.

Proradix[®] significantly improved the root colonisation by AMF and the biomass production of tomato, which was particularly pronounced in the soil with FORL-spores inoculation. Combined application of Proradix[®] and AMF lowered the disease severity of FORL and enhanced the concentrations of nutritional elements in the shoot tissue of tomato. To a smaller but still significant extent, disease severity was also decreased by single application of Proradix[®] and AMF. These results suggest that Proradix[®] functions not only as a mycorrhisation helper bacterium but also as a suitable biocontrol agents to restore plant growth and health when grown in severely FORL infested soils.

Bio-fertilisers and Plant Strengtheners can Reduce the Susceptibility of Tomatoes to *Phytophthora infestans*

K. Sharma¹, E. Schulte-Geldermann², C. Bruns² & M.R. Finckh¹

¹ University of Kassel, Department of Ecological Plant Protection, Germany

² University of Kassel, Department of Organic Farming and Cropping, Germany

Late blight, caused by *Phytophthora infestans* is one of the most destructive disease of tomatoes affecting organic and conventional tomato production worldwide. Exploitation of induced resistance is a desirable strategy in plant protection since it involves enhancing natural defense mechanisms in plants. Induction can be achieved via the leaves or via the roots. Induced resistance through plant strengtheners could be part of alternative strategies for the control of late blight of tomatoes. Organic fertilisers stimulate soil microbial activity and through this may also have positive effects on the host's metabolism ultimately limiting plant infestation.

The main aim of this research was to determine if soil fertility management and plant strengtheners interact in their effects on plant susceptibility. For this tomato plants (cultivar Philovita) were grown with three Bio-fertilisers: horn meal, BIOILSA FERTILE and ILSA 12 with or without three plant strengtheners (QUALITY, ALFA-ALFA extract, MEAT extract) in a commercial type of set up in a plastic tunnel. Detached leaves of adult plants were inoculated with 20 µl sporangial solution at 5×10^4 sporangia ml⁻¹ of one *P. infestans* isolate in the laboratory under controlled conditions two times during the season. In additional experiments the plant strengthener QUALITY was tested on young plants of various cultivars combined with various growth substrates. In comparison to horn meal, the bio-fertilisers BIOILSA FERTILE and ILSA 12 and the plant strengtheners significantly reduced late blight susceptibility. There were no interactions and the effects were additive. BIOILSA FERTILE, QUALITY and ALFA-ALFA extract were most effective in reducing late blight susceptibility. Quality reduced the susceptibility of tomatoes independent of plant age, growth substrate or fertiliser used. Combining plant strengtheners with organic soil fertilisers could become part of a strategy for disease management.

Selection of Entomopathogenic Fungi for *Spodoptera litura* Control

P. Krutmuang, S. Prakongsuk & J. Visitpanich

Chiang Mai University, Department of Entomology, Thailand

Biological control with pathogenic fungi is a promising alternative to chemical control against the insect pest of vegetable. Ten isolates of green muscardine fungus, *Metarhizium anisopliae* as entomopathogenic fungus were used to test for pathogenicity on second instar of common cutworm, *Spodoptera litura* under the laboratory conditions. The tested larvae were placed in Petri dishes containing green muscardine fungus and they were allowed to make a direct contact with the particular entomogenous fungus. It was revealed that three isolates of green muscardine fungus, BCC1858, BCC4849 and Khon Kaen were effectively killed 100% of the cutworm larvae within 2 days. Subsequently, *M. anisopliae* isolates were brought to examine with eight different media for physiological properties. The result showed that mungbean agar (MU) was the best for mycelial growth and sporulation. Moreover, the optimum temperature for growth was ranged around 30–35°C. When the isolates were kept in the room with 12 hours light alternated with 12 hours dark, they were produced more green spores than the other. The best conditions for sporulation were observed when the isolates were kept at 30–35°C with 12 hours light alternated with 12 hours dark. When the three most effective isolates were tested with the 1st, 2nd and 3rd instars of cutworm at four concentration levels included of 10^7 , 10^8 , 10^9 and 10^{10} spores/ml. The result indicated that the isolate 4849 with the concentration of 6×10^8 spores/ml was the most effective one. It was observed to cease the 3rd instar of cutworm by 79.49% within 7 days.

Effect of Non-pathogenic *Fusarium oxysporum* Strain 162 in Solanaceae and Cucurbitaceae Crops Towards *Trialeurodes vaporariorum*

R.D. Menjivar, J. Kranz & R.A. Sikora

University of Bonn, INRES Institute of Crop Science and Resource Conservation, Dept. of Plant Pathology, Unit. Nematology in Soil Ecosystem, Germany

The Greenhouse Whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (GHWF) is one of the most widely distributed insect pests in tropical and subtropical agricultural regions, affecting over 600 different plant species. *T. vaporariorum* (GHWF) has been a problem in greenhouses for many years, because it has the capability to reduce plant productivity and longevity. Besides whiteflies are very important vectors of viruses and are able to cause significant crop damages and yield losses. Induction of systemic resistance by non-pathogenic micro-organisms is a well known option in plant protection. For example non-pathogenic strains of fungi of the genus *Fusarium* used to induce systemic resistance are able to control the incidence of *Fusarium* wilt and *Meloidogyne incognita* in tomato. Accordingly the objective of this study was to evaluate the effect of *F. oxysporum* strain 162 (Fo 162) in two different vegetables towards *T. vaporariorum*. Fo162 was applied at 1×10^6 cfu g^{-1} of soil twice to the respective treatments. The first fungal inoculation took place during germination time and the second when the seedlings were transplanted. About 1000 GHWF adults were released in each trial. Ten days after the second Fo162 inoculation, the number of GHWF adults on the leaves was counted for the next 12 and 9 consecutive days on tomato (*Lycopersicon esculentum*) cv. Hellfruecht and on squash (*Cucurbita pepo*) cv. Eight Ball, respectively. The study revealed that 38% (mean number of all consecutive samplings) of the released

GHWF adults could be found on the tomato plants treated with Fo162 in comparison to 62% of all counted GHWF adults detected on the leaves of the non-treated control plants. In squash the percentages were 20% (plants treated with Fo162) and 80% (control plants), respectively. This investigation demonstrates an impact of the endophytic fungus Fo162 in tomato and squash on *T. vaporariorum* because it reduces the population density of this pest on the leaves of the tested crops. This might be used as a further option in an integrated pest management system to control this serious greenhouse pest. The possible fungal mode of action and its effect on insects regarding resistance mechanisms are discussed.

Susceptibility of Different Stages of the Mediterranean Fruit Fly *Ceratitis capitata*, to Entomopathogenic Fungus *Lecanicillium muscarium*

A. Ali, H. Sermann & C. Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Phytomedicine, Germany

This study determined the pathogenicity of *L. muscarium* to eggs, larvae and adults of *C. capitata* under laboratory conditions. Four ml of suspension of *L. muscarium* (4×10^7 conidia ml^{-1}) was applied on sterile filter paper in Petri dishes and water for the control respectively. Eggs were placed on the infected filter paper and incubated at 20°C. After 24 h 10 contaminated eggs were transferred on artificial diet and incubated at 25°C and 70% R.H (five replicates). The entomopathogenic fungus was weakly pathogenic to the eggs, although the differences in the mortality between the fungus (24%) and the control (8%) was significant. To evaluate the susceptibility of the old larvae, plastic container (3.8 cm diam. \times 2.8 cm high) were filled with 10 g dry soil and sprayed with 1 ml suspension (4.3×10^6 spores/ cm^2) on the soil surface using a small dash bottle. On each container 10 old larvae were transferred on the treated soil in the container. Container were incubated at 25°C and 70% R.H (five replicates). *L. muscarium* reduced emergence of adult at 46% in comparison to the control with 74%. In the treatment 54% were dead but 40% of those were infected probable with *L. muscarium*. To evaluate the susceptibility of adults in plastic container (5 cm diam. \times 3,5 cm high) were filled a small layer of soil and 15 ripe pupae spread uniformly on the surface. Above it 2 to 3 cm layer of soil were filled again. Three ml suspension (3×10^7 conidia ml^{-1}) was sprayed on the soil surface. Incubation took place (five replicates) at 25°C, and 70% RH. All emerged adults were transferred daily to cages with water and dry yeast extract-sucrose. All dead flies were disinfected, placed on water agar in Petri dishes and incubated at 20°C. The fungus was pathogenic to the flies. In the course of the experiment 65,6% of flies were dead in comparison to the control with 13,2%. 40,6% of emerged flies was moulded. These results indicate, that *L. muscarium* is pathogenic against *C. capitata*. From all developmental stages the adults are mostly susceptible against this entomopathogenic fungus.

Developing New Techniques for Managing *Phyllotreta striolata*: Analysis of Host Plant Preference and Impact of Glucosinolates

F. Beran¹, S. Ramasamy², C. Büttner³, I. Mewis¹ & C. Ulrichs¹

¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Urban Horticulture, Germany

² AVRDC-The World Vegetable Center, Entomology Unit, Taiwan

³ Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Department Phytomedicine, Germany

Phyllotreta striolata, the striped flea beetle, has a narrow host plant range restricted to the Brassicaceae, Capparaceae, and Tropaeolaceae. This beetle feeds on stems and leaves of many economically important crops, especially Brassica vegetables such as cabbage, cauliflower, radish and pak-choi. The coincidence that the preferred plant families are known to contain glucosinolates (gs) suggests these compounds may act as chemical cues for host plant acceptance in *P. striolata*. Evidence for this hypothesis comes from field studies demonstrating the striped flea beetle is attracted to allyl isothiocyanate (AITC) and other glucosinolate breakdown products. In field experiments, we have shown that AITC at a dose of 0.8 ml per trap could significantly increase trapping of flea beetles. To investigate the relationship between this pest and host plant volatiles, we examined nine different commercial Brassica crops (cabbage, cauliflower, broccoli, Chinese kale, Chinese cabbage, pak-choi, winter rape, Indian mustard, and radish) under free choice conditions. The *P. striolata* infestation of crops inside a net house in the field was observed for four to five weeks. In all experiments we found *Brassica oleracea* sub-species (cabbage, cauliflower, broccoli, and kale) were significantly less preferred than the other crops. The preference for some crops, e.g. pak-choi and Chinese cabbage, changed during the growing period. We subsequently analysed the total gs content and profile of crop plants using HPLC. Chinese cabbage and pak-choi had the lowest amount of gs (< 10 mol per g dry weight) while Indian mustard and radish leaves had the highest gs content, up to 100 mol per g dry weight. Because crops with the highest as well as the lowest total gs content are preferred by *P. striolata*, we assume the total gs content is not critical for this interaction. Interestingly, sinigrin (allyl gs), the precursor of the volatile AITC, was found in both preferred and non-preferred plants. However, sinigrin was not detected in Chinese cabbage and pak-choi. The analysis to identify the bioactive compounds in *Brassica* for *P. striolata* is in progress.

Combinations of Fungal and Bacterial Antagonists for Biological Control of the Rice Root-Knot Nematode *Meloidogyne graminicola*

T.H. Le¹, J. Padgham² & R.A. Sikora³

- 1 University of Bonn, Crop Science and Resource Conservation, Laboratory of Nematology, Germany
- 2 The World Bank, Washington Dc, Usa, Climate Change Consultant
- 3 University of Bonn, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Germany

The rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* is a serious pest across rice-wheat rotation areas of South Asia's IndoGangetic Plain and in rice producing areas of Southeast Asia. This nematode can cause yield losses of between 20 and 80%. Two of the most effective control measures, soil flooding and nematicide application, are of increasingly limited utility due to water shortage and high cost of nematicides. Given the limited scope of management options, the development of an integrated strategy that combines resistance breeding with biological and cultural control is needed. Biological control using endophytic microorganisms has been demonstrated to be highly effective against sedentary and migratory endoparasites including plant parasitic nematodes. Therefore, a biological control system, as an alternative control measure for management of the rice root-knot nematode, is being developed. Three different antagonists; a pathogenic fungus (*Trichoderma* sp.), mutualistic endophyte (*Fusarium verticillioides*) and an endophytic bacterium (*Bacillus megaterium*) isolated from soils of different rice growing regions in Vietnam and Taiwan, were used in different combinations to enhance biological control of the root-knot nematode. The effect of sin-

gle or multiple applications of these biocontrol agents against *M. graminicola* infestation was investigated under greenhouse conditions. The biocontrol agents were applied to the rice seedlings at different growth stages either individually, simultaneously or sequentially. Root galling severity was then compared between different treatments. Compatibility of these microorganisms in vitro was also studied. This paper discusses methods of fungal and bacterial application, compatibility of biological control agents in vitro and the possibilities of combining different antagonists to enhance biocontrol efficacy.

A New Version of the Prototype for Mechanical Distribution of Beneficials

R. Papa, G. Blandini, G. Emma, S. Failla & G. Manetto

University of Catania, Department of Agricultural Engineering, Mechanics Section, Italy

A new version of the device patented by University of Catania and already used in natural enemy distribution trials on greenhouse vegetable crops has been designed and constructed in order both to increase the work capacity and to promote a low impact pest control, which respects the environment and consumers' and farmers' health.

This version has the same working principle of the former prototype, but materials and dimension of the hopper, the distributor and the rotating disc have been changed. Currently, it is made up of a conical aluminium hopper to hold and to measure out the product. The top is fitted with an electric motor which governs the rotation of a distributor, fixed along the vertical axis of the hopper. Product falls onto an aluminium distributor disc which rotates around its vertical axis by means of a second direct-drive electric motor attached below the prototype.

With this model, set on a handle directly carried by the operator, the device performance will be improved both in distribution uniformity in time and in manoeuvrability within a greenhouse. Consequently, greater work capacity and higher work quality will be achieved.

Several laboratory trials, preliminary to field tests, have been carried out to evaluate some machine parameters: the throw direction, the spatial distribution, the quantity distributed, the uniformity of throw in time, the vertical distribution of product at different distributor heights as well as at different distances from the test bench. The tests were run with inert material commonly used for marketing bottles of beneficials: humid vermiculite and buckwheat husks mixed with humid vermiculite.

Moreover, experienced entomologists have evaluated throw effects on natural enemies vitality, with samples both from the hopper and from the rotating disc throw. Negligible or absent impact on natural enemies proves prototype efficacy and enables its usage both with technical and economic advantages on manual distribution, which is actually practised in Italy. The preliminary tests are really encouraging and let us think about a possible wide diffusion of this device for beneficial distribution in biological crops.

Isolation and Screening of *Pseudomonas fluorescens* Isolates from Indonesian Soils against *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis and Shomaker

Y. Yusran, M. Weinmann, G. Neumann, V. Römheld & T. Müller

University of Hohenheim, Institute of Plant Nutrition, Germany

The application of antagonistic microorganisms for biological control of root diseases in agriculture is an increasingly

important alternative or supplement to chemical pesticides. Fluorescent pseudomonads have several advantages compared to other biocontrol agents and attracted particular attention among scientists. Strains of *Pseudomonas* spp. isolated from the rhizosphere are promising as seed inoculants in innovative agriculture to promote plant growth and crop yield and reduce various plant diseases. In the present study, *Pseudomonas* isolated from Indonesian soils have been investigated with respect to their biochemical and physiological characteristics and their effectiveness against *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis and Shomaker (FORL 11r).

From four soil samples, collected from the rooting zone of tomato, maize, peanut and cacao at farmer's field in Banda Aceh, Aceh and in Palu, Central Sulawesi, Indonesia, altogether 28 pseudomonads strains were isolated and selected for biochemical and physiological characterisation. Therefore the soil samples were serially diluted up to 10^{-9} , plated on King's B (KB) agar medium and incubated at room temperature ($27 \pm 2^\circ\text{C}$) for 48 h. Distinct colonies showing fluorescence under UV light at 360 nm were picked and streaked on KB agar medium to check the purity. The isolates exhibited a wide variation in production of several considered substances as biocontrol factors such as: siderophores, cyanide, chitinase, protease, proteinase and arginine dihydrolase. Antagonistic growth inhibition of FORL by the pseudomonads strains was tested by coinoculation on KB medium. All isolates inhibited the mycelium growth of FORL but five isolates showed superior antagonistic efficacy over the other isolates. These five isolates were selected for further studies on their effect in improving mycorrhisation and suppressing soil-borne pathogen under greenhouse conditions.

Effects of Different Entomopathogenic Fungi on Western Flower Thrips and Selected Thrips Predators

E. Arias Cordero¹, R. Meyhoefer² & H.-M. Poehling²

- ¹ Leibniz Universität Hannover, Msc International Horticulture, Germany
- ² Leibniz Universität Hannover, Institute of Plant Diseases and Plant Protection, Germany

Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (WFT) has become a very important pest in Europe that causes significant losses of high value crops in greenhouse and open field production. To overcome increasing selection of pesticide resistant biotypes Integrated Pest Management (IPM) with combinations of safe control alternatives should be the method of choice for thrips management. Besides thrips predators, application of insect pathogenic microorganisms such as Entomopathogenic Fungi (EPF) is highly promising and recommended. EPF are naturally occurring pathogens that attack a wide range of insects and arthropods. However, combination of both strategies may arise some possible antagonistic effects against each other. The main objective of the present study was to investigate under laboratory conditions, the efficacy of nine EPF strains against WFT, and particularly the susceptibility of common predators of thrips such as *Amblyseius cucumeris* (AC), *Orius laevigatus* (OL) and *Hypoaspis aculeifer* (HA). Test organisms were short time immersed in EPF spore solutions and mortality rate was evaluated on daily basis for seven days as main parameter for the susceptibility of each organism. The EPF screened with WFT adults included strains from the following species: *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown and Smith, *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas and *Metarhizium anisoplae* (Metsch.). After a series of screening experiments, including optimisation of test arena layout and assessment of convenient humidity regimes, the strains *B. bassiana* (Naturalis), *P. fumosoroseus* (Fwa3) and *M. anisoplae* (2936) were

selected for further testing against predators. By using the Kaplan-Meier estimator the survival function for each predator was estimated from life-time data. The obtained data suggest statistically significant differences on cumulative survival (for seven days) by Naturalis treatment (AC: 0.386 ± 0.103 , HA: 0.438 ± 0.105 , OL: 0.190 ± 0.086) compared with the control (AC: 0.656 ± 0.099 , HA: 0.917 ± 0.056 , OL: 0.864 ± 0.073), for the three predators evaluated. Further experiments will distinguish possible formulation effects before finally rating the impact of the evaluated EPF on non-target organisms.

Differential Immuno-Suppressive Ability of Different Morphotypes of the Invasive Fruit Fly *Bactrocera invadens* towards Eggs of the Parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*

K. Merkel¹, S. Mohamed², S. Ekési² & T. Hoffmeister¹

- ¹ University of Bremen, Population Ecology Lab, Germany
- ² International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Plant Health Division, Kenya

In 2003, the Asian fruit fly *Bactrocera invadens* Drew, Tsuruta & White (Diptera: Tephritidae) was first reported in Africa. This insect is an invasive species that is to date considered to be among the major pests of mango in Sub Saharan Africa. Being an alien pest and lacking indigenous parasitoid species, the use of introduced parasitoids against *B. invadens* may be a promising pest management strategy. One key factor for the success of such classical biological control programs is the physiological compatibility between the parasitoid and the target pest. Preliminary work indicated that *B. invadens* exhibits a differential ability of immuno-suppression against the introduced endoparasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). Within the population of *B. invadens* there are eight distinct morphotypes based on the pattern of the scutum. We hypothesised that the intraspecific variability in encapsulation ability is related to these different morphotypes. Four major morphotypes have been evaluated for the ability to encapsulate *D. longicaudata* eggs. The total and differential haemocyte counts and number of encapsulated and non-encapsulated parasitoid eggs for the parasitized fly larvae were recorded at different time intervals after parasitisation, for each morphotype. The haemocyte counts were compared with that of unparasitized larvae of the same age as that of the parasitized ones. Additionally, the impact of parasitoid adaptation to the host has been investigated by recording the number of encapsulated and non-encapsulated eggs of consecutive generations of *D. longicaudata* reared on *B. invadens*. The potential use of this parasitoid species in classical biological control of *B. invadens* will be discussed.

Sequential Application of Antagonists for the Biological Control of the Burrowing Nematode *Radopholus similis* in Banana

A.R. Mendoza Luna & R.A. Sikora

University of Bonn, Institute of Crop Science and Resource Conservation-Plant Pathology, Germany

Recent work suggests that the combination of different biocontrol agents with different modes of action could be more effective for the control of nematodes than individual application. The aim of this work was to determine the biocontrol effects of single or sequential applications of the mutualistic endophyte *Fusarium oxysporum* strain 162 (5×10^6 and 1×10^7 spores/plant), the eggs pathogen *Paecilomyces lilaci-*

nus strain 251 (1.8×10^7 conidia/g soil) and the antagonistic bacteria *Bacillus firmus* (2 g of product/plant) toward *Radopholus similis* in banana in pot trials under greenhouse conditions. The single or combined application of fungus-fungus or fungus-bacteria was shown to reduce *R. similis* penetration and reproduction. The combination of *F. oxysporum* and *P. lilacinus* caused a 68.5% reduction in nematode density in the root system, whereas the individual applications reduced the density by 27.8% and 54.8% over the control, respectively. Satisfactory results were also obtained with sequential application of *F. oxysporum* and *B. firmus*. The combined treatments reduced the density of *R. similis* up to 86.2%, followed by 63.7 4% and 32.7%, with a single application of *B. firmus* or *P. lilacinus*, respectively. The combination of *P. lilacinus* and *B. firmus* increased significantly the biocontrol of *R. similis*, compared with the single applications of the agents and the absolute control. The density of nematode in the root system was reduced to 91% with mixed inoculations of both biocontrol agents. Meanwhile, the single applications of *P. lilacinus* or *B. firmus* reduced *R. similis* population up to 58% and 67%, respectively. The compatibility of the biocontrol agents, as well as the capacity of *F. oxysporum* to colonize banana roots in absence and presence of *P. lilacinus* or *B. firmus* was also investigated. *P. lilacinus* or *B. firmus* did not adversely affect endophytic colonisation by *F. oxysporum*. It can be concluded that biological control of *R. similis* in banana can be enhanced via sequential application of antagonist with different modes of action that target different stages in the infection process.

Effect of Natural Plant Enhancers on Soil Bacteria and Control of Plant-Parasitic Nematodes in Lettuce

A. Cabrera & R.A. Sikora

University of Bonn, Phytopathology & Nematology in Soil Ecosystems, INRES, Germany

The root-knot nematode *Meloidogyne incognita* has a world-wide distribution and is a major limiting factor in vegetable cultivation. Today there is an increasing demand for environmental friendly products to substitute or alternate with pesticides in IPM management programs for plant parasitic nematodes control. The impact of plant growth enhancers on the microorganisms that make up the soil antagonistic potential has not been studied in detail. The aim of this study was to investigate the effect of natural plant growth enhancers on soil bacteria population densities and on control of the economically important root-knot nematode, *M. incognita*, in lettuce. The plant enhancers evaluated were Azet[®], Oscorna[®], MagicWet[®], TerraPy[®], chicken manure and green compost. All treatments were compared to a biological and a chemical nematicide, DiTera[®] and NemaCur[®], respectively. Oscorna[®] (450 kg ha⁻¹), Azet[®] (300 kg ha⁻¹) and DiTera[®] (112 kg ha⁻¹) significantly increased bacterial population densities over the other treatments 1 and 3 weeks after application. Azet[®] (300 kg ha⁻¹) reduced *M. incognita* penetration to lettuce roots 50% from day 0 to 30 days after soil treatment. MagicWet[®] (200 kg ha⁻¹) reduced *M. incognita* 50% 7 days after treatment but its efficacy was lost 2 weeks later. DiTera[®] controlled *M. incognita* similarly to NemaCur[®] the week after application but its nematicidal activity slightly decreased 4 weeks later. Chicken manure (5,000 kg ha⁻¹) was phytotoxic inhibiting lettuce germination even 30 days after application. The study revealed that Azet[®] greatly stimulates soil bacteria biomass which seems to be related to a reduction in the root-knot nematode. The results suggest that specific antagonistic bacteria increase when this compound is applied to the soil thereby stimulation the suppressiveness of the soil to nematode damage.

The Role of Natural Enemies in *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Crambidae) Population Suppression in Cereal Culture in Ethiopia

E. Getu

Addis Ababa University, Biology Department, Ethiopia

Chilo partellus (Swinhoe) (Lepidoptera: Crambidae) is an exotic stemborer introduced to Africa from Asia some eighty years ago which results in 30–50% grain losses by attacking all stages (seedling, vegetative, flowering and maturity) of the crop in the field. As the case in all exotic pest, the control of *C. partellus* was attempted through classical biological control by introducing an endo-larval parasitoid, *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) from India and Pakistan. The field release of *C. flavipes* was done in most of the eastern and southern African countries where *C. partellus* is a very important pest. However, in Ethiopia the parasitoid established with out release. The population established in Ethiopia might be from the Somalia release of 1997 along the Shebele river. *C. flavipes* was for the first time recorded in Ethiopia and the 2007 survey showed that the average parasitism rate was 72.5%. The rate growth in parasitism since its establishment is tremendous indicating the success of biological control in suppressing the density of *C. partellus*. Moreover, there are a number of pupal and egg parasitoids of *C. partellus* recorded in Ethiopia. A number of entomopathogens belonging to fungi and nematodes were also isolated from *C. partellus* in Ethiopia. In summery natural enemies can give sufficient control of *C. partellus*. However, the naturally occurring bio-agents should be complemented with other control options such as habitat management (push-pull) and varietal resistance among others. Augmentative release of *C. flavipes* and application of conservation mechanisms should also be done.

Can Fusarium-Wilt-Resistant Tomato Varieties Suppress the Biological Control of Root-Knot Nematode Induced by Mutualistic Non-Pathogenic *Fusarium oxysporum* Antagonists?

M.E. Selim, A.E.-F. Dababat & R.A. Sikora

University of Bonn, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Germany

Mutualistic endophytes are well known for their antagonistic activity against a wide range of plant pathogenic fungi and nematodes. One of the most important these endophytes is non pathogenic *Fusarium*. Many studies have been conducted using different isolates of the mutualistic endophytic *Fusarium oxysporum* as antagonists against different genera of plant parasitic nematodes on different hosts and varieties. Obtained results of these studies revealed that, there are many mechanisms involved in the interaction between these endophytes and the target pest or disease. Induced systemic changes in host attractiveness and or production of repellents is considered one of the most unique of these mechanisms. The Induction of host systemic resistance by the mutualistic endophytic *Fusarium oxysporum* against *Meloidogyne incognita* was detected on susceptible tomato varieties to *Fusarium* wilt pathogen. In this study the endophytic fungus, *F. oxysporum* strain 162, was used in a split-root system to determine if *Fusarium*-wilt resistant tomato varieties adversely affect the induction of systemic activity to the root-knot nematode, *M. incognita* or not. Obtained results of presented study showed that the mutualistic endophytic *F. oxysporum* isolate (162) maintains effectiveness and significantly reduces infection on both inducer and responder root sections. The reduction in gall number was similar, 36% and 34%, on the inducer

and responder sides respectively. The results therefore demonstrated that the induced systemic resistance activity of this antagonist was present even on tomato plants having resistance to the wilt fungus *F. oxysporum*. This is of practical importance in that many commercial varieties are resistant to the wilt fungus.

Action of the Mycoherbicide *Fusarium oxysporum* f. sp. *strigae* 'foxy 2' on *Striga hermonthica*: An Anatomical Study

N.B. Endah¹, A. Heller², A. Elzein¹, Georg Cadisch¹ & M. De Mol²

- ¹ University of Hohenheim, Institute of of Plant Production and Agroecology in the Tropics and Subtropics, Germany
- ² University of Hohenheim, Institute of Botany, Germany

Proper delivery and timely establishment of the potential bio-control agent *Fusarium oxysporum* f. sp. *strigae* "Foxy 2" in the appropriate infection zone of the root parasite *Striga hermonthica* is necessary for ensuring a high biocontrol efficacy and facilitating field application and integration. In this study, anatomical investigations using light microscopy were performed to assess the pattern and extent of infection and colonisation of *Striga* by Foxy 2. When applied as seed coat, Foxy 2 was able to proliferate on coated seeds and the fungal mycelia started slowly colonizing the roots of sorghum, the potential infection zone of *Striga* without damaging sorghum plants. Observations of the sorghum roots-*Striga* seedlings interface showed that *Striga* was able to penetrate and start to invade the central cylinder of its host sorghum to obtain access to water and nutrients, but further development was stopped by Foxy 2. Hyphae of Foxy 2 invaded all tissues of the young *Striga* seedling (including the endophyte, the entire hyaline tissue and xylem elements), 21 days after sowing the Foxy 2 coated sorghum seeds. Hyphae were able to completely destroy *Striga* seedlings 26 days after sowing. This proved the ability and aggressiveness of Foxy 2 against *Striga* and additionally prevented some *Striga* emergence. For emerged *Striga* plants (above ground), both longitudinal and cross sections showed a lot of hyphae masses in the xylem. Hyphae had penetrated, proliferated and colonised vessels forming masses over long distances and were identified even to the top of the shoots. Some vessels were blocked such that no space larger than 1 µm could be seen between the hyphae in cross sections. This caused clogging of shoots by hyphae and contributed to wilting and subsequent death of *Striga*. The prevention of *Striga* emergence reduces its further seed production and seed bank build up that may lead to improvements in crop yield in subsequent years. These findings support the suitability and appropriateness of seed treatment for the delivery and field application of the mycoherbicide.

