

Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft

# Zusammenfassungen der Arbeitskreisbeiträge



**2007**

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](mailto:geschaeftsstelle@dpg.phytomedizin.org)

[www.phytomedizin.org](http://www.phytomedizin.org)

## Inhalt

AK Mykologie, 15.03.2007.....	1
AK Nematologie, 13.03.2007 .....	9
AK Nutzarthropoden und Entomopathogene Nematoden, 20.11.2007 .....	27
AK Pflanzenschutztechnik, 13.03.2007 .....	36
AK Phytobakteriologie, 14.12.2007.....	45
AK Phytomedizin in Ackerbau und Grünland	
PG Krankheiten an Getreide, 05.02.2007 .....	53
PG Schädlinge in Getreide und Mais, 21.02.2007 .....	57
AK Phytomedizin im Gartenbau	
PG Heil-, Duft- und Gewürzpflanzen, 20.02.2007 .....	59
AK Phytomedizin in den Tropen und Subtropen, 10.10.2007 .....	63
AK Viruskrankheiten der Pflanze, 29.03.2007 .....	72
AK Vorratsschutz, 21.11. 2007.....	95
AK Wirbeltiere, 20.11. 2007.....	101
AK Wirt-Parasit-Beziehungen, 15.03.2007 .....	106

## AK MYKOLOGIE, 15.03.2007

### AUFTRETEN UND BEFALLSHÄUFIGKEIT DER FUSARIUM-KOLBENFÄULE AN MAIS IN DEUTSCHLAND

Andreas Görtz<sup>1</sup>, Heinz-Wilhelm Dehne<sup>1</sup>, Ulrike Steiner<sup>1</sup>, Erich-Christian Oerke<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Abteilung Pflanzenkrankheiten, Nussallee 9, 53115 Bonn, Deutschland

Contact: agoertz@uni-bonn.de

Deutschlandweit wurden an 42 Standorten Maisproben gezogen und diese mikrobiologisch auf den Befall mit Erregern der *Fusarium*-Kolbenfäule untersucht. Die Häufigkeit des *Fusarium*-Befalls reicht in den Kornproben von 0,6 % bis 99,6 %. Mehrere *Fusarium*-Arten wurden als Erreger der Kolbenfäule morphologisch identifiziert. Große Bedeutung haben insbesondere *F. graminearum*, *F. verticillioides*, *F. equiseti*, *F. proliferatum* und *F. culmorum*.

### OMEGA-3 FETTSÄUREN IN OOMYCETEN-INFIZIERTEN NUTZPFLANZEN

Ann-Marie Anderle<sup>1</sup>, Prof. Dr. Klaus Haas<sup>1</sup>, Prof. Dr. Otmar Spring<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Hohenheim, Institut für Botanik, Garbenstraße 30, 70593 Stuttgart-Hohenheim, germany

Contact: muehlanm@uni-hohenheim.de

Omega-3 Fettsäuren ( $\omega$ -3 FS) sind in höheren Pflanzen in Form von  $\alpha$ -Linolensäure (18:3) enthalten. Längerkettige, mehrfach ungesättigte  $\omega$ -3 Fettsäuren (LC-PUFAs) wie Eicosapentaensäure (**EPA**, 20:5) und Docosahexaensäure (**DHA**, 22:6) können höhere Pflanzen nicht synthetisieren. Reich an EPA und DHA sind dagegen bestimmte marine Mikroorganismen, die sich über die Nahrungskette z.B. in Fischöl anreichern. Die Gesundheitsbehörden vieler Länder empfehlen aufgrund einschlägiger Studien die Supplementierung der menschlichen Nahrung mit  $\omega$ -3 FS in Form von EPA oder DHA zum Beispiel in Form von Fischölkapseln.

Um die Fischbestände zu schonen und nicht nur von einer Quelle abhängig zu sein, wird in verschiedenen Ländern mit Hochdruck an alternativen Ressourcen für  $\omega$ -3 FS gearbeitet.

So wird momentan versucht, die Gene für die EPA-Biosynthese in Pflanzen einzubauen und über diese in großem Maßstab  $\omega$ -3 FS zu produzieren (BASF homepage). Studien über den Biosyntheseweg und die potentielle Synthese von EPA in transgenen Pflanzen wurden in England und Australien veröffentlicht (Sayanova, O.V., Napier, J. A., 2004; Robert, S.S., 2005).

Parallel zur gentechnischen Variante existiert eine neue, natürliche Möglichkeit  $\omega$ -3 FS zu gewinnen. Die Gewinnung erfolgt biotechnologisch durch Algenkulturen in Bioreaktoren (Meiser, A., 2004; Grobbelaar, J.U., Kurano, N., 2003).

Für den direkten Einsatz als Nahrungsergänzungsmittel, alternativ zu Fischöl, gibt es zur Zeit keinen Erfolg versprechenden Ansatz. Potentielle GMO-Quellen leiden als Nahrungsmittel unter geringer Akzeptanz. Ähnliche Skepsis besteht gegenüber marinen Mikroalgen, die als einzige direkte Quelle bisher zur Verfügung stehen.

Fettsäure-Analysen bei biotrophen Oomyceten haben gezeigt, dass diese, phylogenetisch mit den heterokonten Algen verwandten Organismen, reich an mehrfach ungesättigten FS (PUFAs) und insbesondere reich an EPA sind (Schäuffele, D., 2005; Spring, O. and Thines, M., 2004; Lamla, I.M., 2003). Ihr vielfältiges FS Spektrum ist artspezifisch (Spring, O., Haas, K., 2004).

Unter diesen Oomyceten befinden sich pflanzenpathogene Arten, die wichtige Nutzpflanzen wie Sonnenblume, Raps, Wein oder Salat befallen und dabei bis zu einem Drittel ihrer Lipide in Form von  $\omega$ -3 FS speichern. Da die biotrophen Pathogene auf den aktiven Stoffwechsel der Pflanzenzelle angewiesen sind, besiedeln sie zwar ihren Wirt, schädigen ihn aber nicht durch Toxine.

*Bremia lactucae* an Salat und *Plasmopara halstedii* an Sonnenblumen zählen dabei zu den Vertretern mit den höchsten Quantitäten an EPA (20:5) und DHA (22:6).

Untersuchungen an *Plasmopara halstedii* auf Sonnenblumenkeimlingen haben gezeigt, dass frisch infiziertes Blattmaterial bis zu 30 mg EPA/g Trockengewicht (TG) enthält. Von *Bremia lactucae* befallene Salatblätter enthalten bis zu 10 mg EPA/g TG. Durch Screening besonders EPA-reicher Isolate und Optimierung der Kulturbedingungen bieten sich weitere Möglichkeiten der Steigerung des  $\omega$ -3 FS Gehaltes. Auf diese Weise können physiologisch relevante Anteile des täglichen Bedarfs entweder direkt vom Menschen aufgenommen oder indirekt über die Nahrungskette in tierischem Gewebe angereichert werden.

## **EINFLUSS DER SORTE UND TEMPERATUR AUF DEN ERREGER DER SCHWARZFÄULE GUIGNARDIA BIDWELLII**

Eva Leiritz<sup>1</sup>, PD Dr Ulrike Steiner<sup>1</sup>, PD Dr. Christian Oerke<sup>1</sup>, Prof. Dr. Heinz-Wilhelm Dehne<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>INRES, Abteilung Phytomedizin, Nussallee 9, 53115 Bonn, Deutschland

Contact: [eleiritz@uni-bonn.de](mailto:eleiritz@uni-bonn.de)

Klimaerwärmung und internationale Warenaustausch führen zu einer Ausbreitung von phytopathogenen Krankheitserregern (Pilzen, Bakterien, Viren), die teilweise einschneidende Folgen für die Landwirtschaft und Lebensmittelproduktion haben können. Die Gefährdung von Nutzpflanzen durch neu eingeführte oder verstärkt auftretende Schaderreger soll im Rahmen eines von der EU geförderten Projektes 'Crop and food biosecurity, and provision of the means to anticipate and tackle crop bioterrorism' abgeschätzt werden. Es werden die Folgen der Einführung neuer Pathogene, Rassen oder Biotypen für die europäische Landwirtschaft (Produktivität, Handel und soziologischen Aspekte) betrachtet.

Zur Abschätzung der Wahrscheinlichkeit der Etablierung neuer Schaderreger in Europa werden Daten zur deren Biologie (Lebenszyklus, Epidemiologie, Überdauerung) sowie Verfügbarkeit von Wirtspflanzen, klimatischen Eignung, Kulturtechniken und Bekämpfungsmöglichkeiten in den Gebieten herangezogen. Mit Hilfe von verschiedenen Programmen (CLIMEX, Arc-GIS) soll die Etablierung der Pathogene in Karten visualisiert werden, um Aussagen über mögliche Ausbreitungsgebiete treffen zu können und wo es auf Grund von klimatischen Änderungen, zu Epidemien kommen kann.

Key words: Bioterrorismus, invasive Arten, Risk Assessment

## **ENTWICKLUNG EINES SCAR-PRIMERS ZUM NACHWEIS VON RHIZOCTONIA SOLANI AG 1-IB**

Grosch, Rita<sup>1</sup>, Schneider, J.H.M.<sup>2</sup>, Waschke, Astrid<sup>1</sup>, Franken, Philipp<sup>1</sup>, Kofoet, Andreas<sup>1</sup>, Jabaji-Hare, Suha<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut für Gemüse und Zierpflanzenbau (IGZ), Deutschland

<sup>2</sup>Institute of Sugar Beet Research (IRS), The Netherlands

<sup>3</sup>Macdonald Campus, McGill University, Canada

Contact: [grosch@igzev.de](mailto:grosch@igzev.de)

The aim of this study was to develop a specific and sensitive identification method for *R. solani* AG 1-IB isolates based on phylogenetic relationships of *R. solani* AG-1 subgroups using rDNA-internal transcribed spacer (rDNA-ITS) sequence analysis. A neighbour joining tree analysis of 40 rDNA-ITS sequences demonstrated that *R. solani* AG-1 isolates cluster separately in six subgroups IA, IB, IC, ID, IE and IF. A molecular marker was generated from a random amplified polymorphic DNA fragment (RAPD). After conversion into a sequence-characterized amplified region (SCAR), a specific primer set for identification of subgroup AG 1-IB was designed for use in a polymerase chain reaction (PCR). The primer pair amplified a single DNA product of 324 bp. *R. solani* AG-1 subgroups were discriminated by sequence analysis of the ITS region. The designed SCAR primer pair allowed an unequivocal and rapid detection of *R. solani* AG 1-IB in plant and soil samples. Sequence analysis of the rDNA-ITS region can be used for differentiation of subgroups within AG-1. The use of the developed SCAR primer set allowed a reliable and fast identification of *R. solani* AG 1-IB and provides a powerful tool for disease diagnosis.

### **EINFLUß VON DONSTOP AUF DIE KONTAMINATION VON TRITICALE MIT DEOXYNIVALENON (DON)**

Hebert Buschhaus<sup>1</sup>

<sup>1</sup>40878 Ratingen

Contact: buschhaus@nisso-chem.de

Triticale wurde mit einer Sporensuspension von *Fusarium culmorum* künstlich inokuliert und mit einer Fungizidlösung aus DONstop WDG 700 bei einer Aufwandmenge von 1,1kg/ha 1-3 ; 6-10 .. und 11-23 Tage nach Inokulation behandelt. Im Durchschnitt der 6 Versuche wurden nach 1-3 Tagen 0,859 mg/kg nach 6-10 Tagen 0,92mg/kg und nach 11-23 Tagen 1,76 mg DON / kg Getreide gemessen. In unbehandelt wurden 2,631 mg/kg gemessen. Entsprechend wurde der DON Gehalt um 67% ; 65% sowie 34% reduziert. Es überrascht , dass selbst bei Ähren die vollständig befallen sind kann es noch zu einer Reduktion des Mycotoxingehaltes durch DONstop kommen. Es bleibt zu prüfen inwieweit ein vorbeugender Einsatz von DONstop die Mycotoxinbildung weiter reduzieren kann.

### **PLASMOPARA VITICOLA - EPIDEMIOLOGISCHE RELEVANZ VON SPORULATIONSEREIGNISSEN**

Keil, Sven<sup>1</sup>, Kassemeyer, Hanns-Heinz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Staatliches Weinbauinstitut Freiburg, Merzhauserstr. 119, 79100 Freiburg

Contact: Sven.Keil@wbi.bwl.de

Es wurden die Auswirkungen der Temperatur auf die Sporulation von *Plasmopara viticola* untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass nicht nur die Menge an gebildeten Sporangien temperaturabhängig ist. Es wurde der Einfluss der Temperatur auf den Kern- / Zoosporengehalt sowie auf die Grundmortalität der Sporangien nach Abschluss der Sporulation nachgewiesen. Die Ergebnisse der Untersuchungen legen nahe, dass die Bildungstemperatur der Sporangien einen erheblichen Einfluss auf das Fortschreiten der Epidemie hat.

## **HIGH FREQUENCY OF MULTI-DRUG RESISTANT VINEYARD ISOLATES OF BOTRYTIS CINEREA**

Matthias Kretschmer<sup>1</sup>, Melanie Wiwiorra<sup>1</sup>, Matthias Schröder<sup>1</sup>, Andreas Böhm<sup>1</sup>, Michaela Leroch<sup>1</sup>, Matthias Hahn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>TU Kaiserslautern, Department of Biology, Phytopathology Group, PO Box 3049, 67653 Kaiserslautern, Germany

Contact: kretschm@rhrk.uni-kl.de

The necrotrophic ascomycete *Botrytis cinerea* is one of the major pathogens in viticulture for vine quality and yield. During one growing season 2-3 fungicide applications with botryticides are commonly applied. Due to its high genetic diversity and reproduction rate *Botrytis* easily develops resistance. Besides the usual resistance mechanism of target site modification, another type of resistance, first known from human pathogens *Staphylococcus*, *Pseudomonas* or *Candida* spp., is multi-drug resistance (MDR). This type of resistance is characterized by low to medium resistance against chemically unrelated drugs. The genetic background of this resistance is a constitutive or induced overexpression of exporter systems such as ABC (ATP binding cassette) or MFS (major facilitator superfamily) transporters. Until now, MDR is not well investigated in plant pathogens. However, in the last years, increasing numbers of *Botrytis* MDR isolates have been observed in intensively cultivated French vineyards.

The fungicide resistance pattern of *Botrytis* isolates from vineyards of the vine growing area Freiburg im Breisgau (in 2004) and the Deutsche Weinstraße (in 2006) was examined for the frequency of fungicide resistance (against Carbendazim, Fludioxonil, Fenhexamid, Cyprodinil, Iprodion, Boscalid and Tebuconazole), to identify the MDR frequency and pattern. In 2004, 2 out of 209 tested isolates showed a MDR phenotype. In 2006, 39 (23%) out of 172 *Botrytis* isolates collected from several vineyards were found to show MDR. The MDR isolates could be divided into several classes, which might indicate different mechanisms to be involved. By using genetic markers (PCR-RFLP, transposons, microsatellites), the diversity of the isolates was found to be very high, including the MDR isolates. Macroarray hybridization experiments are in progress to verify that ABC- and/or MFS-MDR transporters are overexpressed in MDR isolates.

## **DIE BEDROHUNG DER ESSKASTANIE DURCH CRYPHONECTRIA PARASITICA**

Metzler, Berthold<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Forstliche Vers. u. Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Wonnhaldestr. 4, 79100 Freiburg/Br.

Contact: berthold.metzler@forst.bwl.de

Seit 1992 ist das Vorkommen von *Cryphonectria parasitica* in Deutschland bekannt. Inzwischen existieren hier mehrere Befallsherde, insbesondere in der südbadischen Ortenau und in der rheinland-pfälzischen Weinstraße. Derzeit gelten etwa 1% der Esskastanien-Flächen in Baden-Württemberg und Rheinland-Pfalz als infiziert. Bei der Untersuchung der Pilzisolat auf vegetative Kompatibilität (VC) wurden bisher fünf verschiedene Typen festgestellt.

Das zunächst verfolgte Ziel, die Krankheit wieder auszurotten, konnte nicht erreicht werden. Zwar wurden einige Primärherde zunächst erfolgreich saniert; konsequente und nachhaltige Maßnahmen wurden jedoch durch die sehr klein parzellierte Besitzstruktur in den Kastanienwäldern teilweise auch durch Überlastung der Revierleiter erschwert.

Die Quarantäneregelungen der EU für Kastanienholz wurden im Jahr 2004 gelockert und 2005 in die deutsche Pflanzenbeschauverordnung umgesetzt, um weiterhin den Handel mit Esskastanienholz zu ermöglichen. Allerdings bleiben die Meldepflicht und die Pflanzenpasspflicht für Baumschulpflanzen erhalten. Darin sind auch Eichenpflanzen einbezogen, da sie die Krankheit ebenfalls übertragen können, allerdings ohne davon wesentlich beeinträchtigt zu werden.

Hoffnungen, die Entwicklung des Rindenkrebsses unterdrücken zu können, liegen in der Hypovirulenz. Diese bedeutet eine spezifische Virusinfektion des Pilzes, wodurch er an Aggressivität verliert. Allerdings wurde bisher in Deutschland erst ein hypovirulenter Stamm von *C. parasitica* entdeckt und für die Nutzbarmachung dieses Phänomens noch Forschungsarbeit notwendig.

METZLER B, 2004: Der Esskastanien-Rindenkrebs. Waldschutz-INFO 5/2004 (Neuaufg. 2006). FVA Baden-Württemberg, Freiburg/Br., 4 S. [www.fva-bw.de](http://www.fva-bw.de).

SEEMANN, D.; BOUFFIER, V.; KEHR, R.; WULF, A.; SCHRÖDER, T.; UNGER, J., 2001: Die Esskastanie (*Castanea sativa*) in Deutschland und ihre Gefährdung durch den Kastanienrindenkrebs (*Cryphonectria parasitica*). Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., 53, 49-60.

#### **APPLICATION OF POLYCLONAL ANTISERA AND MONOCLONAL AND ANTIBODIES FOR DETECTION OF FUNGAL ANTIGENS IN FUSARIUM INFECTED CEREAL GRAINS AND THEIR USE FOR RESISTANCE ASSESSMENT**

Rabenstein, Frank<sup>1</sup>, Rohde, Silke<sup>1</sup>, Haase, Anita<sup>1</sup>, Rohrig, Karina<sup>2</sup>, Voß, Hans-Henning<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants, Institute of Resistance Research and Pathogen Diagnostics, Quedlinburg

<sup>2</sup>Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Institut für Agra- und Ernährungswissenschaften

<sup>3</sup>University of Hohenheim, State Plant Breeding Institute, Stuttgart

Contact: [f.rabenstein@bafz.de](mailto:f.rabenstein@bafz.de)

The application of immunological detection methods for *Fusarium* species in infected cereals could enhance the selection intensity in large-scale breeding experiments for resistance assessment. Final aim of our studies is to quantify the amount of mycelium which is accumulated as specific exoantigens (ExAg) based on polyclonal antisera (PAS) and/or monoclonal antibodies (MAbs). Several PAS prepared to antigens from *Fusarium*-species were tested in various immunological detection systems. The immunodiagnostic analysis using selected PAS was specific to the genus *Fusarium* and no cross-reactions were observed to other ear-infecting fungi. In Western blotting experiments, specific glycoprotein bands with molecular weights of the two immunodominant antigens above 63 kD were detected in artificially *Fusarium* infected wheat, rye, triticale and barley grains. A plate-trapped antigen (PTA) test format was optimized and a standard test protocol was elaborated and successfully applied for estimation of ExAg in grain samples from field trials infected by spray inoculation using a highly aggressive *F. culmorum* isolate. An increase of FHB disease severity is associated with an increase in fungal colonization expressed as higher amounts of ExAg and subsequently higher DON contents in inoculated cereals. Test sensitivity at low mycelium and DON amounts in the grains is, however, problematic. To overcome this, MAbs were produced to a number of ExAg preparations of *F. culmorum* and *F. graminearum*. Several hybridoma cell lines were generated from which 5 produced antibodies of the preferred IgG class and 18 lines secreted IgM antibodies. After characterization of their binding properties and proving for detection of ExAg in field samples a single MAb of subclass IgG1 was selected. This MAb can



be used in different ELISA formats and is particularly suitable for application in the preferred variant of DAS-ELISA. After optimisation of test parameters and incubation conditions a MAb based DAS-ELISA format was developed and is currently tested for large scale assessment of wheat genotypes. First results showed that a significantly increase in test sensitivity could be achieved with the MAb test system in comparison to the former used PTA-ELISA employing PAS. However, in samples taken from field trials performed at MLU Halle and tested by different methods a good correlation was found only between DON content, detected by competitive immunoassays in plates or in a test strip assay, and PTA-ELISA.

\*supported by BMBF, InnoRegio FKZ:03i0606A

## **UNTERSUCHUNG DES SPEKTRUMS HOLZBESIEDELNDER PILZE AUS ESCA-KRANKEN REBEN ANHAND VON RFLP-ANALYSEN**

Schulze, Katja<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA), Institut für Pflanzenschutz im Weinbau, Brüningstraße 84, 54470 Bernkastel-Kues*

Contact: Ka.Schulze@BBA.de

Der Begriff Esca bezeichnet einen Krankheitskomplex an Weinreben, welcher sich in chronischen und akuten Symptomen äußert und schließlich zum Ausfall der Stöcke führt. In den letzten Jahren wurde in deutschen Weinbaugebieten eine Befallszunahme beobachtet.

Mehrere pilzliche Erreger stehen im Verdacht, gemeinsam oder in Sukzession das Krankheitsbild auszulösen. In symptomatischen Blättern können keine Erreger nachgewiesen werden. Daher wurde für diese Untersuchungen Untersuchungsmaterial aus dem Holzkörper herangezogen.

Aus vier verschiedenen Versuchsflächen von drei Standorten im Weinbaugebiet Mosel-Saar-Ruwer wurde Probenmaterial aus symptomatischen und symptomfreien Stöcken gewonnen (N= 72). Die Probennahme erfolgte nicht-destruktiv mittels eines Zuwachsbohrers. Die Bohrkern wurden hinsichtlich ihrer Besiedlung mit potentiellen Esca-Pilzen untersucht. Dazu wurde zum einen das Pilzspektrum klassisch durch Isolation und nachfolgende DNA-Extraktion aus Flüssigkulturen und zum anderen molekularbiologisch durch direkte DNA-Extraktion aus dem Holz charakterisiert. Die Charakterisierung der Isolate und der aus Holz gewonnenen DNA erfolgte mittels einer pilzspezifischen ITS-PCR mit dem Primerpaar ITS5 und ITS4. Dabei wird die ‚internal transcribed spacer‘ (ITS) Region der ribosomalen DNA (rDNA) Untereinheit amplifiziert. Daran schloss sich eine RFLP-Analyse (Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus) mittels Verdau der PCR-Produkte durch *HpaII* und Sequenzierungen der ITS Regionen an.

Die am häufigsten vorkommenden Pilze waren *Fomitiporia mediterranea*, *Phaeomoniella chlamydospora* und *Botryosphaeria obtusa*, wobei *B. obtusa* nur aus Bohrkernen gewonnen wurde, welche schon makroskopisch Verbräunungen gezeigt haben. *F. mediterranea* konnte hauptsächlich in Bohrkernen gefunden werden, die makroskopisch eine Weißfäule zeigten, *P. chlamydospora* kam gleich häufig in allen Proben vor, unabhängig ob es sich um makroskopisch gesundes Holz oder Proben aus symptomatischen oder symptomfreien Stöcken handelte.

Grundsätzlich wurde aus den meisten Bohrkernen mehr als ein Isolat auf Nährboden gewonnen, während die direkte DNA-Extraktion aus dem Holz meist nur zu einer Bande bei der ITS-PCR führte. Zudem war das Pilzspektrum bei der Isolation auf Nährmedium breiter, es wurden mehr als 15 verschiedene Isolate gefunden. Bei der direkten Extraktion von Pilz-DNA aus dem Holz ließen sich nur sieben verschiedene Isolate nachweisen.

Die Ergebnisse der Sequenzierung und der RFLP-Analysen zeigten, dass die aus den Bohrkernen gewonnenen pilzlichen Erreger bzw. ubiquitär vorkommenden Pilze sicher charakterisiert werden können. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass *F. mediterranea* und *F. punctata* durch einen RFLP mit *TruII* bzw. *MseI* differenziert werden können.

In wie fern die gefundenen Pilze ursächlich für die Symptomausprägung der Esca-Krankheit sind, kann anhand dieser Ergebnisse nicht eindeutig geklärt werden.

## **THERMOGRAPHISCHER NACHWEIS VON BLATTKRANKHEITEN AN ZUCKERRÜBEN**

Stenzel, Irene<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz/Abteilung Phytomedizin, Nussallee 9, 53115 Bonn*

Contact: [istenzel@uni-bonn.de](mailto:istenzel@uni-bonn.de)

Die digitale Thermographie erfasst die Wärmestrahlung von Objekten und stellt sie in Form von Temperaturbildern, so genannten Thermogrammen, dar. Pflanzen heben sich auf Thermogrammen durch die Verdunstungskälte als Folge der Transpiration vor ihrer Umgebung ab.

Die pilzlichen Blatterreger *Cercospora beticola* (Sacc.), *Erysiphe betae* (Vanha) Weltzien und *Uromyces betae* (Pers.) Lev. beeinflussen die Transpiration von Zuckerrübenblättern in unterschiedlicher Weise aufgrund ihrer nekrotrophen beziehungsweise biotrophen Lebensweise und führen so zu bestimmten Temperaturmustern. Diese verändern sich in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium der Symptome.

Digitale Thermographie eignet sich sowohl zur objektiven Diagnose als auch als berührungsloses Hilfsmittel zur Erkennung des Einflusses von Pathogenen auf die Transpiration von Pflanzen.

## **IRON ACQUISITION BY THE PHYTOPATHOGENIC FUNGUS USTILAGO MAYDIS**

Winterberg, Britta<sup>1</sup>, Schirawski, Jan<sup>1</sup>, Linne, Uwe<sup>2</sup>, Leßing, Franziska<sup>1</sup>, Eichhorn, Heiko<sup>1</sup>, Kahmann, Regine<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, D-35043 Marburg, Germany*

<sup>2</sup>*Philipps-University, Department of Biochemistry, D-35043 Marburg, Germany*

Contact: [britta.winterberg@mpi-marburg.mpg.de](mailto:britta.winterberg@mpi-marburg.mpg.de)

*Ustilago maydis* is a phytopathogenic fungus infecting maize. Although it can live as a saprotroph, *U. maydis* depends on biotrophic infection of its host plant to complete its life cycle. The infection is characterized by the appearance of tumors, in which the diploid fungal spores develop. During all stages of its life cycle, *U. maydis* needs iron. To acquire iron during its different states of development *U. maydis* possesses two high affinity iron uptake systems. The ferroxidation/permeation high affinity iron uptake system was shown to be necessary for full virulence on maize (Eichhorn *et al.*, 2006). In addition, *U. maydis* is able to assimilate iron via the siderophores ferrichrome and ferrichrome A. These low-molecular weight compounds solubilize, bind and transport iron.

Recently, we identified three clusters of iron-regulated genes in *U. maydis* (Eichhorn *et al.*, 2006). HPLC analysis of culture supernatants of mutants carrying single gene deletions showed that some genes of the iron-regulated clusters encode proteins with a function in siderophore

biosynthesis. Based on these results we are proposing a pathway for ferrichrome A biosynthesis, which is currently corroborated by generation and analysis of additional mutants. To investigate whether siderophores are needed during pathogenic development, plant infection assays were performed with strains that lacked the ability to synthesize siderophores. To this end, double deletion mutants of the two non-ribosomal peptide synthetase genes *sid2* and *fer3* were generated. These mutants were unable to grow on low-iron medium in axenic culture. However, they were as pathogenic as the wild type and produced viable spores. Interestingly, spore progeny were diploid indicating a meiosis defect. This suggests that the *U. maydis* siderophores have a role in iron uptake during saprophytic growth as well as iron storage during spore development of *U. maydis* in planta.

#### References

Eichhorn, H., et al. 2006. A ferroxidation/permeation iron uptake system is required for full virulence in *Ustilago maydis*. *Plant Cell* 18:3332-3345.

## **NEMADECIDE, EIN DECISION SUPPORT SYSTEM FÜR NEMATODEN**

Been, Thomas<sup>1</sup>, Schomaker, Corrie<sup>1</sup>, Molendijk, Leendert<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Plant Research International, PB 16, 6700 AA, Wageningen, Niederlande*

<sup>2</sup>*Applied Plant Research, PB 430, 8200 AK Lelystad, Niederlande*

Contact: [thomas.been@wur.nl](mailto:thomas.been@wur.nl)

In den vergangenen drei Jahren hat ein Konsortium aus bisher acht Agrar- und Forschungsinstitutionen mit der Entwicklung eines Decision Support Systems für pflanzenparasitäre Nematoden begonnen. Die erste Version umfasst Kartoffelzystennematoden und ist inzwischen fertiggestellt. Sie wird durch die Berater der teilnehmenden Betriebe bereits in der Praxis angewendet. An einer Erweiterung des Systems mit Schwerpunkt *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax* und *Pratylenchus penetrans* wird derzeit gearbeitet. Das System kann die 10 meist gestellten Fragen der Landwirte beantworten und wird in der Funktion ständig erweitert. Nicht weniger als 300 Kartoffelsorten mit ihren jeweiligen Resistenzen gegen die verschiedenen Pathotypen der Kartoffelzystennematoden stehen dem System zur Verfügung. Ergebnisse aus Bodenprobenanalysen können mit dem Programm mittels eines Webservices automatisch angefragt und ins System aufgenommen werden. Ein geografischer Komponent bietet die Möglichkeit die Anbaufläche des Landwirts mit eingezeichneten Nematodenanalysen dar zu stellen. Durch Kosten/Nutzen-Berechnungen kann der Einsatz von Bekämpfungsmaßnahmen objektiviert werden.

## **ZUCKERRÜBEN MIT TOLERANZ GEGENÜBER H. SCHACHTII - MÖGLICHKEITEN UND PERSPEKTIVEN**

Beyer, Werner<sup>1</sup>, Holtschulte, Bernd<sup>1</sup>, Niehoff, Berthold<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*KWS SAAT AG, Grimsehlstraße 31, 37555 Einbeck*

Contact: [w.beyer@kws.com](mailto:w.beyer@kws.com)

Neben Sorten mit Resistenz sind seit 2005 auch Sorten mit Toleranz gegenüber *Heterodera schachtii* in Deutschland zugelassen und kommen nun verstärkt zum Anbau.

Die Ergebnisse der letzten beiden Jahre belegen eine Leistungsüberlegenheit toleranter Sorten unter Nematodenbefalls- und -nichtbefallsbedingungen, die ihren Anbau auch bei Nematodenverdacht oder schwachem Befall wirtschaftlich machen. Experimentalhybriden der nächsten Generation, die derzeit in offiziellen Prüfung stehen, zeigen nur noch geringe Leistungsnachteile gegenüber rizomaniatoleranten und Normalsorten und sind auch in anderen wertbestimmenden Eigenschaften (Zuckergehalt, Qualität) deutlich verbessert.

Die Entscheidung des Landwirts für eine resistente oder tolerante Sorte hängt stets ab vom Nematoden-Anfangsbefall (Pi), von der Rotation und anderen Maßnahmen der Nematodenkontrolle. Anfängliche Befürchtungen, dass sich die Nematodenpopulation bei Anbau toleranter Sorten stark vermehrt, haben sich bisher nicht bewahrheitet. Es kann zwar eine Vermehrung stattfinden, diese ist aber deutlich geringer als an anfälligen Sorten und hängt wiederum sehr vom Anfangsbefall ab.

Züchterisch wird derzeit an einer weiteren Verbesserung der Sortenleistung, aber auch an der Kombination mit anderen Toleranzen und Resistenzen gearbeitet. Durch Kombination verschiedener Resistenzquellen könnten langfristig noch höhere Resistenzeffekte gegenüber *H. schachtii* realisiert werden. Dabei muss beachtet werden, dass gerade der im Vergleich zu resistenten Sorten geringere Selektionsdruck auf die Nematodenpopulation ein Vorteil der toleranten Sorten darstellt und der Entwicklung neuer Pathotypen von *H. schachtii* entgegenwirken könnte.

## **ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN MOLEKULARBIOLOGISCHER TECHNIKEN ZUR EFFEKTIVEREN SELEKTION ENDOPHYTISCHER KONTROLLISOLATE ZUR BEKÄMPFUNG DES WURZELNEMATODEN RADOPHOLUS SIMILIS AN BANANE.**

Dipl. Ing. agrar. A. Kurtz<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>*Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz (INRES),  
Nematologie und Bodenökosysteme; Universität Bonn, Nussallee 9, 53115 Bonn,  
Deutschland.*

*Author1: Dr. A. Schouten*

*Contact: akurtz@uni-bonn.de*

Die befallsreduzierende Wirkung endophytischer Pilze des Genus *Fusarium oxysporum* gegenüber Nematoden wurde bereits für verschiedene Kulturpflanzen beschrieben. An der Banane werden inzwischen verschiedene Isolate erfolgreich gegen den Wurzelnematoden *Radopholus similis* eingesetzt, welcher durch Schädigung des Wurzelsystems immense Ertragsverluste verursacht. Die zur Bekämpfung eingesetzten nicht-pathogenen endo-phytischen Pilze wurden nun erstmals gemeinsam mit ungetesteten Fusarien-Stämmen anhand molekularbiologischer Techniken (RFLP/ RAPD) untersucht. Besonders Ergebnisse, welche aus der Charakterisierung der IGS-Region resultieren, weisen auffällig enge phylogenetische Beziehungen zwischen beschriebenen Biokontrollisolaten und ungetesteten Fusarien vollkommen unterschiedlichen Ursprungs auf. Es wird daher die Hypothese aufgestellt, dass phylogenetische Beziehungen Hinweise auf Biokontroll-Eigenschaften der einzelnen Isolate liefern können.

Hier verspricht eine gezielte DNA-Sequenzierung der IGS-Region im Vergleich mit der bisher angewendeten RFLP-Technik zum einen konsistentere Datensets mit höherer Auflösung, zum anderen können anhand von SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) spezifische Primer entwickelt werden, welche zur Selektion von Kontrollisolaten herangezogen werden können. Das angestrebte Screeningsystem basiert somit auf der genetischen Information der Isolate und ist daher frei vom Einfluss exogener Faktoren. Seine Anwendung soll zu einer beschleunigten Selektion und zu einer kosteneffizienteren Suche nach weiteren und effektiveren Biokontrollisolaten beitragen.

## **MARINE NEMATODEN ALS INDIKATOREN FÜR DEN ISOLATIONSGRAD OZEANISCHER SEEBERGE**

Gad, Gunnar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Fakultät V, Institut für Biologie & Umweltwissenschaften, AG Zoosystematik und Morphologie, Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, D-26111*

*Oldenburg*

*Contact: [gunnar.gad@uni-oldenburg.de](mailto:gunnar.gad@uni-oldenburg.de)*

Seeberge bilden im Idealfall einen vulkanischen Kegel. Ihre Gipfel haben die Form von Kuppen oder Plateaus. Experten sprechen von derzeit weltweit über 100.000 Seebergen mit über 1 km Höhe. Über ihren Gipfeln bilden sich Zirkulationsströmungen, welche die Gipfel räumlich und zeitlich isolieren. Durch die Strömungsexposition der Seeberggipfel findet dort eine spezifische Sedimentablagerung statt, so dass sich dort fast immer grobe Kalksande ablagern. Seeberge sind mittlerweile dafür bekannt, dass sie isolierte endemische Artengemeinschaften aufweisen können. Ende der 80er Jahre waren 1.045 Tierarten von nicht mehr als 100 Seebergen erfasst worden. Der Anteil an endemischen Wirbellosen, die mit Seebergen assoziiert sind, wurde damals auf 15% geschätzt. In einer im Pazifik durchgeführten Studie im Jahre 2000 wird berichtet, dass dieser Anteil sogar bis zu 30% betragen kann. Trotz dieser Ergebnisse ist das Arteninventar von Seebergen bis heute kaum bekannt – es liegt noch immer weit unter 1%. Meiofauna einschließlich der Nematoden wurde in allen bisherigen Studien nicht berücksichtigt. Im Jahre 1998 wurden auf der Großen Meteor Bank erstmalig 74 meiobenthische Wirbellose registriert wurden. Dabei war deren Anteil an neuen Nematoden mit 99% überraschend hoch. Laufende Untersuchungen im OASIS-Projekt bestätigen diese Tendenz. Tiere der Meiofauna, wie Nematoden, haben für die Untersuchungen des Isolierungsgrades von Seebergen den Vorteil, dass sie nicht über pelagische Larven verfügen. Daher haben sie ein geringeres Ausbreitungspotential. Grobe Kalksande, wie sie auf den Gipfeln von Seebergen vorkommen, beherbergen eine spezifische interstitielle Nematoden-Gemeinschaft, die überwiegend auf ein

Leben im Lückensystem angepasst ist und sich nicht über die lehmigen Böden der Tiefsee ausbreiten kann.

## **INTEGRATION VON ÖKOLOGIE, EVOLUTIONS- UND ENTWICKLUNGSBIOLOGIE IN DER NEMATODENGATTUNG PRISTIONCHUS**

Herrmann, Matthias<sup>1</sup>, Mayer, Werner E.<sup>1</sup>, Sommer, Ralf J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Max Planck Institut für Entwicklungsbiologie Abteilung für Evolutionsbiologie, Spemannstr. 37-39, 72076 Tübingen Spemannstr. 37-39, 72076 Tübingen Spemannstr. 37-39, 72076 Tübingen*

*Contact: matthias.herrmann@tuebingen.mpg.de*

Der Nematode *Pristionchus pacificus* Sommer, Carta, Kim & Sternberg 1996 (Nematoda: Diplogastridae) wurde von unserer Abteilung als Satellitenorganismus zum Modellnematoden *Caenorhabditis elegans* etabliert. Während in den ersten Jahren der Hauptfokus der Forschung auf makroevolutiven, entwicklungs- und zellbiologischen Aspekten lag und viele Publikationen dazu erschienen, wurden Biologie und Ökologie des Wurms nicht näher untersucht. Dies änderte sich jedoch als wir auch mikroevolutive Aspekte studieren wollten und dafür mehr als die ursprünglich vier Isolate von *P. pacificus* und ebenfalls weitere nah verwandte Arten aus der Gattung in Analysen einbeziehen wollten. In umfangreichen Feldstudien fanden wir heraus, dass die gesamte Gattung *Pristionchus* nekromenisch an verschiedenen Käfern (hauptsächlich Scarabaeiden und deren Engerlingen) lebt. Wir haben mittlerweile über 15000 Käfer in Europa, Amerika, Asien und Afrika untersucht, 19 *Pristionchus* Arten in über 1000 Stämmen isoliert und diese in Permanent-Kultur genommen oder eingefroren. Da morphologische Merkmale keine zuverlässige Artbestimmung in diesem Hoch-Durchsatz Screen erlauben, basiert unsere Artbestimmung auf molekularen Daten, die durch Kreuzungsexperimente bestätigt werden. Während umfangreiche Vergleichsstudien zur Mikroevolution und Entwicklungsbiologie nun durch das reichliche Vorhandensein von Isolaten möglich sind, haben wir auch begonnen, Olfaktion und Wirtfindungsverhalten sowie die molekulare Phylogenie, Biogeographie und Speziation der Nematoden näher zu studieren.

## **VERBREITUNG UND VORKOMMEN VON MELOIDOGYNE SPP. IN DER SCHWEIZ**

Kiewnick, Sebastian<sup>1</sup>, Eder, Reinhard<sup>1</sup>, Roth, Irma<sup>1</sup>, Daniel, Otto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agroscope Changins-Wädenswil, Schloss Postfach 185, CH-8820 Wädenswil*

*Contact: sebastian.kiewnick@acw.admin.ch*

Die wirtschaftlich bedeutendste Gruppe pflanzenparasitärer Nematoden in der Schweiz sind Wurzelgallennematoden der Gattung *Meloidogyne*. Der nördliche Wurzelgallenematode *M. hapla* ist in allen Gemüseanbaugebieten (Freiland, unter Glass, Folientunnel) weit verbreitet. Des Weiteren finden sich in Gewächshäusern die tropischen Arten *M. incognita*, *M. javanica* und *M. arenaria*. Bei einem Survey in den Jahren 2002 bis 2005 wurden allerdings lokal begrenzt auch die Quarantänenematoden *M. chitwoodi* und *M. fallax* gefunden. *Meloidogyne chitwoodi* wurde nur im Jahr 2002, *M. fallax* dagegen konnte über die letzten Jahre wiederholt gefunden werden, wenn auch auf einige wenige Gewächshäuser beschränkt. Zur Zeit laufen Vorbereitungen für einen erneuten intensiven Survey, um die Wirksamkeit der bisherigen Eindämmungsmassnahmen für Quarantänenematoden zu überprüfen. Die Bestimmung der *Meloidogyne*-Arten wird jedoch nicht wie bisher anhand morphologischer Merkmale und der Enzymanalyse erfolgen, sondern über Sequenzierung der ITS-Region (ca. 700bp) stattfinden. Auf der Basis der so erarbeiteten Sequenzdaten soll zukünftig die Diagnostik von Wurzelgallennematoden auf molekulare Methoden umgestellt werden.

## **EINFLUSS VON ZUCKERRÜBENSORTEN AUF DIE REPRODUKTION UND SCHADENTWICKLUNG VON DITYLENCHUS DIPSACI UNTER STANDARDISIERTEN GEWÄCHSHAUBEDINGUNGEN**

Koch, Johannes<sup>1</sup>, Kühnhold, Volker<sup>1</sup>, Sikora, Richard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uni Bonn, INRES, Nussallee 9, 53115 Bonn

Contact: bonnvolk@hotmail.com

In den Hauptzuckerrübenanbaugebieten der Schweiz, Deutschland, Frankreich, Belgien und den Niederlanden breitet sich die von *Ditylenchus dipsaci* hervorgerufene Rübenkopffäule zunehmen aus. Ziel der aktuellen Untersuchungen war es ein Screening zum Aufdecken von Resistenzen oder Toleranzen in Zuckerrübensorten und -Stämmen im Gewächshaus durchzuführen. Um dieses Screening zu evaluieren wurden die Ergebnisse mit den Daten aus Feldversuchen des Jahres 2005 verglichen. Diese Versuche wurden auf verschiedenen Standorten der Region Düren durchgeführt. Hierbei wurde ein hoch signifikanter Einfluss der Sorten auf die Ausprägung der Fäulnis festgestellt. Es wurden 20 verschiedene Zuckerrübensorten und Stämme im Gewächshaus untersucht, die das gesamte Spektrum der Fäulnisausprägung der Feldversuche repräsentieren. Die Zuckerrüben wurden in der Klimakammer bei 20°C und 16 h Photoperiode in sterilen Boden-, Sandgemisch (1:1) ausgesät. Nach 14 Tagen wurden Keimlinge im BBCH Stadium 10 selektiert und mit 200 Nematoden pro Pflanze in 1% CMC-Lösung in die Blattachsen inokuliert. Nach ca. 2-3 Vermehrungszyklen der Nematoden (56 Tage) wurden die Zuckerrüben



geerntet und der Grad der Ausprägung der Fäulnis bonitiert. Um die Vermehrung zu bestimmen wurden die Zuckerrüben in ca. 0,25cm breite Scheiben geschnitten und auf Oostenbrinkschalen ausgelegt.

Die Boniturwerte zeigten eine Reduktion von über 50% zwischen der Sorte mit dem höchsten und der Sorte mit dem niedrigsten Befall. Die Reduktion der Nematodenvermehrung betrug bei der Sorte Prestige ca. 70% im Vergleich zur maximalen Reproduktion in der Kontrollvariante der Sorte Dorena. Die Ergebnisse der Nematodenvermehrung konnten allerdings nicht repliziert werden, da durch die Fäulnisentwicklung die Nematoden zum Teil aus den Rüben auswanderten, bzw. ihre Vermehrung einstellten. Zwischen den Daten des Feldversuches und den Boniturdaten des Gewächshausversuches lag eine Korrelation von  $R = 0,73$  vor.

Ein Sortenscreening im Gewächshaus ist kostengünstiger und schneller als ein Feldversuch. Die Versuche sind replizierbar. Eine Wiederholung der Versuche ist unter gleichen klimatischen Bedingungen und der gleichen Inokulumdichte mehrmals im Jahr durchführbar.

## **SPATIAL DISTRIBUTION AND THE POTENTIAL FOR SITE SPECIFIC MANAGEMENT OF DITYLENCHUS DIPSACI AND HETERODERA SCHACHTII IN SUGAR BEET FIELDS**

Kühnhold, Volker<sup>1</sup>, Sikora, Richard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uni Bonn, INRES, Nussallee9, 53115 Bonn

Contact: bonnvolk@hotmail.com

Nematodes are soil borne pests that are found in clusters in the field and are only able to spread slowly from one location to another. Their lack of mobility and spread makes them prime targets for site specific management strategies. The stem and bulb nematode, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) is of economic importance worldwide. In Germany and in other European countries *D. dipsaci* is an emerging problem and a major concern for sugar beet growers. A root-rot caused by a specific pathotype of the nematode can decrease the yield up to 40%. To reduce the impact of this pest, the potential of an integrated, site specific management was evaluated.

Potential factors impacting nematode penetration were also evaluated in order to identify the timing of management strategies to reduce nematode early root infection of beet seedlings. The exact time of nematode penetration into the plants was investigated in laboratory trials. The results showed that the time-frame from germination until seed emergence from the soil is the most critical period for the infection process. Thus, this phase of plant growth needs to be protected from nematode penetration. Due to the short time period available, infection is highly dependent on the mobility of the nematodes in the soil.

Previous studies demonstrated that mobility is mainly influenced by moisture content and texture of the soil. These factors were monitored using the contact-free sensor EM38, which creates soil maps that might be suitable for site specific management of *D. dipsaci* clusters in a field.

Two species of sugar beet nematodes, *D. dipsaci* and *Heterodera schachtii* were grid sampled in 2005. The data was then evaluated for cluster detection using the SADIE software. The information obtained, indicated that site specific control of these pathogens is possible.

## **HOW DO WE COMMUNICATE ABOUT NEMATODES WITH THE FARMER? - THE NEMATODE CONTROL STRATEGY**

Molendijk, Leendert P.G.<sup>1</sup>, Korthals, Gerard W.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Applied Plant Research (PPO-AGV), Wageningen University and Research, P.O. Box 430, NL-8200 AK Lelystad*

Contact: [leendert.molendijk@wur.nl](mailto:leendert.molendijk@wur.nl)

The use of nematicides in the Netherlands was in the period 1984-1988 twenty one million kg of active ingredients per year, which is, equivalent to an average of 20 kg of a.i. per ha of arable land. Due to environmental and social pressure to reduce the input of pesticides, government and farmers came to an agreement to reduce the use of nematicides by at least 70 %. Farmers were used to rely on chemicals in their control of nematodes. To become more independent of the use of nematicides, nematological knowledge has to be transferred to farmers. Based on the original schemes of Hijink and Oostenbrink (1968), PPO revitalised the idea of a Nematode Control Strategy (NCS) on farm level.

The Nematode Control Strategy is based on:

- an inventory of potential problems considering soil type, cropping history and planned crops within the rotation;
- an inventory of actual problems through soil sampling and crop inspection to determine nematode species and population densities for each of the growers fields;
- the design of a sound crop rotation scheme based on potential and actual problems and economic feasibility;
- prevalence of other soil-borne diseases e.g. *Rhizoctonia solani* and *Verticillium dahliae*;
- additional measures like black fallow and as final solution dosed nematicide application

To get a NCS implemented on farm level, interaction is needed between farmers, farmer organisations, agro industry, extension services, plant protection services and nematologists. Farmers themselves have to be aware of the effects of nematodes on both yield and quality. This is only possible when farmers and their

intermediates are able to recognize nematode symptoms and have an infrastructure available to process soil and root samples. Furthermore research and extension infrastructure is needed to develop technical and economical feasible measures to solve encountered problems. Awareness will lead to the right questions. Interaction and close cooperation between producers, trade and nematologists creates the driving force to develop and implement Nematode Control Strategies on farm level. In 2005 Dutch farmers started a project to implement this NCS concept of extension and research on a national level. Awareness is organized by showing farmers nematode problems on fields in their own neighbourhood or even on their own farm. ‘Nematode horror tours’ are organized to show farmers and intermediates how to recognize nematode infestations. The 250 most important intermediates in arable farming are trained in a special course how to develop a NCS for specific situations. For some combinations of nematodes and crops there is not enough knowledge available e.g on damage thresholds, sampling techniques, host status of crops etc. Research projects are developed to fill in these knowledge gaps. Tools are developed to gather and present all the information that is needed to design a NCS for a specific situation. All available qualitative knowledge on host status and tolerance of crop nematode combinations are presented on [www.digiaal.nl](http://www.digiaal.nl) (in Dutch). A quantitative Decision Support System on the control of potato cyst nematodes, NemaDecide, was developed and is used since 2005.

### **CHARACTERIZING DEFENSE MECHANISMS IN BANANA INDUCED BY THE ENDOPHYTIC FUSARIUM OXYSPORUM AGAINST THE BURROWING NEMATODE RADOPHOLUS SIMILIS.**

Schouten, Alexander <sup>1</sup>, Schäfer, Kerstin <sup>1</sup>, Sikora, Richard A. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Soil Ecosystem Phytopathology and Nematology, University of Bonn, Nussallee 9, 53115 Bonn, Germany.*

*Contact: [aschout@uni-bonn.de](mailto:aschout@uni-bonn.de)*

*Radopholus silimilis* is a burrowing nematode which can be devastating in banana plantations. Roots can be infested on such a scale that the complete root system rots away, causing the plant to topple over and subsequently leading to a complete loss of the banana bunch.

There are currently no means to control infestation by the nematode other than using nematicides that are notoriously environmentally unfriendly.

Recently, it was shown that certain non-pathogenic isolates of the endophytic fungus *Fusarium oxysporum* can systemically protect the banana plant against *R. similis* colonization (Vu *et al.*, 2006). Although it is assumed that the fungus initiates certain plant defense responses, there is at the moment no data on the exact mechanism. We therefore aim at characterizing the plant defense responses

using molecular approaches, when the banana is colonized by the nematode, the endophytic fungus or the combination of the two. The *in planta* accumulation of NPR1 and the PR protein coding transcripts can serve as a marker to determine whether induced systemic resistance (ISR) or systemic acquired resistance (SAR) are playing a key role in the defense mechanism. This knowledge serves as a first step in dissecting the defense mechanisms involved and can therefore support the development of strategies to further improve the control *R. similis* by means of endophytic fungi in banana.

## **MORPHOLOGIE UND FUNKTIONALITÄT VON PLECTUS ACUMINATUS MÄNNCHEN (NEMATODA)**

Seiml-Buchinger, René<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut für Biologie/Zoologie, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Straße 1-3, 14195 Berlin, Deutschland*

*Contact: rseimlbuchinger@yahoo.de*

Bei *Plectus* sind Männchen nur vereinzelt bekannt. Sie weisen eine geringe Abundanz im Freiland auf. Alle in Kultur genommenen Arten zeigen eine parthenogenetische Fortpflanzung, Männchen treten nie auf. In der Literatur finden sich auch keine Angaben, die auf eine Funktionalität der Männchen schließen lassen. Durch einen noch unbekanntem Faktor induziert, traten in einer Kultur von *Plectus acuminatus* Männchen auf, welche sich stabil in dieser Kultur halten. Diese Kultur wurde aus einem einzelnen Weibchen gezogen. Aus diesem Grund ist die morphologische Variabilität in den Kopulationsorganen bei den Männchen umso überraschender. Die Präanalorgane (tubuläre Strukturen) weisen eine große Variabilität in Form und Größe auf, aber auch ihre Anzahl ist sehr unterschiedlich. Es wurden Individuen mit keinen oder bis zu vier Präanalorganen gefunden, wobei die meisten zwei besaßen. Um eine Funktionalität der Männchen nachzuweisen, wurden Einkreuz- und Reproduktionsversuche durchgeführt. In diesen Experimenten wurden jungfräuliche adulte Weibchen zusammen mit Männchen kultiviert. In der F1-Generation konnten neue Männchen nachgewiesen werden. Bei nachfolgenden Untersuchungen waren 3,5-53,0% der adulten Individuen Männchen. In den Kontrollen ohne Männchen wurden auch in nachfolgenden Generationen keine Männchen gefunden. Es wurden einige Weibchen auf das Vorhandensein von Spermien untersucht. Es konnten, wenn auch nur in geringer Zahl, Spermien nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass es neben der parthenogenetischen Reproduktion auch unter bestimmten Bedingungen zu einer sexuellen Fortpflanzung kommt.

## MITTEILUNGEN

### Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

#### Arbeitskreis Nematologie - Tagung im März 2007

Der Arbeitskreis „Nematologie“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG) traf sich in 2007 erstmalig mit dem Arbeitskreis „Freilebende Nematoden“. Die Tagung fand vom 13. bis 14. März 2007 am Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie (Direktor: Prof. Dr. WILLMITZER) in Potsdam-Golm statt. Für die hervorragende Organisation vor Ort sei an dieser Stelle Frau Dr. Ute SCHÖNFELD, Landesamt für Verbraucherschutz, Landwirtschaft und Flurneuordnung (LV-LF), Pflanzenschutzdienst Brandenburg, ganz herzlich gedankt. Insgesamt nahmen über 80 Teilnehmer aus Deutschland, Niederlande, Österreich und der Schweiz teil. In 30 Vorträgen und 9 Postern wurden aktuelle Arbeiten zu nematologischen Fragestellungen vorgestellt. Die gute Beteiligung der Tagung erklärt sich einerseits aus der gemeinsamen Tagung zweier Arbeitskreise, zum anderen aus dem Themenschwerpunkt *Ditylenchus dipsaci* anlässlich dessen Erstbeschreibung vor 150 Jahren durch Julius KÜHN. Durch die gemeinsame Tagung zweier nematologischer Arbeitskreise wurden nematologische Arbeitsgebiete in ihrer ganzen Breite dargestellt, von der Evolution über die Ökologie bis hin zur Phytonematologie und Exotoxicogenomics. Die Idee einer gemeinsamen Tagung der beiden Arbeitskreise wurde von den Teilnehmern sehr positiv aufgenommen und soll in Zukunft wiederholt werden. Sämtliche Kurzfassungen der Arbeitskreistagung sind auf der Homepage der DPG ([www.phytomedizin.org](http://www.phytomedizin.org)) einzusehen. Bei den abschließend erfolgten Wahlen wurden Dr. Johannes HALLMANN und Dr. Peter KNUTH für weitere 4 Jahre als Arbeitskreisleiter des DPG-Arbeitskreises „Nematologie“ gewählt. Die nächste Tagung des Arbeitskreises „Nematologie“ findet auf Einladung von Prof. Dr. Florian GRUNDLER ([grundler@boku.ac.at](mailto:grundler@boku.ac.at)) am 14./15. Februar 2008 am Institut für Pflanzenschutz der Universität für Bodenkultur in Wien, Österreich, statt.

Für den AK Nematologie: Dr. Johannes HALLMANN (BBA, Münster), Dr. Peter KNUTH (LTZ Augustenberg);

für den AK „Freilebende Nematoden“: Dr. Klemens EKSCHEMITT (Universität Gießen)

#### Im Folgenden werden die deutschsprachigen Kurzfassungen wiedergegeben

#### Versuche zur Toleranz von Zuckerrübensorten gegen *Heterodera schachtii*

##### Pavel Lukashyk, Erwin Ladewig

Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ)/Abteilung Koordination, Holtenser Landstraße 77, 37079 Göttingen;  
E-Mail: [lukashyk@ifz-goettingen.de](mailto:lukashyk@ifz-goettingen.de)

Die Rübenzystemnematoden (*Heterodera schachtii* Schm.) sind aus ökonomischer Sicht die bedeutendsten Schädlinge der Zuckerrübe in Mitteleuropa. Sie können bei intensivem Rübenanbau bis zu 50 % Ertragsverluste verursachen. Die ackerbaulichen Möglichkeiten zur Reduktion der Nematodenpopulation bestehen in einer weiteren Stellung von Zuckerrüben in der Fruchtfolge, dem Anbau von resistenten Zwischenfrüchten oder resistenten Zuckerrübensorten. Für den Rübenanbauer ist neben der Nematoden reduzierenden Wirkung insbesondere die Ertragsleistung der Zuckerrübensorten unter Befallsbedingungen entscheidend. In mehrjährigen Feldversuchsreihen (Blockanlagen) konnte in der Vergangenheit wegen unsicherer

Schätzung der Sortenleistung keine Nematodentoleranz ermittelt werden. Die Ursachen dafür liegen in einer meist kleinräumig heterogenen Verteilung von *H. schachtii* im Feld sowie jahresbedingt unterschiedlich starken Schädlingsaktivitäten. Von 2001 bis 2005 wurde eine bundesweite Feldversuchsreihe zur Prüfung der Toleranz von Zuckerrübensorten gegen *H. schachtii* mit Beteiligung der BBA (Münster, Eldorf), des LfL (Freising), des PSA (Hannover) und des IfZ (Göttingen) etabliert und durch die regionalen Arbeitsgemeinschaften (ARGE) Bonn, Franken, Nord und dem IfZ nach einer standardisierten Versuchsmethodik durchgeführt. Ziel der Untersuchung war es, mit einem veränderten methodischen Ansatz zuverlässige Schätzwerte für die vermutete Nematodentoleranz von Zuckerrübensorten zu erhalten. Die wesentliche Veränderung gegenüber bisherigen Versuchsserien bestand im Anbau unterschiedlich resistenter Ölrettichsorten im Jahr vor dem Zuckerrübenanbau. Damit sollte eine Spreizung der Population von *H. schachtii* und damit eine größere Sicherheit von reproduzierbaren Ergebnissen erreicht werden. In einem Streifenversuch mit 6 bis 8 unechten Wiederholungen wurde dieses Vorhaben an insgesamt 13 Standorten vorgenommen. Die Ergebnisse der Untersuchung zeigten, dass 1) die Wirkung der Zwischenfrüchte auf die Nematodendichte sowie die Reaktion der Sorten auf die Stärke des Nematodenbefalls zwischen den Standorten und Jahren sehr unterschiedlich war, 2) eine ausreichende Differenzierung der Nematodenpopulation nur auf vier Standorten erreicht wurde; 3) alle geprüften Sorten bei höherem Nematodenbefall mit einer Ertragsabnahme reagieren; 4) eine vermutete Toleranz der Prüfsorte nicht nachweisbar war.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

#### Entwicklung der *Heterodera schachtii* Population und deren Einfluss auf den Ertrag unterschiedlich anfälliger Zuckerrübensorten.

