

Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft

# Zusammenfassungen der Arbeitskreisbeiträge



2011

## 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

|  |     |
|--|-----|
| DPG Symposium Plant Protection and Plant Health in Europe 2011 ..... | 1   |
| AK Herbologie .....  | 6   |
| AK Mykologie.....  | 10  |
| AK Nematologie .....   | 21  |
| AK Nutzarthropoden und Entomopathogene Nematoden .....               | 39  |
| AK Pflanzenschutztechnik .....                                       | 51  |
| AK Phytobakteriologie.....   | 59  |
| AK Phytomedizin in Ackerbau und Grünland                             |     |
| PG Schädlinge in Getreide und Mais .....                             | 65  |
| PG Krankheiten an Getreide .....                                     | 68  |
| AK Phytomedizin in Gartenbau und Forst                               |     |
| PG Heil-, Duft- und Gewürzpflanzen .....                             | 72  |
| PG Mikrobielle Symbiosen .....                                       | 77  |
| AK Phytomedizin in den Tropen und Subtropen .....                    | 81  |
| AK Populationsdynamik und Epidemiologie.....                         | 113 |
| AK Viruskrankheiten der Pflanze .....                                | 121 |
| AK Vorratsschutz.....  | 149 |
| AK Wirbeltiere.....  | 158 |
| AK Wirt-Parasit-Beziehungen .....                                    | 163 |
| AK Biometrie und Versuchsmethodik .....                              | 180 |

## **PLANT PROTECTION AND PLANT HEALTH IN EUROPE 2011: Crop and sector-specific guidelines on integrated plant protection**

19.-21.5. 2011, Berlin

### **PRACTICING PLANT PATHOLOGY: RATIONALE AND ETHICS**

Srivastava M P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Haryana Agricultural University, F-44 Tulip Garden, Sushant Lok-II, Gurgaon-122011, India*

*Contact: mpsrivastava28@gmail.com*

Widespread occurrence of plant diseases worldwide and the magnitude of losses caused by them have necessitated the need of plant pathology practitioners to assist the growers in mitigating unprecedented losses in crop productivity. Though diagnostic and advisory services are available in several countries yet many growers prefer to avail such services if plant pathology practitioners are in their vicinity and would not mind paying the consultation fee if their problem is promptly attended. The experience of growers has not been very encouraging in getting timely diagnosis and advisory support from government owned plant clinics.

While practicing plant pathology offers self employment to the professionals, their existence may be at stake if they fail to offer desired services to growers and may often may be in trouble due to wrong diagnosis and advisory. The professionals need to be conversant with symptomatology of various ailments and possess competence to suggest suitable prescription not laying sole reliance on pesticides but biological and other means too. They are also required to possess sound knowledge of fungicides, their availability in the region, doses, guidelines for preventing resistance development and compatibility with other pesticides. Even they have to be conversant with insect problem, chemical and environmental injury as sometimes plant diseases may get associated with such problems.

The universities may consider devising specialized programs as is being followed in some US universities, or alternatively a sort term program on diagnostics and advisory. Professional societies of the concerned countries may register themselves as plant Pathology practitioners and their registration may be extended after expiry of the term through testing their knowledge

### **WHAT DO WE KNOW ABOUT CROP ROTATIONS IN CURRENT ARABLE FARMING?**

Steinmann, Horst-Henning<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Centre for Agriculture and the Environment, University of Goettingen, Goettingen*

*Contact: hsteinm@gwdg.de*

The EU directive 2009/128/EG was launched to establish a “Framework for Community Action to achieve the Sustainable Use of Pesticides”. According to this directive crop rotation is a crucial issue in achieving aims of integrated plant protection in arable farming. In annex III, crop rotations are mentioned on a first place, underlining fundamental importance. Obviously, crop rotations are various in space and time and regional conditions often require specific rotations. However, statistical data shows an overall trend to simplify rotations over time, since many crops are decreasing in abundance whereas some crops are increasing in their area. During the last ten years maize, winter-wheat, and oilseed rape had a strong increase in their land share.



Knowledge on real rotations is limited due to lack of systematic studies. Also recent land use changes due to market prices and policy incentives hamper analyses. Here, in a recent study an attempt was undertaken, to visualise crop rotation patterns in Northern Germany.

## **ENTOMOPATHOGENIC MICROORGANISMS AND THEIR SYNERGISTS AS ALTERNATIVE OF CHEMICAL INSECTICIDES IN THE MANAGEMENT OF THE COLORADO POTATO BEETLE POPULATIONS**

Kryukov Vadim<sup>1</sup>, Dubovskiy Ivan<sup>1</sup>, Yaroslavtseva Olga<sup>1</sup>, Surina Elena<sup>2</sup>, Benkovskaya Galina<sup>2</sup>, Polovinka Marina<sup>3</sup>, Salakhutdinov Nariman<sup>3</sup>, Glupov Viktor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Systematic and Ecology of Animals SB RAS, Frunze Street 11, Novosibirsk, 630091, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Biochemistry and Genetics USC RAS, Pr., Oktyabrya, 71, Ufa, 450054, Russia*

<sup>3</sup>*Vorozhtsov Institute of Organic Chemistry SB RAS, pr. Akademika Lavrenteva 9, Novosibirsk, 630090, Russia*

Contact: [krukoff@mail.ru](mailto:krukoff@mail.ru)

The new laws were adopted that restrict the use of certain pesticides in the EU. This means that the need to develop alternative insect control strategies has become more urgent. Entomopathogens are an obvious choice, but crucial to their success will be the reassurance that insects will not rapidly evolve resistance mechanisms in the field and the preparations from the entomopathogens will have high biological activity.

Some preparations against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* was revealed on the basis of entomopathogenic fungi (isolates of *Beauveria*, *Metarhizium*), strains of the bacteria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) and certain chemical compounds. Particularly it was found, that sublethal doses of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*, chemical modifications of usnic acid, organophosphorus insecticides in doses 100-1000 times lower from recommended lead to significant increase of the susceptibility of the larvae to entomopathogenic fungi (Kryukov et al., 2009; Dubovskiy et al., 2010). Physiological and immunological parameters of the insects under combined treatment was studied and the reasons of synergistic action of microbial and insecticidal components was found (Dubovskiy et al., 2010; 2011). Experimental complex of preparations (*Metarhizium anisopliae* and *Bt tenebrionis*, *Beauveria bassiana* and modified usnic acid) was highly efficient in the field experiments in West Siberia and Kazakhstan regions (80-90% mortality, no plant defoliation). The registration and production of these preparations can substantially reduce the application of chemical insecticides.

## **EFFECT OF JASMONIC ACID APPLICATION ON ECONOMICALLY INSECT PESTS AND YIELD IN SPRING WHEAT**

El-Wakeil, Nabil<sup>1</sup>, Volkmar, Christa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Agric. & Nutritional Sciences, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Germany*

Contact: [nabil.el-wakeil@landw.uni-halle.de](mailto:nabil.el-wakeil@landw.uni-halle.de)

Field trials were conducted in spring wheat to observe effects of jasmonic acid (JA) on aphids, thrips and wheat blossom midge (WBM)). Two spring wheat varieties (Triso and Kadrij) were sprayed twice at growth stages (GS) 49 and 61 with two concentrations of JA plus control. Wheat insects and associated natural enemies were surveyed by sweep net before and after JA treatments. Thrips & WBM were estimated by dissecting wheat ears in GS

65&73. Wheat midge larvae were monitored using white traps in treated and untreated plots. Wheat yield was also assessed in treated and control plots.

There was a significant difference in the number of aphids and midges among treatments in both varieties. Plants in control plots had higher numbers of aphids, thrips and midges than in treated plots. There were more numerous of aphids, thrips and midges in the Triso than the Kadrij variety. This study indicated that JA application enhances the wheat yield in treated plots compared to control plots. The results indicate that JA induced wheat plants and could act as resistance mechanisms of spring wheat against insect herbivores and would help to develop environmentally sound crop management with reduced insecticide applications.

**Key words:** Induced resistance, jasmonic acid, wheat insects, spring wheat, yield

## **DEMONSTRATION FARMS - HIGH-END IMPLEMENTATION OF IPM GUIDELINES**

Bernd Freier, Holger Beer

<sup>1</sup>JKI, Institute for Strategies and technology Assessment in Plant Protection, Kleinmachnow  
Contact: [bernd.freier@jki.bund.de](mailto:bernd.freier@jki.bund.de)

The aims of a national project are to establish and analyze demonstration farms for integrated pest management (IPM) in Germany. Demonstration farms shall consequently perform plant protection according requirements of IPM according to crop or sector-specific guidelines for integrated pest management. Innovations which can particularly contribute to limit pesticide use on necessary amount were implemented in these farms. Showing the excellence of used plant protection innovations and the whole IPM strategy, the direct comparison to plant protection in the so-called reference farms of the given region is provided. The demonstration farms are financially and personally supported und implement IPM in close co-operation with advisory service. JKI coordinates the project, summarizes the results, performs statistical analyses and communicates the findings. The project starts with 4 apple farms and 4 wine-growing farms in spring 2011 and 5 arable cropping farms in autumn 2011. In 2013 7 additional arable farms will be involved.

## **PHYTOSANITARY STATE OF WINTER WHEAT AND OIL-SEED RAPE IN POLAND IN 2010 AND PROGNOSIS FOR 2011**

Felicyta Walczak<sup>1</sup>, Anna Tratwal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Plant Protection Institute, National Research Institute, Wegorka Street 20, 60-318 Poznań, Poland

Contact: [F.Walczak@iorpib.poznan.pl](mailto:F.Walczak@iorpib.poznan.pl)

In Poland the harmfulness and occurrence of the agrophages has been monitored from 1950. Such information are the base of the evaluation the tendency of pests and diseases spread as well as their economic value. Pest/diseases monitoring is provided by Plant Protection and Seed Health Inspection Service in collaboration with the Department of Forecasting and Registration Pest and Diseases at the Plant Protection Institute – National Research Institute (PPI-NRI), Poznań, Poland.

Information concerned on the agrophages (pest/diseases) occurrence and harmfulness are collected according to the methods. Methods were published by the Department of Forecasting and Registration Pest and Diseases, PPI-NRI.

Every year at the end of the year, information about pests/diseases occurrence and harmfulness are send to PPI-NRI (to The Department of Forecasting and Registration Pest and Diseases). Then all data are transformed and showed as a maps and graphs. On the maps for

the branches within the voivodeships the average percentage of agrophage harmfulness is shown – in the circle the average for voivodeship is presented. On the graphs average percentage pest/disease harmfulness for years is shown.

### **EFFECT OF GARLIC JUICE ON SEED-BORNE FUNGI OF WHEAT: SEED GERMINATION, SEEDLING HEALTH AND VIGOUR INDEX**

Perelló, Analía<sup>a</sup>; Gruhlke, Martín C.H; Noll, Ulrike; Slusarenko, Alan J.

*RWTH Aachen University, Department of Plant Physiology (BioIII), 52056 Aachen, Worringer Weg 1*

Contact: [anaperello2@yahoo.com.ar](mailto:anaperello2@yahoo.com.ar)

*Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici-repentis* are the most frequently occurring wheat pathogens of the *Helminthosporium* genus (*sensu lato*) in Argentina, infecting all parts of the plant, causing spot blotch and tan spot, respectively. These pathogens are carried on or within grain and can reduce germination or seedling emergence. Sowing quality can be improved by treatment of grain with Natural Products that reduce inoculum potential and increase vigour, e.g garlic juice (GJ). Garlic bulb extract inhibits the spore germination and mycelial growth of important seed-borne fungal pathogens and acts as a plant growth regulator with a significant stimulating effect on monocots as well on dicots. The aim of the present work was to assess the effect of seed applications of GJ against the native seed-borne mycoflora of wheat caryopses from three Argentinian cultivars, two target pathogens, *B. sorokiniana* and *D. tritici-repentis* in test inoculations, and to evaluate the range of growth-promoting activities of GJ on seedling emergence and vigour. The GJ applications were standardized to the amount of allicin they contained by HPLC. Wheat caryopses were germinated in moist absorbent paper in the presence or absence of GJ. GJ reduced endogenous fungal contamination of the wheat caryopses and also the degree of disease in *B. sorokiniana* and *D. tritici-repentis* inoculated treatments. Depending on GJ concentration and wheat cultivar, growth-stimulating or growth-inhibiting effects were observed on seedling vigour. On the basis of these results a scale-up to field trials seems justified.

<sup>a</sup>Visiting Humboldt Fellow, home address: CONICET-Cátedra de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.  
e-mail: [anaperello2@yahoo.com.ar](mailto:anaperello2@yahoo.com.ar).

### **THE ENDURE INFORMATION CENTRE: SHARING AND DISSEMINATING IPM INFORMATION ACROSS EUROPE**

Schepers, Huub<sup>1</sup>, Schoorlemmer, Herman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*P.O. Box 430, Lelystad, The Netherlands*

Contact: [huub.schepers@wur.nl](mailto:huub.schepers@wur.nl)

The ENDURE Information Centre (EIC) is an interactive website which disseminates information on crop protection with an emphasis on IPM. It creates an overview of the ways sustainable crop protection can be implemented in European agriculture. The EIC is a central point of reference for extending expert knowledge and gives recommendations concerning all aspects of crop protection. The EIC supports the reduced reliance on pesticides demanded by the new European legislation by offering ready to use IPM measures. The results provided are ready to use, this means scientifically sound, tested in the field, practical to adopt and cost-effective. Furthermore, experimental results, which have the potential to provide a solution for a given problem but cannot yet be recommended as best practice, are also provided. To access the ENDURE Information Centre go to the website: [http:// www.endureinformationcentre.eu](http://www.endureinformationcentre.eu)

## **POSSIBLE ROLE OF DSRNA MYCOVIRUSES OF RHIZOCTONIA SOLANI IN SUPPRESSION OR DECREASE OF SUGAR BEET DAMPING OFF DISEASE**

Shoaei Naeeni, Saloomeh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*unitC7, No6,20th Str., Velenjak.Tehran, iran*

*Contact: saloomeh1981@yahoo.com*

A search for double- stranded RNA (dsRNA) was conducted among 72 isolates of the pathogenic basidiomycete *Rhizoctonia solani* isolated of sugar beet in Iran. Nucleic acids were extracted from freeze- dried mycelia and dsRNA was separated by cellulose CF-11 chromatography and confirmed by digestion with specific nuclease ( RNase A), dsRNA was detected by agarose electrophoresis. 1-10 kb dsRNA was isolated from 25 isolates. To partial curing of dsRNA we attempt to remove dsRNA by excising hyphal tips from PDA containing the cyclohexamide (75ppm) and dsRNA removed in 14 isolates. All of these 14 isolates in two treat of contain and free dsRNA , was examined in more details. These isolates had pronounced morphological changes, including reduction in mycelial growth in isolates 110,144,193, reduced virulence toward sugar beet ( sugar beet damping off disease) in isolates 156, 185, 110, 85-62-Az-4 and decrease laccase activity in isolates 151, 238, 185, 263, 110, 144, 85-61-Az-1, 85-62-Az-4. Collectively, these results suggest that this double-stranded RNA viruses in some isolates (110,185,156, 85-62-Az-4) associated with hypovirulence and it show the potential of using dsRNA mycoviruses as biological control against *Rhizoctonia solani*.

## Report on the Annual Meeting of the Working Group „Herbology“

The Working Group Herbology of the German Society of Plant Protection and Plant Health (DPG) met on February 15–16 at Julius-Kühn-Institute in Braunschweig. Seventy-nine participants received an actual overview in 20 presentations on current projects in weed science, practical problems in weed control and upcoming new techniques. Focus at the first day was on herbicide resistance in weeds. Grass weed control (*Alopecurus myosuroides* and *Apera spica-venti*) is major problem in many regions in winter cereals. Triazinone resistance in potatoe and sugarbeet growing is a new upcoming issue and problematic too, because of lack of alternative herbicides for these minor crops. On the second day new weed control methods in herbicide tolerant winter oilseed rape were discussed. Introduction of imidazolinone tolerant varieties will give new opportunities for post emergence weed control, but also disadvantages like volunteer oilseed rape control, spreading of resistance and impact of selection pressure to ALS-inhibitors were discussed. A highlight of the conference was the presentation on competition aspects between weeds and maize by Clarence Swanton from University of Guelph. He clearly demonstrated that early crop-weed interactions, before competition on resources starts, can have a significant impact on maize yield and quality.