Ozone Application for Controlling Seed-Borne Pathogen and Insect in Rice cv. Khao Dawk Mali 105

N. Niyomkam, S. Vearasilp, S.-N. Thanapornpoonpong, N. Krittigamas & S. Suriyong

Chiang Mai University, Department of Agronomy, Thailand

The purpose of ozone application was to determine and evaluate the efficiency of ozone to control seed-borne fungi and insect in rice seed cv. Khao Dawk Mali 105. The percentage of seed-borne invasion was 87.50, mainly 69.63 percent was *Alternaria padwickii* and 3.63 percent was *Fusarium moniliforme*. The moisture conditioned rice seeds 11 and 18 percent were treated with 1.25 mg g⁻¹ rice seed h⁻¹ ozone for 2, 4, 6 and 8 h. The result showed that the ozonation on wet seed (18% moisture content; MC) had more effective than on

dry seed (11% MC) in control seed-borne fungi. The results in this experiment indicated that 1.25 mg g⁻¹ rice seed h⁻¹ ozonation for 6 hr on the wet seed was the best condition for controlling seed-borne fungi in rice seed. The percentage of infected seed was decreased to 26.39, the infection from *A. padwickii* was decreased to 21.57 percent and from *F. moniliforme* was decreased to 1.01 percent. The 8 h of application time resulted the most efficacy to control fungi such as, the percentage of infected seed decreased to 17.88 and 26.25 in the wet and dry seeds, respectively. The percentages of *A. padwickii* infection were decreased to 14.38 and 20.38 in the wet and dry seed, respectively. The *F. moniliforme* were decreased to 1 and 0.63 percent in the wet and dry seed, respectively. Anyhow, the ozonation time for 8 h significantly reduced seed qualities. Furthermore, the efficacy of ozone in controlling insect estimated by the percentage of *Sitophilus oryzae* mortality at adult stage after ozone treatment with 1.25 mg g⁻¹ rice seed h⁻¹ for 1, 2, 3 and 4 h showed that the increasing of ozonation time significantly increased their mortality. The duration of ozonation at the dose of 1.25 mg g⁻¹ rice seed h⁻¹ for 3 h could eradicate *S. oryzae* to 100 percent at adult stage.

Control of Seedborne Pathogen in Rice Seed by Coating with Organic Substances

K. Sriprasert¹, S. Vearasilp², S.-N. Thanapornpoonpong², N. Krittigamas² & S. Suriyong²

- ¹ Chiang Mai University, Postharvest Technology Institute, Thailand
- ² Chiang Mai University, Department of Agronomy, Thailand

Types and quantities of seed-borne fungi on rice seed cv. Khao Dawk Mali 105 were assessed by using blotter method. *Fusarium* sp. and *Curvularia* sp. were found as the main fungi 20.67% and 2.25%, respectively. Various concentrations and volumes of non-ionic polyacrylamide (PAM) were applied to control seed-borne fungi on rice seed. It was found that the speed of germination was increased to 15.10 seedling day⁻¹ after treated with PAM at 1% w/v and with the volume of 2 ml/25 g seed. The increasing of PAM concentration reduced the speed of germination of coating rice seed. However, coating seed with all PAM concentrations showed no significantly effect on the germination percentage.

Combination of PAM (1% w/v, 2 ml/25 g seed) and clove and star anise essential oils at different concentrations: 0.01, 0.03 and 0.05% were applied to rice seed. Coating seeds then subjected to their quality testing and their seed health evaluating. Treated seed with PAM and various essential oils showed the promising results in inhibiting seed borne fungi. The higher concentration of the coating substances, the better the efficacy *Aspergillus* sp. and *Nigrospora* sp. were completely 100% under control. Nevertheless, compare to chemical treatment under captan application; captan showed the best in controlling, followed by clove essential oil 0.05% and star anise essential oil 0.05%. Seed qualities; speed of germination, germination percentages were not affected by all treatments.

Clove and star anise crude extracts were investigated then, it showed their positive tendency in seed borne fungi inhibition. Coating seed with all concentration of clove and star anise crude extracts inhibited growth of *Nigrospora* sp. equal to 100% inhibition. All concentration of star anise crude extract completely inhibited *Aspergillus* sp. and *Bipolaris* sp. For seed qualities, the germination percentage of seed coated with star anise crude extract at 0.05% w/v showed as high germeability, so as captan. Seed coated with the crude extract of clove at 0.01% w/v showed the highest value of seedling growth rate that was 6.2 mg seedling⁻¹ per 7 days but, its speed of germination was slightly decreased.

Molecular Dissection of the Systemic Defense Response in Banana Against *Radopholus similis* Infection Induced by Beneficial *Fusarium oxysporum* Strains

A. Kurtz, R.A. Sikora & A. Schouten

University of Bonn, Soil Ecosystem Phytopathology and Nematology, Germany

The burrowing nematode *Radopholus similis* causes the so-called toppling disease to banana plants and is a major problem in banana producing areas worldwide. It was recently shown that systemic resistance against *R. similis* can be induced, when the root system of banana plants is colonized with specific strains of non-pathogenic, endophytic *Fusarium oxysporum*. This offers a biological pest management alternative to the use of highly toxic nematicides commonly used for nematode control. However, not all non-pathogenic *F. oxysporum* strains show the ability to elicit this type of systemic resistance in banana. One objective of our research is the early identification of promising *F. oxysporum* strains by means of phylogenetic analysis, which can accelerate the screening process for beneficial isolates, by eliminating time consuming greenhouse bioassay. Although *F. oxysporum* has been identified as elicitors of the systemic induced resistance, the exact mechanism responsible for the induction is not yet known. Therefore another research goal is to elucidate the exact mode of action responsible for the induction of the systemic resistance in the banana plant on the molecular level. Analysis of the in planta-accumulation of salicylic acid, jasmonic acid, NPR1 and PR protein coding transcripts will serve as markers to determine whether Induced Systemic Resistance (ISR) or Systemic Acquired Resistance (SAR) are playing a role in the induced plant defense response and whether they are similar to that found on model plant species. The output of this research must lead to improving the biological pest management of nematodes in banana cropping systems.

Biochemical Characterisation and Resistance Induction by Bacterial Antagonists against Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum*

H. Kurabachew & K. Wydra

Leibniz Universität Hannover, Institute of Plant Disease and Plant Protection, Germany

A total of 150 rhizosphere bacterial strains were isolated from tomato and potato rhizosphere soil and roots from Ethiopia. The strains were screened in vitro for their antagonistic effect against the pathogen *R. solanacearum* on NGA agar medium using the dual assay test. Of all the tested isolates fifteen were found to inhibit the pathogen; among these four were selected for an ad planta experiment with two tomato varieties: King Kong-2 and L390, moderately resistant and susceptible, respectively. The antagonistic strains were characterised phenotypically and physiologically using the standard microbiological methods such as colony morphology, oxidase test, catalase test, gram-reaction, gelatine liquidification, growth at different salt concentrations. Further characterisation of isolates, metabolic fingerprinting by C-source utilisation using the Biolog microplates and fatty acid profiling was done. Thus selected, promising strains suppressed wilt severity and incidence both in split root and pot experiments and improved growth of the plant under glass house conditions, indicating the potential for resistance induction and for growth promotion, respectively. Bacterial numbers of *R. solanacearum* in midstems of genotype King Kong-2 were found to be lower than in the susceptible tomato genotype L390 in antagonist treated plant. The strains were further characterised for plant growth promoting activity such as siderophore, indole acetic

acid and hydrogen cyanide production and phosphate solubilisation capacity. The alteration of the cell wall structure after infection and inoculation of the plant with antagonistic bacteria was investigated by immuno-fluorescent microscopy. To confirm the rhizobacteria-induced systemic resistance, enzymatic assays and quantitative real time PCR are being performed to quantify the level of expression of target enzymes involved in resistance signaling pathways in the plant.

Induction of Resistance to the Whitefly *Trialeurodes vaporariorum* in Tomato by External Application of JA and BTH

J. Risal¹, R. Meyhoefer², K. Wydra² & H.-M. Poehling²

¹ Leibniz Universität Hannover, MSc International Horticulture, Germany

² Leibniz Universität Hannover, Institute of Plant Diseases and Plant Protection, Germany

Induction of resistance in plants to herbivorous insects may supplement biological control strategies relying on combinations of control measures. It is well known that herbivore feeding and pathogen attack induce defense mechanisms in plants and that the jasmonic acid (JA) and salicylic acid (SA) pathways are centrally involved in the signaling cascade leading finally to temporary accumulation or activation of defense compounds. Besides pest or pathogen attack, defense reactions can be enhanced by the external application of JA and SA. Plant responses are species specific in terms of plants and pests; hence plant responses vary with plant-pests systems. Former studies using application of JA and/or SA were mainly directed towards chewing insects. We intend to study the effects of resistance induction in tomato towards *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) using preference, development, and fecundity as main resistance/suitability parameters. Treatments included different concentrations of JA, Benzothiadiazole (BTH; an analogue to SA) and water as control. Plant reaction to inducers was confirmed by measuring the activity of proteinase inhibitors and peroxidase, well characterised enzymes responding to JA and SA pathway activation respectively. In choice experiments, we found avoidance reaction of whitefly adults for inductor treated leaves of tomato plants when insects were released one or two days after spraying. In order to study the development of whiteflies on treated plants in comparison to control plants, we investigated oviposition intensity and development of subsequent larval, late larval (pupal), to adult stages. When plants were treated with JA and BTH before egg deposition, 75–80% of eggs developed to adults' stage in all cases. On the other hand, when plants were treated one week after egg deposition and treatments were repeated after two weeks at larval stage, we found a significant reduction in relative amount of eggs (compared to untreated control) that reached the adult stage on both BTH and JA treated plants. Newly emerged females from different treatments showed distinct differences in fecundity. Females from BTH treated plants had significantly lower fecundity (5.25 eggs/female/day) compared to JA treated (8.04) and control (8.22) plants. Yet the feeding intensity of early as well as late instars larvae was not different among any treatments.

Combination of Antifungal Genes (chitinase and glucanase) to Increase the Resistance Level of Transgenic Pea against Fungal Diseases

A.A. Selatsa¹, J. Papenbrock², H. Fathi¹ & H.-J. Jacobsen¹

¹ University of Hannover, Department of Plant Biotechnology, Germany

² Leibniz Universität Hannover, Institut für Botanik, Germany

Pea (*Pisum sativum*) is an important grain legume worldwide, used both as a source of dietary protein for human and animal nutrition. The protein concentration of peas ranges from 15.5 to 39.7%. Its production, however, is affected by different pests and diseases among which fungal diseases are the most important ones. A major objective in breeding therefore is to improve the resistance of pea to fungal diseases which can cause considerable loss of more than 30%. In addition, most phytopathogenic fungi leave mycotoxin residues in the crop. In order to control fungal infections, pea transgenic lines with enhanced resistance to fungal diseases through heterologous expression of chitinase and glucanase genes have been established. One way of enhancing or broadening resistance is to combine these transgenes expressing several resistance genes into a single line via conventional crossing. The aim of this study was to enhance the resistance level of transgenic pea plants (expressing chitinase and glucanase individually) against fungal diseases. The transgenic lines expressing both chitinase and glucanase were characterised at the molecular level, segregation and stability expression were analysed. Finally, the transgenic hybrids will further be tested for their resistance against different phytopathogenic fungi following resistance assay procedures leading to the establishment of resistance assays. To achieve the above objective, 24 out of 29 hybrid plants were grown in the F1 generation. Transgene detection was made by PCR using different primer combinations (Chit 555 and Gluc 823). The results clearly showed the integration of chitinase and glucanase genes in the crossed plants. Stability expression was confirmed in the F2 where 182 F1 seeds were grown. Ninety-three plants were homozygous for our genes. Mendelian segregation pattern (9:3:3:1) was observed. Activity assays were performed and some of the crossed transgenic plants are showing an increased effect in activity.

Molecular Characterisation of Silicon-Induced Resistance in Potato against Bacterial Wilt

D. Sadikaj¹, W. Weckwerth² & K. Wydra¹

- ¹ Leibnitz-University of Hannover, Institute of Plant Diseases and Plant Protection, Germany
- ² Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Germany

Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* attacks more than 200 crop species, among them important Solanaceae. The soilborne pathogen is widespread in tropical and subtropical areas and causes devastating losses. Host plant resistance as a control strategy has not been successful so far, either because germplasm resistance is not stable or/and because of high genetic diversity within the *R. solanacearum* species complex. Alternatively, integrated disease management is considered as a promising strategy to be exploited. We are studying the role of silicon (monosilicic acid) amendment in the potato (*Solanum tuberosum* L.) × *R. solanacearum* interaction as a potential element of such a strategy. We have previously shown by gene expression profiling that silicon was able to induce defense-related genes and to subsequently reduce disease incidence in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill).

Silicon application led to reduced disease incidence in two moderately resistant potato genotypes, but not in a susceptible one. Our main focus is now referred to the kinetic of the phenylpropanoid metabolism in both roots and stems in a time frame of 24–120 hours post inoculation. Phenylalanine ammonialyase (PAL) activity and total soluble phenols are being measured in both plant organs. Recently, in collaboration with the Max-Planck Institute for Molecular Plant Physiology (Golm, Potsdam, Germany) we initiated a metabolomic approach by using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) in an attempt to correlate the profile of secondary metabolites (phenylpropanoid metabolism) as well

as other defense-related metabolites to the resistance reaction of our pathosystem after induction through silicon application. Preliminary results showed no role of silicon in PAL activity in inoculated plants of a moderately resistant potato genotype. Additionally, we used three monoclonal antibodies against pectic polysaccharides of the cell walls (JIM7 and JIM5, recognising high and low esterification levels of homogalacturonan, respectively) and arabinogalactan proteins to study the involvement of the cell wall in the resistance reaction. Preliminary results from these antibodies showed a relation between high esterification level and arabinogalactan proteins with the level of resistance.

Evaluation of Allelopathic Effects of Fenugreek Extract on Germination and Growth of Some Crop and Weed Species

Golsoomeh Azizi¹, Asieh Siah-Marguee¹, Leila Alimoradi¹ & Atefeh Keshavarzi²

- ¹ Ferdowsi University of Mashhad, Department of Agronomy, Iran
- ² Gorgan University, Faculty of Soil Science, Soil Science, Iran

Allelopathy refers to the beneficial or harmful effects of one plant on another plant, both crop and weed species, by the release of chemicals from plant parts by leaching, root exudation, volatilisation, residue decomposition and other processes in both natural and agricultural systems. Allelochemical concentrations in the producer plant may also vary over time and is produced in the plant tissue. In order to study the effect of different organ extracts of fenugreek (*Trigonella gracum*) on germination of some crops and weeds, an experiment was conducted in completely randomised design with three replications in Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. Factors included four species soybean (*Glycine max*), sesame (*Sesamus indicum*), pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and the extract of different fenugreek organs (leaf, stem, seed, pod and total organs) in four levels (check, 4, 8, 32 and 64 g powder/1000 ml distilled water). Results indicated that plants had different reaction to concentrations of different organ extracts. Fenugreek extract not only reduced seedling growth of different species, but also inhibited seed germination. Negative and significant correlation was observed between germination percent and different concentrations of organs and minimum of regression slope was obtained in stem extract. Root and shoot length had negative and significant correlation with extract concentrations, in total species, except of soybean. In general, velvetleaf had the most sensitivity for fenugreek allelochemical. Alternatively, application of allelopathic compounds before, along with, or after synthetic herbicides could increase the overall effect of both materials, thereby reducing application rates of synthetic herbicides.

Parthenium Phyllody in Ethiopia: Epidemiology and Host Range of Phytoplasmas within Important Crops Cultivated in Ethiopia

J. Janke¹, T. Henniger¹, M. Bandte¹, C. Ulrichs², T. Tessema³, S. von Bargen¹ & C. Büttner¹

- ¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Phytomedicine, Germany
- ² Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Urban Horticulture, Germany
- ³ Plant Protection Research Center, Weed Science, Ethiopia

Parthenium hysterophorus is an annual weed originating from Central America. It was introduced to Ethiopia in the 1980 s

and became the major invasive weed in both arable and grazing lands, due to its competitiveness and adaptability to different climates and soils. In Ethiopia a disease caused by phytoplasmas was commonly observed in *Parthenium* (up to 75% field incidence). Diseased plants are characterised by excessive branching (witches' broom), reduced plant height and leaf size, and modification of floral structures into leaf-like structures that lead to sterility (phyllody). More than 700 plant diseases are associated with phytoplasmas. In order to test whether *Parthenium* plants harbor phytoplasmas, which may also infect important agricultural crops in Ethiopia, weeds and cultivated plants showing phyllody symptoms were collected. Furthermore, planthoppers that are supposed to serve as potential vector insects were captured from phyllody diseased *Parthenium* plants and transmission studies were carried out by use of leafhoppers. Phytoplasma infection was assessed by polymerase chain reaction (PCR) and the PCR products were further characterised by sequencing allowing species identification of the pathogens. DNA fragments specific for phytoplasmas could be detected in *P. hysterophorus* as well as in important crops in Ethiopia, e.g. groundnut, sesame, and grass pea. The phytoplasmas belong to the Peanut witches' broom (16 SrII) group and can be transmitted by the leafhoppers *Orosius cellulosus* native to Ethiopia. Moreover, it could be shown that nymphs as well as adult planthoppers of the genus *Hilda* (family Tettigometridae) collected from phyllody diseased *Parthenium* can acquire these phytoplasmas. This suggests that *Parthenium* represents a pathogen reservoir for the phytoplasmas affecting agricultural crops in the country. Since phytoplasma infections can lead to sterility of the inflorescences, severe losses in yield of agricultural crops could be expected. Thus, control of *Parthenium* and putative vectors transmitting phyllody disease is important.

Optimal Herbicide Application Rate for *Pueraria* Fallow Recalculation: Effects on Vine Growth, Soil Cover and Weed Suppression

J. Duindam & S. Hauser

International Institute of Tropical Agriculture (IITA),
Agronomy, Cameroon

Demographic growth in combination with increased prices of food imports demand an increased output of local agricultural systems in the humid forest zone of Cameroon. Leguminous fallow systems based on *Pueraria phaseoloides* (tropical kudzu) are a promising technology to intensify land use in the traditional slash and burn fallow systems by speeding up fertility restoration in the fallow period. Reclaiming the fallowed land by direct planting into an undisturbed mulch layer is labour efficient and has other advantages, including prolonged arable weed suppression and soil erosion protection. Herbicide treatment could be an appropriate technology to control *P. phaseoloides* in commercial food crop fields where labour is scarce. However, the dosage of herbicide needs to be balanced between effectively delaying recovery of *P. phaseoloides* without killing the cover crop. Objective of this study was to find the optimal pre-planting herbicide application rate reducing early competition for resources and crop damage caused by climbing vines, but avoiding the loss of benefits of in-situ mulch production. An experiment was set up in a 3-year-old *P. phaseoloides* dominated fallow where soil cover and vine growth were monitored after glyphosate was applied at a rate of 0, 360, 720, 1440 and 2880 g ha⁻¹. None of the treatments was lethal. *P. phaseoloides* climbing activities were effectively delayed for 29 days by the 720 and 1440 g ha⁻¹ treatments followed by a 81 days delay by the 2880 g ha⁻¹ treatment. The 360 g ha⁻¹ treatment did not postpone *P. phaseoloides* regrowth compared to the control although it reduced the initial growth rate considerably. Weed cover was

low in all treatments resulting in no significant difference over all treatments in weed biomass at 123 days after treatment. Interestingly, also the dry weight of litter layer did not show differences over the treatments, suggesting that in-situ litter production in the control treatment may have been compensated by a higher decomposition rate under the standing crop. Overall, these results show the potential of a single herbicide application of 720 g ha⁻¹ to create a closed semi-live mulch layer suitable for direct planting of maize crops with zero pre-planting labour requirements.

Hydrogen Cyanide Production Ability by *Pseudomonas fluorescens* Bacteria and their Inhibition Potential on Weed Germination

S. Heydari¹, P. Rezvani-Moghadam¹ & M. Arab²

¹ Ferdowsi University, Department of Agronomy, Iran

² Tehran University, Agronomy, Iran

This research was undertaken to isolate and purify indigenous *Pseudomonas* spp., to evaluate its ability in hydrogen cyanide synthesis and also to evaluate the potential of super-strains on seedling growth inhibition of weeds. According to this, the research was carried out in laboratory tests. 136 strains (obtained from rhizosphere soil of 62 weed species) and 27 strains of *Pseudomonas fluorescens* were sub-cultured, purified and refreshed. Then these strains were evaluated for the capability in cyanide synthesis and at last four super-strains of cyanogenic *Pseudomonas* were selected and used in further experiments. The effects of these strains on stem length, root length and stem length/root length rate in rye, wild barley, and wheat were evaluated in three different in vitro tests examining the effects of gas and liquid metabolites produced by bacteria. The results showed that the abundance and probability of the bacteria isolation was low (about 3.6%). About 37% of *Pseudomonas* were capable of HCN production and this capacity was different among the strains. Gas metabolites reduced more than 90% of root and shoot growth in weeds. These gas metabolites had larger inhibitory effects than other metabolites on plants. However, these influences were different in every bacteria treatment. Also wheat had less growth reduction if compared to weeds, indicating that the bacteria are probably plant specific. In conclusion, the results proved that cyanogenic *P. fluorescens* had the potential of biological weed control. However, further studies on its application under natural conditions like greenhouse and field conditions, seem to be necessary.

Evaluation of the Effects of Fallow-Forage Barley and Sugarbeet-Forage Barley Rotations on Density and Distribution of Weeds

A. Siah-Marguee, M.H.R. Mohassel, M. Bannayan,
M.N. Mahallati, L. Alimoradi & G. Azizi

Ferdowsi University of Mashhad, Department of Agronomy,
Iran

In order to evaluate of conventional management of fallow-forage barley and sugar beet-forage barley rotations and its effect on density and distribution of different species of weeds, this study was performed in two of barley fields, in Agricultural College of Ferdowsi University of Mashhad Experimental Station in 2003. Sampling was done by systematic method in which samples were taken from the corners of 7 m × 7 m grids using 0.5 m × 0.5 m size quadrates in three stages (pre application herbicide, post application of herbicide and pre harvesting). The results indicated that the density of annual weed seedlings in sugar beet-barley rotation was more

than fallow-barley rotation, and the density of perennial weed seedlings in fallow-barley rotation was more than sugar beet-barley rotation. Map of species distribution and density confirmed patchiness distribution of the weeds. The shape and size of patches differed based on field and weed species, but spatial distribution did not change considerably before and after application of herbicide. Percentage of free weeds area was 11.5% and 1.5% in fallow-barley rotation and 0.6% and 0% in sugar beet-barley rotation in first and second sampling stage respectively. These results indicate inefficacy of sugar beet. Besides more stress on weed infestation in sugar beet-barley rotation, in addition to more emphasis on weed infestation compare to sugar beet-forage barley rotation. Apparently, the evaluation of management conducted and paying special attention, to weed dispersal within the field, is able in implementation of appropriate management strategy, which includes high efficacy and profit for farmer as well as least damage to crops.

Allelopathy as an Alternative Method for Weed Control in Saffron Fields: A Suitable Approach to Sustainable Agriculture

L. Alimoradi¹, G. Azizi¹, M. Jahani¹, A. Siah-Marguee¹ & A. Keshavarzi²

- ¹ Ferdowsi University of Mashhad, Department of Agronomy, Iran
- ² Gorgan University, Faculty of Soil Science, Soil Science, Iran

Allelopathy, the chemical mechanism of plant interference, can affect many aspects of plant ecology including plant occurrence, growth, succession, plant community structure, dominance, diversity and plant productivity. An allelopathic plant can potentially be used to control weeds. In a rotational sequence, when an allelopathic plant is left as a residue or mulch, especially in low-till systems, it could control subsequent weed growth. Allelopathy is characterised by a reduction in plant emergence or growth, reducing their performance in the association. To study the effect of saffron (*Crocus sativus* L.) extract on germination of *Rapistrum rogosum* and *Gypsophilla pillosa*, an experiment was conducted in completely randomised design with three replications at Ferdowsi University of Mashhad, Iran. Treatments included the extract of saffron seeds and leaves at five levels (check, 0.5, 1, 1.5, and 2%). Results indicated that seed extract did not affect germination percentage significantly, but seed germination affected by different concentrations of leaf extract. With increasing concentration of leaf and corm extract rate of germination, shoot length, root length and seedling dry weight of *R. rogosum* and *G. pillosa* decreased. On the whole, *R. rogosum* was more tolerance than *G. pillosa* and root length was more sensitive than shoots length to saffron extract. From a holistic point of view, research potential and use of allelopathy in an agroecosystem is very wide. The richness of agricultural techniques, crop rotation, cover cropping, and related practices allow researchers to evaluate and make use of allelopathic chemicals for weed management in agricultural systems.

Effect of Plant Diversity and Nutrient Resource on Weed Composition and Density in Different Cropping Systems

G. Azizi, A. Koocheki, P. Rezvani-Moghadam, M.N. Mahallati, L. Alimoradi & A. Siah-Marguee

Ferdowsi University of Mashhad, Department of Agronomy, Iran

In order to investigate the effects of plant diversity and nutrient resource on weed composition, density and dry matter in different cropping systems, an experiment was conducted as split plot based on complete randomised block design with three replications at the agricultural research station, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, during 2006 and 2007. Treatments included manure and chemical fertilisers in main plots and intercropping of three soybean varieties (Williams, Sahar and Gorgan3), intercropping of three millet species (Common millet, Foxtail millet and Pearl millet), intercropping of millet, soybean, sesame (*Sesamum indicum*) and intercropping of millet, sesame, fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*), ajowan (*Trachyspermum ammi*) in sub plots. Result indicated that nutrient resource affected weed dry matter and density. Weed dry matter and density was respectively, 1.3 and 1.8 folds higher in chemical fertiliser compared to manure in first year. In the second year, weed dry matter in manure and chemical fertilisers was 173.2 and 300.2 g.m⁻² and weed density was 98.6 and 84.9 plants per m⁻². With increasing crop diversity, weed dry matter and density decreased and intercropping systems had the lowest weed dry matter. Crop species affected weed dry matter in monocultures. There was a negative correlation between diversity and weed dry matter. In the first year Shannon diversity index was highest in sesame and ajowan monocultures (0.75 and 0.72, respectively). Different intercropping systems had the lowest Shannon index. In the second year, Shannon index was highest in soybean (Sahar variety) monoculture (0.72) and three millet species intercropping (0.71). more researches on the effects of crop diversity on weed population is needed in mixtures.

The Impact of Common Dry Bean (*Phaseolus vulgaris*) Planting Dates and Densities on Weed Growth Characteristics

Z. Avarseji, M.H.R. Mohassel & A. Nezami

Ferdowsi University of Mashhad, College of Agriculture, Department of Agronomy, Iran

Common bean (*Phaseolus vulgaris*) is one of the most susceptible plants to herbicides. Environmental concern increased the necessity of using non chemical weed control strategies against weeds in common bean. Planting dates and crop densities are two important cultural practices in growing beans. Appropriate planting date and crop density could reduce weed dry matter and increases crop competition abilities. A field experiment was conducted in Ferdowsi University of Mashhad, College of Agriculture Experimental Station at 2006 in order to study the effectiveness of different planting dates and crop densities on weed growth characteristics. Experiment was arranged as an split plot based on a completely randomised blocks design, with three replications in which the main plots were planting dates (April, 25th – May, 10th – May, 24th) and the sub plots were different plant densities (10–20–30 plant/m²). The results indicated that different planting dates and crop densities had significant reduction in weed biomass and decreasing weed growth rate. The minimum weed dry matter and growth rate was observed in planting date of April, 25th compare to other planting dates. However in this treatment the crop biomass and the crop growth rate were high. The maximum yield, dry matter and crop growth rate of common bean were obtained in crop density of 30 plants/m². Whereas, the least amount of weed growth rate and weed dry matter obtained in 30 plants/m². The minimum weed dry matter and weed growth rate and maximum crop growth rate, yield and biomass was obtained in treatment of 30 plants/m² and planting dates of April 25th.