##### -Zwischenauswertung-

##### Erwin Ladewig, Pavel Lukashyk

Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ)/Abteilung Koordination, Holtenser Landstraße 77, 37079 Göttingen;  
E-Mail: [ladewig@ifz-goettingen.de](mailto:ladewig@ifz-goettingen.de)

Im Rahmen eines Projektes zur Ermittlung der Toleranz von Zuckerrübensorten gegen *Heterodera schachtii* wurden von 2001 bis 2005 insgesamt 13 Feldversuche durchgeführt, in denen in hoher räumlicher Beprobungsdichte die Ausgangspopulation von *Heterodera schachtii* nach Aussaat ( $P_i$ ) und die Endpopulation zur Ernte der Zuckerrüben ( $P_f$ ) ermittelt wurden. Die Methodik der Versuchsdurchführung wurde in der Kurzfassung von LUKASHYK und LADEWIG bereits beschrieben. Die bisherigen Ergebnisse der Versuchsserie zeigten, dass 1) die Entwicklung der *H. schachtii* Population sehr stark jahres- und standortabhängig war, 2) die Reduktion der Nematodenpopulation mit resistentem Ölrettich und resistenter Zuckerrübensorte ähnlich hoch war, 3) eine Differenzierung der Vermehrungsrate bei anfälliger und resistenter Zuckerrübensorte bei unterschiedlich starkem Nematodenbefall möglich war, 4) die resistente Zuckerrübensorte bei Nematodendichten ( $P_i$ ) bis ca. 500 E+L auch zu einer Erhöhung der Populationsdichte von *H. schachtii* beitragen kann, 5) an den Einzelorten häufig kein deutlicher Zusammenhang zwischen der Höhe des  $P_i$ -Wertes und der Höhe des Rübenanbaues bestand und 6) im Mittel über alle Standorte bereits bei relativ niedrigen  $P_i$ -Werten eine signifikante Verringerung des Rübenanbaues auftrat.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

## Bedeutung der Nematodenprüfung bei der Zulassung von Zwischenfrüchten und Zuckerrüben

**Richard Manthey**

Bundessortenamt, Osterfelddamm 80, 30627 Hannover;  
E-Mail: richard.manthey@bundessortenamt.de

Das Bundessortenamt ist als Bundesoberbehörde für die Erteilung des Sortenschutzes und der Sortenzulassung zuständig. Landwirtschaftliche Sorten von Arten, die im Artenverzeichnis des Saatgutverkehrsgesetzes stehen, können zugelassen werden, wenn Sie - unter anderem - die Voraussetzung des landeskulturellen Wertes erfüllen. Die Werteigenschaften werden in Wertprüfungen, die vom Bundessortenamt bei geeigneten Stellen in Auftrag gegeben werden, festgestellt. Bei der Bestimmung der Resistenz / Toleranz gegen den Rüben- nematoden *Heterodera schachtii* ist das insbesondere die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) in Münster, aber auch Ansteller von Feldversuchen (z. B. Universitäten, Arbeitsgemeinschaften, Rübenbauerverbände etc.). Die Ergebnisse dieser Prüfungen dienen einerseits der Beschreibung der Werteigenschaften der Sorten, andererseits aber auch der Klassifizierung und Vergleichbarkeit im Sortenzulassungsverfahren. So müssen nematodenresistente Zwischenfrucht- und Zuckerrübensorten einen deutlichen Fortschritt nur gegenüber den nematodenresistenten zugelassenen Sorten erwarten lassen, nicht aber gegenüber den restlichen Sorten. Auch stehen z. B. den nematodenresistenten Zuckerrübensorten keine nematodentoleranten Sorten entgegen, da der jeweilige Einsatzzweck in der landwirtschaftlichen Praxis ein anderer ist. Da die Entscheidungen des Bundessortenamtes einer möglichen Überprüfung durch Verwaltungsgerichte standhalten müssen, werden an die Prüfmethode und die Prüfungsdurchführung besonders hohe Anforderungen gestellt. Es wird die Entwicklung solcher Prüfungssysteme anhand von aktuellen Beispielen aufgezeigt.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

## Strategie zur biologischen Bekämpfung des Rübenzystennematoden *Heterodera schachtii* mit resistentem Ölrettich oder Senf

**Christian Heinrichs**

Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Pflanzenschutzdienst,  
Siebengebirgsstraße 200, 53229 Bonn;  
E-Mail: christian.heinrichs@lwk.nrw.de

Die für die Nematodenvermehrung besonders günstige Witterung im rheinischen Anbaugebiet sowie die langjährige Rübenfruchtfolge in den Betrieben spielen die entscheidende Rolle bei der kontinuierlichen Zunahme der Nematodenbelastung. Dank der biologischen Nematodenbekämpfung mit resistentem Ölrettich oder Senf kann jedoch jeder betroffene Landwirt den Zuckerrübenanbau seiner Anbauflächen absichern. Speziell im Zwischenfruchtanbau wird hiervon in der Praxis reger Gebrauch gemacht. Leider entsprachen die Entseuchungsraten, die dabei erzielt wurden, oft nicht den Erwartungen und Leistungen, die auf Grund der Genetik möglich sind. Besonders die Leistungen von hoch resistenten Sorten (Resistenzstufe 1) konnten nicht abgerufen werden. In Bekämpfungsversuchen des Pflanzenschutzdienstes der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen wurde das Anbauverfahren von resistenten Ölrettichen und Senfen im Zwischenfruchtanbau aufgegriffen. Dabei wurden die Bodenbearbeitung zur Zwischenfrucht, die Nährstoffversorgung der Zwischenfrucht, Zwischenfruchtart und- Sorte, die Saatstärke, der Saatzeitpunkt und die nachfolgende Aufwuchsbehandlung mit Bodenbearbeitung zur Folgekultur einzeln betrachtet und optimiert. Gestützt auf diese langjährigen Versu-

che (1996 bis 2006) hat der Praktiker jetzt die Möglichkeit seinen Zwischenfruchtanbau und damit die Nematodenbekämpfung zu optimieren. Da in den Versuchen nicht nur der Zwischenfruchtanbau betrachtet wurde, sondern auch der nachfolgende Zuckerrübenanbau, konnte auch die hohe Wirtschaftlichkeit der Nematodenbekämpfung deutlich untermauert werden.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

## Biofumigation: Eine Mögliche Bekämpfungsstrategie gegen *Ditylenchus dipsaci* und *Heterodera schachtii* im Zuckerrübenanbau

**Matthias Daub<sup>1</sup>, Heinz Leipertz<sup>2</sup>, Joseph Schlang<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Nematologie und Wirbeltierkunde, Aussenstelle Elsdorf, Dürener Str. 71, 50189 Elsdorf;

E-Mail: bba-elsdorf@t-online.de

<sup>2</sup> Zuckerfabrik Jülich AG, Dürener Str. 20, 52428 Jülich

Der Stängel- nematode *Ditylenchus dipsaci* ist zu einem bedeutenden Schädling im Zuckerrübenanbau geworden. Die Bekämpfung von *Ditylenchus dipsaci* unter Praxisbedingungen bereitet große Probleme. Eine Reduktion der Population unter die extrem niedrige Schadschwelle von nur wenigen Tieren ist in vielen Fällen kaum durchführbar. An der Außenstelle der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) in Elsdorf wird seit 2005 an der Entwicklung von Verfahren der Biofumigation zur Bekämpfung von *Ditylenchus dipsaci* und *Heterodera schachtii* im Zuckerrübenanbau geforscht. In Kooperation mit der Zuckerfabrik Jülich AG wurde 2005/2006 ein Streifenversuch auf einem Befallsstandort im Rheinland angelegt. Neben zwei verschiedenen Ölrettich - Sareptasengemischen ('Terraplect') kam die *H. schachtii*-resistente Ölrettichsorte 'Terranova' und die *H. schachtii*-resistente Ölrettichsorte 'Final' zum Einsatz. Der Einfluss der Varianten auf die Populationen beider Nematodenarten wurde direkt nach der Biofumigation und im Folgejahr zusammen mit den ertragsbildenden Faktoren der angebauten Zuckerrüben bestimmt. Die durch *D. dipsaci* verursachte Rübenkopffäule wurde nach standardisierten Boniturschlüsseln im Feld und bei der Verarbeitung in der Zuckerfabrik erfasst. Probleme bei der für das Verfahren wichtigen Oberflächenversiegelung beeinflussten die Ergebnisse dieses Versuchs. Dennoch lieferte der Versuch aber wertvolle Erfahrungen, die in die Durchführung einer zweiten modifizierten Biofumigation in 2006 einfließen. Die Ergebnisse und zu lösende Auswertungsprobleme im Umgang dieser Technik werden vorgestellt.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

## Variation zwischen Zuckerrübensorten und -stämmen auf Befall mit *Ditylenchus dipsaci*

**Heinz Leipertz**

Landwirtschaftlicher Informationsdienst Zuckerrübe, Dürener Str. 20, 52428 Jülich;

E-Mail: hleipertz@zucker-juelich.com

In den letzten Jahren hat sich der Rübenkopfnematode (*Ditylenchus dipsaci*) in der Schweiz, Frankreich, den Niederlanden und Deutschland zu einem regional ernsthaften Problem im Zuckerrübenanbau entwickelt. Resistenz- oder Toleranzgene sind im Zuckerrüben genom derzeit nicht bekannt. In umfangreichen Sortenscreenings (2004 bis 2006) konnten jedoch unterschiedliche Schadsymptomausprägungen unter Feldbedingungen nachgewiesen werden (LfP Stuttgart, Arge Franken, SFZ Aarberg, LIZ Euskirchen, LIZ Jülich). Hierzu wurde die Kopfschnittflächenmethode entwickelt. Auf befall-

lenen Praxisflächen (verschiedene Regionen und Umwelten) werden Zuckerrüben genetiken und Prüfstämme im Vergleich zu einer bekanntermaßen anfälligen und einer unempfindlichen Indikatortypen angebaut. Zur Erntezeit werden alle Rüben im Horizont der stärksten Fäulnisausprägung geköpft und der Prozentsatz fauler Köpfschnittfläche jeder Einzelpflanze festgehalten. Natürlich vorhandene Befallsgradienten auf der Versuchsfläche werden über die wiederkehrend mitlaufenden Indikatortypen erfasst, so dass räumlich unterschiedliche Befallsstärken rechnerisch ausgeglichen werden. Das bisher geprüfte Marktsegment an Zuckerrübensorten und -stämmen differiert bei einer standardisierten Köpfschnittflächenfäule von 65 % an der anfälligen Indikatortypen zwischen 10 und 80 % in den Prüfsorten. Eine Rangfolge der Symptomausprägung wird vorgestellt. Die unterschiedlich starke Fäulnisreaktion der Prüfsorten kann genetische (Toleranzen gegen *Rhizoctonia* bzw. Sekundärschädlinge, allgemeine Fitness) oder morphologische (Epidermisstärke, Fleischfestigkeit, Scheitelhöhe usw.) Ursachen haben. Zusammenhänge sind erkennbar, können aber nicht abschließend beantwortet werden. Die sehr deutlichen und hoffnungsvollen Sortenunterschiede im Praxisanbau unter natürlichen Befallsbedingungen, konnten ebenfalls nach gelungener *in vitro*-Vermehrung und künstlicher Inokulation von *D. dipsaci* an Zuckerrüben im Gewächshaus und in Klimakammerversuchen vom Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn anhand von Penetrations- und Vermehrungsraten sowie Frühsymptombonituren reproduziert werden. Der Anbau von unempfindlichen Zuckerrübensorten kann zwar die Schadsymptome reduzieren, führt aber aufgrund fehlender Resistenzen nicht zu einer Bekämpfung bzw. Verringerung des Schaderregerpotentials im Boden. Die Zuckerrübenzüchter stehen somit vor einer neuen Herausforderung, da wahrscheinlich das größte Potential einer erfolgreichen Bekämpfungsstrategie im züchterischen Bereich zu erwarten ist.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

### Die Phylogenie von *Caenorhabditis*

#### Walter Sudhaus

Freie Universität Berlin, Institut für Biologie/Zoologie, AG Evolutionsbiologie, Königin-Luise-Str.1-3, 14195 Berlin;  
E-Mail: sudhaus@zedat.fu-berlin.de

Von den 23 *Caenorhabditis*-Arten sind 6 schlecht beschrieben und nie wiedergefunden worden und 4 zur Zeit noch unbeschrieben, wenngleich durch Untersuchungen im Labor bereits recht gut charakterisiert. Das Stammmartmuster von *Caenorhabditis* wird rekonstruiert. Morphologische Argumente zur Begründung der Schwestergruppenbeziehung zum *Protorhabditis*-Cladus werden gesucht und bemerkenswerte Parallellismen innerhalb beider Taxa aufgezeigt. Ebenfalls mittels Strukturdaten wird ein Cladogramm für *Caenorhabditis* auf Artniveau vorgelegt, mit Ausschluss der *Elegans*-Gruppe, die aus mehreren kryptischen Arten besteht. Das Verzweigungsmuster stimmt sehr gut mit jenem aufgrund von Sequenzdaten überein, die allerdings nur für die Hälfte der Arten verfügbar sind. Es ergibt sich eine Transformationsserie von Strukturen in der Ahnenlinie zu *C. elegans*, die insbesondere Schritte der Umbildung der Präkloakallippe in den „hook“ und die Reihenfolge der Entstehung der geschlossenen Bursa mit gesägtem Rand und terminaler Kerbe darstellt. Ferner folgt, dass Hermaphroditismus innerhalb *Caenorhabditis* dreimal unabhängig entstand (*C. briggsae*, *C. elegans*, *C. perrieri*). Soweit möglich werden die ökologischen Nischen der Arten charakterisiert und ihre manchmal sehr speziellen Assoziationen zu anderen Organismen (verschiedene Insekten, Asseln, Schnecken) aufgezeigt. Nach bisherigem Wissen vollzog sich ein wesentlicher Abschnitt der Radiation in Os-

tasien und bei manchen Arten wohl anthropogen bedingt eine fast weltweite Ausbreitung.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

### Ecotoxicogenomics - Aktivität des Genoms als Antwort auf Fremd- und Naturstoffe am Beispiel des Nematoden *Caenorhabditis elegans*

#### Ralph Menzel, Christian E.W. Steinberg

Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Biologie - Gewässer- und Stressökologie, Späthstraße 80/81, 12437 Berlin;  
E-Mail: ralph.menzel@biologie.hu-berlin.de

Die enorm raschen Fortschritte in der Molekularbiologie innerhalb der letzten Jahre haben zu einem erheblichen Erkenntnisgewinn auf dem Gebiet der Struktur und Funktion von Genen in einfachen bis hin zu komplexen biologischen Systemen geführt. Die Erfassung der durch Fremd- bzw. Naturstoffe induzierten Expression spezifischer Gene eines Organismus trägt dabei ein beträchtliches Potenzial für die Entwicklung qualitativ neuartiger Testsysteme. So ist mittlerweile ein ganz neuer Zweig der Ökotoxikologie entstanden. „Ecotoxicogenomics“ steht für die Beziehung zwischen der Aktivität des Genoms (Transkription und Translation) und adversen Effekten, ausgelöst durch Umwelttoxine. Neuartig ist, dass die zur Anwendung kommenden Methoden globale Techniken darstellen, mit deren Hilfe mehrere Tausende von Genen gleichzeitig erfasst und damit die Veränderung von komplexen Expressionsmustern unter Einwirkung von exogen zugeführten Substanzen beobachtet werden können. Die Analyse der betroffenen Gene erlaubt dann die Identifizierung von funktionellen Clustern und bietet die Möglichkeit, neue Kenntnisse über Gen-Gen Interaktionen zu erlangen. Die konkreten Anwendungsziele dieser neuen Technik stellen sich zurzeit wie folgt dar: (i) Aufdeckung von Wirkmechanismen, (ii) Vorhersage toxischer Eigenschaften basierend auf typischen „Toxizitätsmustern“, (iii) Datenbasierte Präzisierung der Konzentrations-Wirkungsbeziehung im Niedrigdosisbereich. Mit dem Nematoden *Caenorhabditis elegans* wurde ein für ökologische und ökotoxikologische Fragestellungen bereits bewährter Testorganismus eingesetzt. Für die Untersuchungen wurden drei verschiedene Szenarien gewählt, ein Modelxenobiotikum (PCB52) in vergleichsweise hoher Konzentration, ein naturbürtiger Huminstoff im umweltrelevanten Konzentrationsbereich, und drei Flusssedimentproben aus Donau, Rhein und Elbe. In der jeweils ersten Projektphase wurde mit gesamtgenomischen DNA Microarrays ein globales Genexpressionsmuster erstellt und signifikant hoch- bzw. runterregulierte Gene ( $p < 0,05$ ;  $n=5$ ) sowohl identifiziert als auch funktionellen Clustern zugeordnet. Die Erstellung solcher „Fingerprints“ kann dann auf einen bestimmten Weg der toxischen Reaktion hinweisen, dies wird am Beispiel der umweltbürtigen Proben aufgezeigt. So konnte eindeutig eine erhöhte Nachweisempfindlichkeit ihres toxischen Potentials im Vergleich zu klassischen ökotoxikologischen Tests erreicht werden. Bei weitem nicht in jedem Fall impliziert jedoch eine Änderung der Genexpression auch eine Schädigung des Organismus. Welche Gene sind es also, deren fehlende bzw. verstärkte Expression wirklich zu einer Beeinträchtigung des belasteten Organismus führen und somit möglicherweise auch als Biomarker tauglich sind? Zur Validierung dieser funktionellen Relevanz wurden in der zweiten Phase selektierte Gene systematisch mittels RNA Interferenz (RNAi) abgeschaltet und geprüft, ob dies zu einem Funktionsverlust (Reproduktionsfähigkeit) in Anwesenheit der zu untersuchenden Substanz führt. Es werden die Ergebnisse für mehrere Enzymgruppen vorgestellt, so Cytochrome P450 und Kurzketten-Dehydrogenasen. In der dritten Projektphase wird dann die Regulation einzelner Gene und deren Funktionalität detailliert untersucht.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

## Verlängerung der Lebensdauer durch das Polyphenol Quercetin im Nematoden *Caenorhabditis elegans*

Kerstin Pietsch, Nadine Saul, Ralph Menzel, Christian E.W. Steinberg

Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Biologie - Gewässer- und Stressökologie, Späthstraße 80/81, 12437 Berlin;  
E-Mail: ralph.menzel@biologie.hu-berlin.de

Der Nematode *Caenorhabditis elegans* ist ein etabliertes Modell für biogerontologische Analysen und zur Untersuchung von Hormesis-Effekten. Diese sind unter anderem durch die Verlängerung des Lebens unter milden Stress-Bedingungen ohne negative Beeinflussung anderer Lebensparameter charakterisiert. Bei den hier vorgestellten Untersuchungen wurde mit dem *C. elegans* - Wildtypstamm N2 und verschiedenen Phytoalexinen gearbeitet. Erste Erfolge zeigte dabei das Polyphenol Quercetin. Dieser gelbe Naturfarbstoff kommt unter anderen in den Schalen von Trauben und Äpfeln vor und zählt zu den Flavonolen. Bislang war insbesondere sein hohes antioxidatives Potential von Interesse, wodurch der Stoff entzündungshemmende und anti-karzinogene Eigenschaften zeigt. Durch Lebensdauer- und Thermotoleranztests konnte nachgewiesen werden, dass Nematoden, die auf Quercetin-haltigem Medium wuchsen, eine signifikant längere Lebensdauer und eine erhöhte Toleranz gegenüber thermalem Stress aufwiesen. Die Reproduktion wurde dabei nicht eingeschränkt, auch das Längenwachstum veränderte sich nicht. Zurzeit wird nach differentiell exprimierten Genen mittels DNA-Array und RT-PCR gesucht. Diese Ergebnisse sind konsistent mit der experimentell noch wenig belegten Xenohormesis-Hypothese, die davon ausgeht, dass von Pflanzen unter Stress-Bedingungen gebildete Substanzen bei anderen Lebewesen als Warnsignal für drohenden Stress wahrgenommen werden. Der „Signalempfänger“ reagiert daraufhin mit der prophylaktischen Aktivierung von Sirtuinen (NAD<sup>+</sup>-abhängige Histon Deacetylasen). Sirtuine spielen eine entscheidende Rolle bei dem Effekt der „Caloric Restriction“ (CR), die die Lebensspanne durch verminderte Nahrungsaufnahme (was als leichter Stress angesehen werden kann) in fast allen Spezies signifikant verlängert. Es wurde postuliert, dass Sirtuin-aktivierende Substanzen (STAC) zu einer Lebensverlängerung führen, da sie den Effekt der Caloric Restriction nachahmen. Quercetin wird von Pflanzen verstärkt bei Stress (wie Wassermangel oder Infektionen) gebildet, und es konnte bereits eine Sirtuin-aktivierende Eigenschaft nachgewiesen werden. Erste Anhaltspunkte der Genexpressionsexperimente zeigten eine Induktion von Sirtuin kodierenden Genen in Quercetin behandelten Tieren, so dass die beobachtete Lebensverlängerung durchaus als Xenohormesis interpretiert werden kann.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

## Unbekannte Strukturen unbekannter Entstehung und Funktion bei einem unbekanntem Tylenchiden

Dieter Sturhan

Arnhthstr. 13 D, 48159 Münster; E-Mail: SturhanDH@web.de

Aus Bodenproben vom regelmäßig überfluteten, oligohalinen Uferbereich der Unterelbe wurde eine noch unbeschriebene Belonolaimiden-Art isoliert, die sich keiner bekannten Tylenchiden-Gattung sicher zuordnen lässt. Im hinteren Oesophagusbereich kommen bei Weibchen, Männchen und juvenilen Tieren dieser Nematodenart in den Hypodermalleisten auf beiden Körperseiten stark lichtbrechende spindelförmige bis unregelmäßig kugelig ausgebildete Körper von wenigen Mikrometern Länge vor. Vergleichbare Strukturen scheinen bei Nematoden bisher unbekannt zu sein, insbesondere bei Tylenchida und Rhabditida. Über Anhäufungen

kristalloider Einschlüsse wurde dagegen mehrfach bei limnischen Vertretern der Adenophorea berichtet. Die kristalloiden Körper sind als Teil eines Detoxifikationssystems für bestimmte Schadstoffe zu deuten. Bei verwandten Nematoden am Fundort an der Unterelbe (*Tylenchorhynchus*, *Hirschmanniella*, *Meloidogyne*) wurden keine kristalloiden Einschlüsse festgestellt.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

## Symplastische und apoplastische Beladung unterschiedlicher Nematoden-induzierter Fütterungsstrukturen

Ulrich Hammes, Norbert Sauer, Stefan Hoth

Molekulare Pflanzenphysiologie, Universität Erlangen-Nürnberg, Staudtstrasse 5, 91058 Erlangen;  
E-Mail: uhammes@biologie.uni-erlangen.de

Pflanzenparasitische Nematoden beziehen Nährstoffe von ihrem Wirt aus hochspezialisierten zellulären Strukturen. Bei den Zysten-Nematoden entstehen die Fütterungsstrukturen durch Verschmelzung benachbarter Zellen, bei den Gall-Nematoden durch Differenzierung vorhandener Zellen in sogenannte Riesenzellen. Obwohl diese Strukturen unterschiedlich entstehen, sind sie funktional homolog. Interessanterweise erfolgt die Beladung der Fütterungsstrukturen mit Nährstoffen auf unterschiedliche Weise. Während durch Wurzelgallennematoden (*Meloidogyne*) induzierte Riesenzellen apoplastisch, durch Transportprozesse, beladen werden, erfolgt die Beladung von Syncytien, die durch Zysten-Nematoden induziert wurden symplastisch, über Plasmodesmata.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

## Untersuchungen zum Auftreten von *Bursaphelenchus*-Arten in geschädigten Eichen in Brandenburg

Helen Braasch<sup>1</sup>, Katrin Möller<sup>2</sup>, Matthias Wenk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kantstraße 5, 14471 Potsdam;  
E-Mail: h.braasch@t-online.de

<sup>2</sup> Landesforstanstalt Eberswalde, Alfred-Möller-Str. 1, 16225 Eberswalde

Der Anteil der Eichen- und Eichenmischwälder an der Waldfläche Brandenburgs beträgt 4,4 %. Damit sind Eichen nach der Kiefer die zweithäufigsten Baumarten. Nach dem Jahrhundertsommer 2003 zeigten im Jahr 2004 48 % der Eichen deutliche Schäden. Die Vitalität der Eichen hat sich seitdem nur geringfügig verbessert. Veranlasst durch die Feststellung des durch den Eichensplintkäfer (*Scolytus intricatus*) übertragenen *Bursaphelenchus eremus* in Brandenburg und den Parallelen in deren Biologie zu den Nematode-Vektorbeziehungen beim Kiefernholznematoden (*B. xylophilus*) wurden im Herbst 2006 Holzspäneproben von entrindeten Stammquerschnitten und Insektenbefallsstellen von 21 im gleichen Jahr abgestorbenen, 50 bis 490 Jahre alten Stieleichen (*Quercus robur*) aus verschiedenen Gebieten Brandenburgs auf das Vorkommen holzbewohnender Nematoden untersucht. Die Stämme waren von Prachtkäfern (*Agrilus biguttatus*, *Chrysobothris spec.*), *S. intricatus* und von Bockkäfern (*Plagionotus spec.*, *Clytus spec.*) befallen. Alle Eichen bis auf einen 219 Jahre alten Baum enthielten Nematoden. In abnehmender Häufigkeit wurden *B. eremus* (in 9 Stämmen), *B. fraudulentus* (in 6 Stämmen) und *B. willibaldi* (in 2 Stämmen) gefunden. Ein 108 Jahre alter Baum enthielt alle 3 Arten. *B. eremus* ist in Brandenburg weit verbreitet und im Herbst im Holz nachweisbar, zum Teil als widerstandsfähige Dauerformen. Die Dichte seines Auftretens in den Holz-sägeproben (5-200 Tiere/100 g Späne) gibt keinen Anlass



zur Annahme einer massiven Schädigung. An den Insektenbefallsstellen wurden dagegen bis 300 *B. eremus* in 1 g Geschässel festgestellt. *B. fraudulentus* und *B. willibaldi* traten nur geringfügig (4-40 Tiere/100 g Späne und 1 g Geschässel) in den Proben auf. Der Fund von *B. willibaldi* stellt das aus dem Vorkommen in Hackschnitzeln von Sägewerken geschlussfolgerte Auftreten in Koniferen infrage.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

### Assoziationen von *Paenibacillus* spp. mit entomopathogenen Nematoden

Dieter Sturhan

Arnehtstr. 13 D, 48159 Münster;  
E-Mail: SturhanDH@web.de

Endosporen bildende Bakterien der erst 1993 benannten Gattung *Paenibacillus* wurden bisher bei *Heterorhabditis*-Populationen aus Estland, Indien und den USA (Georgia, Florida) sowie bei *Steinernema diaprepesi* und *S. glaseri* in Florida nachgewiesen. Die der Nematodencuticula der Infektionsjuvenilen anhaftenden Sporangien sind bei den *Heterorhabditiden* schlank-spindelförmig ausgebildet; sie haben bei den *Steinernemen* eine ovale Form. Das mit *Heterorhabditis medidis* vergesellschaftete Bakterium wurde 2003 als *Paenibacillus nematophilus* beschrieben; weitere Arten scheinen bei entomopathogenen Nematoden vorzukommen. Die Nematoden dienen als Vektoren der Bakterien; sie werden selbst nicht parasitiert. *Paenibacillus* vermehrt sich (wie die symbiotischen Bakterien der entomopathogenen Nematoden) in den Wirtsinsekten der Nematoden. Bei eigenen Untersuchungen wurden *Paenibacillus*-ähnliche Sporangien bei *Steinernema*-Populationen der *carpocapsae*-Gruppe in Kamerun, der *affine*-Gruppe in Vietnam, bei *S. feltiae* in Deutschland und bei Vertretern der *glaseri*-Gruppe in Südafrika und Neuseeland nachgewiesen. Bei einer der fünf in Neuseeland gefundenen *S. „glaseri“*-Populationen waren die Sporangien spindelförmig, bei allen übrigen *Steinernema*-Populationen oval. *Paenibacillus*-ähnliche ovale Sporangien von etwa 3-4 µm Länge wurden auch bei freilebenden Cephalobiden in Kamerun, spindelförmige 8-9 µm lange Sporangien bei pflanzenparasitären Nematoden der Gattung *Hirschmanniella* in Süddeutschland festgestellt.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

### Zum Beitrag von Nutzgräsern zur Bodenverseuchung durch Getreidezystenematoden

Eberhard Große

Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft, Stahnsdorfer Damm 81, 14532 Kleinmachnow;  
E-Mail: e.grosse@bba.de

Feldgrasanbau zur Futternutzung ist in der landwirtschaftlichen Praxis weit verbreitet. Von besonderer Bedeutung sind dabei verschiedene Weidelgrasarten mit einer Vielzahl zugelassener Sorten. Es ist zu vermuten, dass verschiedene Gräser mehr oder weniger gute Wirtspflanzen für Getreidezystenematoden sind. So stellten wir mehr zufällig auf einem 10 ha großen Praxisschlag eine sehr hohe Verseuchung durch *Heterodera avenae* nach mehrjährigem Anbau von Deutschem Weidelgras fest. Dies und auch Überlegungen zur Nutzung von Sudangras und Zuckerhirse als nachwachsende Rohstoffe veranlassten uns, einige Nutzgräser auf deren Vermehrungspotential gegenüber Getreidezystenematoden zu prüfen. Von jeder geprüften Gräserart konnte jeweils nur eine Sorte in die Untersuchungen einbezogen werden. Dabei zeigte sich, dass bei keiner der geprüften Grassorten eine ähnlich hohe Zystenvermehrung wie bei der Kontrolle mit einer anfälligen

Hafersorte nachzuweisen war. Im Falle der geprüften Sorten von Welschem Weidelgras, Knaulgras, Wiesenschweidel und vom Rohrglanzgras konnte jedoch eine beachtliche Zystenbildung von *H. avenae* festgestellt werden. *Heterodera filipjevi* wurde von den geprüften Sorten vom Rohrglanzgras, Deutschen Weidelgras und vom Wiesenschweidel in bemerkenswertem Umfang vermehrt. Da Feldgras zumeist mehrjährig auf einer Fläche angebaut wird, ist davon auszugehen, dass das Nematodenvermehrungspotential höher ist als die Zystenbildung im Biotest vermuten lässt. An den getesteten Sudangras und der Zuckerhirse konnten keine Zysten von Nematoden festgestellt werden.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

### Bekämpfungsstrategien für *Meloidogyne hapla* im ökologischen Anbau von Möhren und Zwiebeln

Johannes Hallmann<sup>1</sup>, Florian Rau<sup>2</sup>, Markus Puffert<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Nematologie und Wirbeltierkunde, Toppheideweg 88, 48161 Münster;

E-Mail: j.hallmann@bba.de

<sup>2</sup> Ökoring Niedersachsen, Bahnhofstr. 15, 27374 Visselhövede

<sup>3</sup> Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Gartenbauzentrum Münster-Wolbeck, Münsterstr. 62-68, 48167 Münster

Wurzelgallennematoden der Art *Meloidogyne hapla* verursachen zunehmend hohe Ertragsausfälle im ökologischen Gemüsebau. Innerhalb eines vom Bundesprogramm Ökologischer Landbau geförderten Forschungsvorhabens sollten Bekämpfungsstrategien für *M. hapla* an besonders geschädigten Kulturen wie Möhren und Zwiebeln entwickelt werden. Die kritische Besatzdichte für den Anbau von Möhren lag im Untersuchungsgebiet bei 20-50 Larven/100 ml Boden. Eine gute Reduzierung (90-95 %) hoher Besatzdichten mit *M. hapla* war durch eine 4-5monatigen Schwarzbrache während der Hauptvegetationsperiode möglich. Die negativen Auswirkungen der Schwarzbrache (z. B. Nährstoffverluste, Humusabbau, Bodenerosion) sind durch begleitende Maßnahmen abzufedern, z. B.: (1) vor der Schwarzbrache Anbau einer überwinterten Leguminose und deren zeitiger Umbruch im Frühjahr bevor sich *M. hapla* vermehrt hat bzw. nach Schwarzbrache eventuell schon (2) im Spätsommer Ölrettich als Fangpflanze und dann (3) im Herbst Aussaat von Grünrognen zur Nährstoffkonservierung und Bodenbedeckung. Um den Aufbau schädigender Besatzdichten von *M. hapla* zu verhindern, sollten folgende Maßnahmen früher bzw. intensiver eingesetzt werden: Anbau von Nichtwirtspflanzen (z. B. Getreide, Tagetes), Anbau von Fangpflanzen (z. B. Ölrettich), konsequente Unkrautregulierung, kurzfristige (ca. 2 bis 3 Monate) Brachen zwischen den Kulturen und Verzicht auf den Anbau von Klee vor anfälligen Gemüsekulturen.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

### Ist der Befallsverlauf von *Ditylenchus dipsaci* in Zuckerrüben durch die Sortenwahl beeinflussbar?

Peter Knuth

Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg (LTZ), Außenstelle Stuttgart, Reinsburgstraße 107, 70197 Stuttgart;  
E-Mail: peter.knuth@ltz.bwl.de

Im Jahr 2006 wurde in Frankenbach (Landkreis Heilbronn, Baden-Württemberg) auf einem extrem stark von Rübenkopfnematoden (*Ditylenchus dipsaci*) verseuchten Feld ein Zuckerrübensortenversuch mit sieben *Rhizoctonia*-toleranten (Premiere, Fabiola, Syncro, Nauta, Calida, Prestige und Xenia) und drei anfälligen Rübensorten (Dorena, Paulina und Simenia) angelegt. Die durchschnittliche Verseuchungsdichte lag im Früh-

jahr vor der Rübensaat bei 152 Larven in 100 g Boden. Mehrjährige Sortenversuche belegen, dass es innerhalb des Sortenspektrums von Zuckerrüben große Unterschiede in der Ausprägung der in der Regel erst zum Erntezeitpunkt sichtbaren Rübenkopffäule gibt. Die Ursachen, warum es zu diesen Unterschieden kommt, sind noch unbekannt. Um festzustellen, ob die zum späteren Erntezeitpunkt deutlichen Befallsunterschiede schon am Frühjahrsbefall zu beobachten sind, wurden die 10 Rübensorten während der Vegetationsperiode zweimal auf *D. dipsaci* untersucht. Die typischen Befallssymptome an jungen Rübenpflanzen, verdrehte und verkümmerte Blätter, zeigten sich im 6-8 Blattstadium ca. 6 Wochen nach der Saat. Zu diesem frühen Zeitpunkt waren alle Rübensorten stark befallen (1100 bis 1800 *D. dipsaci* in 30 g Rübenfrischgewicht). Sortenunterschiede konnten nicht festgestellt werden. Ende Juni, zum zweiten Untersuchungstermin, war bei den Rübenkopffäule anfälligen Sorten (v. a. Dorena) eine beginnende Fäule bereits deutlich zu erkennen. Aber auch aus den symptomfreien Rübensorten konnten noch sehr viele *D. dipsaci* isoliert werden. Die Sorte Syncro hatte zur Erntezeit in allen bisherigen Versuchen immer die geringste Kopffäule gezeigt, dennoch konnten im Juni ca. 1200 *D. dipsaci* in 30 g Pflanzenmaterial nachgewiesen werden. Während den Sommermonaten ist *D. dipsaci*-Befall an den Rübenkörpern oftmals anhand von weißen Pusteln im Bereich der Bodenoberfläche gut zu erkennen. Am auffälligsten war diese Pustelbildung an der Sorte Syncro zu beobachten! Die Rübenkopffäulebonitur zum Erntezeitpunkt bestätigte im wesentlichen die bisherigen Untersuchungen. Die drei *Rhizoctonia*-toleranten Rübensorten Syncro, Prestige und Premiere können selbst bei extrem hoher Ausgangsverseuchung als für Rübenkopffäule gering anfällig eingestuft werden. Da aber auch diese Sorten befallen werden, muss bei deren Anbau mit einer Vermehrung der Nematoden gerechnet werden. Ein genereller Zusammenhang zwischen *Rhizoctonia*-toleranz und der Anfälligkeit für Rübenkopffäule besteht nicht.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

leranten Sorten zu Pf/Pi-Werten von 1,5-3,5. In der gleichen Versuchsreihe vermehrten die Normalsorten den Befall mit dem Faktor 5-10. Bezieht man den Nematodenabbau innerhalb einer Fruchtfolge mit in die Betrachtung ein, wird in vielen Fällen sogar eine Befallsreduzierung auf der Anbaufläche erreicht.

(DPG AK Nematologie und AK Freilebende Nematoden)

### **Leistung nematodentoleranter Zuckerrübensorten. Auswertung von Anbauversuchen im Rheinland aus den Jahren 2004 - 2006**

**Christian Heinrichs**

Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Pflanzenschutzdienst,  
Siebengebirgsstraße 200, 53229 Bonn;  
E-Mail: christian.heinrichs@lwk.nrw.de

Auf vielen Standorten mit langjährigem und intensivem Zuckerrübenanbau hat sich ein latenter Nematodenbefall eingestellt. So kann bereits durch eine geringe Befallsdichte - besonders in Verbindung mit verspäteten Saatterminen oder ungünstigem Witterungsverlauf - die Ertragsbildung stärker beeinträchtigt werden als gemeinhin angenommen wird. In wie weit die neuen nematodentoleranten Rübensorten eine Alternative gegenüber dem Anbau von resistenten Zwischenfrüchten oder Zuckerrübensorten sind, wurde über das Versuchsprogramm geprüft. Die bisherigen Daten zeigen: Im Gegensatz zu Normalsorten erbringen diese Sorten auch unter Nematodenbefall hohe Rübenenerträge. Gleichzeitig vermehren sie Nematoden in einem geringeren Umfang als Normalsorten. Die nematodentolerante Sorte kann schon bei geringem, latentem Nematodenbefall zum Anbau kommen, denn sie erreicht bereits ohne Nematodenbefall ähnlich hohe Rübenenerträge wie die Normalsorten. Treten dann Nematoden schädigend auf und sind die Wachstumsvoraussetzungen zum Beispiel durch späte Saatzeit, zwischenzeitlichen Trockenstress usw. zusätzlich erschwert, erbrachten die geprüften Sorten erhebliche Ertragsvorteile von über 20 % bereinigtem Zucker je ha. Auch der Nachweis, dass Nematodenvermehrung beim Anbau einer toleranten Sorte deutlich geringer ausfällt, konnte erbracht werden. Je nach Jahresverlauf kam es bei den to-

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

The Working Group “Nematology” of the German Phytomedical Society (Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, DPG) met for the first time with the Working Group “Free-living Nematodes” from March 13 to 14, 2007 at the Max Planck Institute for Molecular Plant Physiology (Head: Prof. Dr. Willmitzer) in Potsdam-Golm. For local arrangements the organizers warmly thank Dr. Ute Schönfeld, Department of Customer Protection, Agriculture and Land Consolidation, Brandenburg. The total attendance exceeded 80 participants from Germany, The Netherlands, Austria and Switzerland who presented 30 oral presentations and nine posters. The joint meeting of the two Working Groups brought together the broad experience of fundamental and applied aspects in plant nematology, nematode ecology, nematode evolution and exotoxicogenomics. With a special section, the meeting remembered the 150 years anniversary of the original description of *Ditylenchus dipsaci* Kühn. Within this section several papers were presented on the economic losses *D. dipsaci* causes lately in sugar beet production. The idea of a joint Meeting of the two Working Groups was very much appreciated by the participants and proposed to be repeated in the future. A complete overview of all abstracts can be viewed at the homepage of the DPG ([www.phytomedizin.org](http://www.phytomedizin.org)). The next meeting will be organized by Prof. Dr. Florian Grundler (E-mail: [grundler@boku.ac.at](mailto:grundler@boku.ac.at)) and is held from February 14–15, 2008 at the Institute of Plant Protection, University of Natural Resources and Applied Life Sciences in Vienna, Austria.

Johannes Hallmann and Peter Knuth, Working Group “Nematology”

Klemens Ekschmitt, Working Group “Free-living Nematodes”

### Investigation on *Ditylenchus dipsaci*–susceptibility of some plant species to a stem nematode population originating from sugar beet

B. Niere

Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Institute for Nematology and Vertebrate Research, Topphaideweg 88, 48161 Münster, Germany; [b.niere@bba.de](mailto:b.niere@bba.de)

The stem nematode *Ditylenchus dipsaci* is one of the most important nematode pests attacking hundreds of crop plants. Crown rot of sugar beet caused by *D. dipsaci* is of major concern in some sugar beet growing regions of Germany, particularly in the Rhineland and northern parts of Bavaria and Baden-Württemberg. Yield losses of 50% and more are reported in infected fields. Populations of *D. dipsaci* are commonly assigned to races which differ in their host range. Several races of *D. dipsaci* are reported to exist, however, research has shown that the concept of races is of rather little value in characterizing populations of this nematode. Some races appear to have a narrow host range while other races have a relatively wide host range; this accounts, e.g., to the polyphagous “sugar beet race” of *D. dipsaci*. There are indications that populations damaging sugar beet form a heterogeneous group. Uncertainty about the host range of these populations poses enormous difficulties to growers and advisers. A greenhouse experiment was conducted to assess the host suitability of some plant species for one population (‘Birgel’) of *D. dipsaci* (original host sugar beet). Plants in this experiment were: *Sinapis alba* (varieties Maxi, Achilles), *Raphanus sativus* (Colonel, Siletina), *Brassica napus* (Elektra, RG 604/24), *Zea mays*

(Oldham), *Solanum tuberosum* (Désirée), *Triticum aestivum* (Drifter), and the common weeds *Agropyron repens*, *Alopecurus myosuroides*, *Apera spica-venti*, *Anthemis arvensis*, *Chenopodium album*, *Galium aparine* and *Stellaria media*. Population densities of *D. dipsaci* were estimated by nematode extraction and counting 8 and 12 weeks, respectively, after infection.

### Expansins and endo-1,4- $\beta$ -glucanases are involved in cell wall modifications in nematode induced syncytia

F.M.W. Grundler<sup>1</sup>, K. Wieczorek<sup>1</sup>, J. Hofmann<sup>1</sup>, A. Bloechl<sup>2</sup>, D. Szakasits<sup>1</sup>, H. Bohlmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Plant Protection, Department of Applied Plant Sciences and Plant Biotechnology, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria; [grundler@boku.ac.at](mailto:grundler@boku.ac.at)

<sup>2</sup> Department of Chemical Ecology and Ecosystem Research, University of Vienna, Vienna, Austria

Root parasitism of the cyst nematode *Heterodera schachtii* is characterised by the formation of syncytial feeding structures. Syncytia are formed by the fusion of root cells and their formation is accompanied by local cell wall degradation, fusion of protoplasts and hypertrophy. Expansins and endo-1,4- $\beta$ -glucanases are wall-loosening proteins involved in growth and cell wall disassembly. In this study we tested the hypothesis that their expression is up-regulated during syncytium formation in roots of *Arabidopsis thaliana*. Using PCR we screened a specific cDNA library of 5–7-day-old syncytia for all known expansins and endo-1,4- $\beta$ -glucanases. Expression of AtEXPA1, AtEXPA3, AtEXPA4, AtEXPA6, AtEXPA8, AtEXPA10, AtEXPA15, AtEXPA16, AtEXPA20, and AtEXPB3 was detected in syncytia. For AtEXPA1, AtEXPA3, AtEXPA4, AtEXPA6, AtEXPA10, AtEXPA15, and AtEXPA16 these results were confirmed with the aid of promoter::GUS lines. Semi-quantitative RT-PCR showed that AtEXPA3, AtEXPA6, AtEXPA8, AtEXPA10, and AtEXPA16 are up-regulated specifically in syncytia and are not transcribed in control roots. Endo-1,4- $\beta$ -glucanases hydrolyze the 1,4- $\beta$  glucosidic linkages between glucose residues. By use of semi-quantitative and quantitative approaches we identified seven genes that are upregulated in syncytia. Two of these genes, coding for secreted AtCel2 and membrane-bound KOR3, are shoot-specific but show high expression in syncytia at different developmental stages. Treatments with sucrose, GA3, and NAA also induced their upregulation in roots, but other hormones resulted in only minor effects. As AtCel2 is related to degradation of the cell wall matrix, we analysed the hemicellulose content in syncytia. The measured values resembled the expression pattern of AtCel2. In *kor3* and *cel2* T-DNA mutants an impairment of growth conditions for nematodes could be found. We conclude that syncytium formation involves the specific up-regulation of different expansin and endo-1,4- $\beta$ -glucanase genes, which likely take part in the cell growth and wall disassembly in syncytia.

### Sugar supply of nematode-induced syncytia of *Heterodera schachtii* in roots of *Arabidopsis thaliana*

J. Hofmann<sup>1</sup>, K. Wieczorek<sup>1</sup>, A. Blöchl<sup>2</sup>, D. Szakasits<sup>1</sup>, H. Bohlmann<sup>1</sup>, F.M.W. Grundler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Plant Protection, Department of Applied Plant Sciences and Plant Biotechnology, University of Natural

Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria;  
julia.hofmann@boku.ac.at

<sup>2</sup> Department of Chemical Ecology and Ecosystem Research,  
University of Vienna, Vienna, Austria

The plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii* induces syncytial feeding structures in the roots of its host plants that serve as its sole nutrient source. Especially carbohydrates and amino acids have to be taken up by the nematode and therefore need to be supplied from the host plants. In order to understand nematode and therefore syncytium solute supply we studied the apoplasmic and symplasmic nutrient transport pathway into syncytia. Phloem loading experiments showed that during the first days of nematode development syncytia are symplasmically isolated from their surrounding and thus fully dependent on transporter protein activity. The gene expression of 85 sugar transporters has been studied by gene chip analysis and five of them were chosen for detailed expression studies. Gene silencing of the phloem-specific sucrose transporter *AtSUC4* in syncytia led to a significant reduction of female nematode development. At later stages of juvenile development plasmodesmata open to adjacent phloem elements facilitating a symplasmic solute supply. High levels of sucrose accumulated in syncytia and we further found out that the high sugar levels are buffered by the formation of starch in syncytia, probably to reduce osmotic stress. Infection rates on *Atss1* knock-out mutant result in a significant reduction of nematode development.

#### ***Ditylenchus dipsaci* in flowerbulbs in the Netherlands: legislation and research**

A.S. van Bruggen, L. den Nijs

Plant Protection Service, Department of Nematology,  
Wageningen, The Netherlands; a.s.van.bruggen@minlnv.nl

The stem nematode *Ditylenchus dipsaci* is an important pest in flowerbulb culture in the Netherlands. The nematode is a quarantine organism in flowerbulbs which has serious consequences for growers dealing with infested lots and fields. Infested lots have to be treated with a hot water treatment and tulips which can not endure this treatment have to be destroyed. On infested fields it is prohibited to grow host flowerbulb crops for a period of 10 years. This period can be reduced by applying control measures, like soil disinfection. All flowerbulb crops are inspected on the field by the Flowerbulb Inspection Service (BKD). Samples of plants with *D. dipsaci* symptoms are investigated for the presence of the nematode by the Plant Protection Service (PPS). Infested fields are registered by the PPS and if control measures are carried out by the grower the PPS collects and investigates soil samples to check the effectivity of the measure. After a successful control measure the field is released. Several research projects are carried out by Applied Plant Research (PPO). The effectivity of various application methods of the soil disinfectant metam sodium is studied in a field experiment in Lisse. Another important research topic is on behaviour and detection of various *D. dipsaci* races on various bulbous and arable crops. Bioassays and baiting experiments are carried out by PPO Lisse and Lelystad and by Plant Research International Wageningen.

#### **Investigation of *Pinus sylvestris* bait logs for hatching beetles and wood-inhabiting nematodes of the genus *Bursaphelenchus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae)**

U. Schönfeld, H. Bröther

Department of Customer Protection, Agriculture and  
Land Consolidation, Brandenburg, Zossen, Germany;  
ute.schoenfeld@lvlf.brandenburg.de

In connection with monitoring surveys of EC for the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) (Decision 218/2001/EC and following versions, Decision 133/2006/EC) wood and beetles, especially the black pine sawyer (*Monochamus galloprovincialis*), were investigated for wood-inhabiting nematodes in Brandenburg, a federal state of Germany. In the last 5 years, bait logs were exposed at 65 locations in the near of sawmills, at wood storage sites, after forest fires and after fellings in the summer time. Therefore, healthy pines (*Pinus sylvestris*) were cut in the months May to July to attract beetles for oviposition. Five beetle species hatched from the bait logs after several months of incubation: *M. galloprovincialis* (143), *Acanthocinus griseus* (28), *Hyllobius abietis* (1), *Pissodes notatus* (14) and *Phaenops cyanea* (2). Propagating juveniles were found on beetles of the black pine sawyer only. *M. galloprovincialis* developed in the bait logs from 21 locations. It was possible to detect the nematode species *Bursaphelenchus mucronatus* in beetles of *M. galloprovincialis* and/or wood of the bait logs. Although no nematodes were found in wood in time of cutting the trees, *B. mucronatus* developed sometimes high population densities up to the autumn. Especially in the warm and dry year 2003 up to 6000 nematodes per 100 g wood were detected. Single beetles took up to 40000 juveniles. *B. xylophilus* was found neither in wood nor in the beetles. Exposing segments of bait logs at room temperature and dipping them into a water bath every week allowed the beetles to develop several month earlier than in nature. Investigation of bait logs and hatching beetles is a useful method to detect nematodes of the genus *Bursaphelenchus* passing by *M. galloprovincialis*. Bait logs should be used for monitorings of the pine wood nematode, especially in northern European countries, where an introduction of this harmful nematode could remain unknown for a time.

#### **Interrupting the life cycle of *Heterodera schachtii* on oilseed rape (*Brassica napus*) – results from a greenhouse experiment simulating methods for the control of volunteer oilseed rape**

B. Niere

Federal Biological Research Centre for Agriculture and  
Forestry, Institute for Nematology and Vertebrate Research,  
Toppeideweg 88, 48161 Münster, Germany; b.niere@bba.de

*Brassica napus* is an excellent host plant for the beet cyst nematode *Heterodera schachtii*. In some regions – especially where *H. schachtii* causes problems in sugar beet – rotations combining sugar beet and oilseed rape have therefore been avoided. For several reasons, there is growing interest in growing the two crops in the same rotation. It has been argued that regularly sown winter rape does only pose a limited risk in terms of multiplication of *H. schachtii* under mid-European climate conditions. Volunteer oilseed rape – germinating after harvest of the main crop –, however, is considered the main problem and may under ideal conditions significantly increase the *H. schachtii* population. This is partly due to the favourable weather conditions for nematode development at this time of the year and the fact that a manifold of rape seed is lost prior and during harvest of the crop compared to the amount sown in the previous year. It is therefore of major importance to control volunteer plants. A temperature-based model (“Ausfallraps-Manager”) predicts the optimal point in time to destroy volunteer rape before *H. schachtii* can complete its first generation. Control measures, chemical or mechanical, have to be applied when the temperature sum threshold of 360°C (above 8°C) is reached (the normal life cycle of *H. schachtii* requires a temperature sum of approx. 460°C for completion). It has previously been shown that developing *H. schachtii* females can mature into brown cysts on viable roots in the absence of foliage. A greenhouse experiment was

therefore undertaken to assess whether cysts can mature on rape seed roots after plants were treated with either glyphosate, decapitated, or decapitated and incorporated into the soil, at the suggested timing.

#### Study the mode of the mutualistic endophytic fungus *Fusarium oxysporum* strain 162 against *Meloidogyne incognita* on tomato

D. Dababat, R.A. Sikora

Institute of Crop Science and Resource Conservation, Soil-Ecosystem Phytopathology and Nematology, University of Bonn, Bonn, Germany; abd\_amer@yahoo.com

A non-pathogenic endophytic *Fusarium oxysporum* strain 162 (FO162) has been selected for its capacity to reduce the incidence of root-knot nematode damage on tomato. The objectives of this study were to investigate the activity of this fungus on root-knot nematode attraction and penetration. To determine this objective, linked twin-pot chamber as well as elongated chamber was used. The number of *Meloidogyne incognita* that were attracted to the roots of plants treated with *F. oxysporum* 162 was 36-56% lower than the non-treated control. The results demonstrated the presence of root exudate alteration by FO162 that directly affects migratory behaviour in the soil that then directly affects penetration. This phenomenon was clearly observed when the nematode moved away from the FO162 exudate toward the untreated control exudates in the elongated chamber without tomato plants. The results obtained indicated that exudate of tomato treated with FO162 has a strong repellent activity of up to 80% against *M. incognita* J2.

#### *In vitro* antagonism of endophytic fungi from coffee (*Coffea arabica* L.) in Ethiopia towards *Meloidogyne incognita*

T. Mekete<sup>1</sup>, S. Kiewnick<sup>2</sup>, J. Hallmann<sup>3</sup>, R.A. Sikora<sup>1</sup>

- 1 Institute of Crop Science and Resource Conservation, Soil-Ecosystem Phytopathology and Nematology, University of Bonn, Bonn, Germany; tmekete@yahoo.com
- 2 Agroscope Changins-Wädenswil, Plant Protection and Ecotoxicology, Wädenswil, Switzerland
- 3 Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry, Institute for Nematology and Vertebrate Research, Münster, Germany

Endophytic fungi have been shown to be an active part of the naturally occurring antagonists and have the potential to regulate plant-parasitic nematode populations by a number of different mechanisms. Despite their important role in biocontrol, search on the importance of endophytic fungi for nematode control activity in coffee has not been conducted in Ethiopia. In 2004 and 2006, a survey was made to isolate and test endophytic fungi from coffee roots. Seventy-eight different endophytic fungi from different coffee growing agroecologies of Ethiopia have been isolated. Of these 24 belonged to the genus *Fusarium*, 16 to *Trichoderma* and 38 remained

unidentified. *Fusarium* isolates were identified morphologically and by ITS (IGS)-RFLP. The isolates were tested for their antagonistic activity against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. In an *in vitro* Petri dish bioassay, seven isolates were selected that caused 27-48% juvenile mortality and/or inactivity. The same isolates were also tested to determine egg pathogenicity using an *in vitro* Petri dish assay, *in vitro* culture filtrate assay and *in vivo* alginate films. In the culture filtrate test 15 isolates showed significant differences with mortality between 27.8 - 81.2%. Five isolates have been detected that parasitized between 20 and 85% of the eggs in the alginate test.

#### Establishing and detecting *in planta* suppression of *Radopholus similis* in successive generations of banana plants protected with mutualistic fungal endophytes

A. zum Felde<sup>1</sup>, R.A. Sikora<sup>1</sup>, L.E. Pocasangre<sup>2</sup>

- 1 Institute of Crop Science and Resource Conservation, Soil-Ecosystem Phytopathology and Nematology, University of Bonn, Bonn, Germany; zumfelde@uni-bonn.de
- 2 Bioersity International, Banana and Plantain Section, c/o CATIE, Turrialba, Costa Rica

Damage to banana roots and yield losses due to the burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne, are a major production constraint in tropical banana producing areas. Applications of commercially available chemical nematicides result in short-term control only. However, nematode-suppressive areas within larger production areas have been identified and targeted as sources of potential biological control agents, especially in the form of endophytic fungi. Such fungi have been isolated from healthy banana roots and screened for biocontrol activity against *R. similis*. Four fungal endophytes, two *Trichoderma atroviride* (MT-20 and S2) and two non-pathogenic *Fusarium oxysporum* (S9 and P12) isolates, effectively controlled *R. similis* in greenhouse experiments. They were chosen for a field experiment on commercial banana plantations in Costa Rica, using the 'Valery' (Musa AAA) cultivar. Six treatments were established: a nematicide treatment, a control and the four endophyte inoculated treatments. The objectives of the study were to verify whether the fungi controlled nematodes in the field, and whether the *in planta* suppression established by the fungi was transferred from mother plant to suckers. For the field experiment, plants were inoculated with fungal spores prior to hardening and planting in the field. The nematode population in the roots of field plants was evaluated monthly over a 7 month period. Sword suckers were removed from plants 14 weeks after planting, and re-established in the greenhouse. These plants were then inoculated with 1000 *R. similis* and nematodes were extracted from the roots 9 weeks later. In the field, endophytes protected plants as well as or better than nematicides, and where endophytes protected mother plants from *R. similis* in the field, suckers in the greenhouse presented lower *R. similis* densities in the root system. This indicates that the protection from *R. similis* conferred onto mother plants by a single pre-planting inoculation of endophytes, once established in the field, is transferred onto suckers.

## AK NUTZARTHROPODEN UND ENTOMOPATHOGENE NEMATODEN, 20.11.2007

### TIFY-PROTEIN JAZ1 AND JA/ET SIGNALING ARE INVOLVED IN SILICON-INDUCED RESISTANCE (SI-ISR) OF THE SILICON NON-ACCUMULATOR PLANT TOMATO AGAINST RALSTONIA SOLANACEARUM

Ghareeb, Hassan<sup>1</sup>, Bozsó, Zoltan<sup>2</sup>, Ott, Peter<sup>2</sup>, Stahl, Frank<sup>3</sup>, Wydra, Kerstin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str 2, 30419 Hannover

<sup>2</sup>Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, H-1525 Budapest, P.O. Box 102, Hungary

<sup>3</sup>Institut für Technische Chemie, Leibniz Universität Hannover, Schneiderberg, 30419 Hannover, Germany

Contact: wydra@ipp.uni-hannover.de

Silicon (Si) treatment induced resistance in tomato against bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. Analyzing the gene expression of defense-related genes by quantitative real time PCR (qRT-PCR) over six time points, gene expression was generally highest at 72 hours post inoculation. At this time point gene expression analysed by the TOM2 microarray revealed sixteen genes significantly regulated by Si in plants treated with Si challenged with *R. solanacearum* compared to plants without Si application. The microarray results were validated by qRT-PCR, and the genes were annotated and functionally classified. At least twelve genes involved in defense, signal transduction, response to stresses, transcription, ubiquitinylation and metabolism were up-regulated. Highest up-regulation of 11.0 log<sub>2</sub> fold was found with the tify (ZIM)-protein JAZ1, involved in regulation of the JA-signaling pathway. A role of Si in priming the defense capacity of the plant involving reactive oxygen species (ROS), ET and JA signaling pathways and thereby alleviating biotic stress imposed by the pathogen is suggested.

### MOLEKULARBIOLOGISCHE CHARAKTERISIERUNG NÜTZLICHER FUSARIUM OXYSPORUM-ISOLATE UND DEREN ROLLE BEI DER SYSTEMISCHEN ABWEHRREAKTION DER PFLANZE BEI NEMATODENBEFALL

Kurtz Andreas<sup>1</sup>, Schouten Alexander<sup>1</sup>, Schäfer Kerstin<sup>1</sup>, Sikora A. Richard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRES, Nematologie in Bodenökosystemen, Nussallee 9, 53115 Bonn, Deutschland

Contact: akurtz@uni-bonn.de

Pflanzen können durch endophytische nicht-pathogene *Fusarium oxysporum*-Isolate eine systemische Resistenz gegen Nematoden erlangen (Vu *et al.*, 2006; El-Fattah *et al.*, 2007). Dies bietet in einigen Anbausystemen eine biologische Bekämpfungsalternative zu umweltfeindlichen 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: Erstens, (1) die Identifikation vieler-sprechender 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 (2) mittels molekularer Methoden eine Charakterisierung des Mechanismus der systemischen Resistenz der Pflanze erfolgen, indem verschiedenen Befallssituationen simuliert werden: Alleinige Kolonisierung der Pflanze durch Nematoden bzw. Endophyten oder bei Kolonisierung durch beide 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 Entwicklung von Strategien genutzt werden, deren Einsatz eine optimierte biologische Bekämpfung pflanzenparasitärer Nematoden ermöglicht.

## **NATÜRLICHE GEGENSPIELER DER ROSSKASTANIEN-MINIERMOTTE: WELCHEN BEITRAG WERDEN SCHLUPFWESPEN ZUR KONTROLLE LEISTEN?**

Meyhöfer, Rainer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz,  
Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

Contact: meyhoefer@ipp.uni-hannover.de

Die Rosskastanien-Miniermotte, *Cameraria ohridella* (Gracillariidae, Lepidoptera), ist in den letzten Jahren zu einem festen Bestandteil unserer Fauna geworden. Weil natürliche Gegenspieler anfangs fehlten, konnte sich diese invasive Art schnell und ungehindert ausbreiten. In der Zwischenzeit parasitieren aber mehr als 20 heimische Schlupfwespen-Arten die Larven der Rosskastanien-Miniermotte. Die Populationsentwicklung können sie zur Zeit noch nicht regulieren, da die Parasitierungsraten immer noch deutlich unter 10% liegen. Es wird vermutet, dass die mangelhafte Synchronisierung der Schlupfwespen mit ihrem neuen Wirt eine Hauptursache für die geringe Effizienz ist, d.h. im Frühjahr erscheinen die Schlupfwespen ca. 6 Wochen bevor die ersten Minen an der Rosskastanien zu finden sind. Um besser einschätzen zu können, ob und in welchem Zeitraum sich heimische Schlupfwespen an den Lebenszyklus der Rosskastanien-Miniermotte anpassen können, wurde ein Vergleich zur Robinien – (*Phyllonorycter robiniella*) und Platanen – Miniermotte (*Phyllonorycter platanii*) gezogen. Bei beiden Arten handelt es ebenfalls um invasive Blattminierer-Arten, die aber schon vor ca. 15 bzw. 50 Jahren nach Deutschland eingewandert sind. Verglichen wurden die Parasitierungsraten und die Synchronisierung der Schlupfwespen mit dem Lebenszyklus der Blattminierer. Die Ergebnisse zeigen, dass die Parasitierungsraten bei der Robinien- bzw. Platanen-Miniermotten mehr als 10 mal so hoch sind wie bei der Rosskastanien-Miniermotte und je nach Standort zwischen 10 und 50 % liegen. Schlupfwespen-Arten der Rosskastanien-Miniermotte sind in unterschiedlichen Dichten auch an den beiden anderen Blattminierern zu finden. Sowohl mit der Robinien – als auch mit der Platanen-Miniermotte sind die häufigsten polyphagen Schlupfwespenarten aber ebenfalls schlecht synchronisiert. Die hohen Parasitierungsraten bei Platane und Robinie sind auf besser angepasste, spezialisierte Arten und/oder auf eine Verschiebung im Artenspektrum zurückzuführen. Es ist daher nicht zu erwarten, dass die Schlupfwespenarten, die zur Zeit die Rosskastanien-Miniermotte parasitieren, sich in absehbarer Zeit besser an den Lebenszyklus ihres Wirtes anpassen. Höhere Parasitierungsraten sind daher nur bei einer Verschiebung des Artenspektrums zu effizienteren bzw. besser synchronisierten Arten zu erwarten.

## Report on the 26th Annual Meeting of the Working Group Beneficial Arthropods and Entomopathogenic Nematodes

The 26<sup>th</sup> Annual Meeting of the Working Group Beneficial Arthropods and Entomopathogenic Nematodes of DPG and DGaE was held in November, 20–21, 2007 at Kardinal-Döpfner House Freising. The meeting was well organized by Florian Weihrach and his team from the Institute for Crop Science and Plant Breeding Freising, branch Hüll, of Bavarian State Research Centre for Agriculture. Overall, 29 participants from research institutions, universities, extension service and biocontrol companies attended the meeting. During the two half days, 18 contributions (oral presentations and one scientific film) were presented which covered the following topics: beneficials in agro-ecosystems, biocontrol in horticulture and fruits with entomopathogenic nematodes, viruses, predatory mites and insects. Furthermore, a new scientific video on *Harmonia axyridis* was presented.

The meeting closed with a general discussion on the situation of biological control in research and practice in Germany. The participants complained of decreasing research activities and declining support for implementation by advisory services of German Federal States and other authorities. A joint declaration on the future of biological control in research and practice was published and is available on the homepages of DPG ([www.phytomedizin.org](http://www.phytomedizin.org)) and DGaE ([www.dgae.de](http://www.dgae.de)).

The next meeting will take place on November 25–26, 2008 in Braunschweig.

The following abstracts of the contributions were edited by Birgit Schlage, Prof. Dr. Bernd Freier and Sigrid von Norsinski (JKI Kleinmachnow).

Please note in the following that the research branch of the Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection (BMELV) has been reorganized on January, 1<sup>st</sup>, 2008. The former Biological Research Centre for Agriculture and Forestry (BBA) has been merged with other institutions. The newly established Julius Kühn Institute (JKI), Federal Research Centre for Cultivated Plants, is working on plant protection, plant breeding, crop and soil science.

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

### Effects of a low-input pesticide usage to different spider species in arable cropping

C. Volkmar

Institute of Agricultural and Nutritional Sciences,  
Martin-Luther-University of Halle-Wittenberg, Germany;  
[volkmar@landw.uni-halle.de](mailto:volkmar@landw.uni-halle.de)

The study was aimed at investigating the effects of a 50% reduction of the pesticide usage on Araneae species in three fields in Ochtmersleben (Saxony-Anhalt). Insecticides were applied from 2004 till 2006.

Spiders were collected using pitfall traps over a four-week catch period (T1–T4) in June and July in 2003–2006. The typical open-land inhabitants of Linyphiidae had the biggest share in the spider population. From this family *Oedothorax apicatus*, *Erigone atra* and *Erigone dentipalpis* were the species with the highest activity in all years and all variants during the data period (June).

Both sexes of *O. apicatus* showed this high activity, but only the males of *E. atra* provided reliable data. Both spider species showed notably reactions when exposed to insecticides. In field 1, *O. apicatus*' activity declined by 23% and *E. atra*'s by

34% within four years. In fields 2 and 3, the decline amounted to 44% and 19% for *O. apicatus*, respectively, and 44% resp. 63% for *E. atra*, respectively. The Lycosidae family could not be employed as indicator since its activity is generally low during the test period of June.

A 50% reduction of insecticide treatments showed positive effects on spider activity over four vegetation periods. The potential for natural pest regulation was in all cases higher in the 50% variants. Furthermore, the results on species diversity indicate that a 50% reduction led to a stable pattern of > 15 spider species. Within this pattern, the spider coenoses was dominated by *O. apicatus* and the *Erigone* species.

Summing up, a 50% long-term reduction of chemical plant protection had positive accumulated effects (e.g. on field 3) on spider coenoses.

### Beneficial insect occurrence in organic potato farming

S. Kühne, T. Reelfs

Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry Kleinmachnow, Institute for Integrated Plant Protection, Kleinmachnow, Germany; [Stefan.kuehne@jki.bund.de](mailto:Stefan.kuehne@jki.bund.de)

Practice-oriented, modern strategies for controlling the potato beetle in organic potato farming were developed under a four-year field trial conducted in Germany from 2004 to 2007 at the certified organic farming site of the Julius Kühn Institute in the federal state of Brandenburg: license number D-BB-043-4143 A (REELFS et al. 2007). Populations of potato beetles and their natural enemies found directly on the plants were sampled once weekly. Among the beneficial insects found, ladybirds of the species *Coccinella septempunctata*, *Propylea quatordecimpunctata* and *Adalia bipunctata* appeared regularly in all years under study. The Asian ladybird species *Harmonia axyridis* was detected in the experimental potato fields for the first time in 2007. In one case, adult beetles were observed feeding on potato leaves. Aphid predators such as green lacewing larvae (Chrysopidae), syrphid fly larvae (Syrphidae), and linyphiid spiders (Linyphiidae), which are particularly efficient at catching winged aphids in their webs, were also regularly detected in the potato fields. In 2006, green lacewing larvae were observed feeding on potato beetle eggs as well as larvae on several occasions. Predatory dance flies of the genus *Platypalpus* were also regularly observed hunting for small diptera. Other predatory beneficials included the eyed ladybird (*Anatis ocellata*) and the snakefly species *Phaenostigma notata*, which presumably immigrated into the fields from the edge of the nearby woods. For better comparability of the years, the number of beneficial insects detected was converted into predator units (PU) as described by FREIER et al. 2007. Field data obtained from calendar weeks 26 to 29 (end of June to end of July) of each year under study clearly show that the overall occurrence of beneficial insects was relatively low. The figures for the years 2005 to 2007 range from 0.01 to 0.03 predator units per plant. The predator density was around 20 times higher (0.19 PU/plant) in 2004. The ladybirds were the predominant predators in all years under study (> 90% of overall predator population). Lacewings were the second-most prominent predators in all years except for 2004, in which syrphid flies displaced them from this rank.



## Literature:

- REELFS T., S. KÜHNE, F. ELLMER, E. MOLL, B. KLEINHENZ, 2007: Doppelt hält besser – neue Strategien zur Regulierung des Kartoffelkäfers im Ökologischen Landbau. *Kartoffelbau*, 6, 227-229.
- FREIER B., H. TRILTSCH, M. MÖWES, E. MOLL, 2007: The potential of predators in natural control of aphids in wheat: Results of a ten-year field study in two German landscapes. *Bio-Control*, 52, 775-788.

### Control of spider mites by predatory mites in the special crop of hops – in good years it works out even in the field

F. Weihrauch

Bavarian State Research Centre for Agriculture, Institute for Crop Production and Plant Breeding, Hop Research Centre, Wolnzach-Hüll, Germany; florian.Weihrauch@LfL.bayern.de

As part of a set of trials that had been conducted since 2002 to control two-spotted spider mites in hops by the use of predatory mites, another trial was run during the 2007 field season. Eight experimental plots (c. 470 m<sup>2</sup> with 250 trainings, respectively) had been laid out in a conventionally managed hop garden (location Buch, cv. Hallertauer Tradition) in the Hallertau region, Bavaria, Germany. In four plots predatory mites were released on 1 June and 13 June, and four control plots were left untreated. Predatory mites were a 2:1 mixture of *Phytoseiulus persimilis* and *Amblyseius californicus*, which were transferred to hops on bean leaves. The overall release rate was 24 beneficials per hop plant. Each plot was monitored weekly from June 1 until harvest for both spider and predatory mites.

Altogether 3888 predatory mites were encountered during the monitoring, of which 55% were *P. persimilis*, 30% *A. californicus* and 15% eggs. Those records were distributed almost evenly on the lower (1-2 m above ground; 34%), middle (3-4 m; 39%) and upper (6-7 m; 27%) section of the bines. The beneficials stayed in their release plots during the first eight weeks, and only from August onwards they spread to control plots in larger numbers. This “territoriality” of the beneficials made spider mite control a full success. During 12 of 14 monitoring weeks, *T. urticae* numbers in the release plots were significantly lower compared to control plots, with average numbers of 26 compared to 313 spider mites per leaf one week before harvest. Yield and alpha acids in the release plots did not differ significantly from acaricide-treated practice.

### *Carabus* species as effective beneficials on arable land – wishful thinking or reality?

T. Kreuter

Bavarian State Research Centre for Agriculture, Institute for Crop Production and Plant Breeding Freising, Germany; thomas.kreuter@LfL.bayern.de

Species of the genus *Carabus* are important objects in agro-ecosystem analysis. They are considered as voracious predators of various pests. However, the beneficial effect of ground beetles is hardly quantifiable. The populations often show heavy dynamics and no relationship with potential pest organisms in the considered field plots. In the past, a significant decrease of *Carabus* species in agro-ecosystems was described and associated to the intensification of plant production. However, since the nineties of the last century the populations of various species have obviously increased on numerous fields.

Beginning with 1992, we collected data to document high activity densities of *Carabus* species (*C. auratus*, *C. cancella-*

*tus*, *C. granulatus*, *C. nemoralis*, *C. ulrichii*, *C. granulatus*, *C. coriaceus*) on arable farmland in the federal states of Saxony, Saxony-Anhalt and Bavaria. Our analysis shows that reduced tillage systems have caused the trend of increase in the first instance. Other supporting factors are organic farming and the general spread of integrated cropping systems.

A pilot study (conducted in Saxony from 2005 to 2006) revealed that *Carabus* species are capable of being effective pest antagonists (in the present case regarding field slugs) provided that an abundance of more than one individual per square meter is achieved. Very high activity densities of *Carabus auratus* (5 to 10 individuals per trap and week) on ploughless cultivated fields in the Saxony loess region suggest such conditions.

In the future, other field sites will be investigated to keep records of the occurrence of *Carabus* species in relation to the given cultivation systems as well as to important pests. Furthermore, we intend to continue with quantification trials concerning the regulative effects.

### Model experiments on effects of graduated dosages of insecticides to the tri-trophic system plant-aphid-predator

K. Schumacher<sup>1,2</sup>, B. Freier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry Kleinmachnow, Institute for Integrated Plant Protection Kleinmachnow;

<sup>2</sup> University of Potsdam, Institute of Biochemistry and Biology Potsdam, Germany; bernd.freier@jki.bund.de

A series of laboratory experiments on effects of graduated dosages of insecticides to the tri-trophic system plant-aphid-predator were performed in addition to field studies on ecological long-term effects of the low-input plant protection strategy (pesticide dosages reduced by 50% in comparison to pesticide use according to good plant protection practice) in arable cropping. The following interactions were investigated: winter wheat-*Sitobion avenae*-predator (*Coccinella septempunctata/Chrysopa carnea*) and field bean-*Aphis fabae*-predator (*Coccinella septempunctata/Chrysopa carnea*). The dosage of the used insecticide (Trafo WG, lambda-Cyhalothrin) varied between 0%, 25%, 50%, 75% and 100% of the recommended dosage. In field beans chrysopterid larvae ensured sufficient natural control of aphids already at dosages reduced by 75% and field adequate densities of *Chrysopa carnea* larvae (10 predator units/m<sup>2</sup>) and high survival rates of larvae. Using *Coccinella septempunctata* larvae (10 predator units/m<sup>2</sup>) a similar effect was reached only at 50% reduction due to higher mortality of the insecticide. Winter wheat required more predators/m<sup>2</sup> to realise natural control in combination with reduced insecticide dosages. That means that dosage reduction enhances the natural control effects in field bean better than in winter wheat. One of the reasons is that the search of predators for prey is easier on bean than wheat plants. The experiments gained an insight in the complex quantitative relationships between densities of aphids and predators, their survival rates at different insecticide dosages and the dimension of natural control in different crops.