The next meeting of the group will be at the Technical University Braunschweig on March 13–15, 2012. Presentations of the 2011 meeting can be found under: [www.phytomedizin.org/herbologie](http://www.phytomedizin.org/herbologie)

Jan Petersen (University of Applied Sciences Bingen) and Martin Schulte (Syngenta Agro, Maintal)

### Current results about the European monitoring of the occurrence of the mutation Ser264-Gly within *Chenopodium album* from sugar beet fields and the practical relevance

Antje-Viola Kalfa

Feinchemie Schwebda GmbH (FCS), Cologne

*Chenopodium album* (fat hen) is one of the leading weeds. It is very competitive, has a high seed formation potential and persistence. It is controlled by the active ingredient Metamitron on most sugar beet fields in Germany and Europe. The herbicide Metamitron is a triazinone and a photosystem II-inhibitor.

According to studies done at the University of Gent in Belgium *Chenopodium album*-biotypes with a Ser264->Gly mutation were found in sugar beet fields. Biotypes with this mutation showed a lower sensitivity towards Metamitron. The resistance factor determined to be at around 3–4 was considered to be low.

In the framework of a collaborative project between Makhteshim-Agan/FCS and the Institute of Sugar Beet Research in Göttingen (Germany), a European monitoring was carried out in 2009 and 2010 with the objective to gain a more detailed knowledge about the occurrence and relevance of this mutation in sugar beet fields. Therefore leaf and seed samples of individual *C. album* plants from sugar beet fields from Germany, the Netherlands, Belgium, Denmark, Sweden, Austria and Poland were analysed for the occurrence of the Ser264->Gly mutation. Within this European monitoring the total sample size amounted to 460 *C. album* plants.

Results of the analysis: Out of 223 samples collected in Germany, only 15 samples were found to have the mutation Ser264->Gly, 208 samples were found without that particular mutation. It was possible to find out that most of the samples with the mutation Ser264->Gly had been taken from sugar beet fields, which were part of a crop rotation system containing maize either in the past or even still.

Out of 52 Belgian samples analysed the mutation was present in 35. In 22 of 67 samples from the Netherlands the mutation could be found as well. The high incidence of the mutation in samples from Belgium was assumed to be due to the longtime usage of atrazine (until 2004) on one hand and a crop rotation system containing sugar beet, maize, potatoes and specialty crops on the other hand. In samples from Denmark, Sweden and Austria the mutation could not be found. The monitoring results showed that in Germany this mutation rarely occurred.

### A new *Chenopodium album* biotype with resistance to metribuzin and metamitron

Jan Petersen<sup>a</sup> & Mark Varrelmann<sup>b</sup>

<sup>a</sup> University of Applied Science Bingen,

<sup>b</sup> Institute of Sugar Beet Research, Göttingen

On a field east of Hannover in northern Germany with potato sugar beet rotation a *Chenopodium album* (CHEAL) biotype was observed, displaying reduced sensitivity to metamitron and metribuzine treatment. First attempts to identify Triazine-target-site mutation (Ser264Gly) to PS-II-inhibitors in the D1 protein by means of PCR-RFLP were negative. However in greenhouse trial the biotype survived metribuzine and metamitron treatments, but the plants were sensitive to terbuthylazin. This phenotype corresponds to the cross-resistance pattern of another CHEAL biotype (Ala251Val) from Sweden previously described by Mechant et al. (2008, J Plant Dis Protect, Special Issue XXI). As further DNA-analysis showed no evidence of occurrence of the Ala251Val mutation, another unknown resistance mechanism was hypothesised. DNA-sequencing of the *psbA*-gene and comparison to the wild type sequence showed a T652G mutation leading to an exchange of amino acids on position 218 from leucine to serine. This herbicide resistance mutation had been already described for algae. It is the first time that this mutation has been detected in higher plants.

Greenhouse trials showed a resistance of the Leu218Ser biotype to metamitron, metribuzine and chloridazon. Efficacy of bentazon, bromoxynil, chlortoluron, pyridate and terbuthylazin was not significantly influenced. For phenmedipham and lenacil the situation was unclear due to inconsistent greenhouse results.

The Leu218Ser biotype was detected on another field location in ~40 km distance where as well sugar beet and potato are grown in rotation since many years. It can be assumed that metamitron and metribuzine were applied nearly every second year during the last two decades. Maize was not grown and triazines use therefore can be excluded. Consequently, it is hypothesised that resistance to PS-II-inhibitors can be selected in triazine free environments and crop-rotations with high frequency of triazinone applications are in danger of developing resistance to CHEAL and perhaps other weed species.



## Observations, field trials and analysis of a special population of mayweed (*Matricaria recutita*) with resistance against ALS-inhibitors in Schleswig-Holstein (Germany)

C. Schleich-Saidfar<sup>1</sup>, H.G. Drobny<sup>2</sup>, J. Perez<sup>2</sup>, M. Feierler, F.G. Felsenstein<sup>3</sup>, J.-R. Gertz<sup>1</sup> & N. Balgheim<sup>4</sup>

- <sup>1</sup> Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Am Kamp 15-17, 24768 Rendsburg;
- <sup>2</sup> Du Pont Deutschland, Neu Isenburg;
- <sup>3</sup> Epilogic GmbH, Freising;
- <sup>4</sup> Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin

On a cereal field (winter wheat) near Husum (Schleswig-Holstein, Northern Germany) the control of mayweed by sulfonylureas became insufficient in 2005. For that reason field trials were installed from 2006 – 2010 at this place. The trials showed that the mayweed plants at this site could not be controlled any longer by sulfonylureas. These herbicides – several different sulfonylureas were tested – had no more effect at all on this mayweed, all of them. Seed samples of mayweed from these trials in 2006 were characterised in different bio-tests. Dose response curves were obtained with ALS-inhibitors, done by Epilogic GmbH, at Freising, Germany, initiated by Dr. H. G. Drobny, Du Pont. The results suggested a specific target-site resistance against ALS-inhibitors. Further analysis, done by N. Balgheim, of tissue samples in 2007 with respective molecular primers confirmed a known mutation at the ALS. This was the first confirmed case of an ALS-target-site resistance in mayweed in Germany. The mayweed from the test-site was resistant especially against sulfonylureas, but not against triazolo-pyrimidins. The trials showed that the mayweed from the test site could still be controlled by pyrazolo-pyrimidins (Florasulam – Primus). At this field sulfonylureas had been used for many years in order to control mayweed, so an extreme selection pressure had taken place. Management strategies were derived from the field trials:

The control of mayweed should be done best by the use of pre-emergence herbicides respectively by these herbicides, placed just after the emergence of the weed (flufenacet + diflufenican – Herold or flufenacet + flutamon + diflufenican – Bacara Forte or – on undrained sites – with IPU, CTU-herbicides + diflufenican). In cereals, sown late in autumn, the control of resistant mayweed should be done by the application of IPU or CTU (+ diflufenican) in early spring (March). In Germany the use of CTU is allowed on undrained fields only. Mayweed remaining from the autumn or mayweed coming up in spring can also be controlled in spring (April) by herbicides, containing florasulam (Primus, Starane XL, Ariane C) or by herbicides containing bentazon (Basagran DP) respectively by herbicides containing clopyralid (Ariane C, Duanti) at this site. However, the possibility of cross resistance against florasulam cannot be quite excluded, when using it too often. Crop rotation implying the application of herbicides with different modes of action should be practiced at any case.

### Herbicide resistance in *Alopecurus myosuroides* and *Apera spica-venti*

Dirk Wolber

Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt Hannover

In Lower Saxony biotests for herbicide resistance with the main grass weeds *Alopecurus myosuroides* and *Apera spica-venti* are done in greenhouse trials. Samples are taken from regional plant protection services and sent to the lab in Hannover. Results from recent years showed that resistance to both grasses is widespread. Multiple resistance in *Alopecurus myosuroides* to

ureas, ACCase, and ALS-inhibitors is quite common. Control of these biotypes is very hard for the cereal farmers.

### Actual status of occurrence of herbicide resistant grass weeds in Germany

Jan Petersen<sup>1</sup> & Hans Raffel<sup>2</sup>

- <sup>1</sup> University of Applied Sciences Bingen,
- <sup>2</sup> Syngenta Agro Maintal

Occurrence of herbicide resistance in grass weeds in Germany is not a new phenomenon, however in recent years spread of resistance and characters of resistance increased significantly. In a resistance monitoring program of Syngenta and the University of Applied Sciences Bingen seed samples of different winter cereal fields in Germany were tested for resistance to different leaf active herbicides. *Alopecurus myosuroides* (ALOMY), *Apera spica-venti* (APESV), *Lolium* sp. (LOLSS) and *Avena fatua* (AVEFA) were grown in a greenhouse and sprayed in the 1 to 2-leaf stage with relevant herbicides.

77% of suspicious ALOMY samples (n = 135) showed a resistance to cereal selective ACCase-inhibitors. But only 17% out of these samples showed a cycloxydim resistance (indicating an ACCase target-site-resistance). Resistance to meso-sulfuron occurs, but also on a lower level (18%). One sample presented a combination of ALS- and ACCase-target-site resistance in the ALOMY population. Most of the samples indicated a cross-resistance or a multiple resistance on the basis of a non-target-site resistance.

The monitoring on APESV (n = 213) was based on a mixture of random and sampling on fields with resistance suspicion (n = 213). Consequently, less biotypes showed a strong herbicide resistance (29%). Mainly resistance was obvious to sulfonylureas. 50% of the samples showed a reduced efficacy and 22% a strong resistance to ALS-inhibitors. IPU-resistance was detected in 15% of the sites. However, in 61% of the biotypes a reduced efficacy to IPU was observed. Resistance to pinoxaden was found in 4% of the samples. In cases of pinoxaden resistance all biotypes showed a multiple resistance to sulfonylureas and in some cases also to IPU. Only a few biotypes (12%, based on 162 samples) expressed a resistance to pyroxsulam with a cross-resistance to sulfonylureas. In these cases often an ALS target-site resistance could be detected. One APESV population showed a combination of an ACCase and ALS-target-site mutation.

Some samples of AVEFA (n = 6) with control problems in the fields were tested in the greenhouse with treatments of ALS-inhibitors and with pinoxaden. No resistance was detected. For LOLSS 4 samples were analysed. Three out of five samples showed a resistance to pinoxaden. One sample showed a multiple-resistance to flufenacet and another biotype showed a multiple resistance also to ALS-inhibitors.

### Glyphosate hormesis – an herbicide shows depth effects

Regina G. Belz

University of Hohenheim, Department of Agroecology (380b), 70593 Stuttgart, regina.belz@uni-hohenheim.de

Glyphosate is currently the most important active ingredient for controlling weeds. However, glyphosate shows useful effects in addition to killing weeds at high doses. The patenting of glyphosate as an herbicide in 1970 was followed by several applications in the non-lethal, low dose range such as in 1974 a patent for plant growth-regulation by sub-lethal glyphosate doses. In the hormetic dose range, where glyphosate has a stimulating effect on plants, the usage of glyphosate to increase the carbohydrate content of plants was patented in

1976 followed by a patent for increasing yield in glyphosate-resistant (GR) crops in 2000. Although glyphosate clearly has real and potential commercial uses as a growth regulator, its main commercial significance has been as an herbicide. It is the most used herbicide worldwide. An important prerequisite for glyphosate gaining significance in increasing yield by hormetic effects is a high efficiency and reliability of the hormetic phenomenon. Greenhouse and field studies showed that glyphosate applied at a range of 2–143 g a.i. ha<sup>-1</sup> can increase yield by 12–110% in several plant species and response parameters. Despite this respectable efficiency, it remains to be clarified whether it can be reliably and sustainably be achieved under field conditions and what side effects may result. Hormetic approaches are thus not yet developed for practical usage with the exception of the commercially significant application to increase the levels of extractable sugar from sugar cane. Here, a single application of glyphosate in the dose range of 160–470 g a.i. ha<sup>-1</sup> before harvest can increase sugar yield by 6–39%. Glyphosate is currently approved in the U.S.A., Brazil and South Africa for this application. In addition to this hormetic application of glyphosate, non-target effects may be relevant as well. For example, hormetic effects of glyphosate may occur related to drift, errors in application, resistance (crop/weed), soil degradation or im-/remobilization in soils. Since some of these hormetic non-target effects could be verified under controlled conditions, it remains to be determined to what extent they are relevant, detectable and distinguishable from other growth-influencing factors under field conditions.

Reports on the underlying molecular mechanisms of action of the hormetic effect of glyphosate are rare. The observation of shikimate accumulation in the hormetic dose range indicates the same molecular target as the inhibitory effect. However, the observation of growth stimulation in GR-crops by glyphosate in spite of an insensitive target is in contrast to this. Current research projects investigating the expression of glyphosate hormesis in resistant/sensitive crops, the allocation of carbon in the hormetic dose range and the impairment of other metabolic pathways by hormetic doses of glyphosate should help to better understand the hormetic mode of action in future. It can also be assumed that there will be future efforts to use this phenomenon to increase yield under greenhouse or field conditions. In this context, especially the reliability, the fate of hormetic glyphosate doses within the plant and a possible impact on weed control should be evaluated. Moreover, the ecological relevance of hormetic non-target effects under field conditions should be investigated, particularly in view of GR weeds and residual action in the following crop.

Although the current state of research in the field of glyphosate hormesis is incomplete, relevant studies show that the phenomenon exists, that we can and do make use of it and that it could potentially also be relevant for current glyphosate applications. (DFG Förderung Projekt BE4189/1-1)

#### Use of herbicides in home and garden indications – results of a questionnaire

Thomas Fischer & Jan Petersen

University of Applied Sciences Bingen

In a rural area 208 households in a village in the Eifel region were asked in 2010 with regard to their use of pesticides in private homes and gardens. Nine of these asked persons were farmers. All others were non-professional users of pesticides. However, 53% of the households used pesticides regularly. Mostly herbicides were used for the control of weeds in gardens, turfs and on pathways etc. More than 60% were not informed about registration aspects and application restrictions. Nearly 80% of the households that use herbicides spray

them on hard surfaces. This is prohibited by law. Nearly all non-professional pesticide users wanted more information as to how to use the products. Mainly consumer information by the pesticide seller is desired. 58% of the consumers buy their pesticides at farm supply companies. 25% buy the products in Do-It-Yourself or garden stores. However, 11% get the pesticides directly from farmers. Main target weeds are *Taraxacum officinales*, *Convolvulus arvensis* and moss. Main active ingredients were glyphosate, synthetic auxins and Fe-fertilisers. Mainly hand sprayers are used for the applications, but 22% of the users do their application with a watering can. Nearly all of the herbicide users also use alternative weed control methods. The main focus is on mechanical hand weeding. But also NaCl, vinegar and flaming is used for weed control. Rests of the herbicide spray volume not needed are sprayed on treated area (21%), according to 43% of the user no rests remain, 29% keep the rests for the next application and 7% empty the sprayer into the sewerage system. 90% of the persons indicate that they know about environmental risks caused by use of pesticides. Evidently more information is needed for non-professional users to make sure that pesticides in home and garden applications are used in an environmentally friendly and safe way. The solution of the problems mainly hinges on the sellers of the products.

#### A new perspective on plant competition

Clarence J. Swanton

University of Guelph, Canada

Crop-weed competition is comprised of both resource dependent and resource independent processes. While many studies have focused on the role that resource dependent competition plays in reducing crop yields, few have investigated whether resource independent effects may contribute to these losses. In this study, we identify the red-to-far-red ratio as a variable that contributing to resource independent competition and tested the hypothesis that the expression of shade avoidance in response to weeds reduces maize fitness (i.e., kernel number) in the absence of resource dependent competition. Seedlings were grown in a field fertigation system under two light quality environments: an ambient and a low red-to-far-red ratio environment, which were designed to simulate weed-free and weedy conditions respectively. Plants that expressed classic shade avoidance characteristics set fewer kernels per plant and partitioned less biomass to the developing ear. Shade avoidance also doubled the plant-to-plant variability in these yield parameters (i.e., kernel number and harvest index) without affecting the mean or frequency distribution of shoot biomass at maturity. We propose that shade avoidance should be viewed as an integral component of the process of competition. This resource independent response precedes and conditions the crop seedling for the onset of resource dependent competition.

#### Clearfield® Winter Oilseed Rape – a risk-benefit analysis

Klaus Gehring

Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising

The Clearfield-Technology in winter oilseed rape is based on an herbicidal resistance in corresponding hybrid cultivars against the agent Imazamox. Since 2003 Imazamox is registered in the Annex I of the Directive 91/414/EEC of the European Community. In the ecological valuation from the European Commission (SANCO/4325/2000) imazamox is considered as sufficient environmentally safe and the agent can be used as herbicide. Imazamox belongs to the Group of ALS-In-

inhibitors (HRAC: B; WSSA: 2), which normally can not be applied selectively in oilseed rape. Predominantly the herbicide effect passes by leaf absorption. Imazamox controls weeds like charlock (*S. arvensis*), wild radish (*R. raphanistrum*), common amaranth (*A. retroflexus*), fat-hen (*C. album*), black bindweed (*P. convolvulus*), shepherd's-purse (*C. bursa-pastoris*), common chickweed (*S. media*), black nightshade (*S. nigrum*), red hemp-nettle (*G. ladanum*), green bristle-grass (*S. viridis*) and grain volunteers with an application rate of 40 g a.i. ha<sup>-1</sup>. A considerable endorsement of the herbicide activity can be realised by the add-on of adequate adjuvants.