AK „POPULATIONSDYNAMIK UND EPIDEMIOLOGIE“, 6. UND 7. MÄRZ 2008, HALLE (SAALE)

Der Arbeitskreis „Epigäische Raubarthropoden“ der DGaaE traf sich mit dem Arbeitskreis „Populationsdynamik und Epidemiologie“ der Phytomedizinischen Gesellschaft zu einer gemeinsamen Veranstaltung am 6. und 7. März 2008 am Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Martin-Luther-Universität in Halle.

Das zweitägige Treffen wurde von Frau Professor Christa Volkmar vor Ort organisiert. Die Teilnehmer kamen aus Deutschland und Ägypten, von Universitäten, dem Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI), dem UFZ – Helmholtz – Institut Leipzig, der Sächsischen und Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft und den Firmen Syngenta Agro GmbH und Bio Chem agrar.

Verschiedene Forschungsbereiche wurden vorgestellt und ausführlich diskutiert. Im AK „Epigäische Raubarthropoden“ stellte Herr Dr. Kreuter (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft) Ideen und Projekte zur angewandten Raubarthropoden - Forschung vor und Herr Dr. Büchs (Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen) informierte zu Auswirkungen des Anbaus transgener Maispflanzen auf die Fitness koleopterer Prädatoren. Weitere Vorträge gaben einen faunistischen Überblick zu Spinnenarten in Bergbaufolgelandschaften und Kurzflüglerzönosen in der Region des ehemaligen Salzigen Sees. Zu Ergebnissen ihrer Diplomarbeiten referierten Frau Weber und Herr Rensch vom Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Universität Halle sowie Herr Gerisch (Helmholtz Centre for Environmental Research, Leipzig) zu den Ergebnissen seiner Doktorarbeit.

Im AK „Populationsdynamik und Epidemiologie“ waren Beiträge aus dem Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz (Dr. Schliephake) und dem Institut für biologischen Pflanzenschutz (Dr. Felke) zu hören. Ägyptische Stipendiaten und Doktoranden gaben einen Überblick zu biologischen Bekämpfungsansätzen in Ägypten und stellten aktuelle Forschungsarbeiten vor. Abgerundet wurde das Themenangebot des AK Populationsdynamik durch einen Beitrag von Herrn Dr. Löbner (Syngenta Agro GmbH) zu Fragen von Resistenzmanagement – Strategien im Anbau. Allen Referentinnen und Referenten sei für die gründliche Vorbereitung der Vorträge gedankt, sowie allen Teilnehmern für die konstruktiven Diskussionsbeiträge.

Es wurde ein neuer Leiter für den Arbeitskreis „Epigäische Raubarthropoden“ gewählt. Herr Dr. Thomas Kreuter (Bayerische Landesanstalt, Freising) wurde für das Amt vorgeschlagen und ohne Gegenstimmen gewählt. Für die Funktion des Stellvertreters kandidierte wieder Frau Professor Christa Volkmar (Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Martin-Luther-Universität Halle). Die Anwesenden bestätigten sie ebenfalls ohne Gegenstimmen. Das nächste Treffen der Arbeitskreise ist für 2010 geplant.

Christa Volkmar (Halle)

ZUR RAUBARTHROPODEN-FORSCHUNG AN DEN LANDWIRTSCHAFTLICHEN FACHBEHÖRDEN IN DEUTSCHLAND (AM BEISPIEL DER AKTUELLEN SITUATION IN BAYERN UND SACHSEN)

Kreuter, Th.

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising

Contact: thomas.kreuter@LfL.bayern.de

In den Landesanstalten der Freistaaten Sachsen und Bayern liefen und laufen zahlreiche Untersuchungen zu acker- und pflanzenbaulichen Effekten auf epigäische Raubarthropoden.

Dazu gehören z. B: Projekte zu Nebenwirkungen des Anbaus transgener Kulturen, zu Auswirkungen dauerhaft pflugloser Bodenbearbeitung, zum Einfluss des Anbaus nachwachsender Rohstoffe oder zur naturschutzgerechten Gestaltung und Bewirtschaftung von Ackerflächen. Ein generelles Problem in diesem Kontext ist der fortschreitende Personalabbau, in Sachsen auch der schrittweise Rückzug der LfL aus der Agrarforschung. Die Problematik gewinnt an Brisanz, da nationale agrarwissenschaftliche Strategien eher eine Ausweitung der praxisnahen Forschung unter stärkerer Einbeziehung nicht universitärer Strukturen propagieren (siehe Workshops „Böden im Klimawandel“; UBA, Januar 2008 oder „Zukunft der Agrarforschung“; BMBF & BMELF, Februar 2008). Um diese Diskrepanz zu verringern, sollte in Zukunft verstärkt länder- und fachgebietsübergreifend zusammengearbeitet werden. Bereits vorhandene Forschungsprogramme müssen optimal genutzt werden. Beispielsweise lassen sich Effekte des Klimawandels oder Auswirkungen veränderter Anbaustrukturen z. T. über ein erweitertes Monitoring von Bodendauerbeobachtungsflächen (BDF) bewerten. Untersuchungen zum Einfluss konsequent pflugloser Anbausysteme auf Laufkäfer und Spinnen können in den Bodenbearbeitungsversuch 1 des IfZ Göttingen und der Südzucker AG integriert werden. Das agrarökologisch gut dokumentierte Klostergut Scheyern ist zum einen in das Netzwerk bayerischer BDF eingebunden (bearbeitet durch die LfL), gilt andererseits als ein Hauptstandort im Exzellenz-Forschungsprojekt TERENO (Terrestrial Environmental Observatoria). Es stellt damit auch einen optimalen Standort für zoologische Forschungsvorhaben dar. Nur durch die Bündelung solcher Ressourcen wird es den Landesanstalten für Landwirtschaft zukünftig möglich sein, die dort prinzipiell sehr günstigen Bedingungen für angewandte agrarökologische Forschung (und damit auch für die Raubarthropoden-Forschung) zu erhalten und optimal umzusetzen.

DIFFERENZIERUNG VON GENOTYPEN DER HAFERBLATTLAUS *RHOPALOSIPHUM PADI* UND DEREN EFFIZIENZ IN DER ÜBERTRAGUNG DER VIREN DER GERSTENGELBVERZWERGUNG

Schliephake, E.; Habekuß, A.; Leistner, H.-U.

*Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen; Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz; Erwin-Baur-Str. 27; D-06484 Quedlinburg
Contact: e.schliephake@bafz.de*

Für Blattläuse (Aphididae) charakteristisch ist ihr spezifischer Vermehrungszyklus. Während der Vegetationsperiode vermehren sie sich ausschließlich asexuell parthenogenetisch. Im Herbst wechseln sie zur sexuellen Vermehrung, häufig verbunden mit einem Wechsel der Wirtspflanze, und die Überwinterung erfolgt als Ei (Holozyklus). Aus den Eiern schlüpfen weibliche Larven, die sich in der Folge ausschließlich parthenogenetisch vermehren. Somit setzen sich die sommerlichen Blattlauspopulationen aus einer Reihe von nebeneinander bestehenden, genetisch unterschiedlichen Klonen zusammen. Milde Winter ermöglichen verschiedenen Aphidenarten, sich weiter parthenogenetisch zu vermehren (Anholozyklus), sofern ihre Wirtspflanze nicht abstirbt, so dass diese Klone im nächsten Jahr wiederum in der Population enthalten sind. Blattläuse sind die wichtigsten Überträger (Vektoren) von Pflanzenviren. Die Traubenkirschen- oder Haferlaus *Rhopalosiphum padi* ist der wichtigste Vektor der Gelbverzwergungsviren im Getreide (Barley yellow dwarf virus BYDV, Cereal yellow dwarf virus CYDV). Untersucht wurde, ob Klone von *R. padi* aus Deutschland, Tschechien, Österreich, Russland und Neuseeland sich in ihrer Effizienz der Virusübertragung sowie hinsichtlich ihres Vermehrungspotenzials unterscheiden. Die genetische Diversität von 30 Klonen wurde anhand der DNA der Aphiden mittels der amplified fragment-length

polymorphism (AFLP) Methode bestimmt. Verwendet wurden 16 Primer mit selektiven 3er Sequenzen der Schnittstellen EcoRI und MseI. Zur Bestimmung der genetischen Ähnlichkeit wurden 736 polymorphe Fragmente verwendet, aus denen für die Klone die Ähnlichkeitsmatrix mit Koeffizienten zwischen 0,39 und 0,86 berechnet wurde. Die Clusteranalyse (UPGMA) ergab 3 Gruppen. Die größte Gruppe umfasste 14 Klone aus Deutschland sowie 3 Klone aus Russland. In einer zweiten Gruppe fanden sich 5 Klone aus Russland sowie die 5 neuseeländischen Klone. Jeweils ein Klon aus Deutschland, Österreich und Russland bildeten die dritte Gruppe. Die Übertragungseffizienz von 20 Klonen für die Viren BYDV-PAV und CYDV-RPV wurde mit einzelnen Aphidenweibchen und einer Virusakquisitions- und Virusinokulationssaugzeit von jeweils 2 d an Gerstenkeimlingen der Sorte „Rubina“ im Klimaprüfschrank bei 20°C und einem 16/8 h Hell- /Dunkelrhythmus bestimmt. Nach 6 Wochen blattlausfreier Kultivierung im Gewächshaus wurden alle Pflanzen serologisch (ELISA) getestet und die Infektionsrate als Anteil infizierter Pflanzen berechnet. Je Klon und Virus wurden in 3 Wiederholungen jeweils 18 Pflanzen geprüft. Für das BYDV-PAV wurde eine mittlere Übertragungsrate zwischen 48 und 98% gefunden. Die Übertragungsversuche für das CYDV-RPV ergaben eine deutliche Gruppierung von gut übertragenden Klonen mit Raten zwischen 59% und 96% Übertragungseffizienz und Klonen mit deutlich geringeren Raten zwischen 1,3% und 15,7%. Zwischen den mittleren Übertragungsraten der Klone in den drei gefundenen Clustergruppen bestand keine Signifikanz.

Weiterhin konnten signifikante Unterschiede zwischen den Klonen in der mittleren Zahl Nachkommen nach 10 d, sowie der mittleren Gewichtszunahme der Larven pro Tag auf der Wintergerste „Erfä“ festgestellt werden. Die gefundenen Ergebnisse verdeutlichen, dass in der Übertragung der Verzwergungsviren im Getreide neben der Populationsdynamik von *R. padi* der genetischen Diversität der Populationen eine wesentliche Bedeutung zukommt.

Report on the Annual Meeting of the Working Groups “Population Dynamics and Epidemiology” of DPG and “Epigeic Arthropods” of DGaaE

The meeting of the working groups “Epigeic Arthropods” and “Population Dynamics and Epidemiology” of DGaaE and DPG took place in March, 6-7, 2008 in Halle (Saale). It was organized by Professor Dr. Christa Volkmar and her team from the Institute of Agricultural and Nutritional Science, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg. In total, 28 specialists from research and practice attended the meeting (Universities Halle, Sohag Egypt, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Julius Kuehn Institute (JKI) Darmstadt, Braunschweig and Quedlinburg, National Research Center, Dokki, Giza, UFZ-Helmholtz Centre for Environment Research, Dept. Conservation Biology, LfL Sachsen and Bayern, Bio Chem agrar, Syngenta Agro).

During the two half days 13 contributions were presented on the following subjects: pests and beneficials in agro-ecosystems, side-effects of Bt maize on beneficial arthropods, biological pest control with entomopathogenic nematodes and *Trichogramma* species, resilience capacity of riparian ground beetles, side effects of pesticides on spiders and ground beetles, evaluation of insecticides and alternatives against aphids. The working group will meet in two years in Freising; it will be organized by Dr. Thomas Kreuter (LfL Bayern).

Christa Volkmar, Halle (Saale)

Resilience capacity of riparian ground beetles to a severe summer flood in a Central European lowland stream

Michael Gerisch

Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ, Dept. Conservation Biology, Leipzig; michael.gerisch@ufz.de

There are increasing demands towards a more mechanistic understanding of the response of biodiversity to environmental disturbances. In summer 2002 the Elbe river in Germany was affected by the heaviest flooding for more than 100 years. Here we focus on estimating response patterns of ground beetle communities of different hydrological and disturbance regimes and how long the response lags behind this extreme event.

Ground beetles had been sampled from 1998–1999 (pre-flood) and from 2002–2004 (post-flood) at exactly the same plots in grassland habitats. We analysed species richness (alpha diversity) and assessed the shifts in the community composition (beta diversity) to quantify response patterns and the resilience capacity of different ground beetle communities. Species richness and relative abundance of ground beetles collapsed due to the flood event. Opportunistic species dominated communities directly following the flood. Two years afterwards species richness achieved pre-flood level but we found still strong differences in species relative abundances. We found no evidence for a differential reaction of communities belonging to different humidity or disturbance regime.

Resilience capacity of ground beetles was high in terms of species richness but low in terms of community composition. We assume a disturbed larval development and limited recolonisation processes as main reasons for the huge abundance lag of many species. However, the occurrence of winter floods should mould species abundances back towards pre-flood conditions.

The influence of several seed dressings of epigeous arthropods in sugar beet fields

Martina Weber

Institute of Agricultural and Nutritional Science, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, 06099 Halle; martina.weber@landw.uni-halle.de

Several field studies at two different locations in the area of Halle/Saale were carried out in the years 2004 and 2005 to study the effect of three different seed dressings with insecticide components (chloronicotynyls, pyrethroids, neonicotinoids) on epigeous arthropods in sugar beet fields where monitored using pitfall traps from April to October. Ground beetles (Carabidae) were determined up to the species, spiders (Araneae) and rove beetles (Staphylinidae) up to the family. The ecological indicators (diversity, evenness, JACCARD-Index and RENKONEN-Index) were calculated and then statistically evaluated. Only the plots inspected in both years were taken into consideration. The numbers of collected individuals per trap were analyzed in relation to year and period of sampling. The trapping data showed that a Poisson distribution could be assumed. For this reason a generalized linear mixed model had to be adapted (GLMM). The calculation was done using SAS GLIMMIX. GLIMMIX and the included F test of effects on a global level and Tukey test to compare the comparable data in the treatments were performed. The results from the sampling data did not show any differences between the plots. It could be noticed that on all plots there were comparable compositions of species. The statistical evaluation showed significant differences in the activity density of several carabids and linyphiids. The species of *Pseudoophonus rufipes* (De G.), *Pterostichus melanarius* (Ill.) and *Anchomenus dorsalis* (Pont.) have shown a significant less activity density in seed treated plots compared to the control variant. Also the linyphiids showed less activity in treated plots than in the untreated control. It is speculative how strong seed dressings had influenced the results. Therefore more investigations have to be carried out, for example on prey and pest densities.

Occurrence and habitat preferences of some rare spider species in opencast post-mining landscapes in Saxony-Anhalt (Germany)

Ismail A. Al Hussein

Hyazinthenstr. 11, D-06122 Halle (Saale); alhussein@t-online.de

This contribution continues a series of articles on the structure and dynamics of arthropod communities in post-mining landscapes of Central Germany. The opencast post-mining landscapes in Saxony-Anhalt amount to 27000 ha. In this study the spider communities from 75 sites of different habitat types in eight closed opencast brown coal mines were analysed. The investigations lasted for one or two years within a period from 1996-1998. Pitfall traps were used to examine the epedaphic spider taxocoenoses.

Ecological parameters such as species diversity, distribution patterns, rarity, habitat preferences, red list status as well as the species composition of different vegetation or succes-

sion stages were discussed. In total, a set of 296 species (72.133 adult spiders) was found. The most frequent species were (*Pardosa lugubris*-group, *P. prativaga*, *P. agrestis*, *Trocho-sa ruricola*, *T. terricola*, *Pirata latitans*, *Oedothorax apicatus*, *Centromerus sylvaticus*). Furthermore, results are discussed regarding the conservation value of landscape-specific habitats. Records of the halotolerant theridiid spider *Enoplognatha mordax* as well as *Arctosa cinerea* (habitats near waters, characterized by sandy soil with gravel and coal), *Chalcoscirtus pseudoinfimus*, *Poecilochroa variana*, *Sitticus distinguendus*, *Micaria dives*, *Myrmarachne formicaria*, *Pellenes nigrociliatus* (xero-thermophilic, skeletal soil, *Corrynephorus canescens*), *Callilepis nocturna* (xero-thermophilic, myrmecophilic), *Prinerigone vagans* (hygrophilous, sediment with coal) and *Argyroneta aquatica* (water species) are remarkable from a zoogeographic or species conservation point of view. In addition these endangered species were recorded in the investigated areas: *Araneus alsine*, *Sitticus saltator*, *S. zimmermanni*, *Steatoda albomaculata*, *Walckenaeria mitrata*, *W. nodosa*, *Xysticus acerbus*, *X. luctator*, *X. sabulosus*.

Structure and dynamic of rove beetle communities (Coleoptera; Staphylinidae) in different habitat types of the former Salt Lake (Mansfelder Land)

Marita Lübke-Al Hussein

Institute of Agricultural and Nutritional Science,
Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, 06099 Halle;
marita.luebke@landw.uni-halle.de

The Mansfeld Lakes (Mansfelder Seen), the sweet and the salty lake (Süßer und Salziger See), are located in the south of Saxony-Anhalt, between the towns Eisleben and Halle (Saale). The sweet lake present-day does exist. With an area of 875 ha the salty lake once was the largest sea of Central Germany. On account of heavy water sinking into the pits of the Mansfeld copper slate mines the lake must be drained at the end of the 19th century. More than 100 years after the lake has vanished the "re-establishment of the salty lake" was planned. But there is no decision made.

For control of succession processes 17 permanent observation points on 4 transects on the planned edges of the lake were established. From 1996 to 1999 studies on the inventory of these places and further 8 selected sites of the sea-basin and of xerothermic habitats were carried out by means of pitfall traps. The rove beetle coenoses were evaluated by different ecological parameters like habitat type, dominance structure, activity density of most frequent species, body size, biomass and occurrence at moisture gradients at two transects. Largest changes in dominance structure could be observed in salt habitats. The activity densities of most frequent species showed in both investigation years corresponding patterns of phenology. On the transect over the pasture land fallow in both years a clear increase of the numbers of *Falagrioma thoracica*, *Drusilla canaliculata*, *Oxypoda abdominalis*, *Olophrum assimile* and *Sepedophilus marshami* from the dry to the moisture site was registered. *Platydracus stercorarius* showed a reversal result. The classification of the beetles after their body size (ROSE und MÖHLMANN 1993) showed in both years a high similarity.

The biomass of the beetle communities on freshly fallows was especially high. The reason for this on the one hand was the large total numbers of individuals and on the other hand the numerous occurrence of *Ocypus fuscatus*.

The investigations in 1999 in 8 different habitats showed preferences of some species. *Aleochara brevipennis* exclusively was found in moist willow, *Philonthus fumarius* in reeds and *Ocypus brunneipes* on ruderal places. Over the investigation period a total of 188 species could be proofed (LÜBKE-AL HUSSEIN, 2004). Only a few halophilic resp. halotolerant species were registered in the not many salt habitats. Particularly important

is the evidence of *Gabrius dieckmanni*, because this record is the first one for Saxony-Anhalt. Very important habitats for nature conservation of the rove beetles are the reeds, pasture land and pasture land fallows, freshly fallows and salty areas.

LÜBKE-AL HUSSEIN, M., 2004: Kommentierte Artenliste der Kurzflügelkäfer (Col., Staphylinidae) am ehemaligen Salzigen See (Mansfelder Land). Entomol. Nachr. Berichte 48, 241-248.

ROSE, A. und G. MÖHLMANN, 1993: Zur Besiedlung der jungen Düneninsel Mellum durch Staphyliniden. Drosera 93, 101-123.

Monitoring aerial activity of spiders in the dry regions of Central Germany

Christa Volkmar, Markus Rensch

Institute of Agricultural and Nutritional Science,
Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, 06099 Halle;
christa.volkmar@landw.uni-halle.de

A European network of suction traps (type Rothamsted) monitors the distant flight activities of aphids. Studies on ballooning behaviour based on suction trap catches are available for England (Thorbeck et al., 2002) and Switzerland (Blandenier & Fürst 1998). Another suction trap (12,2 m) was established at Aschersleben in Saxony-Anhalt, Germany. In 2000 to 2003 catches of cobweb spiders (*Araneae*) were evaluated on a daily basis (catch interval 8 hours). In 2000, day catches (n = 143 days) did result in 2504 cobweb spiders belonging to 33 species from 14 families. In 2002 (n = 169 days) 5191 spiders belonging to 47 species from 16 families were identified. The percentage of juvenile individuals was steady over the years at an average of 62,5%. Among the adults, species of the *Linyphiidae* did reach a dominant position (e.g. *Erigone atra*). Subdominant species included individuals of the *Lepthyphante tenuis* group, *Oedothorax apicatus* and *Porrhomma micropthalmum*.

The average flight intensity was established in 2000 at 0,77 spiders per 1000 m² (2001: 0,77; 2002: 1,3; 2003: 0,4). Generally, spider activity in the air plankton peaked in July. The maximum value was reached on July 20th 2002 with 17,8 spiders per 1000 m². Maximum values were significantly lower in 2000 (July 1st: 6,4) and 2003 (July 11th: 2,7).

The results show that not only juveniles but also adults of both sexes make use of ballooning as a dissemination strategy. Active species in suction trap catches could often also be verified with other methods such as pitfall traps or D-vac (Volkmar et al. 1994). Most of these species can be characterized as eurytope or xerophile. The results indicate that suction trap catches could proof useful indicators in monitoring programmes for agroecosystems.

Development of a computer based model for effective European corn borer control

Martin Felke

Federal Research Centre for Cultivated Plants, Julius Kuehn Institute, Institute for Biological Control, Heinrichstraße 243, D-64287 Darmstadt, Germany; martin.felke@jki.bund.de

A computer based prognosis model for European corn borer control shall be developed in cooperation between JKI (institute for biological control) and proPlant company. If such a prognosis model will be available for farmers efficacy of ECB control measures can be increased and number and extent of control measures can be reduced. This means that especially the use of chemical insecticides can be reduced, which will have a positive effect on consumers as well as on the environ-

ment. First, actual and historical data regarding the phenology of the ECB have to be collected by JKI. ProPlant will use these data sets to first develop and later on to optimize the prognosis model. The first version of the prognosis model, which can be expected for the first quarter of the year 2008 will be evaluated by own field studies in summer 2008. Evaluation has to be repeated in the year 2009, when the second version of the prognosis model will be available. The finalized version shall be brought to the market by proPlant. During the first year of the project (2007) actual data on the phenology of the ECB could be collected at seven different locations, which were scattered all over Germany.

Evaluating ear infestation in winter wheat varieties

Christa Volkmar¹, Annett Schröder¹, N.M.F. Gaafar¹, Hilmar Cöster²

¹ Institute of Agricultural and Nutritional Science, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, 06099 Halle; christa.volkmar@landw.uni-halle.de

² RAGT 2n, Steinesche 5a, 38855 Silstedt

The pest resilience of wheat crops is a fundamental principle of integrated plant protection. Studies in biology of pest organisms and the infestation of different wheat varieties are essential in implementing this approach. In 2007, ear infestation in winter wheat varieties were monitored at two sites in Central Germany. 95 varieties were evaluated at the University of Halle-Wittenberg at Halle and 20 varieties at the plant breeding station RAGT 2n in Silstedt, the latter including varieties with a resistance against wheat blossom midges. The activity of *S. mosellana* and *C. tritici* was monitored by the means of pheromone traps and white traps. The infestation of thrips and wheat blossom midges in the varieties was evaluated by ear rating with binocular microscopes and by a migration test (Danish method), using a sample of 10 ears per date and variety.

Preliminary results indicate significant differences in infestation between the varieties at the stage of milk ripeness. At Silstedt, the Glasgow variety did show the highest infestation with 91,2 thrips per ear (18,7 imagines; 72,5 larvae). The lowest infestation was established for the *Brompton* variety with 5,9 imagines and 3,6 larvae. The Tommi variant, a typical commercial variant in Central Germany, did show a medium infestation level with 40 thrips per ear. Due to weather conditions in 2007 there was only a low level infestation of wheat blossom midges in all varieties. In summary, the results give first hints on variety picking as a efficient method of integrated plant protection.

Field performance of entomopathogenic nematodes and an egg parasitoid for suppression of corn borers in Egypt

Nabil E. El-Wakeil, Mona A. Hussein

Pests and Plant Protection Dept., National Research Center, Dokki, Giza, Egypt; n_emara@islamway.net

Two entomopathogenic nematodes (EPNs) and an egg parasitoid were used for controlling three corn borers (*Sesamia cretica*, *Chilo agamemnon* and *Ostrinia nubilalis*) in corn fields. EPNs, *Heterorhabditis bacteriophora* (BA1) and *Steinernema carpocapsae* (BA2) were applied to control *S. cretica* (after 40 d

post planting) on different planting dates. Three releases of *Trichogramma evanescens* were also conducted at 2 week intervals to control *C. agamemnon* and *O. nubilalis* starting at tasseling time for the three planting dates; two release levels were used [20 & 30 cards (1000 parasitized eggs/card)/acre].

For the first planting date the spraying of EPNs resulted in 97 and 100% mortality of *S. cretica* larvae with *H. bacteriophora* (BA1) and *S. carpocapsae* (BA2), respectively one week post spraying. After 2 weeks there was a 100% mortality of *S. cretica* with both EPN species. For the second planting date the infestation by *S. cretica* was low, suggesting that this may be the suitable date for planting corn. There was relatively high number of *C. agamemnon* and *O. nubilalis* eggs laid during the third planting date compared to first and second. The parasitism percents by *Trichogramma* were high for all planting dates using the 30 cards/acre level compare to the second 20 cards/acre level. At season's end, the numbers of *C. agamemnon* and *O. nubilalis* larvae were significantly reduced in the *Trichogramma* release plots compared to control plots. The overall reduction in corn borer larvae in the treated plots using EPNs and later *Trichogramma* result in an increased the yield compared to control plots. The results suggest that EPNs and *Trichogramma* together can play a crucial role to control the three corn borers.

Evaluation of certain insecticides and their alternatives against *Aphis craccivora* (Koch.) infesting broad bean and determination of pirimicarb residues in the pods

A.A.A. Sallam¹, A.H. Kamel², Z.M. Seleem², R.O. Allam³

¹ Plant Protection Dept., Fac. of Agric., Sohag Univ., Sohag, Egypt; asallam3@yahoo.com

² Plant Protection Dept., Fac. of Agric., Minia Univ., Minia, Egypt

³ Plant Protection Dept., Fac. of Agric., Qena South Valley Univ., Qena, Egypt

Laboratory experiments were carried out in Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Qena South Valley University. The effect of four different insecticides, i.e. malathion (Agrothion 57% E.C.), pirimicarb (Pirimor 50% W.P.), lambda-cyhalothrin (Karate 2.5% E.C.), and acetamiprid (Mosplan 20% W.P.); and three alternatives of insecticides, i.e. one biocide, thiocyclam (Evisect 50% W/W), and two mineral oils (Niterlo oil 93% E.C. & K.Z. oil 95% E.C.) against laboratory strain of *A. craccivora* (Koch.) was studied. The residues of the highest efficient aphicide tested under the laboratory conditions (i.e. pirimicarb) were assayed.

Results obtained that pirimicarb was the most toxic compounds; whereas K.Z. oil was the least toxic one. The order of the tested compounds was the same at both LC50 and LC90 levels, excepted lambda-cyhalothrin replace to pirimicarb at LC90 level. The tested compounds could be in descending order as follows: pirimicarb, lambda-cyhalothrin, acetamiprid, malathion, thiocyclam, Niterlo oil, and K.Z. oil, respectively.

Residue analysis showed that most of the detected residues of pirimicarb were found on and in the peels of the green pods. Immature seeds, on the other hand, recorded negligible or undetectable residue levels through the different tested intervals. Concerning food safety measures, the pre-harvest interval (PHI) for fresh green pods was three days after spraying, where residue on and in green pods was 0.098 ppm. This value was less than that of the Codex MRLS (0.1 ppm).