### Molecular and biological characterization of the isolate CpGV-I12 that overcomes CpGV-resistance in codling moth

K.E. Eberle, S. Asser-Kaiser, M. Sayed, M. Rezapanah, J.A. Jehle

DLR Rheinpfalz, Phytomedicine, Neustadt/Wstr., Germany; johannes.jehle@dlr.rlp.de

*Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) has been applied for more than ten years as a very effective biocontrol agent of the

codling moth *Cydia pomonella*. All registered products are based on the isolate CpGV-M, which was discovered in Mexico.

In 2003, local codling moth populations which could not be controlled by CpGV-M application were found. The occurrence of this phenomenon in further European countries made it necessary to search for alternatives. Therefore, CpGV isolates originating from different regions in Iran and Georgia, where is thought to be the origin of the codling moth, have been tested in bioassay against susceptible and resistant laboratory populations. One isolate, CpGV-I12, could be identified which worked against susceptible larvae as well as CpGV-M. Further, this isolate was able to overcome resistance in all larval stages L1-L5, inducing 100% mortality after incubation of fourteen days. Restriction analysis revealed only small differences to the profile of CpGV-M. In order to find the molecular basis of its improved efficacy against CpGV-resistant codling moths, CpGV-I12 was sequenced completely and compared to the genome of CpGV-M1.

### Resistance monitoring of *Cydia pomonella*: a new method for rapid testing of CpGV-resistance in codling moth wild populations

S. Schulze, J.A. Jehle

DLR Rheinpfalz, Phytomedicine, Neustadt/Wstr., Germany; johannes.jehle@dlr.rlp.de

In the last five years the phenomenon of emerging resistances of the worldwide occurring apple pest codling moth (*Cydia pomonella*) against *Cydia pomonella* granuloviruses, which are used as biological control agents, has become more common (FRITSCH et al. 2005, 2006; SAUPHANOR et al. 2006) and has revealed the need for new monitoring methods in order to react earlier on arising insect-resistances.

All biological control agents contain one baculovirus isolate, CpGV-M, originating from Mexico. Receiving information about the level of CpGV resistance in a wild CM-population is difficult, time-consuming and labour-intensive. Information will be obtained from bioassays with the F1 generation of the overwintering CM larvae in the following year. We established a new method for direct analysis of CpGV resistance in CM larvae. For this we extracted 2472 wild larvae of the first four instars out of 8009 apples from 17 different habitats in Germany, Switzerland, Italy and The Netherlands and tested them in 14-day bioassays on three different diets (GUENNELON et al., 1981) containing either virus free medium or containing two viruses: the worldwide used CpGV-M and the resistance-breaking CpGV-I12. Only one population was found to be completely sensitive against the viruses CpGV-M and CpGV-I12 (Pop.15). It was possible to determine four new populations as CpGV-M resistant (Pop. 3,10,11,12). However, CpGV-I12 resulted in ~100% mortality in twelve populations (Pop. 2a,3,4,5,6,7,8,9,11,12,13,15). This new method allows us to make precise predictions about the status quo in resistance of an examined population, even if the orchard was treated with CpGV products, pheromones or chemical insecticides, which, as a matter of course, complicates the identification and determination of potential resistance.

### Allochthonous kairomones – a possibility to breed and control beneficial arthropods in open ecosystems<sup>1</sup>

M. Müller

University of Technology Dresden, Institute of Silviculture and Forest Protection Tharandt, Chair of Forest Protection; mmueller@forst.tu-dresden.de

There are different possibilities of regulation in host parasite or prey predator relationships. New possibilities of breeding and controlling beneficial arthropods were deduced by research into bark beetles, which are predated by species of the genus *Thanasimus*, especially *T. formicarius* L. and *T. rufipes* Brahm. These species forage for their prey using bark beetle pheromones as kairomones. Many bark beetle species are closely related to a single host tree species. *Thanasimus formicarius* and *Thanasimus rufipes*, however, predate bark beetle species in different coniferous forests. Therefore, kairomonal relationships between bark beetles and their predators can be used to aggregate *Thanasimus* species by the application of allochthonous kairomones. There are given some results of aggregation trials in pine forests (*Pinus sylvestris* L.) as well as some general characteristics of useful host parasite or prey predator relationships.

### Life cycle of the Asian ladybird beetle *Harmonia axyridis* on lime trees

U. Wyss

Institute of Phytopathology, Kiel University, Kiel, Germany; uwyss@phytomed.uni-kiel.de

The video film (duration 13 1/2 min) starts with adults and nymphs of the lime aphid *Eucallipterus tiliae* and shows how they release honeydew. These sequences are followed by *H. axyridis* adults devouring several aphids within a very short time. Emphasis is then placed on the extraordinary mating behaviour of the males. Hatching of the 1<sup>st</sup> instar larvae (L1) from the egg cluster is shown in detail, including first prey contact. L1 larvae are able to attack and devour adult aphids and have a remarkable capacity to consume many small aphids by extra-oral digestion. The behaviour of the three subsequent larval instars is then shown, including a moult. Cannibalism is demonstrated for a L4 larva devouring a strong and violently defending L3 larva nearly completely. Only some parts of the victim's legs remain after the ferocious meal. The film ends with details on pupation, the emergence of an adult beetle from the pupa and shows how the elytra gradually change in colour during the hardening process of the cuticle.

### Experiences on the use of mirids in potted herbs

G. Köhler, D. Hanke

Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Saxony State Research Centre for Agriculture Dresden, Germany; gabriele.koehler@fb06.lfl.smul.sachsen.de

The mirid species *Dicyphus errans* and *Macrolophus pygmaeus* do not differ in efficiency. Lower density of *D. errans* will be compensated by its stronger feeding.

The establishment of the mirids requires their settlement on the banker plants *Verbascum thapsus* (common mullein) or *V. densiflorum* (great mullein) between September and March. From April on, the banker plants have to be shaded.

The density of the observed mirids is high on herb species with a strong pilosity of their leaves, for example sage, thyme, sweet marjoram or wild marjoram. Plant species with low or minor pilosity, like basil or spearmint, are less accepted by these mirids. On lemon verbena with its totally smooth leaves no mirids were observed.

In herb crops with very dense plant growth, like wild carrot and yarrow, these mirids do not settle. The animals leave thyme and savory when the plants will become denser at longer time of cultivation.

<sup>1</sup> Promoted by BASF AG – the chemical company

At rosemary, whose small leaves do not protect against solar radiation, the densities of mirids decrease, if atmospheric humidity drops below 60% for more than eight hours per day or temperature increases above 30°C for more than five hours per day.

One of the greenhouses for herbs also housed *Euphorbia pulcherrima* for a short time. The ovipositor of both mirid species sticks to the coagulating milky sap of *E. pulcherrima* during egg deposition. The females cannot escape and die.

[www.landwirtschaft.sachsen.de/lfl/publikatione](http://www.landwirtschaft.sachsen.de/lfl/publikatione) (Schriftenreihe 23/2007).

### The effect of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* on the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* as a non-target organism

A. Donka, H. Sermann, C. Büttner

Humboldt-University of Berlin, Faculty of Agriculture and Horticulture, Department for Horticulture Sciences Berlin, Germany; [helga.sermann@agrar.hu-berlin.de](mailto:helga.sermann@agrar.hu-berlin.de)

To combine various beneficial organisms with entomopathogenic fungi in biological control, it is necessary to examine their compatibility. Risk assessment was carried out to quantify the harmful effect of our entomopathogenic *L. muscarium* fungus strain V 24 on the most important animal antagonist *Phytoseiulus persimilis*. We looked at adhesion of spores, mortality of mites and development of *Phytoseiulus persimilis* populations depending on intensity of contact with fungal spores. Standardised trials were carried out to determine the efficacy of the fungus after direct (dipping of *P. persimilis*) and indirect (spraying of suspension to the leaves) contact of spores with predatory mites. After application of spore suspensions of *L. muscarium* V 24 of  $2 \times 10^5$  to  $2 \times 10^8$  conidia/ml to the plants, two and three predatory mites, respectively, were set on each leaf. Counts were carried out 4, 7, 9 and 11 days after inoculation and covered living, dead and mouldy dead individuals.

The results differ according to spore density, intensity of contact and environmental conditions. Spores can adhere to the body of predatory mites, but up to 85% of spores were lost within 24 hours. Predatory mites, however, can also pick up spores from the underside of leaves. At the higher densities of  $10^6$  and  $10^7$  spores/ml, only a few predatory mites were found dead on plants and efficiency was 4.2 and 12.7%, respectively. Furthermore, the development of the population on the plant does not differ from those in the control.

At concentrations of  $10^6$  and  $10^7$  sp./ml, which are applied in practice, no risk to *P. persimilis* on plants is to be expected. These results have also to be checked under greenhouse conditions.

### Natural enemies of the horse chestnut leafminer and their contribution to the regulation of population development in the future

R. Meyhöfer

Institute of Plant Diseases and Plant Protection, Leibniz University Hannover, Germany; [meyhoefer@ipp.uni-hannover.de](mailto:meyhoefer@ipp.uni-hannover.de)

In the last years the horse chestnut leafminer species, *Cameraria ohridella* (Gracillariidae, Lepidoptera), got established as permanent element of the German fauna. Since natural enemies of this invasive species were missing, spread and population development was in the beginning unrestricted. Nevertheless several native parasitoid species started to exploit the new resources during the last decade. Since parasitism rates are still below 10%, impact of natural enemies on leafminer

population development is minor. One important reason for low parasitism rates is the poor synchrony of parasitoids with the horse chestnut leafminer lifecycle. For example, in spring all parasitoid species emerge almost six weeks before suitable larval stages of the host are present.

To investigate if native parasitoid species will be able to adapt to the horse chestnut leafminer lifecycle in the near future, the spring host synchrony was compared with those of the black locust leafminer (*Phyllonorycter robiniella*) and London plane leafminer (*Phyllonorycter platani*). Both are invasive leafminer species but immigrated to Germany 15 and 50 years ago. Mined leaves from all three species were collected, parasitism rates were estimated and leafminer and parasitoids were reared in growth chambers at constant temperature to compare emergence patterns. The results show that parasitism rates of *P. robiniella* and *P. platani* were more than 10-fold higher compared to *C. ohridella* and ranged between 10 and 50%. The dominant parasitoid species attacking the horse chestnut leafminer (i.e. *Phygadeuonidae*, *Minotetrastichus frontalis*) also parasitize *P. robiniella* and *P. platani* but at different rates. Moreover parasitoid emergence patterns from all leafminer species were similar, demonstrating a general poor lifecycle synchrony of both species even after 50 years of adaptation. There was no indication for a better adapted sub-population of *P. agraulis* and *M. frontalis* since emergence patterns were the same for all three leafminer species.

Therefore, it is unlikely that the polyphagous parasitoid species currently attacking the horse chestnut leafminer will adapt to its host-lifecycle in the near future. Higher parasitism rates of the horse chestnut leafminer can be expected only with a shift to more efficient and better synchronized parasitoid species, which could be observed for example for the London plane leafminer (*P. platani*).

### Biocontrol of spider mites in conventional and organic cucumber crops – field trials 2005 to 2007

J. Rademacher<sup>1</sup>, G. Mathan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katz Biotech AG, Baruth, Germany,

<sup>2</sup> Brandenburg State Agency for Consumer Protection, Agriculture and Landscape Management, Frankfurt/Oder, Germany; [j.rademacher@katzbiotech.de](mailto:j.rademacher@katzbiotech.de)

The spider mite *Tetranychus urticae* may cause total crop loss in case of early infestation. Available acaricides are in general authorized for only one application, and surviving spider mites can rebuild large populations. Organic growing does not dispose of any appropriate pesticides. This gap could be closed by the application of predatory mites.

The trials were carried out over three years on two conventionally and on organically cultivated places in the Spreewald economic region. The conventional places were treated with ORDOVAL<sup>®</sup> and KIRON<sup>®</sup> 3 to 14 days before the beginning of the trials. We used *Phytoseiulus persimilis*, partly in combination with *Amblyseius californicus*, with two different carriers: predatory mites on bean leaves (as leaves) and in vermiculite, which was scattered. The predatory mites (appr. 20 individuals/m<sup>2</sup>) were evenly distributed over the plots. Population dynamics were monitored over 5 to 8 weeks.

In conventional growing, spider mite density on the plot treated with leaves was reduced by 70% to 98% as compared to the untreated control. In organic growing, density was reduced by 81% to 98%. Scattering of vermiculite showed significantly less efficacy on all plots treated.

It is possible to successfully control *Tetranychus urticae* using *Phytoseiulus persimilis* in combination with *Amblyseius californicus*. The application of predatory mites can be integrated into existing conventional plant protection strategies. Treatment should be carried out early. The greatest advantage is the sustainable establishment.

### Testing entomopathogenic nematodes to control the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera, Tephritidae) under practical conditions

A. Herz<sup>1</sup>, P. Katz<sup>2</sup>, K. Koeppler<sup>1</sup>, A. Peters<sup>3</sup>, H. Vogt<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Institute for Plant Protection in Fruit Crops Dossenheim, Germany,

<sup>2</sup> Katz Biotech AG Baruth, Germany,

<sup>3</sup> e-Nema GmbH Raisdorf, Germany; Annette.herz@jki.bund.de

The cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* L., is the major pest of sweet cherries in Europe. Currently, no efficient control method is available and there is the risk of increasing population densities of this pest. Entomopathogenic nematodes (EPN) caused high mortality of last instar maggots, when entering the soil for pupation, under laboratory and field conditions. Applications of these biocontrol agents during consecutive years should test their efficacy to reduce pest densities under practical conditions. One to several applications of a commercially available product based on *Steinernema feltiae* (application rate 250.000 to 500.000 EPN/m<sup>2</sup>) against pupating larvae in summer did not result in a reduction in the emergence rate of adult flies in the following spring in comparison to untreated plots. Infection rates of exposed larvae did not exceed 50%, thus being much lower than under laboratory conditions. Accompanying field observations were made to evaluate the degree of natural mortality of the cherry fruit fly during the pupation phase in order to decide if the application of nematodes could substantially contribute to control this pest. Whereas natural mortality factors reduced the cherry fruit fly population from the period between larvae leaving the fruit until hatching of adults in the following year by 95%, the application of nematodes did not contribute significantly to pest regulation, probably due to their weak efficacy under practical conditions.

### Effect of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* on adults of *Rhagoletis cerasi*

J. Liebetrau, A. Ali, H. Sermann, C. Büttner

Humboldt-University of Berlin, Faculty of Agriculture and Horticulture, Department for Horticulture Sciences Berlin, Germany; helga.sermann@agr.ar.hu-berlin.de

The entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* is virulent to a wide range of insects. Its efficacy against *Rhagoletis cerasi*, the European cherry fruit fly, was assessed in laboratory.

The main objective was to determine the susceptibility of adults of the European cherry fruit fly (*R. cerasi*) to the entomopathogenic fungus *L. muscarium*. Different concentrations of conidial suspensions were used to determine the efficiency of the fungus.

For inoculation conidial suspension of *L. muscarium* strain V 24 at concentrations from 6.5 x 10<sup>4</sup>, 6.5 x 10<sup>5</sup> and 6.5 x 10<sup>6</sup> conidia/ml were used. Different biotest methods were conducted.

Adult flies were immersed in suspension and kept for 12 days in cages. The mortality of immersed flies was studied. By using fluorescence microscopy the number of adhering conidia on flies was counted. Pupae of *R. cerasi* were put into small cages and covered with soil. Then the soil surface was sprayed with suspension. Mortality of the emerged adults was monitored.

As a result *L. muscarium* was found to be effective against the adults of *R. cerasi*. Up to 95% of the immersed flies and 100% of the flies emerging from sprayed soil died dependent

on the concentration of conidial suspension. The mortality was significantly higher than in the control group. The mortality correlated positively with the concentration of the conidial suspension.

The number of adhering conidia depends on the concentration of spores in suspension and the time between the inoculation of the flies and counting. Even at low concentration no flies were without adhering conidia. There was no preference to any body parts.

The results indicated that flies of *R. cerasi* are susceptible to the entomopathogenic fungus *L. muscarium*. In this case an effective control of flies prevents damage to cherries. Therefore, field experiments have to be carried out in the next season.

### A new beneficial in storage protection: The use of the bethylid wasp *Cephalonomia tarsalis* against the sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis*

O. Zimmermann<sup>1</sup>, M. Schöller<sup>2</sup>, S. Prozell<sup>2</sup>

<sup>1</sup> AMW Nützlinge Pfungstadt, Germany,

<sup>2</sup> BIP Berlin, Germany; amwnuetzlinge@aol.com

The bethylid parasitic wasp *Cephalonomia tarsalis* (Hym., Chrysoidea, Bethyloidea) is a natural enemy of the sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (Col., Silvanidae). It has already been recorded in grain stores in Germany. A new mass rearing method was developed and this beneficial is now available. In the rearing a sex ratio of 60% is being observed, and a harvest ratio of more than 1:10 can be reached. A collection method using a photo eclector increases the percentage of females harvested to more than 80%. Mating is usually taking place in the female's cocoon which is penetrated by the male parasitoid. *C. tarsalis* combines a number of advantages which facilitate an effective mass rearing and its practical use. For the release the very mobile adult parasitoids are used. All larval stages of the pest are being paralyzed and stop feeding immediately. A new parasitoid generation develops on the host larvae. First releases in empty stores with remains of infested grain or initial releases together with storing recently harvested grain are promising. Utilization of the new beneficial was positively accepted by the users. Host larvae have been paralyzed over distances of at least 60 meters.

It is now investigated how this successful new rearing method can be transferred to the bethylid *Holepyris sylvanidis* a natural enemy of *Tribolium* species, the flour beetles (Tenebrionidae). The objective of these studies is to mass produce and establish effective beneficials and alternative biological control methods against the most important pest arthropods in storage environments.

### Regulation of biological plant protection products in the EU

O. Strauch, R.-U. Ehlers

Institute of Phytopathology, Kiel University, Kiel, Germany; ostrauch@phytomed.uni-kiel.de

European agriculture and horticulture experience major problems with pesticide resistance, management of pesticide residues in food products and lack of control measures in minor crops. Biological control offers environmentally safe and sustainable alternatives. Biological control agents (BCAs) preserve the natural antagonistic potential of agriculture ecosystems, enhance plant health and promote plant growth resulting in increasing yields.

The exploitation of BCAs based on micro-organisms, plant-derived substances and semiochemicals, however, suf-

fers from registration requirements following the approach developed for synthetic pesticides regulation (EU Directive 91/414). Long lasting registration procedures and relatively high costs prevent the further introduction of BCAs in EU agriculture. BCAs must not be treated as synthetic chemicals and therefore need a different approach for registration. REBECA was an EU policy support action (2006-2007, [www.rebeca-net.de](http://www.rebeca-net.de)) re-viewing the regulation of biological control agents (BCAs) for plant protection. REBECA compared the regulation of BCAs in- and outside Europe, identified EU-specific problems, evaluated the risk potential of BCAs, developed methods (risk indexes) identifying low risk products and developed proposals on better adapted and reduced data requirements, reduced fees and expenditure of time, registration according to ecozones, BCAs specific regulations apart from 91/414 and a centralised EU registration.

As there are no major regulation hurdles, the biggest market share of biologicals are the so called beneficial invertebrates (insects, mites, nematodes). No EU regulation process exists for this kind of BCAs and in the past most Member States (MS) refrained from restricting their use. However, this situation is changing. Currently most of the MS develop their own regulations and the remaining States will follow. REBECA developed proposals for a balanced risk assessment and registration procedure in order to harmonize requirements and avoid an exaggeration of the potential risks.

### **Beneficial arthropods – a contribution to a necessary discussion on research and commercial use**

B. Wührer, O. Zimmermann

AMW Nützlinge Pfungstadt, Germany; [amwnuetzlinge@aol.com](mailto:amwnuetzlinge@aol.com)

While there is a strong increase of the use of beneficials in some parts of Europe, e.g. in the Almeria region of southern Spain, the market for beneficial arthropods in Germany is stagnating. Established, but stable markets and the lack of “new” beneficials might be reasons for the situation in Germany. How can we change this? The example of two companies, Katz Biotech AG and AMW Nützlinge GmbH, shows that beneficial producers do engage in significant scientific work to develop new products. Although the research is partly funded by projects and supported by various universities and/or government research organization, such support is comparatively small. Beneficial insects are often niche products with high labour costs for the production and small markets. Therefore, more support for producers and users of beneficials is urgently needed! We do need more research in the field of biological plant protection, but we also need more and better promotion for the use of these environmentally sound methods! More detailed requirements are published separately by our Entomological Society (DGaaE) working group “Beneficial Arthropods and Entomopathogenic Nematodes”.

## **Erklärung der Mitglieder des Arbeitskreises „Nutzarthropoden und Entomopathogene Nematoden“**

Am 20. und 21. November 2007 trafen sich ca. 30 Fachleute zur 26. Arbeitstagung des Arbeitskreises „Nutzarthropoden und Entomopathogene Nematoden“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG) und der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie (DGaE) im Kardinal-Döpfner-Haus in Freising. Anlässlich dieser Tagung wurde die nachfolgende Erklärung verfasst.

Der biologische Pflanzenschutz gehört zu den wichtigsten Bausteinen des integrierten Pflanzenschutzes im Gartenbau, aber auch im Feldbau, im Hopfenanbau und im Forst. Insbesondere im ökologischen Landbau, wo nur ein begrenztes Spektrum von Pflanzenschutzmitteln zur Verfügung steht, verdienen biologische Abwehrverfahren besondere Aufmerksamkeit.

Biologische Verfahren gelten als weitestgehend ökologisch verträglich und leisten einen großen Beitrag für den Erhalt der Biodiversität in agrarischen Ökosystemen. Hierzu seien das Jahr der Biodiversität 2008 in der EU und die UN-Biodiversitätskonferenz im Mai 2008 in Bonn angemerkt. Die Weiterentwicklung und Anwendung biologischer Verfahren treffen zudem die Ziele des Reduktionsprogramms chemischer Pflanzenschutz und der aktuellen Pflanzenschutzpolitik der EU, da nicht nur die Reduktion der Anwendung chemischer Pflanzenschutzmittel sondern ausdrücklich die Anwendung von Alternativen zum chemischen Pflanzenschutz gefordert werden.

Dies erfordert eine starke Forschung und intensive Beratung. Deutschland kann dabei auf eine großartige Tradition zurückblicken. Im Rahmen einer sehr abgestuften Zusammenarbeit zwischen allen Akteuren (BBA, Universitäten, Pflanzenschutzdienste und Firmen) hat sich ein effizientes Netzwerk entwickelt, das allerdings gegenwärtig zusammenzubrechen droht. Die Mitglieder des Arbeitskreises Nutzarthropoden und Entomopathogene Nematoden der DPG und DGaE sind besorgt über die abnehmenden Kapazitäten auf dem Gebiet der Forschung und Beratung zu Nützlingen und zum biologischen Pflanzenschutz. Sie appellieren, die Forschung auf diesem Gebiet wieder voranzutreiben, um die Anwendung biologischer Verfahren deutlich zu stärken und das Verständnis und die Ausnutzung natürlicher Regelmechanismen in agrarischen und forstwirtschaftlichen Ökosystemen zu verbessern. Nur so hat der biologische Pflanzenschutz eine Zukunftsperspektive.

Um die Forschung zu intensivieren, sind mehr Finanzmittel für Projekte und weitere Stellen insbesondere am Julius Kühn-Institut, an den Hochschulen und auch Landeseinrichtungen bereitzustellen und der wissenschaftliche Nachwuchs zu fördern. Dazu sind Förderschwerpunkte zum biologischen Pflanzenschutz bei der DBU, im BMELV, bei der DFG und der EU zu etablieren. Insbesondere müssen die Universitäten wieder eine „Zugpferdfunktion“ einnehmen. Um die Beratung zu aktivieren, sind entsprechende Stellen bei den Pflanzenschutzdiensten der Länder zu schaffen und die Zusammenarbeit mit Nützlingsproduzenten und anderen Beratungsdiensten zu verbessern.

Die Mitglieder des Arbeitskreises sehen besonderen Bedarf, die Forschung auf folgenden Gebieten zu aktivieren, wobei angesichts der komplexen Zusammenhänge und komplizierten Verfahren längere Laufzeiten von Projekten gefordert werden:

1. Aufklärung der Zusammenhänge zwischen natürlicher Regulation, Diversität und chemischem Pflanzenschutz in agrarischen Ökosystemen und Ableitung von Leitbildern,
2. Gegenspieler zu eingeschleppten Schaderregern, da wir uns nicht nur auf chemische Abwehr verlassen können (mitgebrachte Resistenzen),
3. Aufklärung der trophischen Wechselwirkungen zur effizienten Nutzung von Arthropoden im Rahmen eines integrierten Managements,
4. Nutzung biologischer Verfahren im Freiland,
5. Unterstützung des Zulassungsverfahrens biologischer Mittel insbesondere der Antragssteller durch Risikoforschung (Biosicherheit),
6. Ökonomische Bewertung und tragfähige finanzielle Stimulierung neuer biologischer Verfahren bei ihrer Einführung und Anwendung.

Die Mitglieder des Arbeitskreises sind gern bereit, an der Erarbeitung von entsprechenden Forschungs-, Entwicklungs- und Überführungsprogrammen mitzuwirken.

### GESETZLICHE REGELUNGEN AM PFLANZENSCHUTZGERÄTESEKTOR IN ÖSTERREICH - ERFAHRUNGEN MIT DER FREIWILLIGEN TYPENPRÜFUNG UND DER PERIODISCHEN ÜBERPRÜFUNG

Besenhofer, Gottfried<sup>1</sup>, Neururer, Hans<sup>2</sup>

<sup>1</sup>AGES - Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Bereich Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutzmittelbewertung und -zulassung, Spargelfeldstraße 191, 1226 Wien, Österreich

<sup>2</sup>Salmgasse 25/15, 1030 Wien, Österreich

Contact: gottfried.besenhofer@ages.at

Im Gegensatz zu Pflanzenschutzmittel müssen Pflanzenschutzgeräte in Österreich vor dem Inverkehrbringen weder geprüft noch zugelassen werden.

Vor 15 Jahren wurde Prof. Neururer vom damaligen Landwirtschaftsminister Dr. Fischler beauftragt, mit den Juristen seines Ministeriums ein „Geräte – Typenprüfungsgesetz“ zu erstellen. Der fertige Entwurf wurde vom Finanz- und Wirtschaftsministerium auf Grund der zu erwartenden hohen Verwaltungskosten beeinsprucht und darauf verwiesen, dass die Österreichische Arbeitsgemeinschaft für Integrierten Pflanzenschutz (ÖAIP) wie bisher auf freiwilliger Basis durch Vergabe von Gütezeichen an ordnungsgemäß ausgestattete Geräte die Applikationstechnik sicherstellen soll.

Die ÖAIP hat sich zur Erreichung dieser Zielvorgabe folgender Strategie bedient:

- a) Einrichtung eines Arbeitskreises für Anwendungstechnik innerhalb der ÖAIP, dessen Mitglieder sowohl offiziellen Stellen als auch Gerätefirmen und der Pflanzenschutzmittelindustrie sowie der Praxis angehören (derzeit 28 Mitglieder).
- b) Vergabe von Gütezeichen und Registernummern mit 10-jähriger Laufzeit auf Grund einer genauen Geräteprüfung durch eine sachkundige Prüfungskommission.
- c) Kontrolle der mit Gütezeichen versehenen Geräte auf Messen und Ausstellungen durch eine Kontrollkommission.
- d) Evidenzhaltung und Veröffentlichung des Registers der Geräte mit Gütezeichen sowohl in der Fachpresse und im Internet unter [www.oeaip.at](http://www.oeaip.at) als auch in Zeitungen und Zeitschriften, die allen Pflanzenschutztreibenden zugänglich sind.
- e) Periodische Information für Gerätefirmen über den jeweiligen Stand der Technik von Pflanzenschutzgeräten in Form der Broschüre „Umweltgerechter Pflanzenschutz nur mit funktionierenden Geräten“.

Das ÖAIP-Gütezeichen hat sich als Markenzeichen in Österreich etabliert. Über 90 % der verkauften Pflanzenschutzgeräte entsprechen den Mindestanforderungen der ÖAIP und tragen das ÖAIP-Gütezeichen.

#### Periodische Überprüfung von Pflanzenschutzgeräten

In Österreich gibt es keine bundesgesetzlich verpflichtende Prüfung von in Gebrauch befindlichen Pflanzenschutzgeräten. Die Kontrolle der Anwendung von Pflanzenschutzmitteln und damit auch die Durchführung der periodisch wiederkehrenden Kontrolle auf gesetzlicher Basis fallen in die Kompetenz der Länder. Derzeit sind keine einheitlichen Regelungen bzw. Verordnungen der Länder zur periodischen Gerätekontrolle vorhanden. Nur im Bundesland Salzburg ist die periodische Geräteüberprüfung per Landesverordnung im dreijährigen Turnus vorgeschrieben.

Die für die Teilnahme an bestimmten Umweltprogramm-Maßnahmen verpflichtende Geräteüberprüfung ist in Österreich derzeit die einzige (Bundesland Salzburg ausgenommen) vorgeschriebene Prüfung von in Gebrauch befindlichen Pflanzenschutzgeräten.

Für folgende ÖPUL-Maßnahmen ist die Geräteüberprüfung innerhalb des Verpflichtungszeitraumes von drei Jahren vorgeschrieben:

- Biologische Wirtschaftsweise
- Integrierter kontrollierter Obst- und Weinbau
- umweltgerechte Bewirtschaftung von Acker- und Grünlandflächen, wenn das Gerät eingesetzt wird in Kartoffeln, Heil- und Gewürzpflanzen, Rüben, Alternativkulturen und Saatgutvermehrungen, Gemüse (inkl. Ölkürbis), Zierpflanzen und Baumschulen, Erbeeren

Derzeit sind 114 Werkstätten zur Überprüfung von Feldspritzen und Sprühgeräten autorisiert. Die Liste der Werkstätten ist unter [blt.josephinum.at](http://blt.josephinum.at) abrufbar. Im ersten dreijährigen Verpflichtungszeitraum wurden insgesamt 12.881 Pflanzenschutzgeräte überprüft, 45 % davon waren Feldspritzgeräte, 55 % Sprühgeräte. Mit dieser Regelung werden österreichweit derzeit etwa 35.000 Betriebe und etwa 400.000 ha Fläche (~ 1/3 der Ackerfläche) erfasst. Neugeräte mit dem Gütezeichen der ÖAIP gelten für den Zeitraum von 3 Jahren ab Kaufdatum als geprüft.

#### **ABTRIFTRISIKO BEI DER HUBSCHRAUBERAPPLIKATION IM WEINBAU**

Bäcker, Gerhard<sup>1</sup>; Frießleben, Reinhard<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*FA Geisenheim, von Ladestr. 1, D65366 Geisenheim*

<sup>2</sup>*Bayer Cropscience, Alfred-Nobel-Str. 50, D 40789 Monheim*

Contact: [g.baecker@fa-gm.de](mailto:g.baecker@fa-gm.de)

Ein Vorschlag der Europäischen Kommission vom Juli 2006 für eine Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates über den „Aktionsrahmen der Gemeinschaft zum nachhaltigen Einsatz von Pestiziden“ tangiert u. a. auch die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln mit Luftfahrzeugen. Bekanntermaßen wird dieses Verfahren auch im Steillagenweinbau praktiziert. Unter den gegenwärtigen Produktionsbedingungen gibt es für Weinbergssteillagen, deren Hangneigung eine Bearbeitung im Direktzug nicht mehr zulässt, bei der Pflanzenschutzmittelapplikation jedoch keine wirtschaftlich und ökologisch vertretbaren Alternativen zum Hubschraubereinsatz. Von einem Verbot oder einer weiteren Einschränkung der Hubschraubereapplikation wären vor allem die Spitzenlagen des deutschen Weinbaues betroffen, was eine ernsthafte Existenzgefährdung des Steillagenweinbaues insgesamt zur Folge hätte. Auf Grund der engen Verknüpfung von Weinbau und Fremdenverkehr wäre nicht nur für die Weinwirtschaft, sondern für die gesamte wirtschaftliche Entwicklung der betroffenen Regionen mit unabsehbaren Folgen zu rechnen.

Da bisher keine soliden Messergebnisse verfügbar waren, erfolgte die Bewertung des Hubschraubereinsatzes anhand mehr oder weniger subjektiver Kriterien mit einer unrealistischen und weit überzogenen Einschätzung der ökologischen Risiken. Dies zeigt sich besonders deutlich bei der Bewertung des Hauptrisikofaktors Abtrift. Vom Fachgebiet Technik der FA Geisenheim wurde deshalb in Zusammenarbeit mit Bayer CropScience und verschiedenen Partnern vor Ort im Jahre 2004 in der Champagne eine umfangreiche Abtriftstudie nach BBA-Richtlinie VII, 2-1.1 durchgeführt. Um das Dabei konnte dabei festgestellt werden, dass das Abtriftpotential beim Hubschraubereinsatz, sofern abtriftmindernde Maßnahmen realisiert werden, größenordnungsmäßig mit dem bodengängiger Verfahren vergleichbar ist. Ergänzende



Messungen, die im Jahre 2006 unter echten Steillagenbedingungen in der Gemarkung Briedel an der Mosel durchgeführt wurden, kamen zu ähnlichen Ergebnissen.

### **ABTRIFTRISIKO BEI DER HUBSCHRAUBERAPPLIKATION IM WEINBAU**

Bäcker, Gerhard<sup>1</sup>, Frießleben, Reinhard<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Forschungsanstalt Geisenheim, Fachgebiet Technik, Brentanostr. 9, 65366 Geisenheim*

<sup>2</sup>*Bayer CropScience, Applikation Technology, Alfred-Nobel-Str. 40, 40789 Monheim*

Contact: [g.baecker@fa-gm.de](mailto:g.baecker@fa-gm.de)

Ein Vorschlag der Europäischen Kommission vom Juli 2006 für eine Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates über den „Aktionsrahmen der Gemeinschaft zum nachhaltigen Einsatz von Pestiziden“ tangiert u. a. auch die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln mit Luftfahrzeugen. Bekanntermaßen wird dieses Verfahren auch im Steillagenweinbau praktiziert. Unter den gegenwärtigen Produktionsbedingungen gibt es für Weinbergssteillagen, deren Hangneigung eine Bearbeitung im Direktzug nicht mehr zulässt, bei der Pflanzenschutzmittelapplikation jedoch keine wirtschaftlich und ökologisch vertretbaren Alternativen zum Hubschraubereinsatz. Von einem Verbot oder einer weiteren Einschränkung der Hubschrauberapplikation wären vor allem die Spitzenlagen des deutschen Weinbaues betroffen, was eine ernsthafte Existenzgefährdung des Steillagenweinbaues insgesamt zur Folge hätte. Auf Grund der engen Verknüpfung von Weinbau und Fremdenverkehr wäre nicht nur für die Weinwirtschaft, sondern für die gesamte wirtschaftliche Entwicklung der betroffenen Regionen mit unabsehbaren Folgen zu rechnen.

Da bisher keine soliden Messergebnisse verfügbar waren, erfolgte die Bewertung des Hubschraubereinsatzes anhand mehr oder weniger subjektiver Kriterien mit einer unrealistischen und weit überzogenen Einschätzung der ökologischen Risiken. Dies zeigt sich besonders deutlich bei der Bewertung des Hauptrisikofaktors Abtrift. Vom Fachgebiet Technik der FA Geisenheim wurde deshalb in Zusammenarbeit mit Bayer CropScience und verschiedenen Partnern vor Ort im Jahre 2004 in der Champagne eine umfangreiche Abtriftstudie nach BBA-Richtlinie VII, 2-1.1 durchgeführt. Um das Dabei konnte dabei festgestellt werden, dass das Abtriftpotential beim Hubschraubereinsatz, sofern abtriftmindernde Maßnahmen realisiert werden, größenordnungsmäßig mit dem bodengängiger Verfahren vergleichbar ist. Ergänzende Messungen, die im Jahre 2006 unter echten Steillagenbedingungen in der Gemarkung Briedel an der Mosel durchgeführt wurden, kamen zu ähnlichen Ergebnissen.

### **WELCHE INNOVATIONEN BRAUCHT DIE PFLANZENSCHUTZTECHNIK FÜR DIE LANDWIRTSCHAFT IM NÄCHSTEN JAHRZEHNT?**

Frießleben, Reinhard<sup>1</sup>, Schenk, Andreas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Bayer CropScience, Applikation Technology, Alfred-Nobel-Str. 40, 40789 Monheim*

<sup>2</sup>*Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Anwendungstechnik, amtliche Geräteprüfung, Kreuzbreite 4, 85354 Freising*

Contact: [Andreas.Schenk@LfL.bayern.de](mailto:Andreas.Schenk@LfL.bayern.de)

**Ausgangs: DLG Positionspapier (2007) Innovationsbedarf für den zukünftigen praktischen Pflanzenschutz**

Heutiger Pflanzenschutz kommt häufig spät, ist zu wenig zielgenau, erreicht die Zielfläche ungenügend, ist mit hohen Mittelverlusten verbunden, hat wenig Schlagkraft, fährt viel Gewicht spazieren, ist letztlich unnötigerweise umweltbelastend und teuer!

### **Lösungsansätze:**

- Selbstfahrer überbetrieblich eingesetzt mit 20 km/h Applikationsgeschwindigkeit
- hohe Durchgangshöhe, Arbeitsbreite 36 – 48 m bei hoher Gestängestabilität
- Wasseraufwand 50 L/ha (max. 100 L/ha) à Formulierung und Düsentchnik sind anzupassen
- Behältergrößen 2000 L (Max. 3000 L) Reifenbreite und Innendruck optimiert
- standardmäßige Direkteinspeisung
- Normaleinsatzzeitraum ist nachts (Thermik, Wind, Verdunstung)
- teilflächenspezifische Applikation wird Standard für Herbizide und Halmverkürzer
- interdisziplinärer Forschungsbedarf notwendig

### **Systemorganisation**

- Geräteeinsatz erfolgt überbetrieblich durch professionelle Pflanzenschutzunternehmen
- Einsatzort und Dokumentation sind GIS basiert
- Logistik der Pflanzenschutzmittel erfolgt zentral – Barcodes
- Diagnosesysteme aus dem Weltraum und dem Feldrand entwickeln

### **Thesen zur Entwicklung von Verfahren und Technik des Pflanzenschutzes bis 2020**

- Die europäische Forschung / Entwicklung und Fertigung von Pflanzenschutztechnik und staatliche Überwachung beeinflusst globale Trends
- Hydraulische Applikation von Pflanzenschutzmittel bleibt die dominierende Form der Ausbringung - weitere innovative Applikationsmethoden wie „Beizung“ werden ausgeweitet – Wasser bleibt Hauptträgermedium
- Innovative Wirkstoffe und Formulierungen verbessern Wirkung, Sicherheit und Resistenzmanagement, werden aber die Möglichkeiten der derzeitigen Applikationsverfahren nicht wesentlich erweitern
- Applikationstechnik wird kontinuierlich weiterentwickelt zum Zwecke der Reduzierung des Eintrages von PSM in die Umwelt, der Verbesserung des Anwenderschutzes, der Leistungssteigerung und der Wirkungsoptimierung von PSM
- Notwendige technische Detaillösungen: Gestängeführung, Bodenfreiheit, Bodendruckminimierung, spurtreuer Nachlauf usw. werden kontinuierlich weiterentwickelt
- Applikationstechnik leistet einen wesentlichen Beitrag zur Reduzierung von Punkteinträgen à Minimierung von Restmengen, Reinigung von Geräten und Verwertung der Reinigungsbrühen
- Derzeitige deutliche Erfolge bei der Driftreduzierung dürfen nicht zu Lasten von Wirkungsminderungen ausgeweitet werden
- Leistungssteigerung der Pflanzenschutzmittelapplikation wird durch optimierte Brüheaufwandmengen (Indikationsabhängig), Arbeitsbreiten, Kombinationen von Applikationen (incl. AHL) und angepasste Fahrgeschwindigkeiten (?) unterstützt
- Leistungssteigerungen sind vor allem durch intelligente Verfahrensgestaltung zu erreichen – Wasser / PSM - Anlieferung; GPS; Nachtapplikationen
- Precision farming – teilflächenspezifische Applikation – wird an Bedeutung gewinnen:
- Fortschritte in Elektronik, Sensortechnik,

- Direkteinspeisungssysteme
- Erstellung von erfahrungsbasierten Applikationskarten
- Festlegung von Applikationsparametern in Abhängigkeit von messbaren Zielflächeneigenschaften und Witterungsfaktoren
- Ökonomische Möglichkeiten von Precision farming sind zu kalkulieren
- Heterogenität der Anbauflächen und des Schaderregerauftretens sind dabei zu bewerten
- Je nach Leitindikationen, Kosten des Pflanzenschutzmitteleinsatzes und entsprechend des Wertes der zu behandelnden Kultur wird Precision farming differenziert zu betrachten sein
- Dokumentation von Maßnahmen (tracability) wird stark erweitert
- Vermeidung von Fehlanwendungen
- Applikationstechnik wird Querschnittstechnik bleiben – d.h. nur für spezielle Indikationen und PSM werden Spezialgeräte entwickelt
- Pflanzenschutz bleibt Kernkompetenz spezialisierter Marktfruchtbetriebe – Lohnunternehmer werden in Veredelungsgebieten Bedeutung behalten
- Ökonomische Rahmenbedingen für den Pflanzenschutzmitteleinsatz gelten weiterhin, was auch hohe Anforderungen an **Robustheit** und Lebensleistung von Geräten stellt
- Leistungssteigerung wird nicht durch Kompromisse bei Wirkung, Wirkungssicherheit und Umweltschutz erzielt werden können
- Branchenübergreifende **Querschnittsforschung** zur Festlegung optimaler Applikationsparameter, Verfahren und Techniken wird an Bedeutung gewinnen
- Die Gründung einer zeitweiligen Arbeitsgruppe des DPG Arbeitskreises zum Thema: **Innovationen in der Geräteentwicklung** wurde angeregt, Leiter ist A. Schenk.

## NEUORGANISATION DER BUNDESFORSCHUNG UND KONSEQUENZEN FÜR DIE BBA-GERÄTEPRÜFUNG

Ganzelmeier, Heinz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Biologische Bundesanstalt, Fachgruppe Anwendungstechnik, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland*

Contact: [H.Ganzelmeier@bba.de](mailto:H.Ganzelmeier@bba.de)

Das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz benötigt zur Erledigung seiner Aufgaben eine auf seine Bedürfnisse ausgerichtete, wissenschaftliche Forschung. Die derzeit bestehenden 7 Bundesforschungsanstalten werden auf die folgenden 4 Bundesforschungsinstitute konzentriert.

- 1. Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen – Quedlinburg (BFK)
- 2. Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit – Insel Riems
- 3. Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel – Karlsruhe
- 4. Bundesforschungsinstitut für Ländliche Räume und nachhaltige Ressourcennutzung – Braunschweig

Das BFK wird gebildet aus Teilen der FAL, der BBA und der BAZ. Das BFK verfügt künftig über 15 Institute an 6 Standorten mit 657 Planstellen.

Die Fachgruppe Anwendungstechnik wird umbenannt in Institut für Anwendungstechnik und - wie alle Braunschweiger BBA-Institute - seinen Standort in Braunschweig behalten. Die Aufgaben in der Pflanzenschutzgeräteprüfung werden weitergeführt und an die neuen Herausforderungen der Europäischen Kommission, die aus der „Thematischen Strategie für einen nachhaltigen Pflanzenschutz“ resultieren, angepasst.

Neue Aufgaben ergeben sich mit der Einführung einer Pflichtkontrolle für in Gebrauch befindliche Pflanzenschutzgeräte und der Einführung eines Zertifizierungssystems für neue Pflanzenschutzgeräte in den Mitgliedstaaten. Für Deutschland besteht hier kein Nachholbedarf, da diese Verfahren hier bereits seit mehr als einem Jahrzehnt eingeführt sind und mit Erfolg praktiziert werden.

## **GROBTROPFIGE DÜSEN ZUR BEKÄMPFUNG VON UNKRÄUTERN IN ZUCKERRÜBEN**

Knewitz, Horst<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*DLR RNH, Bad Kreuznach*

*Contact: Horst.Knewitz@dlr.rlp.de*

Die von der Praxis bemängelte Wirkungsminderung bei grobtropfiger Applikation wurde auch in dem vorliegenden Versuch bestätigt. Dies bedeutet jedoch für die Praxis nicht, generell keine abdriftarmen Düsen einzusetzen, sondern es sollte lediglich in kritischen Anwendungsfällen auf die besonders grobtropfig zerstäubenden Typen verzichtet werden. Nach dem vorliegenden, einjährigen Ergebnis scheint es, dass ab einem MVD >400 die Wirksamkeit bei blattaktiven Rübenherbiziden stärker abnimmt. Bei praxisüblicher Mittelwahl und Aufwandmenge dürften bis zu einem MVD von ca. 400 keine Unterschiede zur feintropfigen Behandlung auftreten.

Am DLR RNH in Bad Kreuznach wurden in den letzten Jahren mehrere Herbizidversuche mit Parzellenspritzgeräten in Zuckerrüben durchgeführt. Weil im Versuchswesen technisch nicht anders möglich, waren die Anforderungen an den Arbeitsdruck nicht den Bedingungen in der Praxis entsprechend. Da aber Mittelwahl und Aufwandmenge im praxisüblichen Bereich lagen, nahm die Wirksamkeit nur bei den extrem grobtropfigen Varianten, wie z.B. bei der IDN Düse bei 2 bar, stärker ab. Hier liegt der MVD als Kennwert des Tropfenspektrums um 800 µm, so dass man hier von sehr grobtropfig sprechen muß. Bei den restlichen Injektordüsen war die Minderwirkung so gering, dass sie vermutlich in einem höheren Druckbereich - so wie bei Feldspritzgeräten üblich - kaum noch Unterschiede zur XR Düse gezeigt hätten.

Es ist außerdem zu berücksichtigen, dass grobtropfige Zerstäubung weniger wetterabhängig ist als feintropfige Applikation. Die Bedeutung dieses Sachverhaltes kann im Versuchswesen schlecht dargestellt werden. Im Frühjahr sind Witterungsphasen mit stärkerem Wind häufig, so dass in der Praxis die Nachteile der feintropfigen Zerstäubung, wie Drift und sehr kurze Lebensdauer der Tropfen, zum Tragen kommen. Die Empfehlung für die Praxis sollte deshalb lauten, auch beim Herbizideinsatz in Rüben abdriftarme Düsen zu verwenden, diese aber eher an der oberen Grenze des empfohlenen Druckbereiches einzusetzen. Auf die extrem grobtropfigen Typen wie IDN und TTI sollte zumindest unter sehr trockenen Bedingungen eher verzichtet werden. Die beobachtete Differenzierung der Wirksamkeit bei 200 l/ha und in Abhängigkeit zum MVD kann nicht einfach auf Praxisbedingungen übertragen werden, weil Phenmedipham bzw. ein blattaktiver Wirkstoff allein zur Kontrolle von Unkräutern in Rüben nicht eingesetzt wird. Ziel der Untersuchung war nicht, ein „sauberer“ Rübenacker sondern applikationsbedingte Effekte unterschiedlicher Tropfenspektren herauszuarbeiten. Die Ergebnisse tragen also zum besseren Verständnis der komplexen Zusammenhänge bei und werden zum Anlass genommen, darauf hin zu wirken, dass die Wirksamkeit bei der Einstufung als verlustmindernde Technik stärker berücksichtigt wird als derzeit.

## **NEUE ANSÄTZE FÜR DIE FESTLEGUNG VON ABSTANDSAUFLAGEN BEIM PFLANZENSCHUTZMITTELEINSATZ**

Koch, Heribert<sup>1</sup>, Golla, Burkhard<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*DLR RNH, Bad Kreuznach*

<sup>2</sup>*Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Folgenabschätzung im Pflanzenschutz, Kleinmachnow*

*Contact: heribert.koch@dlr.rlp.de*

Die bisherigen Anwendungsbestimmungen werden seit Jahren seitens der Landwirtschaft – so auch in der Bund-Länder-Arbeitsgruppe „Überprüfung der Abstandsregelungen zu Gewässern und Saumbiotopen“ – als Ursachen für die mangelnde Verfügbarkeit von Pflanzenschutzmitteln z. B. in gewässerreichen Regionen sowie als praxisfern und für den Anwender nicht verständlich kritisiert. Aus diesem Grunde sind die am Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel beteiligten Behörden im Rahmen ihrer jeweiligen Zuständigkeiten bestrebt, eine Vereinfachung der betreffenden Regelungen herbeizuführen. Kernpunkt hierbei ist die Abwägung der Kriterien Praktikabilität, Einhaltbarkeit und Überprüfbarkeit der Bestimmungen, Schutz der Kulturpflanzen bei gleichzeitiger Sicherstellung des gebotenen Schutzniveaus für den Naturhaushalt. Mit dieser Zielstellung wird derzeit ein Paradigmen-Wechsel bei der Bewertung der Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln im Rahmen der Zulassung vorbereitet. Vorgesehen ist, das bisherige deterministische Bewertungsverfahren durch probabilistische Methoden zu verfeinern. Ziel ist dabei, die Verfügbarkeit von Pflanzenschutzmitteln sowie die Praktikabilität, Einhaltbarkeit und Überprüfbarkeit der Anwendungsbestimmungen zu verbessern, ohne dass das hohe Schutzniveau für den Naturhaushalt beeinträchtigt wird.

Die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft hat auf Basis amtlicher Geodaten ein räumlich gestuftes Verfahren der georeferenzierten probabilistischen Expositionsabschätzung entwickelt, welches die Expositionssituation des Naturhaushalts, zunächst für den Bereich Aquatik und die Exposition durch Abdrift, realistischer beschreibt. Das Konzept berücksichtigt zahlreiche Fachgespräche, die zwischen BVL, UBA, BBA und teils externen Experten in den vergangenen Monaten stattgefunden haben. Weitere Ansatzpunkte ergeben sich bezüglich des Windauftretens, d.h. der Wahrscheinlichkeit von Windrichtung und Windstärke (Koch, 2006). Neben der Einbeziehung georeferenzierter und verteilungsbasierter Parameter wird darin auch eine Vorgehensweise zur Verwendung der den BBA-Abdrifteckwerten zugrunde liegenden Datensätze entwickelt.

## **METHODIK DER BELAGSMESSUNG BEI APPLIKATIONSTECHNISCHEN UNTERSUCHUNGEN IN WEINREBEN**

Koch, Heribert<sup>1</sup>, Stub, Oliver<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*DLR RNH, Bad Kreuznach*

*Contact: heribert.koch@dlr.rlp.de*

Zerstäubung und Retention von Spritzflüssigkeiten auf Pflanzenoberflächen sind abhängig von den physikalischen Eigenschaften der ausgebrachten Mischung und den Oberflächen der Zielobjekte im Bestand.

Pflanzenschutzmittel stehen als sehr unterschiedliche Formulierungen zur Verfügung und beeinflussen sowohl die Zerstäubung als auch die Retention auf Pflanzen, deren Oberflächen wiederum selbst Einfluss nehmen auf Belagsbildung und Belagsstruktur. Die Applikation von Pflanzenschutzmitteln ist als eine Abfolge überlappender Schritte von Zerstäubung über

Tropfentransport, Retention und Bildung des Initialbelags an ungeordnet positionierten und beliebig ausgerichteten Zielobjekten zu verstehen. Diese überlappenden Zufallsprozesse resultieren in einer weiten Variabilität der Belagsmassen (ng/cm<sup>2</sup>) auf den Zielobjekten eines Bestandes. Ein zusätzlich das Geschehen stark beeinflussender Faktor ist die Wasseraufwandmenge, die als Trägermaterial benötigt wird und damit bedeutsam ist für Belagsbildung, Belagsmasse und Bedeckungsgrad.

In dieser Arbeit wurde die Phase von Retention und Belagsbildung mit einer Videokamera aufgezeichnet, um Auswirkungen unterschiedlicher im Weinbau eingesetzter Fungizide auf die Retention vergleichen zu können. Es wird deutlich, dass die untersuchten Fungizide die Eigenschaften der Spritzflüssigkeit verändern und damit erheblichen Einfluss auf die Belagsstruktur und die Verteilung im Bestand haben.

Auf Grund der Video-Sequenzen und erster Belagsmessungen können folgende Aussagen getroffen werden:

- Die verschiedenen Fungizide verändern die Flüssigkeitseigenschaften erheblich, was sich in verschiedenen Belagsstrukturen zeigt.
- Es zeigen sich deutliche Unterschiede auf den 4 relevanten Zielobjekt-Typen bei Reben (Blattober- und –unterseite, Stielgerüst, Beeren).
- Abweichende Eigenschaften der Spritzflüssigkeit führen zu unterschiedlichen Belagsmassen.
- Durch Zusatz eines Additivs, das die Oberflächenspannung senkt, verändern sich Belagsstruktur und Belagsmassen (ng/cm<sup>2</sup>).

Reben, bzw. die genannten Organe der Reben sind je nach Entwicklungsstadium unterschiedlich anfällig für Pilzkrankheiten. Dies ist epidemiologisch relevant und sollte auch bei Belagsmessungen zur Untersuchung der Applikationsqualität berücksichtigt werden. D.h., je nach Zielsetzung sollte zwischen Blattober- und Blattunterseite, dem Stielgerüst der Trauben und den Beeren unterschieden werden. Diese Oberflächen zeigen sehr spezifisches Retentionsverhalten.

## **ZUSATZ VON ADDITIVEN ZUR SPRITZFLÜSSIGKEIT IM HINBLICK AUF RETENTION, PENETRATION, ABTRIFTMINDE-RUNG UND LEACHING IM BODEN AM BEISPIEL DER UMWELTSCHONENDEN GOLFPLATZPFLEGE**

Neururer, Hans<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AGES Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH,

Spargelfeldstrasse 191, 1226 Wien, Österreich

Contact: Hans.Neururer@aon.at

Sport- und insbesondere Golfplätze gelten als sensible Bereiche, weshalb z.B. in Deutschland die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln landesweit auf Golfplätzen auf Grund der Länderkompetenz genehmigungspflichtig ist.

In Österreich haben wir ebenfalls keine Indikationszulassung von Präparaten für Golfplätze; wir gehen aber davon aus, dass Mittel, die auf Grünland, Rasenflächen und im Zierpflanzenbau zugelassen sind auch auf Golfplätzen verwendet werden können. Um das Risiko einer Umweltbelastung gering zu halten, wird jedes Jahr zu Beginn der Spielsaison ein aktueller Hinweis für umweltschonende Golfplatzpflege über den Österreichischen Golfverband an alle Golfplatzbetreiber gerichtet. In diesem Hinweis werden nur Pflanzenschutzmittel entsprechend dem Auftreten von Schädlingen, Krankheiten und Unkräutern empfohlen, die für die Grundwasser- und Oberflächengewässerbelastung eine Gefahrenzahl von unter 200 aufweisen.

Die Gefahrenzahl ( $G_1$ ) eines Präparates wird nach der Formel errechnet:

$$G_1 = \frac{A \times L \times P}{T}$$

$G_1$  = Gefahrenzahl des Produktes; A = Wirkstoff in kg/l/ha; L = Löslichkeit in ppm;  
P = Persistenz in Tagen; T = Toxizität  $LC_{50}$  in  $\mu\text{g/l}$

Diese zusätzliche Auswahl der Produkte und deren sachkundige Handhabung haben dazu geführt, dass heute Golfplätze im Vergleich zu ackerbaulich genutzten Flächen bei sachgemäßer Handhabung der Produkte keine Grundwasserbelastung durch Pestizide darstellen. Ständige Untersuchungen von Wasserproben bestätigen diese Tatsache.

Die Strategie einer zeitgemäßen umweltschonenden Golfplatzpflege basiert in Österreich auf folgenden Voraussetzungen:

- a) Schulung der Greenkeeper. Nach entsprechender Vorpraxis werden Greenkeeper an der Golfakademie in drei mehrwöchigen Lehrgängen u.a. auch über den Einsatz von Pestiziden unterrichtet. In der Regel ist auf jedem Golfplatz mindestens ein Absolvent der Golfakademie tätig.
- b) Da auf Golfplätzen häufig zahlreiche Oberflächengewässer und schützenswerte Biotope vorhanden sind, wird auf die Verwendung abtriftmindernder Geräte großer Wert gelegt.
- c) Durch Zusatz von Ölen, AHL oder speziellen Netzmitteln tritt eine Wirkungssteigerung und Minderung des Verlustes durch Thermikabtrift ein, wodurch eine Reduzierung des Mittelaufwandes möglich ist. Die auf Golfplätzen häufig verwendeten Wetting Agent-Produkte wie z.B. AquaGro L, Kick, Alleviate, Respond, Primer, Aqua Doc, Dispatch udgl. sollen vor allem auch eine bessere Verteilung der Spritzlösung im Boden gewährleisten und dadurch die Wirkung gegen typische Golfrauskrankheiten wie Hexenringe, Ophiobolus und Pythium verbessern. Wetting Agent-Produkte werden gelegentlich auch zur Vermeidung der Taubildung auf Golfplätzen verwendet. Zu häufiges Einsetzen kann aber zu verstärktem Leaching führen und dadurch eine Erhöhung der Nitrat- und Pestizidbelastung des Grundwassers bewirken.
- d) Die im Zusammenhang mit der Ausarbeitung des Verätzungstestes durchgeführten elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Blattoberflächen (Epidermis, Cuticula, Trichome) lassen den Einfluss von Additiven bezüglich Retention und Penetration unter bestimmten Witterungsbedingungen für die jeweiligen Pflanzenarten voraussagen.

## MITTEILUNGEN

### Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

#### Arbeitskreis Phytobakteriologie der DPG

Der Arbeitskreis Phytobakteriologie traf sich am 27. und 28. September 2007 in Quedlinburg im heutigen Julius Kühn-Institut - Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI), Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik (2007 noch Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen). Gastgeber des sehr gut organisierten Treffens war Dr. Klaus RICHTER mit seiner Arbeitsgruppe. 19 Vorträge wurden gehalten, die sowohl praktische als molekulare Aspekte der Phytobakteriologie behandelten.

(Stellvertretende AK-Leiterin: Dr. Esther Moltmann, Stuttgart)

Die Zusammenfassungen der Vorträge werden im Folgenden wiedergegeben.

#### Untersuchungen zur Apfelproliferation in Genbank und Zuchtmaterial

##### G. Barchend

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (seit 2008 Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen), Quedlinburg

E-Mail: gudrun.barchend@jki.bund.de

In den letzten Jahren trat in den Apfelpflanzungen der Versuchsfelder des IOZ Dresden Pillnitz die Apfelproliferation auf, die durch Phytoplasmen hervorgerufen wird. Entsprechend den Zertifizierungsrichtlinien der EPPO muss obstbauliches Pflanz-, Veredlungs- und Zuchtmaterial, das für die Weitergabe an potenzielle Nutzer vorgesehen ist, frei von diesem Quarantäneerreger sein. Deshalb wurden Maßnahmen ergriffen, die Anlage zu bereinigen bzw. gesund zu erhalten.

Als mögliche Quelle zur Verbreitung der AP müssen u. a. die Unterlagen, die in großem Umfang zugekauft und eingesetzt werden, angesehen werden. Stichprobenartig wurden Unterlagen verschiedener Herkunft (Einzelproben) mittels PCR geprüft. Dafür wurden die Apfeltriebsucht spezifischen Primer fAT/rAS verwendet. In 47 von 117 untersuchten Wurzelproben ließen sich Phytoplasmen nachweisen. Daraus ergibt sich, dass die verwendeten Unterlagen ein nicht zu unterschätzendes Infektionsrisiko darstellen.

Für eine hohe Testsicherheit ist die Probenahme entscheidend. Im Falle der Phytoplasmen wird eine ungleichmäßige Verteilung des Erregers im Wirt angenommen. Um die Korrelation zwischen Phytoplasmenbefall in Wurzel und Reis zu prüfen, wurden Bäume mit AP-Symptomen gerodet und Proben sowohl von allen Wurzeln als auch Reisern gezogen. Unsere Untersuchungen zeigten, dass das Vorkommen der Erreger in Wurzel und Reis in der Regel gut korrelierten. Es gab auch Bäume wo nur ein geringer Befall der Wurzeln mit AP detektierbar war, aber alle getesteten Reiser mit dem Erreger infiziert waren. Um eine zuverlässige Aussage über das Vorkommen von Phytoplasmen machen zu können, ist somit eine Probenahme von verschiedenen Wurzeln und Reisern erforderlich.

Das im IOZ erhaltene Material ist für zukünftige Zuchtprozesse sehr wichtig. Daher ist es von vitaler Bedeutung, Möglichkeiten zu finden, von verseuchtem Material gesunde Nachkommen zu erhalten. Hierfür könnte die Erkenntnis von Nutzen sein, dass zum einen die Verteilung der Phytoplasmen im Baum sehr ungleichmäßig war und sich der Erreger in der Regel von Dezember bis März in den Reisern nicht nachweisen

ließ. Dieser Umstand sollte genutzt werden, um Reiser, die frei von Phytoplasmen sind, für die Veredlung zu entnehmen. Um den optimalen Zeitpunkt für die Entnahme gesunder Reiser zu ermitteln, wurden im Winter 2007 von 10 Bäumen mit AP-Symptomen im Abstand von 8 Tagen (10.01.2007 bis 14.03.2007) je 3 Reiser Baum entnommen und getestet. Wir konnten feststellen, dass bei 4 Bäumen erst ab dem 07.02./14.02. der Nachweis von Phytoplasmen möglich war. Die Reiser dieser Bäume zeigten mit max. 23 % eine geringere Verseuchung als die Bäume (33-92%), in denen bereits ab dem 10.01. Phytoplasmen gefunden werden konnten. In den vorangegangenen Jahren war von Januar bis März der sichere Nachweis von Phytoplasmen nur in der Wurzel, nicht aber im Reis möglich. 2006/07 war jedoch ein recht milder Winter und möglicherweise waren die Phloemzellen, in denen sich die Phytoplasmen vermehren, nicht vollständig abgestorben. Es ist deshalb zu prüfen, ob sich diese Ergebnisse im Winter 2008 wiederholen lassen, um die Entnahme phytoplasmafreier Reiser zu gewährleisten.

(DPG AK Phytobakteriologie)

#### Untersuchungen zur Schleimkrankheit an Pelargonien

##### J. Engel und K. Richter

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Resistenzressourcen (seit 2008 Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen), Quedlinburg

E-Mail: josefine.engel@jki.bund.de

Der Erreger der Schleimkrankheit *Ralstonia solanacearum* (Rasse 3, Biovar 2) wurde im Jahre 2000 erstmals in Deutschland an Pelargonien nachgewiesen. Die Schleimkrankheit ist eine nicht chemisch bekämpfbare Quarantänekrankheit, mit deren Auftreten erhebliche finanzielle Einbußen verbunden sind.

*R. solanacearum* ist ein gram negatives, stäbchenförmiges Bakterium mit polarer Begeißelung. Es ist bodenbürtig und dringt vor allem über verletzte Wurzeln in die Pflanzen ein.

Vor dem Auftreten an Pelargonien hatte die Schleimfäule bereits große Verluste im Kartoffelanbau verursacht. So ist es nicht verwunderlich, dass die *R. solanacearum*-Stämme in der Bakterienstammsammlung des Institutes für Epidemiologie und Resistenzressourcen der Bundesanstalt für Züchtungsforschung hauptsächlich aus Kartoffeln isoliert worden sind. In Vorbereitung eines gemeinsamen Forschungsprojektes mit der Firma Elsner pac® Jungpflanzen Dresden, in dem die Widerstandsfähigkeit von Pelargonien gegenüber der Schleimfäule untersucht werden soll, wurden deshalb 18 Erregerstämme aus dieser Sammlung aktiviert und ihre Pathogenität und Virulenz an Pelargonien ermittelt. Dabei hat sich gezeigt, dass 10 dieser Isolate Symptome an Pelargonien hervorrufen konnten. Zwischen den Stämmen traten jedoch erhebliche Virulenzunterschiede auf. Ein Isolat mit besonders hoher Virulenz wurde für die Resistenzuntersuchungen selektiert.

(DPG AK Phytobakteriologie)



## Untersuchungen zum Vorkommen und Nachweis von *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* an Tomatenkulturen

Radwan Ftayeh, Andreas von Tiedemann und Klaus Rudolph

Fachgebiet für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz der Universität Göttingen, Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen  
E-Mail: rftayeh@gwdg.de

Die bakterielle Tomatenwelke, verursacht durch *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*), ist die gefährlichste Bakterienkrankheit der Tomate in Deutschland, weltweit verbreitet und als eine Quarantäne-Krankheit bei EPPO gelistet. In den letzten Jahren trat die Krankheit auf der Insel Reichenau auf, verbreitete sich weiter, und auch an anderen Standorten Deutschlands nahmen Schäden durch *Cmm* zu. In Göttingen wurden in den letzten Jahren mehrere Aspekte der Krankheit untersucht und über 50 *Cmm*- Stämme aus verschiedenen Regionen Deutschlands und anderen Ländern isoliert und charakterisiert.

Die Krankheit wird durch hohe Temperaturen gefördert und tritt deshalb in wärmeren Jahren stärker auf. So war in unseren Versuchen die Symptomausprägung bei 30/25 °C oder 25/23 °C (Tag-/ Nachttemperatur) schneller und heftiger als bei 18 oder 15 °C.

Der Erreger hat eine sehr lange Inkubationszeit. In dieser Latenzphase ist die Übertragungsfähigkeit durch Werkzeuge und Kulturmaßnahmen sehr hoch. Nach 4 Monaten waren noch 30, 50 und 70% der Tomatenpflanzen, die mit 3000, 300 bzw. 30 cfu/ Pflanze inokuliert worden waren, symptomlos und zeigten die Krankheit erst zu einem späteren Zeitpunkt. Wenn Tomatenpflanzen aus infiziertem Saatgut aufgezogen wurden, betrug die Latenzphase nach der Aussaat bis zu 6 Monate.