In Germany, the admission is being expected for the herbicide "Clearfield". Clearfield is based on the former standard herbicide Butisan Top<sup>®</sup> for postemergence treatments. In this way the Clearfield herbicide is fitted with three active components (metazachlor 375 g l<sup>-1</sup> + quinmerac 125 g l<sup>-1</sup> + imazamox 6.25 g l<sup>-1</sup>) by an application quantity of 2.0 l ha<sup>-1</sup> in combination with the adjuvant Dash<sup>®</sup> 1.0 l ha<sup>-1</sup> as a post-emergence treatment. The previous experiences with Clearfield reflected a good selectivity in Clearfield-hybrid cultivars and are characterised by a good efficacy against important weeds in oilseed rape. In this way the control of Brassicaceae weeds, effected till now by products containing clomazone in pre emergence treatments, can be realised hereby in post treatments.

It is not able to control Clearfield-volunteers with ALS inhibiting herbicides, especially sulfonylureas, in following crops. For this reason the Clearfield-volunteers have to be controlled intensely after harvesting by mechanical and chemical methods. The spread of volunteers by soil preparation equipment and harvesters must be avoided extensively. Herbicides which don't belong to the HRAC-B-Group have to be preferred in the crop rotation. Inadvisable is the planting of Clearfield-cola in crop rotation with sugar beet. The Clearfield-Technology can be an option in oilseed rape rotations with cereals to control special weeds like shepherd's-purse, field penny-cress (*T. arvense*), hedge mustard (*S. officinale*) and hill mustard (*B. orientalis*). The sustainable use of Clearfield technology requires the accomplishment of particular safety rules. This is a precondition to avoid the undesired propagation of resistance properties as well as the development of the selection of ALS-resistant weeds like black-grass (*A. myosuroides*), loose silky-bent (*A. spica-venti*) or scentless mayweed (*M. inodora*). An intensely consulting will be necessary for every farmer, who aims to cultivate Clearfield oilseed rape.

### Clearfield production system for winter oilseed rape

Dirk Wolber

Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt Hannover

Imidazolinone tolerant winter oilseed rape varieties and imazamox containing herbicide are under development in the moment. Advantage and disadvantages are discussed controversially. Plant protection services in Germany do not recommend using the Clearfield system in oilseed rape at actual status due to the lack of knowledge in several fields of interest. One question is if it will be possible to grow oilseed rape with and without imidazolinone tolerance in the same region and avoid significant gene and seed flow between different fields. If this is not possible, the question arises who will pay for damages if damages occur. Furthermore, more experience is needed to make sure how to control volunteer oilseed rape in following crops and how to use imazamox in oilseed rape to control problematic weeds.

### Consequences of introducing imidazolinone-tolerant winter oilseed rape varieties for weed management

Christoph Krato

University of Applied Sciences Bingen, Berlinstr. 109, 55411 Bingen

On commercial field sites in Rhineland-Palatinate several field trials were conducted to evaluate the consequences of introducing imidazolinone-tolerant winter oilseed rape varieties for weed management within the crop rotation.

An application of the CLEARFIELD<sup>®</sup> system was done at two different locations under practical conditions. The complementary herbicide BAS 79801 H was applied at two different application timings (early post-emergence: BBCH 09-11 and post-emergence: BBCH 12-14). The herbicide efficacy as well as the oilseed rape yield was measured during and at the end of the trial period. The herbicide treatments controlled the occurring weeds successfully and even a high density of volunteer cereals could have been captured as well. But *Matricaria* sp. as a major weed was only controlled at a high level when the herbicide was applied early post-emergence. Oilseed rape yields were between 43 dt ha<sup>-1</sup> and 64 dt ha<sup>-1</sup> depending on the location and soil tillage.

Three major sources of imidazolinone-tolerant volunteer oilseed rape can be named: (i) The loss of seeds before and during the actual harvest, (ii) outcrossing between imidazolinone-tolerant and susceptible oilseed rape varieties and (iii) The dispersion of seeds due to the corporate use of combine harvesters. Sources named under (ii) and (iii) were quantified in two-year field trials.

The highest outcrossing frequencies were observed at the closest distance of 2 m between imidazolinone-tolerant and susceptible varieties and were between 0.6 and 2.1% depending on the year and direction. Frequencies decreased significantly with increased distance to the pollen source but single outcrossing events were still found at the widest sampling point of 45 m. A genetic analysis of F<sub>1</sub> plants confirmed the transfer of both tolerance genes and a heterozygous genotype in most of the cases.

A dispersion of rape seeds during the harvest period was simulated using a contractor. Immediately after oilseed rape harvest the contractor harvested a defined area of winter wheat on commercial field sites of the University of Applied Sciences in Bingen in 2009 and 2010. In the first year the dispersion of seeds was evaluated counting emerged volunteers after multiple soil preparations while in the second year the amount of dispersed seeds was measured using plastic shells. A maximum of 267 seeds m<sup>-2</sup> (2009) respectively 787 seeds m<sup>-2</sup> (2010) were observed. The seed entry decreased with increased distance but seeds were still found at the last sample point.

Oilseed rape has a high status within the crop rotation. Although the occurrence of volunteer oilseed rape in subsequent crops winter wheat and sugar beet can't be prevented, a successful control with selective herbicides (primarily ALS-inhibitors) was possible without restrictions. While introducing imidazolinone-tolerant oilseed rape the herbicide regime to control volunteer oilseed rape has to be adjusted.

Herbicide trials under field conditions have shown that only few ALS-inhibitors still have the potential to control tolerant volunteers. Yet the efficacy is quite variable and strongly depends on environmental conditions, sowing time and competitiveness of the crop. In contrast herbicides outside HRAC B showed a high efficacy against imidazolinone-tolerant in winter wheat. In the subsequent sugar beet effective tank mixtures (several herbicides; adjuvants) have to be considered for a complete control. If conditions are unfavorable the herbicide efficacy can decrease and additional applications may be required.



## AK MYKOLOGIE, 24.03.2011

### **EINFLUSS DER TERMINIERUNG AZOLHALTIGER FUNGIZIDAPPLIKATIONEN AUF DEN FUSARIUM-ÄHRENBEFALL UNTERSCHIEDLICH ANFÄLLIGER WEIZENSORTEN**

Göbbels, Ellen<sup>1</sup>, Erich-Christian Oerke<sup>1</sup>, Heinz-Wilhelm Dehne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*INRES-Phytomedizin, Universität Bonn, Nussalle 9, 53115 Bonn*

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

Influence of Timing of Triazole Application on Fusarium Head Blight of Wheat Cultivars Differing in Susceptibility Fusarium head blight is one of the most important diseases in cereals worldwide and is caused by a complex of Fusarium species. More important than quantitative yield losses, it reduces yield quality by the contamination of kernels with mycotoxins. Strategies to prevent the disease include appropriate choice of cultivar and chemical control with triazole fungicides. The objective of this study was to investigate the influence of leaf and ear treatments with azole fungicides on the spectrum and the incidence of Fusarium species on wheat cultivars differing in susceptibility. A field experiment was conducted with two wheat cultivars at Klein-Altendorf research station. Leaves as well as ears were treated with tebuconazole, metconazole or prothioconazole. Selected plots were inoculated with a spore mixture of *F. avenaceum*, *F. graminearum* and *F. poae* to intensify the infection pressure of Fusarium species. Fusarium incidence as well as the spectrum of Fusarium species on kernels were determined at maturity. Fusarium incidence differed according to the susceptibility of the two cultivars and was 5 to 15% and 12 to 20% for the more resistant and the susceptible cultivar, respectively. Nine (moderately resistant) and ten (highly susceptible) Fusarium species were isolated respectively. Depending on cultivar and fungicide treatment significant differences in the spectrum of Fusarium species were detected. *F. poae* and *F. tricinctum* dominated in the susceptible cultivar, whereas *F. culmorum* was prevalent in the more resistant cultivar. These results point to differences in the susceptibility of cultivars to Fusarium species. In the moderately resistant cultivar treatments of leaf and ear reduced the infection by *F. culmorum* compared to the ear application only, the opposite was true for *F. tricinctum* on the susceptible cultivar. The Fusarium inoculation confirmed the difference between cultivars in Fusarium susceptibility. The application of azoles  $\pm$  1 day before inoculation reduced the infection rate by around 70%. An increase of FHB, as it was observed in a few treatments, could be related to an impact of the fungicides on antagonistic fungi or other competitive leaf diseases.

### **STUDIES ON THE SENSITIVITY OF PHAKOPSORA PACHYRHIZI TO FUNGICIDES**

Helena Schmitz<sup>1</sup>, Gerd Stammler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*BASF SE, Agrarzentrum, Speyerer Strasse 2, 67117 Limburgerhof, Deutschland*

Contact: [gerd.stammler@basf.com](mailto:gerd.stammler@basf.com)

*Phakopsora pachyrhizi* is the causal agent of Asian soybean rust, which is a serious soybean disease in South America. Control of this disease is mainly based on fungicide applications, where demethylation inhibitors (DMI) and Quinone outside-inhibitors (QoI) are the most important tools. Sensitivity monitoring was conducted by using a detached leaf test method. While efficacy of QoIs is still stable due to the genetic consistency of the target gene (intron after codon 143 in the cytochrome *b*) in *P. pachyrhizi*, sensitivity to DMIs is reduced in Brazilian isolates in the last years. The mechanisms for reduced sensitivity are currently under

investigation. To avoid further adaptation of *P. pachyrhizi* against fungicides, FRAC recommendations should be followed.

### **EFFICACY OF FUNGICIDES AGAINST EARLY BLIGHT OF TOMATO**

Jasmin Verena Philippi<sup>1</sup>, Gerd Stammler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BASF SE, Agrarzentrum, Speyerer Strasse 2, 67117 Limburgerhof, Deutschland

Contact: [gerd.stammler@basf.com](mailto:gerd.stammler@basf.com)

Early blight of potato and tomato is caused by *Alternaria solani* and the involvement of *Alternaria alternata* in this disease is under discussion. Therefore greenhouse studies of tomatoes were performed to check differences in pathogenicity. A comparison of the pathogenicity of eight *A. solani* and eight *A. alternata* isolates under different conditions indicated a higher pathogenicity of *A. solani* on tomato in the greenhouse.

Early blight is mainly controlled by fungicide treatments, e.g. QoIs. Resistance to QoIs is mediated by mutations in their target gene, the cytochrome b. Because of the genetic structure of cytochrome b in *Alternaria solani*, the most important mutation, the G143A, did not occur so far. However, another mutation, the F129L has been reported. Sensitivity of *A. solani* isolates carrying the mutation F129L were compared with wild type isolates in microtiter tests. Pyraclostrobin provided good control of F129L mutated isolates with slightly increased ED50 values.

### **THE POSSIBLE ROLE OF HYPHAL ANASTOMOSIS IN FUNGICIDE RESISTANCE DEVELOPMENT IN POPULATIONS OF BOTRYTIS CINEREA**

John B. Speakman, Katja Stunz

BASF SE, Speyerer Strasse 2, 67117 Limburgerhof

Contact: [john-bryan.speakman@basf.com](mailto:john-bryan.speakman@basf.com)

*In vitro* crosses with *Botrytis cinerea* isolates which carried different fungicide resistance markers gave, as progeny, isolates with the resistant markers of both parents. Conidial and hyphal anastomoses could be microscopically identified. The possible role of this observation in the development of resistant populations in the field will be discussed.

### **COMPARATIVE ANALYSIS OF HAUSTORIAL SECRETOMES FROM DIFFERENT RUST FUNGI**

Kohlndorfer, Matthias<sup>1</sup>; Ralf T. Voegelé<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Hohenheim, FG Phytopathologie, Institut für Phytomedizin, Fakultät Agrarwissenschaften, Otto-Sander-Str. 5, 70599 Stuttgart

Contact: [matthias.kohlndorfer@uni-hohenheim.de](mailto:matthias.kohlndorfer@uni-hohenheim.de)

The interaction of obligate biotrophic fungi with their respective host plants is a fascinating field which has drawn the interest of researchers for decades. A hallmark of obligate biotrophic growth is the formation of specialized hyphae, so called haustoria. These structures are the interface of interaction between obligate biotrophic parasites and their hosts and fulfill a variety of different functions like the uptake of nutrients, or the production of specialized proteins, so-called effector proteins. These proteins may be secreted into the extrahaustorial matrix, or may even be transferred into the infected plant cell. Especially the latter class of effectors is expected to interact with plant proteins and therefore might play an important role in the suppression of plant defense mechanisms. Our research is aimed at the detection and

identification of novel effector proteins, secreted by different species of rust fungi. We have isolated haustoria and subsequently high quality mRNA from three different rust fungi, *Uromyces fabae*, *Uromyces appendiculatus* and *Phakopsora pachyrhizi*. We are now setting up a comparative analysis of the haustorial secretomes of these rust species. Currently we are working on random primed haustorial cDNA libraries of *U. appendiculatus* and *P. pachyrhizi*, using a method called “signal sequence trap”. This method will allow us to select cDNA fragments exhibiting a signal sequence (a pre-requisite for secretion and transfer). The method has already been established for *U. fabae* (Link and Voegelé 2008). Comparing different rust secretomes across the species as well as on a species specific level (stage specificity) is expected to lead to the identification of novel effector proteins essential for pathogenicity.

Link, T.I. and Voegelé, R.T. (2008) *Mol Plant Pathol*, 9, 59-66.

### **INOKULUMQUELLEN VON STEMPHYLIUM VESICARIUM IM BIRNENANBAU**

Köhl, Jürgen<sup>1</sup>; Peter-Frans De Jong<sup>2</sup>, Pieter Kastelein<sup>1</sup>, Lia Groenenboom-de Haas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Plant Research International, Droevendaalsesteeg 1, 6707 PB Wageningen, Niederlande*

<sup>2</sup>*Applied Plant Research, Lingewal 1, 6668 LA Randwijk, Niederlande*

Contact: [jurgen.kohl@wur.nl](mailto:jurgen.kohl@wur.nl)

Inoculum sources of *Stemphylium vesicarium* causing brown spot in pears

*Stemphylium vesicarium* is the causal agent of brown spot disease in pear. Also asparagus, onion and other crops can be damaged by the pathogen. However, isolates pathogenic in asparagus or onion are not pathogenic to pear. Within pear orchards, pear-pathogenic populations of *S. vesicarium* and saprophytic populations not pathogenic to pear can be present. A TaqMan-PCR specific for pear-pathogenic *S. vesicarium* was developed and applied to quantify the amount of pear-pathogenic *S. vesicarium* on possible inoculum sources. Samples of various types of crop residues were sampled in pear orchards, e.g. fallen pear leaves, fruits overwintering on the orchard surface, mummies and prunings as well as dead weeds and grasses. Data on the population dynamics of *S. vesicarium* in the different potential inoculum sources will be presented and discussed.

### **OCCURRENCE AND RELEVANCE OF FUSARIUM HEAD BLIGHT IN BARLEY**

Linkmeyer, Andrea<sup>1</sup>; Michael Hess<sup>1</sup>, Ralph Hückelhoven<sup>1</sup>, Hans Hausladen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Technische Universität München/Lehrstuhl für Phytopathologie, Emil-Ramann-Str. 2, 85350 Freising*

Contact: [a.linkmeyer@wzw.tum.de](mailto:a.linkmeyer@wzw.tum.de)

*Fusarium* head blight (FHB) is a widespread fungal disease of cereals including wheat (*Triticum* spp.) and barley (*Hordeum vulgare* L.), caused by different species of the genus *Fusarium*. In addition to wheat, an enhanced incidence of FHB was observed in German barley crops in the past years. Especially for malting and brewing industries *Fusarium* infested grains are not acceptable as raw material for brewing beer.

Monitoring studies in Bavaria indicated a different infestation situation as known for wheat. A broad spectrum of different *Fusarium* species was observed, including *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. sporotrichioides* and *F. tricinctum*. These species produce a wide range of different mycotoxins such as type A trichothecenes (T2; HT2), type B trichothecenes (deoxynivalenol (DON); nivalenol), zearalenon, moniliformin, enniatins and beauvericins. The present results indicate that the classical DON producing species *F. graminearum* and *F. culmorum* occur less often in spring barley,

whereas type A tricothecene producing species such as *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* are more frequent. This shift in the spectrum of *Fusarium* species compared to wheat does have consequences on contamination of grains with mycotoxins.