AK VIRUSKRANKHEITEN DER PFLANZE, 27.03.2008

TOMATO YELLOW LEAF CURL THAILAND VIRUS AS AN EXPRESSION AND VIGS VECTOR SYSTEM

Blawid, Rosana, Maiss, Edgar

Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz,

Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

Contact: maiss@ipp.uni-hannover.de

Tomato yellow leaf curl Thailand virus (TYLCTHV-[AIT]) is a bipartite begomovirus causing severe losses in tomato plants. Here we exploited the use of the TYLCTHV-[AIT] genome as an expression and VIGS vector system. For this purpose, the coat protein (AV1 gene) of TYLCTHV-[AIT] was replaced by the GFP/GFP_HA (HA: Hemagglutinin-tag), the entire coat protein (CP) of vicia cryptic virus (VCV) or a HA-tagged part of the VCV CP and introduced in *Nicotiana benthamiana* plants with or without TYLCTHV-[AIT] DNA B molecules. Proteins expressed in *N. benthamiana* were monitored either using the confocal laser scanning microscope (CSLM) and/or by Western blot. While expressing the complete gene of GFP/GFP_HA did not interfere with the replication of the TYLCTHV-[AIT] integration of the 1464 bp coding sequence of the entire CP of VCV led to deletion mutants in the DNA A. Therefore, only a part of the VCV CP gene tagged with the sequence of the HA epitope (Δ CP_VCV_HA) was inserted. Although it was possible to amplify the complete sequence coding for GFP and the partial sequence of the VCV CP fragments via PCR from systemically infected leaves at 15 dpi both GFP_HA and Δ CP_VCV_HA were detected only in locally agroinoculated leaves but not in systemically infected leaves using anti-HA antibodies in immunoblot assays. Only at 63 dpi it was possible to detect GFP_HA from systemically infected leaves via immunoblotting using anti-HA and anti-GFP antibodies. Moreover, green fluorescence expressed from TYLCTHV-[AIT]_GFP solely or from TYLCTHV-[AIT]_GFP in the presence of DNA B molecules was detected in systemically infected leaves up to 40 dpi. Results obtained from the Western blot assays as well from the CLSM will be presented and discussed.

Finally, transgenic *N. benthamiana* 16c plants, harboring a *gfp* gene, were agroinoculated with a clone expressing GFP from the TYLCTHV-[AIT] A component or in combination with its B component. The progression of *gfp* silencing was monitored by CLSM and under UV light at 5, 14, 19 and 35 days post inoculation. All 16c plants (30 out of 30) inoculated together with the B component showed systemic silencing already at 14 dpi, while only two out of 30 plants containing solely the TYLCTHV-[AIT] A component with *gfp* showed silencing at 35 dpi. In addition, in both combinations five out 30 inoculated 16c plants showed geminivirus symptoms at 19 dpi, suggesting that probably few viral DNA molecules were able to generate symptoms. Taken together, TYLCTHV-[AIT] could be useful as a tool to express heterologous proteins in *N. benthamiana* plants as well as silencing vector.

NACHWEIS UND QUANTIFIZIERUNG DES EAST AFRICAN CASSAVA MOSAIC VIRUS IN NICOTIANA BENTHAMIANA UND CASSAVA

Christof Dietrich, Julia Meiners, Stephan Winter

DSMZ, Inhoffenstraße 7b, 38124 Braunschweig, 38124 Braunschweig

Contact: cdi04@dsmz.de

Die Pflanzenkrankheit Cassava Mosaik (Cassava mosaic disease, CMD) wird durch Geminiviren verursacht. Diese Viren weisen ein bipartites Genom auf und werden durch den Vektor Weiße Fliege übertragen. Ein häufig auftretendes Virus ist das East African cassava mosaic virus (EACMV). Ende der 80er Jahre wurde in Uganda eine schwere Cassava Mosaik Epidemie durch ein rekombinantes EACMV (EACMV-UG2) ausgelöst. Zur Untersuchung des Auftretens von EACMV-UG2 in *Nicotiana benthamiana*, verschiedenen Cassava Zuchtlinien und in nicht näher charakterisierten Cassava Landrassen wurde ein sensitives Real Time PCR basiertes, absolutes Quantifizierungsverfahren unter Verwendung von TaqMan MGB Sonden und einer externen Plasmid-DNA Standardreihe etabliert. Eine Evaluierung der experimentellen Bedingungen bestätigte eine hohe Reproduzierbarkeit und Stabilität des Quantifizierungsverfahrens. In *N. benthamiana* bestand zwischen DNA-B und DNA-A ein durchschnittliches Verhältnis von 3,6:1. Bei Cassava waren die Verhältnisse in Abhängigkeit von der Anwesenheit von Symptomen unterschiedlich. Allgemein deuten die Ergebnisse auf eine Korrelation zwischen der Anwesenheit von Symptomen und dem vermehrten Vorkommen von DNA-B im Pflanzenmaterial hin.

DIE INTERAKTION DES POTATO VIRUS Y HÜLLPROTEINS MIT DNAJ-ÄHNLICHEN WIRTSPROTEINEN IST ERFORDERLICH FÜR DIE INFEKTION VON TABAKPFLANZEN

Daniel Hofius¹, Annette T. Maier², Christof Dietrich³, Isabel Jungkuntz⁴, Frederik Börnke⁵, Edgar Maiss⁵, Uwe Sonnewald⁴

¹*Department of Biology, Copenhagen Biocenter, University of Copenhagen, Ole Maaloes Vej 5, 2200 Copenhagen, Denmark*

²*Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Corrensstrasse 3, 06466 Gatersleben, Germany*

³*DSMZ, Inhoffenstraße 7b, 38124 Braunschweig, 38124 Braunschweig*

⁴*Lehrstuhl für Biochemie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Staudtstr. 5, 91058 Erlangen, Germany*

⁵*Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover*

Contact: cdi04@dsmz.de

Im Infektionszyklus von Potyviren spielt das Hüllprotein (CP) eine wichtige Rolle. Als Strukturprotein ist es essentiell für den Aufbau der Virionen und ist darüber hinaus in den Kurz- und Langstreckentransport der Viren involviert. Für einige dieser Funktionen ist eine Interaktion mit Wirtsproteinen anzunehmen. Unter Verwendung des Yeast Two-Hybrid Systems konnte die Interaktion des Potato virus Y (PVY) CP mit einer neuartigen Untergruppe von DnaJ-ähnlichen Proteinen (NtCPIP) identifiziert und mittels unabhängiger *in vitro* und *in planta* Assays nachgewiesen werden. Verantwortlich für die Interaktion war die Kernregion des CP, die u. a. auch beim Transport durch die Plasmodesmata wichtig ist. Die biologische Bedeutung dieser Interaktion wurde durch PVY Infektionen von Tabakpflanzen nachgewiesen, die intakte NtCPIPs bzw. dominant-negative NtCPIP Mutanten mit deletierter J-Domäne transient oder konstitutiv exprimierten. Bei der transienten Expression zeigte sich, dass es im Fall der NtCPIP2a Deletionsmutante zu einer deutlich verringerten Virusakkumulation kam, bei intakten NtCPIP2a jedoch nicht. Dieses Ergebnis konnte in entsprechenden transgenen Tabakpflanzen bestätigt werden. Weitere Versuche mit einem GFP-markierten PVY legten nahe, dass der negative Effekt der Deletionsmutanten ein Ergebnis der verlangsamten Zell-zu-Zell Ausbreitung von PVY war.

SEARCH FOR SYMPTOM DETERMINANTS ON THE GENOMIC RNAs OF THE ARABIS MOSAIC NEPOVIRUS

Dupuis Laurence, Bassler Alexandra, Krczal Gabriele, Wetzler Thierry
RLP Agrosience, AlPlanta, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Deutschland
Contact: thierry.wetzler@agrosience.rlp.de

Arabis mosaic virus (ArMV) belongs to the plant virus genus Nepovirus of the family Comoviridae. In the wine producing areas southwest of Germany, including Neustadt an der Weinstrasse (NW), ArMV is, along with the Grapevine fanleaf virus (GFLV) and the Raspberry ringspot virus (RpRSV), two other nepoviruses, a causative agent of the grapevine fanleaf disease, one of the most widespread and damaging virus diseases affecting grapevine. ArMV is transmitted by the nematode vector *Xiphinema diversicaudatum*, and has a wide natural host range.

The full length sequences of the grapevine isolate NW and a ligustrum isolate of ArMV have been determined, and infectious clones of the ArMV-NW isolate obtained. On *Chenopodium quinoa*, the infection with ArMV-NW produces very few symptoms, if none, although the plant is systemically infected. On the other hand, the ArMV isolate from privet (*ligustrum vulgare*) produces extremely severe symptoms on *Chenopodium quinoa*, which can lead to the death of the plant. Sequences corresponding to different genes of the privet isolate of ArMV have been cloned and swapped with the corresponding genes on the ArMV-NW infectious clones, and infectivity assays are currently underway to try to determine symptom determinants on the ArMV genomic RNAs.

MOLEKULARE ANALYSE DER FUNKTION DES TM-2 RESISTENZGENS: BEDEUTUNG FÜR DAS STRUKTURMODELL DES TOMV 30 KDA MOVEMENT PROTEINS

Gerhardts, Anja, Wittmann, Alexandra, Strasser, Margarete, Pfitzner, Artur J.P.
Universität Hohenheim, Institut für Genetik, FG Allgemeine Virologie, Emil-Wolff-Str. 14, 70593 Stuttgart, Deutschland
Contact: pfitzner@uni-hohenheim.de

Das Tm-2 Resistenzgen in Tomaten führt zu einer hypersensitiven Abwehrreaktion gegen Tomatenmosaikvirusinfektionen. Tm-2 ist ein typisches CC-NBS-LRR Resistenzgen und im Cytoplasma lokalisiert. Zur Identifikation der Interaktionsbereiche von Tm-2 mit seinem Avirulenzgen, dem ToMV movement protein, wurden transgene Tabakpflanzen mit diesem Resistenzgen erzeugt, wobei eine Kombination mit dem N-Resistenzgen gewählt wurde, um eine quantitative Analyse der Funktion zu ermöglichen. Durch Austausch mit dem allelen Tm-22 Resistenzgen konnten wir zeigen, daß eine kleine Domäne in der LRR Region des Tm-2 Gens für die Erkennung des ToMV MP verantwortlich ist. Zur Aufklärung der Interaktionsdomäne auf der Seite des MP wurden verschiedene resistenzdurchbrechende ToMV Stämme charakterisiert. Dabei zeigte sich, daß sowohl Sequenzen am N-Terminus als auch aus dem zentralen Bereich des ToMV MP an der Ausbildung dieser Domäne beteiligt sind. Da dies nach dem aktuellen Strukturmodell für das ToMV MP unmöglich ist, schlagen wir ein alternatives Modell vor, welches diese neuen Befunden erklären kann.

NEW CHALLENGES FOR PLANT VIRUS DIAGNOSTICS: DETECTION OF DNA VIRUSES IN PLANTS WITH HOMOLOGOUS ENDOGENOUS PARARETROVIRUS SEQUENCES

Glyn Harper¹, Roger Hull¹, Faiza Noreen², Trude Schwarzacher³, Thomas Hohn², Christina Maaß⁴, Sabine Schhmann⁴, Katja Richert-Pöggeler⁴

¹*John Innes Centre, Norwich NR4 7UH, UK*

²*University of Basel, Schonbeinstr. 6, CH-4056 Basel, Switzerland*

³*University of Leicester, University Road, Leicester LE1 7RH, UK*

⁴*Julius Kühn-Institut (JKI), Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig*

Contact: k.richert-poeggeler@ipk-gatersleben.de

In contrast to vertebrate and bacterial viruses, there have been no reports of plant viruses involving integration as part of their infection cycle. However, sequences from two DNA virus families have been found integrated into plant genomes. Partial geminivirus sequences were detected in *Nicotiana* (reviewed by Murad et al., 2004) and there are a number of documented cases of members of the family *Caulimoviridae* which are referred to as endogenous plant pararetroviruses (EPRVs, reviewed by Staginnus and Richert-Pöggeler, 2006). Additionally, DNA copies of coat protein sequences of an RNA virus, Potato virus Y, have been found integrated into the genome of grapevine and viroid-like sequences have been found in carnation (reviewed by Hohn et al., 2008).

Depending on their structure and sequence integrity, some EPRVs are able to replicate and to initiate viral infection. Mobilization is possible from tandemly arranged units, mimicking the situation of true retroviruses. Such a mechanism was suggested for endogenous *Petunia* vein clearing virus (ePVCV), where tandem arrays have in fact been observed (Richert-Pöggeler et al. 2003). The detection of viruses is a critical component of plant health and therefore, it is important to have diagnostic procedures that differentiate between the detection of encapsidated viral DNA and homologous sequences in the host genome. PCR-based detection methods targeted at *Petunia* vein clearing virus (PVCV) DNA have been tested and particular attention was paid to design controls that would indicate the existence of host DNA in the reaction. The methods tested for PVCV detection are used to illustrate general principles for the specific detection of virus infections in host plants that carry homologous virus sequences in their genomes. Furthermore, the early on detection of inducible endogenous plant pararetroviruses is essential for evaluating the risk of EPRV activation in plant genomes and for designing strategies to control such events during breeding programs.

References:

- Hohn T, Richert-Pöggeler KR, Staginnus C, Harper G, Schwarzacher T, Chee How Teo CH, Teycheney P-Y, Iskra-Caruana ML, Hull R (2008). Evolution of integrated plant viruses. In: *Plant Virus Evolution*. (Roossinck M, ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Murad L, Bielawski JP, Matyasek R, Kovarič A, Nichols RA, Leitch AR, Lichtenstein CP (2004). The origin and evolution of geminivirus-related DNA sequences in *Nicotiana*. *Heredity* 92: 352–358
- Richert-Pöggeler KR, Noreen F, Schwarzacher T, Harper G, Hohn T (2003). Induction of infectious *petunia* vein clearing (pararetro) virus from endogenous provirus in *petunia*. *EMBO J* 22: 4836-4845
- Staginnus C, Richert-Pöggeler KR (2006). Endogenous pararetroviruses: two-faced travelers in the plant genome. *Trends Plant Sci* 11: 485-491

INVESTIGATING THE COOPERATIVITY OF MOLECULAR MOTORS WITH THE HELP OF TOBACCO MOSAIC VIRUS

Grimm, Fania¹, Wege, Christina², Jeske, Holger², Spatz, Joachim¹

¹*Max-Planck-Institute for Metals Research, Department of New Materials and Biosystems, Heisenbergstraße 3, 70569 Stuttgart, Germany*

²*Universität Stuttgart, Institute of Biology, Department of Molecular Biology and Plant Virology, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Germany*

Contact: grimm@mf.mpg.de

Molecular motors such as kinesin and myosin play an important role in organisms and cells being involved in muscle movement, cargo transport and cell division. Little is known about the cooperativity of these motor proteins.

Tobacco mosaic virus (TMV), a rod-shaped RNA plant virus 300 nm in length and with a diameter of 18 nm, is used as a tool to study the cooperativity of a conventional rat kinesin. The virus particle consists of 2130 identical coat protein monomers self-assembled on an RNA scaffold in a helical manner. It is very stable towards temperature changes and different organic solvents and can be modified genetically quite easily. It is therefore a suitable linker-rod for lining up molecular motors.

rK555-GFP, a construct containing the first 555 N-terminal amino acids of conventional rat kinesin fused to a His-Tag and e-GFP (Seitz et al., 2002), is the motor used in the study.

To achieve binding of rK555-GFP and for fluorescent labeling, TMV mutants exposing chemically reactive amino or thiol groups on the outer surface were generated by overlap extension mutagenesis and multiplied in tobacco plants. Virus particles were isolated and the mutations verified using RT-PCR and fluorescent labeling.

The GFP-fused kinesin motor rK-555-GFP was coupled to the cysteine mutant of TMV by use of a maleimido-NTA linker as demonstrated by ELISA. Further characterization of interconnected molecule complexes with TEM and microtubule affinity assays is ongoing. Future work will focus on the motility of the motor proteins bound to TMV and on force measurements with optical tweezers.

Literature:

Seitz, A., Kojima, H., Oiwa, K., Mandelkow, E.M., Song, Y.H. and Mandelkow, E. (2002) Single-molecule investigation of the interference between kinesin, tau and MAP2c. *EMBO J* 21 (18), 4896-4905.

FALSE FRIENDS OF BEET CURLY TOP VIRUS IN SUGAR BEET AS REVEALED BY ROLLING CIRCLE AMPLIFICATION-BASED DIAGNOSIS ARE MITOCHONDRIAL PLASMIDS

Homs, Maria, Kober, Sigrid, Kepp, Gabi, Jeske, Holger

Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Pfaffenwaldring 57

Contact: holger.jeske@bio.uni-stuttgart.de

Crops of sugar beet have been considerably impaired by infection with Beet curly top virus (BCTV) during the past decades. Quick and reliable diagnostic techniques are therefore desirable to detect this circular single-stranded DNA-containing geminivirus. Techniques combining either tissue printing and blot hybridization, or rolling circle amplification (RCA) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) were compared. Although they easily detected BCTV with certainty, both exhibited apparent false positive results which have been scrutinized in closer detail. Uninfected control plants revealed unspecific signals due to probe

attachment on tissue blots, and dominant fragment patterns upon RCA/RFLP which did not hybridize with BCTV-specific probes. Cloning and sequencing of these DNA fragments showed that they were amplified from mitochondrial plasmids. Examination of their genome structure revealed no relationship with geminiviruses or their satellites.

EINFLUSS LATENTER APFELVIREN AUF APFELTRIEBSUCHT-RESISTENTE, APOMIKTISCHE UNTERLAGEN: ERSTE ERGEBNISSE IM IN VITRO SYSTEM

Jarausch, Wolfgang¹, Bisognin, Claudia², Anna Maria Ciccotti², Mirko Moser¹, Thierry Wetzel¹

¹*AlPlanta-IPR, RLP AgroScience, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Deutschland*

²*Istituto Agrario di San Michele, Via E. Mach 1, 38010 San Michele, Italien*

Contact: wolfgang.jarausch@agrosience.rlp.de

Eine viel versprechende Bekämpfungsstrategie der Phytoplasmoze Apfeltriebsucht besteht in der Verwendung resistenter Unterlagen. Eine natürliche Resistenz wurde in *Malus sieboldii* und seinen Abkömmlingen gefunden. In einem zur Zeit laufenden Züchtungsprogramm soll diese Resistenz in agronomisch wertvolle Unterlagen-Sorten eingekreuzt werden. Das Resistenz-Screening der Kreuzungsnachkommen wird sowohl im Freiland als auch im in vitro System durchgeführt. Hierbei traten unerwartete Absterbeerscheinungen der inokulierten Pflanzen auf. Erste Untersuchungsergebnisse deuten darauf hin, dass dieses Phänomen durch latente Apfelviren verursacht wird, welche zusammen mit den Phytoplasmen bei der Inokulation übertragen wurden. Da die gleichen Absterbeerscheinungen auch nach in vitro Inokulationen auftraten, wurde dieses Phänomen im in vitro System weiter untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die latenten Apfelviren ASGV, ASPV und ACLSV mit und ohne Phytoplasmen in in vitro vermehrtem Apfel erhalten werden können und durch Pfropfung in vitro auf gesunde Genotypen übertragen werden können. Das in vitro System ermöglicht es nun, die Bedeutung der einzelnen Viren für die beobachteten Symptome zu untersuchen. Erste Ergebnisse werden vorgestellt.

TURNIP YELLOWS VIRUS (TUYYV) RESISTENZ IN WINTERRAPS (BRASSICA NAPUS L.) - GENETISCHE UNTERSUCHUNGEN UND ENTWICKLUNG MOLEKULARER MARKER

Juergens, Monique¹, Krämer, Ilona², Zahn, Marc², Snowdon, Rod³, Rabenstein, Frank⁴, Ordon, Frank²

¹*Raps GbR, Saatzucht Lundsgaard, Streichmühler Str. 8a, 24977 Grundhof, Deutschland*

²*JKI-Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland*

³*Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I, Justus-Liebig-Universität, Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392 Giessen, Deutschland*

⁴*JKI-Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Bauer-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland*

Contact: m.juergens@bafz.de

Das Turnip yellows virus (TuYV) gehört zur Familie der Luteoviridae und wird ausschließlich durch Blattläuse übertragen. Es verursacht rote bis violette Blattverfärbungen, Wuchsminderungen und Ertragsverluste, welche bei künstlicher Infektion mit TuYV im Durchschnitt der Jahre bei ca. 12 % liegen. Über die Genetik der Resistenz, welche die

Voraussetzung für eine gezielte züchterische Bearbeitung der TuYV-Resistenz sind, lagen bisher noch keine detaillierten Erkenntnisse vor. Das Ziel dieser Arbeiten war daher die Aufklärung der Genetik der TuYV-Resistenz sowie die Entwicklung molekularer Marker als Basis für die Züchtung TuYV-resistenter Winterrapsorten.

Um detaillierte Erkenntnisse zur Genetik der TuYV-Resistenz zu gewinnen, wurden über zwei Jahre im Feldversuch 111 DH Linien, die auf drei verschiedene Kreuzungskombinationen zurückgehen (resistent x anfällig) sowie F1-Hybriden künstlich mit TuYV unter Verwendung virustragender Blattläuse infiziert und die Resistenzreaktion mittels DAS-ELISA über die gesamte Vegetationsperiode ermittelt. Unter Annahme eines Schwellenwertes von $E_{405}=0,1$ zeigte sich bei den DH Linien im Dezember eine Anpassung an eine 1r:1s Spaltung (Dez. 2004: $\chi^2 = 2,60$; Dez. 2005: $\chi^2 = 0,73$), jedoch stieg bis Mai auch der Virustiter in den als resistent eingestuften Pflanzen über diesen Schwellenwert. Er erreichte jedoch nicht den Virustiter bereits im Dezember als anfällig eingestufte Pflanzen. Die F1-Hybriden verhielten sich hinsichtlich ihrer Resistenzreaktion entsprechend den als resistent eingestuften DH-Linien, d.h. sie reagierten virusfrei bis zum späten Frühjahr, gefolgt von erhöhten Virustitern zum Sommer. Diese Untersuchungen erlauben die Annahme, dass es sich bei der TuYV-Resistenz um eine quantitative umweltabhängige Resistenz handelt, die durch ein Hauptgen bedingt ist (1r:1s-Spaltung von Herbst bis Frühjahr).

Basierend auf diesen Daten konnten unter Verwendung der 'bulk segregant analysis (BSA)' drei mit der Resistenz eng gekoppelte SSR-Marker identifiziert werden und nach der Analyse von 256 EcoRI+3/MseI+3 AFLP Kombinationen neun weitere gekoppelte AFLP-Marker von denen drei mit der Resistenz cosegregieren. Von diesen wurden zwei in codominante, einfach zu handhabende STS-Marker konvertiert, die eine einfache und effektive markergestützte Selektion auf TuYV-Resistenz in Winterraps ermöglichen.

Danksagung: Wir danken dem Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) für die finanzielle Unterstützung im Rahmen von PRO INNO II (KPO 185301BN5A) sowie der Gesellschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (ÖE 128/05 GFP). Für die Bereitstellung der DH-Linien danken wir SW Seeds Hadmersleben.

DISASSEMBLY OF GEMINIVIRUS PARTICLES.

Kittlmann, Katharina¹, Jeske, Holger¹

¹*Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abt. Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart, Deutschland*

Contact: katharina.kittlmann@bio.uni-stuttgart.de

Geminiviruses are small pathogenic plant viruses distributed all over the world and causing severe economic damage. African cassava mosaic virus (ACMV) is the most prevalent pathogen infecting cassava in Africa.

To analyse the disassembly process of geminivirus particles, ACMV twin particles were purified by density gradient centrifugation from infected *Nicotiana benthamiana* plants and analysed for their stability with respect to pH changes and heat treatment using electron microscopy. Negative staining and rotary shadowing revealed stability of particles in a pH range between pH 6.0 and 8.5. In addition, capsomeres were also present to a varying extent in this pH range. At pH 9.0 and above, particles disintegrated whereas they mainly aggregated at pH below 6.0. Heating the preparations to 55°C and above resulted in the complete loss of any discernible structure.

A low proportion of particles ejected their DNA within the pH range of 6.0 to 8.5. Almost 90% of the particles released their DNA at the top (15.9 %) or the side (71.4 %) of the twin particles and only 12.7% at its waist. Compared to the expected numbers of pentameric capsomeres at the top (9%), the side (45.5%) or the waist (45.5%), the results revealed a preferential DNA release from the top and side of the geminate particle.

IDENTIFIZIERUNG UND FUNKTIONALE CHARAKTERISIERUNG VON PHOSPHORYLIERUNGSSTELLEN DES TRANSPORTPROTEINS BC1 VON ABUTILON MOSAIC VIRUS

Kleinow, Tatjana¹, Nischang, Marc¹, Kepp, Gabriele¹, Preiss, Werner¹, Tanwir, Fariha¹, Kratzer, Ulrich², Beck, Alexander², Jeske, Holger¹

¹*Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abt. Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart*

²*PANATecs GmbH, Vor dem Kreuzberg 17, D-72070 Tübingen*

Contact: tatjana.kleinow@bio.uni-stuttgart.de

Bi-partite Begomoviren, wie Abutilon mosaik virus (AbMV), kodieren auf ihrer DNA B zwei Proteine, welche essentiell für den viralen Transport sind. Das Nuklear-Shuttle-Protein (NSP, syn. BV1) vermittelt den Export viraler DNA aus dem Zellkern in das Cytoplasma und in der neu infizierten Zelle den Import in den Zellkern. Movement-Protein (MP, syn. BC1) hingegen vermittelt den Transport des viralen Genoms vom Cytoplasma zur Zellperipherie und über Plasmodesmen in die nächste Zelle hinein. MP ist eine wichtige Determinante der viralen Pathogenität. In Hefen und Pflanzen exprimiertes AbMV MP wies ein ähnliches Muster an verschiedenen Translationsprodukten mit retardiertem Laufverhalten in der SDS-PAGE auf, was auf vergleichbare post-translationale Modifikation hindeutete. In-vivo-Markierungsversuche zeigten eine Phosphorylierung von AbMV MP im Modellsystem *S. pombe*. In Hefe-exprimiertem MP wurden drei Phosphorylierungsstellen im C-Terminus durch Massenspektrometrie identifiziert, Threonin 221, Serin 223 und 250. Die Position des Serin 250 ist in MPs aller Begomoviren streng konserviert, wohingegen die Serin 223 nur in Neu-Welt Viren hoch konserviert ist und Threonin 221 nur in wenigen MPs von Neu-Welt Viren vorkommt. In Western-Blot Analysen mit Phospho-Serin oder Phospho-Threonin spezifischen Antikörpern wurde ebenfalls für in Pflanzen über-exprimiertes epitop-markiertes AbMV MP eine Phosphorylierung nachgewiesen. Zur funktionalen Charakterisierung sind KO- und Phosphorylierungsnachahmende Mutationen an den entsprechenden Aminosäurepositionen 221, 223 und 250 im MP-codierenden Bereich der DNA B eingeführt und diese Konstrukte in Kombination mit DNA A in Pflanzen auf veränderte systemische Ausbreitung und Symptomatik untersucht worden. Erste Ergebnisse weisen auf eine veränderte Symptomentwicklung und Infektsiosität.

BEEET BLACK SCORCH VIRUS - EIN NECROVIRUS ALS WEITERER RIZOMANIA-ERREGER? MOLEKULARE UND SEROLOGISCHE CHARAKTERISIERUNG EINES IRANISCHEN ISOLATES

Koenig, Renate¹, Valizadeh, D², Richert-Pöggeler, K³

¹*JKI, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik*

²*University of Sistan and Baluchestan*

³*JKI, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik*

Contact: renate.koenig@jki.bund.de

Das Beet black scorch virus (BBSV) wurde in den 80iger Jahren zunächst in China beschrieben, wo es auf weiten Flächen zu Absterbe-Erscheinungen bei Zuckerrüben führt. Vor etwa zwei Jahren wurde ein abweichender BBSV-Stamm in den USA aus Zuckerrüben isoliert, die starke Rizomania-Symptome aufwiesen, obgleich das Beet necrotic yellow vein virus, der übliche virale Rizomania-Erreger in ihnen nicht nachweisbar war. Bei Untersuchungen über das Vorkommen von bodenbürtigen Rüben-Viren im Iran haben wir kürzlich ein weiteres Isolat des BBSV gewonnen. Die gesamte Nukleotid-Sequenz seiner genomischen RNA wurde bestimmt. Sie unterscheidet sich deutlich von den entsprechenden Sequenzen der chinesischen und amerikanischen Isolate. So zeigt das Hüllprotein-Gen des iranischen Isolates nur etwa 85% Nukleotid-Sequenz-Identität mit den Hüllprotein-Genen der beiden anderen Isolate. Viele der Nukleotid-Austausche wirken sich allerdings nicht auf die Aminosäure-Sequenzen der Hüllproteine aus, deren Identität bei c. 97% liegt. Serologisch ließen sich keine Unterschiede zwischen dem iranischen und dem uns zur Verfügung stehenden chinesischen Isolat nachweisen. Der zuverlässige Nachweis des BBSV in infizierten Rüben scheint problematisch zu sein. Bei der Untersuchung von mehreren Aliquots der gleichen Rübeneinsendung ließ sich das Virus nur in einigen dieser Aliquots nachweisen, was möglicherweise auf einer ungleichmäßigen Verteilung des Virus in den Rübenwurzeln bzw. seiner Zerstörung in nekrotisierendem Gewebe beruht.