Obwohl das Bakterium aus befallenen Pflanzenrückständen auch über den Boden auf gesunde Pflanzen übertragen werden kann, ist dieser Infektionsweg nach unseren Untersuchungen nicht von großer Bedeutung, besonders wenn effektive Hygienemaßnahmen durchgeführt werden. Offenbar besteht die Hauptgefahr für die Einschleppung der Krankheit in Tomatenkulturen in kontaminiertem Saatgut oder latent infizierten Jungpflanzen. So wurde an einem Standort festgestellt, dass 9 primär infizierte Pflanzen in einem Gewächshaus mit 13 000 Pflanzen am Ende der Vegetationsperiode zu einem Befall von 60% insgesamt geführt hatten. Die beste Strategie zur Zurückdrängung und schließlich Eliminierung der Krankheit wird deswegen in der Überprüfung des Tomatensaatgutes und der Jungpflanzen mit Hilfe hochsensitiver Nachweismethoden gesehen. Dies könnte durch Kombination eines semiselektiven Nährmediums mit der PCR („Bio-PCR“) erreicht werden.

Zu diesem Zweck wurden 7 verschiedene semiselektive Nährmedien für *Cmm* überprüft und Kombinationen mit 40 verschiedenen Antibiotika getestet. Dabei lieferte das Medium MTNA, das von JANSING und RUDOLPH (1998) für *C. m.* subsp. *sepedonicus* entwickelt wurde, die besten Ergebnisse, wenn die Zusammensetzung der Antibiotika- und Substrat-Komponenten für *Cmm* noch weiter optimiert wurde.

(DPG AK Phytobakteriologie)

## Vorversuche zur Identifizierung von phytopathogenen Erregern der Blutungskrankheit an Rosskastanien (*Aesculus hippocastanum*) in Hamburg

Yvonne Hinz und Malgorzata Sadowska-Rybak,  
Pflanzenschutzamt, Biozentrum Klein Flottbek, Hamburg  
E-Mail: Malgorzata.Rybak@bwa.hamburg.de

Seit 2002 wird in Deutschland ein neuartiges Sterben von Rosskastanien (*Aesculus hippocastanum*) beobachtet. Als Erreger werden Bakterien aus der *Pseudomonas syringae* -Gruppe diskutiert.

Die erkrankten Bäume weisen eine schütterte Belaubung auf und einige Äste sterben ab. Am Hauptstamm und/oder an einzelnen Ästen finden sich oft fleckenförmige blutende Stellen („Teerflecken“). Die Stämme zeigen vereinzelt lange Risse.

Unterhalb der blutenden oder rissigen Stellen ist das Gewebe nekrotisch und weist eine braune bis rotbraune Färbung auf. Betroffen sind Rosskastanien aller Altersstufen, jedoch vorwiegend Bäume, die Stressfaktoren ausgesetzt sind.

Zur Identifizierung der Erreger erfolgte die Beprobung von ca. 100 Rosskastanien verteilt auf das Hamburger Stadtgebiet; hierbei wurden Rindenproben mit charakteristischen Krankheitssymptomen entnommen. Auf King's Medium wurden fluoreszierende Pseudomonaden isoliert und anschließend auf Levan-Bildung kontrolliert. Die Pathogenität des Bakteriums sollte mittels Biotest überprüft werden. Um auszuschließen, dass es sich bei den isolierten Erregern um *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* handelt, wurde zusätzlich eine PCR durchgeführt.

Nach Abschluss der Beprobung des Hamburger Baumbestandes und den oben beschriebenen ersten Bestimmungen wird von den ausgesuchten Bakterien die Sequenzierung vorgenommen.

(DPG AK Phytobakteriologie)

## European Association of Phytobacteriologists

### Petra Müller

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit, Stahnsdorfer Damm 81, 14532 Kleinmachnow  
E-Mail: petra.mueller@jki.bund.de

Vom 5. bis 6. Februar 2007 fand das Gründungstreffen für die European Association of Phytobacteriologists (EAP) in Merelbeke in Belgien statt.

In den Jahren 1980 bis 2006 konnten Phytobakteriologen Europas im Rahmen von EU-Expertengruppen und EU-Forschungsprojekten sowie eines EPPO-Panels Möglichkeiten zur wissenschaftlichen Zusammenarbeit und zum Informations- und Erfahrungsaustausch sowie zur Beratung nationaler Behörden nutzen. Es bestand daher das Interesse der langjährig zusammen arbeitenden Phytobakteriologen, diese Zusammenarbeit weiterzuführen.

Das Ziel der EAP besteht in der

- Entwicklung, Verbesserung und Etablierung von Diagnose, Nachweis, Identifizierung und Klassifizierung pflanzenpathogener Bakterien,
- Ausbildung und Schulung in den genannten Bereichen,
- Bereitstellung von Empfehlungen und Expertise für die Pflanzengesundheitsbehörden,
- Förderung technischer und wissenschaftlicher Zusammenarbeit,
- Informationsaustausch durch ein Kommunikationsnetz.

Die Mitglieder sind Phytobakteriologen, normalerweise auf ein Mitglied pro Land limitiert (zusätzliche Mitgliederzahl pro Land kann geprüft werden), die staatliche Labore, staatliche

Einrichtungen oder staatliche Institute repräsentieren und beständig in amtliche Diagnosen und Untersuchungen eingebunden sind. Die Mitgliedschaft ist individuell. Die Mitglieder werden nach Antragstellung durch eine Auswahlkommission ausgewählt und angenommen. Es gibt keine Mitgliedsgebühr. Ehrenamtliche Mitgliedschaft kann für Phytobakteriologen mit außergewöhnlichen Leistungen gewährt werden.

Die EAP wird jährlich Beratungen durchführen, jeweils organisiert durch ein Mitglied. Es wird eine Website aufgebaut, die auch als Diskussionsforum für alle interessierten Phytobakteriologen dienen wird, und es wird jährlich ein Newsletter ausgegeben. Die EAP wird Workshops zu spezifischen Fragestellungen und Ringtests, Eignungstests sowie Methodendvalidierungen durchführen und Möglichkeiten für gemeinsame Forschungsprojekte prüfen. Eine externe Finanzierung der Arbeit der EAP gibt es nicht.

Derzeit sind die folgenden Verantwortlichen für die Arbeit der EAP gewählt worden:

Vorsitz: Jaap JANSE (NL)

Sekretär: Johan VAN VAERENBERGH (BE)

Newsletter: Charlotte THRANE (DK)

Auswahlkommission: Vorsitz, Sekretär, Emilio STEFANI (IT)  
(DPG AK Phytobakteriologie)

## Aktuelle Probleme mit Bakteriosen in Bayern

### G. Poschenrieder und S. Theil

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

In Bayern kam es 2007 witterungsbedingt zu einem massiven Ausbruch des Feuerbrandes (*Erwinia amylovora*) wie in den 1990er Jahren. Auch andere Bakteriosen schädigten landwirtschaftliche und gärtnerische Kulturen teilweise erheblich bis hin zum Totalausfall. So wurde wieder in einigen Gartenbaubetrieben im Sommer 2007 an Poinsettien (Weihnachtssternen) eine durch *Xanthomonas axonopodis* pv. *poinsettiicola* hervorgerufene Blattfleckenkrankheit diagnostiziert. Erstmals 2003 in Deutschland gefunden, breitet sie sich zunehmend in Jungpflanzenbeständen aus. Durch Einstellung der Überkopfbewässerung kommt die Bakteriose jedoch meist zum Stillstand und der Zuwachs zeigt keine Symptome mehr.

Im Rahmen eines mehrjährigen Monitorings von Krankheiten und Schädlingen an Stauden wurde unter anderem eine durch *Pseudomonas marginalis* verursachte Blattfleckenkrankheit an diversen *Hosta* (Funkie) -Arten und -Sorten in Gärtnereien wiederholt beobachtet.

An Freiland-Kürbissen wurde im Knoblauchsland im August 2006 nach starken Niederschlägen auf mehreren Hektar Anbaufläche ein akutes Auftreten einer bisher unbekanntes Bakteriose festgestellt. Die Symptome äußerten sich durch eingesunkene, braune, rundliche und wässrige Läsionen (Durchmesser bis 1 cm), die auf den Früchten ungleichmäßig verteilt waren. Zahlreiche Früchte waren unverkäuflich und mussten entsorgt werden. Als Erreger konnte *Pseudomonas syringae* isoliert werden, wobei die Pathovar-Bestimmung noch aussteht.

Eine zuerst in Bayern 1996 an Petersilie entdeckte bakterielle Blattfleckenkrankheit (Erreger: *Pseudomonas viridiflava*) kommt seitdem immer wieder in Petersilienbeständen vor und kann mit der *Septoria*-Blattfleckenkrankheit (*S. petroselinii*) verwechselt werden.

Auch an Koriander wurde eine Blattfleckenkrankheit (Erreger: *Xanthomonas campestris*) nachgewiesen. Durch den Befall erhöhte sich vor allem der Putzaufwand. Im Frühjahr 2007 wurde in zwei Gewächshäusern eines Schnittrosen-Produktionsbetriebes an Rosenkulturen verschiedener Sorten massiver Befall mit *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefa-*

*ciens*) festgestellt. Wegen der ausgeprägten Tumorbildung und des kümmerlichen Wuchses mussten sowohl die in Containern kultivierten Rosen als auch die Pflanzen in den Bodenbeeten vollständig entsorgt werden. Eine seit 2004 in Bayern bekannte, an Kulturhaseln zum Teil schwere Schäden hervorrufende Bakteriose (Erreger: *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*) ist offensichtlich weiter verbreitet als bisher vermutet, wie ein bayernweites Monitoring in Baumschulen, Erwerbsanlagen und Wildbeständen ergab. Bemerkenswert ist, dass Haselsträucher in Baumschulen und Erwerbsanlagen häufiger befallen waren als Haseln in der freien Landschaft.

Wie in den vergangenen Jahren trat auch 2007 die durch *Dickeya* sp. (*Erwinia chrysanthemi*) verursachte Bakterielle Welke in Kartoffelbeständen sporadisch auf. Da der Erreger höhere Temperaturen bevorzugt, könnte sich künftig die Bakterielle Welke aufgrund des sich abzeichnenden Klimawandels weiter ausbreiten und eine größere Bedeutung für den Kartoffelanbau erlangen.

(DPG AK Phytobakteriologie)

## Charakterisierung und Bedeutung der von *Pantoea agglomerans* 48b/90 gebildeten Sekundärmetabolite in der biologischen Bekämpfung bakterieller Pflanzenkrankheiten

### U. Sammer und B. Völksch

Friedrich-Schiller-Universität Jena, Institut für Mikrobiologie, Mikrobielle Phytopathologie, Neugasse 25, 07743 Jena, Germany  
E-Mail: ulrike.sammer@uni-jena.de

Der Stamm *Pantoea agglomerans* 48b/90 wurde als epiphytisch lebendes Bakterium von Blättern der Sojapflanze isoliert. Ein Screening ergab ein weites Wirkungsspektrum gegen sowohl Gram-positive, als auch Gram-negative Bakterien. Besonders interessant ist hierbei die Aktivität gegen die Phytopathogene *Erwinia amylovora* (Erreger des Feuerbrandes), *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (Erreger des Bakterienbrandes an der Sojapflanze), *Agrobacterium tumefaciens* (Erreger von Wurzelhalsgallen) und *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Erreger der Schwarzfäule). *Pantoea agglomerans* 48b/90 selbst ist nicht phytopathogen und stellt einen potentiellen Biokontrollorganismus dar. Die Bildung eines antibiotischen Wirkstoffes konnte bereits gezeigt werden. Ziel zukünftiger Forschungsarbeiten ist neben der Charakterisierung der Verbindung, auch die Aufklärung der Rolle dieser bisher unbekanntes Substanz im Antagonismus.

Die Aktivität der Verbindung konnte durch die proteinogenen Aminosäuren und Caseinhydrolysat nicht aufgehoben werden. Weitere Eigenschaften des Wirkstoffes sind die Toleranz gegenüber Hitze (80°C, 10 min) und die Unempfindlichkeit gegenüber Säuren, Basen und dem Angriff von Proteasen und der  $\beta$ -Lactamase II aus *Bacillus cereus*.

(DPG AK Phytobakteriologie)

## *Pseudomonas viridiflava* an Salat! Wie ist die Pathogenität zu bewerten?

### Roswitha Ulrich

Regierungspräsidium Giessen, Botanische Diagnostik, Schanzenfeldstraße 8, 35578 Wetzlar  
E-Mail: roswitha.ulrich@rpgi.hessen.de

Im April traten an Salat (*Lactuca sativa*) Blattflecken und Fäulen auf. Zu Beginn waren nur kleine 2-3 mm große gelbe Flecken mit im Gegenlicht wässrigem, durchscheinendem Zentrum zu beobachten. Später wurden diese Stellen in der Mitte rotbraun, wie Stiche mit einer Stecknadel. Einzelne Befallsstellen vergrößerten sich rasch zu eckigen, gezackten Nekrosen, mit einem schmalen gelben Rand, der teilweise durch einen schmalen dunkleren Rand von dem braunen Gewebe im Inne-

ren abgegrenzt wurde. Unter feuchten Bedingungen wurden die kranken Stellen dunkel, und es kam schnell zur nassen Fäule der gesamten Blätter. Unter trockenen Bedingungen vergrößerten sich die Befallstellen nicht. Die Mitte der Flecken wurde grau. Durch das Wachstum der Blätter zerreißt das erkrankte Gewebe. Auch auf der Blattunterseite sind fahlgelbe Blattflecken mit braunem Zentrum bzw. größere dunkle, gezackte Flecken zu beobachten. Befallsstellen traten gehäuft am Blattrand und in den äußeren Bereichen der einzelnen Salatblätter auf. Teilweise ging die Erkrankung vom Blattrand aus. Betroffen waren im vorliegenden Fall vor allem die mittleren Blattteten. Die ältesten und jüngsten Blätter waren gesund.

Aus den oben beschriebenen Schäden wurde das gram negative, bewegliche, 1-2 polar begeißelte Bakterium *Pseudomonas viridiflava* isoliert. Die Bestimmung erfolgte mit dem Biolog-System. Die Bestimmung wurde durch eine Referenzuntersuchung bei Plant Protect (Dr. MAVRIDIS) bestätigt. Der Wirtspflanzenzest an jungen Salat- und Chicoreepflanzen (*Cichorium intybus* var. *foliosum*) war positiv. Im Infektionsversuch zeigten sich sowohl nach Inokulation mit dem Ursprungsisolat, sowie auch bei dem Isolat einer Reisolierung aus jungem Chicoree Symptome. Ein Isolat von Radis aus Rheinland Pfalz (Dr. KRAUTHAUSEN) war in diesem Versuch an Salat mit schwächerer Symptomausprägung pathogen. Bei hoher Luftfeuchte und ungünstigen Bedingungen entstanden im Infektionsversuch bereits bei Pufferanwendung Blattrandschden und Nekrosen. Diese Schäden dürften die Besiedlung und Erkrankung mit *Pseudomonas viridiflava* fördern. *Pseudomonas viridiflava* verursacht vor allem bei ungünstigen Witterungsbedingungen im Winter und Frühjahr an Salat die zu beobachtenden Schäden.

(DPG AK Phyto bakteriologie)

### Autoinducer in *Erwinia amylovora*

Annette Wensing<sup>1</sup>, Nehaya Al-Karablieh<sup>1</sup>, Matthias Ullrich<sup>1</sup>, Mojtaba Mohammadi<sup>2</sup> und Klaus Geider<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of Engineering and Sciences, International University Bremen, Germany

<sup>2</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Dossenheim, Germany

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

In vielen pathogenen Bakterien wird die Expression wichtiger Virulenzfaktoren durch zell-dichte-abhängige Genregulation (Quorum-Sensing) gesteuert. Die Unterbrechung des Quorum-Sensing z. B. durch den Abbau des Autoinducer-Signals bietet eine Möglichkeit zur biologischen Kontrolle phytopathogener Bakterien. Für verschiedene Isolate des Feuerbrandreggers *E. amylovora* konnte die Produktion des Quorum-Sensing Signals Autoinducer 2 (AI2) nachgewiesen werden. Zur Untersuchung der Relevanz von AI2 für die Virulenz von *E. amylovora* wurde eine AI2-negative Mutante hergestellt. Dazu wurde in zwei verschiedenen *Erwinia*-Isolaten (dem Obstbaum-Isolat Ea1/79 und dem Himbeerstamm MR1) eine marker-exchange Mutagenese mit dem AI2 Biosynthese-Gen *luxS* durchgeführt. Obwohl die *luxS*-Mutanten Ea1/79-K47 und MR1-K1 *in vitro* eine deutlich reduzierte EPS-Synthese zeigten, gab es bei Virulenz-assays an jungen Apfeltrieben keine Unterschiede zwischen Ea1/79 und Ea1/79-K47. Dies warf die Frage auf, ob es in Pflanzen einen Wirkstoff gibt, der das fehlende AI2 komplementieren könnte. In der Tat konnte aus Wirtspflanzenmaterial eine Substanz extrahiert werden, die ein deutliches Lumineszenz-Signal in dem AI2 Reporterstamm *Vibrio harveyi* MM32 verursacht. Ein Vergleich zwischen AI2 aus Kulturüberstand und den Extrakten aus Birnen zeigte, dass beide Substanzen sensitiv auf Hitze und alkalische Bedingungen reagieren und in TLC-Analysen ein ähnliches Laufverhalten aufweisen. Weitere Versuche sollen

klären, ob die AI2-ähnliche Pflanzenkomponente *E. amylovora* beeinflusst.

(DPG AK Phyto bakteriologie)

### AcrAB-TolC directs efflux-mediated resistance towards phytoalexins in the plant pathogen *Erwinia amylovora*

Nehaya Al Krablieh, Antje Burse, Helge Weingart und Matthias Ullrich

Molecular Microbiology, School of Engineering and Science, Jacobs University, Bremen, Germany

E-Mail: n.alkrablieh@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. AcrAB-TolC multidrug efflux transporters which mediate resistance toward structurally unrelated compounds might confer tolerance to these phytoalexins. To prove this hypothesis, single *acrAB* and *tolC* mutants and a double mutant (*acrAB tolC*) were constructed in *E. amylovora* strain 1189. The minimal inhibitory concentrations of different antimicrobial compounds and apple phytoalexins were determined for these mutants in comparison to the wild type. Results indicated that the mutants were considerably more susceptible than the wild type 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 *acrAB* or *tolC*. Virulence assays on apple plants showed that the virulence is impaired by mutation of *acrAB* or *tolC*. Analysis of secreted proteins is currently being conducted to investigate the role of TolC in protein secretion of *E. amylovora*.

(DPG AK Phyto bakteriologie)

### Quantitative assays of *Erwinia amylovora* and the antagonists *E. billingiae* and *E. tasmaniensis* with real-time PCR

Klaus Geider, Mojtaba Mohammadi und Susanne Jock

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut fr Kulturpflanzen, Dossenheim

E-Mail: Klaus.geider@jki.bund.de

Fire blight can be controlled by spraying antagonistic microorganisms on flowering pome fruit trees. In an experimental orchard, we have applied bacteria of the species *Erwinia billingiae* and *E. tasmaniensis* resulting in up to 65% reduction of fire blight symptoms. The genome of the pathogen *E. amylovora* and of two strains of these antagonists has been sequenced (with M. Kube, Berlin) and the information has also been used for design of new primers to detect the organisms by real-time PCR. The antagonists were sprayed on apple flowers, which were then inoculated with dilutions of *E. amylovora* and evaluated after 5 days for the bacterial populations. *E. amylovora* was detected by plating of a streptomycin-resistant strain and also by real-time PCR with similar results. TaqMan probes with various fluorescence labels were designed for simultaneous quantitative detection of *E. amylovora*, *E. billingiae* and *E. tasmaniensis*. In apple flowers *E. amylovora* could grow to a density of 3x10E7 CFU per flower. The antagonists, applied at 1x10E8 CFU/ml, stayed at a high level, thus competing with growth of *E. amylovora*. Application of an *E. billingiae* strain can exceed the efficiency of *E. tasmaniensis*. *E. amylovora* was

also recovered from a part of strawberry plants inoculated with strains isolated from raspberry indicating a possibility for *E. amylovora* to grow on non-wooden plants. Monitoring of *E. amylovora*, *E. billingiae* and *E. tasmaniensis* by real-time PCR allows a description of their populations in infected apple or pear flowers.

(DPG AK Phytobakteriologie)

### Effects of bacteriophages and bacteriocins on *Erwinias*

Ina Müller, Wilhelm Jelkmann und Klaus Geider

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Dossenheim

E-Mail: Klaus.geider@jki.bund.de

Bacteriocins and bacteriophages can be used as specific inhibitors of bacteria. For control of fire blight, they may be applied instead of the antibiotic streptomycin to reduce plant colonization by *Erwinia amylovora*. Partially characterized *E. amylovora* phages were used to interfere with growth of several *E. amylovora* strains, which reacted differently in phage drop tests. PCR primers were designed from the EPS depolymerase gene to distinguish the viral genomes. Analysis of *E. tasmaniensis* strain Et1/99 revealed klebicin-like toxin-genes on one of its five plasmids. By treatment with mitomycin, the bacteriocin was induced, and tested against several strains of the species *E. amylovora*, *E. billingiae* and *E. tasmaniensis*. Growth inhibition was observed for the South African *E. tasmaniensis* strains Esa13 and Esa41 and FLA03 from Germany. They do not carry the immunoprotein gene and are therefore sensitive to the bacteriocin. Application of cell extracts with the induced bacteriocin to an Australian *E. tasmaniensis* strain induced phage plaques. The genome of this novel bacteriophage was sequenced (with M. Kube, Berlin) and is unrelated to described *E. amylovora* phages. An important factor of pathogenicity of *E. amylovora* is synthesis of the capsular EPS amylovoran. It can be cleaved by viral EPS polymerase and determined by a turbidity assay with CPC. This assay was applied not only to amylovoran but also to EPS of *E. billingiae* and *E. persicina*. It can be expected that their EPS is similar to amylovoran. The use of bacteriocins, bacteriophages and EPS degradation can add to the control of fire blight.

(DPG AK Phytobakteriologie)

### Upstream sequence analysis of the levansucrase gene in *Pseudomonas syringae*

Abhishek Srivastava und Matthias Ullrich

Molecular Microbiology Laboratory, Campus Ring 1, Jacobs University Bremen, 28759 Bremen

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

Plant pathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* PG4180, are cold weather pathogen - effectively displaying the virulence factors at low temperature and causing chlorosis and necrosis in soybean plant. The focus of our research work encompasses the study of levan biopolymer synthesizing enzyme - levansucrase (EC 2.4.1.10). This enzyme is present in three copies namely *lscA*, *B* and *C* where the former is not transcribed in the native host but the latter two code for LscB and C enzymes. Our current effort is to map the transcriptional start site for *lscB* and *C*. With the help of nested deletion strategy, we have generated an entire array of deletion constructs where upstream sequence of the *lscB* is available in various lengths. Such a construct is transconjugated into the *lsc* mutant namely PG4180.M6 and the phenotype is observed as the slime formation on mannitol-glutamate agar media containing the substrate sucrose. We have predicted the promoter of *lscB* gene between

-440 and -330 position upstream to the translational start site of the open reading frame. Further experiments are being conducted where the exact transcriptional start site will be mapped by primer extension method.

(DPG AK Phytobakteriologie)

### Screening for *Erwinia billingiae* and *E. tasmaniensis* in field isolates, differentiation by sequence analysis and effects as antagonists of fire blight

Monika Sulikowska<sup>1</sup>, Susanne Jock<sup>2</sup> und Klaus Geider<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, Poland

<sup>2</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Dossenheim, Germany

E-Mail: Klaus.geider@jki.bund.de

In assays with pear slices and with apple flowers, bacteria of the species *Erwinia billingiae* and *E. tasmaniensis* are antagonistic to colonization of plant tissue with *E. amylovora*, the causative agent of fire blight. PCR primers were designed from the *wbdN* gene of both species to detect them in bacterial populations of field samples. The signals were confirmed with primers for real-time PCR and positive bacteria were isolated. Most showed a close homology of the 16S rRNA and the *wbdN* gene sequences. Base changes were visualized by SSCP analysis. A recently isolated *E. tasmaniensis*-like strain from Germany showed a signal with *wbdN* primers but not with primers from the *hrpL* region. Other strains were isolated in Australia, in South Africa and in the area of Heidelberg and were positive with *hrpL* primers. *E. billingiae*-like strains were first isolated in England and recently in Poland. They were closely related for their 16S rRNA and the *wbdN* genes. Their EPS could be degraded with an EPS depolymerase, specific for degradation of amylovoran and supported their classification with described *E. billingiae* strains. Two additional strains were isolated from apple leaves in an orchard of the BBA Dossenheim (now Julius Kuehn Institute). PCR amplification of the house keeping genes *recA* and *rpoS* and subsequent analysis of the DNA cleavage pattern may add to their classification within the species *Erwinia*.

(DPG AK Phytobakteriologie)

### Genome-wide analysis of multidrug efflux in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000

Helge Weingart

Molecular Microbiology Laboratory, Campus Ring 1, Jacobs University Bremen, 28759 Bremen

E-Mail: h.weingart@jacobs-university.de

Multidrug efflux (MDE) transporters are major contributors to bacterial resistance towards antibiotics. In contrast to the well-understood role of MDE in clinically relevant microbes, only little is known about MDE transporters in environmental bacteria. In this project we aim to identify and characterize all MDE pumps in the plant pathogen *Pseudomonas syringae* and to gain in-depth knowledge about their regulation and natural functions. MDE pumps may play an important role in the adaptation of *P. syringae* to its respective host plants by protecting them against plant antimicrobials. The available genome sequence of *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 was used to develop a microarray containing genes of all members of transport protein families that include MDE systems. The microarray will be used to identify transporters that are expressed after treatment with antibiotics, antimicrobial plant metabolites, and in *planta*. A second strategy to identify active MDE pumps in *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 involves the complementation

of the DC3000.Δ*mexAB* mutant with cosmids of a DC3000 genome library to isolate efflux transporter expressed under in vitro conditions. DC3000.Δ*mexAB* lacks its major MDE system, the RND-type transporter *MexAB*, and is therefore hypersensitive to many antimicrobial agents.

(DPG AK Phytobakteriologie)

### Identification of transcriptional regulators, responsible for the temperature-dependant expression of *Pseudomonas syringae* levansucrase gene

D. Zhurina<sup>1</sup>, A. Arndt<sup>2</sup>, M. Bott<sup>3</sup>, H. Weingart<sup>1</sup>,  
B. Eikmanns<sup>2</sup> und M. Ullrich<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Engineering and Sciences, Jacobs University Bremen, Germany

<sup>2</sup>University of Ulm, Germany

<sup>3</sup>Forschungszentrum Jülich, Germany

E-Mail: m.ullrich@jacobs-university.de

Production of virulence factors, such as toxins and exopolysaccharides, in the temperature-dependant manner plays crucial role in virulence and epiphytic fitness of pathogenic bacteria.

In the phytopathogenic bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* PG4180 synthesis of the exopolysaccharide levan is mediated by the enzyme levansucrase, which is encoded by two very similar genes, *lscB* and *lscC*. Expression of these genes is temperature-dependant (Li et al., 2006), with maximum *lsc*-RNA production at 18° in comparison to the optimal growth temperature of 28°. Interestingly, global two-component regulatory system GacS/GacA has no impact on expression of levansucrase genes, so the mechanism of their temperature-dependant expression remains to be uncovered.

To answer this question, we have applied DNA Affinity Chromatography technique in order to identify the proteins, bound to the *lscB* regulatory region of 680 bp upstream to its translational start site. We showed that at 28°, when expression of *lscB* was repressed, 3 proteins with molecular masses of 31 kDa, 16 kDa and 13 kDa were predominantly bound to its regulatory upstream region. These proteins, however, were absent at 18°C, when *LscB* gene was expressed at maximum. Potential regulators were identified by means of MALDI-ToF analyses, and all of them fell into the class of transcriptional regulators. 31 kDa protein turned out to be HexR transcriptional repressor, involved in glucose metabolism. Two other smaller proteins (13 kDa and 16 kDa) are annotated as transcriptional regulators, however their exact physiological role was not described thus far. Detailed studies on particular mode of *LscB* transcription repression by three proteins identified are currently underway.

Overall, our data suggest that expression of *LscB* might be dependent on presence or absence of at least three repressors, which are bound to the *LscB* upstream regulatory region.

(DPG AK Phytobakteriologie)

## Report on the Annual Meeting of the Working Group Phytobacteriology 2007

Das Arbeitskreistreffen „Phytobakteriologie“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft 2007 fand vom 27. bis 28.09.2007 am Julius-Kühn-Institut für Epidemiologie und Resistenzressourcen in Quedlinburg statt. Von den insgesamt 27 Teilnehmern aus Forschungsinstituten und Behörden hielten 19 Teilnehmer 15-minütige Kurzvorträge zu den verschiedenen Aspekten der aktuellen Forschung an Bakteriosen in Deutschland und der Schweiz. Die Tagung begann am Donnerstag um 13:00 und endete am Freitag mit einer Führung durch das Julius-Kühn-Institut um 14:30. Ein geselliges Zusammensein fand am Abend des 27.09.2008 in der Quedlinburger Innenstadt statt. Organisiert wurde die Veranstaltung durch Dr. Klaus Richter, dem der Arbeitskreis dafür herzlich danken möchte. Insbesondere Doktoranden erhielten die Möglichkeit, ihre neuesten Forschungsergebnisse vorzustellen. Wie üblich kam es dabei zu einer inspirierenden Diskussion von Vertretern der klassischen wie der molekularen Phytobakteriologie. Das nächste Treffen des Arbeitskreises wird am 03./04.09.2008 an der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft in Erfurt stattfinden. Es wird von Dr. Ralph-Peter Nussbaum (r.nussbaum@kuehnhausen.tl.de) und dem AK-Leiter, Prof. Dr. Matthias Ullrich (m.ullrich@jacobs-university.de), organisiert.

Prof. Dr. Matthias Ullrich (Chairperson) and  
Dr. Esther Moltmann (Vice Chairperson)

### AcrAB-TolC directs efflux-mediated resistance towards phytoalexins in the plant pathogen *Erwinia amylovora*

Al Krablieh, N.<sup>1</sup>, Burse, A.<sup>1</sup>, Weingart, H.<sup>1</sup>, Ullrich, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Molecular Microbiology, School of Engineering and Science, Jacobs University, Bremen, Germany

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. AcrAB-TolC multidrug efflux transporters which mediate resistance toward structurally unrelated compounds might confer tolerance to these phytoalexins. To prove this hypothesis, single *acrAB* and *tolC* mutants and a double mutant (*acrAB tolC*) were constructed in *E. amylovora* strain 1189. The minimal inhibitory concentrations of different antimicrobial compounds and apple phytoalexins were determined for these mutants in comparison to the wild type. Results indicated that the mutants were considerably more susceptible than the wild type 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 *acrAB* or *tolC*. Virulence assays on apple plants showed that the virulence is impaired by mutation of *acrAB* or *tolC*. Analysis of secreted proteins is currently being conducted to investigate the role of TolC in protein secretion of *E. amylovora*.

### Effects of bacteriophages and bacteriocins on *Erwinias*

Müller, I.<sup>1</sup>, Jelkmann, W.<sup>1</sup>, Geider, K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Biologische Bundesanstalt, Dossenheim, Germany

Bacteriocins and bacteriophages can be used as specific inhibitors of bacteria. For control of fire blight, they may be applied instead of the antibiotic streptomycin to reduce plant colonization by *Erwinia amylovora*. Partially characterized *E. amylovora* phages were used to interfere with growth of several *E. amylovora* strains, which reacted differently in phage drop tests. PCR primers were designed from the EPS depolymerase gene to distinguish the viral genomes. Analysis of *E. tasmaniensis* strain Et1/99 revealed klebicin-like toxin-genes on one of its five plasmids. By treatment with mitomycin, the bacteriocin was induced, and tested against several strains of the species *E. amylovora*, *E. billingiae* and *E. tasmaniensis*. Growth inhibition was observed for the South African *E. tasmaniensis* strains Esa13 and Esa41 and FLA03 from Germany. They do not carry the immunoprotein gene and are therefore sensitive to the bacteriocin. Application of cell extracts with the induced bacteriocin to an Australian *E. tasmaniensis* strain induced phage plaques. The genome of this novel bacteriophage was sequenced (with M. Kube, Berlin) and is unrelated to described *E. amylovora* phages. An important factor of pathogenicity of *E. amylovora* is synthesis of the capsular EPS amylovoran. It can be cleaved by viral EPS polymerase and determined by a turbidity assay with CPC. This assay was applied not only to amylovoran but also to EPS of *E. billingiae* and *E. persicina*. It can be expected that their EPS is similar to amylovoran. The use of bacteriocins, bacteriophages and EPS degradation can add to the control of fire blight.

### Upstream sequence analysis of the levansucrase gene in *Pseudomonas syringae*

Srivastava, A.<sup>1</sup>, Ullrich, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Molecular Microbiology Laboratory, Campus Ring 1, Jacobs University Bremen, 28759 Bremen, Germany

Plant pathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* PG4180, are cold weather pathogen – effectively displaying the virulence factors at low temperature and causing chlorosis and necrosis in soybean plant. The focus of our research work encompasses the study of levan biopolymer synthesizing enzyme – levansucrase (EC 2.4.1.10). This enzyme is present in three copies namely *lscA*, *B* and *C* where the former is not transcribed in the native host but the latter two code for LscB and C enzymes. Our current effort is to map the transcriptional start site for *lscB* and *C*. With the help of nested deletion strategy, we have generated an entire array of deletion constructs where upstream sequence of the *lscB* is available in various lengths. Such a construct is transconjugated into the *lsc* mutant namely PG4180.M6 and the phenotype is observed as the slime formation on mannitol-glutamate agar media containing the substrate sucrose. We have predicted the promoter of *lscB* gene between –440 and –330 position upstream to the translational start site of the open reading frame. Further experiments are being conducted where the exact transcriptional start site will be mapped by primer extension method.

### Screening for *Erwinia billingiae* and *E. tasmaniensis* in field isolates, differentiation by sequence analysis and effects as antagonists of fire blight

Sulikowska, M.<sup>1</sup>, Jock, S.<sup>2</sup>, Geider, K.<sup>2</sup>

- <sup>1</sup> Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, Poland
- <sup>2</sup> BBA Dossenheim, Germany

In assays with pear slices and with apple flowers, bacteria of the species *Erwinia billingiae* and *E. tasmaniensis* are antagonistic to colonization of plant tissue with *E. amylovora*, the causative agent of fire blight. PCR primers were designed from the *wbdN* gene of both species to detect them in bacterial populations of field samples. The signals were confirmed with primers for real-time PCR and positive bacteria were isolated. Most showed a close homology of the 16S rRNA and the *wbdN* gene sequences. Base changes were visualized by SSCP analysis. A recently isolated *E. tasmaniensis*-like strain from Germany showed a signal with *wbdN* primers but not with primers from the *hrpL* region. Other strains were isolated in Australia, in South Africa and in the area of Heidelberg and were positive with *hrpL* primers. *E. billingiae*-like strains were first isolated in England and recently in Poland. They were closely related for their 16S rRNA and the *wbdN* genes. Their EPS could be degraded with an EPS depolymerase, specific for degradation of amylovoran and supported their classification with described *E. billingiae* strains. Two additional strains were isolated from apple leaves in an orchard of the BBA Dossenheim. PCR amplification of the house keeping genes *recA* and *rpoS* and subsequent analysis of the DNA cleavage pattern may add to their classification within the genus *Erwinia*.

### Genome-wide analysis of multidrug efflux in *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000

Weingart, H.<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Molecular Microbiology Laboratory, Campus Ring 1, Jacobs University Bremen, 28759 Bremen, Germany

Multidrug efflux (MDE) transporters are major contributors to bacterial resistance towards antibiotics. In contrast to the well-understood role of MDE in clinically relevant microbes, only little is known about MDE transporters in environmental bacteria. In this project we aim to identify and characterize all MDE pumps in the plant pathogen *Pseudomonas syringae* and to gain in-depth knowledge about their regulation and natural functions. MDE pumps may play an important role in the adaptation of *P. syringae* to its respective host plants by protecting them against plant antimicrobials. The available genome sequence of *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 was used to develop a microarray containing genes of all members of transport protein families that include MDE systems. The

microarray will be used to identify transporters that are expressed after treatment with antibiotics, antimicrobial plant metabolites, and *in planta*. A second strategy to identify active MDE pumps in *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 involves the complementation of the DC3000.Δ*mexAB* mutant with cosmids of a DC3000 genome library to isolate efflux transporter expressed under *in vitro* conditions. DC3000.Δ*mexAB* lacks its major MDE system, the RND-type transporter MexAB, and is therefore hypersensitive to many antimicrobial agents.

### Identification of transcriptional regulators, responsible for the temperature-dependant expression of *Pseudomonas syringae* levansucrase gene

Zhurina, D.<sup>1</sup>, Arndt, A.<sup>2</sup>, Bott, M.<sup>3</sup>, Weingart, H.<sup>1</sup>, Eikmanns, B.<sup>2</sup>, Ullrich, M.<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> School of Engineering and Sciences, Jacobs University Bremen, Bremen, Germany
- <sup>2</sup> University of Ulm, Ulm, Germany
- <sup>3</sup> Forschungszentrum Jülich, Jülich, Germany

Production of virulence factors, such as toxins and exopolysaccharides, in the temperature-dependant manner plays crucial role in virulence and epiphytic fitness of pathogenic bacteria. In the phytopathogenic bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* PG4180 synthesis of the exopolysaccharide levan is mediated by the enzyme levansucrase, which is encoded by two very similar genes, *lscB* and *lscC*. Expression of these genes is temperature-dependant (Li et al., 2006), with maximum *lsc*-RNA production at 18° in comparison to the optimal growth temperature of 28°. Interestingly, global two-component regulatory system GacS/GacA has no impact on expression of levansucrase genes, so the mechanism of their temperature-dependant expression remains to be uncovered.

To answer this question, we have applied DNA affinity chromatography technique in order to identify the proteins, bound to the *lscB* regulatory region of 680 bp upstream to its translational start site.

We showed that at 28°, when expression of *lscB* was repressed, 3 proteins with molecular masses of 31 kDa, 16 kDa and 13 kDa were predominantly bound to its regulatory upstream region. These proteins, however, were absent at 18°C, when *LscB* gene was expressed at maximum. Potential regulators were identified by means of MALDI-ToF analyses, and all of them fell into the class of transcriptional regulators. 31 kDa protein turned out to be HexR transcriptional repressor, involved in glucose metabolism. Two other smaller proteins (13 kDa and 16 kDa) are annotated as transcriptional regulators, however their exact physiological role was not described thus far. Detailed studies on particular mode of *LscB* transcription repression by three proteins identified are currently underway.

Overall, our data suggest that expression of *LscB* might be dependent on presence or absence of at least three repressors, which are bound to the *LscB* upstream regulatory region.

## MITTEILUNGEN

**Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):**

### Arbeitskreis Integrierter Pflanzenschutz - Projektgruppe Krankheiten im Getreide

Die 20. Tagung (5. bis 6.2.2007) der Projektgruppe (PG) Krankheiten im Getreide des Arbeitskreises (AK) Integrierter Pflanzenschutz fand in der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Braunschweig statt. Schwerpunktthemen waren Ährenfusariosen und Mykotoxine im Weizen, Fungizidresistenz sowie nichtparasitäre und *Ramularia*-Blattflecken an Gerste.

Die Zusammenfassungen einiger Vorträge werden im Folgenden wiedergegeben.

### Untersuchung der Wirkung von intensivem Zerkleinern des Maisstrohs beim Mähdrusch auf die Fusariumbelastung in der Folgekultur Winterweizen

**Markus Demmel, Hans Kirchmeier**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Landtechnik und Tierhaltung, Vöttinger Str. 36, 85354 Freising, E-Mail markus.demmel@lfl.bayern.de

Körnermais vor Winterweizen gilt hinsichtlich einer möglichen Fusariuminfektion als Risikovorfrucht, besonders bei pflugloser Bestellung. Deshalb lautet die Beratungsempfehlung zumeist, das Maisstroh vor der Weizenbestellung sauber unterzupflügen. In Hinblick auf Boden- und Erosionsschutz ist diese Maßnahme jedoch als kritisch zu bewerten. Bodenschutz (§17 BBodSchG) und phytosanitäre Anliegen (EU Verordnung zu maximalen Mykotoxinmengen) stehen in dieser Situation scheinbar unvereinbar gegeneinander. Im Rahmen eines Projektes wird untersucht, inwieweit eine intensive Zerkleinerung des Maisstrohs das Risiko einer Fusariuminfektion bei unterschiedlichen Bodenbearbeitungsverfahren reduzieren kann.

Die Infektionsquelle für *Fusarium* im Winterweizen stellen das an der Oberfläche liegende Maisstroh und/oder die Stoppeln dar, die zum Zeitpunkt der Weizenblüte noch nicht verrottet sind. Durch eine intensive und exakte Zerkleinerung sowie oberflächennahe Einmischung soll ein möglichst schneller Abbau des Maisstrohs erfolgen. Direkt am Mährescher angebaute Schlägelhäcksler sollen das gesamte Maisstroh intensiv zerkleinern, noch bevor es zusammen mit den Stoppeln von den Mährescherreifen niedergefahren wird.

In einer Block-Spalтанlage werden an zwei Standorten in Südostbayern über drei Jahre drei Maisstrohzerkleinerungsintensitäten (1. direkt am Mährescher angebaute Intensiv-Häcksler, 2. Maispflücker mit Unterbauhäcksler + zusätzlicher Arbeitsgang „Mulchen mit Traktor“, 3. Maispflücker mit Unterbauhäcksler ohne zusätzliche Zerkleinerung) mit jeweils drei Bodenbearbeitungsvarianten bzw. Bestellvarianten (1. konventionell mit Pflug + Kreiseleggen-Drillmaschinenkombination, 2. Mulchsaat intensiv mit Scheibeneggen-Grubber Kombination + Kreiseleggen-Drillmaschinenkombination, 3. Mulchsaat extensiv mit Kurzscheibenegge + Mulchsaatmaschine) geprüft. Es werden der Bodenbedeckungsgrad mit Mulch, Feldaufgang, Bestandesentwicklung, Fusariumbefall, Ertrag und Mykotoxingehalte erfasst.

Die ersten beiden Jahre waren durch unterschiedlich hohen Fusariumbefall und unterschiedliche hohe DON-Werte gekennzeichnet (2005 alle Varianten über dem EU-Grenzwert, 2006 alle unter dem Grenzwert). Die Pflugvarianten führten zu

den jeweils niedrigsten DON Werten, die Mulchsaat extensiv zu den höchsten. Die intensivere Zerkleinerung des Maisstrohs führte zu tendenziell niedrigeren DON-Gehalten als die „Standard-Variante“ Unterbauhäcksler am Maispflückvorsatz.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

### Mykotoxinbildung in lagerndem Getreide im Feldbestand

**Frank M. Ellner**

Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Str. 19, 14195 Berlin, E-Mail frank.ellner@jki.bund.de

Durch die Wahl geeigneter Anbau- und Pflanzenschutzmethoden sollte es möglich sein, Getreide unter den in der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Europäischen Kommission vom 19. Dezember 2006 geregelten Höchstgehalten zu erzeugen. Schwierig wird dies unter extrem feuchten Witterungsbedingungen, die zu günstigen Infektionsbedingungen für Ährenfusariosen führen. Das betrifft vor allem Niederschlag zum Zeitpunkt der Blüte, dem für die Infektion empfindlichsten Wachstumsstadium. In lagernden Beständen auf dem Feld kommt es durch die Veränderung des Mikroklimas aufgrund schlechterer Abtrocknung ebenfalls zur Ausbildung günstiger Bedingungen für Ährenfusariosen. Es ist bekannt, dass lagernde Bestände zu Ertragsverlusten führen können und insgesamt einen höheren Fremdbesatz aufweisen. Der Einfluss auf die Bildung von Mykotoxinen ist aber bisher äußerst unzureichend untersucht.

Deshalb haben wir an zwei Standorten mit unterschiedlichen ackerbaulichen Gegebenheiten in den Jahren 2005 und 2006 die Präsenz von Mykotoxin bildenden Fusarien in der Ähre von Winterweizen und die resultierende Kontamination mit Mykotoxinen im Erntegut in Praxisschlägen analysiert, die ausgelöst durch Wind- und Regenereignisse ca. 20% Lagerbildung aufwiesen. Untersucht wurden jeweils drei Blöcke einer Mindestgröße von 5 x 5 m der Varianten:

- Ø Bestand mit Symptomen eines *Fusarium*-Ährenbefalls;
- Ø Bestand ohne Symptome eines *Fusarium*-Ährenbefalls
- Ø Bestand im Lager ohne weitere Unterteilung, da durch den hohen Schwarzbesatz der Fusariumbefall nicht eindeutig bonitiert werden konnte.

Der direkte Vergleich der Weizenproben aus den Praxisschlägen zeigte, dass sich die Pflanzen aus dem stehenden Bestand und aus dem Lager signifikant in der Stärke des Ährenbefalls mit Fusariumpilzen und der Belastung mit Mykotoxinen unterscheiden.

Ähren aus dem Lager wiesen in beiden Untersuchungsjahren eine höhere Befallsstärke auf und waren mit wesentlich höheren Mykotoxinkonzentrationen belastet als Ähren aus dem stehenden Bestand. Es war völlig ohne Belang, ob die Pflanzen aus dem stehenden Bestand Symptome eines Ährenbefalls mit Fusarien aufwiesen oder nicht.

Die Variante ‚Lager‘ war in beiden Jahren an beiden Standorten stärker belastet als die Proben mit ausgesuchten Ähren aus dem stehenden Bestand, die Symptome aufwiesen.

Wie erwartet wurde in der Variante ‚Bestand mit Symptomen‘ ein höherer Befall mit Ährenfusariosen festgestellt, und das Erntegut wies auch eine wesentlich stärkere Belastung mit Deoxynivalenol auf. Die Ergebnisse waren in beiden Untersuchungsjahren an beiden Standorten in der Ausprägung der Symptome und den Mykotoxingehalten in der Höhe etwas verschieden aber in der Gesamtaussage reproduzierbar.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)



## Erfahrungen zum Nachweis von DON mit Hilfe verschiedener Untersuchungsmethoden bei der Vor- und Nacherntebeprobung von Winterweizen 2006

Andela Thate<sup>1</sup>, Susanne Schumann<sup>1</sup>, Gudrun Hanschmann<sup>2</sup>, Yvonne Urban<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Dresden,  
E-Mail Andela.Thate@smul.sachsen.de

<sup>2</sup>Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Leipzig

Untersuchungen zu Ährenfusarien bei Winterweizen nehmen in Sachsen in der Schaderregerüberwachung und der phytopathologischen Diagnostik einen breiten Raum ein. Neben Feldbonituren zur Milchreife und der Bestimmung des *Fusarium*-Artenspektrums stehen insbesondere Mykotoxin-Untersuchungen zur Deoxynivalenol (DON)-Belastung des Erntegutes im Blickpunkt des Interesses.

2006 wurden bei 20 ausgewählten Weizenproben zur Vor- und Nachernte mit verschiedenen Untersuchungsmethoden parallel die DON-Gehalte ermittelt. Nach einer exakten Probenentteilung wurden bei jeder Probe neben der HPLC und dem Fast-DON-ELISA (Fa. R-Biopharm) noch zwei serologische Schnellteste (Fa. R-Biopharm, Fa. Neogen) sowie eine Auszählmethode (nur Nachernteproben) zur Einschätzung der DON-Gehalte genutzt.

Alle durchgeführten Tests bestätigen, dass Vorernte-Untersuchungen (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 im Vergleich zu den Nachernte-DON-Werten lag bei der HPLC, dem ELISA und dem Schnelltest der Fa. R-Biopharm jeweils bei 89 % (n=19). Für den Schnelltest der Fa. Neogen ergaben sich größere Abweichungen, so dass dieser Test weiterer Prüfungen bedarf.

Für den Fast-DON-ELISA ergab der Vergleich mit den HPLC-Ergebnissen eine Übereinstimmung von 98 % (n=39) und somit eine ausreichende Genauigkeit. ELISA ist für Serienuntersuchungen, beispielsweise bei der aufnehmenden Hand sehr zu empfehlen, da mit diesem Testverfahren gleichzeitig eine eindeutige, quantitative Aussage möglich ist.

Der Schnelltest RIDA Quick DON (Dipstick-Assay, Fa. R-Biopharm) ist gut handhabbar und aufgrund des geringeren, technischen Aufwandes etwas preisgünstiger als ELISA. Der Schnelltest zeichnete sich durch eine hohe Empfindlichkeit aus, die sich in den mit der HPLC übereinstimmenden Ergebnissen bei 95 % (n=39) der getesteten Proben widerspiegelt. Eine genaue Einschätzung, ob der derzeit zulässige DON-Höchstwert von 750 µg/kg im Getreidemehl überschritten ist, lässt sich jedoch mit diesem Schnelltest nicht ermitteln. Aus diesem Grund kann dieser Schnelltest nur zur Orientierung bei Einzelfallentscheidungen in der Praxis, z.B. bei der Feldbeprobung vor der Ernte, empfohlen werden. 2006 war ein Jahr ohne größere Mykotoxin-Probleme in der Praxis. Die bisher guten Erfahrungen mit diesem Schnelltestverfahren müssen jedoch noch in Jahren mit höheren DON-Belastungen unter Beweis gestellt werden.

Die visuelle Beurteilung der DON-Belastung anhand von Körnerauszählungen (Methode LfL Bayern) ergab 2006 bei der Nacherntebeprobung eine Übereinstimmung von 100 % (n=20) mit den entsprechenden HPLC-Werten. 2005 dagegen lag die Übereinstimmung nur bei 50 % (n=12). 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 la-

bordiagnostische Untersuchungen sind in jedem Fall notwendig. Weitere Untersuchungen in 2007 sollen diesen einjährigen Vergleich der DON-Nachweismethoden untermauern.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

## Erfahrungen zur Methodik des *Fusarium*-Vorerntemonitorings bei Winterweizen

Helmut Tischner, Tobias Weber

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, Lange Point 10, 85354 Freising, Deutschland,  
E-Mail Helmut.Tischner@lfl.bayern.de

Die Belastung von Weizenpartien mit dem Mykotoxin Deoxynivalenol (DON) stellt sowohl für die Verwendung als Lebensmittel als auch in der Tierernährung ein Qualitätsproblem dar. Um bereits vor der Ernte Aussagen über die DON-Gehalte zu erhalten und damit Empfehlungen für die mögliche Verwertung treffen zu können, wäre ein Vorerntemonitoring auf Weizenschlägen hilfreich.

Seit mehreren Jahren werden in Bayern zwei Großparzellen für Untersuchungen zur Fusarienproblematik betrieben. Hierzu werden jeweils zwei in ihrer Fusarienanfälligkeit unterschiedliche Weizensorten ausgesät. 2006 standen hierfür die Sorten Solitär und Complet zur Verfügung. Vor der Ernte wurden aus jedem Schlag 5 Proben mit je 200 Ähren an 20 homogen im Feld verteilten Stellen entnommen. Alle Proben wurden sowohl mit HPLC, als auch mit der ELISA-Methode und einem Schnelltest (Streifentest von R-Biopharm) auf den DON-Gehalt getestet. Bei der Ernte wurden 5 Proben aus dem Erntegut entnommen und auf ihren DON-Gehalt getestet. Die Befunde ergaben, dass die unterschiedlichen Untersuchungsmethoden ELISA, HPLC und Streifentest relativ übereinstimmende Ergebnisse brachten. Allerdings können die Schwankungen des DON-Gehaltes innerhalb eines Schlages trotz der doch hohen Ährenzahl pro Probe noch beträchtlich sein. Bis zur Ernte können zudem noch signifikante Änderungen des DON-Gehaltes auftreten.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

## Ergebnis der DON-Abschätzung mit NIR an Vorernteproben 2006 und Stand der Entwicklung der NIR-Methode

Johann Lepschy, Dieter Nast, Günter Henkelmann, Manfred Munzert

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Vöttinger Str. 38, 85354 Freising, Deutschland,  
E-Mail Johann.Lepschy@lfl.bayern.de

Grundlage der NIR-Methode ist die Erkenntnis, dass 70-80 % des Mykotoxins DON in den sogenannten Fusarienkörnern enthalten sind. Die stofflichen Veränderungen des Korns durch die Fusarienpilze sind mit NIR messbar, wenn die Körner direkt d.h. ohne Vermahlung gemessen werden. Für die Messung stand ein NIR-Geräteprototyp der Firma Perten zur Verfügung. Die Spektren im Wellenlängenbereich von 900-1700 nm werden mit einem Diodenarrayspektrometer aufgenommen. Das Gerät enthält außerdem eine Kamera, mit der Lage, Abmessungen und Farbe des Korns gemessen werden können. Es wurde eine Kalibrationskurve erstellt. Die DON-Gehalte der einzelnen Körner wurden mittels HPLC bestimmt. Die Kalibration stützt sich auf zwei Typen von Körnern, gesunde und Fusarienkörner, die jeweils aus einer nicht und einer stark belasteten Partie stammen. Diese Kalibration lieferte ein Bestimmtheitsmaß von 73 %. Bei einer Validierung an einem heterogenen Probenmaterial sank das Bestimmtheitsmaß allerdings auf  $r^2 = 0,32$ . Eine direkte Bestimmung des Gehalts eines Einzelkorns über eine Kalibrierkurve ist also nicht möglich. Daher wurde

als Kriterium für eine Erkennung als Fusarienkorn ein Schwellenwert von 30 mg DON/kg gesetzt. Der durchschnittliche DON-Gehalt eines Fusarienkorns liegt zwischen 70 und 80 mg DON/kg. Aufgrund dieser Messung wird eine Einteilung der Partien in drei Gehaltsklassen vorgenommen:

GK I: bis 1,5 % DON positive Körner; Geschätzter DON-Gehalt der Partie: bis 1000 µg/kg

GK II: 1,6-3 % DON positive Körner; Geschätzter DON-Gehalt der Partie: 1000-2000 µg/kg

GK III: > 3 % DON positive Körner; Geschätzter DON-Gehalt der Partie: > 2000 µg/kg

Da die Gehalte der Fusarienkörner im unteren Prozentbereich liegen, muss eine ausreichend große Zahl von Einzelkörnern gemessen werden, d.h. mindestens 200 Körner, besser 400 und mehr pro Partie. Dies ist in der Praxis nur mit einem automatischen Probengeber zu bewältigen. Der Probengeber platziert die Körner rein statistisch in die Messkammer. Es muss daher sichergestellt sein, dass die Lage des Korns keinen wesentlichen Einfluss auf die Spektren hat. Ebenso dürfen die oft vorhandenen Bruchkörner keine Fusarienkörner vortäuschen. Umfangreiche Messungen mit dem Probengeber zeigten, dass beides der Fall ist, d.h. dass die Messwerte, speziell die zur Kalibration verwendeten ersten Ableitungen der Spektren weitgehend unabhängig von der Lage des Korns in der Messzelle und Bruchkörnerspektren identisch mit denen gesunder Körner sind.

Um die NIRS-Einzelkornmethode zu testen wurden 78 Weizenproben mit für uns unbekanntem DON-Gehalten aus Brandenburg und Sachsen gemessen. Von 58 Proben sind mittlerweile die DON-Gehalte bekannt. Darunter sind nur fünf Proben über 300 µg/kg, die alle richtig erkannt wurden. Eine Probe mit einem HPLC-Wert an der Nachweisgrenze wurde allerdings als hoch belastet eingestuft. Die Ursache dafür muss noch geklärt werden. Diese ersten Ergebnisse veranlassen uns, weiter an der Methode zu arbeiten, insbesondere die Kalibration auf eine breitere Basis zu stellen und die Kamera mit ihren diversen Möglichkeiten besser einzubinden.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

## Fungizidresistenz: Aktueller Stand der Erhebungen im Getreide und Interpretation der Ergebnisse

**Friedrich G. Felsenstein, Bernhard Jaser**

EpiLogic GmbH, Hohenbachenstr. 19-21, 85354 Freising, Deutschland,

E-Mail Friedrich.Felsenstein@EpiLogic.de

Im Rahmen eines Ringprojektes wird alljährlich ein Resistenzmonitoring im Getreide durchgeführt. Die langjährigen Messungen ermöglichen auch eine Bestimmung der Anpassungsdynamik sowie eine Abschätzung künftiger Entwicklungen. Mittlerweile haben sich fast alle Bundesländer den Erhebungen angeschlossen. Die Untersuchungen umfassen die Mehlaufformen bei Weizen, Triticale, und Gerste, Weizenbraunrost, *Septoria tritici*, DTR sowie Netzflecken an Gerste. Sensitivitätsanalysen werden zu den Wirkstoffgruppen SBIs (Azole + Morpholine), Strobilurine, Chinoline, Anilinopyrimidine, Benzophenone und Amidoxime vorgenommen. 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 werden biologische sowie molekulargenetische Analysenverfahren angewandt.

**Monogene (= qualitative) Resistenzbildung.** Gegenüber den Strobilurinen weisen die aktuellen Werte für die Krankheitserreger Weizenmehltau und *Septoria tritici* für ganz Deutschland eine hohe Frequenz von zumeist > 50 % an Isolaten mit der Mutation G143A auf. G143A führt zu sehr hohen Wirkungsverlusten am Pathogen und bei einer Häufigkeit von

entsprechenden Isolaten von > 50 % zumeist zur Wirkungslosigkeit des Strobilurin-Wirkstoffs im Bestand. Nur wenig besser, jedoch mit deutlicheren regionalen Unterschieden, ist inzwischen auch die Situation bei DTR und Gerstenmehltau. Bei Mehltau an Triticale hingegen ist die Mutation G143A bisher nur in einigen wenigen Regionen nachzuweisen, beim Weizenbraunrost und bei der Netzfleckenkrankheit an Gerste trat sie bisher 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 von untergeordneter praktischer Relevanz sind.

Auch hinter der Anpassung an Quinoxifen (Chinolin) und Cyprodinil (Anilinopyrimidin) steckt nach gegenwärtigem Kenntnisstand eine qualitative Resistenzbildung mit je nach Mutation unterschiedlich hoher Resistenzprägung. Die bisherige Anpassungsreaktion ist aber bei beiden Wirkstoffen in Deutschland als noch recht moderat einzustufen.

**Polygene (= quantitative) Resistenzbildung.** Diese Art der Anpassung, die bei den SBIs (Azole und Morpholine) typisch ist, vollzieht sich komplett anders als bei monogener Steuerung, nämlich grundsätzlich nur schrittweise („Shifting“) und oftmals sehr langsam. Um immer resistenter zu werden, muss der Pilz immer mehr dafür notwendige Gene in sich akkumulieren, was aufgrund genetischer Rekombination biologischen Grenzen unterliegt. Ein starker Wirkungsverlust ist deshalb eher selten zu beobachten. Über die Jahre, nach einer Phase der Anpassung folgt bisher immer eine Stabilisierung(sphase) in einer Art Seitwärtstrendkanal, in dem sich dann die Sensitivität je nach Selektionsdruck auf und ab bewegt. An Beispielen (Weizenmehltau - Azol, Weizenmehltau - Morpholin, *Septoria tritici* - Azol) kann dies aufgezeigt werden, auch die Einpendelung auf den wirkstoffspezifisch unterschiedlich hohen Anpassungsniveaus.

Die Untersuchungen umfassen aber auch Wirkstoffe, gegenüber denen der Anpassungsmodus noch unbekannt ist. Dies waren in 2006 Metrafenone (Benzophenon) sowie Cyflufenamid (Amidoxim). Gegenüber beiden Wirkstoffen war bisher noch keine Resistenzbildung nachzuweisen.

Ausführliche Informationen finden sich unter [www.epilogic.de/Aktuelles](http://www.epilogic.de/Aktuelles) (Ergebnisbericht).

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

## Probleme bei der Bekämpfung von *Drechslera tritici-repentis* infolge von Resistenzbildung gegenüber Fungiziden

**Bernd Rodemann**

Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland,

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

Die Untersuchungen zu Sensitivitätsverlusten des pilzlichen Schaderregers *Drechslera tritici-repentis* gegenüber den Strobilurinen wurden auch im Jahr 2006 fortgeführt. Die in den Jahren 2004 und 2006 ermittelten Punktmutationen F129L und G143A wurden in ausgeweiteten Monitoringerhebungen erneut bestätigt. So werden Pilzherkünfte mit der F129L-Mutationen vorwiegend in Dänemark und Schweden und vereinzelt im Norddeutschen Raum gefunden. Dagegen dominiert in Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Schleswig-Holstein und Sachsen-Anhalt die G143A-Form. In diesen Gebieten ist somit mit einer Unwirksamkeit der Strobilurine gegen den DTR-Blattdürreerreger zu rechnen, während bei Isolaten mit F129L aufgrund einer sterischen Änderung in der Molekülstruktur mit verminderter Wirksamkeit zu erwarten ist, die vermutlich durch erhöhte Aufwandsmengen teilweise ausgeglichen werden kann.

Zum Teil konnte festgestellt werden, dass in einer Population sowohl die G143A- als auch die F129L-Mutation auftrat.

Darüber wurden in einigen Pflanzenproben die neue Mutation G137R nachgewiesen, allerdings ist deren Wirkung momentan noch nicht einzuschätzen.

Monitoringstudien in *Drechslera tritici-repentis* - Populationen zum Sensitivitätsverlust von DMI's und Amininen ergaben bislang keine Wirksamkeitsverluste. Die Datenbasis ist derzeit nicht ausreichend, um eine länderübergreifende Einschätzung vorzunehmen.

Um eine detaillierte Prognose vorzunehmen und damit das Risiko möglicher Ertragsverluste zu minimieren, sollte ein Monitoring flächendeckend ausgeweitet werden. Eine geographische Übersicht über das Auftreten der einzelnen Mutationsformen (F129L o. G143A) von DTR würde somit eine spezifische Bekämpfungsstrategie ermöglichen.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

### **Diagnose von *Ramularia collo-cygni*, Auftreten des Blattfleckenkomplexes und die Konsequenzen für die Krankheitsbekämpfung in der Gerste**

**Michael Heß, Hans Hausladen**

Technische Universität München, Lehrstuhl für Phytopathologie, WZW, Am Hochanger 2, 85350 Freising, Deutschland, E-Mail m.hess@lrz.tum.de

Die vorzeitige Abreife von Gerstenbeständen aufgrund einer schnell fortschreitenden Nekrotisierung der oberen Blattetagen stellt ein wachsendes Problem im Gerstenanbau dar. Untersuchungen der Ursache weisen auf einen Komplex aus abiotischen und biotischen Faktoren hin. 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.

Der Einsatz der Fungizide muss sich nach dem Auftreten der Schadursachen und nach der Abschätzung der Wirtschaftlichkeit der Bekämpfung richten. Bei den klassischen Gerstenpathogenen kann dies anhand gut etablierter Entscheidungshilfen und Prognosemodelle erfolgen, doch erfassen diese den Blattfleckenkomplex nur unzureichend.

Die Optimierung der Maßnahmen setzt eine bessere Kenntnis der Epidemiologie des Blattfleckenkomplexes und der biotischen und abiotischen Einflussfaktoren voraus. Neben der Witterung wird vor allem dem pilzlichen Erreger *Ramularia collo-cygni* und von ihm gebildeten, photodynamischen Toxinen eine zentrale Rolle zugeschrieben. Untersuchungen zum Einfluss von Saattermin und Sorte zeigen einen deutlichen Einfluss des Pflanzenalters auf den Übergang von latentem Nachweis von *Ramularia collo-cygni* zu dem epidemischen Auftreten.

Durch den Vergleich der Befallsbeobachtungen, die mit unterschiedlichen konventionellen und molekularen Diagnosemethoden durchgeführt wurden, soll ein besseres Verständnis des Zusammenwirkens der verschiedenen Ursachen beim Blattfleckenkomplex erzielt werden.

Konsequenzen für die gezielte Bekämpfung werden vorgestellt.

(DPG AK IP, Projektgruppe Krankheiten im Getreide)

### Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

## Ergebnisprotokoll der 17. Tagung des DPG-Arbeitskreises Integrierter Pflanzenschutz, Arbeitsgruppe „Schädlinge in Getreide und Mais“

Das 17. Treffen der Arbeitsgruppe fand am 21. und 22. Februar 2007 in Braunschweig statt. Der Teilnehmerkreis von etwa 40 Personen setzte sich aus Vertretern des amtlichen Pflanzenschutzdienstes, von Behörden, der Industrie und der Forschung zusammen. Schwerpunkte dieser Tagung waren das Schadauftreten von Getreideblattläusen, Weizengallmücken und Mais-schädlingen. Daneben wurden ein in Südeuropa verbreitetes Maisvirus (*Maize rough dwarf virus*) sowie ein Projekt zur Erbsengallmücke vorgestellt. 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 standen der zunehmende Maiszünslerbefall in 2006 sowie Probleme mit zu erwartenden Schäden in 2007 durch Getreideviren im Vordergrund.

Der Herbstbefall mit **Getreideblattläusen** oder **Zikaden** führte aufgrund des sehr milden Winters zu einer starken Ausbreitung des **WDV** und des **BYDV** im Wintergetreide. In Bayern, Rheinland-Pfalz, Sachsen und Sachsen-Anhalt wurden im Herbst deutlich mehr Zikaden als üblich festgestellt, wodurch sich zumindest in Sachsen-Anhalt im Rahmen des dortigen Virusbefall-Monitorings in diesem Jahr wieder ein verstärkter Befall mit WDV ergab. Insbesondere in Nordrhein-Westfalen zeigten sich bereits Mitte Februar deutliche Virussymptome (BYDV und WDV) mit flächiger Ausbreitung selbst in solchen Wintergerstenbeständen, in denen zweimalige Insektizidbehandlungen oder Saatgutbeizungen erfolgt waren. Erste Probleme mit BYDV waren auch in Hessen, Schleswig-Holstein und Niedersachsen erkennbar.