Artificial inoculation experiments under field-conditions were carried out to further investigate the impact of different *Fusarium* species on pathology, grain infestation and mycotoxin contamination in spring-barley. The appearance of the disease varied strongly between different species and there was no general correlation detectable between the extent of visual symptoms or grain-infestation and mycotoxin-contaminations in harvested grains.

## PHYLOGENIE DER GATTUNG UROCYSTIS

Lotze-Engelhard, Sascha<sup>1</sup>; Martin Kemler<sup>2</sup>, Dominik Begerow<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ruhr-Universität Bochum, Fakultät für Biologie und Biotechnologie, AG Geobotanik, Universitätsstraße 150, 44801 Bochum, Germany

<sup>2</sup>Centre in Excellence in Tree Health Biotechnology Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI), University of Pretoria, Pretoria 0002, South Africa

Contact: Sascha.Lotze-Engelhard@rub.de

### Phylogeny of the genus *Urocystis*

The genus *Urocystis* Rabenhorst, which belongs to the Urocystales (Ustilaginomycotina), comprises about 140 species and appears to be morphologically well defined. However, molecular phylogenetic studies have shown that the monophyly could be questioned, and that some other genera are at least closely related.

In the research summarised here, around 25% of the known species of the genus *Urocystis* have been studied by molecular phylogenetic methods and presented in a comprehensive analysis for the first time. The aim of this research was to elucidate the phylogeny of the genus *Urocystis*. Therefore we used the genetic markers ITS, LSU and TEF1. The sequence data formed the basis for the multi-gene analysis in which neighbour-joining, maximum parsimony, maximum likelihood and bayesian interference were applied.

Overall, the results were concise, showing several monophyletic groups representing *Urocystis* species on closely related host species. However, some genera that lack spore balls of the *Urocystis*-type were mixed within the genus *Urocystis* and the backbone was not always well resolved. As traditional genus description of spore balls did not support the molecular phylogeny, we analysed the morphology of the spore balls in more detail. The spores were categorized due to their number of fertile cells and checked against the phylogenetic hypotheses obtained in the various analyses. With our data it is not possible to resolve the phylogeny of the genus *Urocystis* completely, but it was clearly shown that the genus *Urocystis* is paraphyletic in its present description because the genera *Melanoxa*, *Mundkurella*, *Ustacystis* and *Vankya* cluster in the genus *Urocystis*.

Thus the new results raise far-reaching questions about the systematics of the whole complex of genera *Urocystis*, *Melanoxa*, *Mundkurella*, *Ustacystis* and *Vankya*.

## LIVING COLORS IN THE GRAY MOLD PATHOGEN: CODON-OPTIMIZED GENES ENCODING GFP AND MCHERRY SHOWING BRIGHT FLUORESCENCE IN BOTRYTIS CINEREA

Leroch, Michaela<sup>1</sup>; Dennis Mernke<sup>1</sup>, Dieter Koppenhoefer<sup>1</sup>, Prisca Schneider<sup>1</sup>, Andreas Mosbach<sup>1</sup>, Gunther Doehlemann<sup>2</sup>, Matthias Hahn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, University of Kaiserslautern, Kaiserslautern, Germany

<sup>2</sup>Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Marburg, Germany

Contact: mleroch@hrk.uni-kl.de

The green fluorescent protein (GFP) and its variants have been widely used in modern biology as reporters that allow a variety of live-cell imaging techniques. So far, GFP has been rarely used in the gray mold fungus *Botrytis cinerea* because of low fluorescence intensity. The codon distribution of the commonly used egfp, referred to as being adapted to humans, is strongly biased, with the majority of amino acids being encoded by. Almost all of these codons have either G or C as third base. The codon usage of *B. cinerea* genes strongly deviates from that of commonly used GFP encoding genes, and revealed a lower GC content compared to other fungi. Here we report the development and use of a codon-optimized version of the eGFP encoding gene (Bc-gfp) for improved expression in *B. cinerea*. Both the codon optimization and, to a smaller extent, the insertion of an intron resulted in higher mRNA levels and increased fluorescence. Bc-gfp was used for localization of nuclei in germinating spores and for visualization of host penetration. We further demonstrate the use of promoter:Bc-gfp fusions for quantitative evaluation of various toxic compounds as inducers of the *atrB* gene encoding an ABC-type drug efflux transporter of *B. cinerea*. Use of a GFP fusion construct containing the promoter of a cutinase gene further allows analysis of time dependent expression, substrate specific induction and catabolite repression of this gene. In addition, a codon-optimized mCherry encoding gene was constructed which yielded bright red fluorescence in *B. cinerea*.

#### **PHYTOSANITARY RISKS THROUGH THE USE OF DIGESTIVE RESIDUES FROM BIOGAS PLANTS IN CASE OF FUSARIUM PROLIFERATUM AND FUSARIUM VERTICILLIOIDES ON MILLET (SORGHUM SP.)**

Müller, Stefan<sup>1</sup>, Yvonne Schleusner<sup>1</sup>, Jakob Müller<sup>1</sup>, Monika Goßmann<sup>1</sup>, Martina Bandte<sup>1</sup>, Susanne von Bargen<sup>1</sup>, Carmen Büttner<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, c/o Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Königin-Luise-Str. 19*

Contact: stefanmueller1110@yahoo.de

In Europe *Sorghum sudanense* is mainly utilized in the production of biogas as an energy plant and as a forage crop. Because of climatic changes in the region of Brandenburg *Sorghum* compared to maize has gained significant importance because of its elevated tolerance against drought. However, *Sorghum* is highly susceptible to *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides* causing stem and head diseases. Therefore, one aim of the joint research project: "Studies on the phytosanitary risks through anaerobic fermentation of plant biomass in biogas plants" was to investigate the capability of mesophilic fermentation of fresh and ensilaged plant material on the inactivation of these fungal pathogens. Investigations focused on the duration of fermentation required for inactivation as well as the influence of storage of the digestive residues under condition conducted in practical units. A complete inactivation of the fungal pathogens *F. proliferatum* and *F. verticillioides* was achieved after a retention period of one week in the test fermenter. Additionally the impact of ensilage of plant material and storage of digestive residues on the survival of the fungal pathogens could be demonstrated.



## **A NEW AERIAL DISEASE OF EUROPEAN BEECH (FAGUS SYLVATICA): A TWIG BLIGHT CAUSED BY SOILBORNE PHYTOPHTHORA SPP.**

Nechwatal, Jan<sup>1</sup>; Jörn Hahn<sup>2</sup>, Alexander Schönborn<sup>2</sup>, Gregor Schmitz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, Lange Point 10, 85354 Freising, Deutschland*

<sup>2</sup>*Universität Konstanz, Fachbereich Biologie, 78457 Konstanz, Deutschland*

Contact: [jan.nechwatal@lfl.bayern.de](mailto:jan.nechwatal@lfl.bayern.de)

During prolonged periods of rainfall in spring and summer 2010, blighted shoots and twigs of European beech (*Fagus sylvatica*) were frequently observed in several beech stands in South-western and Southern Germany. In most cases, long and short shoots of young understorey trees or lower branches up to 1.5 m above the soil level were affected, but symptoms also occurred regularly on twigs in heights up to 3 m above the ground. Usually the complete current year's shoot was damaged, and necrosis often also reached into the previous year's wood. From a large collection of symptomatic twigs *Phytophthora plurivora* and *P. cambivora* were regularly isolated with ease from diseased necrotic bark and cambium tissues. As these two species are generally considered to have a strictly soilborne lifestyle, it is most likely that infective propagules are transmitted from the soil to above-ground parts of the trees via rain splash. Accordingly, patterns of the disease in the field indicated that ponding rain water in the stands or along forest roads promote the disease. In larger heights, however, other vectors such as snails might be responsible for transmission. Although *Phytophthora* spp. are well-known as causal agents of seedling blight as well as root and cambium rot or aerial stem cankers of mature beech, to our knowledge this is the first report of a twig blight in beech associated with soilborne *Phytophthora* spp. In particular in periods of high precipitation, this disease might pose an additional threat to Central European beech forests, endangering the future success of artificial and natural regeneration of beech.

## **PRESENCE OF RAMULARIA COLLO-CYGNI IN BAVARIA IN THE PAST 50 YEARS**

Nyman, Marika<sup>1</sup>; Michael Hess<sup>1</sup>, Hans Hausladen<sup>1</sup>, Stephan Weigand<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Technische Universität München, Lehrstuhl für Phytopathologie, Emil-Ramann-Str. 2, 85354 Freising, Germany*

<sup>2</sup>*Lfl, Institut für Pflanzenschutz, Lange Point 10, 85354 Freising, Germany*

Contact: [m.nyman@wzw.tum.de](mailto:m.nyman@wzw.tum.de)

*Ramularia collo-cygni* (*Rcc*) is a fungal pathogen of barley, causing Ramularia Leaf Spot (RLS). *Rcc* was first described about 150 years ago, but has only recently become a problem in barley production. In the past 10 years regular epidemics in Bavaria have significantly reduced yield quantity and quality.

The importance of seed-borne transmission for the overall disease development in the field is not yet known, but seed testing on material from seed archives gives the opportunity to see how long the pathogen has been present in Bavaria. Investigations in England has shown that the pathogen has co-existed with its host for a long time without causing major disease, but unknown factors shifted the relationship to a host-pathogen one. Seeds from the Lfl archive samples were screened by PCR.

## IN VITRO EFFECTS OF GARLIC JUICE ON WHEAT FUNGAL PATHOGENS

Perelló, A.<sup>1</sup>, Noll, U.<sup>1</sup>, Slusarenko, A.J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>RWTH Aachen Institut für Pflanzenphysiologie, Lab. Biologie III, Worringerweg 1 (52074)  
Aachen, Germany

Contact: anaperello2@yahoo.com.ar

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the most important grain crops based on consumption, nutrition and cash value for farmers. Among diseases, the fungal spotting complex is one of the most widely spread and devastating problems worldwide. The use of natural products for the control of fungal diseases in plants is considered an interesting alternative to synthetic fungicides. Among the natural fungicide substances, garlic extract has been found active against several phytopathogenic fungi. On wounding garlic tissues produce the volatile sulfur-containing substance allicin, which has been shown to have high antimicrobial activity against a number of organisms. However, very little work has been done on the inhibitory effects of garlic extracts on wheat pathogens. In Argentina very little knowledge is available about the effect of garlic juice in controlling plant diseases. Therefore, the objective of the present study was aimed to evaluate the effects of garlic juice on *Drechslera tritici-repentis*, *Bipolaris sorokiniana* and *Septoria tritici*, firstly under *In vitro* conditions with follow up experiments *in planta*. Agar (PDA 2%) was seeded with spores of the fungi and 20 µl of dilution of garlic extract containing 280-340 µg allicin was spotted onto 0.5 cm diameter filter discs. After incubation of the Petri dishes at 22°C for 2 days in continuous light halos of growth inhibition surrounding the site of garlic juice application were clearly observed compared to the untreated controls (water only). In a variation of the above test, a plug of mycelium of *B. sorokiniana* or *Drechslera tritici-repentis* was inoculated centrally onto a Petri plate and radial mycelial growth was followed. Filter paper discs containing 20 µl of dilutions of garlic extract caused a reduction in the diameter of the fungal mycelium over a 6-day incubation period. The mycelium at the edge of the colonies showed altered growth morphology. Garlic extract inhibited germination of conidia of all three fungi and at high concentrations caused conidia of *B. Sorokiniana* to lyse. Atrophy and collapse of *D. tritici-repentis* hyphae were observed 24 h post-treatment. Thus, inhibition of mycelial growth, sporulation and germination of *Bipolaris*, *Drechslera* and *Septoria* species have been shown to be result from exposure to garlic juice *in vitro*. On the basis of our experimental results small scale experiments on living wheat plants and grain are in progress.

## UNTERSUCHUNGEN ZUM PHYTOPATHOGENEN RISIKO BEI DER ANAEROBEN VERGÄRUNG VON PFLANZLICHEN BIOMASSEN IN BIOGASANLAGEN

Schleusner, Yvonne; Jakob Müller, Monika Goßmann

Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Humboldt-Universität zu Berlin, FG Phytomedizin

Contact: y.schleusner@agrar.hu-berlin.de

The survival of 12 phytopathogens during fermentation in biogas plants was investigated. Diseased plant material of sorghum, rye, wheat, sugar beet and potato was introduced into model fermenter comprising a volume of 10 l. Potentially factors of influence such as incubation time, pre-treatment via siloing and post-treatment via storage of the digestates were accounted and tested in several repetitions. Eight out of twelve substrate-pathogen systems have been investigated by the Humboldt University, others by the cooperation partner Julius Kühn-Institut (JKI), the Federal Research Centre for Cultivated Plants. Thus we investigated the following pathogen-substrate combinations:

**sorghum** (fresh or ensiled), – *Fusarium proliferatum* und *Fusarium verticillioides*;  
**rye** (fresh or ensiled) – *Alternaria alternata*;  
**wheat** (grain) – *Alternaria alternata*;  
**sugar beet** – *Sclerotinia sclerotiorum* and  
**potato** – *Rhizoctonia solani*, Potato Virus Y (PVY) and *Synchytrium endobioticum*.  
Incubation times of the infected substrate of 6 h, 24 h and 138 h respectively were tested. The storage time of digestates amounted zero days, one or six months. The results show different incubation times for the inactivation of the pathogen are necessary. This depends on the substrate-pathogen system. Siloing and storage of the digestate reduce the incubation time which is necessary for complete inactivation of the phytopathogenic. In the context of the experiments the quarantine pathogen *Synchytrium endobioticum* could not be inactivated.

### **CYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN KEIMENDEN SPOREN VON ERYSIPIHE NECATOR**

Schmalschläger, Nils<sup>1</sup>; Hanns-Heinz Kassemeyer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Staatliches Weinbauinstitut, Abteilung Biologie, Merzhauser Str. 119, 79100 Freiburg (Deutschland)*

Contact: [hanns-heinz.kassemeyer@wbi.bwl.de](mailto:hanns-heinz.kassemeyer@wbi.bwl.de)

Since the powdery mildew of the grapevine (*Erysiphe necator*) infected the first European vineyards in 1848, it became a major problem of the viticultural industry. Despite its economic importance there are only very few basic information about the fungus physiology available. There is no knowledge about the cytologic developments on the germinating conidia. In microscopical studies the subcellular structures of the infection structures of *Erysiphe necator* were characterized using specific fluorescence markers. The early stage of the pathogen development is crucial for the infection process. The first 5h determinate whether the fungus will successfully infiltrate its host. This study concentrated on the distribution of the nucleus, the mitochondria and the endoplasmatic reticulum in the conidia. Because *E. necator* is an obligate biotrophic organism microscopic studies with fluorescent markers are complicated by the host leaves' background fluorescence. We avoided this effect by establishing an artificial surface where the fungus grew to the infection state. The results showed that all three examined organelles migrate mainly in the tip of the developing germtube. As the germtube shifts into the appressorium, the infection structure of *E. necator*, the organelles spread all over the new pattern. Examination of the actin and tubulin cytoskeleton development indicates that the tubulin cytoskeleton might be responsible for the transportation of the mitochondria. Additionally tests about the germination ability on *Arabidopsis thaliana*, glass and apple wax revealed that appressoria were formed on *A. thaliana* and wax, though no attempts of penetration could be traced. This outlines the strict host specificity of *E. necator*.

### **THE ROLE OF ROOT-ASSOCIATED MICROORGANISMS IN THE DESICCATION TOLERANCE OF RESURRECTION PLANTS**

Schouten, Alexander<sup>1</sup>, Philipp Gutbrod<sup>1</sup>, Dorothea Bartels<sup>2</sup>, Florian Grundler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*INRES-Molecular Phytomedicine, University of Bonn, Karlrobert Kreiten Strasse 13, 53115 Bonn, Germany*

<sup>2</sup>*Institute of Molecular Physiology and Biotechnology (IMBIO), University of Bonn, Kirschallee 1, 53115 Bonn, Germany*

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



Many plant species rely on the interactions with symbiotic microorganism in order to withstand or tolerate biotic and biotic stress situations. Desiccation tolerant plants, also known as resurrection plants, can survive the severest form of drought stress. Research has demonstrated that these plants are not exceptionally different from ordinary plants with respect to their gene content and seem to rely on delicate and balanced cell signaling and the accumulation of specific proteins and metabolites, resulting in a very controlled desiccation process of the vegetative plant parts. However, the role of microorganisms in this desiccation process has never been explored before. We show that the roots of resurrection plants can harbor fungi, which enhance the expression of desiccation-associated genes, such as those coding for late embryogenesis abundant (LEA) proteins. This suggests that root-associated fungi can support the desiccation tolerance among resurrection plants.