IDENTIFIZIERUNG DER RNA1 - 5' NCR DES CHERRY LEAF ROLL VIRUS

Langer, Juliane, Von Barga, Susanne, Büttner, Carmen

Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften,

Contact: langerj@rz.hu-berlin.de

Cherry leaf roll virus (CLRV), ein Nepovirus der Familie Comoviridae, weist ein bipartites, einzelsträngiges und positiv orientiertes RNA-Genom auf. Beide RNAs sind polyadenyliert. Die sukzessive Sequenzierung des Genoms ausgewählter CLRV-Isolate zeigte bislang eine Genomorganisation des CLRV, die grundsätzlich anderer bekannter Nepoviren entspricht. Auffällig erwies sich beim CLRV die besonders lange nicht kodierende Region am 3' Terminus der RNAs, die für sechs CLRV-Isolate ermittelt wurde. Sie ist 1557-1602 nt lang ist. Erstmals gelang die Identifizierung des 5' Terminus der RNA1 eines CLRV-Rhabarber-Isolats mittels inverser PCR. Die Sequenzanalyse des 250 bp langen Amplikons determiniert eine 11 nt lange 5' NCR und den N-Terminus des Protease-Cofaktors.

Als Vertreter der Nepovirus-Subgruppe C besitzt das CLRV nicht nur die längste 3' NCR, sondern auch die kürzeste 5' NCR.

COMPLETE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF AN ISOLATE OF THE ANTHRISCUS STRAIN OF PARSNIP YELLOW FLECK VIRUS

Menzel, Wulf¹, Vetten, Heinrich-Josef²

¹*Institute of Plant Diseases and Plant Protection, Leibniz University of Hannover, Herrenhaeuser Strasse 2, 30419 Hannover*

²*Julius Kühn Institute, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig*

Contact: mail@wulf-menzel.de

Isolates of Parsnip yellow fleck virus, the type species of the genus Sequivirus, have been differentiated into two strains (Anthriscus and parsnip) on the basis of serological and

biological (host range) properties. The Anthriscus serotype causes necrosis, severe stunting and dieback in carrot and some other umbelliferous plants, which are not infected by the parsnip serotype. While there is no sequence information on the Anthriscus strain, the only complete genome sequence available for viruses of the genus Sequivirus is that of an isolate of the parsnip strain. To obtain a better understanding of the aforementioned differences between the two PYFV strains, we sequenced the entire genome of a carrot isolate of the Anthriscus serotype, using dsRNA from a systemically infected *Nicotiana benthamiana* plant as template for RT-PCR amplification. While the 5' end was determined by a RACE procedure, this approach failed for the 3' end. However, the 3' end was successfully amplified from an oligo(dT)-primed cDNA using a specific primer in combination with an oligo(dT) primer, indicating that the 3' end of the RNA genome of the carrot isolate is polyadenylated. This 3' polyadenylation was confirmed for two other isolates of the Anthriscus serotype, including the type isolate (A-421) from Scotland. However, this finding is in contrast to the RNA of the parsnip serotype, which was shown to lack 3' polyadenylation. The genome size of the carrot isolate was 9905 nucleotides (nt) [excluding the poly(A) tail], being slightly larger than the genome of the parsnip serotype (9871 nt). Our carrot isolate of the Anthriscus strain showed highest nucleotide and polyprotein sequence identities (66.5% and 72.8%, respectively) to the parsnip serotype. Based on these obvious differences in host range and molecular properties the Anthriscus serotype should be regarded as a distinct species of the genus Sequivirus, for which the name carrot necrotic dieback virus is proposed.

EMARAV - FUNKTIONSANALYSEN VIRALER PROTEINE IN PFLANZLICHEN UND TIERISCHEN ZELLEN

Mielke, Nicole

Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek, Ohnhorststraße 18, 22609 Hamburg

Contact: nicole.mielke@botanik.uni-hamburg.de

Das European mountain ash ringspot-associated virus (EMARAV) ist ein neuartiges, bislang nicht klassifiziertes RNA-Virus, das eine Verwandtschaft zu den Bunyaviren sowie zu den zwei ebenfalls noch nicht zugeordneten Viren Pigeonpea sterility mosaic virus und High Plains virus zeigt. Der bislang einzige, identifizierte Wirt ist die Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.), bei der chlorotische Ringflecken sowie eine Scheckung der Blätter zu beobachten sind. Das Genom, das aus vier monocistronischen RNAs besteht, ist vollständig sequenziert und weist die für ss(-)RNA-Viren typischen komplementären Enden auf. Bislang konnte drei der vier kodierten Proteine eine putative Funktion zugeordnet werden. Demnach verfügt das Virus vermutlich über eine RdRp (P1), einen Glykoproteinprecursor (P2) sowie ein Nucleocapsidprotein (P3). Jüngste Arbeiten zur rekombinanten Koexpression von P2 und P3 in pflanzlichen Protoplasten lassen eine Interaktion dieser beiden viralen Proteine vermuten. Demnach könnte das putative Nucleocapsidprotein P3 die Stabilisierung des P2 und/oder seiner Spaltprodukte bewirken. Die Funktion des vierten viralen Proteins (P4) ist noch nicht bekannt, aktuelle Untersuchungen ergaben jedoch, dass P4 in Insektenzellen signifikant die Suppression eines induzierten Gene Silencing bewirkt.

Für die Diagnostik, sowohl im Rahmen der Identifikation EMARAV-infizierter Bäume als auch für Versuche zur weiteren Charakterisierung des Virus, stehen uns mittlerweile zuverlässige, hochspezifische Primerpaare für die RT-PCR als auch Antiseren gegen P2 und P3 zur Verfügung.

SEQUENZIERUNG DES GRAPEVINE LEAFROLL ASSOCIATED VIRUS-7 UND ÜBERTRAGUNG VON BLATTROLLKRANKHEIT VERURSACHENDEN REBVIREN AUF KRAUTIGE WIRTSPFLANZEN MITTELS VERSCHIEDENER SEIDENARTEN ALS VEKTOR

Mikona, Cordl, Jelkmann, Wilhelm

JKI - Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Schwabenheimer Straße 101, 69221

Dossenheim

Contact: cord.mikona@jki.bund.de

Neue Sequenzabschnitte konnten am 3'-Ende des Grapevine leafroll associated virus-7 (GLRaV-7) ermittelt werden. Entscheidend für das Fortführen der molekularen Arbeiten war die Verfügbarkeit von dsRNAs. Die zeitaufwändige und teilweise schwierige Extraktion aus Rebmateriale konnte durch effizientere Isolationen aus krautigen Wirtspflanzen ersetzt werden. Die Übertragung des GLRaV-7 erfolgte mittels parasitärer Cuscuta-Arten, die eine Phloembrücke zwischen der Virusquelle und dem krautigen Wirt bildeten.

Die verwendeten Cuscuta-Arten waren Cuscuta campestris, Cuscuta reflexa und Cuscuta europea. Aus allen drei Cuscuta-Arten konnte GLRaV-7 dsRNA extrahiert werden. Erfolgreiche Virusübertragungen erfolgten bisher nur durch Cuscuta campestris und Cuscuta europea. Als neue Wirtspflanzen wurden Nicotiana occidentalis und Tetragonia expansa ermittelt. Während T. expansa nach den Übertragungsexperimenten symptomlos blieb konnten auf N. occidentalis starke Krankheitssymptome beobachtet werden. Die Infektionen werden durch Pfropfung erhalten.

Der Erfolg der Infektionen krautiger Pflanzen mit GLRaV-7 konnte durch wiederholte Übertragungsversuche bestätigt werden. Außerdem wurde Grapevine leafroll associated virus-3 in einem Übertragungsversuch mit GLRaV-3 infizierter Rebe auf Cuscuta reflexa übertragen. Der Nachweis der Etablierung des Virus in der Kleeseide muss noch geführt werden.

Durch die neuen Virusquellen konnten die Sequenzierarbeiten am GLRaV-7 fortgeführt werden. Das noch nicht abschließend ermittelte Genom umfasst vorläufig 16230 bp. Am 3'-Ende wurden das Hüllprotein und das Hüllproteinduplikat sowie zwei weitere offene Leseraster ermittelt. Auswertungen der Sequenzierarbeiten werden im Vortrag behandelt.

A PLANT VIRUS AS SELF-ASSEMBLING TEMPLATE FOR NANOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS

Müller, Anna¹, Petershans, Andre², Gliemann, Hartmut³, Bittner, Alexander⁴, Jeske, Holger¹, Wege, Christina¹

¹*Biologisches Institut/Abt. Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Universität Stuttgart, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart*

²*Institut für technische Chemie, Forschungszentrum Karlsruhe, Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen*

³*Institut für technische Chemie, Forschungszentrum Karlsruhe, Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen*

⁴*MPI FKF, Heisenbergstr. 1, 70569 Stuttgart*

Contact: anna.mueller@bio.uni-stuttgart.de

Tobacco mosaic virus (TMV) is a rod-like plant virus, which is 300 nm in length. It has an outer diameter of 18 nm and an inner channel 4 nm in diameter, where the TMV-RNA is embedded. Complete rodlets consist of 2300 identical coat protein (CP) monomers.

TMV is very stable towards temperature and different organic solvents and the viral nanotubes

exhibit different physical and chemical properties between their inner and outer surfaces, respectively, due to different amino acids exposed in- and outside.

These features have already been exploited by using the virus-derived rods as templates for deposition of different metals and semiconductors (CoFe, Ni, ZnO), resulting in different kinds of nanowires (1).

The viral structures can be assembled in-vitro from RNA and CP monomers, which gives the opportunity to control the length of the rods via the length of the RNA.

Under suitable conditions, it is also possible to assemble CP monomers in the absence of TMV RNA. Thus, non-infective virus-derived rods can be generated and used as templates for nanotechnology.

Current experiments aim at self-assembling virus-derived nanorods on suitable solid substrates. For this, RNA is covalently bound to an appropriate surface, subsequently directing the self-assembly of virus-like rods. Hence, virus-templated nanoarrays may be created, which may be used for different nanotechnology applications.

(1) Knez et. al: Biotemplate Synthesis of 3-nm Nickel and Cobalt Nanowires; *Nanoletters* 3; (8); 1079-1082

RNAI-MEDIATED RESISTANCE TO POTATO SPINDLE TUBER VIROID IN TRANSGENIC TOMATO EXPRESSING THE VIROID HAIRPIN DNA CONSTRUCT

Nora Schwind¹, Michèle Zwiebel¹, Asuka Itaya², Biao Ding², Ming-Bo Wang³, Gabi Krczal¹, Michael Wassenegger¹

¹*RLP Agrosience GmbH, AlPlanta-Institute for Plant Research, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Germany*

²*Department of Plant Cellular and Molecular Biology and Plant Biotechnology Center, Ohio State University, Columbus, Ohio*

³*CSIRO Division of Plant Industry, PO Box 1600, Canberra, ACT 2601, Australia*
Contact: Michael.Wassenegger@agrosience.rlp.de

The RNAi technology is well established to mediate virus resistance in plants but it has not been applied to confer resistance to viroids. Because of their highly-ordered structure, mature viroid RNA molecules were assumed to be resistant to RNAi. Here we show that potato spindle tuber viroid- (PSTVd-) specific RNA hairpin construct-derived short interfering RNAs (siRNAs) efficiently targeted PSTVd in tomato plants. Transgenic plant lines were identified which did not become infected upon mechanical inoculation with high concentrations of PSTVd RNA. Prior to challenging with PSTVd, transgenic lines that turned out to be PSTVd resistant accumulated higher levels of siRNAs than susceptible lines did. Genomic mapping of the RNA hairpin-derived siRNAs revealed an unequal distribution along the PSTVd sequence of 21 and 24 nt long siRNAs of both (+)- and (-)-strand polarities. Importantly, mapping of the RNA hairpin-derived siRNAs differed from the distribution of siRNAs that are produced in PSTVd-infected tomato plants. Our data indicate that RNAi may be employed for engineering crop resistance to a broad range of viroids.

SCHNELLER NACHWEIS VON PATHOGENEN DER KARTOFFEL

Oberhänsli, Thomas, Altenbach, Denise, Munch, Pauline, Maier, Käti, Bitterlin, Walter
BIOREBA AG, Chr. Merian-Ring 7, CH-4153 Reinach BLI, Schweiz
Contact: admin@bioreba.ch

Die Auslese von gesundem Pflanzenmaterial ist ein entscheidender Faktor in der Bekämpfung von viralen und anderen Krankheiten. Kartoffelproduzenten und Inspektoren können Infektionen durch Krankheitserreger oft nicht eindeutig von Auge erkennen. Der zuverlässige Nachweis "im Felde" kann durch schnelle und einfache diagnostische Tests ermöglicht werden. Spezifische im ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) validierte Antikörper wurden für die Entwicklung von Labor-unabhängigen Schnelltests („AgriStrip“, basierend auf Prinzipien der Immunchromatographie) für den Nachweis zweier wichtiger Kartoffelpathogene, dem Pulverschorferreger *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* (Sss) sowie Potato virus Y (PVY), eingesetzt. Die Empfindlichkeit und Geschwindigkeit des AgriStrip-Nachweises von PVY und Sss wurden mittels Verdünnungsreihen von Extrakten aus infizierten und gesunden Pflanzenproben ermittelt und mit der traditionellen Labormethode DAS-ELISA verglichen. Das Schnelltestformat AgriStrip war annähernd gleich empfindlich wie die Labormethode ELISA. Der Nachweis mittels Schnelltest konnte in wenigen Minuten erbracht werden, während für den Labortest zwei Tage benötigt wurden. Der Schnelltest war etwas empfindlicher als der ELISA auf Einflüsse der Probenmatrix von Blattextrakten, welche zu einem grünen Hintergrund führen können. Dieser konnte aber durch eine optimale Verdünnung des Pflanzenextraktes vermindert werden. Der AgriStrip ist dank seiner Einfachheit und Schnelligkeit ein wertvolles Hilfsmittel für Kartoffelproduzenten und Inspektoren (Feldbesichtiger, Kontrolleure), um Krankheitserreger ohne Laborinfrastruktur zuverlässig zu diagnostizieren.

IDENTIFIZIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON TRITIMOVIREN AUS EUROPÄISCHEN WEIZENHERKÜNFTE

Rabenstein, Frank, Götz, Reinhard, Huth, Winfreid

*Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg
Contact: frank.rabenstein@jki.bund.de*

In Weizenherkünften, die aus Frankreich (Burgund) und Italien (Toskana) stammten, wurden gestreckte fadenförmige Viren nachgewiesen, die mit biologischen, elektronenmikroskopischen, serologischen und molekularen Methoden als Isolate des milbenübertragbaren Wheat streak mosaic virus (WSMV) identifiziert wurden. Für Frankreich war das Vorkommen des WSMV bisher nicht bekannt. Es werden die Eigenschaften beider Isolate beschrieben. Serologisch zeigen beide Virusisolate eine Kreuzreaktion mit einem bereits für Deutschland nachgewiesenen Virus, das aus Wiesenrispe isoliert werden konnte und einen Stamm des Oat necrotic mottle virus darstellt. Mit spezifischen Antiseren ließen sich die WSMV-Isolate nicht von amerikanischen und anderen Herkunft aus Russland, Ungarn bzw. der Türkei unterscheiden. Neben den serologischen Daten werden elektronenmikroskopische Untersuchungen an Ultradünnschnitten zu virus-induzierten morphologischen Veränderungen an Weizen nach Infektion mit dem WSMV-Burgund und anderen Tritimoviren vorgestellt und mit den aus der Literatur bekannten Daten verglichen. Darüber hinaus werden Sequenzierungsdaten präsentiert und darauf basierende phylogenetische Analysen vorgestellt, die eine gemeinsame Gruppierung der beiden neuen europäischen WSMV- Herkunft gestatten. Die Problematik der Übertragung und Ausbreitung des WSMV durch Milben bzw. durch das Saatgut wird im Zusammenhang mit dem sich abzeichnenden Klimawandel und der zunehmenden Aktivität globaler Waren- und Verkehrsströme erörtert. Darüber hinaus werden weitere mögliche Gefährdungspotenziale durch kürzlich in den USA entdeckte ähnliche Viren, wie z.B. das Triticum mosaic virus, diskutiert.

TOBACCO MOSAIC VIRUS-TEMPLATED NANOTUBE FERROFLUIDS

Ruff, Sebastian Emil¹, Wu, Zhenyu², Knez, Mato³, Müller, Anna¹, Kadri, Anan¹, Bittner, Alexander⁴, Krill III, Carl², Wege, Christina¹

¹*Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Biologisches Institut, Universität Stuttgart*

²*Institut für Mikro- und Nanomaterialien, Universität Ulm*

³*MPI für Mikrostrukturphysik, Halle*

⁴*MPI für Festkörperforschung, Stuttgart*

Contact: emil.ruff@web.de

During the past decade, research has proven biopolymers to be viable templates for the synthesis of inorganic nanoscale structures. Among the wide array of scaffolds provided by nature the most promising ones are self-assembling entities including viruses. Due to its unique properties, with respect to temperature and pH stability, the tube-shaped Tobacco mosaic virus (TMV) turned out to be a major candidate for various chemical modifications. The possibility to genetically alter physical characteristics of the nanotube, and its simple reproduction in tobacco plants create a dynamic system of high tunability. 2130 coat proteins assemble around a ribonucleic acid, of 6390 nucleotides, to form a 300 nm long tube with a diameter of 20 nm and a 4 nm wide hollow longitudinal channel. The charged amino acids exposed at the inner and outer virion surface are able to electrostatically interact with noble metal salt complexes. In a second step, when treated with other metal salt solutions and an adequate reductant, attached noble metal clusters act as catalysts and propagate the electroless deposition of elementary metal. Based on this technique it is possible to deposit a broad range of metals or alloys from semi-conductors to ferromagnets, in and around the biotemplate. Ongoing experiments aim at producing homogeneous suspensions of ferromagnetic needles which may be used as novel ferrofluids - suspensions of magnetic nanoparticles in a nonmagnetic carrier fluid. These fluids exhibit a dramatic increase in viscosity that is induced by an externally applied magnetic field. In recent years, ferrofluids with spherical particles have been used e. g. to create low-friction, vacuum-tight seals around rotating shafts or to transfer heat from the voice coil of high-power loudspeakers. Nanorod ferrofluids are expected to exhibit improved characteristics with respect to the extent of magnetoviscosity and their stability against shear-thinning - a major constraint for the application of traditional preparations.

BEGOMOVIREN ALS INDIVIDUALISTEN: DIFFERENTIELLE REAKTIONEN VERSCHIEDENER TOMATEN-INFIZIERENDER SSDNA-VIREN AUF RNA-SILENCING-SUPPRESSOREN

Sardo, Luca¹, Noris, Emanuela¹, Tavazza, Mario², Kober, Sigrid³, Kocher, Conny³, Accotto, Gian Paolo¹, Krenz, Björn³, Wege, Christina³

¹*Institute of Plant Virology, CNR, Turin, Italien*

²*ENEA - Casaccia Research Center, Rom, Italien*

³*Abt. Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Biologisches Institut, Universität Stuttgart, Stuttgart, Deutschland*

Contact: christina.wege@bio.uni-stuttgart.de

Die Phloem-limitierten Begomoviren Abutilon-Mosaik-Virus (AbMV) und Tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV) ähneln sich in vielen Aspekten ihrer Pathogenese bei Wirtspflanzen aus der Familie Solanaceae (Wege, 2007). Für AbMV gibt es inzwischen gute Hinweise darauf, dass antivirales Silencing in Mesophyll-Zellen wesentlich zu seiner relativ

milden Symptomatik und begrenzten Gewebeeinfiltration beiträgt (Wege und Pohl, 2007). Frühere Analysen zeigten, dass der Silencing-Suppressor 2b des Gurkenmosaikvirus (Cucumber mosaic virus, CMV; Fam. Bromoviridae) Akkumulation und Ausbreitungseffizienz des bipartiten AbMV steigern (Wege und Siegmund, 2007). Neue Versuche ergaben nun, dass AbMV in ähnlicher Weise auch durch das Silencing-Suppressor-Protein p19 des Artichoke mottle crinkle virus (AMCV; Fam. Tombusviridae) gefördert wird, und zwar sowohl im Zuge von Mischinfektionen beider Viren, als auch bei transienter Ko-Expression von p19 in agroinfiltriertem Gewebe sowie in konstitutiv exprimierenden transgenen *Nicotiana benthamiana*. Interessanterweise reagierte TYLCSV völlig anders: Weder p19, noch 2b-Protein beeinflussten die Infektionskinetik des monopartiten Begomovirus, wie durch Blot-Hybridisierungs-Analysen mit AMCV-p19-transgenen Pflanzen und durch Misch-Infektionen mit CMV bzw. AMCV gezeigt wurde. Durch In-situ-Hybridisierung wurde bewiesen, dass TYLCSV auch in Gegenwart des p19-exprimierenden Tombusvirus weiterhin nur in Phloem-assoziierten Zellen replizierte. Ko-Infektion mit CMV führte allerdings trotz der unveränderten Begomovirus-DNA-Titer zu drastisch verstärkter Nekrosebildung, was der auf die Symptomatik beschränkten Kooperation von AbMV mit Tobamoviren ähnelt (Pohl und Wege, 2007). Das bipartite "Neuweltvirus" AbMV unterscheidet sich somit in seinen Wechselwirkungen mit der Silencing-Maschinerie der Pflanzen deutlich vom monopartiten "Altweltvirus" TYLCSV. Ob letzteres innerhalb der Leitbündel pflanzliche Silencing-Mechanismen durch bisher unbekannte Mechanismen stilllegt oder unterläuft, bleibt zu klären. Ebenso scheinen im Vergleich mit AbMV andere oder zusätzliche Faktoren das monopartite Tomatenvirus aus Mesophyllzellen jenseits des Phloems auszuschließen.

Literatur

- Pohl, D., and Wege, C., 2007. Synergistic pathogenicity of a phloem-limited begomovirus and tobamoviruses, despite negative interference. *J. Gen. Virol.* 88, 1034-1040.
- Wege, C., 2007. Movement and localization of tomato yellow leaf curl viruses in the infected plant. In: Czosnek, H. (Ed.), *Tomato yellow leaf curl virus disease: management, molecular biology, breeding for resistance*. Springer, Dordrecht/New York, pp. 185-206.
- Wege, C., and Pohl, D., 2007. Abutilon mosaic virus DNA B component supports mechanical virus transmission, but does not counteract begomoviral phloem limitation in transgenic plants. *Virology* 365, 173-186.
- Wege, C., and Siegmund, D., 2007. Synergism of a DNA and an RNA virus: Enhanced tissue infiltration of the begomovirus Abutilon mosaic virus (AbMV) mediated by Cucumber mosaic virus (CMV). *Virology* 357, 10-28.

THE CONSERVED FRNK BOX IN PLANT VIRAL SUPPRESSOR OF GENE SILENCING HC-PRO IS REQUIRED FOR SMALL RNA BINDING AND MEDIATES SYMPTOM DEVELOPMENT

Shiboleth, Yoel Moshe¹, Haronsky, Elina¹, Leibman, Diana¹, Arazi, Tzahi², Wassenegger, Michael³, Whitham, Stevens⁴, Gaba, Victor¹, Gal-On, Amit¹, Krczal, Gabriele³

¹*Department of Plant Pathology1, Agricultural Research Organisation, The Volcani Center, POB 6 Bet Dagan 50250, Israel*

²*Ornamental Horticulture2, Agricultural Research Organisation, The Volcani Center, POB 6 Bet Dagan 50250, Israel*

³*AlPlanta - Institute for Plant Research RLP, AgroScience GmbH, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Germany*

⁴*Department of Plant Pathology, Iowa State University, Ames, IA 50011-1020, USA*

Contact: gabi.krczal@agrosience.rlp.de

The Helper component-proteinase (HC-Pro) protein of potyviruses is a suppressor of gene silencing and has been shown to elicit plant developmental defect-like symptoms. In Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) a mutation in the highly conserved FR180NK box of HC-Pro to FI180NK causes attenuation of these symptoms.

Five days post inoculation and before symptom appearance, most miRNAs, and especially miRNA* levels, were found to accumulate more in leaves systemically infected with the severe ZYMV^{FRNK} as compared to the attenuated ZYMV^{FINK} while virus accumulation and Hc-Pro protein levels were similar. We found that the HC-Pro^{FRNK} specifically bound siRNA-like and miRNA/miRNA*-like duplexes with a much higher affinity than the mutated HC-Pro^{FINK}. Better base-pair matching between duplex strands was also found to enhance binding and possibly determines the profile of miRNAs sequestered to higher levels by the severe virus strain. Further analysis of HC-Pro in Agrobacterium infiltration assays revealed that suppressor activity of the expressed ZYMV-HC^{FINK} mutant was not diminished; however the same mutation in other potyvirus HC-Pros caused loss of function.

Our data suggest that the highly conserved FRNK box in HC-Pro of potyviruses is a probable point of contact with siRNA and miRNA duplexes, and that the interaction of this box with the latter directly influences miRNA accumulation and symptom development.

KONSTRUKTION UND CHARAKTERISIERUNG EINES KOMPLETTEN, INFEKTIÖSEN CDNA KLONES EINES PLUM POX VIRUS ISOLATS AUS SAUERKIRSCHEN (PPV-SOC)

Ungewickell, Veronika, Maiss, Edgar

Leibniz Universität Hannover, Inst. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

Contact: maiss@ipp.uni-hannover.de

Das Plum pox virus (PPV) ist der Erreger der Sharka-Krankheit, welche aufgrund der hohen Ertragsverluste große ökonomische Schäden verursacht. Die derzeit bekannten PPV-Isolate werden in die folgenden sechs Stämme eingeteilt: PPV-M (Marcus), -D (Dideron), -Rec (Recombinant), -W (Winona), -C (Cherry) und -EA (El Amar). Den C-Stamm bilden die PPV-Isolate aus der Sauerkirsche und der Süßkirsche [1]. Bisher konnte nur bei den Isolaten des C-Stammes eine systemische Infektion von Kirschkpflanzen nachgewiesen werden.

Von dem moldawischen plum pox virus Isolat aus der Sauerkirsche (PPV-SoC) wurde mittels RT-PCR ein kompletter cDNA-Klon hergestellt. Hierzu wurden vier PCR-Fragmente mit Größen von ca. 2,3 bis 2,8 kb amplifiziert und über gemeinsame Restriktionsschnittstellen in einen modifizierten pUC Vektor inseriert. Das PCR-Fragment I enthält den 5'-nicht translatierten Bereich sowie kodierende Sequenzen für das P1 und HCpro. Fragment II enthält Sequenzen für P3, 6K1 und Teile des CI. Das dritte Fragment reicht vom C-terminalen Bereich des CI bis zum N-terminalen Bereich des N1b und das vierte enthält neben dem C-terminalen Bereich des N1b, das CP und den 3'-nicht translatierten Bereich. Für die Transkription der kompletten PPV-SoC Sequenz wurde der Cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S RNA Promotor verwendet. Zusätzlich wurden im Vollängenklon (p35PPV-SoC) am 3'-Ende der Virussequenz 25 Adenosinreste sowie Sequenzen für ein sich selbst spaltendes Ribozym des Hepatitis delta virus (HDV) und das Polyadenylierungssignal des CaMV hinzugefügt.

Nach Partikelbeschuss von *Nicotiana benthamiana* Pflanzen mit p35PPV-SoC konnte eine systemische Infektion erzielt werden. PPV-SoC wird derzeit vergleichend mit PPV-NAT an

verschiedenen krautigen Wirtspflanzen auf seine Fähigkeit zur lokalen bzw. systemischen Infektion sowie auf eine unterschiedliche Ausprägung von Symptomen getestet.