Speziell in Niedersachsen war nach Informationen von Herrn **KRÜSSEL** (LWK Niedersachsen) im Herbst 2006 eine umfangreiche Überwachung des Auftretens von BYDV erfolgt. Sowohl im Ausfallgetreide als auch in den Frühsaaten wurde mit Hilfe von ELISA-Tests nur sehr wenig Virusbefall festgestellt. Mit D-Vac- und stationären Saugfallen wurde im Wintergetreide ein früh beginnender und länger anhaltender Herbstzuflug ab dem 7. Oktober festgestellt. In der Folge war ein hoher Anteil mit Blattläusen befallener Pflanzen zu beobachten, sehr häufig mit *Rhopalosiphum maidis*. Allerdings wurden in PCR-Untersuchungen bei insgesamt 228 einzeln auf Virusbeladung getesteten geflügelten Blattläusen nur 4,8 % Virusinfizierte festgestellt. Der be-

reits Anfang Februar zu erkennende verbreitete BYDV-Befall mit teilweise 89 % infizierten Trieben in Befallsnestern ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die witterungsbedingt lange Aktivitätsphase der Läuse und daraus resultierender Sekundärverbreitung bereits im Herbst zurückzuführen. Aufgrund fehlender Frostperioden ist ein Überwintern von Getreideläusen im Anholozyklus erfolgt. An drei Standorten wurden in Niedersachsen auch Aptere der Russischen Weizenblattlaus (*Diuraphis noxia*) gefunden. Angesichts des starken Virusbefalls wurde intensiv über die aktuellen Schwellenwerte zur Bekämpfung von Blattläusen als Virusvektoren im Herbst diskutiert (z. B. 20 % befallene Pflanzen bei Wintergerste und Winterweizen). Es herrschte Konsens darüber, dass die Bekämpfungsrichtwerte für die Landwirte praktikabel sein müssen.

Aufgrund der akuten Befallssituation mit Blattläusen hatte die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) in Braunschweig in einer Spontanaktion mit einigen Proben-sammlern den Blattlausbefall Mitte Februar 2007 untersucht. Es wurde ein stärkerer Besatz mit *Rhopalosiphum padi* in Rheinland-Pfalz, Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen festgestellt, als Besonderheit bei Herbstuntersuchungen sogar einige ovipare Weibchen von *Sitobion avenae*. *R. maidis* war im Frühjahr nicht mehr zu finden. Der Anteil geflügelter Tiere lag im Februar bei 20 %, sodass bei wärmerer Witterung ähnlich wie 1989 eine stärkere Verbreitung des Virus durch die Getreideläuse im Frühjahr zu erwarten war. Um dies zu verhindern, wurden Bekämpfungsmaßnahmen gegen die Vektoren in befallener Wintergerste bei nächster Gelegenheit empfohlen, sofern warmes Wetter (ab 10 °C) und Befahrbarkeit vorliegen. Im Winterweizen zeigen sich die Symptome erst viel später als in Wintergerste, daher war die Situation hier schwer einzuschätzen. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, dass auch im Winterweizen bereits Infektionen im Herbst und Winter stattgefunden haben und virus-beladene Blattläuse vorhanden sind.

In einem Vergleich von sieben verschiedenen Erfassungsmethoden für Getreideblattläuse im Herbst stellte Frau **KÖPKE** (Uni Hannover) unter anderem fest, dass mit Hilfe einfacher visueller Pflanzenkontrollen im Feld etwa 25 % der durch D-Vac-Saugfallen festgestellten Blattlausanzahl erfasst werden. Herr **SCHLIEP-HAKE** (BAZ, Quedlinburg) stellte genetische Untersuchungen zur biologischen Leistung, der Effektivität der Virusübertragung und der genetischen Diversität verschiedener Klone von *R. padi* vor. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei der Übertragungseffektivität zwischen den Genotypen, lediglich bei der biologischen Leistung.

Im zweiten Tagungsschwerpunkt zum Schadauftreten der **Weizengallmücken** (WGM) gab Herr **HEIMBACH** (BBA, Braunschweig) zunächst einen kurzen Überblick über bisher ausgewertete Daten aus dem bundesweiten WGM-Monitoring. Es zeigte sich bislang deutlich, dass Pheromonfallen ganz erheblich fängiger sind als wassergefüllte Weißschalen, welche nur einen Bruchteil der Individuenanzahl anlocken können. Ansonsten ergibt sich ein sehr differenziertes Bild, so gibt es zum Beispiel Standorte mit relativ hohem Ährenbefall bei geringem festgestellten Flugaufkommen, aber auch umgekehrt. Auch Herr **BURGHÄUSE** (Pflanzenschutzdienst Rheinland-Pfalz, Bad Kreuznach) berichtete über sehr große Unterschiede zwischen Weißschalen und Pheromonfallen beim WGM-Monitoring in Rheinland-Pfalz. Eine frühe Flugphase Ende Mai 2006 wurde durch Weißschalen besser erfasst, während in der Hauptflugphase Mitte Juli lediglich in den Pheromonfallen Massenfänge zu verzeichnen waren. In Weißschalenfängen in Halle/Saale wurden nach Informationen von Frau **VOLKMAR** (Uni Halle) Weibchen und Männchen beider Weizengallmückenarten gefangen, allerdings seien Weißschalen wegen der insgesamt geringen

Effizienz für die Praxis ungeeignet. An einem Standort kam es aufgrund einer guten Koinzidenz zwischen Gallmückenflug und Weizenstadium zu einem starken Befall. Aus Schleswig-Holstein berichtete Herr **MÖLCK** (Uni Kiel) über eine weitere Ausbreitung der Weizengallmücken im Jahr 2006 über das Land, wobei die dominierende Art *Sitodiplosis mosellana* war. Mit Hilfe von Pheromonfallen wurde ein sehr später Hauptflug dieser Art registriert, wobei sich beide verwendeten Fallentypen (Fa. Agrisense und Biotrap, Fa. Temmen) als in etwa gleichwertig herausstellten. Im Vergleich zu den Pheromonfallen lieferten Weißschalen nur einen etwa 10%igen Fangerfolg. Aufgrund der schlechten Koinzidenz zwischen dem Auftreten der Mücke und dem empfindlichen Stadium des Getreides kam es in Schleswig-Holstein zu keinen nennenswerten Ertragseinbußen durch WGM. Die Pheromonfallen werden als zuverlässiges Instrument zur Flugüberwachung von *S. mosellana* eingeschätzt. In bislang dreijährigen Parzellenversuchen konnte durch eine einmalige Insektizidapplikation in einem relativ breiten Zeitfenster ein guter Bekämpfungserfolg erzielt werden. Auch in Nordrhein-Westfalen schnitten die Pheromonfallen im Vergleich zu Gelb- und Weißschalen im Fangerfolg sehr gut ab, berichtete Herr **KLINGENHAGEN** (Landwirtschaftskammer NRW, Münster). In fünf Feldern lieferten die jeweils zwei aufgestellten Fallen im Jahr 2006 ausgeglichene Fangergebnisse. Es waren keine nennenswerten Schäden durch Weizengallmücken verursacht. Allerdings ergaben sich besonders an leichten Standorten bei Zusammentreffen von Schlupfzeitraum und der passenden Entwicklungsstufe des Getreides (Weizens, Triticale) höhere Larvenzahlen in der Ähre.

Herr **TAYLOR** (Nickerson, Rosenthal) stellte Ergebnisse aus Sortenversuchen vor, in denen durch rechtzeitige Beregnung ein hoher Befallsdruck in der empfindlichen Entwicklungsphase erzeugt wurde. Dabei zeigten sich sowohl bei der Fängigkeit als auch bei der Auszählung deutliche Vorteile bei der Falle von Agrisense im Vergleich zur Biotrap-Falle. Diese werden darauf zurückgeführt, dass das Pheromon bei Agrisense auf der Fläche mit einem Zählraster klebt, während es bei der Biotrap-Falle in der Luft hängt. Weißschalen lieferten auch in diesem Fall keine brauchbaren Ergebnisse. Beim Sortenscreening zeigten sich deutliche Resistenzen, insbesondere bei mitteleuropäischen Sortimenten. Verglichen wurden die Sorten mit der neu entwickelten „Ear-Rub-Methode“, bei der jeweils fünf Ähren zu EC 75 ausgerieben und die Anzahl beschädigter Körner gezählt werden. Die Sortenunterschiede beruhen ähnlich wie bei der *Fusarium*-Resistenz auf einem Antibiosis Effekt. Dabei werden die Larven nach Fraß an der Ähre im frühen Larvenstadium durch die in resistenten Sorten produzierte p-Cumarinsäure abgetötet. Fallzahlunterschiede zwischen den Sorten wurden in diesen Untersuchungen nicht festgestellt.

Das bundesweite Weizengallmückenmonitoring soll auch 2007 fortgeführt werden, etwa in gleichem Umfang wie im vergangenen Jahr an ca. 50 Standorten. Weißschalen sollen dabei in der bislang verwendeten Form nicht mehr eingesetzt werden. Die Pheromonfallen sind nach den gewonnenen Erkenntnissen ohne Probleme zur Flugüberwachung für die Praxis geeignet. Der große Vorteil ist dabei, dass die Insekten nicht bestimmt werden müssen.

Bei den **Maisschädlingen** wurde über eine erhöhte Befalls- und Eiablageaktivität des **Maiszünslers** im Jahr 2006 aus den Bundesländern Bayern, Hessen, Sachsen-Anhalt und Mecklenburg-Vorpommern berichtet. Seit 2006 muss auch Niedersachsen als Befallsland gelten. Lediglich Schleswig-Holstein hat diesbezüglich noch eine „Weiße Weste“. Herr **ZELLNER** (LfL, Bayern) berichtete über Untersuchungen zu den Einflussfaktoren und Vorhersagemöglichkeiten des Maiszünslerauftretens in Bayern. Dabei zeigte sich, dass die Stärke des Maiszünslerbefalls abhän-

gig ist von der Art der Bodenbearbeitung, der Erntetechnik und der Sommerwitterung. Das saubere Unterpflügen der Maisstopeln stellte sich als wirksamste Vorbeugemaßnahme heraus. Ein in Bayern verwendetes, auf Temperatursummen basierendes Prognosemodell könne lediglich eine Negativ-Prognose liefern. Zuverlässige Aussagen zum geeigneten Bekämpfungstermin wären nur mit Lichtfallen, wenn möglich in Ergänzung mit einem Schlupfkäfig zum Lebendfang, möglich.

Herr **GLOYNA** (BTL Sagerheide) stellte Ergebnisse von Gewächshausversuchen zur Wirtseignung verschiedener Getreide- und Gräserarten für den **Maiswurzelbohrer** vor. Im Gegensatz zu den meisten Gräsern war auf allen Getreidearten außer Hafer eine vollständige Entwicklung der Larven möglich, wobei allerdings das Pflanzenalter von besonderer Bedeutung zu sein scheint. Herr **BREITENBACH** (BBA) zeigte anhand von dreijährigen Feldversuchen zur Wirtspflanzeignung in Rumänien signifikante Unterschiede beim Maiswurzelbohrer in Thoraxbreite und Gewicht je nach Entwicklung von Larven im Mais oder in anderen Wirtspflanzen. In weiteren von Herrn BREITENBACH dargestellten Feldversuchen zur Wirkung von Saatgutbeizungen in Italien konnte eine Reduktion der Käferdichte (Adultschlupf) von ca. 50 % durch Clothianidin herbeigeführt werden.

Herr **MATTHES** (LLFG, Sachsen-Anhalt) stellte ein neues Projekt zur Klärung offener Fragen zur Biologie und zur Verbreitung der **Erbsengallmücke** (*Contarinia pisi* WINN.) vor. In diesem von der UFOP geförderten Gemeinschaftsprojekt (Landesbauernverband, Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau, BBA, Fachhochschule) werden Möglichkeiten der Überwachung der Erbsengallmücke mit Pheromonfallen und zur Entwicklung einer geeigneten Bekämpfungsstrategie entwickelt.

Der nächste Termin des Arbeitskreises für das 18. Treffen wird auf den 20. und 21. Februar 2008 festgelegt und findet in direktem Anschluss an die Tagung des AK Raps statt.

G. PETERSEN (ALR Lübeck)  
und U. HEIMBACH (BBA Braunschweig)

## **9. Sitzung der Projektgruppe „Heil-, Duft- und Gewürzpflanzen“ des Arbeitskreises „Phytomedizin im Gartenbau“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft“**

Am 20. Februar 2007 fand im Rahmen des Bernburger Winterseminars die 9. Sitzung der Projektgruppe „Heil-, Duft- und Gewürzpflanzen“ des Arbeitskreises „Phytomedizin im Gartenbau“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft“ statt. 19 Interessenten aus Wissenschaft und Praxis nahmen an der Sitzung teil. Im Mittelpunkt der Projektgruppensitzung stand diesmal der Einsatz von Nützlingen im Arznei- und Gewürzpflanzenbau. Hierzu war Herr Dr. Peter Katz von der Katz Biotech AG eingeladen, der den Teilnehmern der Sitzung in seinem Vortrag einen interessanten Einblick in das Gebiet der biologischen Schädlingsbekämpfung gewährte. Ein Höhepunkt war dabei ein Film der Universität Kiel, in dem in besonders anschaulicher Weise mit beeindruckenden Makroaufnahmen aufgezeigt wurde, wie im konkreten Fall biologische Schädlingsbekämpfung aussieht. Anschließend präsentierte Herr Prof. Dr. W. Dercks erste Ergebnisse und Erfahrungen zum Nützlingseinsatz im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau, speziell im Topfkräuteranbau und bei der Regulierung von Zikaden.

Herr Dr. Katz stellte kurz die Struktur und die Aufgaben der Katz Biotech AG vor. Die Firma besteht seit 1992 und umfasst derzeit 16 Mitarbeiter an zwei Standorten, in Welzheim, 40 km östlich von Stuttgart und in Baruth / Mark im Land Brandenburg. Die Aufgaben der Firma konzentrieren sich auf drei Schwerpunkte: (1) die Nützlingszucht und den Vertrieb, (2) die Entwicklung neuer biologischer Bekämpfungsverfahren und (3) die Bereitstellung von Nützlingen für ökologische Tests für die chemische Industrie. Letztere Aufgabe liegt darin begründet, dass nicht alle Pflanzenschutzprobleme mit biologischen Verfahren zu lösen sind, und die Forderungen an Pflanzenschutzmittel hinsichtlich ihrer Umweltverträglichkeit und Nützlingsschonung steigen. Zunächst führte uns Dr. Katz zu den Anfängen der biologischen Bekämpfung. Nützlinge zur biologischen Schädlingsbekämpfung haben schon die Ägypter vor 3000 Jahren eingesetzt. Sie domestizierten wilde Katzen zur Ratten- und Mäusebekämpfung. Über alle Kulturen und über Jahrhunderte hinweg wurden biologische Bekämpfungsverfahren angewendet, um Schädlinge unter Kontrolle zu bringen. So wurden und werden immer noch in Südostasien Laufenten in die Reisfelder getrieben, um Schädlinge zu bekämpfen. In Indien werden Geckos in den Hütten angesiedelt, um Stechmücken zu kontrollieren.

Bei der biologischen Schädlingsbekämpfung werden grundsätzlich drei Verfahren unterschieden: (1) die klassische biologische Schädlingsbekämpfung, (2) die Überschwemmungsmethode und (3) die Förderung von Nützlingen. Die Katz Biotech AG beschäftigt sich mit dem Verfahren der Überschwemmung, d.h. eine Schaderregerpopulation wird mit einer Freilassung des Gegenspielers überschwemmt. Damit eine solche Maßnahme erfolgreich ist, müssen verschiedene Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Der Schädling muss rechtzeitig erkannt werden.
2. Der Schädling muss für die richtige Nützlingswahl richtig bestimmt werden.
3. Die Einsatzbedingungen (Temperatur und Lichtbedingungen) müssen stimmen.
4. Die richtige Nützlingsmenge muss eingesetzt werden.
5. Schädigende Pflanzenschutzmittel dürfen nicht eingesetzt werden.

Als Vorteile der biologischen Schädlingsbekämpfung nannte Dr. Katz keine Rückstände auf dem Erntegut, keine Anwendergefährdung, keine Rückstände in der Umwelt, keine Resistenzprobleme und keine phytotoxische Wirkung.

Dr. Katz stellte eine Reihe von Nützlinge (die Raubmilbe *Phytoseiulus persimilis* zur Bekämpfung der Spinnmilbe, die Raubmilbe *Amblyseius cucumeris* zur Bekämpfung von Thripsen, diverse Blattlausgegensepieler wie *Episyrphus balteatus*, *Coccinella septempunctata* und die Gallmücke *Aphidoletes aphidimyza* sowie die Schlupfwespe *Aphidius ervi* und Nematoden zur Bekämpfung von Trauermücken) im Einzelnen vor und teilte seine breiten Erfahrungen beim Einsatz dieser Nützlinge in der biologischen Schädlingsbekämpfung mit. Er betonte, dass aufgrund des sehr unterschiedlichen Pflanzenspektrums im Kräuteranbau keine allgemeingültige Einsatzstrategie empfohlen werden kann. Bislang liegen nur recht wenige Erfahrungen in diesem Bereich vor, so dass für die einzelnen Kulturen Einsatzversuche notwendig sind.

Prof. Dr. Dercks stellte erste Ergebnisse aus Versuchen im Bereich der Arznei- und Gewürzpflanzen zur biologisch-integrierten Bekämpfung vor. Der erste Vortrag bezog sich auf Ergebnisse des Verbundprojektes „Nützlinge II“. Das Verbundvorhaben „Nützlinge II“ ist ein vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft, und Verbraucherschutz gefördertes nationales Forschungs- und Entwicklungsvorhaben zur Optimierung des biologischen Pflanzenschutzes mit Nützlingen und flankierenden Maßnahmen im Zierpflanzenbau und in Sonderkulturen ([http://www.bba.bund.de/cln\\_045/nn\\_979848/DE/Home/pflanzen\\_schuetzen/biologisch\\_alt\\_ernativ/verbund\\_nuetzl/verbund\\_nuetzl\\_node.html\\_nnn=true](http://www.bba.bund.de/cln_045/nn_979848/DE/Home/pflanzen_schuetzen/biologisch_alt_ernativ/verbund_nuetzl/verbund_nuetzl_node.html_nnn=true)) an sechs Standorten in Deutschland, einer davon in Thüringen ([http://www.bba.bund.de/cln\\_045/nn\\_979848/DE/Home/pflanzen\\_schuetzen/biologisch\\_alt\\_ernativ/verbund\\_nuetzl/verbundprojekt\\_nuetzlinge2/BetriebeRegionTh\\_C3\\_BCringen\\_inhalt.html](http://www.bba.bund.de/cln_045/nn_979848/DE/Home/pflanzen_schuetzen/biologisch_alt_ernativ/verbund_nuetzl/verbundprojekt_nuetzlinge2/BetriebeRegionTh_C3_BCringen_inhalt.html)). Die verschiedenen Projekte werden überregional vom Institut für Pflanzenschutz im Gartenbau der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft koordiniert. Die im Vortrag vorgestellten Ergebnisse und Erfahrungen zum Einsatz von Nützlingen im Topfkräuteranbau wurden in zwei verschiedenen Thüringer Betrieben gewonnen. In dem Thüringer Betrieb A traten in der Kräuterjungpflanzenproduktion insbesondere an Minzepflanzen stark Blattläuse auf. Hier galt es eine geeignete Bekämpfungsstrategie zu entwickeln. Als Hauptschädling wurde die Sumpffliege gesehen, die eigentlich als so genannter Lästling eingestuft wird. Durch ihr gehäuftes Auftreten waren die frisch gekeimten Pflanzen durch Kotablagerungen stark bedeckt. Infolgedessen war die Wuchstätigkeit beeinträchtigt und die Photosyntheseaktivität stark reduziert. Hier galt es ein Verfahren zu entwickeln, wodurch die Sumpffliegen in ihrer Populationsdichte minimiert wurden. Trauermücken wurden in der Jungpflanzenproduktion erfolgreich mit Nematoden bekämpft. Weiter sporadisch auftretende Schädlinge wie Spinnmilben, waren relativ einfach und effektiv mit Nützlingen zu bekämpfen. Es traten auch Zikaden auf, welche auf biologischem Wege noch nicht bekämpft werden können. Da sich die Schädigung meist nur auf die Mutterpflanzen beschränkte, war kein Einsatz von chemischen Mitteln nötig. Zur biologisch-integrierten Bekämpfung der Sumpffliege wurde ein *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis*-Präparat ausgebracht, das sich jedoch als wirkungslos erwies. Gute Bekämpfungserfolge wurde mit Bodenraubmilben (*Hypoaspis miles*) erreicht. Zur Blattlausbekämpfung in den Mutterpflanzen wurde unter anderem ein Schlupfwespen-Mix (*Aphidius ervi*, *Lysiphlebus testaceipes*) eingesetzt. Die Schlupfwespen parasitierten die Blattläuse auf den Kräuter-Mutterpflanzen gut. Nur die verschiedenen Minze-Arten wurden nicht von diesen Nützlingen angefliegen, was wahrscheinlich auf den ätherischen Ölgehalt der Pflanzen zurückzuführen ist. Durch die unzureichende Bekämpfung der Blattläuse an den Minze-Arten wurden zusätzlich Florfliegenlarven (*Chrysoperla carnea*) in den Mutterpflanzen ausgebracht. Da die Florfliegenlarven Allesfresser sind und somit auch die Blattlausmumien fressen, sollt eine zeitliche Reihenfolge bei der Blattlausbekämpfung in diesem Betrieb eingehalten werden. Nach einer Öl-Spritzung der Mutterpflanzen im Winter zur Blattlauseierabtötung sollten als

erstes *Chrysoperla*-Larven ausgebracht werden. Danach erfolgt der Schlupfwespeneinsatz. Im Verlauf der Kultur sollten dann die Florfliegenlarven nur noch sporadisch in Herde ausgesetzt werden, um eine Verringerung von bereits parasitierten Blattläusen, aus denen dann wieder Schlupfwespen schlüpfen, entgegenzuwirken. Zusätzlich wird die Blattlausbekämpfung mit Hilfe der Gallmückenlarven (*Aphidoletes aphidimyza*) unterstützt. Da die Blattlauspopulation im Mai stark zurückgeht, ist dann erst wieder im Herbst auf Blattläuse zu achten. Die Blattlausbekämpfung war in den Projektjahren nur noch in den Mutterpflanzen nötig. Es erfolgte kein Übergang der Schädlinge durch die Stecklingsvermehrung auf die gesamte Kultur. Die auftretende Spinnmilbenart *Tetranychus urticae* bevorzugt vor allem Zitronenverbene (*Lippia triphylla* syn. *Aloysia citriodora*). Die Raubmilbe *Phytoseiulus persimilis* kann erfolgreich eingesetzt werden. Die Bekämpfung der Trauermücken erfolgte mit jeder neuen Aussaat oder Stecklingsvermehrung. Hierbei wurden die Nematoden *Steinernema feltiae* mit 0,5 Mio. Tiere/1m<sup>2</sup> ausgebracht. In den vergangenen Projektjahren wurde mit Hilfe von Pflanzenbonituren der Schädlingsbefall der einzelnen Kulturen beobachtet. Es zeigte sich, dass es große Unterschiede in der Anfälligkeit für Blattläuse, Spinnmilben und Zikaden zwischen den einzelnen Kulturen gibt. Im Betrieb B wurden von Januar bis Oktober Topfkräuter und Kräuterstauden produziert. Während der Wintermonate stand das Gewächshaus leer. Hauptschädlinge waren Blattläuse, welche mit Hilfe der Offenen Zucht erfolgreich bekämpft wurden. Auch der relativ hohe natürliche Zuflug an Nützlingen während der Sommermonate begünstigte den Bekämpfungserfolg. Weitere Maßnahmen mussten gegen Trauermücken in der Vermehrung durchgeführt werden. Hier kamen Nematoden, Bodenraubmilben und ein *B.t.i.*-Präparat zum Einsatz. Zur Weiße Fliegenbekämpfung wurden *Encarsia formosa* auf Hänger ausgebracht. Auch die Raubwanze *Macrolophus pygmaeus* kam zum Einsatz. Das sporadische Auftreten von Spinnmilben wurde toleriert und keine biologisch-integrierte Maßnahmen durchgeführt. Zikaden traten auch auf. Da es aber noch keine rein biologische Bekämpfung gibt, wurden zur Reduzierung der Population gelbe Leimtafeln in die entsprechenden Töpfe gesteckt. Die Thripsanzahl lag in einer für den Betriebsleiter tolerierbaren Höhe. Um auftretende Blattläuse zu bekämpfen wurde eine Offene Zucht aufgezogen. Als Basispflanzen wurde das Getreide Sommertriticale `Logo` verwendet. Um die warmen Sommermonate zu überbrücken, wurden verschiedene Ziermaisarten getestet, ob sich auf diesen Pflanzen Getreideblattläuse vermehren können. In Zukunft wird während der Sommermonate zusätzlich Ziermais als Basispflanze genutzt. Bei der Offenen Zucht wurden ein Schlupfwespengemisch (*Aphidius ervi*, *Aphidius colemani*) ausgebracht. Die Entwicklung der Getreideblattläuse auf der Sommertriticale sowie die Entwicklung/Parasitierungen der Schlupfwespen waren während der bisherigen Projektzeit sehr gut. Das Schlupfwespen-Gemisch (*Aphidius ervi*, *Aphidius colemani*) wurde bei Anstieg der Blattlauspopulation im Bestand sporadisch ausgebracht. Zur Herdbekämpfung in Pepinopflanzen (auch Melonenbirne -*Solanum muricatum*-) und Basilikum wurden Florfliegenlarven (*Chrysoperla carnea*) eingesetzt. Die Bekämpfung der Trauermücken erfolgte mit jeder neuen Aussaat oder Stecklingsvermehrung. Hierbei wurden die Nematoden *Steinernema feltiae* mit 0,5 Mio. Tiere/1m<sup>2</sup> ausgebracht. Der Einsatz erfolgte im Frühjahr und Herbst. In den warmen Sommermonaten sind Nematoden zur Trauermückenlarvenbekämpfung durch höhere Bodentemperaturen nicht so sehr aktiv. Darum ist es effektiver in dieser warmen Periode ein *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis*-Präparat einzusetzen. Zusätzlich wurden zu den Nematoden Bodenraubmilben (*Hypoaspis miles*) zur Trauermückenlarvenbekämpfung eingesetzt, um den Erfolg zu verbessern. Im Verlauf der Projektzeit bevorzugte der Betriebsleiter den Einsatz des *B.t.i.*-Präparates. Das Vorkommen der Weißen Fliege wurde erfolgreich durch diese Schlupfwespe (*Encarsia formosa*) vermindert. Es erfolgte der Einsatz von 5 Tieren/1m<sup>2</sup> im 2-wöchigem Abstand. Stieg die Schädlingspopulation an, wurde die Ausbringungshäufigkeit kurzzeitig auf 1x pro Woche erhöht. Vor allem an der ständig im Gewächshaus bleibenden Malve, waren zahlreiche Weiße



Fliegen und parasitierte Larven zu finden. Die Raubwanze *Macrolophus pygmaeus* sollte durch Basispflanzen im Gewächshaus etabliert werden. Die Basispflanzen waren Aubergine, Boretsch, Guavensalbei und Pfefferminzpelargonie. Alle diese Pflanzen weisen behaarte Blätter auf, was Voraussetzung für die Etablierung des Nützlings ist. Die Raubwanzen wurden dreimalig auf den Basispflanzen ausgebracht (1 Tier/1m<sup>2</sup>). Leider wurden keine Nützlinge auf den Basispflanzen oder im Bestand wieder gefunden. Aus diesem Grund kann keine Aussage über die Wirksamkeit/Effektivität dieses Nützlings im Bezug auf die Weiße Fliegebekämpfung getroffen werden. In dem Betrieb zeigten die dort angebauten Kräuterkulturen gleichfalls Unterschiede in der Anfälligkeit für Weiße Fliegen, Blattläuse, Spinnmilben und Zikaden auf, die über Pflanzenbonituren erfasst wurden.

In seinem zweiten Vortrag stellte Prof. Dr. Dercks erste Ergebnisse vor, die in einem Projekt zur biologischen Bekämpfung von Zikaden gewonnen wurden. Die Ergebnisse wurden erstmals auf der Gartenbauwissenschaftlichen Tagung 2007 in Erfurt veröffentlicht (Sachse, A.; Neuber, M. und Dercks, W. 2007. Regulierung von Zikaden in Zitronenmelisse. In: Kurzfassungen der Vorträge und Poster. 44. Gartenbauwissenschaftliche Tagung; Erfurt, Deutschland, Februar 2007. Herausgeber: Deutsche Gartenbauwissenschaftliche Gesellschaft e.V., Hannover und Bundesverband der Hochschulabsolventen/Ingenieure Gartenbau und Landschaftsarchitektur e.V., Bonn: Seite 177. (Poster)).

Die Bedeutung von Zikaden als Schaderreger in Deutschland ist in den letzten Jahren gestiegen. Besonders in Arznei- und Gewürzpflanzen kam es mehrfach zu einem starken Auftreten von Zikadenpopulationen verschiedener Arten (z. B. *Eupterix spec.*), welches starke Ertragseinbußen in diesen Kulturen zur Folge hatte.

Deshalb wurde in den Sommermonaten 2006 ein Freilandversuch in Zitronenmelisse (Sorte 'Citronella') durchgeführt, in welchem verschiedene Bekämpfungsverfahren getestet wurden. Im Versuch wurden die auftretenden Zikadenarten (*Eupterix spec.*) bestimmt. Der Zikadenbefall wurde nur durch Calypso 480 SC erfolgreich reguliert. Dadurch wurden die vorhandenen Zikaden nicht nur getötet, sondern es wurde in den nächsten zwei Wochen kein weiterer Befall durch Zuflug erwachsener Tiere beobachtet. Bei der Behandlung mit NeemAzal-T/S und den Nematoden der Art *Steinernema carpocapsae* waren nur leichte Erfolge zu erkennen; die Zikaden verursachten in diesen Parzellen durch starkes Auftreten noch bedeutende Schäden. Die *Chrysoperla carnea* Larven hatten keinen Effekt. Der Versuch wird in den Sommermonaten 2007 in modifizierter Form wiederholt.

Die Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft wird als Mitveranstalter der nächsten Fachtagung für Arznei- und Gewürzpflanzen auftreten. Die Projektgruppe wird aufgerufen, die Fachtagung, die vom 18. bis 21. Februar 2008 in Bernburg stattfindet, aktiv durch wissenschaftliche Beiträge auf dem Gebiet der Phytomedizin und dem Pflanzenschutz im Arznei- und Gewürzpflanzenbau mitzugestalten. Die Form der 10. Projektgruppensitzung wird in der Beteiligung an der Fachtagung gesehen; eine separate Sitzung wird nicht stattfinden.

Ute Gärber und Wilhelm Dercks

## Report on the Annual Meeting of the Working Group Phytomedicine in the Tropics and Subtropics 2007

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 on Tropical and Subtropical Agricultural and Natural Resource Management (Tropentag). The Tropentag is jointly organized and hosted by the universities of Bonn, Hohenheim and Göttingen/Kassel-Witzenhausen (alternating venues) as well as by the Council for Tropical and Subtropical Research (ATSAF e.V.) in cooperation with BEAF/GTZ and attracts scientists and students from disciplines on an international scale.

The theme of this year’s Tropentag was “Utilisation of diversity in land use systems: Sustainable and organic approaches to meet human needs”. The conference took place from October 10-12, 2007 in Kassel-Witzenhausen, Germany and attracted 540 registered participants. During the conference more than 120 oral presentations were given and more than 300 posters displayed. The importance of plant pests and diseases in the tropics and subtropics was evident from the number of presentations related to phytomedicine and plant protection – a total of three “Plant Protection” sessions, two poster sessions and one oral session were held. As in previous years, the posters were presented during guided poster sessions. Due to the high number of posters related to phytomedicine, two guided poster sessions (Plant Protection I and Plant Protection II) allowed the contributors to present their work and answer questions. The posters were exhibited permanently during the conference.

The multidisciplinary nature of the working group “Phytomedizin in den Tropen und Subtropen” was again demonstrated during the oral session in which papers of high quality were presented. Topics ranged from: understanding post-harvest losses in vegetables in Southeast Asia; the reasons for the adoption of Integrated Pest Management in Nicaragua with a special focus on human health; and the impact of invasive alien weed species in Ethiopia. The last oral presentation elucidated the economics of biological control of insect pests in East African cabbage production. The working group will meet next year at the Tropentag to be held at the University of Hohenheim, Germany.

Dr. Björn Niere (chairperson) and  
Prof. Dr. Richard A. Sikora (vice chairperson)

### Understanding postharvest losses in vegetables using an upstream supply chain approach in South East Asia

Christian Genova, Shilpi Saxena, Katinka Weinberger,  
Antonio Acedo

AVRDC – The World Vegetable Center, Postharvest  
Management and Market Opportunities, Taiwan

Vegetable produce and processed products from the developing world are gaining greater importance both in domestic and international markets. However, due to the perishable nature of many vegetables, production is severely constrained by high postharvest losses, thereby making production and marketing of vegetables a relatively risky business. Yet, research in this area remains underfunded as evidenced by the scarcity of scientific papers, reliable data sources, and

research initiatives examining the magnitude and reasons of postharvest losses in developing countries. Still, there is a growing concern for food quality and safety aspects, since vegetables (together with fruit) belong to the class of food items traded that are most frequently affected by sanitary and phytosanitary measures. This paper provides an overview of the postharvest loss situation of several priority vegetables along the entire supply chain in three Southeast Asian countries, namely Cambodia, Lao PDR and Viet Nam. Looking at the whole supply chain infrastructure and using an analysis of marketing margins, it quantifies the volume and value of vegetable losses from farmers to retailers, and identifies the key reasons and measures being implemented at each stage to reduce postharvest losses. The paper then offers a brief review of the preventive measures in conjunction with the main reasons enumerated per supply chain agent. Analysis of the data indicates that vegetable loss is common to most agents, and on average totals around 17 percent of the total harvest, with a value of approximately US\$ 60 per metric ton produced. Physical loss is highest for farmers, i.e. roughly twice that for middlemen and about 30 percent higher than retailers, while monetary loss is highest for retailers. Results further show that postharvest loss is highest in Cambodia, whose supply chains are more complex than Lao PDR and whose technical expertise is inferior to Viet Nam considering post-harvest handling and processing of vegetables. The paper suggests putting emphasis on the development of disease control measures for farmers, and improving marketing efficiency for middlemen and retailers through product quality standards and strengthened rural-urban linkages, e.g. transport conditions, packaging and handling techniques, and market assurance.

### Do farmers adopt IPM for health reasons? – The case of Nicaraguan vegetable growers

Hildegard Garming, Hermann Waibel

Leibniz University Hannover, Development and Agricultural  
Economics, Faculty of Economics and Management,  
Germany

Integrated Pest Management (IPM) has been promoted in developing countries because it is considered to increase productivity in a sustainable and environmentally friendly way. Ideally, the use of non-chemical methods of pest control allows farmers to reduce pesticide use, leading to a reduction in health risks from pesticides. This health benefit could provide a major incentive for farmers to adopt IPM, given that they are aware of pesticide health effects and that the substitution of pesticides can be achieved. This paper investigates the role of farmers' perceptions of health risks of pesticides in the adoption of IPM practices among small-scale vegetable farmers in Nicaragua. Recognizing that health effects depend on changes in pesticide use, we account for two phases of the adoption process. During the experimentation phase, farmers observe the effectiveness of the IPM practices and whether pesticide use can be reduced. Then, based on these experiences, they decide to adopt or not. For the experimentation phase, a Poisson regression model is used, modelling the number of practices tested by the farmer as a function of perceptions of health risks of pesticides and socio-economic farmer characteristics. The substitution effect of different IPM

practices on pesticide use is then analysed in a log-linear regression model.

The results show that perceptions about pesticide health risks like e.g. prior experience of pesticide poisoning are determinants in the farmers' decision to test IPM practices. Also, training and knowledge in IPM and school education increase the number of practices tested. However, it is shown that the use of IPM practices does not substitute for pesticide use, nor do farmers shift towards less toxic products. It is concluded, that farmers' perceptions of pesticide health risks are a motivation to experiment with IPM practices. However, the options currently available to small-scale vegetable farmers in Nicaragua are still insufficient and not effective in substituting for pesticides, or farmers are lacking information about how to use these methods effectively. Two strategies to reduce pesticide poisoning are proposed: further research on non-chemical pest control in vegetables and continued farmer training in the effective application of existing non-chemical pest control practices.

### Impact of the pan-tropical weed *Parthenium hysterophorus* L. on human health in Ethiopia

Melanie Wiesner<sup>1</sup>, Teye Tessema<sup>2</sup>, Andreas Hoffmann<sup>3</sup>, Wilfried Pestemer<sup>4</sup>, Carmen Buettner<sup>4</sup>, Inga Mewis<sup>1</sup>, Christian Ulrichs<sup>1</sup>

- 1 Humboldt University of Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Section Urban Horticulture
- 2 Plant Protection Research Center, Weed Science, Ethiopia
- 3 Paul-Ehrlich-Institut, Federal Agency for Sera and Vaccines
- 4 Humboldt University of Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Section Phytomedicine, Germany

*Parthenium* (*Parthenium hysterophorus*) is one of the worst weeds for agriculture, the environment and human health in Ethiopia. *Parthenium* is a genus in the family Asteraceae. It is native to Mexico and South America and has spread after its introduction prolifically in Ethiopia and its neighbour countries. Studies in other parts of the world have shown that *Parthenium* inhibits the growth and seed germination of other plants through allelopathy, and also that they cause asthma and serious dermatitis in humans. Here most symptoms are contributed to the sesquiterpene lactone parthenin. However, detailed information on dose effects, the impact of other secondary plant compounds on human health, and the economic impact in Ethiopia are still missing.

In interviews we asked a total of 64 farmers (19-44 years old) in different infested territories in Ethiopia about their health problems when handling *Parthenium*. The following symptoms could be associated towards *Parthenium*: general illness (80%, tired, flappy), allergic reactions (90%, hay fever), asthmatic problems (62%, contraction of breath muscles, coughing fit), irritations of skin and pustules on hand balls (30%), stretching and cracking of skin (21%), stomach pains (22%, caused by the inhalation of pollen). The irritations of skin continue for one to two weeks. Apart from farmer interviews we have started to identify major secondary plant components in *Parthenium* at different developmental stages. For some of the identified substances we have looked in mouse experiments into the allergic potential. The statistical evaluation of the results is still ongoing.

*Parthenium* is an aggressive colonizer of wasteland, roadsides, railsides, watercourses, cultivated fields and overgrazed pastures. The impact on animal and human as well as the economic loss due to spreading of *Parthenium* in Ethiopia is severe.

### Economics of biological control in cabbage production in two countries in East Africa

Anna Jankowski<sup>1</sup>, Dagmar Mithöfer<sup>2</sup>, Bernhard Löhr<sup>2</sup>, Hermann Waibel<sup>1</sup>

- 1 Leibniz University Hannover, Development and Agricultural Economics, Faculty of Economics and Management, Germany
- 2 International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Kenya

A major constraint of cabbage production in Kenya and Tanzania are insect pests, especially the diamondback moth (DBM), which is resistant to almost all commonly used pesticides. In 2001, the International Centre of Insect Physiology and Ecology released an exotic parasitoid, which had been highly successful in control of the pest in Asia, for classical biological control of the pest in East Africa. This paper supplements existing ex ante impact assessments, conducted during the pilot phase of the project, by presenting the results of a medium term ex post economic impact assessment. Data were collected in two surveys in 2004/2005 in Central Province, Kenya, and Northern Zone, Tanzania; two major production areas. The two survey waves were conducted in both dry and rainy season to capture the seasonal variation. The analysis is based on a cross section of 1,291 randomly selected households from both countries. The study used a two-stage damage control production function framework, which treats both pesticide and the presence of biological control as damage abatement agents taking into account the endogeneity problem.

Results demonstrate that farmers producing cabbage in areas where the biological control is present use significantly less insecticide compared to farmers in areas without biological control. Farmers in Kenya use a higher amount of insecticide than farmers in Tanzania. Insecticide use is negatively correlated with insecticide price, farmer's knowledge about the biological control and farmer's age. Furthermore, the damage control function confirms a positive impact of the biological control agent on the cabbage yield. Overall, the results support the notion that introduction of classic biological control as a pest control strategy in the two Eastern African countries has positive effects on the productivity of cabbage, environment and farmer's health.

### Silicon-induced resistance affects basal resistance mechanisms of tomato infected with *Ralstonia solanacearum*

Kerstin Wydra<sup>1</sup>, Zoltan Boszo<sup>2</sup>, Rodrigue Diogo<sup>1</sup>, Hassan Ghareeb<sup>1</sup>, Nguyen Huong<sup>1</sup>, Peter Ott<sup>2</sup>, Tanja Schacht<sup>1</sup> and Frank Stahl<sup>3</sup>

- 1 Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Leibniz Universität Hannover, Germany
- 2 Department of Plant Pathology, Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Science, Budapest, Hungary
- 3 Institut für Technische Chemie, Leibniz Universität Hannover, Germany

Bacterial wilt caused by the bacterial pathogen *Ralstonia solanacearum* is one of the most devastating plant diseases and affects more than 200 plant species, among them tomato. Control is hardly possible, and, though resistant genotypes were described, breakdown of resistance has frequently been reported. However, in tomato the mechanisms by which colonization of *R. solanacearum* is restricted remain unknown. A beneficial effect of silicon in tomato, a silicon non-accumulator plant, and on a bacterial disease was only recently shown in our previous studies [PMPP 64:233-243]. Therefore, immunohistochemical, biochemical and molecular genetic studies on transcriptional level were undertaken to elucidate the underlying mechanisms of silicon-induced resistance Si-ISR.

Bacterial wilt incidence was reduced by 38.1% and 100% in silicon-treated plants of genotypes KingKong 2 and Hawaii7998, respectively, and bacterial numbers were reduced in stems and roots, indicating a Si-ISR. Immunohistochemical analysis of the structure of stem cell walls indicated silicon-induced changes suggesting an induced basal resistance on cell wall level. Quantitative real time PCR of genes involved in basal resistance reactions revealed increases in gene expression in plants inoculated with *R. solanacearum* after +Si treatment compared to -Si treated plants. Increases occurred in TSRF1 (tomato stress responsive factor), JERF3 (jasmonate and ethylene responsive factor 3), ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase), POD (peroxidase), and AGP (arabinogalactan protein), among which TSRF1 and AGP were significantly increased in +Si-treated plants compared to -Si plants. Microarrays using tomato chip TOM2 revealed genes coding for transcription factors, signal transduction and defense being up-regulated in Rs-inoculated Si-treated plants in comparison to -Si plants. High up-regulation of a protein of the newly detected tify (JAZ) protein family confirmed the former observations on involvement of the jasmonic acid-signaling pathway in Si-ISR.

**Potential of the parasitic wasp, *Lariophagus distinguendus* (Förster) (Hymenoptera: Pteromalidae) as a biological control agent for *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) in stored maize**

Charles Adarkwah<sup>1,4</sup>, Daniel Obeng-Ofori<sup>2</sup>, Sabine Prozell<sup>3</sup>, Matthias Schöller<sup>3</sup>, Christoph Reichmuth<sup>4</sup>, Carmen Buettner<sup>1</sup>

- 1 Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Section Phytomedicine, Germany
- 2 University of Ghana, Crop Science, Ghana
- 3 Biological Consultants Ltd., Germany
- 4 Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry (BBA), Institute for Stored Product Protection, Germany

The parasitic wasp, *Lariophagus distinguendus* is an ectoparasitoid of several beetle species that feed on durable stored products. The potential using *L. distinguendus* for the biological control of *Sitophilus zeamais* was assessed in maize stored in storage cylinders. The host finding behaviour of the parasitoid was studied in maize stored in various vertical depths in the cylinders. Holes of 3 mm diameter were drilled through PVC pipes of 20.5 cm length and 20 mm diameter. The pipes were inserted into the holes in the cylinders. An acoustic detector was used to identify the maize kernels that contained 3 weeks old larvae of *S. zeamais*. Uninfested maize kernels were filled into the cylinder to depths of 20, 25, 30, 35, 40, 45, 95 and 100 cm, respectively. For depths of 20, 25 and 30 cm, 25 adult *L. distinguendus* aged between 0-14 days were released; for 35, 40 and 45 cm, 30 adult *L. distinguendus* were released while for 95 and 100 cm, 100 adult *L. distinguendus* of the same age were released, each on top of the uninfested maize. Each treatment was repeated three times with control without parasitoids. *L. distinguendus* adults that entered the pipe and the wire mesh cage to parasitise the *S. zeamais* infested maize kernel were collected and placed in a 250 ml glass jars. The emergence of *S. zeamais* was recorded in both *L. distinguendus* treated and untreated maize weekly until the 6<sup>th</sup> week. *L. distinguendus* penetrated and infested *S. zeamais* stored in the cylinders at the various depths. This showed that *L. distinguendus* was able to find its host in the cylinder with infested maize kernels and produced F1 offspring. *L. distinguendus* also significantly reduced the emergence of *S. zeamais* in stored maize. The significance of these results with respect to the suitability of *L. distinguendus* for the biological control *S. zeamais* is discussed.

**Improved mycorrhisation in tomato by soil inoculation with *Pseudomonas* sp. Proradix®**

Yusran Yusran, Safrizal Safrizal, Markus Weinmann, Günter Neumann, Torsten Müller, Volker Römheld

University of Hohenheim, Institute of Plant Nutrition (330), Germany

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are regarded as an important factor for the uptake of phosphorus (P) and other relatively immobile nutrients particularly in low input systems. Furthermore, AMF support healthy growth of plants being involved in the resistance against toxic elements and suppression of pathogens. In arable land, however, mycorrhisation of plant roots may often be insufficient as a consequence of few AMF propagules, competition with deleterious soil microbes or stunted root growth. Large-scale soil inoculation with appropriate AMF is usually not practicable considering the costs and problems of inoculum production. As an alternative single studies have shown the potential for application of beneficial rhizobacteria to improve root infection with the indigenous, site-specific and adapted AMF flora.

In this study, the effect of a commercial fluorescent *Pseudomonas* sp. strain *Pseudomonas* sp. Proradix® (Proradix®, Sourcon-Padana GmbH & Co. KG, Tübingen, Germany) on mycorrhisation improvement, nutrient acquisition and growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants was tested in a greenhouse experiment. Tomatoes are an important vegetable produced in Indonesia. This investigation is a prerequisite for the ongoing development of bioeffectors useful under humid tropical conditions. Two tomato seeds were cultivated in pots containing 1.7 kg dry matter of a loess/sand mixture (3:1) with increasing levels (approx.: 0; 800; 4000; 8000 propagules per pot) of AMF inoculum (*Glomus intraradices* strain 510, Mycotec Biotechnik GbR, D-30419 Hannover) with and without *Pseudomonas* sp. Proradix® (1.5×10<sup>10</sup> cfu per pot). 100 N, 50 P, 150 K, 50 Mg, 0.06 Fe mg kg<sup>-1</sup> loess dry matter were fertilised. Proradix® significantly improved the establishment of AMF in tomato roots. Root and shoot biomass production of tomato was positively affected by Proradix®, which was particularly pronounced in the soil without AM inoculum. The P concentration in tomato shoots increased with increasing application rate of the AM inoculum, whereas the additional effect of Proradix® was small and only observed in the treatments with low rates of AM inoculation. Manganese concentrations in shoot tissue declined with increasing AM application rates and were additionally lowered by Proradix®. The results suggest that *Pseudomonas* sp. Proradix® is a mycorrhisation helper bacterium.

**Genetic variation in inducibility of resistance in tomatoes against *Phytophthora infestans***

Kalpna Sharma, Maria Renate Finckh

University of Kassel, Department of Ecological Plant Protection, Germany

Resistance induction is a commonly observed phenomenon in many plants and usually occurs in reaction to exposure to avirulent pathogens or certain chemicals (e.g. BABA). Induction can be achieved via the leaves and there is evidence that some plant strengthening products can induce resistance via the root. Currently we are working on the possibility to use induced resistance in tomato against *Phytophthora infestans*, causal agent of late blight by selecting more inducible varieties and the compounds that can be best used to induce resistance in practice with an emphasis on products that are easy to be applied preferably via the soil.

For this purpose, a total of 32 tomato varieties with various levels of susceptibility to late blight were screened by using detached leaf assays to determine if and what type of variation exists for inducibility of resistance. One month-old plants were sprayed with BABA (DL-3-amino butyric acid) seven days before challenge inoculation by spraying until near run-off, whereas control plants were sprayed with distilled water in a similar way. Leaves directly treated with BABA (old) and newly grown leaves (young) were included in the test. Resistance induction was usually higher on leaves newly grown after treatment than on old leaves that had been directly treated with BABA. The degree of induction varied among varieties based on the absolute (measured in cm<sup>2</sup> diseased leaf area) and relative disease reduction achieved through the use of BABA with several varieties showing no induction at all and others more than 90% disease reduction.

Based on the initial screening, eight varieties were selected for further investigation. We have examined the effect of Quality (Bio-Feed Product), an aqueous extract of herb via soil application along with BABA as a reference inducer. Three applications of 50 ml solution of Quality at 4% concentration had shown a significant effect on the level of infestation by *P. infestans* with up to 40% protection in some varieties indicating that there is indeed potential for improving field resistance by plant strengtheners.

#### Economic impacts of invasive weed species in developing countries: the case of *Parthenium* in Ethiopia

Christian Rupschus<sup>1</sup>, Dieter Kirschke<sup>1</sup>, Carmen Buettner<sup>2</sup>, Christian Ulrichs<sup>3</sup>, Taye Tessema<sup>4</sup>

- 1 Humboldt-Universität zu Berlin, Department of Agricultural Economics and Social Sciences, Germany
- 2 Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Science, Section Phytomedicine, Germany
- 3 Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Science, Section Urban Horticulture, Germany
- 4 Plant Protection Research Center, Weed Science, Ethiopia

Invasive weed species are plants that are non-native (alien) to the ecosystem and whose introduction threatens food security, health or economic development and biodiversity. The highly competitive and allergenic weed *Parthenium hysterophorus* was introduced to Ethiopia in 1970 s. The weed has spread to most parts of the country with high infestation rates in grasslands and even in crop fields. It is growing in different habitats from semi-arid low altitude to high-altitude areas. Interviews with farmers and researchers were conducted in several Ethiopian regions in 2006. Semi-structured question guidelines were used in group interviews among 64 farmers to achieve relevant data. Quantitative and qualitative information was collected about yield decline in fields and grassland, decline in animal production, effects on human and animal health and additional labour input due to *Parthenium*. Results show that the existence of *Parthenium* is a growing danger to small-scale farmers: tef and sorghum grain yields are reduced; milk output from dairy cows is decreasing to one third; the remaining milk is inedible due to its sour taste; animals suffer from skin allergy and reduction in weight; farmers suffer from skin allergy, itching, fever and asthma; intensive labour input has to be made in order to clean the crop fields. Even though exact figures cannot be given at the moment due to ongoing evaluation of the obtained data it can be said that the economic dimension of the problem seems to be tremendous. *Parthenium* is a current threat for further economic development in the rural areas of Ethiopia. Therefore effective methods have to be found in order to combat *Parthenium* and other weed species.

#### Predation efficiency of *Eocanthecona furcellata* on *Helicoverpa armigera* larvae reared on different host plants

Khin Thein Nyunt, Stefan Vidal

Georg-August-University Göttingen, Department of Crop Sciences, Entomological Section, Germany

The predatory pentatomid bug *Eocanthecona furcellata* (Wolff) (EO) is regarded a potential biological control agent against lepidopteran pests in Southeast Asia. We investigated the predation efficiency of EO with regard to the noctuid *Helicoverpa armigera* (Hübner) (ABW), which is a highly polyphagous agricultural pest, especially in cotton, chickpea and tomato in Myanmar. Specifically, we tested the influence of larval feeding reared on different host plants (cotton, cabbage, chickpea and tomato plants) or artificial diet on bug predation. In each experiment ten male and female EO adults were used, which were starved for 24 hours before the experiment. ABW larvae were fixed with tape and placed randomly in small plastic boxes before transferring ten EO adults to the centre of the arena. In a second series ABW larvae and their faeces were wrapped with Parafilm and also tested the same way. Movement of EO was recorded at room temperature.

EO adults preferred to prey on ABW larvae reared on cotton plants (42%); ABW larvae from cabbage, chickpea and tomato plants were accepted less as prey. ABW larvae fed on artificial diet were not accepted as prey (1%). Thirteen % of EO were not actively searching for hosts; however in the experiment with wrapped ABW larvae 38% were not active, and predation on ABW larvae from cotton was reduced to 25%. Adding faeces to the larvae did not result in higher predation rates by EO. Based on these data we recommend to release the predatory bug *Eocanthecona furcellata* in cotton fields as a biocontrol agent for controlling *Helicoverpa armigera* in Myanmar.

#### Studies on phyllody in *Parthenium hysterophorus* and host range of phytoplasms within important crops cultivated in Ethiopia

Julia Janke<sup>1</sup>, Martina Bandte<sup>1</sup>, Christian Ulrichs<sup>2</sup>, Taye Tessema<sup>3</sup>, Susanne von Bargaen<sup>1</sup>, Carmen Buettner<sup>1</sup>

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

*Parthenium hysterophorus* is an annual weed that, due to its competitiveness and adaptability to different climatic and soil conditions, is widely spread in Australia, South Asia and parts of East Africa. It was introduced to Ethiopia in the 1980ies and became the major invasive weed in both arable and grazing lands. In Ethiopia a disease caused by phytoplasmas was commonly observed in *Parthenium* (up to 75% field incidence). Diseased plants are characterised by excessive branching, reduced plant height and leaf size, and modification of floral structures into leaf-like structures that lead to sterility.

More than 700 plant diseases are associated with phytoplasmas. Phyllody symptoms caused by phytoplasmas were already found on different crops, e.g. sunn hemp, lupine, field pie, soybean and cowpea. This suggests that *Parthenium* phyllody also affects a wide range of legume species in Ethiopia. In order to test whether infected *Parthenium* plants can serve as a reservoir from which the pathogen could be transmitted to other plants, samples of important crops showing phyllody symptoms, such as faba bean, chickpea, lentil and grasspea as well as groundnut and sesame, were collected on locations in Ethiopia that were heavily affected by *Parthenium*.

DNA from these plants is going to be extracted and the phytoplasmas detected by polymerase chain reaction (PCR). The PCR-amplified DNA fragments will be further characterised applying restriction fragment length polymorphism (RFLP). Amplified fragments will be sequenced and phytoplasmas will be identified by comparison with sequences stored in databases. So far, the type of phytoplasma found in *Parthenium* – which shows the closest relationship of rDNA-sequence fragments to the species „*Candidatus Phytoplasma aurantifolia*“ – was also detectable on sesame, groundnut and faba bean. These infected plants exhibited severe malformations of inflorescences which resulted in reduced yields.

### Pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* to adults of the mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata*

Ali Ali, Helga Sermann, Carmen Buettner

Humboldt University of Berlin, Faculty of Agriculture and Horticulture, Section Phytomedicine, Germany

As an alternative to chemical control or as part of IPM programs, there is a resurgence of interest in the use of microbial insecticides for biological control of insect pests. Effects of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* on the adults of the mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), were determined in laboratory tests. Flies were obtained from infested guava fruit, collected by the seaside in Syria in September 2006. Fruits were placed on tubes of moist soil. Larvae dropped into the soil and pupated. Twenty-five pupae per replicate were spread uniformly on the bottom of soil in plastic containers and covered with 2-3 cm layer of moist soil. After that, fungal spores ( $8.84 \times 10^6$ ,  $8.84 \times 10^5$  and  $8.84 \times 10^4$  spores/cm<sup>2</sup>) were applied to soil surface using a dash bottle. The emerging adults were exposed to fungal spores on the surface of the soil. Adults were collected every 24 h until the end of emergence and then transferred to cages with water and food and incubated at 20°C. There were four replicates for each variants and the untreated control. The results were:

1. Died pupae were not infected by *L. muscarium*.
2. There was no effect of *L. muscarium* on adult emergence.
3. But 64.7% to 78.1% of emerging adults were infected.
4. Most infected flies died 2 to 6 days after emergence.
5. The died adults were mouldy with typical white mycelium of *L. muscarium*.

This study indicate that *L. muscarium* can cause mortality of adult stage of *C. capitata* under laboratory conditions.

### Insecticidal effects of *Parthenium hysterophorus* extracts rich in terpenoids and phenolic acids

Ivonne Roth<sup>1</sup>, Armin Blievernicht<sup>1</sup>, Carmen Buettner<sup>2</sup>, Taye Tessema<sup>3</sup>, Arunava Goswami<sup>4</sup>, Inga Mewis<sup>1</sup>, Christian Ulrichs<sup>1</sup>

- 1 Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Science, Urban Horticulture, Germany
- 2 Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Science, Phytomedicine, Germany
- 3 Plant Protection Research Center, Weed Science, Ethiopia
- 4 Indian Statistical Institute, Biological Science Division, India

*Parthenium* (*P. hysterophorus*) weed is native to the subtropics of North and South America. It is a fast-maturing annual weed that may reach a height of 2 m. Its leaves are pale green, branched and covered with soft fine hairs. Although it was

first recorded in Natal, South Africa, in 1880, it appears to have become common and troublesome only since the 1980 s. It is an aggressive colonizer of wasteland, roadsides, cultivated fields, and overgrazed pastures. *Parthenium* is an extremely prolific weed and causes severe economic loss, health problems and habitat destruction. It is known to release allelochemicals that inhibit the germination and growth of pasture grasses and other plants. We wanted to know whether such substances also show insecticidal efficacy against insect pests.

In a field study water extracts from shade dried *Parthenium* leaves have been applied to *Brassica juncea*, for controlling mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach). Population density was noted three days after extract application. The extract of *Parthenium* exhibited a tremendous reduction (down to 29% of the initial infestation) in the number of *L. erysimi*, one of the most important pests of *B. juncea*, may be due to the effect of phenolic acids.

In contact laboratory experiments with methanolic extract against *Harpalus* sp. (Coleoptera, Carabidae) and *Aphis fabae* (Homoptera, Aphidae) we could not find any insecticidal effect. However, in choice experiments where insects could choose between treated and untreated plant material, the extracts revealed a strong repellent effect.

To understand differences in results for different extracts we are going to analyse secondary plant components using acidified methanolic extracts from different aerial parts of *Parthenium*. The terpenoid parthenin and different phenolic acids are redissolved in acetonitrile and in 20% ethanol for HPLC analysis.

### Studies on transmission of the phyllody of *Parthenium* by *Cuscuta* sp. and different insect vectors in regard to cultivated plants

Thomas Henniger<sup>1</sup>, Martina Bandte<sup>1</sup>, Christian Ulrichs<sup>2</sup>, Taye Tessema<sup>1</sup>, Susanne von Bargaen<sup>1</sup>, Carmen Buettner<sup>1</sup>

- 1 Humboldt Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Section Phytomedicine, Germany
- 2 Humboldt-Universität zu Berlin, Institute for Horticultural Science, Section Urban Horticulture, Germany

*Parthenium hysterophorus* L. is an annual herb of the Asteraceae family, originating from the tropical America. It has become an invasive weed in tropical regions worldwide and is known in Ethiopia since 1980 from the region around Dire Dawa. Since then it has spread in the middle-high regions of the Ethiopian highland. Phyllody is an important disease of *P. hysterophorus*, which induces plant stunting and reduces seed production. It's causal agent is thought to be a phytoplasma and seems to be transferred by insect vectors like leafhoppers. Aims of the study are to identify natural vectors and to investigate transmissibility and host range of this plant pathogen in Ethiopia.

Symptomatic plants of *P. hysterophorus*, collected in Ethiopia along roads in the surroundings from Debre Zeit and Nazareth at an altitude of about 1500m, were used for transmission studies of the phytoplasmas to cultivated plants. Leafhoppers within the family Cicadellidae of a mass rearing established in Ambo as well as seedlings of *Cuscuta campestris*, which are suitable for the transmission of phytoplasmas, were used as experimental vectors. Furthermore, aphids and leafhoppers within the family Tettigometridae were collected from phyllody-infected *P. hysterophorus* plants around Debre Zeit and Nazareth with an exhaustor and transferred separately in 70% ethanol.

In opposite to previous studies by Taye et al. *Cuscuta campestris* was successfully established on healthy as well as

on diseased plants of *P. hysterophorus*. Haustoria predominantly developed at the leaves and leaf stalks. Especially young and small plants were particular susceptible. In conclusion, a method was established to determine the host range of the pathogen of the phyllody disease. The technical course of the transmission studies with leafhoppers was successful, but no characteristic phyllody symptoms at *P. hysterophorus* were induced after transmission experiments with *C. campestris* and leafhoppers within the family Cicadellidae until now. Collected insects were tested by a phytoplasma-specific polymerase chain reaction (PCR). Therefor the primer pair P1/P7 was applied to amplify an 1800bp rDNA fragment. Gel electrophoresis of PCR reactions, obtained from isolated DNA from different leafhoppers within the family Tettigometrida, revealed products between 1500bp and 2000bp. These results will be confirmed by RFLP analysis.

#### Compatibility of *Striga* mycoherbicides with fungicides delivered using seed treatment technology and its implication for *Striga* and cereal fungal diseases control

Abulegasim Elzein<sup>1</sup>, Beeden Fen<sup>2</sup>, Adolphe Avocanh<sup>2</sup>, Jürgen Kroschel<sup>3</sup>, Paul Marley<sup>4</sup>, Georg Cadisch<sup>1</sup>

- 1 University of Hohenheim, Institute of Plant Production and Agroecology in the Tropics and Subtropics, Germany
- 2 International Institute of Tropical Agriculture (IITA), IITA Biological Control Station, Republic of Benin
- 3 International Potato Center, Integrated Crop Management Division, Peru
- 4 Ahmadu Bello University, Institute for Agricultural Research, Nigeria

Root parasitic weeds of the genus *Striga* and fungal diseases constitute a major biotic constraint to staple food production in Africa, and consequently aggravate hunger and poverty. With the aim of improving sorghum and maize performance and yield, an investigation on the possibility of delivering *Striga* mycoherbicides (*Fusarium oxysporum* Foxy 2 & PSM197) and selected fungicides using seed treatment technology to control simultaneously *Striga hermonthica* and sorghum and maize fungal diseases was made for the first time. Film-coated seeds of sorghum with different application rates (dosages) of Apron XL and Ridomil Gold in combination with the mycoherbicides Foxy 2 and PSM197 and different coating adhesives were used. The effects of Apron XL and Ridomil Gold fungicides on growth and sporulation of the two isolates was examined by growing the film-coated sorghum seeds on PDA media. Delivering of the fungicides Apron XL and Ridomil with *Striga* mycoherbicides Foxy 2 and PSM197 using seed treatment technology did not interfere with the seed coating process nor with the initial survival of fungal isolates on coated sorghum seeds. Apron XL clearly enhanced the growth, sporulation and viability of both isolates, indicating strong compatibility with *Striga* mycoherbicides. However, Ridomil Gold was not compatible on PDA medium. Under field conditions of West Africa, the integration of fungicide Apron XL (at a rate of 0.5 ml/kg of seeds) with *Striga* mycoherbicides (Foxy2 & PSM197) and resistant maize cultivars using seed treatment technology and Arabic gum as adhesive showed significant reduction in *Striga* emergence by 81% and 90% compared to the respective resistant and susceptible controls. Improved performance of maize treated with *Striga* mycoherbicides and fungicide by 300% was further recorded. The compatibility between *Striga* mycoherbicides and Apron XL fungicide has significant implication for controlling simultaneously *Striga* and sorghum and maize fungal diseases and improving crop performance and yield.

#### Management of Fusarium head blight of wheat using antagonistic microorganisms

James W. Muthomi<sup>1</sup>, Ginson M. Riungu<sup>1</sup>, John M. Wagacha<sup>2</sup>

- 1 University of Nairobi, Department of Plant Science and Crop Protection, Kenya
- 2 University of Bonn, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Division Phytomedicine, Germany

Laboratory and green house studies were conducted to evaluate the efficacy of selected antagonists in control of Fusarium head blight. The antagonists tested were *Epicoccum* sp., *Alternaria* sp., *Trichoderma* sp., and *Bacillus* sp. Fungicides folicur<sup>®</sup> and copper oxychloride were used as standard check. Laboratory assay was carried out by paired cultures where a pathogenic isolate of *Fusarium graminearum* was grown together with antagonist. Antagonism was measured as reduction in pathogen colony diameter. Greenhouse experiments involved co-inoculation of pathogen and antagonist onto wheat ears. Head blight severity was assessed as the proportion of spikelets bleached and area under disease progress curve was derived from the severity data. Grain yield was determined after physiological maturity. Mycotoxin deoxynivalenol was determined by ELISA method.

The antagonists and fungicides tested were found to significantly reduce the growth of *Fusarium graminearum* colonies in culture. Fungicides folicur and copper oxychloride reduced pathogen colony growth by 100% while *Trichoderma* sp. showed 64% colony growth reduction. The least effective was *Epicoccum* sp.. However, the antagonists showed limited reduction in head blight severity in green house trials. Among the antagonists, *Trichoderma* sp. showed higher disease severity reduction (18%) while fungicide folicur was most effect with a reduction of 28%. All the antagonists had little or no significant effect on grain yield. However, co-inoculation of *F. graminearum* with *Alternaria* and *Epicoccum* spp. reduced deoxynivalenol content in the grain but *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp. showed increased levels of the mycotoxin.

The results indicated that some of the antagonist might be useful in the management of Fusarium head blight and the associated deoxynivalenol mycotoxin. However, more studies are required to determine the effectiveness of the antagonists under field conditions and to screen more microorganisms for potential usefulness in management of Fusarium head blight and mycotoxins.