### **FUNGAL PATHOGENS WITH LOW RESISTANCE RISK TO QOI FUNGICIDES**

Simone Miessner<sup>1</sup>, Gerd Stammler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BASF SE, Agrarzentrum, Speyerer Strasse 2, 67117 Limburgerhof, Deutschland

Contact: [gerd.stammler@basf.com](mailto:gerd.stammler@basf.com)

Sequence analysis of the cytochrome *b* gene of some plant pathogenic fungi showed that the occurrence of the most important resistance mechanism for QoI fungicides, the G143A mutation, is relatively unlikely. This is due to the presence of an intron directly after codon 143. A mutation in this codon leading to the amino acid exchange from glycine to alanine would presumably lead to incorrect mRNA maturation and a non-functional, lethal protein. In most pathogens intron sequences have not been detected in immediate vicinity to the codons 129 and 137, where amino acid exchanges have also been found (F129L, G137R) to cause lower sensitivity to QoIs; therefore, the occurrence of those two mutations cannot be excluded. However the effects of F129L or G137R on field performance on QoI-fungicides are rather low. Therefore the overall resistance risk of pathogens with an intron after codon 143 in the cytochrome *b* gene to QoIs is estimated to be low.

### **OPTIMISATION OF A SCREENING SYSTEM FOR RESISTANCE OF SUGAR BEETS TO DAMPING-OFF AND RHIZOCTONIA ROOT AND CROWN ROT**

Carlos Berdugo, Christian Hillnhütter, Erich-Christian Oerke, Richard Sikora

INRES – Phytomedizin, Nussallee 9, 53115 Bonn, Germany.

Contact: [s7caberd@uni-bonn.de](mailto:s7caberd@uni-bonn.de)

One of the most limiting factors in sugar beet production is related to phytosanitary problems due to the basidiomycete fungus *Rhizoctonia solani* (teleomorph *Thanatephorus cucumeris*) causing damping-off early in the season and *Rhizoctonia* root and crown rot (RRCR). Several anastomosis groups of *R. solani* have been reported in sugar beet; AG 4 is the most frequent anastomosis group associated with damping-off and AG 2-2 is the causal agent of RRCR. Damages caused by these pathogens can be devastating in sugar beet crops by generating deficiencies in beet quality and significant quantitative yield losses. Strategies to control the disease, such as fungicide application, crop rotation and the use of resistant or tolerant varieties are used worldwide. The latter is one of the most efficient and environmentally safe alternatives in terms of plant disease management. In order to establish a standardised screening scheme for disease resistance, the use of liquid and solid inoculum of *R. solani* was tested. The mycelial concentration necessary to produce the inoculum, the inoculation site and the effect of plant growth stage on the development of the disease were evaluated. The use of

liquid inoculum results in a homogeneous disease incidence, becoming an accurate alternative to solid inoculum due to the fact that it enables the quantification of the amount of mycelium used to inoculate single plants. A direct contact among the plant and the inoculum accelerated the disease process reducing the number of escapes. A concentration of 4 mg of *R. solani* mycelia per ml water applied near to the beet crown was sufficient to generate homogeneous disease incidence. Higher disease incidence of *Rhizoctonia solani* AG 2-2IIIB and AG 4 was evident when younger plants were inoculated. Four weeks was the optimum plant age to inoculate sugar beet plants in order to generate *R. solani* infection since at this time no escapes were present.

### **PHYTOPHTHORA ROOT ROT OF *BUXUS SEMPERVIRENS* IN BAVARIA, POSSIBLY CAUSED BY THE NEW SPECIES *PHYTOPHTHORA HIMALSILVA***

Wolfgang W.P. Gerlach<sup>1</sup>, Roland Schubert<sup>2</sup>, T. Lehneis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Forschungsanstalt für Gartenbau Weihenstephan an der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, 85350 Freising, Germany

<sup>2</sup>Hochschule Zittau/Görlitz, 02763 Görlitz, Germany.

Contact: [wolfgang.gerlach@hswt.de](mailto:wolfgang.gerlach@hswt.de)

Repeatedly we received cuttings of *Buxus sempervirens* with root rot, which originated from Rumania, starting 2006 and subsequently also we received diseased boxwood plants from a nursery from near Landshut, Bavaria. The plants showed distinct root rot and stem rot, which was accompanied by partial or complete browning of branches and leaves. From all plants we could isolate on a selective medium *Phytophthora* cultures. These isolates could not be matched with any known species. The sporangia showed a certain similarity to *P. citrophthora*. In our isolates the sporangia were ovate to pyriform, with a distinct papilla and average sizes of 43.8  $\mu\text{m}$   $\times$  26.1  $\mu\text{m}$ . About 10% of the sporangia displayed a bent shape (mouse shape), as can be found occasionally with pear fruits. Generally the sporangia showed a very variable shape and size. Quite distinctly, all the isolates were homothallic, with aplerotic oogonia of a mean diameter 28.2  $\mu\text{m}$  and paragynous antheri-

indicated a minimal growth at 5°C, optimal growth at 25°C and an upper growth limit at 35°C. Preliminary comparisons of genomic sequences and phylogenetic analyses indicated that our isolates were closely related, if not identical to the just recently published new species of *Phytophthora himalsilva* Vettraino, Brasier & Vannini, which was known to occur only in Nepal. Further investigations are in progress.

#### References

Vettraino AM, Brasier CM, Brown AV & Vannini A, (2011). *Phytophthora himalsilva*, sp.nov. an unusually phenotypically variable species from a remote forest in Nepal. Fungal Biol 115, 175-287.

### **OPTIMAL CONDITIONS FOR THE PRODUCTION OF PSEUDOTHECIA AND THE DISCHARGE OF ASCOSPORES OF *VENTURIA INAEQUALIS***

Beatriz Lauria-Pluschkell, Hans Scheinpflug, Ulrike Steiner

INRES – Phytomedizin, Nussallee 9, 53115 Bonn, Germany.

Contact: [wolfgang.gerlach@hswt.de](mailto:wolfgang.gerlach@hswt.de); [beju.home@googlemail.com](mailto:beju.home@googlemail.com)

*Venturia inaequalis* is undoubtedly one of the most studied fungi, but there are still many questions not answered. An easy and efficient method that allows not only to get ascospores

in high quantities but also to maintain the leaf intact over longer periods of time was developed. The material allows studies with pseudothecia and ascospores throughout the entire year. We checked different temperatures for the storage of infested leaves. In contrast to data from literature light was not needed to produce pseudothecia and they were produced on both sides of the leaf. Studies showed that there was not a strict division between the ascogonia and the pseudoparaphysis phase. The population of pseudothecia on the surfaces of a leaf was heterogeneous; there were different developmental stages of pseudothecia on the leaf at the same time as well ascospores differing in maturity. Rain was not certainly needed to start the discharge of the ascospores, but dew formation was already sufficient to start this process. Moreover, under the conditions studied, the discharge lasted for several hours, also during night and darkness. The method of pseudothecia and ascospores production allows further in depth analysis of the sexual phase of *V. inaequalis*.

## AK NEMATOLOGIE, 15.03.2011

### **EINFLUß VON BODENSTRUKTUR UND RESSOURCENVERFÜGBARKEIT AUF DIE NEMATODENGESELLSCHAFTEN VOM OBERBODEN ZUR VADOSEN ZONE**

Ackermann, Michael<sup>1</sup>, Schütz, Kirsten<sup>2</sup>, Rueß, Liliane<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Biologie, AG Ökologie, Philippstr. 13, D-10115 Berlin*

<sup>2</sup>*Universität Basel, Institut für Biogeographie, Umweltwissenschaften, St. Johannes Vorstadt 10, CH- 4056 Basel*

Contact: michael.ackermann@biologie.hu-berlin.de

Die natürliche Reinigungswirkung von Waldböden zur Trinkwassergewinnung wird durch die Industriellen Werke Basel (IWB, Schweiz) seit Zeit langer genutzt. Das Waldgebiet „Langen Erlen“ nahe Basel wird periodisch mit vorgefiltertem Rheinwasser überflutet zur Anreicherung des Grundwasserstroms. Insbesondere über mikrobielle Prozesse wird das Wasser beim Weg vom Oberboden zur Grundwassersohle gereinigt. Die Aktivität von Mikroorganismen kann durch die Beweidung mittels Nematoden verstärkt werden, womit den Nematoden eine wichtige Rolle bei den biologischen Reinigungsprozessen zukommt. Untersucht wurden zwei Transekte von 0 - 2,4 m Tiefe in den Wasserstellen „Verbindungsweg“ (VW) und „Hintere Stellmatten“ (HST). Der Oberboden beider Wasserstellen besteht aus einer Mischung von Löß und Ton, in VW ca. 0,5m tief und in HST aufgrund zusätzlicher Auffüllung und Verdichtung ca. 1 m tief. Das Bodengefüge der vadosen Zone stellen Löß- und Sandfraktionen. Erfasst wurde die Nematodengesellschaften im Tiefentranspekt, d.h. die Populationsdichten sowie die Struktur der Arten und trophischen Gruppen. Des Weiteren wurden ökologische Indices ((*SI*) – Structure Index, (*EI*) – Enrichment Index, (*MI*) – Maturity Index, (*PPI*) – Plant Parasitic Index) auf Grundlage der Nematodengemeinschaft erstellt und mit Hilfe multivariater Statistik der Einfluss von physikalischen und biologischen Bodenparametern (DOC, Nitrate, Sulfate, pH,  $C_{mic}$ ) auf die Gemeinschaften der verschiedenen Horizonte analysiert. Folgende Hypothesen wurden untersucht: (1) Periodische Überflutung der Wasserstellen mit Rheinwasser führt zu einer erhöhten Nährstoffverfügbarkeit im Bodennahrungsnetz bis in tiefere Bodenhorizonte und erlaubt eine Besiedlung der vadosen Zone durch Nematoden. (2) Die unterschiedliche Bodenstruktur (chemische, physikalische Parameter) in den Wasserstellen verändert die Verfügbarkeit der Nährstoffe und beeinflusst somit die trophische Struktur der Nematoden entlang des Tiefengradienten.

### **AUSWIRKUNGEN VON UNTER- UND OBERIRDISCHEM KOHLENSTOFF-EINTRAG AUF DIE NEMATODENFAUNA EINES ACKERSTANDORTES**

Anika Scharroba<sup>1</sup>, Liliane Rueß<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Humboldt Universität zu Berlin Math.-Nat. Fakultät I Institut für Biologie FG Ökologie, Philippstr. 13, Haus 18 10115 Berlin*

Contact: anika.scharroba@biologie.hu-berlin.de

In terrestrischen Ökosystemen ist der Kohlenstofftransport, dessen Austausch zwischen Pflanzen und Mikroorganismen, und der Fluss durch das tierische Nahrungsnetz wenig erforscht. In einem Ackerstandort in Holtensen bei Göttingen wurde über zwei Vegetationsperioden hinweg die Nematodenfauna untersucht. Auf der Versuchsfläche wurden die Behandlungsvarianten Körnermais, Futtermais, Weizen und Weizen mit Maisstreu in jeweils 5 Replikaten im Streifendesign angeordnet. Ziel der Untersuchung ist der Vergleich

des Kohlenstoffflusses über den Wurzelkanal (Futtermais, Weizen) mit dem Eintrag über Rhizosphäre und Streu (Körnermais, Weizen mit Maisstreu). Die Nematodenfauna wurde im Oberboden (0-10cm), der Wurzelzone (40-50 cm) und der wurzelfreien Zone (60-70 cm) analysiert. Die Populationsdichte der Nematoden ging mit zunehmender Bodentiefe stark zurück ( $P < 0,001$ ) und zeigte sich bei beiden Ackerfrüchten abhängig vom jahreszeitlichen Verlauf ( $P < 0,001$ ). Der zusätzliche Ressourceneintrag über Maisstreu begünstigte die Nematodendichte im Oberboden. Hierbei waren die Effekte der Bewirtschaftung als Futtermais nachhaltiger, als die Ausbringung von Maisstreu im Weizen. Insgesamt wurden bis zu 20 Nematodenfamilien im Oberboden bestimmt. Die trophische Struktur dominierten dabei die Bakterienfresser (Rhabditidae, Cephalobidae) und Pilzfresser (Aphelenchidae). Anhand des Enrichment- und Structure Index kann von einem basalen, nährstoffreichen Nahrungsnetz mit geringem C/N-Verhältnis ausgegangen werden, wobei der Abbau von Ressourcen größtenteils durch Bakterien erfolgt. Dies wird durch den Channel Index ( $CI < 50$ ) unterstützt. Der Maturity Index ( $1 < 2$ ) und Plant Parasite Index ( $2 < 2,5$ ) wiesen auf ein gestörtes System hin. Insgesamt spiegelte die Nematodenfauna die Bedingungen des intensiv genutzten Ackerstandortes wider.

## **ZUM EINFLUSS VON KULTURRAPSAUF RÜBENZYSTENNEMATODEN**

Augustin, Bernd

55545 Bad Kreuznach

Contact: [bernd.augustin@dlr.rlp.de](mailto:bernd.augustin@dlr.rlp.de)

Zwischen 2006 und 2010 wurde der Einfluss von Winterraps auf die Populationsdynamik des Rübenzystennematoden unter Feldbedingungen untersucht. Zu diesem Zwecke wurden insgesamt 20 Winterrapsflächen in Rübenfruchtfolgen vor der Rapsaussaat, unmittelbar nach der Ernte und nach der Bekämpfung des Ausfallrapses beprobt. Im Radius von 10 m um einen GPS-markierten Punkt wurden die Bodenproben bestehend aus jeweils 20-30 Einstichen in 0-30 cm Tiefe gezogen. Bei einer Ungenauigkeit des GPS-Signales von  $\pm 4$  m gewährleistete die rationelle Parzellenmarkierung dass bei den aufeinander folgenden Beprobungen 80 % der Ursprungsfläche wieder erfasst wurden. Die Untersuchung der Bodenproben auf Rübenzystennematoden erfolgte mittels Schlupftest (Acetox-Methode). Bei allen Proben wurden die L2-Larven ausgezählt. Im Rahmen des „Gemeinschaftsprojektes zur Erhaltung und Förderung eines zukunftsfähigen Zuckerrübenanbaus in Rheinland-Pfalz“ wurden die Proben im Jahre 2009 zusätzlich mittels einer semiquantitativen PCR ausgewertet. Mit Hilfe der Primer ITS1-f40\* und ITS1-r380\* wurde die DNA-Sequenz von *H. schachtii* in den Proben nachgewiesen. Referenzproben definierter Zahlen von L2-Larven ermöglichten anhand der optischen Beurteilung der Bandenstärke eine grobe, quantitative Bewertung des Nematodenbesatzes.

Der Vergleich der Ergebnisse zeigte eine gute Übereinstimmung zwischen Larvenzählung und PCR. Lediglich bei einer Probe ( $P_i$  vor der Aussaat) ergab die Auszählung deutlich höhere Werte, die möglicherweise auf Larven von Getreidezystennematoden zurückführbar waren.

Die Ergebnisse zeigten, dass der Kulturraps 2009 auf maximal einer von 14 auswertbaren Flächen zu einer Vermehrung des Rübenzystennematoden führte. Auf der überwiegenden Anzahl der Flächen konnte ein mehr oder weniger starker Rückgang der Population festgestellt werden.

Aufgrund der außergewöhnlich feuchten Sommerwitterung in 2010 konnte die Ausfallrapsbekämpfung nicht auf allen Flächen termingerecht durchgeführt werden. Auf drei Flächen führte dies zu einer Zunahme der Rübenzystennematodenpopulation.

## **HETERODERA SCHACHTII-BESATZ IN 30-60 CM BODENTIEFE. WELCHEN EINFLUSS NIMMT DIESE POPULATION AUF DAS ERTRAGSVERHALTEN VON ZUCKERRÜBEN?**

Heinrichs, Christian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Pflanzenschutzdienst, Siebengebirgsstraße 200, 53229 Bonn*

Contact: [christian.heinrichs@lwk.nrw.de](mailto:christian.heinrichs@lwk.nrw.de)

Bei den Exaktversuchen (Ertragsleistung nematodenresistenter und –toleranter Zuckerrüben im Vergleich zu einer Standardsorte) des Pflanzenschutzdienst der LWK NRW wurden 2010 auf 6 Standorten neben der Ackerkrume die einen Horizont bis 30 cm Bodentiefe abdeckt auch der Unterboden von 30–60 cm auf seine Nematodenbelastung hin untersucht. Auslöser für diese Untersuchungen waren die hohen Mehrerträge der nematodentoleranten Sorten in den Versuchen der Vorjahre, die selbst bei geringen Befallszahlen in der Ackerkrume auftraten. Die Untersuchungen aus 2010 bestätigen, dass der Unterboden sehr hohe Nematodenbelastungen aufweisen kann selbst wenn in der Krume kaum Nematoden zu finden sind. Während es in der Ackerkrume in Folge der hohen biologischen Aktivität und zusätzlichem Zwischenfruchtanbau mit resistentem Ölrettich oder Senf zu einem Populationsabbau kommt, wird die Belastung im Unterboden konserviert. Teilweise befindet sich bis zu 80 % der Nematodenpopulation in dem Bereich von 30-60 cm. Die Untersuchungen bestätigen damit die Wachstumsbeobachtungen aus den Vorjahren. Die Rübenpflanze zeigt in der Jugendentwicklung keine auffälligen Beeinträchtigungen im Wachstum. Auch die Standardsorten entwickeln in der kaum belasteten Krume eine starke Hauptwurzel ohne Wurzelbart. Erst wenn Wassermangel die Rübenpflanze zwingt auch tiefere Bodenschichten zu erschließen, treten die Sortenunterschiede auf. Dies kann auch eine Erklärung dafür sein, dass gerade in der Trockenregion des südlichen Rheinlandes die Ertragsvorteile der toleranten/resistenten Sorten so deutlich ausfallen. Interessant ist weiterhin das zur Ernte der Zuckerrüben sowohl in der Ackerkrume als auch im Unterboden weitgehend die gleichen Vermehrungsfaktoren auftreten.