[1] A. Fanigliulo, A., Comes, S., Maiss, E., Piazzolla, P., Crescenzi, A. 2003. The complete nucleotide sequence of Plum pox virus isolates from sweet (PPV-SwC) and sour (PPV-SoC) cherry and their taxonomic relationships within the species. *Archives of Virology* 148: 2137–2153.

DIE HOMOLOGE REKOMBINATION VON POTATO VIRUS X TRITT BEVORZUGT IN SEQUENZBEREICHEN MIT BERECHNETER STEM-LOOP SEKUNDÄRSTRUKTUR AUF

Varrelmann, Mark, Draghici, Heidrun-Katharina

Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzenvirologie, Universität

Göttingen, Grisebachstraße 6, 37077 Göttingen

Contact: mvarrel@gwdg.de

Parameter der homologen Rekombination von PVX (Typ X Isolat, UK3) unter hohem Selektionsdruck wurden mittels eines GFP markierten „full-length“ Klon nach Agroinfektion in *Nicotiana benthamiana* untersucht. Das PVX Hüllproteingen im „full-length“ Klon wurde mit einer Deletion versehen, welche einen Ausbreitungsdefekt erzeugte. Um über eine Vielzahl an Markermutationen die Verteilung von Rekombinationsbereichen nachweisen zu können, wurde zur Rekombination neben der Hüllproteinsequenz (CP) des UK3 mit 100% Homologie ein in vivo Transkript eines abweichenden (75,1% Homologie, 187 Nukleotidaustausche) PVX-Isolates (Typ Bi Isolat, PVX-4) in Blattgewebe von *N. benthamiana* ko exprimiert. Die Rekombinationseffizienz wurde durch das Gen mit geringerer Sequenzhomologie erheblich reduziert. Über die Markermutationen konnte eine präzise Lokalisation der Rekombinationsorte von insgesamt 15 unabhängigen Mutanten durchgeführt werden. Dabei wurde nachgewiesen, dass die Rekonstitution eines rekombinanten intakten CP über weitaus mehr Templatewechsel der RdRP stattfand, als notwendig, wobei keine Selektion eines chimären CP mit bestimmter Zusammensetzung beobachtet werden konnte. Die Nutzung des Programs Mfold 3.2 zur Vorhersage der Sekundärstruktur führte bei der Mehrzahl der untersuchten Rekombinationsorte zum Nachweis von stem-loop Strukturen, so dass der Mechanismus der homologen Rekombination von PVX unter hohem Selektionsdruck der Kategorie „similarity assisted homologous recombination“ zugeordnet werden kann.

HEPATOCYTE-SPECIFIC DRUG TARGETING USING THE DETERMINANT OF HEPATITIS B VIRUS LIVER TROPISM

Walter Mier¹, Alexa Schieck¹, Andreas Schulze², Thomas Müller¹, Christa Kuhn², Stephan Urban²

¹*Department of Nuclear Medicine, University of Heidelberg, Heidelberg, Germany*

²*Department of Molecular Virology, University of Heidelberg, Heidelberg, Germany*

Contact: Stephan.Winter@jki.bund.de

A hallmark of Hepatitis B Virus (HBV) infection is the extraordinary efficiency by which virions target hepatocytes in the liver. This property has been attributed to (a) specific interaction(s) of (a) viral envelope protein(s) with an unknown receptor. We have recently shown that subcutaneous administration of low doses of a myristoylated peptide corresponding to the N-terminal 47 amino acids (a.a.) of the preS1-domain of the HBV large surface protein

blocks HBV infection in an animal model (Nat. Biotech., 2008). Our observation that this peptide selectively targets the liver of even non HBV-susceptible mice suggests that it encompasses a species-independent determinant of hepatotropism.

We characterized the responsible a.a. and the role of the lipid modification with respect to their contribution to target the peptide to hepatocytes and analyzed the kinetics of uptake of fluorescently labeled derivatives in vivo. Using a series of HBVpreS lipopeptides carrying deletions, point mutations, D-amino acid exchanges, sequence permutations and lipid variations we found that (i) N-terminal acylation prevents renal secretion of the peptide and leads to systemic retention through binding to a serum factor, (ii) a highly conserved 7 a.a. sequence motif is absolutely required for liver-targeting (iii) peptides containing this sequence are uptaken by hepatocytes and accumulate within the cells. This process is highly specific and differs from constitutive hepatic delivery via the blood, since single amino acid exchanges within the conserved motif resulted in a disperse distribution of the peptide in many organs.

Aside from important implications concerning the species specificity of receptor recognition of HBV, HBVpreS-mediated drug targeting opens a highly selective way to deliver a variety of drugs to hepatocyte or hepatoma cells. These approaches include delivery of interferons, inhibitors of HCV or HBV replication, inhibitors of the cell cycle for HCC treatment, inhibitors of plasmidium falciparum, siRNAs or peptides for MHC-mediated antigen presentation.

ROLE OF SMALL ORFS IN THE REPLICATION OF THE IMPATIENS ISOLATE OF RIBGRASS MOSAIC TOBAMOVIRUS

Wetzel, Thierry, Weber, Miriam, Bassler, Alexandra, Krczal, Gabriele
RLP Agrosience, AlPlanta, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Germany
Contact: thierry.wetzel@agrosience.rlp.de

In the southwest of Germany, commercially grown Impatiens New Guinea hybrids were found showing severe chlorotic mottling and deformation of the leaves. Electron microscopic examination revealed rod-shaped particles about 20 nm in diameter and 330 nm in length, which are typical for tobamoviruses.

The virus was fully cloned and sequenced. Its genomic organisation was similar to those of other crucifer-tobamoviruses (tobamovirus subgroup 3). Sequence comparisons revealed and 97% identity with the Ribgrass mosaic virus (RMV), and the name RMV-Imp was suggested.

A full-length infectious clone of RMV-Imp was constructed under the control of the 35S or T7 promoter. Specific mutations modifying the ATG start codons of two small genes nested in the movement protein gene, were introduced. These mutations did however not affect the movement protein gene. The effect of these mutations on the replication and infectivity of RMV-Imp is currently being analysed.

CLONING AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF TWO VIRAL DSRNAS ISOLATED FROM DAUCUS CAROTA

Willenborg, Jörg¹, Menzel, Wulf¹, Vetten, Heinrich-Josef², Maiss, Edgar¹

¹*Leibniz Universität Hannover, Inst. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover*

²*Julius Kühn-Institut - Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig*

Contact: maiss@ipp.uni-hannover.de

Two double-stranded RNAs referred to as dsRNA1 and dsRNA2 were extracted from leaves of a field-grown carrot plant. The first cDNA clones obtained by random PCR approaches served as sequence information for further gene walking strategies. The determination of the 5'- and 3'-ends was done either by a modified RACE or SMART technique.

The sizes of dsRNA1 and dsRNA2 are 1986 bp and 1796 bp, respectively. The larger dsRNA1 contained a major ORF encoding a putative RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) of 72.7 kDa, which shows the highest amino acid (aa) sequence identities to RdRps of vicia cryptic virus (VCV; 81.5 %) and white clover cryptic virus (WCCV; 82.6 %). Furthermore, some conserved amino acid consensus motifs were identified in the RdRp sequence according to Blawid et al. [1]. Computer analysis of dsRNA2 revealed a single open reading frame (ORF) for a putative viral coat protein of 54.4 kDa, which shows the highest aa sequence identities to CPs of VCV (57.1 %) and WCCV (58.2 %). In addition, comparison of the 5'- and 3'-untranslated regions of dsRNA1 and dsRNA2 also showed high identities to VCV and WCCV. Based on these nucleotide and aa sequence similarities these two dsRNA appear to form the genome of a carrot-infecting virus of the genus Alphacryptovirus. Virus particles purified from *D. carota* were isometric and measured approximately 30 nm in diameter when viewed under the electron microscope. RT-PCR with dsRNAs isolated from these particles confirmed the presence of dsRNA1 and dsRNA2.

Four different partitiviruses referred to as carrot temperate viruses 1 to 4 have been described by Natsuaki et al. [2]. When comparing our data with those of Natsuaki et al. [2], we conclude that the alphacryptovirus that we have sequenced is most similar to Carrot temperate virus 4 (CTeV4), classified as a distinct species of the genus Alphacryptovirus.

[1] Blawid, R., Stephan, D., Maiss, E. 2007. Molecular characterization and detection of Vicia cryptic virus in different Vicia faba cultivars. Arch. Virol. 152:1477-1488.

[2] Natsuaki, T., Muroi, Y., Okuda, S., Teranaka, M. 1990. Carrot temperate cryptoviruses and RNA-RNA hybridisation among their double-stranded RNA segments. Ann. Phytopath. Soc. Japan 56:352-358.

HYDROPHOBIC SURFACE CONTACT PERCEPTION AND THE ROLE OF HYDROPHOBINS IN BOTRYTIS CINEREA

Mosbach, Andreas¹, Leroch, Michaela¹, Böhm, Andreas¹, Hahn, Matthias¹

¹*TU Kaiserslautern, Fachbereich Biologie, Erwin-Schrödinger-Straße, 67663 Kaiserslautern, Deutschland*

Contact: mosbach@rhrk.uni-kl.de

Conidial germination in *B. cinerea* can be induced by several chemical and physical stimuli. While carbon sources are required for germination on hydrophilic surfaces, conidia are able to germinate in pure water on artificial hydrophobic surfaces. By using atomic force microscopy to measure the contact forces between individual conidia and different surfaces, hydrophobic surfaces were found to bind conidia stronger than hydrophilic surfaces. To study whether a reduction in conidial surface hydrophobicity affects the response of conidia to the hydrophobic contact-induced germination, we sought to construct mutants devoid of hydrophobins in the spore wall. In the *B. cinerea* genome sequence, three hydrophobin genes were identified, one encoding a class I hydrophobin (BcMpg1), and two encoding class II hydrophobins (BcMhp1, BcMhp2). Further hydrophobin-like sequences were also found, however, these showed either only low overall hydrophobicity, or an unusual spacing of cysteine residues, and are thus probably no functional hydrophobins. Gene expression studies by RT PCR revealed that the three hydrophobin genes are expressed in spores, germlings and both saprophytic and parasitic mycelium. Deletion mutants in each single hydrophobin gene were constructed, and the resulting mutants tested for their hydrophobic surface characters, as well as for germination, growth on various media and plant infection. All the mutants were indistinguishable from the wild type, and they did not display any loss of the hydrophobic properties of conidial or mycelial walls. Using hygromycin and nourseothricin resistance markers for selection, double mutants in all three combinations were therefore constructed, but none of them exhibited an 'easily wettable' phenotype which is often observed with fungal hydrophobin mutants. Analysis of the conidial surface by scanning electron microscopy did not reveal any differences, as compared with the wild type. Thus, hydrophobins don't seem to be responsible for the water repellent properties of *B. cinerea* conidia and aerial mycelium.

IDENTIFICATION OF CANDIDATE GENES FOR QUANTITATIVE POWDERY MILDEW RESISTANCE IN BARLEY VIA ASSOCIATION ANALYSIS

Annika Johrde¹, Patrick Schweizer¹

¹*Leibniz-Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Department Cytogenetics and Genome Analysis, Corrensstrasse 3, 06466 Gatersleben, Germany*

Contact: johrde@ipk-gatersleben.de

The obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) can cause considerable yield losses in barley cultivation. Resistance genes to *Bgh* can be placed into two main categories:

- 1) Natural or induced, loss-of-function alleles of the *Mlo*-gene that give broad-spectrum resistance and
- 2) Major resistance (R) genes that confer race-specific resistance.

Both types of R-genes are depending on an arsenal of signalling and downstream effector genes that – by themselves – may be responsible for complex patterns of quantitative resistance

loci (QTLs). The aims of the project are the estimation of haplotype diversity of 77 selected candidate genes and their association with strong race-nonspecific resistance to *Bgh* in a set of barley (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) accessions from the IPK *ex-situ* collection that include exotic genotypes and landraces. We tested 112 spring barley accessions in a detached leaf assay for the verification of previously determined race-nonspecific resistance to *Bgh* and could confirm 36 resistant accessions. By using a transient complementation assay with a *Mlo*-containing BAC clone we could identify *Mlo*- and *mlo*-alleles in the resistant accessions. A final set of 63 accessions (33 resistant and 30 susceptible) have been selected for the association analysis. The genetic diversity present in this customized barley collection was estimated using 45 microsatellite markers and revealed no indication of grouping according to the resistance phenotype. DNA polymorphisms (SNPs) of 60 candidate genes have been analysed so far and 16 candidate genes showed a significant association to the resistance phenotype. We are currently determining also the expression of the associated candidate genes in resistant and susceptible genotypes via quantitative PCR. The associated candidate genes will be genetically mapped in different mapping populations; in order to obtain information about decay of association left and right from the candidate genes.

ANALYSE DER ROLLE VON FLAVIN-HALTIGEN MONOOXYGENASEN IN ARABIDOPSIS BEI BIOTISCHEM STRESS

Handke, Wiebke¹, Hermanns, Monika¹, Deisen, Marcus¹, Koch, Martina¹, Schlaich, Nikolaus L.¹

¹RWTH Aachen University, Institut BioIII, Worringerweg 1, 52074 Aachen

Contact: schlaich@bio3.rwth-aachen.de

In einer genetischen Sichtung isolierten wir eine *Arabidopsis* Mutante, die erhöhte basale Abwehr gegen den Oomyzeten *Hyaloperonospora arabidopsis* (früher *H. parasitica*) und gegen das Bakterium *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) zeigte. Expression von Krankheits-bezogenen Markergenen, wie *PR-1* und Akkumulation von Salizylsäure nach *Pseudomonas* Infektion verlief in der Mutante wie in wildtyp Pflanzen. Klonierung der Mutation zeigte, dass eine Flavin-haltige Monooxygenase (FMO1=At1g19250) überexprimiert wurde. In einer Funktionsverlustmutante zeigte sich der gegensätzliche Phänotyp: *fmo1* Pflanzen zeigten erhöhte Anfälligkeit gegen *H. arabidopsis* und den virulenten *Pst* Stamm. Wir berichten über unsere aktuellen Untersuchungen an *FMO1* und weiteren FMOs, von denen es in *Arabidopsis* 29 gibt.

MOLEKULARE UND MIKROSKOPISCHE ANALYSE ZUR UNTERSCHIEDLICHEN ANFÄLLIGKEIT VON EUROPISCHEN SORTEN DER WEINREBE GEGENÜBER PLASMOPARA VITICOLA

Kassemeyer, Hanns-Heinz¹, Boso, Susana²

¹Staatliches Weinbauinstitut, Merzhauser Str. 119, 79100 Freiburg (Deutschland)

²Misión Biológica de Galicia (CSIC), Apdo de correos 28, 36080 Pontevedra (Spanien)

Contact: hanns-heinz.kassemeyer@wbi.bwl.de

Im Allgemeinen gelten alle europäischen Sorten der Weinrebe (*Vitis vinifera*) als hochanfällig gegenüber *Plasmopara viticola*. Mit Hilfe von mikroskopischen Untersuchungen wurde die Infektionsintensität und die Kinetik der Besiedelung von *P. viticola* in Sorten aus verschiedenen europäischen Klimazonen quantifiziert. Für die Quantifizierung wurden

Blattscheiben mit einer definierten Menge an Sporangien inokuliert, nach 12 - 96 hpi mit Anilinblau gefärbt und unter dem Epifluoreszenzmikroskop ausgewertet. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines digitalen Bildauswertungssystems. Als Parameter für die Infektionsintensität diente die Anzahl von Stomata mit Infektionsstrukturen, für die Besiedelungskinetik wurde der zeitliche Ablauf der Stadien von der Penetration bis zur Ausbildung von Sporangioophoren ermittelt. Für die molekularen Untersuchungen wurde mit Hilfe der Real-Time PCR und spezifischen Primern die Kinetik der Transkription von PR-1 (*Vitis*- PR-1, *VPRI*), PR-2 (*Vitis*- β -1,3-Glucanase, *VGluc*), PR-8 (*Vitis*-Chitinase Typ III, *VCH3*) und der *Vitis*-Stilbensynthase (*VSTS*) in den verschiedenen Sorten nach Inokulation mit *P. viticola* quantifiziert. Die statistische Auswertung der Ergebnisse zur Infektionsintensität ergab deutliche Unterschiede in der Anfälligkeit zwischen den Sorten und es konnten drei Anfälligkeitscluster berechnet werden. Die quantitative Analyse der Transkription von Abwehrgenen zeigte ebenfalls deutliche Unterschiede zwischen den Sorten.

EINE MAP-KINASE-KASKADE REGULIERT PROZESSE DER KEIMUNG UND INFEKTION BEIM GRAUFÄULEERREGER BOTRYTIS CINEREA

Schamber, Astrid¹, Leroch, Michaela¹, Döhlemann, Gunther¹, Diwo, Janine¹, Hahn, Matthias¹
¹TU Kaiserslautern, Abt. Phytopathologie, Erwin-Schrödinger-Strasse, 67663 Kaiserslautern
Contact: chamber@rhrk.uni-kl.de

Botrytis cinerea ist ein nekrotrophes Pflanzenpathogen mit einem großen Wirtsspektrum von z.T. auch wichtigen Nutzpflanzen. Die Keimung der asexuellen Sporen wie auch die Infektion von Wirtspflanzen werden unter anderem über eine MAP Kinase-Kaskade reguliert, bestehend aus der MAPK Bmp1, der MAPKK BcSte7 und der MAPKKK BcSte11. Die Ausschaltung dieser Kinasen durch Knock-out-Mutagenese resultierte in allen Fällen in einem partiellen Keimungsdefekt, und in einem kompletten Verlust der Penetrations- und Infektionsfähigkeit. Homologe zu Bmp1 aus anderen Pilzen (z.B. Pmk1 aus *Magnaporthe grisea*, Cmk1 aus *Colletotrichum lagenarium*) sind ebenfalls alle für eine erfolgreiche Infektion essentiell, was auf einen hochkonservierten Signaltransduktionsmechanismus und ähnliche Zielgene bei diesen Pathogenen schließen lässt.

Aus *M. grisea* ist ein Adaptor-Protein bekannt (Mst50), welches die Proteine der Kaskade vermutlich zusammenhält. Knock-out des entsprechenden Proteins von *B. cinerea* (BcSte50) führte zu dem gleichen Phänotyp wie Knock-outs in BMP1, Ste7 und Ste11, weswegen auch hier die Beteiligung von BcSte50 an der MAPK-Kaskade wahrscheinlich ist. Desweiteren wurde BcSte12 untersucht, dessen Homolog in *S. cerevisiae* durch die MAPK Fus3 und Kss1 reguliert wird und hier am Pheromone-Response-Pathway und filamentösem Wachstum beteiligt ist. Eine Deletion von BcSte12 führte zu einem Defekt in der Penetration und weiblicher Sterilität, so wie es auch für Homologe aus anderen filamentösen Pilzen beschrieben wurde. Die Zielgene der MAPK-Kaskade und von Ste12 werden derzeit untersucht.

DIE INFEKTION SILENE LATIFOLIAS DURCH MICROBOTRYUM LYCHNIDIS-DIOICAE

Schäfer, Angela Maria¹, Begerow Dominik²

¹Ruhr Universität Bochum, Biologie und Biotechnologie, AG Geobotanik, Universitätsstr. 150, Gebäude ND 03/175, 44780 Bochum, Deutschland

²eobotanik, Universitätsstr. 150, Gebäude ND 03/174, 44780 Bochum, Deutschland

Contact: angela.schaefer@rub.de

Die pflanzenparasitische Gattung *Microbotryum* (Pucciniomycotina) ist seit langem ein Modellorganismus für unterschiedliche Fragestellungen wie z.B. die Verbreitungsmuster von geschlechtsabhängigen Krankheiten oder Populationsgenetik. Dennoch wurde noch nie der genaue Infektionsweg des Parasiten auf seiner Wirtspflanze untersucht.

In der vorliegenden Untersuchung wurden Keimlinge von *Silene latifolia* mit Teliosporen oder Hefen von *Microbotryum lychnidis-dioicae* infiziert und die darauf erfolgende Infektion des Wirtes mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskopes dokumentiert. Die Ergebnisse wurden mit Aufnahmen von *Ustilago maydis* (Ustilaginomycotina), einem Pflanzenparasiten, der ebenfalls Verursacher des Brandpilzsyndroms ist, verglichen. Im Gegensatz zu *Ustilago maydis*, bilden einzelne Hefen von *Microbotryum* keine deutlichen Konjugationshyphen aus, die aktiv nach einem Konjugationspartner suchen. Die Infektionshyphne geht, wie bei *Ustilago*, von einer der beiden konjugierten Hefen aus. Ein Beginn der Infektionshyphne am Fusionspunkt der beiden Konjugationshyphen, wie es bei *Ustilago* gefunden werden kann, wurde nicht gefunden.

Eine Infektion des Wirtsgewebes findet ebenso wie bei *Ustilago* nicht durch Spaltöffnungen statt, sondern es erfolgt eine Penetration der Epidermis. Wurde der Keimling mit Hefen infiziert so konnten die ersten Appressorien nach 48 Stunden gefunden werden. Infiziert man die Keimlinge mit Teliosporen so konnten nach 96 Stunden die ersten Infektionsstadien beobachtet werden. Die Entwicklung der Infektion aus Teliosporen ist dabei sehr viel stärker von abiotischen Bedingungen abhängig wie eine Infektion durch Hefen. In noch folgenden Untersuchungen soll der weitere Weg der Infektion mit Hilfe des Transmissionselektronenmikroskopes untersucht werden.

ELUCIADTION OF SIDEROPHORE BIOSYNTHESIS IN USTILAGO MAYDIS

Winterberg, Britta¹, Linne, Uwe², Kahmann, Regine³, Schirawski, Jan³

¹Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Department Organismic Interactions, Karl-von-Frisch-Str., 35043 Marburg, Germany

²Philipps University, Department Biochemistry, Hans-Meerwein-Str., 35043 Marburg, Germany

³Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Department Organismic Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Department Organismic Interactions, Karl-von-Frisch-Str., 35043 Marburg, GermInteractions, Karl-von-Frisch-Str., 35043 Marburg

Contact: britta.winterberg@mpi-marburg.mpg.de

The phytopathogenic basidiomycete *Ustilago maydis* induces tumors on maize. Within these tumors the diploid fungal spores develop. *U. maydis* has two high affinity iron uptake systems. The permease-based system is necessary for full virulence of *U. maydis* on its host plant maize. In addition, *U. maydis* is able assimilate iron via the siderophores ferrichrome and ferrichrome A. Using microarrays we identified genes that are regulated both by iron and the iron responsive transcription factor Urbs1. We investigated the putative function of these genes in siderophore biosynthesis. We constructed deletion mutants of *sid2* and *fer3*, encoding two non-

ribosomal peptide synthetases (NRPS), and *fer4*, *fer5*, and *fer8*, encoding a enoyl-CoA-isomerase, an acetylase and an oxidoreductase, respectively. HPLC analysis of culture supernatants revealed that the *sid2* deletion mutant only produced ferrichrome A, while the other mutants solely synthesized ferrichrome. Based on predicted function of proteins involved in ferrichrome A synthesis we postulated a biosynthetic pathway that is currently under investigation.

To analyze the role of siderophores during pathogenic development, plant infection assays with double deletion mutants of the NRPS Sid2 and Fer3 were performed. These mutants were as pathogenic as the wild type and produced viable spores. However, spore progeny were diploid indicating a meiosis defect. Additionally, double deletion mutants of *sid2* and *fer3* mutants are unable to grow on low-iron medium, suggesting that, in contrast to the permease-based system that is crucial for biotrophic development, the siderophore-based system is essential for germination and growth outside the plant.

MITTEILUNGEN

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

Bericht zum Jahrestreffen 2008 des Arbeitskreises „Wirt-Parasit-Beziehungen“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V.

Das Jahrestreffen 2008 des Arbeitskreises „Wirt-Parasit-Beziehungen“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V. fand am 13. und 14. März 2008 an der Universität Bonn statt. Gastgeberin war Frau Dr. Monika HEUPEL, die das Treffen hervorragend organisierte. Wie in den vergangenen Jahren wurde das Jahrestreffen zusammen mit dem des Arbeitskreises „Mykologie“ in einer gemeinsamen Arbeitssitzung am ersten Tag und zwei getrennten Sitzungen am zweiten Tag durchgeführt. Insgesamt waren etwa 90 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler zum gemeinsamen Treffen nach Bonn gekommen. Der Nachwuchs war auch in diesem Jahr besonders stark vertreten. Während des Treffens wurden 31 Vorträge und 6 Poster präsentiert (21 Vorträge und 6 Poster im Arbeitskreis „Wirt-Parasit-Beziehungen“). Die Themen waren vielfältig und behandelten die Transformation biotropher Pilze, Art-spezifische pilzliche Virulenzfaktoren, Wirkstoff-Resistenzen, die Entstehung von so genannten „grünen Inseln“ auf befallenen Blättern, physiologische Effekte von Strobilurin-Fungiziden in Pflanzen, auf Pathogenbefall reagierende Promotoren von pflanzlichen Abwehrgenen, Nicht-Wirt-Resistenz, induzierte Resistenz, usw.

Das nächste gemeinsame Jahrestreffen der Arbeitskreise „Wirt-Parasit-Beziehungen“ und „Mykologie“ wird am 3. und 4. September 2009 an der Universität Konstanz stattfinden.

(AK-Leiter: Prof. Dr. Uwe CONRATH, Aachen)

Die Zusammenfassungen einiger Vorträge werden im Folgenden wiedergegeben.

Die Rolle von Rust Transferred Protein 1 in der biotrophen Interaktion zwischen Rostpilz und Pflanze

Klara Pretsch, Ariane Kemen, Eric Kemen, Matthias Geiger, Kurt Mendgen und Ralf T. Vögele

Universität Konstanz, Phytopathologie, Universitätsstr. 10, 78457 Konstanz

E-Mail: Klara.Pretsch@uni-konstanz.de

Die biotrophe Interaktion zwischen pilzlichen Pathogenen und ihren Wirtspflanzen ist gekennzeichnet durch die Ausbildung von Haustorien, welche die pilzlichen Erreger in die Zellen infizierter Pflanzen einsenken. Haustorien gelten als zentrale Strukturen für die Nährstoffversorgung des Pilzes und die Unterdrückung der pflanzlichen Abwehrreaktion. Diese Überwindung der pflanzlichen Resistenz könnte - ähnlich wie bei bakteriellen Pathogenen - über das Einschleusen von Effektorproteinen in die Wirtszelle erreicht werden.

In der biotrophen Interaktion des Rostpilzes *Uromyces fabae* und seiner Wirtspflanze *Vicia faba* wurde ein Protein (RTP1p) identifiziert, welches von den Haustorien sekretiert wird und in das Cytoplasma der pflanzlichen Wirtszelle übergeht. RTP1p zeigt keine Homologie zu bisher bekannten Proteinen. Es handelt sich um ein kleines Protein mit einem Molekulargewicht von 24,3 kDa. Die Analyse entsprechender RTP1p-Mutanten zeigte, dass sowohl N-Glykosylierung wie auch Disulfidbrücken-Bildung für die Faltung und Sekretion von RTP1p

wichtig sind. RTP1p weist eine amyloiden Proteinen ähnliche β -Aggregationsdomäne auf, die in Abhängigkeit von pH-Wert und Redox-Bedingungen eine Zusammenlagerung von RTP1p-Monomeren zu amorphen Plaques oder Filamenten vermittelt. Diese Filamente könnten einen stabilisierenden Effekt auf die infizierten Wirtszellen ausüben und somit eine wichtige Rolle in der Etablierung der biotrophen Interaktion spielen.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Transformation des obligat biotrophen Rostpilzes *Uromyces fabae*

Alma Djulic und Ralf Vögele

Universität Konstanz, Phytopathologie, Universitätsstr. 10, 78457 Konstanz

E-Mail: Alma.Djulic@uni-konstanz.de

Obligat biotrophe Parasiten wie Rost- und Mehltaupilze, stellen weltweit eine wichtige Gruppe von Phytopathogenen speziell von wirtschaftlich bedeutenden Kulturpflanzen dar. Molekularbiologische Untersuchungen an diesen Pathogenen werden dadurch erschwert, dass bis heute kein System für eine stabile Transformation existiert. Mit zwei unterschiedlichen Methoden, Biolistik und *Agrobacterium tumefaciens*-medierten Transformation (ATMT), sind wir in der Lage eine transiente Transformation von *U. fabae* zu erreichen, womit die Basis für ein stabiles Transformationssystem geschaffen wurde. Ein Set von Plasmiden wurde erstellt welche Farb- und/oder Selektionsmarker tragen unter der Kontrolle von endogenen regulatorischen Elementen. Promoter und Terminator Elemente von *Uf-PMA1* (*U. fabae* Plasmamembran ATPase) wurden benutzt, um die Expression der Farbmarker GUS, iGFP und DsRed zu kontrollieren. Weiterhin konnten wir die Fungizide Benomyl und Carboxin erfolgreich für eine Selektion der Transformanten *in planta* etablieren. Einführung von Punktmutationen in die bereits von uns charakterisierten Zielgene für Benomyl, β -Tubulin (*Uf-TBB*) und Carboxin, Eisen-Schwefel-Untereinheit der Succinat Dehydrogenase (*Uf-SucDH1*) vermittelt in anderen Systemen Resistenz gegen diese beiden Fungizide. Ein System zur Erzeugung stabiler Transformanten wird es erstmals ermöglichen, Gene, Proteine und Reaktionen, welche die obligat biotrophe Interaktion steuern, zu analysieren.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Piriformospora-update: Ergebnisse einer Transkriptomanalyse der mutualistischen Assoziation von *P. indica* mit Gerstenwurzeln

Patrick Schäfer¹, Stefanie Pfiffi¹, Sophia Sonnewald², Frank Waller¹, Jörn Pons-Kühnemann¹, Uwe Sonnewald² und Karl-Heinz Kogel¹

¹Justus-Liebig-Universität, Interdisziplinäres Forschungszentrum für Umweltsicherung, Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392 Gießen, Deutschland

²Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Institut für Biologie, Staudtstraße 5, 91058 Erlangen, Deutschland

E-Mail: patrick.schaefer@agrar.uni-giessen.de

Der Basidiomyzet *P. indica* gilt als Modellorganismus für eine neue Art von mutualistischer Symbiose in ein- und zweikeimblättrigen Pflanzen. Phylogenetische Analysen belegen seine Zugehörigkeit zu der kürzlich erstellten Ordnung *Sebaciniales*, welche sich ausschließlich aus einer Vielzahl diverser Mykorrhizapilzen zusammensetzt (WEISS et al., 2004). Die Symbiose

besitzt auch ein großes Potenzial für den Pflanzenbau, da durch *P. indica* mykorrhizierte Kulturpflanzen gesteigerte Biomassen und Erträge sowie eine lokale und systemische Krankheitsresistenz bzw. Toleranz gegenüber abiotischem Stress aufweisen.