#### Using eugenol for seed coating technology as storage fungi control in soybean seeds

Auntika Sawatwanich<sup>1</sup>, Pitipong Thobunluepop<sup>2</sup>, Chaiwat Jatisatien<sup>1</sup>, Suchada Vearasilp<sup>3</sup>, Elke Pawelzik<sup>2</sup>, Srisulak Dheeranupattana<sup>1</sup>, Araya Jatisatien<sup>1</sup>

- 1 Chiang Mai University, Department of Biology, Thailand
- 2 University of Göttingen, Department of Crop Science, Germany
- 3 Chiang Mai University, Department of Agronomy, Thailand

The efficiency of soybean seeds coated with eugenol against some storage fungi during storage time was determined in comparison with synthetic chemicals. The seed-coating formulation consisted of 1% eugenol, 2% chitosan, 0.1% lignosulphonic acid, 1% acetic acid and 95.9% distilled water. Four treatments, i.e seeds coated with chitosan, chitosan plus eugenol, seeds mixed with captan, and untreated seeds, were performed and kept at 15°C with 60% relative humidity for 6 months. The inhibition percentage of all treatments against some phytopathogenic moulds and a standard germination test was determined every month by the blotter method. The results showed that the seeds mixed with captan had the

highest tendency to control all the fungi. These seeds could be protected from the infection of *Colletotrichum* sp. for 5 months with an inhibition percentage decreasing from 78.95 to 27.27 and from the infection of *Cladosporium* sp. and *Macrophomina* sp. for 4 months, with a decrease from 100 to 33.33 and 80.00 to 45.83 inhibition percentage, respectively. The seeds coated with chitosan plus eugenol showed the highest efficiency to control the growth of *Cladosporium* sp. for 4 months with a decrease from 100 to 33.33 inhibition percentage and the growth of *Colletotrichum* sp. and *Macrophomina* sp. for 3 months, with a decrease from 70.00 to 46.15 and 83.33 to 47.37 inhibition percentage, respectively. The efficiency of the seeds coated with chitosan against the growth of *Cladosporium* sp. for 3 months was indicated by the decrease from 85.71 to 47.64 inhibition percentage and could control the growth of *A. flavus*, *Colletotrichum* sp. and *Macrophomina* sp. for 2 months, with an inhibition percentage decreasing from 66.67 to 38.46, 72.00 to 42.31 and 72.22 to 36.84, respectively. Results of a standard germination test showed that the seed coated with chitosan and chitosan plus eugenol could prolong the seed viability more than the seeds mixed with captan; the germination percentage changed from 92 to 74%, 92 to 72%, and 90 to 68%, respectively. However, the efficiency against tested moulds and the germination percentage of all treatments gradually decreased with increasing storage time.

#### Control of seed-borne fungi by radio frequency heat treatment as alternative seed treatment in barley (*Hordeum vulgare*)

Piyachat Akaranuchat<sup>1</sup>, Pichet Noimane<sup>2</sup>, Nattasak Krittigamas<sup>1</sup>, Dieter von Hörsten<sup>3</sup>, Suchada Vearasilp<sup>1</sup>

- 1 Chiang Mai University, Department of Agronomy, Thailand
- 2 Chiang Mai University, Postharvest Technology Institute, Thailand
- 3 University of Göttingen, Department of Crop Science, Agricultural Engineering, Germany

Fungal contamination impairs the malting process which is not in the interest of brewery industry and consumers. Conventional seed drying techniques are unable to control and eliminate fungi. The aim of this study was to determine and evaluate the efficiency of radio frequency (RF) heat treatment in eliminating seed-borne fungi in stored barley. Seeds of the barley variety "Bauding" with an initial moisture of 14.5% were treated with RF at 27.12 MHz. The input power was 24%. Seed health test was assayed by blotter method and standard germination test was assayed by ISTA rule 2006. The first experiment was to determine the effect of the various tested temperatures as follows: 60, 65, 70, 75 and 80°C for 3 min. The results showed that 70°C was the most promising temperature to control the seed-borne fungi. The infection percentage of *Aspergillus flavus*, *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. decreased to 16.67, 11.11, and 0%, respectively. The percentage of germination was reduced from 91% to 41%. RF heat treatment has shown a high efficiency in controlling seed-borne fungi in barley seed; however, it reduced the percentage of seed germination. The second experiment was performed at 65°C for 1, 3, 5 and 10 min. Treatments at 5 and 10 min were most effective. *Aspergillus flavus*, *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. infection percentages decreased to 16.67, 0, 0 and 0% after 5 min treatment and to 25, 11.11, 0 and 0% after 10 min, respectively. Germination percentages decreased from 91% to 78 and 62%, respectively. This experiment shows that 65 °C RF heat treatment for 5 min was the best combination to control seed-borne fungi whereas it maintained a barley germination capability of 78%. Therefore, RF heat treatment may be an alternative way with high potential to control seed-borne fungi.

#### Control of *Sitophilus oryzae* by radio frequency heat treatment as alternative phytosanitary processing in milled rice

Pratchaya Vassanacharoen<sup>1</sup>, Wanwarang Pattanapo<sup>2</sup>, Wolfgang Lücke<sup>3</sup>, Suchada Vearasilp<sup>4</sup>

- 1 Chiang Mai University, Department of Agronomy, Thailand
- 2 Chiang Mai University, Postharvest Technology Institute, Thailand
- 3 Georg-August-University Göttingen, Institute of Agricultural Technology, Germany
- 4 Chiang Mai University, Department of Agronomy, Thailand

The infestation of *Sitophilus oryzae* (L.) (rice weevil) in milled rice after harvest during storage is one of the biggest problem on rice food chain. *S. oryzae* destroys the external and internal parts of the rice kernel which becomes unpalatable for the consumer. The purpose of this study was i) to investigate and determine the efficiency of radio frequency heat treatment as an alternative to conventional chemical fumigation and ii) to find out the lethal parameters of radio frequency heat treatment in eradicating *S. oryzae* (L.) in milled rice. Milled rice cv. "Khao Dok Mali 105 (KDML105)" with 12% moisture content which was infested by *S. oryzae* was treated with radio frequency heat treatment at 27.12 MHz with the input power 30% under the various target temperatures 45, 47.5, 50, 52.5 and 55°C for 1 min and it was treated at 50°C for 0, 1, 3, 5, 10, 15 and 30 minutes. The result showed that temperatures higher than 50°C could be used to eradicate the storage insect *S. oryzae*. It was found that *S. oryzae* were completely eliminated after treatment at 50°C for 15 and 30 minutes, and at 52.5°C and 55°C for 1 min. Therefore, the radio frequency heat treatment had significantly resulted in the high efficiency of killing *S. oryzae*. It is concluded that radio frequency heat treatment shows a good potential in controlling the storage insect pest *S. oryzae* at temperatures from 50°C to 55°C. Further study is suggested to investigate the efficiency of temperature and application time to eliminate the different developmental stages of *S. oryzae* (egg larva and pupa) in milled rice during storage and consecutive to investigate the effect of radio frequency heat treatment on rice grain quality.

#### Application of the Endophyte *Piriformospora indica* in hydroponic cultures

Ahmad Fakhro<sup>1</sup>, Dietmar Schwarz<sup>2</sup>, Philipp Franken<sup>2</sup>, Susanne von Bargaen<sup>1</sup>, Martina Bandte<sup>1</sup>, Carmen Buettner<sup>1</sup>

- 1 Humboldt-University to Berlin, Institute for Horticultural Sciences, Department of Phytomedicine, Germany
- 2 Institute for Vegetable and Ornamental Crops, Großbeeren/Erfurt e.V., Plant Nutrition, Germany

*Piriformospora indica* (Basidiomycota, Sebaciales) is a root endophytic fungus with a broad host spectrum. *P. indica* colonizes the cortex of roots, promotes plant development and induces resistance against fungal pathogens. In the present investigation it was aimed to analyse, whether this endophyte also interferes with pepino mosaic virus (PepMV) infection of tomato – a serious problem in soilless cultures worldwide. However, all investigations for the influence of the fungus on plants have been up to now carried out in pot cultures where seedlings were inoculated upon planting. Because experiments using the model cultivar 'Hildares' showed that the time point of inoculation had only slight influence on the plant growth promoting effect, the application of *P. indica* could be examined in hydroponic cultures. Tomato plants were grown in a hydroponic system under standard conditions and inoculated after nine weeks with *P. indica* spores or hyphae from two different culture media. Colonisation of the roots was monitored after trypan blue staining and plant growth param-



eters were estimated. The experiments showed that the inoculum strongly influenced the spread of the fungus inside the root, but not the increase in root and shoot fresh weight. In a second set of experiments, the interaction between two isolates of PepMV and a number of tomato cultivars from Syria, Europe and USA were tested. Results revealed no difference in susceptibility indicating that the cultivar 'Hildares' can be used as model for further analyses of *P. indica*-PepMV-tomato interactions.

#### Ecological characteristics of the millet-worm *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae), a pest on millet worm in Sudan

Maymoona Ahmed Eisa<sup>1</sup>, Mechthild Roth<sup>1</sup>, A.E. El Hassan<sup>2</sup>, Ali Elbadawi<sup>3</sup>, R.M. Khafagi<sup>2</sup>, M.E. Elamin<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Technical University of Dresden, Institute of Forest Zoology, Germany

<sup>2</sup> University of Gezira, Department of Crop Protection, Sudan

<sup>3</sup> Agricultural Research Corporation Wad Medani, Sudan

Sudan is the largest country in Africa with an area of about 2.5 million square kilometers located in northeast and central Africa. Agriculture is the most important sector in the Sudanese economy, in terms of its contribution to GDP (gross domestic product). Millet is grown throughout the country during the rainy season from April to October. Pearl millet (*Pennisetum typhoides* Stapf & Harbbard) is extensively cultivated and used as food in Sahelian countries more than in any other area of Africa. Thus, the major areas of production in Africa are the Sudan and Sahelian zones. It is the stable food for the majority of six million inhabitants of western Sudan, i.e. Kordofan and Darfur states. Among cereals it ranks second to Sorghum both in the area cultivated and also in total production.

The main constraints of the production of millet in west Africa are drought, insect pests, diseases, weeds and birds. After the drought of the sub-saharan belt of West Africa which occurred during the period of 1972–1974 the millet worm *Heliocheilus albipunctella* became the major pest insect. Yield losses recorded reached more than 85%.

The presented paper describes the results of field studies carried out in Kordofan State concerning ecological parameters of this millet-worm. The emergence of first instar larvae in the field was recorded in late August 1993. The highest number of larvae were collected from Dembi and Herhri millet genotypes during September. The results documented that the duration of the larval period ranged from 36–43 days. Pupa-tion took place in a soil depth of 5–20 cm. In the upper soil layer (0–5 cm) no pupae were found, and in deeper soil layers (> 20 cm) the number of pupae sharply dropped according to the slight increase of soil moisture and the decrease of soil temperature. Adult females deposited their eggs only on the heads of millet, preferring half-emerged and fully-emerged flowering heads. The results showed that the occurrence of millet worm during the rainy season coincided with the heady stage of the millet. The moth disappeared from the field with the maturity of the crop.

#### Screening of Thai local plant extracts for their insecticidal effectiveness and the effect of its active compound on diamondback moth larvae

Kritchaya Issakul<sup>1</sup>, Elke Pawelzik<sup>1</sup>, Araya Jatisatien<sup>2</sup>, Chaiwat Jatisatien<sup>2</sup>, Suchada Vearasilp<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Georg-August-Universität Göttingen, Department of Crop Science, Germany

<sup>2</sup> Chiang Mai University, Department of Biology, Thailand

<sup>3</sup> Chiang Mai University, Department of Agronomy, Thailand

The application of botanical insecticides is one of alternative ways to reduce the use of harmful insecticides in agricultural pest management. Nine species of Thai local plant extracts with known insecticidal properties i.e. *Acorus calamus*, *Eugenia caryophyllus*, *Mammea siamensis* and six species of *Stemona* (*S. curtisii*, *S. tuberosa*, *S. burkillii*, *S. kerrii*, *Stemona* unknown 1 and *Stemona* unknown 2) were screened for the highest insecticidal activity by the Brine Shrimp Lethality Test (BST). *M. siamensis* expressed a very strong toxic effect on brine shrimp with the lowest 24 hour LC<sub>50</sub> value of 0.072 mg l<sup>-1</sup>. The purification of its active compound was conducted using chromatographic methods and the BST to select the most effective fraction. The spectroscopic method i.e. MS, IR and NMR were used for the identification of the active compound. Surangin B was finally identified as the active compound. Its insecticidal effectiveness on the 3<sup>rd</sup> instar larvae of diamondback moth was investigated by topical application and leaf dipping methods in comparison with methomyl. The results indicated that surangin B demonstrated a higher contact activity than methomyl with 24 hour LC<sub>50</sub> values of 0.07 and 0.51 g l<sup>-1</sup>, respectively. Moreover, surangin B also had a stronger antifeedant activity than methomyl with the percent of leaf area damaged of 0.83 and 0.14% for the surangin B concentration of 0.5 and 1.0 g l<sup>-1</sup>, respectively. However, methomyl exhibited a lower toxicity with 3.19 and 1.65% leaf area damaged for the methomyl concentration of 0.5 and 1.0 g l<sup>-1</sup>, respectively. From the results it can be concluded, that *Mammea* extract might be one of the natural insecticides for the diamondback moth management. However, before the future promotion, its efficiency under field conditions, effects on agricultural products and the ecosystem should be tested for confirmation of its insecticidal effectiveness and safety.

#### Impact of organic and mineral fertilisation on banana growth and nematode populations on different soils in Costa Rica

Thomas Kutter<sup>1</sup>, Alba Stella Riveros<sup>2</sup>, Barbara Wick<sup>1</sup>, Luis Pocasangre<sup>3</sup>, Franklin E. Rosales<sup>4</sup>, Hilmar Schröder<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Humboldt Universität zu Berlin, Division of Soil Science and Site Science, Germany

<sup>2</sup> Agreement University of Tolima – CATIE, Costa Rica

<sup>3</sup> International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP), Costa Rica

<sup>4</sup> Biodiversity International Banana Program, Costa Rica

The two main phytosanitarian problems of banana production in Latin America and the Caribbean are the fungal pathogen *Mycosphaerella fijiensis* Morelet causing the foliar disease Black Sigatoka and the soil nematode infestation of *Radopholus similis*. Fungicides, nematicides and mineral fertilisers therefore applied at high rates lead to excessive economic and ecologic costs. Small scale producers cannot afford these inputs and are highly dependent on alternative technologies. In prior experiments foliar applications of vermicompost teas from coffee pulp showed beneficial effects on Black Sigatoka resistance.

The present study aims at studying the impact of organic and mineral fertilisation on banana growth and nematode populations on different soils (inceptisols and andic inceptisols) under greenhouse conditions. Soil applications of vermicompost-tea on nematode infestation and banana seedling growth were compared to a standard mineral fertilisation programme and a control treatment. We used topsoils from two high and two low banana productivity sites in Costa Rica. Banana seedling growth was monitored over 20 weeks. Growth indicators such as "formation of new leaves", "diameter of the pseudostem", "shoot length" and "weight" were measured every two weeks. Infestation by nematodes was determined at the end of the experiment after 20 weeks.

Nutrient contents of the organic fertiliser, and soil chemical and biological characteristics of the different soils were evaluated as well.

After 20 weeks nematode populations in soil were higher with mineral fertilisation than with vermicompost-tea treatment and the control. Growth of banana seedlings (shoot length, formation of new leaves, weight) was highest with mineral fertilisation, followed by vermicompost-tea and the control. Mineraally fertilised plants exceeded all other treatments by far. Soil types affected growth of banana seedlings as well.

Soil application of vermicompost-tea is economically not feasible due to its low nutrient content. We speculate the tendencies towards better growth rates utilising the vermicompost-tea compared to the standard to be due to the fertilisers microbial support to soil biology. Further studies are required as regards the application of vermicompost-teas and other bio-products in order to develop ecologically and economically sound alternatives to the highly toxic nematicides.

### Comparison of the inhibitory effect of captan, chitosan-lignosulphonate polymer and eugenol coated seeds against rice seed-borne fungi

Pitipong Thobunluepop<sup>1</sup>, Chaiwat Jatisatienr<sup>2</sup>, Araya Jatisatienr<sup>2</sup>, Elke Pawelzik<sup>1</sup>, Suchada Vearasilp<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Georg-August-Universität Göttingen, Department of Crop Science, Quality of Plant Products, Germany
- <sup>2</sup> Chiang Mai University, Department of Biology, Thailand
- <sup>3</sup> Chiang Mai University, Department of Agronomy, Thailand

Presently, chemical seed treatments are in discussion due to their possible directly or indirectly impacts on human health or other living organisms. They may also negatively affect the ecosystem and the food chain. In rice seeds, chemicals may cause phytotoxic effects including grain degradation. Eugenol is the main component of clove (*Eugenia caryophyllis*) oil and it is known as an active agent against many pathogenic seed-borne fungi. It acts simultaneously as bactericide, fungicide and virocid. Moreover, it is non-toxic for humans if it is applied in normal doses. The present study compared the inhibitory effect of the following applications for rice seed treatment to protect them against seed-borne fungi during 12 months of storage: eugenol incorporated into chitosan-lignosulphonate polymer, only chitosan-lignosulphonate polymer and captan. The Blotter method was used for the determination of seed infection. The obtained results of fungi inhibition showed at first that captan treatment led to a better, i.e. longer, inhibitory effect on *Alternaria padwickii*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia* sp., *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus niger* than eugenol incorporated into chitosan-lignosulphonate polymer. Secondly, eugenol incorporated into chitosan-lignosulphonate polymer showed the longest inhibitory effect against *Bipolaris oryzae* and *Nigrospora oryzae* compared to captan and only chitosan-lignosulphonate polymer treat-

ments. Finally, both captan and eugenol incorporated into chitosan-lignosulphonate polymer showed non-significant different inhibitory effect on *Fusarium moniliforme*. The variant of only chitosan-lignosulphonate polymer for seed coating was only during the first 6 months of storage able to inhibit all species of the observed seed-borne fungi, whereas captan and eugenol incorporated into chitosan-lignosulphonate polymer were capable to inhibit most of the fungi until 9 months of storage.

### “Pesta” and alginate delivery systems of *Fusarium* spp. for biological control of *Striga hermonthica* (Del.) Benth. under Sudanese field conditions

Eldur Zahran<sup>1</sup>, Joachim Sauerborn<sup>1</sup>, Abbasher Awad Abbasher<sup>2</sup>, Elamin Ali Ahmed<sup>2</sup>, Dorette Müller-Stöver<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> University of Hohenheim, Institute for Plant Production and Agroecology in the Tropics and Subtropics, Germany
- <sup>2</sup> University of Gezira, Plant Pathology, Sudan

The parasitic weed *Striga hermonthica* is the main biotic factor affecting sorghum, maize and millet production in the semi-arid tropics. Since there is no simple, fast and inexpensive solution to the *Striga* problem, biological control with phytopathogenic fungi could be a beneficial alternative within an integrated control approach. Field experiments were conducted at Gezira, Sudan in two consecutive seasons (2003/2004), to study the efficacy of two biological agents (*Fusarium nygamai* (FN) and *Fusarium* sp. “Abuharaz” (FA)) formulated in wheat flour-kaolin granules (made by mixing fungal inoculum with wheat flour (semolia), sucrose and kaolin to form granules using a hand-operated “Pesta machine”) on *Striga* infestation and to determine the dose needed for effective weed control. Furthermore, an alginate formulation was tested as alternative delivery system. In the first season the highest control efficacy was achieved by applying FA in “Pesta” granules at 1.5 g/planting hole, which reduced the total number of parasite shoots by 82% and the number of healthy *Striga* shoots by 88% compared to the untreated control. As a consequence, sorghum biomass and sorghum 100-seed weight were increased by 88% and 110%, respectively, compared to the untreated control. FN and the combination of the fungal isolates were slightly less efficient in controlling the parasites. During the second season all preparations applied at 1.5 g/planting hole showed a lower efficacy in reducing *Striga* total number compared to the first season. Nevertheless, FA formulated in “Pesta” or alginate pellets caused disease in 74 and 80% of the *Striga* plants, respectively, and consequently improved sorghum performance. Both formulations proved to be easy delivery systems for the tested fungal isolates, however, from the economic point of view, the “Pesta” formulation is possibly more appropriate since it is cheaper and easy to prepare. Further research should focus on increasing and stabilising the efficacy of the bioagent under field conditions.

## AK VIRUSKRANKHEITEN DER PFLANZE, 29.03.2007

### NEUE METHODEN ZUM NACHWEIS VON PFLANZENPATHOGENEN: EINE ÜBERSICHT UND BEWERTUNG

Adam, Günter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uni Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek

Contact: guenter.adam@iangbot.uni-hamburg.de

Neue Methoden zum Nachweis von Pflanzenpathogenen: Eine Übersicht und Bewertung.

Seit der Einführung des ELISA-Testes in den 70er und der Erfindung der Polymerase-Kettenreaktion in den 90er Jahren des letzten Jahrhundert hat es rasante Weiterentwicklungen auf dem Gebiet der Detektionsmethoden für Pflanzenpathogene gegeben. Im Rahmen des Vortrages sollen einige dieser Neuentwicklungen vorgestellt und erklärt werden. Des weiteren ist auch eine Bewertung der Methoden bezüglich ihrer Bedeutung und ihrem zukünftigen Nutzen für die Routinearbeit des Pathogennachweises und der Diagnose vorgesehen. Damit soll ein Überblick gegeben werden, welche Methoden für welche Nachweiszwecke besonders geeignet erscheinen und sich daher in ähnlicher Form für die Routine etablieren werden, wie es beim ELISA-Test der Fall ist.

### EIN REKOMBINANTES PLUM POX VIRUS BREITET SICH LANGSAMER AUS ALS DAS WILDTYPVIRUS UND KANN MIT DIESEM IN EINER MISCHINFEKTION NICHT KONKURRIEREN

Christof Dietrich<sup>1</sup>, Qusai Al Abdallah<sup>2</sup>, Lara Lintl<sup>1</sup>, Agnes Pietruszka<sup>1</sup>, Edgar Maiss<sup>3</sup>

<sup>1</sup>DSMZ, Inhoffenstr. 7B, 38124 Braunschweig

<sup>2</sup>Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie, Beutenbergstrasse 11a, 07745 Jena

<sup>3</sup>Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

Contact: cdi04@dsmz.de

Der Effekt eines Rekombinationsereignisses im 3'-terminalen Bereich auf die biologischen Eigenschaften und die Konkurrenzfähigkeit des plum pox virus (PPV) wurde untersucht. Hierfür wurde ein Fragment, das den kodierenden Bereich des Hüllproteins (CP) und einen Teil der 3'-nicht-translatierten Region (3'-NTR) des nicht-aphiden-übertragbaren PPV (PPV-NAT) umfasst, durch ein entsprechendes Fragment aus dem PPV-Sauerkirschisolat (PPV-SoC) ersetzt. Die entstandene Chimäre PPV-NAT/SoC verursachte dem PPV-NAT vergleichbare, starke Symptome auf *N. benthamiana*. In Mischinfektionen mit PPV-NAT war PPV-NAT/SoC jedoch nicht konkurrenzfähig. Die Expression des Markergens DsRed durch PPV-NAT/SoC (PPV-NAT/SoC-red) konnte zeigen, dass die Zell-zu-Zell Ausbreitung des rekombinanten Virus langsamer verläuft, als die des ebenfalls DsRed-markierten PPV-NAT (PPV-NAT-red). In Mischinfektionen mit dem GFP-exprimierenden PPV-NAT (PPV-NAT-AgfpS) zeigte sich ein Trennungseffekt von PPV-NAT/SoC-red und PPV-NAT-AgfpS, wobei die Rekombinante häufig von PPV-NAT-AgfpS umgeben bzw. „eingeschlossen“ war. Die Daten legen nahe, dass in PPV-Infektionen Symptomausprägung und Konkurrenzfähigkeit unabhängige Aspekte sein können und dass Trennungseffekte zur Verdrängung eines rekombinanten Virus beitragen können.

## **BIOSAFETY ASPECTS OF POTYVIRUS-RESISTANT TRANSGENIC PLANTS: NO RECOMBINATION DETECTED BETWEEN POTYVIRUS DERIVED TRANSGENES AND CHALLENGING POTYVIRUSES**

Christof Dietrich<sup>1</sup>, Jane Miller<sup>2</sup>, Gaynor McKenzie<sup>2</sup>, László Palkovics<sup>3</sup>, Ervin Balázs<sup>3</sup>, Peter Palukaitis<sup>2</sup>, Edgar Maiss<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*DSMZ, Inhoffenstraße 7b, 38124 Braunschweig, 38124 Braunschweig*

<sup>2</sup>*Scottish Crop Research Institute, - Invergowrie, Dundee DD2 5DA, Scotland, United Kingdom*

<sup>3</sup>*Department of Applied Genomics, Agricultural Research Institute, H-2462 Martonvásár, Brunszvik u 2, Hungary*

<sup>4</sup>*Institute of Plant Diseases and Plant Protection, University of Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover*

Contact: [cdi04@dsmz.de](mailto:cdi04@dsmz.de)

Risk-assessment studies of virus-resistant transgenic plants (VRTPs) focussing on recombination of a plant virus with a transgenic sequence of a different virus require the comparison of recombination frequencies between viruses in doubly infected non-transgenic plants with those observed in singly infected transgenic plants to estimate recombination frequencies in VRTPs. In this study, the occurrence of recombination events was investigated in non-transgenic plants doubly infected with two different potyviruses, as well as in potyviral genomes in singly infected potyvirus-resistant transgenic plants. Different potyviruses (potato virus A, PVA; tobacco vein mottling virus, TVMV; potato virus Y strains PVY-O and PVY-H; plum pox virus strains PPV-NAT and PPV-SK68), were used in three combinations for double infection of a common host. Furthermore, VRTPs expressing either potyviral coat protein (CP), helicase (CI) or polymerase (NIb) coding sequences (PPV-NAT-CP, PVY-CI, PVY-NIb) were single infected with a potyvirus, which was not targeted by the respective transgenic resistance. To identify recombinant potyviral sequences, a sensitive RT-PCR was developed to screen 304 mixed infected non-transgenic plants, 92 mixed and 164 single infected transgenic plants for recombinant sequences. No recombinants were found in these plants. The results indicate that recombination events between different potyviruses in mixed infections and between a potyvirus infecting a potyvirus-resistant transgenic plant are likely to be very infrequent. Therefore, in the virus/V RTP combinations investigated in this study, recombination cannot be considered as a significant risk of VRTPs.

## **CHARACTERIZATION OF A NEW POTEXVIRUS INFECTING LETTUCE IN IRAN**

Dizadji, Akbar<sup>1</sup>, Koochi-Habibi, M<sup>2</sup>, Izadpanah, K<sup>3</sup>, Mossahebi, G.H.<sup>2</sup>, Winter, Stephan<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Plant Protection Dept., Faculty of Horticultural Science & Plant Protection, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*

<sup>2</sup>*Plant Protection Dept., Faculty of Horticultural Science & Plant Protection, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*

<sup>3</sup>*Plant Virology Research Center, Shiraz University, Shiraz, Iran*

<sup>4</sup>*DSMZ Plant Virus Division, c/o BBA, Braunschweig, Germany*

Contact: [S.Winter@bba.de](mailto:S.Winter@bba.de)

During surveys for virus diseases of lettuce, lettuce plants cultivated in Karaj, Iran with suspicious symptoms for virus infection were found that did not react in primary serological tests with antisera against the known viruses infecting this crop. Flexuous rod shaped particles resembling potexviruses were found upon electron microscopical examinations and infectivity

of the virus was demonstrated by mechanical transmission to a number of host plants including lettuce varieties. The virus was propagated in *Nicotiana benthamiana* and purified for antiserum production and establishment of ELISA tests. The complete nucleotide sequence of the viral ssRNA and its genome organization was further determined from cDNA generated using random primed synthesis and 5'-RACE techniques. The genome of this potexvirus is 7212 nucleotide in length excluding the poly A tail and contains five open reading frames (ORFs) coding for proteins of 192 kDa (1708 amino acids, aa), 25.5 kDa (234 aa), 12.4 kDa (113 aa), 9 kDa (84 aa) and 26 kDa (242 aa) respectively. The genome organization of this virus is typical for the *genus Potexvirus* with the coat protein (CP) gene as the 3' terminal ORF and a triple gene block consisting of three overlapping ORFs, (25, 12, and 9 kDa) just upstream of the CP and involved in cell-to-cell movement of potexviruses. The potexvirus from lettuce is related to *Alstroemeria virus X* (AlsVX), *Narcissus mosaic virus* (NMV) and *Scallion virus X* (ScaVX). It has a distinct host range and serology with <65% CP aa identity to any other potexvirus. From the analysis of the complete genome and considering the molecular criteria for species demarcation within the *genus Potexvirus*, this virus should be classified as a new potexvirus for which the name "Lettuce virus X" is proposed.

#### **ENDOGENE PARARETROVIREN**

Dr. Staginnus, Christina<sup>1</sup>, Dr. Faiza Noreen<sup>2</sup>, Dr. Rashid Akbergenov<sup>2</sup>, Dr. Trude Schwarzacher<sup>3</sup>, Dr. M.F. Mette<sup>4</sup>, Prof. Dr. Thomas Hohn<sup>5</sup>, Dr. K.R. Richert-Pöggeler<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Gregor Mendel Institute (GMI) for Molecular Plant Biology, Dr.-Bohr-Gasse 3, A-1030 Vienna, Austria*

<sup>2</sup>*Botanisches Institut, Universität Basel, CH-4056 Basel, Switzerland*

<sup>3</sup>*Department of Biology, University of Leicester, Leicester LE1 7RH, UK*

<sup>4</sup>*IPK Gatersleben, Corrensstr. 3, D-06466 Gatersleben, Germany*

<sup>5</sup>*Botanisches Institut, Universität Basel, CH-4056 Basel, Switzerland*

Contact: richert@ipk-gatersleben.de

Die Genom-Sequenzierungsprojekte der letzten Jahre und der damit ermöglichte ubiquitäre Einsatz von PCR zur Diagnose und Analyse in der Virologie zeigt, daß das Vorkommen von Fremd-DNA im Wirtsgenom, die Homologie zu viralen Nukleinsäuren aufweist, ein weit verbreitetes Phänomen im Pflanzenreich darstellt. Solch integrierte Sequenzen viralen Ursprungs können auf DNA und RNA Viren zurückgeführt werden und representieren „natürliche Transgene“, die entscheidend zum horizontalen Informationstransfer sowie zur Plastizität des Pflanzengenoms beitragen können. Bisher waren virale Integrationen nur aus dem Tierreich (Retroviren, Polydnaviren) bzw. bei Prokaryonten (Bakteriophagen) bekannt. Die Position, Struktur und Kopienzahl der integrierten Sequenzen ist sehr variabel und gibt Aufschluß über Alter und Evolution der invasiven Sequenzen wie am Beispiel von endogenen Pararetroviren gezeigt wird. Pararetroviren umfassen dsDNA Viren aus der Familie der *Caulimoviridae* und sind im Gegensatz zu Retroviren nicht auf eine Integration ins Wirtsgenom während ihrer Replikation angewiesen. Integrierte Sequenzen der Genera Badnaviren, Cavemoviren, Petuviren und Tungroviren wurden in verschiedenen Wirtsgenomen nachgewiesen. Eine mögliche Korrelation von Integrant-Anzahl und Virrusresistenz im Zusammenhang mit der „Genstilllegung“ (gene silencing) wird diskutiert und Modelle zur Viruskontrolle durch die Wirtspflanze aufgezeigt.

## **REKOMBINATION VON AUSBREITUNGSDEFEKTEN HÜLLPROTEINGEN-MUTANTEN DES POTATO VIRUS X (PVX) IN NICOTIANA BENTHAMIANA MITTELS TRANSIENTER AGROBAKTERIEN-VERMITTELTER EXPRESSION DER WILDTYPSEQUENZ**

Draghici, Heidrun-Katharina<sup>1</sup>, Varrelmann, Mark<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, AG Virologie, Grisebachstrasse 6, 37077 Göttingen, Germany

Contact: hdraghi@gwdg.de

Die virale RNA-Rekombination besitzt eine wichtige Rolle bei der viralen Adaption, Genomreparatur und bei der Erzeugung von Diversität. Für *Potato Virus X* (PVX) wurde bisher ein indirekter Rekombinationsnachweis geführt. Art der Rekombination und auch Charakteristika sind jedoch für PVX bisher nicht untersucht. Ziel dieser Arbeit ist, für PVX ein mit Fluoreszenznachweis ausgestattetes *in vivo* Rekombinationssystem unter Ausübung von starkem Selektionsdruck zu etablieren, um die PVX Rekombination detailliert charakterisieren zu können. Zu diesem Zweck wurde in das CP des agroinfiltrierbaren 35S-PVX-GFP eine Deletion eingefügt, und damit die Virusausbreitung zerstört. Um virale RNA-Rekombination und Rekonstitution der Ausbreitungsfunktion zu ermöglichen wurde ein intaktes 35S *in vivo* CP-Transkript (35S-CP) inklusive viraler 3'-ntr über *A. tumefaciens* in *Nicotiana benthamiana* co-exprimiert. Die Überprüfung der GFP-Expression in mit beiden Konstrukten co-infiltriertem Blattgewebe von *N. benthamiana* zeigte die Komplementation des defekten CP durch 35S-CP. 10-16 Tage nach Co-Infiltration von PVX-GFP-ΔCP plus 35S-CP, zeigten 50/55 infizierten *N. benthamiana* Pflanzen eine sich ausbreitende GFP-Fluoreszenz. Die CP Sequenz wurde dabei exakt rekonstituiert. Über Partikelbombardment der Plasmide auf abgetrennte *N.b.* Blätter konnte *A. tumefaciens* Rekombinationen ausgeschlossen werden. 4 CP-Gene von verschiedenen PVX-Isolaten mit variabler Sequenz wurden auf ihre Eigenschaft zur Wiederherstellung der Ausbreitungsfunktion über RNA-Rekombination untersucht. Mit diesen Experimenten konnte bei vergleichbarer Rekombinationshäufigkeit sowohl der Rekombinationsbereich bestimmt, wie auch bei einzelnen CP-Genen die Selektion auf chimäre CP-Gene mit bestimmter rekombinanter Sequenz beobachtet werden. Um eine mögliche Minimalsequenz für die Rekombination zu bestimmen, wurden im PVX-GFP CP-Deletionen unterschiedlicher Länge des 3'-Endes hergestellt. In Abhängigkeit von der Länge der Deletion wurde eine abnehmende Rekombinationshäufigkeit nachgewiesen.

## **AUFTRETEN VON VIRUSINFEKTIONEN AN SPARGEL IN NORDDEUTSCHLAND**

Elise Grubits<sup>1</sup>, Martina Bandte<sup>1</sup>, Frank Uwihs<sup>2</sup>, Carmen Büttner<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Humboldt-Universität zu Berlin, IGW, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin

<sup>2</sup>Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Heisterbergallee 12, 30453 Hannover

Contact: phytomedizin@agr.ar.hu-berlin.de

Im deutschen Spargelanbau werden Virusinfektionen in Wechselwirkung mit pflanzenbaulichen, klimatischen und anderen phytopathologischen Faktoren mit ober- und unterirdisch auftretende Wachstumsdepressionen in Zusammenhang gebracht. So sind Anzahl und Länge der zu erntenden Rhizome reduziert, das Spargelkraut zeigt neben chlorotischen Farbveränderungen häufig ein gestauchtes Wachstum. Verschiedene Viren wie das *asparagus virus 1* (AV-1), *asparagus virus 2* (AV-2), *cucumber mosaic virus* (CMV) und *tobacco streak virus* (TSV) wurden bisher an Spargelpflanzen nachgewiesen.

An jeweils 10 niedersächsischen Standorten im Zuständigkeitsbereich der ehemaligen Landwirtschaftskammer (LK) Weser Ems und LK Hannover wurden Phyllokladien-Mischproben von jeweils 20 Einzelpflanzen entnommen und mit Hilfe des enzyme-linked-immunosorbent assay (ELISA) unter Anwendung polyklonaler Antikörper auf eine Infektion mit AV-1, AV-2 und CMV geprüft. In die Testung wurden dabei sowohl Neuanlagen aus dem Kalenderjahr 2006 als auch 2-3 jährige und 5-7 jährige Anlagen einbezogen.

Lediglich 16 % der getesteten 400 Spargelpflanzen waren frei von CMV und AV-1 und AV-2. Allein 49% der Proben wiesen eine Infektion mit einem Virus auf (1 % CMV, 48 % AV-1). Mischinfektionen zeigten sich bei 35 % der Pflanzen (33 % CMV und AV-1, 3 % AV-1 und AV-2). Bei keiner der untersuchten Proben konnte eine Mischinfektion mit allen drei Viren – AV-1, AV-2 und CMV – festgestellt werden; auch eine Infektion ausschließlich mit dem AV-2 trat nicht auf.

Im Vergleich von Pflanzen aus verschiedenen alten Anlagen stieg der Anteil virusinfizierter Spargelpflanzen mit dem Alter der Anlage. Während bei Anlagen aus Neupflanzungen immerhin 12% der Pflanzen als virusinfiziert einzustufen waren, stieg deren Anteil in 2- bis 3-jährigen Anlagen auf 95%, respektive 98% in 5- bis 7-jährigen Anlagen. Es ist anzunehmen, dass die Übertragung der Erreger in der Anlage in Abhängigkeit vom Erreger durch Vektoren aus der Familie *Aphididae* (AV-1, CMV), Samen und Pollen (AV-2) und/oder eine mechanische Übertragung bei Schnitt- und Pflegearbeiten (AV-1, AV-2, CMV) erfolgt.

Mit noch ausstehenden Untersuchungen bleibt zu prüfen welche Symptome die einzelnen Viren an Spargel induzieren und in welchem Ausmaß die virusinduzierten Symptome durch klimatische oder andere phytopathologischen Faktoren beeinflusst werden.

## **MULTIPLEX-RT-PCR-ANALYSE ALS DIAGNOSTISCHES VERFAHREN FÜR DIE DIFFERENZIERUNG DES STAMMSPEKTRUM DES POTATO VIRUS Y**

Fomitcheva, Viktoria<sup>1</sup>, Schubert, Jörg<sup>1</sup>, Sztangret-Wisniewska, Joanna<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik, BAZ, Erwin-Baur Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

<sup>2</sup>Plant Breeding and Acclimatization Institute, Radzikow, 05-831 Mlochow, Polen  
Contact: v.fomitcheva@bafz.de

Das *Potato virus Y* (PVY), der Typenvertreter der Familie *Potyviridae*, ist eines der ökonomisch bedeutsamsten Schadviren, die an der Kartoffel auftreten. Das Virus wird anhand seiner Reaktionen mit Differentialwirten in Stammgruppen unterteilt. In den letzten zwei Dekaden sind neue Varianten des PVY nachgewiesen worden. Sie lassen sich in zwei Gruppen rekombinanter Stämme unterteilen: PVY<sup>NW</sup> und PVY<sup>NTN</sup> sowie das NA-PVY<sup>N/NTN</sup>. Während die Isolate der ersten Gruppe Rekombinanten zwischen PVY<sup>N</sup>- und PVY<sup>O</sup>- Stämmen in unterschiedlichen Kombinationen darstellen, stellen Isolate der zweiten Gruppe Rekombinanten zwischen einem N- Stamm und einem unbekanntem PVY-Stamm oder einem anderen unbekanntem Potyvirus dar. Für die Resistenzzüchtung, epidemiologische Analysen aber auch Untersuchungen zur biologischen Sicherheit (Auftreten von Rekombinanten) ist eine sichere Diagnose der Stämme des Virus erforderlich. Die Anwendung bisher publizierter Primerpaare für eine RT-PCR-basierte Differenzierung führte in vielen Fällen zu falschen Ergebnissen. Deshalb waren die Methoden zu verbessern.

Basierend auf der Identifizierung der kompletten Sequenzen von Isolaten verschiedener Stämme des PVY und unter Nutzung publizierter Sequenzen wurden neue differenzierende Primer für die RT-PCR abgeleitet. Die Stämme PVY<sup>N</sup>, PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>C</sup> und NA-PVY<sup>N/NTN</sup> können auf Grund ihrer Sequenzunterschiede sicher differenziert zu werden. Die

rekombinanten Varianten PVY<sup>NW</sup>- und PVY<sup>NTN</sup> können hingegen nur unter Verwendung der unterschiedlichen Positionen der Rekombinationspunkte zwischen den Ursprungssequenzen differenziert werden. Die entwickelten Diagnoseprimer sind hoch spezifisch und weisen keine unspezifischen Reaktionen mit den jeweils anderen Stämmen auf, weder im Fall von Einzelinfektion, noch nach künstlicher oder natürlicher Mischinfektion. Die Zuverlässigkeit dieser neu entwickelten Primer und des Verfahrens wurde erfolgreich an ca. 100 biologisch und serologisch charakterisierten PVY-Isolaten demonstriert.

Um die Diagnose von PVY zu vereinfachen und die Kosten zu senken, wurde die Multiplex-RT-PCR-Analyse unter Verwendung der entwickelten Primer eingeführt. Zuverlässige Resultate wurden für das Quadruplexing der Isolate der Stämme N, O, C und NA-N/NTN erzielt. Auf Grund der Größe der zur amplifizierenden PCR Produkte war es nicht möglich, PVY<sup>NW</sup>- und die rekombinanten PVY<sup>NTN</sup>-Isolate mit den o.g. Stämmen in den Multiplextest mit einzuschließen. Um diese Isolate nachzuweisen, musste eine separate Duplex-PCR etabliert werden.

Der Vorteil der entwickelten Methode besteht darin, dass Mischinfektionen eindeutig nachgewiesen werden können. Sie wird bei uns inzwischen routinemäßig für die Überprüfung der für die Resistenztestung verwendeten Isolate eingesetzt und hat gute Dienste erwiesen.

## **LETTUCE YELLOW MOTTLE VIRUS (LYMOV), A NEW CYTORHABDOVIRUS INFECTING LETTUCE**

Frederic Heim<sup>1</sup>, Herve Lot<sup>2</sup>, Brigitte Delecolle<sup>2</sup>, Gabriele Krczal<sup>1</sup>, Thierry Wetzel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>RLP Agrosience, AlPlanta Institute for Plant Research, Breitenweg 71, D-67435 Neustadt, Germany

<sup>2</sup>INRA Station de Pathologie Vegetale, Domaine St Maurice, BP94, F-84143 Montfavet Cedex, France

Contact: [thierry.wetzel@agrosience.rlp.de](mailto:thierry.wetzel@agrosience.rlp.de)

Members of the family *Rhabdoviridae* can infect either vertebrates or plants, and are transmitted by insects, in which they also multiply. Two plant rhabdovirus genera have been described: the cytorhabdoviruses which replicate in the cytoplasm of the infected cell (type member: *Lettuce necrotic yellows virus*, LNYV), and the nucleorhabdoviruses which replicate in the nucleus of the infected cell (type member: *Potato yellow dwarf virus*, PYDV). A new cytorhabdovirus infecting lettuces, serologically unrelated to LNYV, was isolated near Valence, France (Dr. Lot, INRA Avignon, France). The virus produces typical chlorotic spots and yellow leaf mottling on infected lettuce leaves.

Plant rhabdoviruses have a single-stranded, negative strand genomic RNA, of approximately 11-14 kb. Their transcription/replication process involves the synthesis of monogenic, positive strand mRNAs for each gene (transcription), but also full-length positive strand RNA molecules used as template for the synthesis of the viral RNA (replication).

The new cytorhabdovirus was propagated on *Nicotiana glutinosa*, purified, and viral RNA extracted from the purified virus particles. Purified viral particles were used for protein sequencing. The amino-terminal sequences were obtained for two proteins. These sequences showed a moderate degree of identity to the coat protein and glycoprotein of LNYV. These amino acid sequences were reverse-translated to design degenerate primers, to amplify by RT/PCR fragments of the viral genome. RT/PCR fragments in the coat protein gene (N gene) and in the glycoprotein gene (G gene) were cloned and sequenced. From these sequences, specific primers were generated, to be used in combination with degenerate primers to further clone and sequence the entire viral genome.



The complete genome is 12930 nucleotides long, and encodes six genes. Its genomic organisation is similar to that of LNYV. Gene by gene sequence comparisons with the corresponding sequences of other rhabdoviruses showed a maximum identity level of 65% between the replicases of this virus and LNYV, confirming that it corresponds to a new species of plant cytorhabdoviruses. The name *Lettuce yellow mottle virus* (LYMoV) is suggested.

### **THE 29K MOVEMENT PROTEIN OF TRV-RNA-1 ELICITS EXTREME AND HYPERSENSITIVE RESISTANCE REACTION IN INOCULATED LEAVES OF TWO SPRAIING RESISTANT POTATO CULTIVARS**

Ghazala Walid<sup>1</sup>, Varrelmann Mark<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Crop Sciences, Grisebachstrasse 6, 37077, Goettingen*

Contact: [wghazal@gwdg.de](mailto:wghazal@gwdg.de)

Tobacco rattle virus (TRV), belongs to the genus “Tobravirus”, causes spraiing disease in potato and severely affects tuber yield and quality. Screening for resistance to spraiing in potato is based only on exposure to nematode infection in naturally infested soils. Cultivars with resistance to spraiing are available, but the basis of resistance is unknown and a straightforward biotest for breeding is missing. Therefore, the resistance responses of potato cultivars, known to be resistant or susceptible to nematode infection with TRV PpK20 isolate, were analyzed using a full-length RNA-1 cDNA clone (Liu et al. 2002) and RNA-2 cDNA clone expressing the fluorescent marker protein DsRed. Both, mechanical leaf-inoculation and agroinfiltration experiments, revealed different host reactions, fitting nicely into the categories “spreading necrosis”, “extreme resistance” (ER) and “hypersensitive resistance” (HR), suggesting that spraiing and resistance to spraiing is not determined by factors of the virus vector. Transient agroexpression and Potato virus X (PVX) mediated expression assays, both demonstrated that the 29K-PpK20 movement protein (MP) is the elicitor of ER and HR, and its activity requires no other TRV encoded proteins and no RNA replication. The TRV resistance-breaking isolate PpO85M (Robinson, 2004), known to overcome the spraiing resistance in PpK20-HR but not in ER plants, encodes a variable 29K protein (29K-PpO85M) that is not eliciting HR in PpK20-HR plants. The results will help to solve the mode of inheritance of TRV resistance, likely to be monogenic dominant, and facilitate breeding for resistance.

### **MOLEKULARE CHARAKTERISIERUNG DES WHEAT SPINDLE STREAK MOSAIC VIRUS (WSSMV)**

Götz, Reinhard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*

Contact: [R.Goetz@bba.de](mailto:R.Goetz@bba.de)

Das Bymovirus *Wheat spindle streak mosaic virus* (WSSMV) gehört zusammen mit den Furoviren *Soil-borne cereal mosaic virus* (SBCMV) und *Soil-borne wheat mosaic virus* (SBWMV) zu den Viren, die von dem Bodenpilz *Polymyxa graminis* übertragen werden, und die in Deutschland an Weizen, aber auch Triticale und Roggen vorkommen. WSSMV kommt oft gemeinsam mit SBCMV vor. Beide Viren besitzen ein bipartites RNA-Genom, sind aber nicht miteinander verwandt, sondern gehören zwei verschiedenen Virusgruppen (Bymoviren bzw. Furoviren) an.

Sowohl für SBWMV als auch für SBCMV liegen bereits die kompletten Sequenzen für beide RNA-Stränge vor. Demgegenüber waren beim WSSMV bisher nur mehrere Sequenzen des 3'-

Endes der RNA 1 bekannt, die das Hüllprotein umfassen, bzw. eine Sequenz, die die 3'-Hälfte der RNA umfasst. Inzwischen liegen für WSSMV (Isolat: Hariri 2) die kompletten Sequenzen für beide RNA-Stränge vor. Die Größe der RNA 1 beträgt 7570 Nucleotide und die der RNA 2 4093 Nucleotide. Die Genomorganisation entspricht der der anderen Viren innerhalb des Genus Bymovirus. Anhand der Sequenz wird die Verwandtschaft des WSSMV zu den anderen Bymoviren an Weizen und Gerste, wie z.B. WYMV, BaYMV und BaMMV untersucht. Von den funktionellen Proteinen ist das VPg-Protein (genome-linked protein) von besonderem Interesse, da bei den Bymoviren der Gerste (BaYMV, BaMMV) das VPg als möglicher Virulenzfaktor angesehen wird. Aus diesem Grund wurden vergleichende Analysen zwischen verschiedenen Isolaten des WSSMV auf der Basis der Sequenz des VPg durchgeführt. Beim WSSMV besitzen alle bisher untersuchten Isolate eine Übereinstimmung von mindestens 96% in der Aminosäuresequenz des VPg-Proteins. Beim Vergleich der Aminosäure-Sequenz der verschiedenen Isolate des WSSMV sind nur ganz wenige Aminosäure-Austausche zu erkennen, die fast immer nur bei einem Isolat auftreten („zufällige“ Aminosäure-Austausche).

## **EINFLUSS DER TEMPERATUR AUF DIE ÜBERTRAGUNG VON LUTEOVIREN DURCH APHIDEN**

Habekuß, Antje<sup>1</sup>, Schliephake, Edgar<sup>1</sup>, Ordon, Frank<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Epidemiologie und Resistenzressourcen der BAZ, Erwin-Baur-Str. 27, 06484

Quedlinburg

Contact: a.habekuss@bafz.de

Luteoviren wie das *Barley yellow dwarf virus* (BYDV-PAV), das *Cereal Yellow dwarf virus* (CYDV) oder das *Turnip yellows virus* (TuYV) werden ausschließlich durch Aphiden persistent übertragen. Die Übertragungseffizienz hängt dabei von der Anzahl der Aphiden und der Übertragungssaugzeit ab.

BYDV und CYDV infizieren die meisten Gramineen und sind von großer ökonomischer Bedeutung besonders im Wintergetreide. Das TuYV wird durch *Myzus persicae* auf *Brassicaceae* übertragen und kann im Winterraps deutliche Ertragseinbußen verursachen. Diesen drei Viren ist gemeinsam, dass eine frühzeitige Infektion der Winterkulturen im Herbst die stärksten Schäden zur Folge hat. Die Kenntnis über den Einfluss der Temperatur auf die Virusübertragung durch den Vektor ist bisher wenig untersucht.

Für ein besseres Verständnis dieses Einflusses wurde daher die Übertragungseffizienz für die drei Viren durch Einzelläuse bei verschiedenen Temperaturen (10°C, 15°C, 20°C und 25°C) sowie Inokulations- und Akquisitionszeiten (1, 2 und 4 d) im Klimaschrank untersucht. Hierfür wurden Keimpflanzen der Wintergerstensorte ‚Rubina‘ mit virustragenden (BYDV-PAV, CYDV-RPV) *Rhopalosiphum padi* bzw. Jungpflanzen der Winterrapsorte ‚Express‘ mit *M. persicae* besiedelt. 6 Wochen nach der Inokulation erfolgten Symptombonitur und serologische Testung (DAS-ELISA) zur Ermittlung der Infektionsrate.

Die Grenze für eine erfolgreiche Virusübertragung wurde bei 10°C ermittelt. Ein Anstieg der Temperatur erhöhte, in Abhängigkeit von Inokulation- und Akquisitionszeit, den Übertragungsrate deutlich.

Daraus ergibt sich, dass der Zeitraum mit Temperaturen über 10°C, neben der Anzahl infektiöser Läuse, der entscheidende Faktor für erfolgreiche Herbstinfektionen in der Wintergerste und im Winterraps ist.

## **IDENTIFIKATION DIFFERENTIELL EXPRIMIERTER GENE NACH BYDV- INFEKTION IN GERSTE (HORDEUM VULGARE L.)**

Hobert, Mirko<sup>1</sup>, Habekuß, Antje<sup>1</sup>, Zahn, Marc<sup>1</sup>, Friedt, Wolfgang<sup>2</sup>, Ordon, Frank<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Resistenzressourcen, Quedlinburg

<sup>2</sup>Justus-Liebig-Universität Giessen, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I, Giessen

Contact: M.Hobert@bafz.de

Die viröse Gelbverzwergung der Gerste, verursacht durch *das Barley Yellow Dwarf Virus* (BYDV), führt weltweit zu erheblichen Ertragsverlusten an Gerste und anderen Getreidearten. Als Überträger der Viren sind ausschließlich verschiedene Blattlausarten beschrieben. Für die Toleranzausprägung gegenüber BYDV sind mehrere QTL bekannt, für die codominante Marker zur Verfügung stehen. Ziel dieser Arbeit ist eine Identifikation von differentiell exprimierten Genen in der Gerste, um Kenntnisse über die an der Toleranzausprägung gegenüber BYDV beteiligten Gene zu gewinnen. Ausgangspunkt sind Doppelhaploide (DH) Linien der Kreuzung 'Post' x 'Vixen', welche an den QTL auf Chromosom 2H und 3H verschiedene Allele tragen. Diese wurden mit dem BYDV-Isolat PAV-ASL infiziert und der Infektionserfolg am dritten Blatt mittels DAS-ELISA 15 Tage nach der Inokulation überprüft. Aus dem verbleibenden Teil des dritten Blattes wurde mRNA isoliert und in einer RT-PCR doppelsträngige cDNA erstellt. Im Rahmen der anschließenden cDNA-AFLP Analysen wurden bisher 200 *EcoRI* +2/*MseI*+2 Primerkombinationen analysiert und es konnten mehrere differenzierende Fragmente identifiziert werden. Diese werden fortschreitend sequenziert und über Datenbankvergleiche werden Erkenntnisse zu putativen Funktionen gewonnen. In einem letzten Schritt sollen diese differentiell exprimierten Gene nach allelspezifischer Sequenzierung und Entwicklung entsprechender Marker kartiert werden, um Hinweise darüber zu gewinnen ob diese in entsprechenden QTL-Regionen lokalisiert sind. In diesem Zusammenhang konnte bisher eine UDP-D-Glucuronate Decarboxylase identifiziert werden, die in BYDV-infizierten Pflanzen deutlich schwächer exprimiert wird.

## **RASPBERRY LEAF SPOT VIRUS (RLSV), EIN NEUES REOVIRUS AN HIMBEEREN**

Jelkmann, Wilhelm<sup>1</sup>, Alt, Simone<sup>1</sup>, Martin, Robert R.<sup>2</sup>, Leible, Svenja<sup>3</sup>

<sup>1</sup>BBA, Institut für Pflanzenschutz im Obstbau, Doss

<sup>2</sup>Department of Botany and Plant Pathology, Oregon State University, Corvallis, USA

<sup>3</sup>BBA, Institut für Pflanzenschutz im Obstbau, Dossenheim

Contact: W.Jelkmann@BBA.DE

An Himbeeren wurde in den USA und Kanada eine Aphiden (*Amphorophora agathonica*) übertragbare Virose nachgewiesen und als Raspberry leaf spot beschrieben. Beobachtet wurden mosaikartige chlorotische Blattflecken und eine Wachstumsreduktion der Pflanzen. An *Rubus rosifolius* werden nach Pfropfübertragung massive Symptome beobachtet, die zu Absterben der Pflanzen führen. Der Vektor der in Europa beschriebenen Raspberry leaf spot Virose ist die Blattlaus *Amphorophora idaei*. Inwieweit die Erkrankungen durch das gleiche Virus verursacht werden ist noch unbekannt.

Molekular untersucht wurde ein Isolat aus Britisch Kolumbien. Hierzu wurde zunächst dsRNA in geringen Mengen isoliert und eine cDNA Klonbank erstellt. Weitere cDNA Klone wurden mittels PCR erstellt. Erste Sequenzanalysen wiesen Homologien zu dem *Rice ragged stunt virus* (RRSV) auf. Die von RLSV in Analogie zu RRSV benannten dsRNA-Segmente 1 und 7

RLSV liegen vollständig sequenziert vor. Beide RNAs besitzen ein durchgehend translatiertes ORF. Die RLSV RNA1 ist 3948 Nukleotide und das putative Protein RLSV P1 besteht aus 1276 Aminosäuren mit einem MW von 143.1 kDa. Die RLSV RNA 7 hat eine Segmentgröße von 1936 bp. Das putative Protein RLSV P7 besteht aus 601 Aminosäuren mit einem MW 68 kDa. Weitere Homologien zu RRSV zeigen die bisher zum Teil sequenzierten RLSV dsRNA-Segmente 3, 4 und 5.

#### **INTERNATIONAL REFERENCE CENTRE FOR THE GENOMICS AND DIAGNOSIS OF VIRUSES WITH SMALL CIRCULAR DNA**

Jeske, Holger<sup>1</sup>, Bejarano, Eduardo<sup>2</sup>, Gronenborn, Bruno<sup>3</sup>, Ullmann, S<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Universität Stuttgart, Biologisches Institut*

<sup>2</sup>*Universidad de Malaga, Facultad de Ciencias, Dpt. Cellular Biology, Genetics and Physiology*

<sup>3</sup>*Centre National de la Recherche Scientifique, Institut des Sciences du Végétal*

<sup>4</sup>*Qiagen GmbH, Nucleic Acid Preparation Research*

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

In Zusammenarbeit mit den französischen und spanischen Partnern, sowie der Firma Qiagen wird ein Internationales Referenzzentrum für die Diagnose der pflanzlichen Geminiviren und Nanoviren etabliert, das die genomische DNA dieser Viren weltweit sammelt und charakterisiert. Auf der Basis der Rolling Circle Amplification (RCA) und durch Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP) sowie direkter Sequenzierung der RCA-Produkte werden die Proben analysiert. Die gesammelten und klassifizierten Proben werden zudem dazu genutzt, eine Chip-Technologie zu entwickeln, die eine Diagnose mit nanostrukturierten Prüfoberflächen erlaubt und damit ihre Geschwindigkeit erheblich verbessert. Um die funktionelle Genomik der Geminiviren zu erweitern, wird die RCA in Verbindung mit dem Virus-induzierten Silencing (VIGS) genutzt, um Pflanzengene zu identifizieren, die maßgeblich an der Ausbreitung und Abwehr der Viren beteiligt sind. Die Ergebnisse werden der wissenschaftlichen Gemeinschaft sowie den Pflanzenschutzagenturen weltweit zur Verfügung gestellt. Die Firma Qiagen nutzt dieses Wissen, um neue Marktsegmente in der Diagnostik zu erschliessen.

#### **UNTERSUCHUNGEN ZUR GENETIK DER TURNIP YELLOW VIRUS (TUyv) RESISTENZ BEI WINTERRAPS (BRASSICA NAPUS L.) UND ENTWICKLUNG MOLEKULARER MARKER**

Juergens, Monique<sup>1</sup>, Krämer, Ilona<sup>2</sup>, Snowdon, Rod<sup>3</sup>, Rabenstein, Frank<sup>4</sup>, Ordon, Frank<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Raps GbR, Saatzucht Lundsgaard, Streichmühler Str. 8a, 24977 Grundhof, Deutschland*

<sup>2</sup>*Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Resistenzressourcen, Erwin-Bauer-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland*

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

<sup>4</sup>*Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik, Erwin-Bauer-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland*

Contact: m.juergens@bafz.de

Das TuYV gehört zur Gruppe der Luteoviridae und wird ausschließlich durch Blattläuse übertragen. Es verursacht rote bis violette Blattverfärbungen der befallenen Pflanzen,

Wuchsminderungen und Ertragsverluste, welche bei künstlicher Inokulation mit TuYV im Durchschnitt der Jahre bei ca. 14% liegen. Bisher liegen noch keine detaillierten Erkenntnisse über die Genetik der Resistenz vor, welche die Voraussetzung für eine gezielte züchterische Bearbeitung der TuYV-Resistenz sind. Das Ziel dieser Arbeiten ist daher die Aufklärung der Genetik der aus R54 stammenden Resistenz und die Entwicklung molekularer Marker als Basis für die Züchtung TuYV-resistenter Winterrassensorten.

In Feldversuchen wurden in der Vegetationsperiode 2004/2005 und 2005/2006 insgesamt 113 DH Linien, welche auf drei verschiedene Kreuzungskombinationen (resistent x anfällig) zurückgehen, Anfang Oktober künstlich mit TuYV infiziert und der Virustiter über den gesamten Vegetationsverlauf mittels DAS-ELISA bestimmt. Unter Annahme des von GRAICHEN festgelegten Schwellenwertes von  $E_{405}=0,1$  zeigte sich im Dezember eine Anpassung an eine 1r:1s Spaltung (Dez. 2004:  $\chi^2 = 1,99$ ; Dez. 2005:  $\chi^2 = 1,07$ ), wobei jedoch innerhalb der anfälligen Genotypen eine erhebliche Variation des Virustiters festzustellen war. In wiederholten Messungen von April bis Juni zeigte sich eine kontinuierliche Erhöhung des Virustiters, d.h. bei Beibehaltung des Schwellenwertes eine Zunahme anfälliger Pflanzen, der jedoch i.d.R. nicht den Virustiter der bereits im Dezember als anfällig eingestuft Pflanzen erreichte.

Basierend auf diesen phänotypischen Daten konnten, unter Verwendung von 190 über das Genom verteilten Mikrosatelliten (SSRs) und der 'bulked segregant analysis (BSA)', in den DH-Populationen verschiedene Mikrosatelliten-Marker identifiziert werden, welche mit der Resistenz eng gekoppelt sind. Parallel zu diesen Arbeiten wurden 256 EcoRI+3/MseI+3 AFLP Kombinationen analysiert. Dabei konnte bisher ein Marker identifiziert werden, welcher eine Kopplung mit der TuYV-Resistenz von 1,77 cM zeigt. Das entsprechende Fragment wurde aus Silbergelen ausgeschnitten, sequenziert und ein allelspezifischer Marker entwickelt, welcher in der praktischen Züchtung nutzbar ist.

Danksagung: Wir danken dem Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) für die finanzielle Unterstützung im Rahmen von PRO INNO II sowie SW Seeds Hadmersleben für die Bereitstellung der DH-Linien.

## **CHARACTERIZATION OF A GEMINIVIRUS COAT PROTEIN EXPRESSED IN SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE.**

Kittlmann, Katharina<sup>1</sup>, Jeske, Holger<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart, Deutschland*

Contact: [katharina.kittlmann@bio.uni-stuttgart.de](mailto:katharina.kittlmann@bio.uni-stuttgart.de)

The coat protein of geminiviruses exhibits important functions for encapsidation of the viral genome, transmission by the insect vector and transport of the viral DNA into and out of the nucleus. To analyze these functions and to establish an *in vitro* assembly system for high resolution electron cryo-microscopy, the coat protein of *African cassava mosaic virus* (ACMV) was expressed in the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Cesium sulfate gradient centrifugation revealed free protein for the lysate supernatant of the coat protein expressing cells whereas protein in the pellet fraction was partially bound to nucleic acids. In contrast, coat protein in the supernatant fraction eluted in the void volume when applied to a small Superdex 200 gel filtration column indicating higher aggregates or binding to nucleic acids. To discriminate between coat protein pentamers and coat protein bound to nucleic acids the cell lysate supernatant was separated on Superose 6 HR 10/30 in the presence of 0.6 M NaCl. Here again, the coat protein was not present as monomers or dimers but eluted in the void volume as

well as in volumes corresponding to approximately 400 kDa. In addition, attempts were made to solubilize the coat protein of the cell lysate pellet. The coat protein expressed in *S. pombe* will be further analyzed for its ability to bind to ssDNA and to assemble into particles.

### **WECHSELWIRKUNGEN DES TRANSPORTPROTEINS BC1 VON ABUTILON MOSAIK VIRUS MIT PFLANZLICHEN PROTEINEN**

Kleinow, Tatjana<sup>1</sup>, Krenz, Björn<sup>1</sup>, Jeske, Holger<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Stuttgart/ Biologisches Institut/ Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart, Deutschland

Contact: [tatjana.kleinow@bio.uni-stuttgart.de](mailto:tatjana.kleinow@bio.uni-stuttgart.de)

Das Abutilon mosaik virus (AbMV) gehört zu den Begomoviren (Familie Geminiviridae) und besitzt ein bipartites Genom bestehend aus zwei einzelstrang (ss) DNA Zirkeln (DNA A und B). DNA B kodiert für zwei Proteine, BC1 (Movement-Protein, MP) und BV1 (Nuclear-Shuttle-Protein, NSP), welche verantwortlich sind für den viralen Transport und die Pathogenität. Interaktionen zwischen diesen Proteinen und pflanzlichen Faktoren sind wichtige Aspekte in der Regulation des viralen Transportes. Mit Hilfe des Hefe Di-Hybrid Systems wurden vier Klassen von spezifisch MP-bindenden Proteinen isoliert. Eine Klasse gehört zur Chaperone-Familie der Heat shock cognate (Hsc) 70 Proteine. cpHsc70-1 ist im Zellkern kodiert und potentiell an den Chloroplasten lokalisiert. Chloroplasten-lokalisierte Chaperone spielen eine Rolle im Import von Proteinen. Die funktionale Analyse dieser Interaktion *in planta* durch Virus induzierten Gen Silencing (VIGS) zeigte, dass der Knock-down von cpHsc70-1 die Akkumulierung von ssDNA bei AbMV Infektion unterbindet. Zusammen mit dem Nachweis von AbMV DNA in Chloroplasten, lässt dies auf eine Involvierung von cpHsc70-1 im Transport von viraler DNA, z.B. in den Chloroplasten, schließen. Ob cpHsc70-1 auch in den Transport über Plasmodesmata involviert ist, ist noch eine offene Frage

### **EXPRESSION UND FUNKTIONSANALYSE EINES VIRALEN PROTEINS AUS EUROPEAN MOUNTAIN ASH RINGSPOT-ASSOCIATED VIRUS (EMARAV) IN DROSOPHILA ZELLKULTUREN**

Klode, Mathias<sup>1</sup>, Mühlbach, Hans-Peter<sup>1</sup>, Mielke, Nicole<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek, Ohnhorststraße 18, 22609 Hamburg, Deutschland

Contact: [MathiasKlode@lodge.de](mailto:MathiasKlode@lodge.de)

Die meisten phytopathogenen RNA-Viren kodieren für einen RNAi-Suppressor, um bei der Infektion der Pflanze der antiviralen Wirkung des Mechanismus der RNA-Interferenz zu entkommen. Um zu testen, ob eines der Genprodukte des bislang unbekanntes ss(-)RNA-Virus *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV) in der Lage ist, RNAi zu inhibieren, wurde der ORF des viralen Proteins p4, für das bislang keinerlei Hinweise auf eine mögliche Funktion vorlagen, zunächst in einen eukaryotischen Expressionsvektor kloniert. Durch Induktion von lacZ-silencing in *Drosophila* S2-Zellen mittels Transfektion mit einem lacZ-tragenden Vektor sowie lacZ-spezifischer dsRNA und paralleler Transfektion mit dem p4-Konstrukt wurde versucht, *in vivo* die Suppression von RNAi zu messen.

Das rekombinante p4 ließ sich erfolgreich in den Insektenzellen exprimieren, es konnte sowohl das Transkript über RT-PCR als auch das rekombinante *His-tagged* Protein nachgewiesen

werden. Zudem wurden erste Hinweise für eine RNAi-Suppressor-Funktion von p4 gefunden. Das *lacZ-silencing* wurde durch Expression des p4 in einem Teil der Zellen inhibiert. Das Ergebnis muß nun in weiteren Versuchen durch Optimierung der Versuchsbedingungen bestätigt werden.