Unstrittig bleibt bei den Versuchsauswertungen aber die Tatsache, dass für die Hauptschädigung der Rübe die Nematoden aus den obersten 30 cm der Ackerkrume verantwortlich sind. Untermuert wird diese Erkenntnis durch den Versuch mit Spätsaat der Rüben, bei dem auf Grund der höheren Bodenwärme schon direkt die kleine Keimwurzel angegriffen wurde und die Erträge der Standardsorte extrem zurückgingen. Erst wenn darüber hinaus weitere ungünstige Wachstumsbedingungen auftreten, scheinen auch die unteren Horizonte an Bedeutung zu gewinnen. Die bisherigen Ergebnisse beruhen auf einjährigen Daten, die mit weiteren Versuchen abgesichert werden müssen. Ob dann letztlich ein Umdenken stattfinden muss, bleibt abzuwarten.

## **DETECTION, DIAGNOSIS AND OCCURRENCE OF PHYTOSANITARY GLOBODERA SPP. IN AUSTRIA**

Ines Gabl<sup>1</sup>, Hermann Hausdorf<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*AGES, Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien*

Contact: [ines.gabl@ages.at](mailto:ines.gabl@ages.at)

Detection, diagnosis and occurrence of phytosanitary Globodera spp. in Austria Ines Gabl, Hermann Hausdorf Austrian Agency for Health and Food Safety, Institute for Plant Health, Spargelfeldstraße 191, A-1220 Vienna, [ines.gabl@ages.at](mailto:ines.gabl@ages.at) The potato cyst nematode (PCN) species Globodera rostochiensis and Globodera pallida belong to the most important potato pests in temperate regions. Regulation and control of these quarantine pests follow the EU



directive 2000/29/EC and 2007/33/EC on the control of potato cyst nematodes. Detection and diagnosis of PCN in Austria are carried out at the official federal laboratory for plant health, the Institute of Plant Health (AGES), according to ISO 17025 and the relevant EPPO diagnostic protocol PM 7/40. At present mainly 2 methods for detection are applied: •the PCN-extraction with the MEKU-soil extractor which separates the cysts from organic material in soil samples. This test is performed as a laboratory test. •the “biotest” (bioassay) for determination of pathotypes and virulence groups of PCN in production sites of ware and seed potatoes. Globodera populations can be tested on a set of resistant potato cultivars with an 8 to 10 weeks greenhouse test. Testing of soil samples from propagation (seed) potato production sites in Austria during the last 5 years (of approximately 7000 samples per year) have shown an infestation rate between 0,3 and 1,7 %. New potato cultivars against pathotypes and virulence groups of *G. rostochiensis* and *G. pallida*, are tested in a greenhouse test under controlled climate conditions following the protocol in appendix IV of the Council Directive 2007/33/EC.

### **CELLULASE DIVERSITY IN ROOT LESION NEMATODES**

Maboreke, Hazel R.<sup>1</sup>, Rybarczyk-Mydlowska, Katarzyna<sup>2</sup>, Helder, Johannes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Humboldt University, Institute of Biology, Ecology Group, Philippstr. 13, 10115 Berlin*

<sup>2</sup>*Wageningen University, Department of Plant Sciences, Laboratory of Nematology, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Wageningen, Netherlands*

Contact: zeemaboreke@yahoo.co.uk

Most of the economically high impact plant parasitic nematode species such as cyst, root-knot and root lesion nematodes are in the order Tylenchida. The relationship between root-knot (*Meloidogyne*) and lesion nematodes (*Pratylenchus*) is interesting as neutral molecular data (SSU rDNA) suggest that root-knot nematodes arose from lesion nematodes. To date, all plant parasitic nematodes members of the Tylenchida harbour glycosyl hydrolase family (GHF) 5 cellulases. If these GHF5 cellulases are functionally similar (*i.e.* all contributing in a comparable way to plant cell wall penetration), one might hypothesize that these genes behave as neutral genes. In order to elucidate the evolutionary relationship within Pratylenchidae, and between the families Pratylenchidae and Meloidogynidae, a range of cellulases were identified and characterized for individual members of the genera *Hirschmanniella* and *Pratylenchus* (using single nematodes as starting material). Gene fragments were amplified and cloned from genomic DNA using polymerase chain reaction (PCR) with degenerate primers for  $\beta$ -1,4-endoglucanase. Three full length  $\beta$ -1,4-endoglucanase gene sequences were obtained from both *Hirschmanniella gracilis* and *Pratylenchus vulnus*. Phylogenetic analysis of  $\beta$ -1,4-endoglucanase amino acid sequence revealed that some  $\beta$ -1,4-endoglucanase gene from *P. vulnus* as well as all cellulases from *Hirschmanniella* cluster with cellulases from Heteroderidae. This is remarkable as SSU rDNA data suggest for a distant relationship between Pratylenchidae and Heteroderidae. Introns were found in conserved regions suggesting that intron positions were established before the different lineages diverged. The current findings point to the GHF5  $\beta$ -1,4-endoglucanase genes having been acquired by a common ancestor of the Meloidogynidae and the Pratylenchidae.

## **CONTROLLING MELOIDOGYNE INCOGNITA IN TOMATO BY CO-INOCULATION OF THE BIOCONTROL AGENTS FUSARIUM OXYSPORUM STRAIN FO162 AND RHIZOBIUM ETLI STRAIN G12**

Martinuz, Alfonso<sup>1</sup>, Schouten, Alexander<sup>2</sup>, Sikora, Richard A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRES-Plant Health, University of Bonn, Nussallee 9, 53115 Bonn, Germany

<sup>2</sup>INRES-Molecular Phytomedicine, University of Bonn, Karlrobert-Kreiten-Strasse 13, 53115 Bonn, Germany

Contact: martinuz@catie.ac.cr

Both the endophytic fungus *Fusarium oxysporum* strain Fo162 and bacterium *Rhizobium etli* strain G12 have been shown to systemically reduce the colonization of the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. The simultaneous application of both organisms may herefore be a strategy to further increase the biocontrol efficacy. Through a triple split-root experiment we determined that the simultaneous but spatially-separated inoculation of both endophytes did not lead to a significant additive effect with respect to reducing *M. incognita* penetration. Furthermore, this co-inoculation showed a significant reduction in root colonization by Fo162. A split-root experiment showed that the simultaneous but spatially-separated inoculation of both Fo162 and G12 again resulted in a reduction in Fo162 colonization, indicating that the fungus can be systemically repressed by the bacterium. Antibiosis tests indicated that there was a reduction in radial growth of Fo162, when challenged with G12, suggesting that the fungus can be also directly affected by the bacterium, probably by the production of secondary metabolites. The overall results indicated that the co-inoculation with the endophytic fungus Fo162 and the endophytic bacterium G12 cannot really enhance the biocontrol efficacy against the nematode *M. incognita*, which is most likely attributed to direct and indirect interactions between the two biocontrol organisms. Thus, although Fo162 and G12 have the ability to induce systemic resistance towards *M. incognita*, they can be considered incompatible biocontrol agents when combined together.

## **BODENVERSCHLEPPUNG WÄHREND DES KARTOFFELANBAUS UND DAS DAMIT VERBUNDENE RISIKO DER VERBREITUNG VON KARTOFFELZYSTEN-NEMATODEN**

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

<sup>1</sup>PPO-AGV, Wageningen UR, Edelhertweg 1, NL-8219 PH Lelystad, Niederlande

<sup>2</sup>Plant Research International, WUR, Plant Science Group

Contact: leendert.molendijk@wur.nl

Kartoffelzysten-Nematoden (*Globodera pallida/rostochiensis*) sind noch immer einer der bedeutendsten Schädlinge im europäischen Kartoffelanbau. Allerdings wissen wir nur wenig darüber, ob bzw. inwieweit ein Risiko besteht, dass dieser Schädling durch kulturtechnische (Bodenbearbeitung) als auch erntetechnischen Praktiken (Rodung, Sortieren) weiter verschleppt wird. Daher wurde unter Führung von PRI (Plant Research International, Wageningen UR) und PPO-AGV (Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, Wageningen UR) ein entsprechender Feldversuch durchgeführt. Dabei wurde zunächst ein ca. 240m<sup>2</sup> großer Befallsherd mit Plastikzysten simuliert, der im Zentrum eine Befallsdichte von 350 Zysten/kg Boden aufwies (insgesamt beinahe 8 Mio. Zysten). Nachfolgend wurden auf dieser Parzelle Kartoffeln angebaut. Während des Pflanzens, der Bodenbearbeitung, der Rodung und dem Sortieren der Kartoffeln wurde jeweils evaluiert, inwieweit dies ein Risiko für die ungewollte Verbreitung der Zysten darstellt. Zusammenfassend stellte sich dabei heraus, dass sich der Verseuchungsherd durch das Pflanzen, Anhäufeln und durch andere Maßnahmen der Bodenbearbeitungen um mehr als 15 m in beide Richtungen ausgeweitet hatte.



Demgegenüber führte das Roden der Kartoffeln zu keiner weiteren Verbreitung der Zysten. Ferner konnte gezeigt werden, dass sich sehr viele Zysten sowohl im Boden befanden, der sich während des Rodens auf dem Kipper angesammelt hatte, als auch viele Zysten im Boden waren, der während des Sortierens der Kartoffeln anfiel. Insgesamt wurde in diesen beiden Fraktionen mehr als 11000 Zysten nachgewiesen. Somit zeigt diese Studie, dass besagte „Resterde“ eine bedeutendes phytosanitäres Risiko darstellt!

## **EINFLUSS DER BIOFUMIGATION AUF DIE BODENGESUNDUNG UND AUF DIE WUCHSLEISTUNG VON ROSENUNTERLAGEN AUF BAUMSCHULBÖDEN**

Nitt, Heike<sup>1</sup>, Dr. Bettina Golecki,<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Abt. Pflanzenbau, Pflanzenschutz, Gartenbauzentrum, Thiensen 22, 25373 Ellerhoop

<sup>2</sup>Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Abt. Pflanzenbau, Pflanzenschutz, Westring 383, 24118 Kiel

Contact: [hnitt@lksh.de](mailto:hnitt@lksh.de)

In einem im Mai 2009 angelegten Versuch auf einer gerodeten Rosenfläche auf dem Versuchsfeld des Pflanzenschutzdienstes wurde die Methode der Biofumigation mit der Ölrettichsorte ‚Defender‘ und der Sareptasensorte ‚Terraplus‘ mit den Varianten Tagetesanbau (*Tagetes erecta*), Schwarz- und Grünbrache verglichen. Als ein wichtiger Indikator der unspezifischen Bodenmüdigkeit wurden die Varianten auf den Befall mit wandernden Wurzel nematoden untersucht. Bezogen auf die Pratylenchuspopulation zeigte die Tagetesvariante im Vergleich zu den Biofumigations- und den übrigen Varianten bei den Mitte August erfolgten Probenahmen die größte Reduktionsleistung. Einen Monat nach erfolgter Biofumigation wurde auf den Ölrettichparzellen Sandhafer der Sorte ‚Pratex‘ ausgesät, die Schwarzbrache wurde mit Basamid Granulat behandelt. In 2010 sind zur Beurteilung der Nachbauleistung Rosensämlinge (*Rosa corymbifera* ‚Laxa‘) als Folgekultur auf der Versuchsfläche ausgesät worden. Die Sorte ‚Laxa‘ ist dafür bekannt, dass sie besonders empfindlich auf im Boden vorhandene Pratylenchen reagiert. Mit Untersuchungen auf wandernde Wurzel nematoden sowie der Bonitur der Wuchsleistung der Rosenpflanzen wurden die verschiedenen Anbauvarianten auf ihre Praxistauglichkeit hin miteinander verglichen. Auffällig an dem Standort war ein hoher Besatz mit *Meloidogyne spp.* der sich ebenfalls negativ auf die Wuchsleistungen der Rosen ausgewirkt hat. Der Versuch wurde von der Stiftung Schleswig-Holsteinische Landschaft im Rahmen eines Projektes zur Erforschung der Bodenmüdigkeit gefördert.

## **IST DIE STRUKTUR LIMNISCHER NEMATODENGEMEINSCHAFTEN "BOTTOM-UP" GEPRÄGT?**

Ristau, Kai<sup>1</sup>, Traunspurger, Walter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Bielefeld, Abt. Tierökologie, Morgenbreede 45, 33615 Bielefeld, Germany

Contact: [kai.ristau1@uni-bielefeld.de](mailto:kai.ristau1@uni-bielefeld.de)

Unter den Organismengruppen des Meiobenthos gehören die Nematoden zu den individuen- und artenreichsten. Im komplex verwobenen benthischen Nahrungsnetz besetzen sie mehrere trophische Ebenen und werden durch eine Vielzahl abiotischer- wie biotischer Faktoren beeinflusst. Vergangene Studien lieferten allerdings nur wenige Erkenntnisse wie wichtig die jeweiligen Faktoren für die Strukturierung limnischer Nematodengemeinschaften sind. Zur Beantwortung der Frage welche relative Bedeutung Bottom-up und Top-down Faktoren für die Regulation von Lebensgemeinschaften eines Sees haben, wurden bis heute fast

ausschließlich pelagischen Organismengruppen untersucht. Unsere Studie ging nun erstmals der Fragestellung nach, ob Bottom-up Effekte sich in der Struktur der Nematofauna nachweisen lassen. Zu diesem Zweck wurden der Einfluss der Nährstoffkonzentration auf die Artzusammensetzung der Nematoden in einer Freilandstudie sowie einer Modellökosystemstudie untersucht. Übereinstimmend zeigten beide Studien eine signifikant negative Korrelation zwischen dem Artenreichtum und dem Nährstoffstatus. Während die Abundanz der Nematoden in den natürlichen Seen kaum vom Trophiestatus beeinflusst war, fiel sie mit zunehmender experimenteller Nährstoffanreicherung deutlich ab. Multivariate Analysen verdeutlichten, dass die Artgemeinschaften der natürlichen Seen aus zwei distinkte Gruppen bestehen. Die Gemeinschaften oligotropher sowie mesotropher Seen waren sehr ähnlich, grenzten sich aber von Proben aus eutrophen Seen ab, die eine eigene charakteristische Zusammensetzung aufwiesen. Im Gegensatz zeigte sich eine eindeutig graduelle Veränderung der Artenkomposition in der Modellökosystemstudie. Die Ergebnisse beider Studien lassen vermuten, dass freilebende Nematoden direkter an pelagische Nährstoffprozesse gekoppelt sind, als bisher angenommen.

### **NAHRUNGSWAHLPRÄFERENZEN BEI PLECTUS ACUMINATUS**

Seiml-Buchinger, René<sup>1</sup>, Rueß, Liliane<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Biologie/Ökologie, Philippstraße 13, Haus 18, 10115 Berlin, Deutschland

Contact: rseimlbuchinger@yahoo.de

Für freilebende bakterivore Nematoden wie *Plectus acuminatus* ist die Frage der Nahrungsressource von entscheidender Bedeutung. Welche Bakterien stehen zu Verfügung? Sind sie toxisch? Wo findet man sie in ausreichender Anzahl? Um der Frage der Nahrungswahl bei *P. acuminatus* nachzugehen, wurden Individuen aus Kultur mit einer diversen Bodenbakteriengemeinschaft auf ihre Fraßpräferenz hin untersucht. Zur Auswahl standen zwei Bodenbakterien, *Pseudomonas putida*, das häufigste gram-negative Bakterium im Rhizosphärenraum, und *Bacillus subtilis*, eine dominante gram-positive Form des Gesamtbodens. Daneben wurden zwei gram-negative Darmbewohner, *E. coli* & *Serratia liquefaciens*, beide beim Menschen vorkommend, angeboten. Alles sind stäbchenförmig-begeißelte Bakterien in der Größenklasse von 2-5 µm, sie wurden alle auf dem gleichem Standardmedium kultiviert.