In neueren Untersuchungen konnte die Besiedlungsstrategie des Pilzes aufgeklärt werden (DESHMUKH et al., 2006). Auf diesen zyto-histologischen Studien basierend wurden gezielt drei Zeitpunkte für Transkriptomanalysen ausgewählt, welche die pilzliche Keimung und frühe extrazelluläre Entwicklung, die Penetrations- und frühe Wirtsbesiedlung sowie fortgeschrittene Kolonisation umfassen. Für die Transkriptomstudien fand eine neue Generation von Agilent-Microarrays Verwendung, welche die simultane Untersuchung der Expressionsmuster von ca. 40.000 ESTs erlauben. Die vorliegenden Daten ermöglichen eine Bewertung der Rolle von Phytohormonen in der Besiedlung von Gerstenwurzeln durch *P. indica* und geben Einblick in die Regulation des pflanzlichen Immunsystems im Laufe der Interaktion.

Literatur

DESHMUKH, S.D., R. HÜCKELHOVEN, P. SCHÄFER, J. IMANI, M. SHARMA, M. WEISS, F. WALLER, K.H. KOGEL, 2006: The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103, 18450-18457.

WEISS, M., M.A. SELOSSE, K.H. REXER, A. URBAN, F. OBERWINKLER, 2004: Sebaciniales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. Mycologia, 108, 1003-1010.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Strobilurin-Fungizide erhöhen die Stresstoleranz von Pflanzen

Gudrun Schmitz, Nicole Spees und Uwe Conrath

RWTH Aachen, Fachgruppe Biologie, Institut für Pflanzenphysiologie, 52056 Aachen

E-Mail: schmitz@bio3.rwth-aachen.de

Die Wirkstoffklasse der Strobilurin-Fungizide, deren Wirkung sich gegen zahlreiche Pilze richtet, induziert in behandelten Pflanzen eine Reihe von physiologischen Effekten, die sich auf die Pflanzen positiv auswirken. Zum Beispiel stärkt eine Behandlung mit Strobilurin-Fungiziden die natürlichen Abwehrmechanismen von Pflanzen gegen biotischen und abiotischen Stress. Wir haben gefunden, dass eine Behandlung der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* mit Pyraclostrobin die Frosttoleranz der Pflanzen erhöht. Bereits eine eintägige Vorbehandlung von *A. thaliana* mit Pyraclostrobin induzierte eine Toleranz gegen die Extremtemperatur von -14°C. Diese Toleranz war in den Kontrollpflanzen nicht nachzuweisen. Die Analyse der Expression des Gens für die alternative Oxidase (AOX), die bereits früher mit Temperaturanstiegen in Pflanzen in Verbindung gebracht wurde, hat gezeigt, dass das *AOX1a*-Gen in den mit Pyraclostrobin behandelten Pflanzen aktiviert ist. Die Analyse von *Arabidopsis*-Mutanten mit einem defekten *AOX1a*-Gen wird eindeutig klären, ob die AOX an der Induktion der erhöhten Frosttoleranz in *Arabidopsis*-Pflanzen beteiligt ist.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Resistenzinduktoren auf der Basis von Auxinen und ihr Wirkungsmechanismus

K.-H. Temmen

Temmen GmbH, Ankerstr. 74, 65795 Hattersheim

E-Mail: jens@warpzone.de

Aufbauend auf Forschungsarbeiten der Universität Gießen wurde in der Firma Temmen GmbH versucht, neue Produkte

zu entwickeln. Histologische Untersuchungen mit Hilfe von Safranin angefärbten Blattsschnitten ergaben, dass die anfälligen Blätter aller Kulturen eine hohe Prozentzahl an vollkommen mit Cytoplasma angefüllten Epidermiszellen aufwiesen. In resistenten Blattstadien hingegen waren die Zellen teilweise oder auch vollkommen vakuolisiert. Bei der prozentualen Auswertung der unterschiedlich angefärbten Zellen wurde eine eindeutige Korrelation zwischen dem Vakuolisierungsgrad der Epidermiszellen und der Anfälligkeit offensichtlich.

Wie ist der Zusammenhang zwischen dem Vakuolisierungsgrad der Epidermiszellen und dem Resistenzverhalten von Pflanzen zu erklären? Das Phänomen des unterschiedlichen Anfälligkeitsverhaltens von anfälligen und resistenten Pflanzen in Korrelation mit dem Grad der Vakuolisierung ist neu. Da der Echte Mehltaupilz als obligater Parasit auf Nährstoffe in den Epidermiszellen angewiesen ist, müssen zur Bildung von Primärhaustorien einige cytoplasmareiche Zellen vorhanden sein. Solche Zellen werden als „Starter Zellen“ bezeichnet. Nachdem sich sekundäres Myzel gebildet hat, versucht der Pilz seine Haustorien ebenfalls in den Nachbarzellen zu etablieren, um somit seinen Nährstoffbedarf zu decken. Solche Sekundärhaustorien werden sogar in vollkommen vakuolisierten Zellen gebildet, in denen Primärhaustorien nicht wachsen können. Dieser Zusammenhang wurde in allen untersuchten Wirt-Parasit-Beziehungen festgestellt.

Wie kann das Anfälligkeitsverhalten von Sorten/Klonen verbessert werden? In der Streckungsphase der Epidermiszellen spielen Zellstreckungshormone (Auxine) eine wichtige Rolle. Umfangreiche Untersuchungen unter Klimaschrankbedingungen wurden in der Firma Temmen GmbH durchgeführt. Es konnten Spezialformulierungen von mehreren natürlichen und synthetischen Derivaten aus der Gruppe der Auxine in Verbindung mit Rapsöl und einem natürlichen Emulgator als Trägerstoffe entwickelt werden. (Eine Patentanmeldung liegt vor). Wirksamkeitsprüfungen wurden in der ehemaligen Biologischen Bundesanstalt, Darmstadt, durchgeführt.

Es wurden nachfolgende Produkte getestet: TEMAUXIN AS (Acetylsalicylsäure) (2%ig), TEMAUXIN ASP (Aparaginsäure) (2%ig), TEMAUXIN TR (Tryptophan) (2%ig), TEMAUXIN SA (Salicylsäure) (1%ig), TEMAUXIN DI (Dichlorphenoxysäure) (1%ig).

Eine Listung als Pflanzenstärkungsmittel wurde für alle Produkte beantragt. Die Produkte wurden mit einem Zeitintervall von ca. 4 Tagen, in denen sich die Schutzwirkung einstellt, appliziert. Eine Wiederholung der Behandlung erfolgte nach 14 Tagen. Eine direkte Wirkung der Produkte auf den Pilz kann ausgeschlossen werden, da die Behandlung der Pflanzen 4 Tage vor der Inokulation stattgefunden hat. Da die pflanzenstärkende Wirkung unspezifisch ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Abwehrreaktion gegenüber vielen biotrophen Schadorganismen hervorgerufen wird. Mit Hilfe von Blattsschnitten konnte der Einfluss von TEMAUXIN auf die Vakuolisierung der Epidermiszellen verdeutlicht werden. Die nicht behandelten Blätter wiesen eine wesentlich größere Anzahl an nicht vakuolisierten Epidermiszellen auf. Dieser „Mangel an Cytoplasma-Effekt“ wird dadurch bekräftigt, dass sich der Pilz auf den Epidermiszellen oberhalb von Blattadern von behandelten Gurkenblättern mit TEMAUXIN manchmal noch entwickeln kann, wogegen dies auf den Interkostalfeldern nicht möglich ist. Parallel dazu konnte mit Hilfe von Blattsschnitten nachgewiesen werden, dass Zellen oberhalb von Blattadern auch nach der Behandlung noch mit Cytoplasma gefüllt sein können, während die Nachbarzellen in den Interkostalfeldern stark bzw. vollkommen vakuolisiert sind.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Isolation and characterisation of pathogen-regulated promoters in barley

Axel Himmelbach, Luo Liu und Patrick Schweizer

Leibniz-Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK),
Gatersleben

E-Mail: himmelba@ipk-gatersleben.de

During pathogen attack numerous genes involved in the defence machinery are activated. Many of these genes are expressed, however, not only during pathogen challenge but also under non-stress conditions. So far little is known regarding pathogen-activated promoters of genes that show a combination of tight regulation and tissue-specific expression in response to a particular pathogen. A cDNA macroarray of 10298 barley unigenes was used to examine gene expression profiles from various developmental stages and in plants challenged by biotic (e.g. powdery mildew fungus *Blumeria graminis*, *Fusarium* sp. head blight fungus, *barley yellow mild mosaic virus*) or abiotic (e.g. cold, ozone, wounding) stressors. A subset of genes could be identified that is specifically induced by pathogens in the leaf epidermis and/or inner leaf tissues. Promoters of several selected genes were isolated and are currently being validated. The functional analysis of one promoter, *HvGER4c*, revealed strong pathogen inducibility with expression levels overtopping the CaMV 35S promoter, epidermis specificity and WRKY protein-mediated regulation. *HvGER4c* belongs to the multigene family encoding germin-like proteins of barley involved in basal resistance against *B. graminis* and possibly other pathogens. Functional analysis of the promoter architecture of 5 additional *HvGER4* genes that, together with *HvGER4c*, constitute a dense gene cluster in the barley genome reveals interesting insights into promoter evolution of this recently expanded HvGER subfamily.

Studies of pathogen-activated promoters might provide first clues as to cis-elements and transcription factors controlling gene expression during pathogen defence of barley. In addition, these promoters could provide suitable tools for the genetic engineering of pathogen-resistant cereals.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Heterologous expression of an infection-induced dandelion (*Taraxacum officinale*) polyphenol oxidase affects disease resistance of *Arabidopsis thaliana*

Mareike E. Dirks, Carolin Richter und Bruno M. Moerschbacher

Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Biochemie und Biotechnologie der Pflanzen, Hindenburgplatz 55, 48143 Münster, Germany

E-Mail: mareike.dirks@uni-muenster.de

Polyphenol oxidases (PPOs) oxidize *ortho*-diphenols to the corresponding quinones and are widely spread throughout the plant kingdom. Even though much research has concentrated on PPOs in recent decades, physiological functions of these enzymes are still under discussion. There is evidence of biosynthetic functions and significance in resistance and stress reactions. Plant PPOs are organized in gene families, and as different PPO-isoforms are often localized in diverse tissues, expressed differently and differ in their biochemical properties, they most likely also differ in their particular function.

Our interest was to elucidate the role of an infection-induced leaf PPO (TOPPO-2) of dandelion (*Taraxacum officinale*) on the plant's resistance. As the model plant *Arabidopsis thaliana* does not contain any PPO-gene, it was used as a heterologous expression system for the dandelion PPO. In this way, the iso-

enzyme was obtained in a pure form not contaminated by other PPOs, offering a possibility to analyze the effect of a single dandelion PPO on plant resistance. Preliminary results revealed clones exhibiting strong PPO-activity in their leaf protein extract to be more resistant towards bacterial infection by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) than clones with weak PPO-activity or wildtype plants. Growth-curve measurements of Pst in the presence of *A. thaliana* leaf extracts showing PPO-activity indicate some direct antimicrobial effect of the dandelion PPO or its products on bacterial growth.

These results give first indications that TOPPO-2 could play a significant role in dandelion's disease resistance. Secondly, the model plant *A. thaliana* was introduced as an appropriate expression system for plant PPOs. This system offers great advantages for further functional analysis of different isoenzymes of PPOs.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

The pit-gene cluster of *Ustilago maydis* is essential for maintenance of biotrophy and tumor formation

Gunther Doehleemann, Stefanie Reißmann, Martin Fleckenstein und Regine Kahmann

Max Planck Institut für Terrestrische Mikrobiologie/Abteilung Organismic Interactions, Karl von Frisch Str., 35043 Marburg, Germany

E-Mail: doehleemann@mpi-marburg.mpg.de

The basidiomycete fungus *Ustilago maydis* infects corn and induces large tumors on all aerial parts of the plant. After penetration of cuticle and plant cell wall, the invading hyphae establish a biotrophic interphase which results in a repression of defense reactions and a reprogramming of the plant metabolism. Maintenance of this biotrophic interaction as well as the induction of tumor growth are complex processes which so far remain largely elusive.

In the recently annotated genome of *U. maydis* (1), we identified a cluster of four genes, which is essential for pathogenesis. A cluster deletion-mutant is able to penetrate and colonize plant tissue but fails to induce tumors; instead, necrotic lesions are formed. Surprisingly, this phenotype is also observed when two of the cluster genes, pit1 and pit2 are disrupted independently. Both genes code for novel proteins, Pit1 contains five putative transmembrane domains and a proline rich C-terminal region, while Pit2 is a secreted protein. We are using confocal microscopy to (co-) localize GFP-tagged versions of both proteins *in-planta*. Two-hybrid and split-ubiquitin screens are performed to study a possible interaction of Pit1 and Pit2 and to identify further interaction partners. By microarray analysis of the host plant at different time points after infection we want to detect differences in plant responses towards wild type and mutant strains. Here, current results of these studies will be presented.

(1) KÄMPER et al., 2006: Nature 444 (2), 97-101.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Overexpression of efflux transporters leads to multidrug resistance in *Botrytis cinerea* field strains

Matthias Kretschmer¹, Michaela Leroch¹, Melanie Wiwiorra¹, Henk-Jan Schoonbeek², Anne-Sophie Walker³, Pierre Leroux³, Sabine Fillinger³, Maarten de Waard⁴ und Matthias Hahn⁵

¹Phytopathology, Department of Biology, P.O. Box 3049, University of Kaiserslautern, Kaiserslautern, Germany

²Plant Biology, Faculty of Science, University of Fribourg, Switzerland

³INRA, UMR 1290 BIOGER-CPP, 78 026 Versailles Cedex, France

⁴Laboratory of Phytopathology, Wageningen University, PO Box 8025, 6700 EE Wageningen, The Netherlands

⁵University of Kaiserslautern, Kaiserslautern, Germany
E-Mail: kretschm@rhrk.uni-kl.de

Botrytis cinerea is an ubiquitous occurring necrotrophic ascomycete which can infect more than 230 plant species. It causes high losses in economical important crops like grape berries, tomato or strawberries. To control *Botrytis* several applications per year of different fungicides are used. Common fungicide resistance phenotypes are due to mutations of fungicide target sites or increased degradation. Another type of resistance, called multidrug resistance (MDR), known from cancer cells or microbial infections, leads to resistance against different drugs and is correlated with overexpression of ABC- or MFS-transporters.

In French vineyards, *B. cinerea* strains with a MDR phenotype (low to moderate resistance) have been observed for the first time 15 years ago. MDR strains constitute an increasing population which accounted, in 2005 and 2006, already for more than 50% of the population. In Germany 23–34 % MDR strains were found in 2006 and 2007. All strains could be classified into three MDR groups according to their fungicide resistance spectrum.

Field experiments in a Riesling vineyard with sensitive and MDR3 strains revealed a positive selection of MDR strains under fungicide treatment compared to either the sensitive strains or the endogenous population. Uptake experiments with ¹⁴C-labeled fludioxonil with MDR1 and sensitive strains showed a strongly reduced fungicide uptake in MDR1 strains. This was clear evidence for a correlation between MDR and increased efflux transport activity. Gene expression studies identified constitutively overexpressed efflux transporters. In MDR1 strains, an ABC- and in MDR2 a MFS-transporter was overexpressed. MDR3 strains, as a natural cross of MDR1 and 2, showed overexpression of both the ABC- and the MFS-transporter. Knock-out mutagenesis of the ABC-transporter in MDR1 strains led to a complete loss of the MDR1 phenotype, which confirmed a correlation between efflux-transporter expression and MDR.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Molecular biological investigation into adult plant resistance to stripe rust in wheat

Jennifer Moldenhauer¹, Amie J. van der Westhuizen², Renée Prins³, Zacharias A. Pretorius² und Bruno M. Moerschbacher¹

¹Westphalian Wilhelms-University Münster, Department for Plant Biochemistry and Biotechnology, Hindenburgplatz 55, 48143 Münster, Germany

²University of the Free State, Department for Plant Sciences, PO Box 339, 9300 Bloemfontein, South Africa

³CenGen (Pty) Ltd, 78 Fairbairn Street, Worcester 6850, South Africa
E-Mail: moldenj@uni-muenster.de

Stripe rust, caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, is a serious disease of wheat. The spring wheat cultivar Kariega expresses complete adult plant resistance to stripe rust, whereas Avocet S is susceptible. In former studies, quantitative trait loci (QTL) analysis of doubled haploid (DH) lines derived from a Kariega × Avocet S cross revealed two major QTL (*QYr.sgi 7D* and *QYr.sgi 2B.1*) and two minor QTL (*QYr.sgi-1A* and *QYr.sgi-4A.1*) responsible for the adult resistance of Kariega. Avocet S contains none of these QTL.

The present study allows first insights into the adult plant resistance of Kariega to stripe rust. Using the suppression subtractive hybridisation method, a cDNA library of stripe rust infected adult plants minus infected seedlings was developed and

printed on macroarrays. Subsequently, hybridisation experiments with probes derived from infected and mock-inoculated seedling and adult Kariega plants were performed. Evaluation of these experiments revealed the identification of several genes known to be involved in either the salicylic acid pathway that leads to hypersensitive resistance, in the production or scavenging of reactive oxygen species, or in limiting cell death. To analyse possible links of the identified genes to the Kariega QTL, further hybridisation experiments with probes derived from infected flag leaves of DH lines carrying a single major QTL each were performed. Based on evaluations of these hybridisation experiments, two of the identified genes (a 10 kD PSII protein and glutathione-S-transferase) might be regulated or are part of *QYr.sgi-7D*, whereas a third one (the receptor-like kinase complex *Pst19*) seems to be regulated by the second major QTL *QYr.sgi-2B.1*. However, verification of the obtained results awaits isolation of fresh RNA material and independent experiments such as real-time PCR which can only be performed once the biological material required will be available in South Africa, following the current wheat growth period.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Priming and eliciting activities of an oxidative burst in wheat, rice and *Medicago truncatula* cells by a polysaccharide from green seaweed

Roberta Paulert¹, Marciel J. Stadnik² und Bruno M. Moerschbacher¹

¹Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Biochemie und Biotechnologie der Pflanzen, Hindenburgplatz 55, 48143 Münster, Germany

²Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Fitopatologia, Florianópolis, SC, Brazil

E-Mail: r_paul02@uni-muenster.de

Some of the marine green algae cause economic and ecological problems along coastlines since they proliferate as „green tides“ due to eutrophication. Part of this biomass can be used for the production of the water-soluble polysaccharides not found in land plants. In a search for natural eliciting compounds, a heteropolysaccharide named ulvan was extracted from the green seaweed, *Ulva fasciata*. Dried algae were autoclaved in water, and the resulting solution was filtered and concentrated. The soluble material was precipitated with ethanol, dried, and dissolved in water.

Cultured plant cells have been widely used as model systems to rapidly investigate the perception of novel molecules, and the rapid release of H₂O₂ is generally assumed to be a key event of various cellular defense responses. Here, wheat, rice, and *Medicago truncatula* cells were treated with ulvan and/or known elicitors (chitin hexamer, chitosan, or invertase), and the chemiluminescence of luminol with H₂O₂ has been used to quantify amounts of hydrogen peroxide produced by the cell cultures.

Ulvan (200 µg/ml) is not able to induce an oxidative burst in wheat or rice cells. But, when these cells were pre-incubated with ulvan in the same concentration for 3–5 hours, the oxidative burst induced by a chitin hexamer (1 µg/ml) was several times stronger (6,45 and 13 times, in wheat and rice cells, respectively) than elicited cells treated with chitin alone. This capacity to respond to a pre-treatment is called priming or potentiation state and primed plants/cells display either faster, stronger, or both activation of the various cellular defense responses, which are induced following attack by either pathogens or insects or in response to abiotic stress.

While ulvan alone did not elicit a H₂O₂ production in the monocots cells tested, it acted as an elicitor in *M. truncatula* cells. The maximum burst was observed within 21 min and the generation of H₂O₂ was detectable after the application of ul-

van in final concentrations between 20 µg/ml and 200 µg/ml in a dose-dependent manner.

When the *M. truncatula* cell cultures were treated simultaneously with both invertase (20 µg/ml) and ulvan (200 µg/ml) the resulting oxidative burst kinetics appeared to be the sum of the effects mediated by each compound alone.

To our knowledge, this is the first report of a sulfated polysaccharide from green algae acting as an elicitor in a dicot cell culture system and showing a strong priming effect in monocot cell cultures.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Knockdown of a pathogen-induced polyphenol oxidase reduces disease resistance in dandelion

Carolin Richter, Mareike E. Dirks und Bruno M. Moerschbacher

Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Biochemie und Biotechnologie der Pflanzen, Hindenburgplatz 55, 48143 Münster, Germany

E-Mail: richterc@uni-muenster.de

Dandelion (*Taraxacum officinale* Weber ex Wiggers) is a widely distributed and adaptable weed, which can tolerate a broad range of climatic conditions and has a cytogenetic characteristic: In northern Europe, a triploid, apomictically reproducing population with genetic identical offspring exists. However, in contrast to genetic uniform monocultures of agricultural crops that are threatened by massive appearance of pest organisms, there are no reports of a huge emergence of pathogens in a dandelion population. We are interested in the molecular basis of this pronounced disease resistance. *T. officinale* is a lactiferous plant, and polyphenol oxidases (PPOs; EC 1.10.3.2 or EC 1.14.18.1) are identified as a major component of the latex proteins. Until now, five PPO genes are identified in *T. officinale*. PPOs catalysing the oxidation of phenols to quinones and are assumed to be involved in plant defence against pests and pathogens.

In this project, PPOs are analysed for their potential to induce resistance in *T. officinale*. Therefore, we silenced a leaf PPO (*toppo-2*) which is induced after inoculation with *Botrytis cinerea* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst). The downregulation of the *toppo-2* gene results in reduced disease resistance. At four days post inoculation, Pst populations were increased in the transgenic lines compared with the wild-type plant. Additionally, after drop-inoculation with *B. cinerea* onto the surface of detached dandelion leaves, the transgenic lines displayed a larger radial lesion size than wild-type plants. To investigate the localisation of *toppo-2* expression during infection, β-glucuronidase was expressed as a marker enzyme under the control of the *toppo-2* promoter in transgenic dandelion plants. A high level of promoter activity was visible in response to infection by *B. cinerea*, in a ring surrounding the lesion. In a second approach, the dandelion *toppo-2* gene was expressed in *Arabidopsis thaliana*, a model plant without any PPO gene, and active enzyme was formed. Infection studies with Pst revealed increased resistance of transgenic *A. thaliana* plants expressing the *toppo-2* gene in comparison with wild-type plants. These results suggest that a single PPO can change the plant resistance, and they provide clear evidence for the involvement of PPO in disease resistance.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

The hemibiotroph *Colletotrichum graminicola* induces green islands on maize leaves

Michael Behr, Holger B. Deising und Stefan G. R. Wirsel

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftliche Fakultät III, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Phyto-

pathologie und Pflanzenschutz, Ludwig-Wucherer-Str. 2, 06108 Halle (Saale), Germany

E-Mail: stefan.wirsel@landw.uni-halle.de

The hemibiotrophic ascomycete *Colletotrichum graminicola* causes leaf anthracnose and stem rot of maize. After germination and penetration of an epidermal cell an infection vesicle is formed that serves a function which is analogous to that of the haustorium of obligate biotrophs. During the first two days of a typical leaf infection, the host tissue remains intact and the fungus evades defense reactions. This biotrophic phase is followed by a necrotrophic phase during which the surrounding host tissue is rapidly killed and necrotic lesions so called anthracnoses develop. Acervuli formed in anthracnoses harbor great numbers of conidia which spread the pathogen in the field. While observing anthracnoses only on young and mature leaves, we recognized on leaves undergoing early senescence green islands which are a novel symptom for this fungus but well-known from obligate biotrophs. We showed that the occurrence of green islands depended on a successful establishment of the fungus. Imaging-PAM (Pulse-Amplitude-Modulation) chlorophyll fluorometry confirmed that photosynthesis remained active locally while the surrounding leaf tissue underwent accelerated senescence. Around 4 dpi, photosynthesis began also to decline in the centre of green islands which corresponded to the appearance of initially small necrotic lesions. At this stage, a ring of highly active host cells surrounded the mycelium. In instances where a host cell wall reaction was observed, at green islands it remained mostly restricted to the single epidermal cell that was initially penetrated by the fungus. In contrast, at necrotic lesions wall reactions always spread beyond the first cell. However, this did not prevent further proliferation of the fungus.

(DPG AK Wirt-Parasit-Beziehungen)

Report on the Annual Meeting of the Working Group ‘Host-Parasite Interactions’

This year’s Annual Meeting of the Working Group ‘Host-Parasite Interactions’ of the German Phytomedical Society (Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e.V.) was held on March 13-14, 2008 at Bonn University. The meeting was hosted and perfectly organized by Dr. Monika Heupel. As for years, the meeting was organized as a joint workshop with the Working Group ‘Mycology’ in one joint and two separate sessions. In total, almost 90 senior and junior scientists attended the joint meeting presenting 31 lectures and six posters (21 lectures and 5 posters in the Working Group ‘Host-Parasite Interactions’). They covered diverse topics such as transformation of biotrophic fungi, species-specific fungal virulence factors, multidrug resistance, green island formation, physiological effects of strobilurin fungicides in plants, pathogen-responsive plant defense gene promoters, nonhost and induced resistance, etc.

The next joint meeting of the Working Groups ‘Host-Parasite Interactions’ and ‘Mycology’ will be held in Konstanz from September 3-4, 2009.

Professor Dr. Uwe Conrath

Bax Inhibitor-1 (BI-1) modulates cell death induced by the Asian soybean rust *Phakopsora pachyrhizi* on barley

Caroline Hoefle¹, Holger Schultheiss², Ruth Eichmann¹, Markus Frank², Ralph Hueckelhoven¹

- 1 Technical University of Munich, Chair of Phytopathology, Am Hochanger 2, 85350 Freising-Weihenstephan, Germany; c.hoefle@wzw.tum.de
- 2 BASF Plant Science GmbH, D-67117 Limburgerhof, Germany

The basidiomycete *Phakopsora pachyrhizi* asian soybean rust fungus (ASR) causes one of the most devastating plant diseases on soybean. First identified in Japan the fungus has spread all over the world and nowadays can be found in nearly all soybean cultivating areas.