### **GENETISCHE VARIABILITÄT VON CHERRY LEAF ROLL VIRUS (CLRV)-ISOLATEN AUS UNTERSCHIEDLICHEN WIRTS-PFLANZEN**

Langer, Juliane<sup>1</sup>, von Barga, Susanne<sup>1</sup>, Gentkow, Jana<sup>1</sup>, Rumbou, Artemis<sup>1</sup>, Büttner, Carmen<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>*Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften,*  
*Contact: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de*

Das *Cherry leaf roll nepovirus* (CLRV), ein Vertreter der Familie *Comoviridae*, ist ein weltweit verbreiteter Erreger an Laub- und Obstgehölzen, Zier- und Gemüsepflanzen. Der ausgesprochen breite Wirtspflanzenkreis des CLRV weist auf eine schnelle Anpassungsfähigkeit an verschiedene Wirtspflanzen und damit auf eine genetische Diversität zwischen CLRV-Isolaten verschiedener Herkünfte hin.

Die Analyse einer 375 bp langen Sequenz der 3'-non coding region (3'NCR) von 56 CLRV-Proben aus 19 Wirtspflanzenarten ergab eine Einteilung in sechs phylogenetische Gruppen, die mit der serologischen Gruppierung von 24 Isolaten zum großen Teil übereinstimmen und den Einfluss der Wirtspflanzenart auf die genetische Struktur von CLRV-Populationen nahe legen. Phylogenetisch verschiedene CLRV-Isolate aus unterschiedlichen Wirtspflanzen wurden zur vollständigen Sequenzierung des Genoms ausgewählt. Die genetische Variabilität bislang ermittelter Teilsequenzen der viralen RNA1 bzw. RNA2, die sowohl kodierende als auch nicht kodierende Genomregionen umfassen, wurde untersucht.

Der Hüllprotein-kodierende Genombereich der RNA2 konnte für acht CLRV-Isolate sequenziert werden und weist eine Länge von 1539-1542 nt auf, was einer Polypeptidkette der Hüllproteine von 512 bzw. 513 aa entspricht. Der Sequenzvergleich von insgesamt 12 CLRV-Isolaten, davon vier aus der Datenbank (ZHOU et al., 1998; SCOTT et al., 1993), ergab auf Nukleotidebene Unterschiede zwischen 1-25 %, auf Aminosäureebene zwischen 1-15 %. In einem 523 Nukleotide umfassenden Teilbereich der RdRP-kodierenden Sequenz der RNA1 von fünf CLRV-Isolaten wurden Sequenzdiversitäten zwischen 3-23 % ermittelt.

Aus dem Vergleich der gesamten 3'NCR (1557-1602 nt) von sechs CLRV-Isolaten wurden Unterschiede zwischen 4-23 % errechnet. Im Gegensatz zur Hüllproteinsequenz weist die 3'NCR des CLRV einen hochkonservierten Sequenzabschnitt mit max. 17 % Sequenzdiversität im 3'proximalen Drittel und einen variablen Bereich mit bis 25 % Diversität im mittleren Teil bzw. bis 33 % im - dem kodierenden Genombereich angrenzenden- ersten Drittel der 3'NCR. Die phylogenetische Analyse der bisher untersuchten Genomabschnitte von insgesamt 12 unterschiedlichen CLRV-Isolaten bestätigt grundsätzlich die Gruppierung nach der Wirtspflanzenart. Eine Ausnahme bildete ein Himbeer-Isolat, welches sich nach Analyse der Hüllproteinsequenz sowie der serologischen Reaktivität in eine andere phylogenetische Gruppe einordnete als auf der Basis des 375 bp langen Fragments der 3'NCR. Somit könnte es sich hierbei um eine natürliche Rekombinante handeln

### **PVY-STÄMME IN DEUTSCHLAND IM ZEITRAUM 1984 BIS 2006**

Lindner, Kerstin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*BBA/PS, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig*

*Contact: k.lindner@bba.de*

Offenbar enthielten bereits die im Laufe des 16. bis 18. Jahrhunderts nach Europa gelangten Kartoffeln PVY-Isolate der Stammgruppe O. Über PVY<sup>N</sup> wird erstmals Anfang der 50er Jahre in Deutschland berichtet. Die Differenzierung beider Stämme erfolgte zunächst im Bioassay anhand von durch PVY<sup>N</sup> hervorgerufenen Adernekrosen an Tabak. Die Verfeinerung serologischer Nachweismethoden gestattete es in der Folgezeit, die Zusammensetzung des PVY-Stammspektrums noch deutlicher zu analysieren. Vermutlich auf Grund des gemeinsamen Auftretens von O- und N-Stämmen und der hohen Rekombinationsneigung von Potyviren haben sich die zwei neuen PVY-Stämme PVY<sup>NW</sup> und PVY<sup>NTN</sup> herausgebildet. Der NTN-Stamm verursacht Ringnekrosen auf der Oberfläche von Kartoffelknollen. Der dem Serotyp O zuzuordnende NW-Stamm führt zu Adernekrosen an Tabak. Die Rekombinationsbereiche auf Genomebene sind bekannt. Durch die Nutzung molekulargenetischer Testverfahren sind diese Bereiche stammspezifisch zu diagnostizieren. Noch effektiver sind Nachweisverfahren, bei denen stammtypische, biologische Eigenschaften mit Teilsequenzen des Genoms assoziiert und nachgewiesen werden können, wie bei PVY<sup>NW</sup>. In Deutschland liegen Exaktversuche zum PVY-Stammspektrum seit Mitte der 80er Jahre des vergangenen Jahrhunderts vor. Trotz ihrer Heterogenität gestatten diese Daten einen reichlich 20-jährigen Gesamtüberblick über die Entwicklung dieser Virusart in Deutschland.

Die Versuchsergebnisse deuten eine Verschiebung des PVY-Stammspektrums von der O-Stammgruppe zur Stammgruppe N an. Eine kleine, vorwiegend vom PVY<sup>O</sup> befallene Sortengruppe hat sich jedoch über die Jahre behauptet. Bei solchen Kartoffelsorten, bei denen traditionell beide Stammgruppen vorkamen, verdrängen Vertreter der Stammgruppe N zunehmend die der O-Stammgruppe. Der Anteil des PVY<sup>NTN</sup>-Stammes an den PVY<sup>N</sup>-Infektionen lag bei > 90 %. PVY<sup>NW</sup> war mit Anteilen von ca. 75 % - > 90 % an den PVY<sup>O</sup>-Infektionen nachzuweisen.

Es ist anzunehmen, dass derzeit weltweit eine Verschiebung des PVY-Stammspektrums hin zu neuen, infektionseffizienteren PVY-Stämmen erfolgt.

## **MOLEKULARE CHARAKTERISIERUNG EINES NEUEN VIRUS AUS MÖHRE (DAUCUS CAROTA)**

Menzel, W.<sup>1</sup>, Maiss, E.<sup>1</sup>, Vetten, H.J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover*

<sup>2</sup>*BBA, Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und biologische Sicherheit, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig*

Contact: [mail@wulf-menzel.de](mailto:mail@wulf-menzel.de)

Aus dem dsRNA-Extrakt einer Möhre konnten mittels rPCR-Technik (Froussard, 1992) Klone erhalten werden, deren translatierte Sequenz Ähnlichkeiten zur Replikase von Viren der Gattungen *Benyvirus* und *Hepevirus* zeigten. Die Lücken zwischen den mittels rPCR erhaltenen Sequenzen wurden mit spezifischen Primern geschlossen. Die Annäherung an das 3'- und 5'-Ende erfolgte unter Verwendung von spezifischen Primern in Kombination mit random Primern (Koenig et al., 2004), die Bestimmung des 5'-Endes mittels 5'-RACE durch dGTP und dATP cDNA-Tailing mittels Terminaler Deoxynukleotidyltransferase (TdT). Der am 3'-Ende lokalisierte Bereich wurde mit einem spezifischen Primer in Kombination mit einem Oligo(dT)-Primer amplifiziert, was auf ein polyadenyliertes 3'-Ende der RNA schließen lässt. Insgesamt konnte eine zusammenhängende Sequenz von 8067 Basen [ohne Poly(A)-Schwanz] ermittelt werden, aus der sich in Anlehnung an die Genomorganisation der Hepeviren theoretisch drei ORFs ableiten lassen. Das putative ORF1 kodiert für ein Protein



von 249 kDa und enthält Motive einer Methyltransferase, Helikase, Protease und RNA-abhängigen RNA-Polymerase. ORF2 kodiert für ein Protein von 40 kDa und zeigt in Sequenzvergleichen keine signifikanten Ähnlichkeiten zu anderen Genbankeinträgen. Der zwischen ORF1 und ORF2 liegende Bereich von 117 Basen wird durch ein putatives ORF3 abgedeckt, welches ORF1 und ORF2 überlappt. Dieser ORF kodiert für ein 7 kDa Protein, welches ebenfalls keine signifikanten Ähnlichkeiten zu anderen Genbankeinträgen zeigt. Die nicht-translatierten Bereiche am 5'- und 3'-Ende [ohne Poly(A)-Schwanz] sind 211 bzw. 109 Basen groß. Hepeviren besitzen ein monopartites Genom (ca. 7,2 kb), deren ORF1 für eine Replikase (237 kDa), ORF2 für ein Hüllprotein (71 kDa) und das ORF1 und ORF2 überlappende ORF3 (12 kDa) für ein Protein mit unbekannter Funktion kodiert. Benyviren besitzen ein bis zu 5-teiliges Genom. Das neue Virus aus Möhre ähnelt somit in der Genomorganisation eher Viren der Gattung *Hepevirus*, da weitere genomische RNAs nicht nachgewiesen werden konnten. Das vollständige ORF1 zeigt dagegen die höchsten Aminosäuresequenzidentitäten zur Replicase des *Beet necrotic yellow vein virus* (18,6 %) und *Beet soil-borne virus* (19,1 %), zum *Hepatitis E virus* und *Swine hepatitis E virus* dagegen nur 11,9 % bzw. 12,7 %. Die Sequenzidentitäten einzelner Abschnitten des ORF1 liegen bei ca. 40 %. Virusreinigungen und elektronenmikroskopische Untersuchungen waren bisher nicht erfolgreich, so dass über die Morphologie des Virus bisher nichts bekannt ist. Aminosäuresequenzvergleiche des ORF2 von verschiedenen Isolaten aus Deutschland, Schweden und Spanien zeigen hohe Sequenzidentitäten von über 97 %. Das Virus konnte bisher nur in angebauten Möhren nachgewiesen werden, nicht dagegen in Wilder Möhre oder anderen Umbelliferen. Es trat überwiegend in Mischinfektion mit anderen Viren auf, einzeln infizierte Möhren zeigten keine typischen Virussympptome. Über die Übertragungswege dieses Virus ist bisher nichts bekannt, eine mechanische Übertragung auf ein breites Testpflanzensortiment war nicht erfolgreich.

## **IDENTIFIZIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON VIREN IN ADENOPUS SPEC. AUS NIGERIA**

Owolabi, Ayodeji T.<sup>1</sup>, Schliephake, Edgar<sup>2</sup>, Ehrig, Fred<sup>3</sup>, Maiss, Edgar<sup>4</sup>, Rabenstein, Frank<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*Department of Biological Sciences, University of Calabar, P.M.B. 1115, Calabar, Nigeria*

<sup>2</sup>*Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Resistenzressourcen, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg*

<sup>3</sup>*Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg*

<sup>4</sup>*Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Herrenhäuser Straße 2, D-30419 Hannover*

<sup>5</sup>*Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg*

Contact: [f.rabenstein@bafz.de](mailto:f.rabenstein@bafz.de)

Aus *Adenopus breviflorus* und einer nicht näher definierten *Adenopus*-Art wurden zwei Viren isoliert, die in Nigeria erhebliche Schäden an Cucurbitaceen verursachen können. Die beiden Isolate, die mit den Kürzeln AdbreV und AdspV bezeichnet wurden, konnten sowohl mechanisch als auch in nicht-persistenter Art und Weise durch *Myzus persicae* und *Aphis gossypii* auf verschiedene Kürbisgewächse übertragen werden. Für AdspV erwies sich *Macrosiphon euphorbiae* als ein weiterer Vektor. Neben der flexiblen, fadenförmigen Partikelstruktur zeigten elektronenmikroskopische Untersuchungen an Ultradünnschnitten der Originalwirtspflanzen für Potyviren charakteristische Einschlusskörper, die beim Isolat AdspV

hauptsächlich in Form von „scrolls“ auftraten. Dagegen ließen sich in *A. blevisiflorus* durch das AdbleV verursachte typische „pinwheels“ nur selten beobachten. Beide Isolate reagierten im PTA-ELISA und Western blot mit Potyvirus-gruppenspezifischen Antikörpern. Ergebnisse mit einem kommerziellen bzw. mit neu hergestellten Antisera sowie Sequenzierungsdaten bestätigten, dass die *Adenopus*-Isolate eng mit dem *Moroccan watermelon mosaic virus* (MWMV) verwandt sind und sich nur in wenigen Aminosäuren (aa) am N-Terminus ihrer Hüllproteine (CP) unterscheiden. Vergleiche der beiden *Adenopus*-Isolate und des Typstammes ergaben dagegen für ein Isolat des MWMV aus dem Sudan im N-terminalen Bereich nur eine geringe Identität. Im Western blot lag das scheinbare Molekulargewicht des AdbleV-CP bei 32.5 und für das AdspV bei 35.0 kDa. Die aus der Sequenz abgeleitete Länge des CP beträgt für das AdspV 287 aa (*theoretical Mw* 32.512 Da), während die des AdbreV und MWMV bei 285 aa liegt (*theoretical Mw* 32.408 bzw. 32.595 Da). Das für die Übertragung durch Aphiden notwendig Motiv im CP wird beim AdspV und MWMV-Sudan durch DAG gebildet, während beim AdbreV bzw. MWMV-type hierfür DVG bzw. DAS steht. Bei zwei weiteren Nigerianischen Virusisolaten aus *Cucurbita moschata* bzw. *Cucumis sativus*, für die bisher noch keine ausreichenden Sequenzierungsdaten vorliegen, handelt es sich möglicherweise um bisher nicht bekannte Potyviren.

## GENETIC ANALYSES OF SOIL-BORNE CEREAL MOSAIC VIRUS RESISTANCE IN WHEAT

Perovic, Dragan<sup>1</sup>, Winter, Andreas<sup>2</sup>, Förster, Jutta<sup>3</sup>, Devaux, Pierre<sup>4</sup>, Hariri, Djabar<sup>5</sup>, Feuerhelm, David<sup>6</sup>, Scholz, Uwe<sup>2</sup>, Graner, Andreas<sup>2</sup>, Kastirr, Ute<sup>7</sup>, Ordon, Frank<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Epidemiology and Resistance Resources, Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Germany*

<sup>2</sup>*Leibniz-Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Corrensstr. 3, 06466 Gatersleben, Germany*

<sup>3</sup>*Saaten-Union Resistenzlabor GmbH, Hovedisser Str. 92, 33818 Leopoldshöhe, Germany*

<sup>4</sup>*Florimond Desprez, 3, Rue Florimond Desprez, 59242 Cappelle en Pévèle, France*

<sup>5</sup>*INRA, RD 10, Versailles Cedex, France*

<sup>6</sup>*Elsoms Seeds LTD, Pinchbeck Road, PE11 1QG Spalding, UK*

<sup>7</sup>*Institute of Resistance Research and Pathogen Diagnostics, Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Germany*

Contact: d.perovic@bafz.de

Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) belonging to the Furoviruses is a serious threat to winter wheat cultivation in Europe. Due to transmission by the plasmodiophorid *Polymyxa graminis*, chemical measures are neither effective nor acceptable for economical and ecological reasons. Therefore, the only possibility of controlling this virus is breeding and growing of resistant cultivars. Analysis of a set of different DH-lines revealed that resistance to SBCMV is inherited in a monogenic manner. In order to get more detailed information on this resistance, different approaches were followed: genetic mapping using bulked segregant analysis (BSA), transcription profiling by array analysis and cDNA-AFLP, and comparative and candidate gene mapping. SBCMV-resistance was mapped on chromosome 5DL (deletion line 5DL5) and 12 and 15 SSRs, respectively, linked to this gene were identified in two mapping populations. Also, one polymorphic AFLP fragment was mapped about 3cM proximal of the resistance locus. Transcription profiling was carried out in parallel by macro-array analysis and cDNA-AFLP. Hybridisation of a barley cDNA array comprising 10.000 unigenes with wheat RNA isolated from SBCMV infected and non-infected wheat plants revealed 80 genes differentially

expressed in roots, 11 in hypocotyls and four in leaves. By the use of two normalization methods (median and quantile) out of 95 genes, seven genes differentially expressed in roots of resistant and susceptible genotypes, and four in hypocotyl and leaves, respectively, were identified. Out of these 15 differentially expressed genes, six are homologous to rice chromosome 3, i.e. fitting to the cereal genome evolutionary model of the 5L group. These genes as well as six additional wheat ESTs from 5DL5 showing the highest homology to the syntenic rice chromosome 3 will be screened for polymorphisms and subsequently genetically mapped. Besides this, genes which belong to the translation initiation complex and are probably involved in virus resistance, therefore, have been mapped in barley on chromosome 5HL. For these genes, wheat D genome specific probes will be developed for mapping in respective wheat DH-populations. Using these different approaches it is expected to identify closely linked markers (candidate genes) for resistance to SBCMV in wheat.

The work is supported by a grant in the Community's Sixth Framework Programme (WHEATPROTECT, EU contract number COOP-CT-2004-512703). These results and this publication reflect only the author's view and the Community is not liable for any use that may be made of the information provided.

### **NACHWEIS DER VARIABLEN PATHOGENITÄT VON RIZOMANIA (BNYVV) UND DEM VEKTOR POLYMYXA BETAE GEGENÜBER VERSCHIEDENEN ZUCKERRÜBENGENTYPEN**

Pferdmenges, Friederike<sup>1</sup>, Varrelmann, Mark<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Zuckerrübenforschung, Abtl. Phytopathologie, Holtensener Landstr. 77, 37079 Göttingen, Deutschland

Contact: pferdmenges@ifz-goettingen.de

Rizomania stellt eine wichtige Krankheit an der Zuckerrübe dar, die durch *Polymyxa betae* übertragen wird. Bisher wird die Krankheit durch den Anbau resistenter Zuckerrübengentypen kontrolliert, die die Virusausbreitung begrenzen. Gegenwärtig wird hauptsächlich eine einzige dominante Resistenzquelle (*Rz1*) genutzt, nur wenige Sorten besitzen ein weiteres Resistenzgen (*Rz2*). Durch den Anbau dieser Sorten, konnte sich das Inokulumpotential im Boden möglicherweise erhöhen, die Resistenz wird jedoch von hohen Inokulumkonzentrationen überwunden (Scholten *et al.*, 1994). Von verschiedenen ausländischen Standorten werden sowohl bei Zuckerrüben mit *Rz1* wie auch bei Genotypen mit beiden Resistenzquellen (*Rz1+Rz2*) mittlerweile Resistenzbrechungen beobachtet.

In „Most Probable Number“ (MPN)– Tests wurde die Inokulumkonzentration von unterschiedlichen Bodenherkünften untersucht. Hierfür wurden insgesamt sechs Böden aus Europa und USA in sechs Verdünnungsstufen mit deutschen Standardböden verglichen. Da sowohl für den spanischen (D), den französischen (P), wie auch für die beiden amerikanischen (IV und MN) Böden eine *Rz1* Resistenzüberwindung bekannt war, wurde sowohl ein klassischer MPN mit einem anfälligen Genotyp als auch ein MPN mit *Rz1+Rz2*-Hybriden durchgeführt, um Aufschluss über die Aggressivität des jeweiligen Virusisolates zu gewinnen. Zur Berechnung des MPN wurde der Test mit dem anfälligen Genotyp verwendet, hierbei zeichnet sich der spanische Boden im Vergleich zur deutschen Herkunft mit einem extrem hohen Inokulumpotential aus. Im MPN mit dem toleranten Genotyp zeigen D, MN, IV und P vergleichbar hohe BNYVV-Gehalte. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass sich die Resistenzüberwindung bei D auf ein sehr hohes Inokulumpotential im Boden zurückführen lässt, wohingegen die Resistenzüberwindung von MN, IV und P eher auf erhöhte Viruspathogenität als auf die Inokulumkonzentration zurückzuführen ist.

## "EIN NEUES VIRUS BEDROHT DEN PIONIER DES WALDES"

Schlatermund, Nanette<sup>1</sup>, Nicole Mielke<sup>1</sup>, Hans-Peter Mühlbach<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek und Botanischer Garten, Molekulare Phytopathologie und Genetik, Ohnhorststrasse 18, 22609 Hamburg

Contact: nanette.schlatermund@botanik.uni-hamburg.de

Die Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.), einer der wichtigsten Pionierbäume Europas wird von einem bisher unbekanntem Virus bedroht. Das seit kurzem als EMARAV (European mountain ash ringspot associated Virus) bezeichnete Virus ist in weiten Teilen Europas verbreitet und scheint verantwortlich für Scheckungen und Ringflecken auf den Blättern der Eberesche zu sein. Allerdings ist die Einordnung des Virus in eine bekannte Familie oder ein Genus bis heute nicht möglich (Benthack, *et al.*, 2005).

Das Genom besteht aus vier negativ orientierten RNAs, die jeweils einen offenen Leserahmen besitzen und komplementäre Enden mit einer konservierten Sequenz aufweisen. Die größte RNA (vRNA 1 mit 7040 nt) codiert für eine RNA-abhängige RNA-Polymerase (RdRp), die vRNA 2 (2335 nt) für einen putativen Glykoproteinprecursor, die vRNA 3 (1560 nt) für ein putatives Nukleocapsidprotein. Dagegen weist das potentielle 27 kDa Protein, welches auf der vRNA 4 (1348 nt) codiert ist, keine Homologien zu bisher bekannten Proteinen auf (Mielke, Mühlbach, 2007).

Neben der bereits etablierten RT-PCR und Northern-Blot-Experimenten ist jetzt auch ein zuverlässiger Nachweis der viralen Proteine p2 und p3 durch spezifische Antikörper gesichert. Um verschiedene Fragestellungen bezüglich der Verteilung des Virus in den pflanzlichen Geweben zu beantworten, soll die virale RNA nun mittels einer quantitativen real time RT-PCR nachgewiesen werden. Um geeignete interne Standards, die keinen allzu grossen saisonalen Schwankungen unterliegen, zu finden, war hierfür die erstmalige Klonierung von Genen der Eberesche nötig.

1. Benthack W., Mielke N., Büttner C., Mühlbach HP. (2005). "Double-stranded RNA pattern and partial sequence data indicate plant virus infection associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.)." Arch Virol. 2005 Jan;150(1):37-52.
2. Mielke N., Mühlbach HP. (2007). "A novel multipartite negative-strand RNA virus is associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.)" Journal of General Virology (in press)

## GEMINIVIREN DES GETREIDES - IHR AUFTRETEN IN DEUTSCHLAND UND NEUE MÖGLICHKEITEN DER MOLEKULAREN DIAGNOSE MITTELS RCA-TECHNIK

Schubert, Jörg<sup>1</sup>, Jeske, Holger<sup>2</sup>, Kazmaier, Katja<sup>2</sup>

<sup>1</sup>BAZ, Inst. f. Resistenzforschung u. Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Str. 27, D-06484 Quedlinburg

<sup>2</sup>Uni Stuttgart, Biolog. Inst., Abt. für Molekularbiol. u. Virol. der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart

Contact: j.schubert@bafz.de

Das Auftreten des Geminivirus *Wheat dwarf virus* (WDV) ist seit Anfang der 1960er Jahre beschrieben. Das phloemgebundene Virus wird durch die Zikade *Psammotettix alienus* übertragen. Es kann besonders an Weizen und Gerste epidemieartig auftreten und ruft dann erhebliche Ertragsverluste hervor, da befallene Pflanzen absterben können. Bislang waren zwei

Formen des Virus beschrieben, die sich hinsichtlich ihrer Sequenzen unterscheiden lassen. Wahrscheinlich sind auch ihre Wirtskreise, zumindest unter experimentellen Bedingungen, verschieden. Sie lassen sich serologisch nur mit monoklonalen Antikörpern differenzieren.

Die molekulare Differenzierung erfolgte bisher über die PCR-Amplifikation und ggf. Sequenzierung klonierter Fragmente. Der Einsatz der „Rolling circle amplification“ (RCA)-Technik eröffnet neue Möglichkeiten der Klonierung und Analyse der DNA dieser Viren. Die mittels RCA-Technik amplifizierte virale DNA kann direkt sequenziert und auch über RFLP-Analysen näher charakterisiert werden.

Diese neue Technik wurde erstmals für Geminiviren vergleichend mit konventionellen Techniken eingesetzt, um in Deutschland gewonnene Isolate von Geminiviren des Getreides zu analysieren. Es zeigte sich, dass die RCA/RFLP-Analyse hervorragend für die Diskriminierung von Geminiviren des Getreides geeignet ist und sich die amplifizierten Fragmente direkt sequenzieren lassen.

Basierend auf biologischen Daten und phylogenetischen Analysen der Sequenzen verschiedener Isolate kommen wir zu dem Schluss, dass die beim Getreide nachgewiesenen Geminiviren drei unterschiedliche Viren darstellen: Das *Barley dwarf* (vormals Gerstenstamm des WDV) und *Wheat dwarf virus* (vormals Weizenstamm des WDV) sowie erstmals beschrieben das *Oat dwarf virus*.

## **WIRTSSPFLANZENSTRAUKUM UND GALLMILBENÜBERTRAGUNG DES BROME STREAK MOSAIC VIRUS HERVORGEGANGEN AUS EINEM VOLLELÄNGENKLON (BRSMVFL)**

Stephan, Dirk<sup>1</sup>, Möller, Ilona<sup>1</sup>, Maiß, Edgar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

Contact: maiss@ipp.uni-hannover.de

Für Untersuchungen zum Einfluss von viralen Proteinen auf die Übertragung des brome streak mosaic virus (BrSMV; genus *Tritimovirus*, Familie *Potyviridae*) durch Gallmilben wurde ein infektiöser Vollelängenklon hergestellt (BrSMV<sub>fl</sub>). Nach Optimierung der biologischen Inokulationsmethode konnten *Hordeum vulgare* und *Phalaris paradoxa* Pflanzen erfolgreich mit BrSMV<sub>fl</sub> infiziert werden.

Von diesen Pflanzen wurde BrSMV<sub>fl</sub> im Vergleich zum BrSMV-Wildtyp 11-Cal (BrSMV<sub>wt</sub>) auf verschiedenen Pflanzenarten aus der Familie *Poaceae* mechanisch übertragen. Sowohl BrSMV<sub>fl</sub> als auch BrSMV<sub>wt</sub> konnten erfolgreich mit der Gallmilbe *Aceria tosichella* auf *Triticum aestivum* cv. Certo übertragen werden. Zur Bestimmung viraler Determinanten für eine Übertragung durch *A. tosichella* wurden verschiedene BrSMV<sub>fl</sub> HC-Pro und Hüllprotein-Mutanten hergestellt. Diese BrSMV<sub>fl</sub>-Mutanten wurden auf ihre Infektiosität und Fähigkeit zur Milbenübertragung hin untersucht.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zum BrSMV<sub>fl</sub> und BrSMV<sub>wt</sub> Wirtspflanzenspektrum und zum Einfluss des BrSMV HC-Pro und Hüllproteins auf die Übertragung durch *A. tosichella* werden vorgestellt und diskutiert.

## **IDENTIFIZIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON INTERAKTIONEN DES PATHOGENITÄTSFAKTORS P25 DES BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS MIT KANDIDATEN EINER CDNA-BIBLIOTHEK DES RÜBENGENOMS**

Thiel, Heike<sup>1</sup>, Varrelmann, Mark<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, AG Pflanzenvirologie, Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen, Deutschland/Niedersachsen*

<sup>2</sup>*Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Arbeitsgruppe Pflanzenvirologie, Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen, Deutschland/Niedersachsen*  
*Contact: hthiel1@gwdg.de*

Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), der Verursacher der virösen Wurzelbärtigkeit bei Zuckerrübe, übertragen durch den Protisten *Polymyxa betae*, wird derzeit durch den Anbau teilresistenter Genotypen kontrolliert. Die im praktischen Anbau verwendeten Resistenzen Rz1 und Rz2 verhindern eine Ausbreitung des Virus aus infizierten Haarwurzeln in die Hauptwurzel. Das aus vier bzw. fünf RNA-Segmenten bestehende BNYVV kodiert auf seiner RNA 3 das Genprodukt P25, welches für die Translokation des Virus im Wurzelsystem, die Ertragsbeeinflussung und die Symptomausprägung in anfälligen Genotypen verantwortlich ist. Die genauen Funktionen von P25 sind weitgehend unbekannt. Mittels „Yeast Two-Hybrid“ Analyse sollen Proteine, die über physikalische Interaktion möglicherweise an der Resistenz beteiligt sind, identifiziert und charakterisiert werden. Zu diesem Zweck wurde zunächst ein Rz2 resistenter Zuckerrüben-genotyp (S2-Linie) in BNYVV infiziertem Boden angezogen. Es wurde ein LexA/B42 basiertes YTH System mit chromosomalem Leu2-Reporter und plasmidkodiertem GFP-Reportergen gewählt. Für die YTH Untersuchungen konnte aus Wurzel- und Blatt-Gesamt-RNA eine gesättigte normalisierte „random-primed“ cDNA-Bibliothek hergestellt werden, welche über  $1,4 \times 10^6$  unabhängige Insertionen verfügt. Nach Klonierung des Pathogenitätsfaktors P25 (BNYVV B-Typ) konnte keine Autoaktivierung der Markergenexpression in Hefe nachgewiesen werden. Dem YTH-„screen“ folgte eine Testung von 420 Kandidaten auf Transkriptionsautoaktivierung und eine wiederholte Prüfung auf Interaktion nach Retransformation. Sequenzdatenbankvergleich der insgesamt selektierten 75 Kandidatengene führte zur Identifizierung von Genen, die im Zusammenhang mit der Pathogenabwehr stehen. Am interessantesten sind bisher Proteine, wie „Heat shock“ Proteine, die in direkten Zusammenhang mit R-Proteinen gebracht werden, sowie das Tubulin, welches am P25 Transport beteiligt sein könnte. Auch Gene die am Metabolismus der Phytohormone wie Jasmonat und Ethylen beteiligt sind, rufen großes Interesse hervor. Da diesen Phytohormonen bereits eine Wirkung in Resistenzmechanismen zugeschrieben wird. Weiterhin werden Arbeiten zur Nutzung eines modifizierten "bimolecular fluorescence complementation" (BiFC) mittels Agroexpression von C-terminalen mRFP Fusionen durchgeführt, um die gefundenen Interaktionen in planta zu überprüfen.

## **CYTOSINE METHYLATION OF ABUTILON MOSAIC VIRUS BV1**

Tobias Paprotka<sup>1</sup>, Holger Jeske<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Molecular Biology and Virology of Plants, University of Stuttgart, Institute of Biology, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart, Germany*

*Contact: tobias.paprotka@bio.uni-stuttgart.de*

DNA methylation is a highly conserved wide spread epigenetic mechanism in nearly all eukaryotes. It involves the addition of a methyl group to the 5<sup>th</sup> carbon of the cytosine pyrimidine ring, arranged by methyltransferase enzymes. Whereas cytosine methylation in

animals is restricted to so called CpG islands, the mechanism in plants also includes the methylation of CpNpGs and asymmetrical cytosines. The effect of this mechanism is genomic imprinting, gene regulation and silencing of invasive or transposable elements. To observe the methylation status of DNA the bisulfite sequencing method is the most precise tool available. Here we report the methylation status of the *Abutilon mosaic virus* BV1-gene (nuclear shuttle protein) with the bisulfite sequencing method over an infection period. Two samples, taken from *N. benthamiana* plants 14 and 42 days post infection (dpi) were bisulfite treated and sequenced to determine the methylated cytosines. At both time points the DNA showed *de novo* methylation. Methylation patterns in the samples appear in parts heterogenous compared to each other, but the amount of methylated cytosines increased in the later infection (42 dpi). The located methylation patterns give evidence for the targeting of viral DNA with the host transcriptional gene silencing mechanism. Because of the bidirectional transcription of the geminiviral DNA double stranded RNA is generated and processed to small interfering RNAs (siRNA) with the host machinery. These siRNAs were linked to the RITS complex which targets the homologous DNA sequence and directs host methyltransferases to perform the methylation of these sequences. An increase of methylation in later stages of infection could be illustrated by an accumulation of siRNAs in the host plant during the infection.

## **VIRALE VEKTOREN FÜR DIE IMPFSTOFFPRODUKTION IN PFLANZEN**

Uli Commandeur<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*RWTH-AACHEN INSTITUTE FOR MOLECULAR BIOTECHNOLOGY*

Contact: [commandeur@molbiotech.rwth-aachen.de](mailto:commandeur@molbiotech.rwth-aachen.de)

Pflanzenviren können als vielseitige Expressionsvektoren eingesetzt werden und eine schnelle und überzeugend einfache Produktion von rekombinanten Proteinen in Pflanzen erlauben. Virale Vektoren können im Vergleich zu Produktionssystemen, die auf transgenen Pflanzen basieren, einfacher genetisch manipuliert werden. Die Expression rekombinanter Proteine erfolgt in aller Regel schneller und ist auch meist mit höheren Ausbeuten verbunden. Das Interesse an der Entwicklung viraler Vektoren zur Produktion von Impfstoffen entweder in Form ganzer Untereinheiten oder als Epitope, die auf der Viruspartikeloberfläche präsentiert werden, hat in den letzten Jahren stark zugenommen. Mehrere Pflanzenviren, z.B. Tobacco mosaic virus, Potato virus X and Cowpea mosaic virus wurden für diese Zwecke intensiv untersucht und für die Produktion von Impfstoffen optimiert. Gegen eine ganze Reihe von humanen und tierischen Erkrankungen wurden so Impfstoffe entwickelt, die in vielen Fällen immunogene Eigenschaften und Infektionsschutz zeigten. Die Präsentation soll einen Überblick über die Vorteile viraler Vektoren, die Entwicklung verschiedener Vektorsysteme, sowie den Einsatz Pflanzenvirus-abgeleitete Impfstoffe vermitteln.

## **MOLEKULARE CHARAKTERISIERUNG EINES NEUEN RNA 5-HALTIGEN BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS-TYPS IN ENGLAND**

Ward, L.<sup>1</sup>, Koenig, R.<sup>2</sup>, Budge, G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Central Science Laboratory, Sand Hutton, York, UK*

<sup>2</sup>*c/o BBA, Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und biologische Sicherheit, Messeweg 11, D38104 Braunschweig*

Contact: [r.koenig@bba.de](mailto:r.koenig@bba.de)

Die meisten Herkünfte des *Beet necrotic yellow vein virus*, des Erregers der Zuckerrüben-Rhizomanie, besitzen ein Genom, das aus 4 unterschiedlich großen RNA-Spezies besteht. Die genetische Information, die auf RNA 1 und 2 enthalten ist, reicht aus, um die Vermehrung des Virus auf einem Lokalläsionswirt, z.B. *Chenopodium quinoa*, zu ermöglichen. Um die effiziente Ausbreitung des Virus in Zuckerrübenwurzeln zu ermöglichen, ist die Anwesenheit der RNA 3 notwendig, die auch für die Ausbildung der typischen Rizomania-Symptome verantwortlich ist. Die RNA 4 führt zu einer erheblichen Steigerung der Effizienz der Übertragung des Virus durch den bodenbürtigen Organismus *Polymyxa betae*. BNYVV RNA 5 ist zuerst in Japan beschrieben worden, wo sie zu verstärkter Symptom-Ausbildung führt. Später wurde von uns in einem sehr begrenzten Gebiet in Europa in der Umgebung der französischen Stadt Pithiviers ebenfalls eine 5. RNA Spezies gefunden, deren Nukleotidsequenz sich von der der asiatischen Formen in über 40 Positionen durch Basenaustausche oder Deletionen bzw. Insertionen unterscheidet. Diese RNA 5, die immer mit dem P Typ des BNYVV assoziiert war, wurde später auch in Kasachstan und in England gefunden. In England wurde jetzt ein neuer BNYVV RNA 5-Typ gefunden, der nicht mit dem P-Typ assoziiert ist und der eine Mittelstellung zwischen den ostasiatischen und den europäischen Formen des BNYVV RNA 5 einnimmt. Es handelt sich offenbar nicht um ein Rekombinationsprodukt, sondern um das Ergebnis einer unabhängigen phylogenetischen Entwicklung, da die Ähnlichkeiten zum ostasiatischen bzw. europäischen Sequenztyp über die ganze Länge dieser neuen RNA 5-Spezies verteilt sind.

#### **LATENTE GEMINIVIRUS-INFEKTIONEN IN NUTZPFLANZEN: UNERWARTETE EIGENSCHAFTEN VON TOMATO GOLDEN MOSAIC VIRUS NACH RÜCKÜBERTRAGUNG IN TOMATEN UND VON ABUTILON-MOSAIK-VIRUS IN LEGUMINOSEN**

Wege, Christina<sup>1</sup>, Schwierzok, Alexandra<sup>1</sup>, Siegmund, Daniela<sup>1</sup>, Kocher, Cornelia<sup>1</sup>, Kober, Sigrid<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abt. Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen  
Contact: christina.wege@bio.uni-stuttgart.de

Kloniertes *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) konnte auf Tomatenpflanzen rückübertragen werden, obgleich die in zahlreichen Labors verwendeten Klone als Geminivirus-Variante galten, die nicht mehr infektiös für ihren ursprünglichen Wirt ist. Überraschenderweise erwies sich das Begomovirus, das in anderen Solanaceen starke Krankheitssymptome auslöst, als extrem unauffälliges, meist nahezu latentes Tomatenvirus. Daher liegt die Vermutung nahe, dass das namensgebende Goldmosaik ("*mosaico dourado*") der brasilianischen Ursprungspflanzen in den 1970er und 80er Jahren von einem anderen, zusätzlich enthaltenen Agens ausgelöst wurde, welches das später "TGMV" genannte Virus maskierte. TGMV ist schließlich aus experimentell infizierten *Nicotiana spec.* kloniert worden, in welchen es hochpathogen ist. Alternativ könnte ein starkes Tomaten-Pathogen im Zuge der Infektion von *Nicotiana spec.* oder seiner Klonierung mutiert sein. Die bisherige Auffassung, dass TGMV Tomatenpflanzen nicht mehr befallen könne, ist somit zumindest teilweise auf die unauffällige Symptomatik zurückzuführen.

Verschiedene Arbeitsgruppen haben grundlegende Erkenntnisse zu den wirtschaftlich bedeutenden Geminiviren mit agroinfektiösen Klonen des "*common strain* (cs) TGMV" und des "*yellow vein* (yv) TGMV" gewonnen. Dabei wurde meist mit der Wirtspflanze *N. benthamiana* gearbeitet, in der die Viren schwere Chlorosen, Blatt- und Sprossdeformationen sowie Stauchung auslösen. Beide Stämme konnten nun durch Agroinfektion in verschiedene



Tomaten-Kultivare übertragen werden, allerdings mit geringen Infektionsraten. Nach ihrer systemischen Ausbreitung wurde die Identität der viralen Genome mit Hilfe von Restriktions-Fragment-Längen-Analysen verifiziert. Interessanterweise zeigte sich die für *N. benthamiana* typische Adernvergilbung als Leitsymptom des yv-Stamms auch in den ersten infizierten Blättern von Tomaten, während csTGMV lediglich vereinzelte chlorotische Punkte in wenigen Blättern induzierte. Stauchung oder andere Krankheitssymptome blieben bei beiden TGMV-Varianten aus. Für *N. benthamiana* konnte durch *In-situ*-Hybridisierung und immunologische Methoden nachgewiesen werden, dass beide Virus-Stämme alle Blattgewebe infiltrieren. Derzeit wird untersucht, ob sie dies auch in Tomaten tun oder ob sie, wie andere gut adaptierte Viren, hier auf die Leitgewebe beschränkt bleiben. Southern-Analysen und *Rolling-Circle*-Amplifikation zeigten, dass TGMV-DNA in symptomatischen und in symptomfreien Blättern akkumuliert.

Ähnliche Befunde ergaben sich für das deutlich stärker Tomaten-pathogene Abutilon-Mosaik-Virus, dessen Infektiosität jetzt auch für Bohnen, Saubohnen und Linsen gezeigt wurde. In den beiden letztgenannten Wirten verhielt sich das Virus aber trotz guter Übertragbarkeit völlig symptomlos.

In Verbindung mit kürzlich publizierten Resultaten für latente Begomovirus-Infektionen in Paprika (*Tomato yellow leaf curl virus*; Polston *et al.*, 2006, *Phytopathology* 96, 447-452) deuten unsere Studien darauf hin, dass intensiv angebaute Nutzpflanzen wichtige unerkannte Zwischenwirte für Geminiviren darstellen können und diese Rolle nicht allein der wilden Begleitflora zukommt. Nur eingehende Analysen der Wirtsspektren bekannter geminiviraler Phytopathogene und intensiviertes *Screening* gesund erscheinender Kulturpflanzen könnten die landwirtschaftlichen Risiken solcher latenten Infektionen eingrenzen.



# Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e.V.

c/o Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft  
Messeweg 11/12 – D-38104 Braunschweig

DPG-AK VS c/o Biologische Bundesanstalt - VS -  
Messeweg 11/12 • D-38104 Braunschweig

Email: c.adler@bba.de

## Programm zum 14. Treffen des DPG-Arbeitskreises Vorratsschutz in Oldenburg, 21./22.11.2007

Uhrzeit	Referent	Vortrag (Titel)
Mi., 11:15	Adler / Böye	Begrüßung, Einleitung
	1. Reichmuth, Christoph, BBA, VS Berlin	Pflanzenschutz und Vorratsschutz im neuen Julius Kühn Institut
	2. Plarre, Rudy, BAM Berlin	Der Kornkäfer <i>Sitophilus granarius</i> L. (Coleoptera: Curculionidae) – ein kulturhistorisches Evolutionsereignis?
12:30		<i>Mittagessen</i>
13:30	3. Tarasevic, Aksana, BBA, VS, Berlin	Einfluss des Befalls mit Korn- und Getreideplattkäfern auf das Wachstum der Schimmelpilze <i>Aspergillus</i> und <i>Penicillium</i> in gelagertem Triticale
	4. Adler, Cornel, BBA, VS, Berlin	Insektendichter Abschluss, Funktion im Vorratsschutz und häufige Probleme
	5. Schulz, Daniela, Brueggen, Lübeck	Hermetische Siegelung von Folienbeuteln zur Vermeidung eines Zünslerbefalls in Müsli
	6. Bartels, Daniela, Univ. Hamburg	Murmeln mit Beinen? Über Effizienz und Zuverlässigkeit im Monitoring und die Verteilung von Insekten
	7. Reichmuth, Christoph, BBA, VS Berlin	Neue Entwicklungen bei SF und PH3
	8. Baltaci, Deniz, BBA, VS, Berlin	Zur Wirksamkeit von Sulfuryldifluorid gegen die Speichermotte <i>Ephestia elutella</i>
	9. Böye, J. und Mück, O	<i>SF und Wärme</i>
	10. Ramsperger, Doreen, BBA, VS, Berlin	Verteilung von Kieselgur auf Oberflächen zur Bekämpfung vorratsschädlicher Insekten
	11. Adler, Cornel, BBA, VS, Berlin	Extreme Temperaturen – Produkte kühlen, Räume heizen
		<i>Diskussion</i>
Do., 9:15	12. Adler, C. / Frielitz, C., BBA, VS, Berlin	Zur Biologie des Ameisenwespen <i>Holepyris sylvanides</i> , eines Larvalparasitoiden von <i>Tribolium castaneum</i>
	13. Prozell, S. & Zimmermann, O.:	Das Getreideplattkäfer-Ameisenwespen <i>Cephalonomia tarsalis</i> (Film)
	14. Schöller, M. & Prozell, S.:	<i>Theocolax elegans</i> , ein neuer Kandidat für die biologische Bekämpfung des Kornkäfers in Mitteleuropa.
	15. Frische, Thomas, ARIES, Horstedt	MOTTCONTROL - Nützlinge gegen Lebensmittelmotten in Haushalt und Lager. Aus der Praxis des Einsatzes von <i>Trichogramma evanescens</i> gegen Lebensmittelmotten in Privathaushalten und Einzelhandelsgeschäften
	16. Böye, J. und Mück, O:	Fortbildung im Vorratsschutz: Runter von den ausgetretenen Wegen!
		<i>Abschlussdiskussion</i> <i>Wahl des Arbeitskreisleiters</i>

## **Der Kornkäfer *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) – ein kulturhistorisches Evolutionsereignis?**

Plarre R., Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung, Unter den Eichen 87, 12205 Berlin

Unter den vorratsschädlichen Insekten ist *Sitophilus granarius* die einzige Art, von der keine Freilandfunde abseits menschlicher Getreidelagerstätten bekannt sind. Morphologische, physiologische und ethologische Anpassungen des Kornkäfers werden mit denen nächstverwandter *Sitophilus*-Arten und Außengruppenvertretern verglichen, um die phylogenetische Entwicklung zur rein synanthropen Lebensweise zu rekonstruieren. Entscheidende Prädispositionen wie komplette Entwicklung in einem Wirtskorn, Endosymbiose, Reduktion der Flügel samt Flugmuskulatur und weitere mehr werden als Voraussetzung zur Anpassung an neolithische Vorratshaltung von Nahrungsmitteln durch den Menschen diskutiert. Faunistische, archäologische und historische Indizien komplettieren den Rekonstruktionsversuch. Ausführliche Publikation zu diesem Thema:

Plarre, R. 2004. Der Kornkäfer *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) – ein kulturhistorisches Evolutionsereignis? Sitzungsberichte Gesellschaft Naturforschender Freunde Berlin (N.F.) 42: 89-107.

## **Insektendichter Abschluss, Funktion im Vorratsschutz und häufige Probleme**

Cornel Adler, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin  
Email: c.adler@bba.de

Im Zuge steigender Preise für landwirtschaftliche Erzeugnisse und strengerer gesetzlicher Anforderungen bezüglich Lebensmittelsicherheit und –hygiene kommt der Vermeidung eines Schädlingsbefalls zunehmende Bedeutung zu. Eine insektendichte Lagerung in dicht schließenden Schüttgutlagern und dicht schließenden Verkaufsverpackungen könnte helfen, Befallsverluste abzusenken.

Untersuchungen an verschiedenen Packungstypen zeigten, dass Folienbeutel häufig entweder an den Nähten undicht waren oder noch vor der weiteren Abpackung durch Transporteinrichtungen (z.B. Nadelwalzen) im Betrieb zum Zweck des Druckausgleichs so punktiert wurden, dass dies eine Einwanderung von Schadinsekten ermöglichte.

In Kartons konnten Insekten durch nur punktverklebte Verschlüsse und vorperforierte Ausgussöffnungen eindringen. Die im Institut üblichen Tests zur Ermittlung der Schädlingsdichtigkeit von Packungen werden vorgestellt.

Der Lebensmittelproduzent muss bei der Gestaltung einen Kompromiss zwischen einer ansprechenden und leicht zu öffnenden Verpackung einerseits und einer insektendichten Packung andererseits finden. Kartonagen mit vorgefalteten, spannungsfrei verschließbaren und flächig verklebten Laschen lassen sich ebenso dicht verschließen wie Papierbeutel. Ein stärkeres Bewusstsein der Packmittel- und Packmaschinenhersteller für Aspekte des Vorratsschutzes könnte der Lebensmittelindustrie in Zukunft helfen, die Produkte in bester Qualität an die Verbraucher zu bringen.

## **Neue Entwicklungen bei SF und PH<sub>3</sub>**

Christoph Reichmuth, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin  
Email: c.reichmuth@bba.de

Zeitgemäße Begasung zur Schädlingsbekämpfung umfasst verschiedene Anpassungen des Begasungsobjekts vor dem Einsatz der Mittel. Hierzu zählen Untersuchungen und Anpassungen zur Eignung mit Hilfe der vorherigen Bestimmung der Gasdichtigkeit und bedarfsweiser

Verbesserung der baulichen Gegebenheiten eines zu begasenden Gebäudes. Der Ort der Begasung wird vor einer Behandlung vom Begasungsleiter besichtigt, auch um vom Auftraggeber Informationen über die Art und Lage des Objekts, über die Entfernung und Lage der nachbarschaftlichen Bebauung, die zu erwartenden Wetterbedingungen insbesondere auch während der Lüftungsphase nach Ende der Einwirkzeit, die zu entwesenden Produkte, die aufgetretenen und zu erwartenden Arten und Stadien der Schadtiere, die voraussichtliche Behandlungszeit, die vorher zu unterrichtenden Behörden, die Logistik des An- und Abtransportes und der Anwendung des Begasungsmittels, die Zeitpunkte der messtechnischen Erfassung der Gaskonzentrationen im und um das Objekt, die Orte der Probenahme der Gasproben zur Überwachung und Steuerung der Begasung. Während der Begasung muss der Zugang unautorisierter Personen in die Nähe des Objekts nachhaltig unterbunden werden.

Ein sehr bedeutender und wichtiger Punkt für eine wirksame Begasung ist die Ermittlung der erforderlichen Dosierung, um einen vollständigen Begasungserfolg aller abzutötenden Insekten und anderer Schädlinge zu erreichen. In zahlreichen wissenschaftlichen und technischen öffentlichen Publikationen und auch Computerprogrammen (z.B. Fumiguide der Fa. DowAgroscience) sind orientierende Daten niedergelegt. Das Fumiguide-Programm führt den Begasungsleiter nach Eingabe der Ausgangsdaten einer Begasung mit Empfehlungen zur Auswahl der Anfangsdosierung und möglichen Nachdosierungen durch eine wirksame Begasung mit Sulfurylfluorid. Das beste Programm und die beste Empfehlung gehen allerdings fehl, wenn die Basisdaten nicht korrekt sind. Dies betrifft beispielsweise die Temperatur und relative Feuchte im Objekt dort wo sich die Schadtiere aufhalten. Falls die Temperatur im Kellerbereich während der Behandlung beispielsweise 5°C tiefer sein sollte als ursprünglich angenommen und in das Programm bei vorheriger Abfrage abweichend eingegeben wurde, führt dies unweigerlich zur Berechnung einer unzureichenden Dosierung, die von den im Keller befindlichen Schadtieren überlebt wird. Nur falls die Wirkstoff- und Präparate-Dosierung im Vorhinein etwa um 25% höher angesetzt wird als die theoretisch unter optimalen Feldbedingungen nötige Dosierung führen etwas verfälschte Grundannahmen nicht zu Fehlbegasungen mit überlebenden Tieren. Der bessere Weg ist natürlich eine möglichst realitätsnahe Erfassung der Temperaturen im Objekt kurz vor der Begasung. Ein gewisses Restrisiko des Temperaturabfalls während der Behandlung bleibt bestehen. Mit Zwangsumluft und zusätzlicher Erwärmung falls erforderlich kann dem Problem der Unterdosierung wegen Unterschreitung der Raumtemperatur vorgebeugt werden. Dadurch wird dann auch Gleichverteilung der Gaskonzentration im Objekt erzielt.

Zu Beginn der Behandlung wird das Gas in den Luftraum im Objekt freigesetzt, von wo aus es sich verteilt und auch in Ritzen und Spalten diffundiert, wo es dann ggf. auch noch in die Schadtiere eindringt und innerhalb der Tiere die empfindlichen Organe vergiftet. Die Tatsache dieser Verzögerung der Wirkung durch Transportvorgänge bis zum Organ des Tieres wird häufig vernachlässigt und unterschätzt. Zur Ausgleichung dieser Effekte muss die Behandlung verlängert werden. Zusätzliche Expositionszeit muss zu den theoretischen Literaturwerten addiert werden, wenn diese in einer Begasungskammer oder einem Glasgefäß erzielt wurden.

Ein ganz wichtiger Aspekt betrifft die Auswahl bzw. Bestimmung des Mortalitätsprozentsatzes der Schadtiere. Insekten vermehren sich schnell und in großer Anzahl, Nachkommenschaften von 500 in wenigen Wochen sind keine Besonderheit. Deshalb müssen mindestens 99,9% aller Lebensstadien wenn nicht noch mehr bei einer Begasungsaktion abgetötet werden, um den schnellen Wiederaufbau einer Population aus überlebenden Tieren zu vermeiden. In den Vereinigten Staaten von Nordamerika wird bei Quarantänemaßnahmen Probit 9 verlangt, was nach Finney einer 99,9968%igen Mortalität entspricht, um ein Überleben von Quarantäneorganismen hochprozentig auszuschließen. Diese Betrachtungen müssen in die Festlegung der angestrebten Dosierung einfließen und sollten auch in Computerprogramme Eingang finden.

Die präzise Auswahl der angemessenen Dosierung zur Bekämpfung eines Schädlings in einem Begasungsobjekt kann zu signifikanter Verminderung des Einsatzes von Chemikalien führen, die ansonsten später auch in die Umwelt gelangen würden, weil verschiedene Schädlingsarten und –stadien ganz unterschiedliche Dosierungen für dieselbe Abtötungsrate benötigen. So kann auch der zusätzliche Einsatz von Wärme im Objekt dazu führen, dass weniger Wirkstoff für dieselbe Abtötungsrate erforderlich ist.

### **Wirksamkeit von Sulfurylfluorid gegen die Speichermotte (*Ephestia elutella*)**

Deniz Baltaci und Christoph Reichmuth, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin  
Email: c.reichmuth@bba.de

Sulfurylfluorid (SO<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, SF) ist ein zugelassenes Begasungsmittel und wird verbreitet gegen Termiten und andere strukturelle Schädlinge angewendet. Das Gas wird auch für die Entwesung gegen vorratsschädliche Insekten verwendet und als eine Alternative zu Methylbromid im Vorratsschutz gesehen. Seit Dezember 2004 ist SF in Deutschland für die Anwendung in Mühlen, leeren Vorratslagern und in getrockneten Früchten registriert. Es ist eine biologisch aktive anorganische Substanz, geruchlos, farblos, nicht-korrosiv und nicht-entflammbar. Die Wirksamkeit von 11,6 g/m<sup>3</sup> und 21,3 g/m<sup>3</sup> Sulfurylfluorid gegen 0 bis 4 Tage alte Eier der Speichermotte, *Ephestia elutella* (Hübner), wurde im Institut für Vorratsschutz der BBA in Berlin-Dahlem untersucht. Je 50 Eier von *E. elutella* wurden mit ca. 5 ml Getreidekleie in den Metallkäfige eingebracht. Diese Käfige wurden in den 500 ml Waschflaschen ca. 15 Minuten lang mit 11,6 g/m<sup>3</sup> bzw. 21,3 g/m<sup>3</sup> Sulfurylfluorid begast. Die begasten Flaschen wurden je nach Einwirkzeit (18 h, 24 h und 48 h) in klimatisierten Räumen bei 15°C, 20°C und 25°C aufbewahrt und danach gelüftet. Es zeigte sich, dass die Wirksamkeit des Gases mit zunehmender Alter der Eier (0 – 4 Tage) abnahm. Eine vollständige Abtötung aller Eier gelang nur bei der höheren Dosierung und nur bei 20°C mit 48 h Einwirkzeit sowie mit 25°C mit 24 h und 48 h Einwirkzeit.

### **Extreme Temperaturen, Produkte kühlen – Räume heizen**

Cornel Adler, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin  
Email: c.adler@bba.de

Die Palette der für den Vorratsschutz zugelassenen Wirkstoffe ist nicht groß und in den vergangenen Jahren noch weiter geschrumpft. Neben den häufig eingesetzten Entwesungsverfahren der Begasung pflanzlicher Erzeugnisse mit Phosphorwasserstoff oder Kohlenstoffdioxid unter Hochdruck werden bei Gewürzen, Tees, Kräutern, Nüssen oder Trockenobst auch Gefriertechniken eingesetzt, die rückstandsfrei, wirksam und nicht zulassungspflichtig sind. Dabei müssen im Kern des Gebindes kurzzeitig Temperaturen von minus 18°C erreicht werden. Dies führt über die Eisbildung in der Zelle zur Abtötung der Schadarthropoden. Versuche haben gezeigt, dass auch bei Entnahme der Produkte aus der Kältekammer keine Schäden durch kurzzeitig an der Oberfläche kondensierende Luftfeuchte drohen.

Leere Räume der Vorratshaltung oder Lebensmittelindustrie können auch durch hohe Temperaturen entwest werden, wobei an allen Stellen Temperaturen über 50°C für mehrere Stunden erreicht werden müssen. Dies ist nur bei guter Luftumwälzung möglich und sollte durch genaue Temperaturerfassung an kritischen Punkten (Fensterbretter, Dachfugen, Kellerbereich, in Produktresten, Maschinen) überprüft werden. Ergebnisse aus Praxisversuchen werden vorgestellt.

## **Zur Biologie und Eiablage von *Holepyris sylvanidis*, eines Larvalparasitoiden des Amerikanischen Reismehlkäfers *Tribolium confusum***

Cornel Adler und Cornelia Frielitz, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin, Email: c.adler@bba.de

Der Amerikanische Reismehlkäfer *Tribolium confusum* ist ein häufiger Schädling in der Getreideverarbeitung. Das Ameisenwespenchen *Holepyris sylvanidis* ist ein natürlicher Gegenspieler, dessen Zucht erstmals im Labor gelungen ist. Zur Eiablage paralyisiert das Weibchen eine mittlere Larve des Reismehlkäfers durch einen Stich, nimmt ggf. etwas Haemolymph auf und versteckt die Larve in einem geeigneten Versteck. Dann legt es ein Ei an die Bauchseite der Käferlarve, meist dicht unterhalb des dritten Beinpaars. In Versuchen wurde von einem einzelnen Weibchen unter Anwesenheit eines Männchens bis zu 52 Eier abgelegt wobei für die erfolgreiche Parasitierung eine Versteckmöglichkeit für die paralyisierten Larven unabdingbar war. Bei Versuchen in kleinen Petrischalen war die Eiablage eines einzelnen Weibchens mit 1,6 pro Tag am höchsten, bei Anwesenheit von bis zu fünf Weibchen verringerte sich die Eiablage auf 0,4 Eier pro Tag und Weibchen. Wie bei vielen anderen parasitischen Wespen verlängerte die Gabe eines Tropfens Honigwasser die Lebensdauer der Weibchen deutlich. Männchen sind meist etwas kleiner, haben längere Antennen und Flügel im Verhältnis zur Körperlänge und ein kürzeres Abdomen.

## **Aus der Praxis des Einsatzes von *Trichogramma Evanescens* gegen Lebensmittelmotten in Privathaushalten und Einzelhandelsgeschäften**

Frische, Th., ARIES Umweltprodukte, DE-27367 Horstedt

Der gezielte Einsatz von Nützlingen ist aus dem Pflanzenbau seit Langem bekannt und bewährt. Seit mehr als zehn Jahren werden Schlupfwespen der Art *Trichogramma Evanescens* nun auch als Bekämpfungsmethode gegen Lebensmittelmotten im unmittelbaren Lebensbereich des Menschen eingesetzt.

Das Verfahren wurde von MitarbeiterInnen der BBA Darmstadt zur Praxisreife entwickelt. Bei den *Trichogramma Evanescens* handelt es sich um Eiparasitode, die ausschließlich Eier verschiedener Mottenarten befallen. Die daraus resultierenden Vorteile:

1. Die Individuen sind sehr klein, so dass eine Belästigung der Anwender und anderer Anwesenden ausgeschlossen ist.
2. Die parasitierten Motteneier können als Transportmedium verwendet werden.
3. Die Bekämpfung ist sehr diskret (und tolerabel aus lebensmittelhygienischer Sicht)

Einziger Nachteil: Eine Bekämpfung macht nur über den Zeitraum eines kompletten Mottenzyklus Sinn, da nur auf diese Art sichergestellt werden kann, dass das Eistadium zuverlässig erfasst wird. Dies wird bei MOTTCONTROL über ein spezielles Abo-Verfahren gewährleistet.

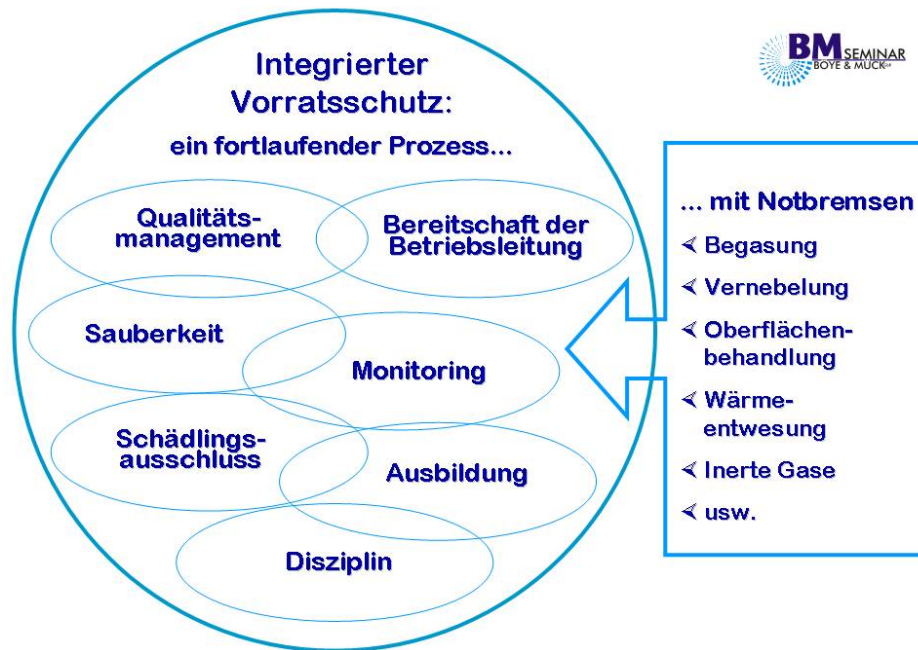
Der Einsatz an verpackter Ware macht es den Nützlingen leicht, praktisch jedes abgelegte Mottenei zu finden und zu parasitieren, bevor daraus Räumchen schlüpfen, die aktiv in die Verpackungen eindringen können.

Fazit nach mehr als zehn Jahren Einsatz: Mit keinem anderen Verfahren zur Mottenbekämpfung kommt man so nahe an Lebensmittel heran, ohne diese zu kontaminieren. Die Nützlinge wirken absolut selbstständig und mit der Chance zur 100%igen Tilgung – wenn man für einige wichtige Voraussetzungen sorgt.

MOTTCONTROL kann in Haushalt, Verkaufsraum und Lager eingesetzt werden ohne den normalen Arbeitsablauf zu stören. Die genannten Vorteile machen es zu einem sehr praktikablen Verfahren zur Bekämpfung von Lebensmittelmotten.

## **Fortbildung im Vorratsschutz: Runter von den ausgetretenen Wegen**

Unser schon auf der Grainauer Tagung im Oktober 2005 präsentiertes Konzept des Integrierten Vorratsschutzes wurde inzwischen als Basis für Fortbildungsaktivitäten weiterentwickelt. Ihm liegt ein fortlaufender Optimierungsprozess zu Grunde, in den kurative Verfahren nur im Bedarfsfall eingreifen. Dieses Konzept wird im nachfolgenden Schema veranschaulicht:



Die Umsetzung dieses Konzepts in der Ausbildung erfolgt mit Hilfe von zwei didaktischen Schlüsselementen: Anschauung und Praxis.

**Anschaulichkeit:** Um ein Grundverständnis für den Integrierten Vorratsschutz zu wecken, bedarf es anschaulicher Methoden der Vermittlung von Grundlagenwissen wie z.B. der Biologie von Vorratsschädlingen. Bewährte Hilfsmittel sind z.B. Zeichnungen, Fotografien und lebende Insekten unterm Binokular. Als Novum haben wir in internationaler Kooperation mit führenden Fachleuten acht Kurzfilme zur Entwicklungsbiologie wichtiger Vorratsschädlinge in Auftrag gegeben, die ab 2008 als Trainingsmaterial Verwendung finden werden.

**Praktisches Training:** Zur einprägsamen Vermittlung von Verfahren des integrierten Vorratsschutzes sind praktische Kursbestandteile unumgänglich. Wir haben den Praxisanteil vieler Veranstaltungen auf über 50 % angehoben, wobei neben Demonstrationen echte Praxisarbeit im Vordergrund steht.

Beispiele hierfür sind der Lehrgang „Praktischer Vorratsschutz“, in dem Techniken der integrierten Bekämpfung von Vorratsschädlingen in Betrieben eingeübt werden und unser Kurs zur Wärmeentwesung, in dem das Verfahren vom ersten bis zum letzten Handgriff real durchgeführt wird.

Außerdem führen wir Workshops durch, bei denen in den Betrieben zusammen mit Mitarbeitern und Management Probleme identifiziert, Lösungsansätze erarbeitet und umgesetzt, Fehler korrigiert und die Resultate gemeinsam ausgewertet werden. Diese prozessorientierte Lernerfahrung ist ein wichtiger Baustein betriebspezifischer Konzepte des integrierten Vorratsschutzes für die Lebensmittel- und Futtermittelindustrie. So werden die Einhaltung der Rechtsvorschriften, die Wahrung von Industriestandards und die Erfüllung der Erwartungen der Verbraucher auf wirksame Weise gefördert.

## MITTEILUNGEN

### Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

#### Arbeitskreis Wirbeltiere der DPG

Die Zusammenfassungen der Vorträge der Jahrestagung 2007 des Arbeitskreises Wirbeltiere werden im Folgenden wiedergegeben.

#### Zäune und Wühlmausfallen - Zwischenbilanz einer Videobeobachtung

**Olaf Fülling<sup>1</sup>, Jean Malevez<sup>2</sup> und Bernd Walther<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universität Bern, Institut für Zoologie, Schweiz

<sup>2</sup>Topcat GmbH, CH-4451 Wintersingen, Schweiz

<sup>3</sup>Universität Münster, Institut für Zoologie, Deutschland

Wühlmäuse (*Microtus arvalis* und *Arvicola terrestris*) können in vielen landwirtschaftlichen Kulturen, z. B. Obstbau, Wein, Gemüse, aber auch in der Forstwirtschaft sowie auf Grünland ernsthafte, wirtschaftlich relevante Schäden verursachen. Neue, umweltgerechte Methoden zur Wühlmauskontrolle werden daher dringend benötigt.