Die Hypothese war, dass *P. acuminatus* als Bodennematode an Bodenbakterien bevorzugt frisst, wenn verschiedene bakterielle Nahrungsquellen angeboten werden. Auf Wasseragarplatten hatten je 20 Nematoden 24h bei 20°C Zeit, sich zwischen jeweils zwei Bakterienarten und Kontrollarealen ohne Nahrung zu entscheiden. Es wurden alle sechs möglichen Kombinationen der vier Bakterienstämme in je sechs Replikaten getestet. Im direkten Vergleich wurde jeweils ein Bakterium signifikant bevorzugt. Insgesamt wurde deutlich, dass *E. coli* die bevorzugte Nahrung darstellt, gefolgt von *P. putida* und *S. liquefaciens*. *B. subtilis* wurde in keinem Versuch präferiert. Entgegen der Hypothese wurden generell gram-negativen Bakterien, unabhängig vom Habitat, bevorzugt, während das gram-positive Bodenbakterium gemieden wurde.

## **INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE POPULATION DEVELOPMENT OF BEET CYST NEMATODES AND SUGAR BEET GROWTH PARAMETERS.**

Vandenbossche Bart<sup>1</sup>, Niere Björn<sup>1</sup>, Vidal Stefan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut (JKI), Federal Research Centre of Cultivated Plants, Institute of National and International Plant Health, 38104 Braunschweig, Germany

<sup>2</sup>Georg-August-University Göttingen, Department for Crop Sciences, Section Agricultural Entomology, Grisebachstrasse 6, 37077 Göttingen, Germany

Contact: Bart.vandenbossche@jki.bund.de

The white beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*, is a major nematode pest in sugar beet production. The yellow beet cyst nematode, *Heterodera betae*, is less prevalent but has also been found damaging beet crops. However, knowledge about the damage potential and population dynamics of the yellow beet cyst nematode is limited. The amount of damage inflicted by nematodes is dependent on different factors. An important factor influencing the sugar beet yield decline by beet cyst nematodes is the soil temperature. We tested the hypothesis that increasing temperatures in the soil due to global warming will contribute to higher population levels of these beet nematodes. Two climate chamber experiments were carried out to investigate beet cyst nematode population development on susceptible sugar beet plants. Baseline temperature regimes ( $R_1$ ) were compared with regimes simulating situations in which temperatures were 4 °C higher ( $R_2$ ). In experiment 1 (29 weeks), temperatures were gradually increased from 8°C to 22°C ( $R_1$ ) and 12°C to 26°C ( $R_2$ ). In experiment 2 (23 weeks), temperatures were increased from 12°C to 22°C ( $R_1$ ) and 16°C to 26°C ( $R_2$ ), simulating the effect of late sowing at a higher temperature. Results on the influence of temperature on the beet cyst nematode population densities and sugar beet growth parameters are presented.

## Mitteilungen und Nachrichten

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

### Bericht zur Tagung des DPG-Arbeitskreises „Nematologie“ und des Arbeitskreises „Freilebende Nematoden“

In 2011 tagte der Arbeitskreis „Nematologie“ der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG) gemeinsam mit dem Arbeitskreis „Freilebende Nematoden“ vom 15. bis 16. März am Plant Protection Service in Wageningen, Niederlande. Ein ganz besonderer Dank gebührt Frau Dr. Loes DEN NLS für die hervorragende Organisation vor Ort. An der Arbeitskreistagung nahmen 75 Teilnehmer aus Deutschland, Niederlande, Österreich und Schweiz teil. In 25 Vorträgen und 11 Postern wurden aktuelle Arbeiten zu pflanzenparasitären und freilebenden Nematoden aus verschiedensten Bereichen, von grundlagenorientiert bis hin zu angewandt, vorgestellt. Sämtliche Kurzfassungen der Arbeitskreistagung sind auf der Homepage der DPG ([www.phytomedizin.org](http://www.phytomedizin.org)) einzusehen. Nach 8 Jahren Tätigkeit als Leiter bzw. stellvertretender Leiter des Arbeitskreises Nematologie haben Dr. Johannes HALLMANN und Dr. Peter KNUTH ihre Ämter zur Verfügung gestellt. Als neuer Arbeitskreisleiter wurde Dr. Matthias DAUB (Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Dürerstraße 71, 50189 Elsdorf, [matthias.daub@jki.bund.de](mailto:matthias.daub@jki.bund.de)) gewählt und als stellvertretende Arbeitskreisleiterin Dr. Ulrike HAKL (Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Pflanzenschutzdienst, Siebengebirgsstraße 200, 53229 Bonn, [ulrike.hakl@lwk.nrw.de](mailto:ulrike.hakl@lwk.nrw.de)). Die nächste Tagung der beiden Arbeitskreise findet am 13./14. März 2012 an der Humboldt-Universität zu Berlin statt. Die Organisation vor Ort hat dankenswerterweise Prof. Dr. Liliane RUESS übernommen.

Für den AK Nematologie:  
Dr. Johannes HALLMANN (JKI, Münster),  
Dr. Peter KNUTH (LTZ Augustenberg);  
für den AK „Freilebende Nematoden“:  
Prof. Dr. Liliane RUESS  
(Humboldt Universität zu Berlin)

Die Zusammenfassungen einiger Vorträge werden im Folgenden wiedergegeben.

#### 1) Einfluss tief-liegender Populationen von *Heterodera schachtii* auf verschiedene Zuckerrübenotypen

Andreas WESTPHAL<sup>1</sup>, Matthias DAUB<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Toppheideweg 88, 48161 Münster

<sup>2</sup> JKI, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Dürerstraße 71, 50189 Elsdorf

E-Mail: [andreas.westphal@jki.bund.de](mailto:andreas.westphal@jki.bund.de)

*Heterodera schachtii* zählt zu den Hauptschädlingen im Zuckerrübenanbau in Deutschland. Fruchtfolgegestaltung, Anbau resistenter Zwischenfrüchte und resistente oder tolerante Rübenotypen sind Teil eines integrierten Nematodenmanagements. Die Populationsdichte von Nematoden wird routinemäßig im Oberboden (bis 30 cm Tiefe) bestimmt. In verschiedenen Feldversuchen in Deutschland und Belgien wurden hohe

Populationsdichten unterhalb der Ackerkrume festgestellt. In diesem Projekt wurde in zwei Versuchsansätzen die Wirkung von Rübenzystemnematoden in verschiedenen Bodentiefen auf das Wachstum von Zuckerrüben untersucht. Im ersten Versuch wurden PVC-Röhren mit einem 30-cm Durchmesser senkrecht auf 60 cm Bodentiefe im Feld eingelassen und mit gedämpfter Erde in Tiefenabschnitten von 0-30 cm und 30-60 cm gefüllt. Ein Teil der Erde wurde mit 550 Eiern/100 g Boden von *H. schachtii* inokuliert, um vier Behandlungen zu etablieren: (NI) nicht inokuliert; (KI) inokuliert 0-60 cm Tiefe; (FI) inokuliert 0-30 cm Tiefe; und (TI) inokuliert 30-60 cm Tiefe. Jede Behandlung wurde mit Zuckerrübensorten besät: 'Beretta' (anfällig), 'Sanetta' (resistent) oder 'Pauletta' (tolerant). Nach drei Wochen waren Rübensämlinge in allen inokulierten Plots infiziert. Fünf Wochen nach Aussaat hatten die Blattapparate in NI den größten und in KI den kleinsten Durchmesser, wohingegen FI und TI einen mittleren Rang einnahmen. Die bereinigten Zuckererträge waren in den nicht-inokulierten Varianten am höchsten, in TI am zweit-höchsten und in KI am geringsten. In zwei weiteren Versuchen in 1 m<sup>2</sup> Parzellen mit den gleichen Sorten wurden natürlich-vorkommende Populationen mit Fosthiazate in bestimmten Bodentiefen unterdrückt. In einem dieser Tests, war der Ertrag am höchsten, wenn eine Behandlung mit Nematizid auf voller oder der Ackerkrumentiefe erfolgte und am geringsten in der Kontrolle ohne Nematizid. Zusammenfassend wurde festgehalten, dass tief-vorkommende Populationen Rübensämlinge bereits früh in der Vegetationsperiode erreichen und infizieren konnten. Das prinzipielle Schadpotential von Nematoden aus tieferen Bodenschichten auf das Rübenwachstum wurde festgestellt, weitere Versuche unter Feldbedingungen müssen die Effekte validieren.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

#### 2) Ein einfacher Bioassay zur Bestimmung von *Heterodera schachtii* Befall

Annabell MEINECKE<sup>1</sup>, Andreas HERMANN<sup>2</sup>, Andreas WESTPHAL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland,

Toppheideweg 88, 48161 Münster

<sup>2</sup> Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, Lange Point 10, 85354 Freising

E-Mail: [andreas.westphal@jki.bund.de](mailto:andreas.westphal@jki.bund.de)

*Heterodera schachtii* verursacht große Ertragsverluste im Zuckerrübenanbau. Neuerdings stehen nun tolerante und resistente Sorten zur Verfügung. Da resistente Sorten bei Nichtbefall ein geringeres Ertragspotential als Standardsorten haben, muss der Befall mit *H. schachtii* auch bei Mischinfektion mit anderen Zystemnematoden quantifiziert werden. In einem Bioassay, wurden 50 g Boden (TS) in Glascontainern eingewogen und mit Radieschen besät. Nach Inkubation für vier Tage bei 16/8 h und 28/23 °C wurden die Sämlingswurzeln ausgewaschen, mit Säurefuchsin gefärbt, und die eingewanderten Nematoden gezählt. Vorversuche mit verschiedenen pflanzenparasitären Nematoden ergaben, dass nur bei *H. schachtii* mit einer Einwanderung zu rechnen war, Durchdringung mit *H. avenae*, *H. filipjevi*, *Globodera* spp., *Meloidogyne hapla* und *Pratylenchus penetrans* war vernachlässigbar gering. Bei Inokulation mit Juvenilen von Mischpopulationen aus *H. schachtii* und Getreidezystemnematoden zeigten sich keine Veränderungen der Durchdringungswerte des Rübenzystemnematoden; auch in unterschiedlichen Bodenarten waren diese quantitativ von der Inokulationsdichte abhängig. Der Bioassay wurde mit anderen Methoden an Feldboden von zwölf Standorten in Franken



verglichen. Im Vergleich der drei Methoden (BA) Bioassay, (EX) Extraktion von Zysten mit Inhaltsbestimmung und (AC) Acetox-Methode, waren die Populationsdichtebestimmungen von BA und EX mit  $R^2 = 0,6$ , von EX und AC mit  $R^2 = 0,5$ , und BA und AC mit  $R^2 = 0,4$  korreliert. Der Bioassay war zeitsparend, hatte eine hohe Selektivität, und bildete die Populationsdichten quantitativ ab. Böden mit hohen Tongehalten waren leicht zu verarbeiten. Die Bodenproben mussten bald nach Probenahme verarbeitet werden. Schwierigkeiten bei der Einschätzung gesunder und kranker Eier sowie die Unterscheidung von anderen Zysten nematoden, wie sie bei der Extraktion typischerweise auftreten, entfielen. Auch ist die Aufbereitung der Bodenproben mit der Acetoxmethode ähnlich aufwendig wie im Bioassay. Der Bioassay bot eine schnelle, genaue und einfache Methode zur Bestimmung von *H. schachtii* Befallsdichten, und könnte so einen Platz in Management Systemen einnehmen.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

### 3) ProGemüse: Reduzierung pflanzenparasitärer Nematoden im Gemüsebau

Esther RADTKE<sup>1</sup>, Ulrike HAKL<sup>1</sup>, Johannes KESSLER<sup>1</sup>, Leendert MOLENDIJK<sup>2</sup>, Johannes HALLMANN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Pflanzenschutzdienst, Siebengebirgsstraße 200, 53229 Bonn-Roleber

<sup>2</sup> Applied Plant Research, Wageningen University and Research Centre, Plant Sciences Group, Edelhertweg 1, NL-8219 PH Lelystad, Niederlande

<sup>3</sup> Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Toppeideweg 88, 48161 Münster

E-Mail: esther.radtke@lwk.nrw.de

In der euregio rhein-maas-nord (Niederrhein – Limburg) hat die industrielle Verarbeitung von Gemüse, wie z.B. Möhren, Spinat, Sellerie, Zwiebeln, Bohnen und Erbsen, eine große wirtschaftliche Bedeutung. Infolge der intensiven Flächennutzung treten zunehmend Schäden durch pflanzenparasitäre Nematoden auf, Ertrags- und Qualitätsverluste sind die Folge. Auf deutscher und niederländischer Seite werden unterschiedliche Strategien zur Erfassung von Nematodenschäden sowie deren Bekämpfung eingesetzt. Dies ist angesichts der grenzüberschreitenden landwirtschaftlichen Aktivitäten und Warenströme wenig effizient und führt im Falle der Nematodenerfassung und -bekämpfung zu teils gegensätzlichen Vorgehensweisen. In dem grenzüberschreitenden Projekt wird das in Deutschland und den Niederlanden vorhandene Wissen zusammengetragen. Praktiker, Verarbeiter, Berater und Wissenschaftler setzen sich zusammen, tauschen ihre Erfahrungen aus und entwickeln gemeinsam innovative Strategien zur Nematodenbekämpfung. Schwerpunkte des Projektes sind: (1) Standardisierung von Untersuchungsverfahren und Erstellung von Kriterien für die Nematodenerfassung, (2) Laborvergleichsuntersuchungen der Partner zum Abgleich der Ergebnisse, (3) Erfassung der Nematodenschäden in der euregio rhein-maas-nord und Aufbau eines grenzüberschreitenden Netzwerkes „Nematodenprobleme im Gemüsebau“, (4) Überarbeitung des „Aaltjesschema“ mit Informationen zum Vermehrungspotential der Nematoden und der durch sie hervorgerufenen Schäden an verschiedenen Gemüsekulturen, (5) Optimierung bestehender Bekämpfungsverfahren und Entwicklung alternativer Gegenmaßnahmen, (6) Aus- und Weiterbildung von Gemüseproduzenten, -verarbeitern und Beratern im Erkennen von Nematodenschäden und (7) Durchführung von Feldtagen und Fachveranstaltungen.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

### 4) Verschiedene Unkrautarten als alternative Wirte für *Heterodera schachtii*

Annabell MEINECKE<sup>1</sup>, Klaus BÜRCKY<sup>2</sup>, Klaus ZIEGLER<sup>3</sup>, Manfred ANSELSTETTER<sup>3</sup>, Andreas WESTPHAL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Toppeideweg 88, 48161 Münster

<sup>2</sup> Südzucker AG, Marktbreiter Straße 74, 97199 Ochsenfurt

<sup>3</sup> Arbeitsgemeinschaft für das Versuchswesen im Zuckerrübenanbau Franken, Würzburger Straße 44, 97246 Eibelstadt

E-Mail: andreas.westphal@jki.bund.de

*Heterodera schachtii* ist einer der wichtigsten Fruchtfolgeschädlinge im Zuckerrübenanbau weltweit. Anbau resistenter Zwischenfrüchte und weitgestellte Fruchtfolge sind die Hauptbekämpfungsstrategien bis zur Verfügbarkeit resistenter und toleranter Zuckerrübensorten gewesen. Wenn eine Zwischenfrucht nicht möglich ist, dann werden verstärkt Unkräuter während der Sommerbrache bis zum Herbstumbruch beobachtet, die eine potentielle Gefahr der Vermehrung von *H. schachtii* darstellen könnten. In diesem Projekt sollte bestimmt werden, wie stark sich *H. schachtii* an ausgewählten Unkrautarten vermehren kann. Für die Versuche wurden 42 verschiedene Unkrautarten vorwiegend aus den Familien Brassicaceae, Amaranthaceae und Caryophyllaceae basierend auf Felderhebungen zur Unkrautflora und publizierten Informationen ausgewählt. Resistente und anfällige Zuckerrüben- und Ölrrettichsorten wurden als Kontrollen mitgeführt. Nach Anzucht in Sand und Pikieren der Sämlinge in Faltschachteln wurden diese mit einer Suspension von Juvenilen (500 J2/Faltschachtel) inokuliert. Bei Erreichen der Temperatursumme von ca. 360°C (über 8°C), also etwa sechs Wochen, wurden die Zysten aus dem Boden bzw. von den Wurzeln gewaschen, gezählt und deren Inhalt bestimmt. Weiterhin wurden die Wurzellänge, das Wurzelvolumen, und das Wurzelgewicht bestimmt. In vorläufigen Ergebnissen hatten die Rauke, die Kresse und das Hellerkraut ein hohes Vermehrungspotential. Keine Zysten wurden bei Ampfer, Ackerkohl, Spergel und rauer Wicke gefunden. Kuhnelke und Schotendotter hatten Zysten zahlen ähnlich den anfälligen Standards; alle anderen Unkräuter hatten geringe Zysten zahlen. Zysten von Kornrade waren faktisch leer und die des Hellerkrauts hatten nur wenig Inhalt verglichen zu den anfälligen Kontrollen. Leicht erhöhten Inhalt hatten die Zysten von Kuhnelke und Schotendotter; Zysten von anderen Unkräutern hatten nur geringen Inhalt. Diese Versuche bilden die Grundlage für die Auswahl eines Unkrautsortiments für Freilandversuche. Aus dem Vergleich der Vermehrungsraten unter den Unkräutern zur Standard-Kontrolle werden sich dann Empfehlungen für die Unkrautkontrolle herleiten lassen. Prinzipiell besteht die Möglichkeit einer Vermehrung von *H. schachtii* an Unkräutern unter der Sommerbrache.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