Barley nonhost plants inoculated with ASR only form small necrotic lesions. ASR germinates and develops a functional appressorium on barley. Unlike many other rust fungi, ASR attempts to penetrate the epidermal cell directly but often fails on barley, where it is arrested in cell wall appositions (CWA). Additionally, epidermal cells invaded by ASR show cell death that was often inefficient in restriction of fungal growth and allowed spread of the fungus accompanied by limited mesophyll cell death.

Cell death was originally described as typical resistance reaction against biotrophic rust fungi. To evaluate the role of cell death in barley non-host resistance to ASR, we took advantage of the cell death suppressor protein Bax Inhibitor-1 (BI-1). BI-1 is a conserved suppressor of programmed cell death in animal and plant cells. Transient and stable over-expression of barley BI-1 restricted invasive growth of ASR into barley epidermis and mesophyll. Microscopic inspection revealed an accelerated and enhanced development of CWAs at sites of attempted penetration by ASR. Data suggest that pathogen-induced epidermal cell death supports invasive growth of ASR.

The role of Rust Transferred Protein 1 in the biotrophic interaction between fungus and plant

Klara Pretsch, Ariane Kemen, Eric Kemen, Matthias Geiger, Kurt Mendgen, Ralf T. Voegelé

University of Konstanz, Phytopathology, Universitaetsstr. 10, 78457 Konstanz, Germany

Obligate biotrophic interactions between fungal pathogens and their host plants are characterized by the formation of haustoria, specialized fungal hyphae inside infected plant cells. Haustoria are considered to be key structures for fungal nutrient uptake and suppression of plant defense reactions. Evasion or suppression of plant resistance reactions may be achieved by secretion of effector proteins into the host cells, a mechanism well described for bacterial and oomycete pathogens.

In the course of investigating the biotrophic interaction between the rust fungus *Uromyces fabae* and its host plant *Vicia faba*, we identified a protein (RTP1p) which is secreted by haustoria and subsequently is transferred to the host cell cytoplasm. RTP1p does not show any homology to other proteins. It is a small protein with a molecular mass of 24.3 kDa. Analysis of appropriate RTP1p mutants indicated, that both N-glycosylation and disulfide bridge formation are important for folding and secretion of RTP1p. In addition, RTP1p possesses a so-called β -aggregation domain described for amyloid-like proteins. This structure mediates multimerization of RTP1p monomers into amorphous plaques or filaments depending on pH and redox conditions. These filaments could have a stabilizing effect on infected host cells and therefore play an important role for establishment of the biotrophic interaction.

Isolation and characterisation of pathogen-regulated promoters in barley

Axel Himmelbach, Luo Liu, Patrick Schweizer

Leibniz-Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany; himmelba@ipk-gatersleben.de

During pathogen attack numerous genes involved in the defence machinery are activated. Many of these genes are expressed, however, not only during pathogen challenge but also under non-stress conditions. So far little is known regarding pathogen-activated promoters of genes that show a combination of tight regulation and tissue-specific expression in response to a particular pathogen. A cDNA macroarray of 10298 barley unigenes was used to examine gene expression profiles from various developmental stages and in plants challenged by biotic (e.g. powdery mildew fungus *Blumeria graminis*, *Fusarium* sp. head blight fungus, barley yellow mild mosaic virus) or abiotic (e.g. cold, ozone, wounding) stressors. A subset of genes could be identified that is specifically induced by pathogens in the leaf epidermis and/or inner leaf tissues. Promoters of several selected genes were isolated and are currently being validated. The functional analysis of one promoter, *HvGER4c*, revealed strong pathogen inducibility with expression levels overtopping the CaMV 35S promoter, epidermis specificity and WRKY protein-mediated regulation. *HvGER4c* belongs to the multigene family encoding germin-like proteins of barley involved in basal resistance against *B. graminis* and possibly other pathogens. Functional analysis

of the promoter architecture of 5 additional *HvGER4* genes that, together with *HvGER4c*, constitute a dense gene cluster in the barley genome reveals interesting insights into promoter evolution of this recently expanded HvGER subfamily.

Studies of pathogen-activated promoters might provide first clues as to *cis*-elements and transcription factors controlling gene expression during pathogen defence of barley. In addition, these promoters could provide suitable tools for the genetic engineering of pathogen-resistant cereals.

Heterologous expression of an infection-induced dandelion (*Taraxacum officinale*) polyphenol oxidase affects disease resistance of *Arabidopsis thaliana*

Mareike E. Dirks, Carolin Richter, Bruno M. Moerschbacher

Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Biochemie und Biotechnologie der Pflanzen, Hindenburgplatz 55, 48143 Münster, Germany; mareike.dirks@uni-muenster.de

Polyphenol oxidases (PPOs) oxidize *ortho*-diphenols to the corresponding quinones and are widely spread throughout the plant kingdom. Even though much research has concentrated on PPOs in recent decades, physiological functions of these enzymes are still under discussion. There is evidence of biosynthetic functions and significance in resistance and stress reactions. Plant PPOs are organized in gene families, and as different PPO-isoforms are often localized in diverse tissues, expressed differently and differ in their biochemical properties, they most likely also differ in their particular function.

Our interest was to elucidate the role of an infection-induced leaf PPO (TOPPO-2) of dandelion (*Taraxacum officinale*) on the plant's resistance. As the model plant *Arabidopsis thaliana* does not contain any PPO-gene, it was used as a heterologous expression system for the dandelion PPO. In this way, the isoenzyme was obtained in a pure form not contaminated by other PPOs, offering a possibility to analyze the effect of a single dandelion PPO on plant resistance. Preliminary results revealed clones exhibiting strong PPO-activity in their leaf protein extract to be more resistant towards bacterial infection by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) than clones with weak PPO-activity or wildtype plants. Growth-curve measurements of Pst in the presence of *A. thaliana* leaf extracts showing PPO-activity indicate some direct antimicrobial effect of the dandelion PPO or its products on bacterial growth.

These results give first indications that TOPPO-2 could play a significant role in dandelion's disease resistance. Secondly, the model plant *A. thaliana* was introduced as an appropriate expression system for plant PPOs. This system offers great advantages for further functional analysis of different isoenzymes of PPOs.

Transformation of the obligate biotrophic rust fungus *Uromyces fabae*

Alma Djulic, Ralf T. Voegelé

Universität Konstanz, Phytopathologie, Universitätsstr. 10, 78457 Konstanz, Germany; alma.djulic@uni-konstanz.de

Obligate biotrophic fungi such as the rust- and the powdery mildew fungi are important plant pathogens. However, the analysis of the molecular basis of this special host-parasite interaction is faced with a variety of obstacles. For example, obligate biotrophic fungi cannot be grown in the absence of their respective host plants, and there is currently no system available for a stable transformation of any obligate biotrophic organism. Consequently, many of the modern techniques successfully used on other pathogens cannot be applied to these organisms.

Using a dual approach involving biolistics as well as *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation (ATMT) we have drawn a step closer to the goal of being able to genetically modify rust fungi. We have generated a set of plasmids expressing color and/or selection markers under control of endogenous genetic elements. Promoter and terminator elements which stem from the *U. fabae* gene *Uf-PMA1* are used to drive expression of the color markers GUS, DsRed, and iGFP. Additionally, we were able to show that the fungicides Benomyl and Carboxin can be successfully used for an *in planta* selection of potential transformants. The genes encoding the targets for Benomyl, β -tubulin (*Uf-TBB1*), and Carboxin, Succinate Dehydrogenase (*Uf-SucDH1*) were identified and isolated. Single point mutations responsible for conferring resistance to these fungicides in other organisms were introduced into the respective *U. fabae* genes. We now have the tools at hand for a visualisation of transformants *in vitro* and for the successful selection of transformants *in planta*. First experiments aiming at a transient transformation of *U. fabae* were promising and we are confident to expand the system to a stable transformation.

The pit-gene cluster of *Ustilago maydis* is essential for maintenance of biotrophy and tumor formation

Gunther Doehlemann, Stefanie Reißmann, Martin Fleckenstein, Regine Kahmann

Max Planck Institut für Terrestrische Mikrobiologie/Abteilung Organismic Interactions, Karl von Frisch Str., 35043 Marburg, Germany; doehlemann@mpi-marburg.mpg.de

The basidiomycete fungus *Ustilago maydis* infects corn and induces large tumors on all aerial parts of the plant. After penetration of cuticle and plant cell wall, the invading hyphae establish a biotrophic interphase which results in a repression of defense reactions and a reprogramming of the plant metabolism. Maintenance of this biotrophic interaction as well as the induction of tumor growth are complex processes which so far remain largely elusive.

In the recently annotated genome of *U. maydis* (Kämper et al. 2006, Nature 444 (2): 97-101), we identified a cluster of four genes, which is essential for pathogenesis. A cluster deletion-mutant is able to penetrate and colonize plant tissue but fails to induce tumors; instead, necrotic lesions are formed. Surprisingly, this phenotype is also observed when two of the cluster genes, *pit1* and *pit2* are disrupted independently. Both genes code for novel proteins, Pit1 contains five putative transmembrane domains and a proline rich C-terminal region, while Pit2 is a secreted protein. We are using confocal microscopy to (co-) localize GFP-tagged versions of both proteins *in-planta*. Two-hybrid and split-ubiquitin screens are performed to study a possible interaction of Pit1 and Pit2 and to identify further interaction partners. By microarray analysis of the host plant at different time points after infection we want to detect differences in plant responses towards wild type and mutant strains. Here, current results of these studies will be presented.

Investigations on the PCC1 gene family in *Arabidopsis* and its role in pathogen response

Sven Friehe, Nikolaus L. Schlaich

RWTH Aachen, Institut f. Biologie III (Pflanzenphysiologie), Worringerweg 1, 52074 Aachen, Germany; sfriehe@bio3.rwth-aachen.de

The *PCC1* (pathogen and circadian controlled 1) gene from *Arabidopsis thaliana* shows a rhythmic expression pattern reg-

ulated by the circadian clock. Infection with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* bacteria results in constant expression for 48 hours. *PCC1* belongs to a novel gene family of seven polypeptides of unknown function with each approx. 75 amino acids. Besides *PCC1*, expression of at least 3 other members of this gene family is upregulated after pathogen infection. Although expression patterns suggest a role in pathogen defence, only a subtle pathogenesis-related phenotype was so far detected. Here we show detailed pathogen experiments using various knock-out and overexpression lines of different members of the *PCC1* gene family in combination with *Pseudomonas syringae*, *Hyaloperonospora parasitica*, *Botrytis cinerea* and *Alternaria brassicicola*. Moreover, genomic organization and high sequence identity between three members of the gene family led to interesting conclusions about the recent evolution of these genes.

New gene silencing strategy against fungal plant pathogens

Alexandra Gay¹, Grit Zimmermann², Patrick Schweizer¹

¹ Leibniz Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Abteilung Transkriptom-Analyse, Corrensstrasse 3, 06466 Gatersleben, Germany; gayalex@ipk-gatersleben.de

² Leibniz Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Abteilung Pflanzliche Reproduktionsbiologie, Corrensstrasse 3, 06466 Gatersleben

Fungal diseases are usually controlled by different plant cultivation techniques, applications of natural or chemical substances and/or resistance breeding strategies. Recently technologies involving small interfering RNA (siRNA) have been proposed to protect plants against root nematodes (Bakhetia et al. 2005, Trends in Plant Science). Here, we tested RNAi as a novel strategy of plant protection against fungal diseases. The main objective of this project is the generation of transgenic plants, which possess high resistance levels against many fungal plant pathogens. Therefore RNAi-constructs targeting highly conserved fungal genes (e.g. ADP/ATP carrier or gamma actin), which may be active against several pathogens, were built in combination with three plant promoters (ubiquitin, GSTA1 and GLP4c). Two of these promoters are pathogen induced and/or epidemic specific. In addition to single-target RNAi constructs, triple-target RNAi constructs that should allow silencing of three different fungal genes were made to achieve an effect of a RNAi-based broadband "fungicide". All targets were amplified from gDNA/cDNA of the pathogen *Fusarium culmorum*. Single- and triple-target RNAi constructs in combination with the ubiquitin promoter were tested in transient experiments in barley leaves, which were inoculated after the bombardment with *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* spores. The haustorial index (haustoria per transformed GUS expressing cells) was used as a criterion of a silencing effect in the fungus. In the transient expression studies significant effects of most of the single- and triple-RNAi constructs could be shown. Up to now primary transformants (T0-plants) carrying three triple- or one single-target RNAi construct could be detected that showed a considerable decrease of mycelia production and smaller necrotic lesions after an inoculation with spores of *F. culmorum*. The investigation of the transgenic plants will include multiple resistance screens of the T1-plants with *Blumeria graminis* f. *hordei*, *Puccinia hordei* and *Fusarium culmorum*.

Molecular and histochemical elucidation of the nonhost interaction between Asian soybean rust and the model plant *Arabidopsis*

Katharina Goellner, Caspar Langenbach, Ulrich Schaffrath, Uwe Conrath

RWTH Aachen, Institut für Pflanzenphysiologie, Worringer Weg 1, 52056 Aachen, Germany; goellner@bio3.rwth-aachen.de

The aggressive plant pathogen Asian soybean rust (ASR; *Phakopsora pachyrhizi*), has spread from its origin in Asia and Australia and in 2004, the threat has landed in North America. The rapid spread of *P. pachyrhizi* and its potential for severe yield losses (from 10% to 80%) makes it the most destructive foliar disease of soybean and could have a major impact on soybean production. All commercially planted soybeans are susceptible to the fungus. Thus, detailed knowledge of the molecular basis of its interaction with plants and the involved molecular components is important in order to develop ASR-resistant varieties and effective fungicides. We characterized the nonhost resistance of the model plant *Arabidopsis* to ASR by analyzing defense signalling mutants and by using a diverse panel of histochemical stainings to visualize defense reactions stimulated in the plant.

Overexpression of efflux transporters leads to multidrug resistance in *Botrytis cinerea* field strains

Matthias Kretschmer¹, Michaela Leroch¹, Melanie Wiwiorra¹, Henk-Jan Schoonbeek², Anne-Sophie Walker³, Pierre Leroux³, Sabine Fillingner³, Maarten de Waard⁴, Matthias Hahn⁵

¹ Phytopathology, Department of Biology, P.O. Box 3049, University of Kaiserslautern, Kaiserslautern, Germany; kretschm@rhrk.uni-kl.de

² Plant Biology, Faculty of Science, University of Fribourg, Switzerland

³ INRA, UMR 1290 BIOGER-CPP, 78 026 Versailles Cedex, France

⁴ Laboratory of Phytopathology, Wageningen University, PO Box 8025, 6700 EE Wageningen, The Netherlands

⁵ University of Kaiserslautern, Kaiserslautern, Germany

Botrytis cinerea is a ubiquitous occurring necrotrophic ascomycete which can infect more than 230 plant species. It causes high losses in economical important crops like grape berries, tomato or strawberries. To control *Botrytis* several applications per year of different fungicides are used. Common fungicide resistance phenotypes are due to mutations of fungicide target sites or increased degradation. Another type of resistance, called multidrug resistance (MDR), known from cancer cells or microbial infections, leads to resistance against different drugs and is correlated with overexpression of ABC- or MFS-transporters.

In French vineyards, *B. cinerea* strains with a MDR phenotype (low to moderate resistance) have been observed for the first time 15 years ago. MDR strains constitute an increasing population which accounted, in 2005 and 2006, already for more than 50% of the population. In Germany 23-34% MDR strains were found in 2006 and 2007. All strains could be classified into three MDR groups according to their fungicide resistance spectrum.

Field experiments in a Riesling vineyard with sensitive and MDR3 strains revealed a positive selection of MDR strains under fungicide treatment compared to either the sensitive strains or the endogenous population. Uptake experiments with ¹⁴C-labeled fludioxonil with MDR1 and sensitive strains showed a strongly reduced fungicide uptake in MDR1 strains. This was clear evidence for a correlation between MDR and increased efflux transport activity. Gene expression studies identified constitutively overexpressed efflux transporters. In MDR1 strains, an ABC- and in MDR2 a MFS-transporter was overexpressed. MDR3 strains, as a natural cross of MDR1 and 2, showed overexpression of both the ABC- and the MFS-transporter. Knock-out mutagenesis of the ABC-transporter in MDR1 strains led to a complete loss of the MDR1 phenotype, which confirmed a correlation between efflux-transporter expression and MDR.

Molecular biological investigation into adult plant resistance to stripe rust in wheat

Jennifer Moldenhauer¹, Amie J. van der Westhuizen², Renée Prins³, Zacharias A. Pretorius², Bruno M. Moerschbacher¹

¹ Westphalian Wilhelms-University Münster, Department for Plant Biochemistry and Biotechnology, Hindenburgplatz 55, 48143 Münster, Germany; moldenj@uni-muenster.de

² University of the Free State, Department for Plant Sciences, PO Box 339, 9300 Bloemfontein, South Africa

³ CenGen (Pty) Ltd, 78 Fairbairn Street, Worcester 6850, South Africa

Stripe rust, caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, is a serious disease of wheat. The spring wheat cultivar Kariega expresses complete adult plant resistance to stripe rust, whereas Avocet S is susceptible. In former studies, quantitative trait loci (QTL) analysis of doubled haploid (DH) lines derived from a Kariega × Avocet S cross revealed two major QTL (*QYr.sgi-7D* and *QYr.sgi-2B.1*) and two minor QTL (*QYr.sgi-1A* and *QYr.sgi-4A.1*) responsible for the adult resistance of Kariega. Avocet S contains none of these QTL.

The present study allows first insights into the adult plant resistance of Kariega to stripe rust. Using the suppression subtractive hybridisation method, a cDNA library of stripe rust infected adult plants minus infected seedlings was developed and printed on macroarrays. Subsequently, hybridisation experiments with probes derived from infected and mock-inoculated seedling and adult Kariega plants were performed. Evaluation of these experiments revealed the identification of several genes known to be involved in either the salicylic acid pathway that leads to hypersensitive resistance, in the production or scavenging of reactive oxygen species, or in limiting cell death. To analyse possible links of the identified genes to the Kariega QTL, further hybridisation experiments with probes derived from infected flag leaves of DH lines carrying a single major QTL each were performed. Based on evaluations of these hybridisation experiments, two of the identified genes (a 10 kD PSII protein and glutathione-S-transferase) might be regulated or are part of *QYr.sgi-7D*, whereas a third one (the receptor-like kinase complex *Pst19*) seems to be regulated by the second major QTL *QYr.sgi-2B.1*. However, verification of the obtained results awaits isolation of fresh RNA material and independent experiments such as real-time PCR which can only be performed once the biological material required will be available in South Africa, following the current wheat growth period.

Piriformospora-update: Results of a transcriptome analysis of the mutualistic association of *P. indica* with barley roots

Patrick Schäfer¹, Stefanie Pfiffli¹, Sophia Sonnewald², Frank Waller¹, Jörn Pons-Kühnemann¹, Uwe Sonnewald², Karl-Heinz Kogel¹

¹ Interdisziplinäres Forschungszentrum für Umweltsicherung (IFZ Gießen), Justus-Liebig-Universität, D-35392 Gießen, Germany

² Institut für Biologie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, D-91058 Erlangen, Germany

The basidiomycete *P. indica* represents a model organism for a new type of mutualistic symbiosis with monocots and dicots. Based on phylogenetic analyses, the fungus was found to be a member of the recently defined order *Sebacinales*, which houses a huge variety of mycorrhizal fungi (WEISS et al. 2004). The symbiosis is considered to have substantial impact in crop production since *P. indica* colonised crop plants exhibit increased biomass and grain yields. In addition, the fungus mediates local and systemic resistance against pathogens and

tolerance against salt stress (WALLER et al. 2005). Recent studies shed light on the colonisation strategy of the endophyte (DESHMUKH et al. 2006). Based on these investigations three different colonisation stages could be defined, ranging from spore germination through early extracellular development, penetration through early host colonisation and advanced root colonisation, which were chosen for further examination via transcriptome analyses. For the transcriptome-based investigation a new generation of Agilent-Microarrays was used to simultaneously elucidate the expression patterns of about 40.000 ESTs. The present data allows to evaluate the impact of phytohormones during barley root infestation by *P. indica* and the regulation of components of the plant innate immunity system during the interaction.

References

- DESHMUKH, S.D., R. HÜCKELHOVEN, P. SCHÄFER, J. IMANI, M. SHARMA, M. WEIß, F. WALLER and K.H. KOGEL, 2006: The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103:18450-18457.
- WALLER, F., B. ACHATZ, H. BALTRUSCHAT, J. FODOR, K. BECKER, M. FISCHER, T. HEIER, R. HÜCKELHOVEN, C. NEUMANN, D. VON WETTSTEIN, P. FRANKEN and K.H. KOGEL, 2005: The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt stress tolerance, disease resistance and higher yield. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 13386-13391.
- WEISS, M., M.A. SELOSSE, K.H. REXER, A. URBAN and F. OBERWINKLER, 2004: *Sebacinales*: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. Mycologia, 108: 1003-1010.

Priming and eliciting activities of an oxidative burst in wheat, rice and *Medicago truncatula* cells by a polysaccharide from green seaweed

Roberta Paulert¹, Marciel Stadnik², Bruno M. Moerschbacher¹

¹ Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Biochemie und Biotechnologie der Pflanzen, Hindenburgplatz 55, 48143 Münster, Germany; r_paul02@uni-muenster.de

² Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Fitopatologia, Florianópolis, SC, Brazil

Some of the marine green algae cause economic and ecological problems along coastlines since they proliferate as “green tides” due to eutrophication. Part of this biomass can be used for the production of the water-soluble polysaccharides not found in land plants. In a search for natural eliciting compounds, a heteropolysaccharide named ulvan was extracted from the green seaweed, *Ulva fasciata*. Dried algae were autoclaved in water, and the resulting solution was filtered and concentrated. The soluble material was precipitated with ethanol, dried, and dissolved in water.

Cultured plant cells have been widely used as model systems to rapidly investigate the perception of novel molecules, and the rapid release of H₂O₂ is generally assumed to be a key event of various cellular defense responses. Here, wheat, rice, and *Medicago truncatula* cells were treated with ulvan and/or known elicitors (chitin hexamer, chitosan, or invertase), and the chemiluminescence of luminol with H₂O₂ has been used to quantify amounts of hydrogen peroxide produced by the cell cultures.

Ulvan (200 µg/ml) is not able to induce an oxidative burst in wheat or rice cells. But, when these cells were pre-incubated with ulvan in the same concentration for 3–5 hours, the oxidative burst induced by a chitin hexamer (1 µg/ml) was several times stronger (6,45 and 13 times, in wheat and rice cells, respectively) than elicited cells treated with chitin alone. This capacity to respond to a pre-treatment is called priming

or potentiation state and primed plants/cells display either faster, stronger, or both activation of the various cellular defense responses, which are induced following attack by either pathogens or insects or in response to abiotic stress.

While ulvan alone did not elicit a H₂O₂ production in the monocots cells tested, it acted as an elicitor in *M. truncatula* cells. The maximum burst was observed within 21 min and the generation of H₂O₂ was detectable after the application of ulvan in final concentrations between 20 µg/ml and 200 µg/ml in a dose-dependent manner.

When the *M. truncatula* cell cultures were treated simultaneously with both invertase (20 µg/ml) and ulvan (200 µg/ml) the resulting oxidative burst kinetics appeared to be the sum of the effects mediated by each compound alone.

To our knowledge, this is the first report of a sulfated polysaccharide from green algae acting as an elicitor in a dicot cell culture system and showing a strong priming effect in monocot cell cultures.

Knockdown of a pathogen-induced polyphenol oxidase reduces disease resistance in dandelion

Carolin Richter, Mareike E. Dirks, Bruno M. Moerschbacher

Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Biochemie und Biotechnologie der Pflanzen, Hindenburgplatz 55, 48143 Münster, Germany; richterc@uni-muenster.de

Dandelion (*Taraxacum officinale* Weber ex Wiggers) is a widely distributed and adaptable weed, which can tolerate a broad range of climatic conditions and has a cytogenetic characteristic: In northern Europe, a triploid, apomictically reproducing population with genetic identical offspring exists. However, in contrast to genetic uniform monocultures of agricultural crops that are threatened by massive appearance of pest organisms, there are no reports of a huge emergence of pathogens in a dandelion population. We are interested in the molecular basis of this pronounced disease resistance. *T. officinale* is a lactiferous plant, and polyphenol oxidases (PPOs; EC 1.10.3.2 or EC 1.14.18.1) are identified as a major component of the latex proteins. Until now, five PPO genes are identified in *T. officinale*. PPOs catalysing the oxidation of phenols to quinones and are assumed to be involved in plant defence against pests and pathogens.

In this project, PPOs are analysed for their potential to induce resistance in *T. officinale*. Therefore, we silenced a leaf PPO (*toppo-2*) which is induced after inoculation with *Botrytis cinerea* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst). The down-regulation of the *toppo-2* gene results in reduced disease resistance. At four days post inoculation, Pst populations were increased in the transgenic lines compared with the wild-type plant. Additionally, after drop-inoculation with *B. cinerea* onto the surface of detached dandelion leaves, the transgenic lines displayed a larger radial lesion size than wild-type plants. To investigate the localisation of *toppo-2* expression during infection, β-glucuronidase was expressed as a marker enzyme under the control of the *toppo-2* promoter in transgenic dandelion plants. A high level of promoter activity was visible in response to infection by *B. cinerea*, in a ring surrounding the lesion. In a second approach, the dandelion *toppo-2* gene was expressed in *Arabidopsis thaliana*, a model plant without any PPO gene, and active enzyme was formed. Infection studies with Pst revealed increased resistance of transgenic *A. thaliana* plants expressing the *toppo-2* gene in comparison with wild-type plants. These results suggest that a single PPO can change the plant resistance, and they provide clear evidence for the involvement of PPO in disease resistance.

Strobilurin fungicides enhance stress tolerance of plants

Gudrun Schmitz, Nicole Spees, Uwe Conrath

RWTH Aachen University, Dept. of Plant Physiology, Plant Biochemistry and Molecular Biology Group, Aachen 52056, Germany; schmitz@bio3.rwth-aachen.de

In addition to their antifungal activity, strobilurin fungicides cause a variety of physiological effects in treated plants that promote plant performance. For example, treatment with strobilurin fungicides enhances the plants' tolerance to biotic and abiotic stresses. Here we report that treatment with Pyraclostrobin augmented the tolerance of the reference plant *Arabidopsis thaliana* to frost (-14°C). The freeze tolerance was not induced in *Arabidopsis* plants treated with a formulation void of Pyraclostrobin. In Pyraclostrobin-treated plants, establishment of freeze tolerance was associated with expression of the gene encoding alternative oxidase (AOX) 1a. The encoded enzyme has been associated with increased tolerance to several other abiotic stresses before. Analysis of *Arabidopsis* mutants with a defective *AOX1a* gene will clarify whether AOX1a plays a role in the freeze tolerance of *Arabidopsis*.

The hemibiotroph *Colletotrichum graminicola* induces green islands on maize leaves

Michael Behr, Holger B. Deising, Stefan G.R. Wirsal

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftliche Fakultät III, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Phytopathologie und Pflanzenschutz, Ludwig-Wucherer-Str. 2, 06108 Halle (Saale), Germany; stefan.wirsal@landw.uni-halle.de

The hemibiotrophic ascomycete *Colletotrichum graminicola* causes leaf anthracnose and stem rot of maize. After germination and penetration of an epidermal cell an infection vesicle is formed that serves a function which is analogous to that of the haustorium of obligate biotrophs. During the first two days of a typical leaf infection, the host tissue remains intact and the fungus evades defense reactions. This biotrophic phase is followed by a necrotrophic phase during which the surrounding host tissue is rapidly killed and necrotic lesions so called anthracnoses develop. Acervuli formed in anthracnoses harbor great numbers of conidia which spread the pathogen in the field. While observing anthracnoses only on young and mature leaves, we recognized on leaves undergoing early senescence green islands which are a novel symptom for this fungus but well-known from obligate biotrophs. We showed that the occurrence of green islands depended on a successful establishment of the fungus. Imaging-PAM (Pulse-Amplitude-Modulation) chlorophyll fluorometry confirmed that photosynthesis remained active locally while the surrounding leaf tissue underwent accelerated senescence. Around 4 dpi, photosynthesis began also to decline in the center of green islands which corresponded to the appearance of initially small necrotic lesions. At this stage, a ring of highly active host cells surrounded the mycelium. In instances where a host cell wall reaction was observed, at green islands it remained mostly restricted to the single epidermal cell that was initially penetrated by the fungus. In contrast, at necrotic lesions wall reactions always spread beyond the first cell. However, this did not prevent further proliferation of the fungus.