Eine neu entwickelte Falle, die Wühlmäuse entlang von Sperrzäunen fängt, kann von Raubsäugern, wie Hermelin, Fuchs oder Katze geöffnet werden. Der leichte Beuteerwerb soll die Räuber dazu bewegen, die Zäune regelmäßig abzulaufen. Solche patrouillierenden Raubsäuger sollen nicht nur die Fallen leeren, sondern auch die Mäuse fangen, die (noch) nicht in die Fallen gelaufen sind.

In einem praxisnahen Freilandprojekt soll nun die Wirksamkeit der Kombination von Zäunen und Fallen geprüft werden. Dazu vergleichen wir Zäune mit Fallen, Zäune ohne Fallen und Messlinien ohne Zäune und Fallen jeweils an drei verschiedenen Standorten in der Schweiz.

Die neun Anlagen wurden ab März 2007 in insgesamt 81 Nächten mittels Infrarot-Videokameras beobachtet. Die Sichtungen im Bereich der Kameras werden nach Tierart, Dauer, Bewegungsrichtung (parallel oder quer zum Zaun, etc.) ausgewertet. Die bisherigen Beobachtungen sollen hier vorgestellt werden.

Bis Oktober 2007 wurden mehr als 750 Säugetierbeobachtungen im Bereich der Kameras gemacht. Den bei weitem größten Anteil stellen dabei Füchse und Hauskatzen. Dachs, Steinmarder oder Hermelin sind sehr seltene Gäste.

Die Anzahl der Katzenbeobachtungen an den drei Standorten zeigt weit größere Unterschiede, als die der Füchse. Grund hierfür dürften die unterschiedlichen Distanzen zu den nächstgelegenen Bauernhöfen sein - je näher die Höfe den Versuchsanlagen sind, desto häufiger besuchen auch Katzen die Versuchsanlagen. Beide Prädatoren laufen häufiger parallel und nahe der Zäune mit Fallen, was als Interesse bzw. Kontrolle der Fallen gedeutet wird.

Die bisher vorliegenden Daten zeigen, dass der neue Fallentyp durchaus in der Lage ist, natürliche Wühlmausräuber als „Wachmannschaft“ an die Zäune zu locken.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

### Forschungsvorhaben: Prognosemodell für Massenvermehrungen von Feldmäusen

**Alexandra Esther<sup>1</sup>, Jens Jacob<sup>1</sup> und Thomas Volk<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Julius-Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Toppeideweg 88, 48161 Münster

<sup>2</sup>proPlant GmbH, Albrecht-Thaer-Str. 34, 48147 Münster

Massenvermehrungen von Feldmäusen können zu hohen wirtschaftlichen Verlusten in der Land- und Forstwirtschaft führen (z. B. Eifel 2006, regional in Spanien und Deutschland 2007). Bisher gibt es keine Möglichkeit dieses Phänomen auf lokaler Ebene vorherzusagen und den Schaden durch vorzeitige Gegenmaßnahmen zu begrenzen. In unserem Projekt soll durch die Zusammenarbeit mit der Friedrich-Schiller-Universität, Jena und der proPlant GmbH, Münster ein praktikables Prognosemodell für Massenvermehrungen der Feldmaus entwickelt werden. Die Förderung erfolgt durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz. Ziel ist es, zum einen durch Vorwarnung den Landwirten die Möglichkeit zu geben, rechtzeitig flankierende Methoden der Feldmausbekämpfung anzuwenden. Zum anderen soll durch die Entscheidungshilfe die räumliche und zeitlich gezielte Anwendung von Gegenmaßnahmen ermöglicht werden. Durch die Nutzung eines Prognosemodells wäre eine Verminderung der Rodentizidanwendungen möglich, wodurch der Naturhaushalt entlastet und die Risiken für Nicht-Zielarten verringert werden könnten. Im Projekt werden bereits vorhandene Datensätze zur Populationsentwicklung von Feldmäusen digitalisiert. Dafür stehen umfangreiche Langzeitstudien zur Populationsdynamik von Feldmäusen aus dem Weser-Ems-Land sowie aus Thüringen, Sachsen-Anhalt und Brandenburg zur Verfügung. Die Datensätze wurden jedoch mit unterschiedlichen Methoden erhoben. Um die Datensätze vergleichbar zu machen, werden sie durch Freilandversuche kalibriert. Inwieweit die Populationsdynamik im Zusammenhang mit Umweltparametern wie Temperatur, Sonnenscheindauer und Niederschlagsmenge stehen, wird durch statistische Modellierung ermittelt. Auf der Basis der Analyse wird dann ein modulares „Prognosemodell für Massenvermehrungen von Feldmäusen“ entwickelt. Die Überprüfung der Vorhersagekraft erfolgt im Anschluss durch den Vergleich der Prognoseergebnisse mit dem Ergebnis von Fallenfängen auf lokaler Ebene. Das Modell soll in ein Monitoring- und Vorwarnsystem der proPlant GmbH integriert werden und Landwirten und Beratern als Entscheidungshilfe für die Feldmausbekämpfung zur Verfügung stehen.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

### Neue Ansätze zur Vergrämung von Schermäusen (*Arvicola terrestris*) mit Hilfe von Geruchs- und Geschmacksrepellentien

**Daniela Fischer und Forst Hans-Joachim Pelz**

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Toppeideweg 88, 48161 Münster

Schermäuse verursachen im Obst- und Gartenbau, insbesondere in den Wintermonaten, Fraßschäden an den Wurzeln diverser Gehölzpflanzen. Dies führt zu erheblichen Ertragseinbußen nicht nur in ökologisch wirtschaftenden Betrieben.

Bisher auf dem Markt angebotene Vertreibungsmittel und -geräte brachten, ebenso wie der Anbau bestimmter Pflanzenarten (z. B. Wolfsmilchgewächse), das Einbringen von Men-



schenhaaren oder Glasscherben und anderen „Hausmitteln“ keinen Erfolg.

Das Potential pflanzlicher Sekundärstoffe allerdings ist bis jetzt wenig erforscht und bietet im Hinblick auf fast 300 000 Arten ein enormes Potential, das unter anderem im Gartenbau und in der Landwirtschaft genutzt werden könnte.

Im Rahmen eines aktuellen Kooperationsprojekts zwischen dem Julius Kühn-Institut (JKI) Münster, der Firma Neudorff und dem Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie in Heidelberg soll nun ein neues integriertes Pflanzenschutzverfahren zur chemischen Vergrämung von Schermäusen entwickelt werden. Ziel ist es, ein anwenderfreundliches und auf natürlichen, sekundären Pflanzenstoffen basierendes, Produkt herzustellen, welches den Einsatz von bekannten letalen Rodentiziden sowie Totschlagfallen minimiert. Zudem sollen die Ausgangspflanzen zur Gewinnung der Extrakte kommerziell erhältlich und kostengünstig sein.

Um die Wirkstoffe zu untersuchen, werden ca. 50 verschiedene Pflanzenextrakte in einem systematischen Screening mit Hilfe von Apfelreisern (größengenormte Apfelzweige) getestet. Zu diesem Zweck werden die Substanzen auf die Reiser aufgebracht und den Schermäusen im Laborversuch angeboten. Der Grad der Benagung wird daraufhin mit unbehandelten Reiserkontrollen verglichen. Diese Methodik ist am Institut etabliert und ermöglicht die Überprüfung einer größeren Zahl von Stoffen innerhalb kurzer Zeit. Zudem sind Apfelreiser besonders attraktiv für Wühlmäuse und werden bevorzugt benagt.

In einem weiteren Ansatz werden Geruchsrepellentien mit Hilfe eines T-Labyrinthes getestet. Hierfür werden den Schermäusen jeweils eine mit einem Extrakt „beduftete“ und eine „unbeduftete“ Box mit Futterstücken zur Wahl gestellt. Da noch unbekannt ist, wie Schermäuse auf solche Versuchsaufbauten reagieren, sind hierfür methodische Vorversuche erforderlich.

Des Weiteren wird in einem dritten Versuchsansatz unterschiedlich behandeltes Futter in einer Mehrfachwahlapparatur getestet. Hierfür werden in einer Metallbox positionierte Keramikschälchen mit Futter befüllt und mit Pappe abgedeckt. Die Tiere können sich über Löcher in der Pappe geruchlich orientieren und diese aufnagen, um an die mit verschiedenen Geruchsstoffen behandelte Nahrung zu gelangen.

Verbindungen, die sich im Laborversuch als wirksam erweisen, müssen später in Gehege- und Halfreilandversuchen auf ihre Effizienz getestet werden. Repellierend wirkende Extrakte müssen dazu so aufbereitet werden, dass sie in der Praxis leicht anzuwenden sind.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## Rodentizidresistenz: Rückblick

### Stefan Endepols

Bayer CropScience AG, Alfred-Nobel-Str. 50, 40789 Monheim

Es wird eine Übersicht gegeben über Forschungsarbeiten seit den 1950er Jahren mit dem Fokus auf Deutschland. Hier begannen die Arbeiten mit ersten Nachweisen von Resistenz gegen Warfarin bereits in den 1960ern durch das Medizinaluntersuchungsamt Stade, Dr. TELLE. Zwischen 1968 und 1971 wurden 2000 gefangene Ratten getestet, und Warfarin-Resistenz an vier Orten in Niedersachsen nachgewiesen. Spätere Arbeiten in den 1980ern und 1990ern konzentrierten sich auf das Münsterland, wo sich Bekämpfungsprobleme häuften. In der jüngeren Vergangenheit wurde die genetische Variante der Warfarin-Resistenz untersucht, und es wurden Resistenzfaktoren für zwei Wirkstoffe bei einem Stamm mit fortgeschrittener Resistenz bestimmt.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## Untersuchungen von Präparaten aus Extrakten der Großen Kugeldistel (*Echinops sphaerocephalus*) als Verbisschutzmittel gegen Rehwild (*Capreolus capreolus*)

Torsten Heidecke<sup>1</sup>, Tom Müller<sup>2</sup> und Michael Müller<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Schädlingsbekämpfung GmbH, Ottendorfer Straße 12b, 09661 Hainichen

<sup>2</sup>Technische Universität Dresden, Institut für Waldbau und Forstschutz, Piennner Straße 8, 01737 Tharandt

Untersuchungen von Präparaten aus Extrakten der Großen Kugeldistel (*Echinops sphaerocephalus*) als Verbisschutzmittel gegen Rehwild (*Capreolus capreolus*) werden vorgestellt.

Durch die als Waldumbau bezeichnete Einbringung von Laubgehölzen in Koniferenmonokulturen werden dem Rehwild (*Capreolus capreolus*) hochattraktive Nahrungspflanzen angeboten. Durch chemischen Einzelschutz könnten diese Gehölze selektiv geschützt werden. Dafür wurde ein mit der Großen Kugeldistel (*Echinops sphaerocephalus* L.) auf einem nachwachsenden Rohstoff basierendes Präparat entwickelt, dessen Wirksamkeit nun in Fütterungs- und Verbissversuchen getestet wurde.

Im Lehr- und Forschungswildgehege der TU Dresden wurden fünf Choice - Tests mit Körnermais als Nahrungsgrundlage angelegt. Zunächst wurden jeweils einzeln der Pflanzenextrakt (HWE2), die Formulierung ohne Wirkstoff (FA100) und das Fertigpräparat (FA100HWE2) sowie als Vergleichsvariante Certosan<sup>®</sup> gegen eine Nullvariante über 16 Tage getestet. Der Pflanzenextrakt und das Fertigpräparat wurden annähernd vollständig gemieden. Mit Certosan<sup>®</sup> und der Formulierung wurden uneinheitliche Ergebnisse ermittelt.

In einem weiteren Versuch wurden bei gleicher Gesamtfuttermenge die vier Substanzen und die unbehandelte Variante gleichzeitig angeboten. Die sehr guten Ergebnisse für den Extrakt und das Fertigpräparat konnten bestätigt werden. Der ausschließlich mit der Formulierung behandelte Mais unterschied sich nicht von der unbehandelten Variante, die Wirksamkeit des Standardpräparates Certosan<sup>®</sup> schwankte zwischen 20 % und 70 %.

Im Verbissversuch wurden das Fertigpräparat und Certosan<sup>®</sup> auf die Terminalknospen von Gemeiner Fichte (*Picea abies*), Rotbuche (*Fagus sylvatica*) und Stieleiche (*Quercus petraea*) appliziert und gemeinsam mit unbehandelten Pflanzen Rehwild angeboten. Auswertekriterium war die Reihenfolge des Verbisses in Abhängigkeit von Baumart, Behandlungsvariante und Verfügbarkeit an Versuchsbäumen. Zunächst zeigte sich, dass die Attraktivität der Baumarten die Repellenz der applizierten Mittel überlagerte, d. h., dass unabhängig von der Behandlung die Stieleichen präferiert wurden, gefolgt von Rotbuche und Gemeiner Fichte. Bei *Fagus sylvatica* und *Quercus petraea* wurden die mit dem Echinopspräparat behandelten Bäumchen signifikant weniger verbissen als die Certosan<sup>®</sup>- bzw. unbehandelte Variante. Der Verbiss an den mit dem Repellent behandelten Bäumchen nahm erst dann deutlich zu, nachdem die Anzahl der Pflanzen der beiden anderen Varianten deutlich abgenommen hatte.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## Sterilisierung statt Tod: aktuelle Ansätze im Fertilitätsmanagement von Schädigern

Jens Jacob

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Toppheideweg 88, 48161 Münster

In Land- und Forstwirtschaft werden Schädiger meist mit Giften bekämpft. Rodentizide können jedoch Tierleid hervorrufen und neben der Zielart auch andere Tiergruppen schädi-

gen, wenn Rodentizide direkt oder über belastete Beute aufgenommen werden. Methoden, die lediglich die Mortalität erhöhen, sind auch problematisch, weil automatisch vakante Habitate geschaffen werden, in denen sich Einwanderer gut ansiedeln und vermehren können. Innerhalb kurzer Zeit kann deshalb eine erneute Bekämpfung nötig werden.

Neben Mortalität und Wanderungsprozessen wird die Populationsdynamik nur durch die Reproduktion bestimmt. Deshalb könnte die Einschränkung der Reproduktionsfähigkeit eine sinnvolle Alternative zu letalen Methoden sein, wenn das Populationswachstum von Schadnagern verringert werden soll.

Sterile Residente dürften die Immigration fertiler Einwanderer minimieren. Tierleid wird bei Zielart und nicht-Zielarten verhindert, da lediglich die Reproduktionsfähigkeit manipuliert wird. Damit stünde eine tierschutzgerechte, ethisch akzeptable und ökologisch vertretbare Methode bereit, die dazu beitragen kann, nachhaltiges Populationsmanagement von Schadnagern zu sichern.

Generell kommen zwei Optionen für die permanente Sterilisation bzw. reversible Kontrazeption von Schadnagern in Frage: 1. Immunkontrazeption über Vektoren, wie z. B. Viren und 2. ködovermittelte Sterilität mit reproduktionshemmenden Wirkstoffen oder immunkontrazeptiven Agenzien.

Bisher stehen keine Wirkstoffe zur Verfügung, die keine Nebenwirkungen haben, umweltfreundlich sind und von Nagern gerne gefressen werden. Immunkontrazeption, die bereits beim Management von Großsäugern erfolgreich angewendet wird, könnte aber vermutlich genutzt werden, um die Populationsgröße von Nagetieren zu regulieren. Die virusvermittelte Immunkontrazeption ist wegen unzureichender Immunreaktion beim Zielorganismus, geringer Infektionsfähigkeit der Trägerviren und wegen Sicherheitsbedenken problematisch. Jedoch sind immunkontrazeptive Impfstoffe verfügbar, mit denen essentielle reproduktionsphysiologische Prozesse verhindert werden können. Diese Agenzien müssten jedoch als Schluckimpfung aufbereitet werden, um großflächig und praktikabel die Reproduktion von Schadnagern zu blockieren.

In diesem Beitrag wird ein Überblick über Methoden gegeben, mit denen sich die Reproduktionsfähigkeit von Schadnagern hemmen lässt. Es wird eingeschätzt, welche Techniken besonders für das Populationsmanagement geeignet sind und in welchen Bereichen Forschungsbedarf besteht.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

### Entwicklung von Standards für die Prüfung von Säugetierfallen unter Tierschutzgesichtspunkten mit Schwerpunkt Bisam (*Ondatra zibethicus*)

Pia Jandewerth, Irit Mechler-Taabouz und Hans-Joachim Pelz

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Toppeideweg 88, 48161 Münster

Mit ca. 1 Mio. Individuen jährlich ist der Bisam (*Ondatra zibethicus*) das am häufigsten in Fallen gefangene Säugetier der EU. Gemäß der Vereinbarung über internationale tierschutzgerechte Fallenfangstandards, enthalten in der EU-Direktive 97/C 27/11 gelten Tötungsfallen als tierschutzgerecht, wenn mindestens 80 % der gefangenen Tiere innerhalb von 5 Min. nach Betreten der Falle tot bzw. bewusstlos sind. Die gängigste und gleichzeitig umstrittenste Methode Bisame zu bejagen ist das Ertränken mittels Ertränkungsfallen. Ziel dieses Projektes ist es daher, qualitative und quantitative Parameter zur Beurteilung des Ausmaßes von Schmerzen und Leiden während des Aufenthaltes in der Ertränkungs Falle zu erheben. Daher ist es von immenser Bedeutung den Zeitpunkt des Leidens, d. h. des einsetzenden Stresses, zu erfassen. In herkömmlichen Tötungsfallen, wie z. B. der Schlagfalle, beginnt der Stress direkt nach

dem Auslösen. Aufgrund der semiaquatischen Lebensweise des Bisams ist es jedoch unwahrscheinlich, dass Schmerzen und Leiden bereits beim Abtauchen in die Unterwasserfalle beginnen. Vor allem der Zeitpunkt des einsetzenden Leidens ist stark abhängig von der Bewältigungsstrategie jedes einzelnen Bisams.

Es wurden bereits zwei unterschiedliche Strategien während der Gefangenschaft unter Wasser beim Bisam beobachtet, die „calm“- und „struggle“-Strategie. Bisame, die die „calm“-Strategie zeigten, konnten bis zu 17 Minuten unter Wasser bleiben ohne Schäden davon zu tragen (ERRINGTON, 1963). Bisame, die jedoch unter Wasser sehr aktiv waren („struggle“-Strategie), starben innerhalb von 5 Minuten (GERSDORF, 1971).

Der Zeitpunkt und die Dauer des Auftretens von Schmerzen und Leiden wird mittels verhaltensbiologischer und physiologischer (EEG, EKG und Hormonwerte) Erfassungs- und Auswertungsmethoden an 10 Bisamen analysiert. Nach dem Ertränkungstod schließen sich post mortem Untersuchungen an, um gegebenenfalls Unterschiede zwischen den Bewältigungsstrategien zu erhalten. Anhand dieser Daten können im Freiland unterschiedliche Ertränkungsfallen und die damit eventuell verknüpften Bewältigungsstrategien getestet werden.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

### BCR resistance tests and field trials with bromadiolone on farms in Westphalia, Germany

Nicole Klemann<sup>1</sup> und Stefan Endepols<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Spillenweg 3, 48231 Warendorf

<sup>2</sup>Bayer CropScience, Alfred-Nobel-Str. 50, 40789 Monheim

This investigation is part of a research program funded and steered by the Rodenticide Resistance Action Committee (RRAC) of CropLife International to develop and proof methods, which are required to assess the degree of resistance and to draw conclusions for the effective control of populations containing resistant individuals. The aim was to determine whether the level of reduced susceptibility characterised by the INR-based blood clotting (BCR) resistance-test constitutes „practical resistance“.

The incidence of resistance to bromadiolone was assessed at 30 % with resistance factors at 10 and 15, for females and males, respectively in experiment 1. In experiments 2 and 3, incidence of resistance approached 100 % with resistance factors of 7 and 10, respectively, at the two sites. Control success after the subsequent treatments with bromadiolone-bait was 72 % in experiment 1, and zero and 20 % in the other two experiments.

With resistance factors of the Westphalia bromadiolone-resistant Norway rat at or higher than 7 and 10 for females and males respectively, and with a high incidence of resistance, no control was possible with common strength bromadiolone bait.

The INR-based BCR resistance test can provide useful data to predict the practical effect of reduced susceptibility or resistance to an anticoagulant. The test method should be recommended in resistance management and for further evaluation of additional compounds for assessing the degree of resistance.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## Increasing the safety of zinc phosphide rodent bait for non-target birds

Angela Leukers<sup>1</sup> und Jens Jacob<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Landschaftsökologie, Robert-Koch-Straße 26, 48149 Münster

<sup>2</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Toppheideweg 88, 48161 Münster

To minimise damage caused by common voles (*Microtus arvalis*) during population outbreaks coloured wheat kernels containing zinc phosphide are applied. However, wheat kernels are attractive forage for many birds species and most birds are highly susceptible to zinc phosphide poisoning (LD<sub>50</sub> of highly susceptible bird species: 8.8 mg zinc phosphide per kg body weight; LD<sub>50</sub> of common voles: 39 mg zinc phosphide per kg body weight). The aim of this study was to identify a bait formulation, which is less attractive to birds than wheat and equally attractive to target rodents as wheat kernels.

The attractiveness of poison-free wheat pellets of different colour and shape (red lentil-shaped pellets, blue lentil-shaped pellets, blue granules) was compared to wheat kernels for pigeons (*Columba livia*) and Japanese quails (*Coturnix japonica*) in aviaries. In addition, field trials were run to test the attractiveness of bait in a natural setting for pigeons and corvids (*Corvus monedula*, *Corvus corone*, *Pica pica*). The palatability of wheat pellets was tested with common voles (*Microtus arvalis*) in semi-natural enclosures.

In aviaries, birds strongly avoided alternative bait carriers (bait uptake 0.01-12 % of daily food intake). In contrast, birds consumed most bait formulations rapidly in the field. Only blue granules were much less preferred than wheat at low vegetative cover. However, when the trial was repeated at high vegetative cover, blue granules were eaten as rapidly as wheat kernels and completely removed after about 24 hours. Therefore, no pellet type was consistently avoided in the field. There, no bait formulation was avoided sufficiently to suppress the hypothetical uptake of zinc phosphide below the LD<sub>50</sub> for highly susceptible bird species. The depletion of pellets by common voles in the enclosures was slower than for wheat but voles consumed pellets and wheat in almost equal amounts within 12 h-periods. Wheat pellets seem to be a palatable bait carrier for the target species.

Further adjustments to alternative zinc phosphide bait carriers may improve safety of birds. These could include manipulation of colour and shape of bait carriers for minimising conspicuousness and background contrast of bait items for birds.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## Neue Erkenntnisse zur Verbreitung Antikoagulantien-resistenter Wanderratten in Deutschland und zum Auftreten von resistenzvermittelnden Mutationen weltweit

Hans-Joachim Pelz<sup>1</sup>, Simone Rost<sup>2</sup> und Clemens R. Müller-Reible<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Toppheideweg 88, 48161 Münster

<sup>2</sup>Institut für Humangenetik der Universität Würzburg, Biozentrum, Am Hubland, 97074 Würzburg

Verschiedene Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass das Enzym Vitamin-K-Epoxid-Reduktase-Complex 1 (VKORC1) das Zielprotein der Antikoagulantien ist. VKORC1, eine Schlüsselkomponente des Vitamin-K-Redox-Zyklus, reduziert Vitamin-K-Epoxid, wird aber durch Warfarin in seiner Funktion gehemmt. Dadurch werden wichtige Funktionen des Vitamin K Stoffwechsels, einschließlich der Vitamin K abhängigen

Synthese mehrerer Blutgerinnungsfaktoren, gestört. Durch Punktmutationen im Gen VKORC1, das für dieses Protein kodiert, kann die Funktionsfähigkeit der Blutgerinnung wieder hergestellt werden. Unsere Untersuchungen an Wanderratten und Hausmäusen sowie humangenetische Untersuchungen haben gezeigt, dass weltweit eine Vielzahl von Punktmutationen in allen drei Exons des Gens VKORC1 auftreten, die in den meisten der untersuchten Fälle dem betroffenen Individuum eine erhöhte Toleranz gegenüber Warfarin vermitteln. Von besonderer Bedeutung für die Vermittlung von Resistenzen sind offensichtlich Mutationen im Bereich der Aminosäurepositionen 120 bis 140. Sie sind die Grundlage für die Entwicklung von Resistenz auch gegenüber höher potenten Wirkstoffen der Antikoagulantien, wobei möglicherweise die Mitwirkung weiterer Gene erforderlich ist. Die resistenzvermittelnden Mutationen haben sich unter dem Bekämpfungsdruck ausgebreitet und konnten so für einzelne Resistenzgebiete bestimmend werden. In Deutschland und Dänemark ist Y139C die vorherrschende Mutation, in Belgien und Frankreich Y139F. In Großbritannien scheint Y139C, neben L120Q, L128Q und Y139S, eine sehr viel weitere Verbreitung zu haben, als bisher vermutet wurde.

In Deutschland wird die Resistenzausbreitung in einem Gemeinschaftsprojekt zwischen der Biologischen Bundesanstalt (jetzt Julius Kühn-Institut), dem Niedersächsischen Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, dem Institut für Hygiene und Umwelt, Hamburg und dem Deutschen Schädlingsbekämpferverband über die Analyse des Gens VKORC1 aus Kot- und Gewebeproben von Wanderratten untersucht. Die bisherigen Ergebnisse lassen erkennen, dass das Resistenzgebiet sich insbesondere nach Osten deutlich ausgeweitet hat.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## Neue Erkenntnisse zur Lebensweise der Schermäuse *Arvicola terrestris* und Ansätze zu ihrer Vergrämung mit physikalischen Mitteln.

Thorsten Menke<sup>1</sup>, Andreas Prokop<sup>2</sup> und Hans-Joachim Pelz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Toppheideweg 88, 48161 Münster

<sup>2</sup>Firma Neudorff GmbH KG, An der Mühle 3, 31860 Emmerthal

Eine vorliegende Diplomarbeit untersucht die Verhaltensweisen des terrestrischen Ethotypen von *Arvicola terrestris*. Dabei ist der Blick auf eine Präadaptation an ein semiaquatisches Leben gerichtet. Eine solche Arbeit fehlte bislang. Neben Schädelmessungen wurden mit fünf Wildfängen aus unterschiedlichen Regionen der Bundesrepublik Deutschland Verhaltensexperimente in einem sechs Meter langen Fließgewässerterrarium der Ethologie der Universität Osnabrück durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Tiere fähig sind, semiaquatisch zu leben. Sie schwimmen und tauchen. Er zeigt zudem die Fähigkeit des terrestrischen Ethotypen unter Wasser gelegene Nahrungsquellen effizient für sich zu nutzen. Aufzeichnungen mit einem digitalen Videosystem zeigen eindrucksvolle semiaquatische Verhaltensweisen.

In dem jetzt nachfolgenden aktuellen Projekt in der Biologischen Bundesanstalt (jetzt Julius Kühn-Institut) in Münster sollen nun die Verhaltensweisen der Schermäuse auf physikalische Vergrämungsmethoden untersucht werden. Wichtigste Parameter sind dabei Vibrationen im Boden, sowie bioakustische Ereignisse und deren Analyse in Gangsystemen. In einem experimentellen Laboraufbau werden dabei Vibrationen mit genau definierter Frequenz und Eingangssignalstärke erzeugt und mit Langzeitvideoaufzeichnungen die Reaktionen der Tiere auf diesen abiotischen Faktor ausgewertet. In einem weite-

ren Ansatz wird die Bioakustik der Schermäuse untersucht und mit schon vorliegenden Daten aus den siebziger Jahren verglichen. Hierbei sollen evtl. vorliegende Veränderungen aufgedeckt werden, sowie die intraspezifische und die interspezifische Kommunikation als Ansatz zur Vergrämung dienen. Dabei soll ein künstlich angelegter Schermausbau Aufschluss über die Weiterleitung von Schallereignissen in Bausystemen der Schermaus liefern. Die Ergebnisse dieser Arbeiten sollen die Entwicklung von technischen Geräten zur wirksamen und biologisch unbedenklichen Schermausvergrämung durch den Kooperationspartner in diesem Projekt, die Firma Neudorff GmbH KG, am Markt vorantreiben.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## Hantaviren in Deutschland - das Jahr 2007

**Rainer G. Ulrich**

Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger, Südufer 10, 17493 Greifswald - Insel Riems

Im Rahmen des Netzwerkes „Nagetier-übertragene Pathogene“ wurde begonnen, die geografische Verbreitung und Evolution von Hantaviren sowohl in Endemie- und Ausbruchsgebieten als auch in Gebieten mit wenigen gemeldeten humanen Infektionen (Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt) zu untersuchen.

In diesem Jahr (2007) sind bisher gemäß Infektionsschutzgesetz in Deutschland 1407 Hantavirus-Infektionen gemeldet worden. Davon stammten 971 aus Baden-Württemberg, 236 aus Bayern, 89 aus Nordrhein-Westfalen und 62 aus Niedersachsen (Robert Koch-Institut: SurvStat, <http://www3.rki.de/SurvStat>, Datenstand: 2.10. 2007). Bei Untersuchungen von Nagetieren aus Gebieten mit erhöhten Zahlen humaner PUUV-Infektionen in Bayern (Unterfranken), Baden-Württemberg (7 verschiedene Landkreise) und ländlichen Regionen in der Nähe von Münster und Osnabrück konnte in den jeweiligen Rötelmauspopulationen serologisch und molekularbiologisch eine hohe Puumalavirus (PUUV)-Durchseuchung festgestellt werden. Erste Ergebnisse des Rötelmaus-Monitorings in Niederbayern (2004-2005), Köln (2005-2007) und in einer ländlichen Region in der Nähe von Osnabrück (2005-2007) zeigten ein stabiles Vorkommen des PUUV. Weiterführende phylogenetische Analysen belegten die Zirkulation von genetisch distinkten PUUV-Stämmen in den verschiedenen geografischen Regionen.

Die Monitoringstudien sollen fortgesetzt und auf weitere Zoonoseerreger ausgedehnt werden. Weiterführende Untersuchungen sollen Zusammenhänge zwischen der Populationsentwicklung bei Nagetieren und der lokalen Ausbreitung und genetischen Veränderung von Hantaviren und anderen Nagetier-assoziierten Zoonoseerregern prüfen. Langfristig könnte das Netzwerk die Etablierung eines umfangreichen Monitorings von Nagetierpopulationen und Nagetier-assoziierten Zoonoseerregern ermöglichen, und somit einen Beitrag zur Risikobewertung und Minimierung der Infektionsgefährdung der Bevölkerung leisten.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## Wie teuer sind Wühlmausschäden im Obstbau?

**Bernd Walther<sup>1</sup>, Hans-Joachim Pelz<sup>2</sup>, Olaf Fülling<sup>3</sup> und Jean Malevez<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Landschaftsökologie, Robert-Koch-Straße 26, 48149 Münster, Deutschland

<sup>2</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Toppeideweg 88, 48161 Münster, Deutschland

<sup>3</sup>Universität Bern, Zoologisches Institut, Balzerstraße 6, CH-3012 Bern, Schweiz

<sup>4</sup>Topcat GmbH, 9, chemin des Grangettes, CH-1454 L Auberson VD, Schweiz

Durch das Benagen von Baumwurzeln verursachen Schermäuse (*Arvicola terrestris*) und Feldmäuse (*Microtus arvalis*) bedeutende Schäden im Obstbau. Von 280 Betrieben, die sich im Jahr 2002 an einer Umfrage beteiligten, waren 90 % von Wühlmausschäden betroffen. Besonders gefährdet waren Apfelbäume, bei denen auf 54 % der Anbaufläche Schäden auftraten. Zu den finanziellen Verlusten konnten 73 % der Betriebe keine Angaben machen. 27 % der Betriebe gaben Werte zwischen 30 bis 10 000 €/ha an. Bei einer Umfrage unter 19 Obstbauberatern im Jahr 2006 ergab sich ebenfalls ein uneinheitliches Bild. Nur 5 Obstbauberater machten Angaben, welche zwischen 53 bis 3750 €/ha lagen. Offensichtlich sind sich sowohl Betriebseigner als auch Berater bei der Bezifferung der finanziellen Verluste sehr unsicher. Deshalb wurde versucht, durch den Abgleich der Umfrageergebnisse mit Daten aus anderen Erhebungen und aus der Literatur die finanziellen Schäden genauer abzuschätzen. Als Grundlage für die Schätzung wurde der Wert eines Apfelbaumes aus den Kosten für eine Anlagenneupflanzung, die Anlagenpflege sowie aus den kalkulierten Ernteerträgen ermittelt (Datensammlung Ökologischer Obstbau 2005 und Datensammlung Obstbau 2002, KTBL e.V., Darmstadt). Dieser Wert liegt im Durchschnitt bei 98 €/Apfelbaum. Nach der Obstanbauerhebung 2002 (Statistisches Bundesamt, Wiesbaden, Fachserie 3, Reihe 3.1.4) stehen in den Anlagen der deutschen Erwerbsbetriebe 64,2 Mio. Apfelbäume auf 31 200 ha Fläche (2058 Apfelbäume/ha). Geht man auf Grundlage der eigenen Umfrageergebnisse davon aus, dass in den Schadflächen je Hektar zwischen 1 bis 10 % der Apfelbäume ausfallen, muss mit einem finanziellen Verlust zwischen 2000 bis 20 000 €/ha gerechnet werden. Unter der Annahme, dass etwa 50 % der gesamten Anbaufläche von Wühlmausschäden betroffen ist, beläuft sich der finanzielle Schaden für den deutschen Apfelanbau jährlich auf etwa 31,5 Mio. bis 315 Mio. €.

(DPG Arbeitskreis Wirbeltiere)

## AK WIRT-PARASIT-BEZIEHUNGEN, 15.03.2007

### ABHÄNGIGKEIT DER PATHOGENITÄT VON RAMULARIA COLLO-CYJNI VON DER ONTOGENESE DER WINTERGERSTE

Andres Schützendübel<sup>1</sup>, Martin Stadler<sup>1</sup>, Dörte Wallner<sup>1</sup>, Andreas von Tiedemann<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Georg-August-Universität, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Allgemeine Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Grisebachstrasse 6, 37077 Göttingen, Deutschland  
Contact: [aschuet1@gwdg.de](mailto:aschuet1@gwdg.de)

Im Gegensatz zu anderen nekrotrophen Blattpathogenen an der Gerste tritt der Pilz *Ramularia collo-cygni* erst sehr spät während der Ontogenese der Gerste in Erscheinung. Nach Auftreten der ersten Symptome verläuft die Krankheit allerdings häufig sehr dramatisch mit einer Nekrotisierung der gesamten Blattfläche. Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Verlauf der antioxidativen Schutzsysteme während der späten Phasen der Ontogenese und dem Verlauf der Krankheit besteht.

### UNTERSUCHUNG DES SEKRETOMES DES MAISPATHOGENEN PILZES COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA

Krijger, Jorrit-Jan<sup>1</sup>, Horbach, Ralf<sup>1</sup>, Deising, Holger B.<sup>1</sup>, Wirsal, Stefan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Abteilung Phytopathologie und Pflanzenschutz, Ludwig-Wucherer-Strasse 2, 06108 Halle, Deutschland  
Contact: [jorrit-jan.krijger@landw.uni-halle.de](mailto:jorrit-jan.krijger@landw.uni-halle.de)

Der phytopathogene Ascomycet *Colletotrichum graminicola* besitzt einen hemibiotrophen Lebenszyklus. Nach Keimung der Konidien und einer Appressorien-vermittelten Penetration wächst er für etwa 2 Tage biotroph, wobei innerhalb befallener Epidermiszellen des Wirtes *Zea mays* Infektionsvesikel und dicke Primärhyphen gebildet werden, die vermutlich analoge Funktionen zu den Haustorien der obligat biotrophen Pathogene haben. Während dieser Phase bleiben die betroffenen Wirtszellen am Leben und leiten keine erfolgreichen Abwehrreaktionen ein. Danach wechselt *C. graminicola* in die nekrotrophe Phase über, die sich durch schnell wachsende Sekundärhyphen auszeichnet, welche benachbarte Zellen durchwachsen und abtöten. Makroskopisch treten schließlich Anthraknose-Flecken auf, in denen sich Acervuli entwickeln.

Sowohl während der biotrophen, als auch während der nekrotrophen Phase spielen vom Pilz sekretierte Proteine eine wichtige Rolle für den Erfolg der Infektion. Während der nekrotrophen Phase sind sekretierte Hydrolasen wichtig für die Proliferation durch das Wirtsgewebe und den Aufschluß pflanzlicher Polymere. Während der biotrophen Phase sind sekretierte Proteine für das Gelingen der Infektion entscheidend, die die Abwehrmechanismen des Wirtes unterdrücken oder zu umgehen helfen. Um die Gene zu erfassen, die für sekretierte Proteine codieren, wurde die YSST-Methode (Yeast Secretion Signal Trap) angewendet, die einen Vektor benutzt, der ein am 5'-Ende verkürztes Invertasegen trägt. Dessen Fusion mit cDNAs, die ein Sekretionssignal und ein Startcodon im richtigen Kontext besitzen, bewirkt die Sekretion von Invertase, was dem für die Transformation verwendeten Hefestamm ein Anwachsen auf Saccharose erlaubt. cDNA-Fusionsbibliotheken, erzeugt aus RNA von *in vitro* gewachsenem Pilz und von infizierten Maisblättern zu unterschiedlichen Zeiten nach Inokulation, wurden gescreent und die gefundenen Gene mittels "genome walking"

sequenziert. Zeitliche Expressionsmuster und phänotypische Effekte auf Pathogenität und Virulenz von Deletionsmutanten sollen Aufschluss über ihre Funktion geben.

Danksagung:

Die vorgestellte Arbeit wird, im Rahmen des DFG Sonderforschungsbereichs 648 „Molekulare Mechanismen der Informationsverarbeitung in Pflanzen“, gefördert.

## **ANALYSE DER DURCH DEN WURZELENDOPHYTEN PIRIFORMOSPORA INDICA INDUZIERTEN SYSTEMISCHEN RESISTENZ**

Molitor, Alexandra<sup>1</sup>, Pfiffi, Stefanie<sup>1</sup>, Waller, Frank<sup>1</sup>, Kogel, Karl-Heinz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie, Interdisziplinäres Forschungszentrum für Umweltsicherung, Justus-Liebig-Universität Gießen, Heinrich-Buff Ring 26-32, 35392*

*Giessen*

*Contact: alexandra.molitor@agrار.uni-giessen.de*

Der Basidiomycet *Piriformospora indica* besiedelt die Wurzeln von Pflanzen verschiedener phylogenetischer Gruppen, unter anderem von Gerste (*Hordeum vulgare* L.) und *Arabidopsis thaliana*. In *Arabidopsis* konnte eine systemische Resistenzinduktion durch *P. indica* gegen *Golovinomyces orontii* beobachtet werden, die in diesem Fall auf einem Jasmonat-abhängigen ISR Mechanismus beruht. Durch *P. indica* besiedelte Gerstenpflanzen weisen neben einer erhöhten Resistenz gegen Mehltau (*Blumeria graminis* f. sp. hordei) auch eine erhöhte Wachstumsrate und eine Ertragssteigerung auf. Die der systemischen Resistenz in Gerste zugrundeliegenden molekularen Mechanismen werden zurzeit mit Hilfe von kombinierten Transkriptom- und Metabolomanalysen untersucht. Bei diesem Ansatz werden Genexpressionsmuster unter Einsatz des Affymetrix Barley-1 Gen Chips in Blättern von *P. indica* besiedelten und nicht besiedelten Pflanzen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Infektion mit *Blumeria graminis* miteinander verglichen. Das Ziel ist die Identifizierung von Genen mit regulatorischen Funktionen bei der Resistenzvermittlung gegenüber dem Blattpathogen sowie die Aufdeckung beteiligter Signalwege. Eine erste Analyse von Expressionsdaten zeigte in Gerstenblättern eine vergleichsweise geringe Anzahl *P. indica*-induzierter Gene. Die hier identifizierten Gene sind damit möglicherweise am systemischen Resistenzmechanismus beteiligt. Ihre genaue Rolle muss nun über funktionale Wirkungsstudien ermittelt werden.

Induzierte Resistenz, Gerste, Mehltau, Wurzelendophyt, Getreide, Affymetrix

## 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 Phytomedicine Society (Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e. V.) was held on March 15–16, 2007 at Halle (Saale). The meeting was hosted and perfectly organized by Professor Dr. Holger Deising and his group at the Martin-Luther-University. As for years, the meeting was organized as a joint workshop with the Working Group ‘Mycology’ in a joint and two separate sessions. In the host-parasite session, 38 senior and junior scientists attended the meeting presenting 33 lectures and one poster. They covered diverse topics, such as fungal spore germination, smut biology, antimicrobial peptides from insects and plants, multidrug resistance, nonhost and induced resistance, etc.

The next joint meeting of the Working Groups ‘Host-Parasite Interactions’ and ‘Mycology’ will be held in Bonn from March 13–14, 2008.

Professor Dr. Uwe Conrath

### A rhomboid-like protein from the barley pathogen *Rhynchosporium secalis*

Claudia Mönchmeier<sup>1</sup>, Wolfgang Knogge<sup>1</sup>

- 1 Institut für Pflanzenbiochemie, Abteilung Stress- und Entwicklungsbiologie, Weinberg 3, 06120 Halle, Germany, wknogge@ipb-halle.de

Insertion mutagenesis of *Rhynchosporium secalis* led to the identification of a gene encoding a protein with amino acid sequence similarity to the intramembrane protease rhomboid from *Drosophila melanogaster* and to rhomboid-like proteins from several other organisms. Functional characterization of this gene including the analysis of a targeted gene disruption mutant is in progress. The final goal is to unravel the role of regulated intramembrane proteolysis during fungal development and/or pathogenesis.

### Investigations on resistance mechanisms of tomato genotypes against bacterial wilt disease: a proteomics approach

Diwakar Dahal<sup>1</sup>, Hans-Peter Braun<sup>2</sup>, Kerstin Wydra<sup>3</sup>

- 1 Institute of Plant Diseases and Plant Protection, Leibniz University of Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Germany, dahal@ipp.uni-hannover.de
- 2 Institute of Plant Genetics, Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover
- 3 Institute of Plant Disease and Plant Protection, Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Germany

Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* is one of the most devastating bacterial plant diseases worldwide. It causes huge losses of tomato production especially in lowland and highland tropics and subtropics. Among several, often ineffective control measures, use of resistant cultivars still remains the key strategy. However, resistance mechanism on biochemical and molecular level in tomato are still largely unknown. Therefore, a comparative proteomic approach was carried out to identify and compare expressed proteins in two tomato (*Lycopersicon esculentum*) genotypes belonging to recombinant inbred lines (RILs): NHG 13, resistant to bacterial wilt;

NHG 3, susceptible. Proteins differentially expressed in response to the infection with *R. solanacearum* were identified in both genotypes. About 560 protein spots were detected on a gel generated by high-resolution two-dimensional (2D) SDS gel electrophoresis with an immobilized pH gradient. Twenty-one differentially regulated proteins including pathogen proteins were identified in the susceptible genotype after pathogen infection, while such differences were not observed in the resistant genotype. Sixteen protein spots were identified by LC-MSMS QTOF (tandem mass spectrometry). Among them, nine proteins are *R. solanacearum* proteins. Two proteins were identified as pathogenesis-related (PR) proteins, one as heat shock protein, one encoded a transcription factor and some belong to the carbohydrate metabolism.

### First results of gene expression profiling of silicon-induced resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*

Hassan Ghareeb<sup>1</sup>, Frank Stahl<sup>2</sup>, Zoltan Boszo<sup>3</sup>, Peter Ott<sup>3</sup>, Kerstin Wydra<sup>1</sup>

- 1 Institute of Plant Diseases and Plant Protection, Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Germany, wydra@ipp.uni-hannover.de
- 2 Institute of Technical Chemistry, Leibniz Universität Hannover, Callinstr. 3, 31167 Hannover
- 3 Department of Plant Pathology, Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Science, Budapest, Hungary

Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* is one of the most destructive diseases causing considerable losses in the tomato production as well as in some other important crops. Recently, silicon (Si) amendment was shown to significantly reduce bacterial wilt incidence in tomato, a Si-non-accumulator plant, and to enhance host defense mechanisms. Nevertheless, the molecular mechanisms underlying these phenomena are not yet unravelled. Therefore, a quantitative real-time PCR (QRT-PCR) was carried out to measure the timing and level of expression of some defense-related genes. The results revealed the occurrence of some promising key proteins in Si-induced resistance and showed that the expression of most genes was influenced at 3 days post inoculation (3 dpi). A high-throughput analysis of silicon-induced gene expression changes at 3 dpi was performed by using microarrays. Up- and down-regulated genes ( $-1 \geq \log_2 \text{ratio} \geq 1$ ) are presented in an expression map and related to particular metabolic pathways.

### The role of 4-phosphopantetheinyl transferase in secondary metabolism and pathogenicity of the maize pathogen *Colletotrichum graminicola*

Ralf Horbach<sup>1</sup>, Alexander Graf<sup>2</sup>, Eckhard Thines<sup>3</sup>, Holger B. Deising<sup>1</sup>

- 1 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Ludwig-Wucherer-Straße 2, 06108 Halle/Saale, Germany
- 2 Sainsbury Laboratory, Norwich, UK
- 3 IBWF, Kaiserslautern, Germany, thines@rhrk.uni-kl.de

The ascomycete *Colletotrichum graminicola* (teleomorph: *Glomerella graminicola*) is the causal agent of leaf anthra-

cnose and stem rot of maize. Epidemic spreads in the 1970 s caused substantial economic damage throughout the corn growing areas of Midwest USA, while in Germany only local and less dramatic appearance of corn anthracnose has been observed.

Regulatory enzymes of the secondary metabolism play a crucial role in virulence or pathogenicity of most phytopathogenic fungi. 4'-phosphopantetheinyltransferase (PPTase) is of central importance to both primary and secondary metabolism as it activates enzymes of fatty acid and lysine biosynthesis. Moreover, the activation of polyketide synthases (PKS) and non-ribosomal peptide synthetases (NRPSs) triggers the production of functionally and structurally diverse secondary compounds such as melanin, toxins, siderophores and antibiotics. These substances enable phytopathogenic fungi to generate turgor pressure required for penetration of the host epidermis, kill host cells, mobilize nutrients within the host, or to impair competitors in their environment.

According to their outstanding role in pathogenesis PPTase, PKSs and NRPSs are excellent targets for new fungicides. The *Colletotrichum graminicola* 4'-phosphopantetheinyltransferase gene (*CgPPT1*) could be isolated by means of a *Saccharomyces cerevisiae lys5* mutant complementation approach. The *CgPPT1* gene was functionally characterised by targeted mutagenesis. As expected, the mutants were unable to grow saprophytically in the absence of lysine and iron. Mutants were melanin-deficient and leaf segment assays suggested that they were non-pathogenic.

#### RAC Proteins operate in epidermis development and response to pathogens in barley and tobacco

Indira Priyadarshini<sup>1</sup>, Goetz Hensel<sup>2</sup>, Jochen Kumlehn<sup>2</sup>, Jafargholi Imani<sup>3</sup>, Ralph Hueckelhoven<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Lehrstuhl für Phytopathologie, Technische Universität München, 85350 Freising, Germany, hueckelhoven@wzw.tum.de

<sup>2</sup> Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, 06466 Gatersleben, Germany

<sup>3</sup> Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie, Justus-Liebig-Universität Gießen, D-35392 Gießen, Germany

Small G proteins of the RAC/ROP family modulate background susceptibility of barley to *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (*Bgh*) (1,2,3). We have expressed different constitutively activated mutants of ROP proteins in barley and tobacco, to get insight into physiological functions and mechanisms of disease susceptibility. Transgenic plants show organ expansion defects and cell expansion effects. Additionally, plants have enhanced susceptibility to powdery mildew and are influenced in hypersensitive reaction. Together data support the view that ROP GTPases are involved in plant development and defense and that ROPs malfunction during pathogenesis of *Bgh*.

(1) Schultheiss et al. (2002), *Plant Physiol.* 128, 1447-1454.

(2) Schultheiss et al. (2003), *Plant J.* 36, 589-601.

(3) Opalski et al. (2005), *Plant J.* 41, 291-303.

#### New insights into the mechanisms underlying systemic acquired resistance

Jürgen Zeier, Thomas Griebel, Martina Geuecke, Tatiana Mishina

University of Würzburg, Julius-von-Sachs-Institute of Biological Sciences, Julius-von-Sachs-Platz 3, 97082 Würzburg, Germany, zeier@botanik.uni-wuerzburg.de

Plant defence responses are initiated not only locally at the site of pathogen challenge but also in tissue distant from the site of primary infection. This systemic acquired resistance (SAR) response is dependent on the salicylic acid signaling pathway and confers broad-spectrum resistance to subsequent pathogen infection.

We are currently studying the environmental and developmental plasticity of SAR establishment in the *Arabidopsis-Pseudomonas syringae* interaction. We found that the initiation of SAR represents a light-dependent process, and that the mechanisms to realise SAR differ in variable light environments (1). Moreover, leaf age influences the capability and the molecular means to initiate and execute systemic resistance (2). We are furthermore attempting to identify unknown molecular components essential for the realization of SAR. As lipid metabolism turns out to play a central role in SAR signaling, we are currently investigating the SAR response in different *Arabidopsis* lipid mutants. Moreover, after selecting candidate genes putatively involved in plant defence and characterizing the corresponding *Arabidopsis* knock-out mutants, we have identified a flavin-dependent monooxygenase as an essential component of biologically induced SAR in *Arabidopsis* (3). An *Arabidopsis* knockout line of *FMO1* proved to be fully impaired in the establishment of SAR triggered by avirulent or virulent bacteria. Loss of SAR in the *fmo1* mutants was accompanied by the inability to initiate systemic accumulation of salicylic acid and systemic expression of diverse defense-related genes. In contrast, responses at the site of pathogen attack, including increases in the levels of the defense signals salicylic acid and jasmonic acid, camalexin accumulation, and expression of various defense genes, were induced in a similar manner in both *fmo1* mutant and wild-type plants. *FMO1* expression is systemically induced upon localized *P. syringae* infection. This systemic up-regulation is missing in SAR-defective mutants, indicating a close correlation between systemic *FMO1* expression and SAR establishment. Based on these findings, we have proposed the existence of a feedback loop in which *FMO1*, reactive oxygen species, salicylic acid and the defense regulators NPR1 and NDR1 participate to amplify incoming signals and thus realize defense responses at the systemic level. In future experiments, we aim to experimentally clarify the function of *FMO1* during SAR at the biochemical level.

(1) Zeier, J., Pink, B., Mueller, M.J., Berger, S. (2004), *Planta* 219, 673-683.

(2) Zeier, J. (2005), *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 66, 30-39.

(3) Mishina, T.E., Zeier, J. (2006), *Plant Physiol.* 141, 1666-1675.

#### Role of lignin in the pathogen defense

Clarissa Masur<sup>1</sup>, Lise Jouanin<sup>2</sup>, Nikolaus Schlaich<sup>1</sup>

<sup>1</sup> RWTH Aachen, Institut für Biologie III, Worringerweg 1, 52074 Aachen, Germany, masur@bio3.rwth-aachen.de

<sup>2</sup> Biologie Cellulaire, IJPB, 780126 Versailles cedex, France

Lignin is the second most abundant terrestrial polymer and can be found in cell walls, where it is responsible for the structural integrity and might play a role in the protection against pathogens. Lignin is an important factor in the paper pulp and the fodder industries, because it influences the digestibility of fodder plants and the amount of chemicals needed for making paper pulp. That is why plants with modifications in the lignin content and composition are of high interest for these industries. We performed a systematic approach to see whether the deregulation of monolignol-biosynthesis enzymes have effects on the response to attacks by various pathogens. Specifically, we analysed the response of various mutants to *Alternaria brassicicola* and an avirulent and a virulent strain of



*Pseudomonas syringae*. Due to contradictory results of our initial analyses and data from the literature, we focused our further research interests on the analysis of the CCR genes. *Arabidopsis thaliana* has 2 CCR genes, CCR1 and CCR2. We showed that CCR genes can be induced in leaves after pathogen attack. Apparently there is cross talk between the two genes. Moreover, CCR genes show highly specific expression in various flower organs.

#### Diverse signalling pathways and hydrophobic surface contact perception control germination and infection in *Botrytis cinerea*

Michaela Leroch, Gunther Doehlemann, Andreas Böhm, Janine Diwo, Andreas Mosbach, Matthias Hahn

TU Kaiserslautern, Fachbereich Biologie, Abteilung Phytopathologie, Erwin-Schrödingerstraße 22, 67663 Kaiserslautern, Germany, mleroch@rhrk.uni-kl.de

Germination of *Botrytis cinerea* conidia can be induced by several chemical and physical stimuli. Analysis of mutants defective in the G $\alpha$ 3 subunit of the heterotrimeric G protein and in the MAP kinase cascade Bst11-Bst7-BMP1 revealed at least two signalling pathways that control germination. While the G $\alpha$ 3 subunit controls, in a cAMP dependent fashion, germination on hydrophilic surfaces (e.g. glass) in the presence of limited amounts of a carbon source, the Bst11-Bst7-BMP1-mutants showed that this MAP kinase cascade is partly involved in carbon source sensing but essential both for germination induced by hydrophobic surface contact (e.g. polypropylene), and for penetration of the host surface. Furthermore we found that hydrophobic surfaces bind conidia stronger than hydrophilic surfaces. To study whether a reduction in conidial surface hydrophobicity affects the response of conidia to hydrophobic contact-induced germination, we have generated mutants defective in each of the three hydrophobins of *B. cinerea* (two class II, one class I hydrophobin). While the class I hydrophobin mutant showed no phenotype, the two class II hydrophobins showed a reduction of the penetration into onion epidermal cells but no germination defects. Currently, we are trying to generate double and triple hydrophobin knockout mutants to analyse the effects of a hydrophobic surface on germination and infection in *B. cinerea*.

#### Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*

Tatiana Mishina, Jürgen Zeier

University of Würzburg, Julius-von-Sachs-Institute of Biological Sciences, Julius-von-Sachs-Platz 3, 97082 Würzburg, Germany, zeier@botanik.uni-wuerzburg.de

Systemic acquired resistance (SAR) is described as a phenomenon whereby localized inoculation with a necrotizing pathogen renders a plant more resistant to subsequent pathogen infection. Here we show that *Pseudomonas syringae* strains for which *Arabidopsis thaliana* represents a non-host plant systemically elevate resistance although the underlying interactions do neither trigger a hypersensitive response nor cause necrotic disease symptoms. A similar enhancement of systemic resistance was observed when elicitor-active preparations of two typical bacterial pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), flagellin and lipopolysaccharides (LPS), were applied in a localized manner. Several lines of evidence indicate that the observed systemic resistance responses are identical to SAR. Localized applications of non-adapted bacteria, flagellin or LPS not only elevate levels of the SAR regulatory metab-

olite salicylic acid (SA) and pathogenesis-related (PR) gene expression in treated but also in distant leaves. All treatments also systemically increase expression of the SAR marker gene *FLAVIN-DEPENDENT MONOOXYGENASE 1*. Further, a whole set of SAR-deficient *Arabidopsis* lines including mutants in SA biosynthesis and signalling, are impaired in establishing the systemic resistance response triggered by non-host bacteria or PAMPs. We also show that the magnitude of defense reactions like SA accumulation, PR gene expression or camalexin accumulation induced at sites of virulent or avirulent *P. syringae* inoculation but not the amount of tissue necroses during these interactions determines the extent of SAR in distant leaves. Our data indicate that PAMPs significantly contribute to SAR initiation in *Arabidopsis*, and that tissue necroses at inoculation sites are dispensable for SAR activation.

Mishina, T.E., Zeier, J. (2007): Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. Plant J., in press.

#### Identification and characterization of secreted and pathogenesis-related proteins in *Ustilago maydis*

Olaf Müller<sup>1</sup>, Regine Kahmann<sup>1</sup>, Peter H. Schreier<sup>2</sup>, Joachim F. Uhrig<sup>3</sup>

- 1 Max-Planck-Institut for Terrestrial Microbiology, Organismic Interactions, Karl-von-Frisch-Strasse, 35043 Marburg, Germany, muol@staff.uni-marburg.de
- 2 Bayer Cropscience, Alfred Nobel Str. 50, 40789 Monheim, Germany
- 3 University of Cologne, Gyrhofstr. 15, 50931 Köln, Germany

Interactions between plants and fungal pathogens require a complex interplay at the plant-fungus interface. Extracellular effector proteins are thought to play a crucial role in establishing a successful infection. To identify pathogenesis-related proteins in *Ustilago maydis* we combined the isolation of secreted proteins using a signal sequence trap approach with bioinformatic analyses and the subsequent analysis of deletion mutants. We identified proteins including hydrophobins, and several proteins with a repetitive structure similar to the repellent protein Rep1. Rph1, a bi-functional protein containing a hydrophobin domain and a repetitive Rep1-like region is shown to be processed during passage through the secretory pathway. While single deletion mutants of either the hydrophobin gene or the repellent-like genes did not affect pathogenicity, we found a strong effect of a double knockout of *rph1* and the repetitive gene *rsp1*. Yeast-like growth, mating, aerial hyphae formation and surface hydrophobicity were unaffected in this double mutant. However, pathogenic development in planta stops at the level of appressorium formation leading to a complete loss of pathogenicity. This indicates that Rph1 and Rsp1 are pathogenicity proteins with an essential function in early stages of the infection. Our results demonstrate that focussing on secreted proteins is a promising way to discover novel pathogenicity proteins. The signal sequence trap approach is attractive for such studies as it can be broadly applied to a variety of fungal pathogens, without prior knowledge of the genome sequence.

#### Establishment of compatibility of *Colletotrichum graminicola* on maize: tagging genes by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation

Steffen Münch, Nancy Eichler, Holger B. Deising

Martin-Luther-University, Phytopathology and Plant Protection, Ludwig-Wucherer-Str. 2, 06108 Halle, Germany, steffen.muench@landw.uni-halle.de

*Colletotrichum graminicola* is the causal agent of maize anthracnose. In a compatible interaction, this hemibiotrophic fungus establishes a biotrophic, followed by a necrotrophic interaction. Our aim is to identify genes that mediate compatibility with its host. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation allowed the introduction of non-targeted mutations in the genome of the fungus. Among all transformants, we identified 19 mutants which show a reduced virulence or even a complete-loss-of-pathogenicity phenotype on maize. First microscopic data provide information about the stage where the infection process is blocked. We identified mutants with impairment in germination competence on the plant surface, in competence of forming functional appressoria, in penetration competence and with impairment in pathogenic development in the plant after penetration. The putative compatibility genes of *C. graminicola* will be identified and functionally characterized by targeted knockout mutagenesis.

### Resistance to phytopathogenic fungi through antimicrobial peptides from insects

Mohammad Rahnamaeian, Boran Altincicek<sup>1</sup>, Jafargholi Imani<sup>1</sup>, Karl-Heinz Kogel<sup>1</sup>, Gregor Langen<sup>1</sup>, Elke Stein<sup>1</sup>, Andreas Vilcinskis<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Centre for BioSystems, Land Use and Nutrition, Institute of Phytopathology and Applied Zoology, Justus Liebig University, D-35392 Giessen, Germany, mohammad.rahnamaeian@agr.uni-giessen.de

Fungal pathogens are major effectual causes of plant diseases and accountable for severe financial losses globally. Insect antimicrobial peptides have been brought up as transgenes into an array of plant genera to improve host resistance to pathogens to which they do not originally show resistance. Recently, we have shown that transgenic expression of gallerimycin, a novel antifungal peptide from lepidopteran *Galleria mellonella*, conferred resistance against fungal diseases on tobacco. As well, metchnikowin, another antimicrobial peptide isolated from *Drosophila melanogaster*, has shown antifungal and sporadically antibacterial activities, in vitro. The prospect of its use headed for improvement of cereal resistance against pathogenic fungi was investigated in barley through an *Agrobacterium*-mediated transformation approach. The transgene expression was driven by wound/pathogen-inducible mannopine synthase (mas) promoter as well as constitutive CaMV 35S. Transgenic lines showed an enhanced resistance up to 60% to *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, the barley powdery mildew biotrophic fungus, compared with wild type. Work to elucidate the metchnikowin mode of action and the likely synergistic function of metchnikowin and gallerimycin is under progress.

### Conservation of secreted virulence factors in smut fungi

Jan Schirawski<sup>1</sup>, Thomas Brefort<sup>1</sup>, Kerstin Schipper<sup>1</sup>, Karin Münch<sup>1</sup>, Julia Schöning<sup>1</sup>, Gertrud Mannhaupt<sup>2</sup>, Regine Kahmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Karl-von-Frisch Str., 35043 Marburg, Germany, schiraws@mpi-marburg.mpg.de  
<sup>2</sup> Munich Information Center for Protein Sequences, Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg, Germany

The two related smut fungi *Sporisorium reilianum* and *Ustilago maydis* both parasitize the same host plant, *Zea mays*. While the initial phase of infection is similar in both pathosystems, progression of the respective diseases is different.

After penetration *U. maydis* ramifies locally within the plant tissue and leads to the induction of tumors, in which spore development takes place. *S. reilianum*, however, grows towards the meristem of the plant and produces spores only in the inflorescence without prior induction of tumours. We want to identify the molecular differences underlying proliferation specificity and tumour induction capacity of the two related smut fungi.

Since fungal development differs only after cuticle penetration when the fungus is in close contact with the plant, we investigated the possible involvement of secreted fungal proteins in proliferation specificity. In *U. maydis*, a significant percentage of secreted protein encoding genes is organized in clusters of three or more genes. The analysis of mutants carrying large deletions in individual clusters revealed that six of these clusters encode virulence factors (Kämper et al. 2006).

To aid a direct comparison, the genome of *S. reilianum* was sequenced. Preliminary genome analysis indicates that all gene clusters have homologous clusters in *S. reilianum*. However, the clustered genes encoding secreted proteins are significantly more divergent than neighbouring genes encoding non-secreted proteins. This indicates that these genes are under diversifying selection. Scanning genomes for regions with high diversity may present a new approach for the identification of virulence factors.

Kämper, J., Kahmann, R., Bölker, M., et al. (2006): Insights from the genome of the biotrophic fungal plant pathogen *Ustilago maydis*. Nature 444, 97-101.

### Isoenzyme-specific inhibition of *Ralstonia solanacearum* PGases by PGIPs from tomato

Tanja Schacht<sup>1</sup>, Christoph Unger<sup>2</sup>, Kerstin Wydra<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Plant Disease and Plant Protection, Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str 2, 30419 Hannover, Germany, wydra@ipp.uni-hannover.de  
<sup>2</sup> Institute for Land Use – Crop Health, University of Rostock, Satower Str. 48, 18059 Rostock, Germany

The polygalacturonases (PGases) of *Ralstonia solanacearum* extracted from a virulent strain (wild type) and an avirulent mutant were separated by hydrophobic-interaction chromatography (HIC) and their activity profiles compared. The cleavage mechanisms of the single isozymes were determined by fluorophor-assisted carbohydrate-polyacrylamide gelelectrophoresis (FACE-PAGE). Two PGases, one endopolygalacturonase (isozyme I) and one exopolygalacturonase (isozyme II) were separated from both strains and a highly increased activity of endopolygalacturonase in the avirulent strain compared to the wild type was detected. Addition of each polygalacturonate and tomato tissue to the culture medium led to an increased polygalacturonase activity for both strains. Tomato tissue mainly stimulated isozyme II in both strains. The third polygalacturonase of *R. solanacearum* could so far not be detected as actively produced enzyme. The inhibitory activity of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIP) of plant extracts from tomato genotype King Kong 2, healthy and inoculated with *R. solanacearum* as well as with and without silicon treatment were examined. All plant extracts exhibited inhibitory activity towards *R. solanacearum* polygalacturonase isoenzymes.

### Investigating nonhost resistance in barley against isolates of the genus *Magnaporthe*

Nina Zellerhoff<sup>1</sup>, Patrick Schweizer<sup>2</sup>, Pedro W. Crous<sup>3</sup>, Johannes Z. Groenewald<sup>3</sup>, Ulrich Schaffrath<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> RWTH Aachen University, Department of Plant Physiology, Worringer Weg 1, 52056 Aachen, Germany, zellerhoff@bio3.rwth-aachen.de
- <sup>2</sup> Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Corrensstraße 3, 06466 Gatersleben, Germany
- <sup>3</sup> Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Center, Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, The Netherlands

The fungus *Magnaporthe oryzae* is the causal agent of the devastating “rice blast” disease and capable to infect other monocotyledonous plants, including barley. We had set on a screen testing for the ability of several isolates of the genus *Magnaporthe* derived from different host plants to infect barley. Thus, isolates collected from the hosts rice, wheat, maize and the crabgrass *Eleusine*, respectively, showed a typical host interaction whereas isolates from *Digitaria* und *Pennisetum* caused a nonhost type of resistance on barley. Subsequent phylogenetic analysis revealed at least one new species within the genus *Magnaporthe* that was isolated from its host plant *Pennisetum* which could be undoubtedly discriminated from *Magnaporthe oryzae*.

Microscopic analysis of the nonhost interaction of barley with *Magnaporthe* isolates derived from *Pennisetum* showed that penetration was stopped by formation of effective papillae and/or a hypersensitive response of attacked epidermal cells. Fungal growth occurred rarely in the mesophyll indicating the highly effective defense of primarily attacked epidermal tissue. These results highlighted the importance of the shoot epidermis for the nonhost resistance reaction in barley against certain isolates of the genus *Magnaporthe*.

In the present study we focussed on a molecular and biochemical characterisation of the epidermal defense of barley against nonhost isolates of the fungus *Magnaporthe*. Therefore epidermal peels were harvested at different timepoints after inoculation with either host or nonhost pathogens and subjected to a transcriptome analysis using cDNA macroarrays. Preliminary results concerning expression levels of genes up- or down-regulated during both interactions will be presented. Moreover pharmacological studies were conducted using single applications or combinations of inhibitors each of which affected different elements of the cellular defence arsenal. Finally, this stepwise reduction of the defense machinery should highlight the relevance of targeted elements for nonhost resistance.