### 5) Alternative Strategien zur Bekämpfung der Bodenmüdigkeit im Apfelanbau – eine Fallstudie aus den Niederlanden

Gerard KORTHALS<sup>1</sup>, Jonny VISSER<sup>1</sup>, Tim THODEN<sup>1</sup>, M. WENNEKER<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Applied Plant Research, Wageningen University and Research Centre (WUR), Plant Sciences Group, Edelhertweg 1, NL-8219 PH Lelystad, Niederlande

<sup>2</sup> PPO-BBF, Wageningen UR, 6670 AE Zetten, Niederlande

E-Mail: tim.thoden@wur.nl

In den Niederlanden stellt der Einsatz chemischer Nematizide noch stets das Standardverfahren zur Bekämpfung der Boden-



müdigkeit in Apfelplantagen (replant disease) dar. Zielorganismus ist dabei neben pilzlichen Pathogenen, wie *Verticillium dahliae*, meist *Pratylenchus penetrans*. Da eine solche Maßnahme eine große Umweltbelastung (Trinkwasser, Nicht-Ziel-Organismen) mit sich bringt, ist die Entwicklung alternativer, umweltfreundlicherer Strategien wünschenswert. Zudem gibt es mehr und mehr Betriebe, die weder auf unbelastete Flächen, noch auf alternative Bekämpfungsstrategien zurückgreifen können. Entsprechend wurde 2007 in der Nähe Eindhoven ein Forschungsprojekt begründet, dessen Ziel die Entwicklung alternativer und nachhaltiger Strategien zur Nematodenbekämpfung im Apfelanbau ist. Die Versuche wurden in einer schon lange bestehenden Apfelplantage durchgeführt, in der aufgrund sehr hoher Besatzdichte mit *P. penetrans* alle Bäume entfernt wurden. Anschließend wurden folgende Versuchsvarianten angelegt: (1) Anbau von *Tagetes patula*, (2) Anbau von *Tagetes patula* + nachfolgender anaerober Bodenentseuchung (BE), (3) Anbau von Sandhafer (*Avena strigosa*) + nachfolgender anaerober Bodenentseuchung, (4) Biofumigation mit *Brassica juncea*, (5) Zugabe von Kompost, (6) Schwarzbrache, und (7) eine chemische Bodenentseuchung (CE, Monam). Nach der Durchführung der Behandlungen wurden die Flächen im folgenden Herbst neu bestockt (Kultivar "Elstar" und "Boskoop"). Die Ergebnisse der Bodenbeprobungen zeigen, dass die chemische Bodenentseuchung, der Anbau von *Tagetes* und der kombinierte Anbau von *Tagetes* + anaerober Bodenentseuchung zu einem starken Rückgang von *P. penetrans* beitrugen. Dies wirkte sich nachfolgend auch deutlich auf verschiedene Wachstumsparameter, wie die Zunahme des Stammdurchmessers, die Anzahl an Fruchttrieben, als auch die Anzahl an Blütenständen aus. In den folgenden Jahren werden weitere Messungen Aufschluss darüber geben, inwieweit auch die Apfelproduktion zwischen den verschiedenen Behandlungen variiert.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

## 6) Wirksamkeit von Sedimentationsbecken zur Abtrennung pflanzenparasitärer Nematoden

Johannes HALLMANN

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Toppeideweg 88, 48161 Münster

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

Spezialisierung und Globalisierung in der landwirtschaftlichen Produktion verbunden mit steigenden Qualitätsanforderungen bedingen einen zunehmenden Bedarf an Boden- und Pflanzenuntersuchungen auf pflanzenparasitäre Nematoden. Insbesondere steigt das Aufkommen von Proben außerhalb der Region und damit auch die Gefahr der Einschleppung bzw. Verbreitung bisher in der Region unbekannter Arten. Dieser Gefahr müssen Diagnoselabore vorbeugen, unter anderem indem sie Abwasser bzw. Resterden so behandeln, dass eine Verschleppung pflanzenparasitärer Nematoden ausgeschlossen wird. In der Literatur werden hierzu verschiedenste Verfahren beschrieben (Kompostierung, Sedimentationsbecken, Erhitzung, etc.), aber nur in den wenigsten Fällen gibt es zuverlässige Daten zur Wirksamkeit dieser Verfahren. Das am JKI in Münster betriebene System, basierend auf drei Sedimentationsbecken, wurde dahingehend geprüft, inwieweit pflanzenparasitäre Nematoden bzw. Zysten sicher abgetrennt werden. In mehreren Versuchsreihen unter Vollastbetrieb (alle Wasserhähne auf maximale Leistung) wurden mehrere Millionen pflanzenparasitärer Nematoden und Zysten mit und ohne Erden über das Abwasser

in die Sedimentationsbecken eingeleitet (Worst-Case-Szenario). Nach dem dritten Sedimentationsbecken unmittelbar vor Einleitung des Abwassers in die Kanalisation wurde ein 20 µm-Sieb angebracht. In regelmäßigen Abständen wurde der Siebinhalt auf Erdanteil, Nematoden bzw. Zysten ausgewertet. Insgesamt wurden nur sehr vereinzelt pflanzenparasitäre Nematoden gefunden (< 1 pflanzenparasitärer Nematoden nach Zugabe von 1 Million pflanzenparasitärer Nematoden). Zysten wurden in keinem Falle nachgewiesen. Im Routinebetrieb (z.B. Auswertung Resistenzprüfung) wurden keine pflanzenparasitären Nematoden nachgewiesen. Mit der Erde aus dem ersten Sedimentationsbecken wurde zudem ein Biotest mit Tomate angesetzt. Obwohl in den Wochen zuvor sowohl Wurzelgallennematoden als auch Kartoffelzystennematoden eingeleitet wurden, konnten an den Tomatenwurzeln weder Nematodengallen noch neu gebildete Zysten festgestellt werden. Auch konnten in der Erde des Biotests keine pflanzenparasitären Nematoden festgestellt werden. In der Erde wurden jedoch zahlreiche *Globodera*-Zysten gefunden, die aber keine Infektion an Tomate hervorriefen.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

## 7) Wirkung verschiedener Bodenbehandlungen gegen Wurzelgallennematoden im Gewächshaus

Reinhard EDER<sup>1</sup>, Werner HELLER<sup>2</sup>, Mauro JERMINI<sup>3</sup>, Irma ROTH<sup>1</sup>, Jürgen KRAUSS<sup>2</sup>, Sebastian KIEWNICK<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Nematologie, Schloss 8820 Wädenswil, Schweiz

<sup>2</sup> Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Extension Gemüsebau, Schloss 8820 Wädenswil, Schweiz

<sup>3</sup> Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Responsable del Centro di Cadenazzo, Centro di ricerca Cadenazzo 6594 Contone, Schweiz

E-Mail: reinhard.eder@acw.admin.ch

Wurzelgallennematoden (*Meloidogyne* spp.) sind in der Schweiz die wichtigste Gruppe pflanzenparasitischer Nematoden. Sie verursachen erhebliche Probleme in den Gemüsebaugebieten. Die häufigste Art ist der nördliche Wurzelgallennematode *Meloidogyne hapla*. Er kommt sowohl im Freiland als auch in Gewächshäusern vor. Dann folgen die tropischen Arten *M. incognita*, *M. javanica* und *M. arenaria*, welche nur im Gewächshaus vorkommen. Die Bekämpfung von Wurzelgallennematoden im Gewächshaus ist schwierig. Zurzeit ist in der Schweiz noch die chemische Behandlung mit Basamid (Dazomet) bewilligt. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung resistenter Sorten und Unterlagen, wobei die Resistenzen nicht bei allen *Meloidogyne*-Arten wirksam sind. Die thermische Bekämpfung mit Dampf wird vor allem im ökologischen Anbau angewendet. Sie ist jedoch teuer und nur relativ kurz wirksam. Fruchtfolgemaßnahmen sind in der Praxis schwierig umsetzbar. Aus diesen Gründen wurden verschiedene Bodenbehandlungen auf ihre Wirkung gegen die Korkwurzelkrankheit *Pyrenochaeta lycopersici* und Wurzelgallennematoden in kommerziellen Gewächshäusern getestet. Frühjahrsbehandlungen des Bodens durch Ammoniak-Fumigation oder das Einarbeiten von Krabben-schalen als Bodenhilfsstoff im Herbst zeigten keine Reduktion der Wurzelvergallung bei Tomaten. Der Einsatz von Biofumigations-Pellets (organischer Dünger), die in Topfversuchen eine deutliche Wirkung gezeigt hatten, konnte nach einer Frühjahrsbehandlung den Befall mit Wurzelgallennematoden ebenfalls nicht reduzieren.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

## 8) Einfluss der Temperatur auf die Populationsdynamik von *Bursaphelenchus xylophilus* in Europäischen Koniferen

Matthias DAUB<sup>1</sup>, Thomas SCHRÖDER<sup>2</sup>, Richard SIKORA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Dürerer Str. 71, 50189 Elsdorf

<sup>2</sup> JKI, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig

<sup>3</sup> Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Nussallee 9, 53115 Bonn

E-Mail: matthias.daub@jki.bund.de

Seit dem Erstnachweis eines Befalls an Kiefern (*Pinus pinaster*) in Portugal im Jahr 1999 hat sich der Kiefernholz nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) in Portugal trotz zum Teil drastischer Ausrottungsmaßnahmen weiter ausbreiten können. Ein Befallsherd in Spanien aus dem Jahr 2008 konnte eingedämmt werden, ein zweites, davon unabhängiges Vorkommen, das im Jahr 2010 festgestellt wurde, befindet sich in der Ausrottung. Nach wie vor wird *B. xylophilus* als ernst zu nehmende Bedrohung für zentraleuropäische Naturräume angesehen. Die Kiefernwelke tritt ab einer Juli/August Isotherme von etwa 20°C in Erscheinung und verläuft bei prädisponierten, ausgewachsenen Bäumen und normaler Infektion innerhalb von wenigen Monaten bis zum Absterben. Die Aktivität der Nematoden im Baum beginnt jedoch bereits bei niedrigeren Temperaturen. So konnten z.B. im japanischen Hochland symptomlose Kiefern beobachtet werden, bei denen *B. xylophilus* weit verbreitet im Baum isoliert werden konnte. Eine Populationsschwelle der Nematoden, ab der die Kiefernwelke eintritt, wurde häufig angenommen, jedoch nie wissenschaftlich belegt. Bei der Beurteilung der Synchronologie der Pathogenese zur Populationsdynamik von *B. xylophilus* in der Pflanze muss beachtet werden, dass der Kiefernholz nematode kein obligat biotropher Parasit ist. Im Rahmen eines durch die EU finanzierten Forschungsprojektes PHRAME wurde in kontrollierten Inokulationsversuchen untersucht, wie sich Temperaturen von 15°C, 20°C und 25°C auf die Pathogenität und Populationsdynamik von *Bursaphelenchus xylophilus* in 3–4 Jahre alten Koniferen auswirken. Ca. 60 Tage nach der Inokulation eines Portugiesischen *B. xylophilus*-Isolats in Kiefern (*Pinus sylvestris*) und Europäische Lärchen (*Larix decidua*) starben 100% der Testpflanzen sowohl bei 20°C als auch bei 25°C ab. Bei einer Inkubationstemperatur von 15°C starben keine Bäume im untersuchten Zeitraum ab, und auch die Ausprägung von Welkesymptomen unterschied sich nicht von denen der unbehandelten Kontrollpflanzen. Die Temperatur wirkte sich sowohl auf die Anzahl der Populationsindividuen und den Verlauf der Populationsdynamik der Nematoden, als auch auf den zeitlichen Verlauf der Kiefernwelke aus.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

## 9) Einsatz der Schwadbeprobung zur Prognose von Feldbesatzdichten mit *Heterodera schachtii* im Zuckerrübenanbau – dreizehn Jahre Erfahrung aus der Praxis im Rheinland

Matthias DAUB<sup>1</sup>, Christian HEIRICH<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Dürerer Str. 71, 50189 Elsdorf

<sup>2</sup> Pflanzenschutzdienst Bonn, Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Siebengebirgsstraße 200, 53229 Bonn-Roleber  
E-Mail: matthias.daub@jki.bund.de

Der Rübenzystemnematode *Heterodera schachtii* zählt zu den relevantesten Schädlingen im Zuckerrübenanbau Europas. Bei starkem Befall kann der Ertragsrückgang je nach Sorte, Anbausystem und Klima zwischen 25% und 50% betragen. Umfangreiche Untersuchungen in den 1950'er bis 1970'er Jahren führten zur Ermittlung von Schadschwellen für *H. schachtii*. In Deutschland nutzen Beratungseinrichtungen überregional eine Schadschwelle von 500 Eiern und Juvenilen pro 100 ml Boden, um Sortenempfehlungen für die Praxis abzugeben. Die Ermittlung der Feldbesatzdichte erfolgt über eine umfangreiche Feldprobennahme mit ca. 200 Einzelproben pro Hektar, in einer Bodentiefe zwischen 15 cm und 30 cm. Aufgrund der zeitlichen und wirtschaftlichen Probleme, einer exakten Probenahme im Feld, wurden mittlerweile verschiedene Ansätze entwickelt, bei der das Ziel ist, eine möglichst genaue, aber dennoch praktikable Aussage zu erhalten. Die Beprobung des Reinigungsschwades in der Rübenmiete wurde als Prognoseinstrument im Rheinland, in Zusammenarbeit zwischen der ehem. BBA (jetzt JKI), dem PSD Bonn, dem landwirtschaftlichen Informationsdienst Zuckerrübe (LIZ) und dem Rheinischen Rübenbauernverband (RRV) entwickelt. Im Unterschied zum Prognoseverfahren, bei dem Feldproben unmittelbar vor dem Anbau von Zuckerrüben verwendet werden, basiert die Schwadbeprobung auf Proben, die nach dem Anbau von Zuckerrüben genommen werden und zielt somit auf eine Prognose für den Anbau von Zuckerrüben zur nächsten Rotation ab. Neben der arbeitswirtschaftlichen Ersparnis bietet sich dem Landwirt der Vorteil in der laufenden Rotation mit Gegenmaßnahmen, wie z.B. dem Anbau von resistenten Zwischenfrüchten, rechtzeitig zu reagieren. Die Ermittlung des jährlichen Schätzfaktors erfolgt durch Exaktbeprobung von Referenzfeldern und den dazugehörigen Erdschwaden aus der Rübenmiete. Hieraus werden Zysten mit Hilfe der Dichtezentrifugation mehrfach extrahiert und die Populationsdichte (Eier und Juvenile/100 ml) bestimmt. Landwirte können über die Zuckerfabriken und dem Züchter KWS vor Ort Schwadproben beim PSD Bonn einreichen, der die Proben dann auf *H. schachtii*-Besatz untersucht und dem Landwirt unter Zuhilfenahme des jährlichen Schätzfaktors das Prognose-Ergebnis für das entsprechende Feld berichtet. Seit dreizehn Jahren ist dieses Prognoseverfahren im Einsatz und liefert ein hinlänglich genaues Bild über den Befallsgrad mit *H. schachtii* im Feld für den Landwirt und über die Befallssituation in der Region für die Beratungsorganisationen.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

## 10) NemaDecide 2 Richtung GeoNema

Thomas BEEN<sup>1</sup>, Corrie SCHOMAKER<sup>1</sup>, Leendert MOLENDIJK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Plant Research International, Wageningen University and Research Centre (WUR), Plant Sciences Group, P.O. Box 16, 6700 Wageningen, Niederlande

<sup>2</sup> Applied Plant Research, WUR, Plant Sciences Group, Edelhertweg 1, NL-8219 PH Lelystad, Niederlande

E-Mail: thomas.been@wur.nl

Mit NemaDecide2 wurde kürzlich ein neues Decision Support System fertiggestellt, das es ermöglicht, neben den Populationsentwicklungen und den damit verbundenen Ertragsverlusten durch Kartoffelzystemnematoden auch vergleichbare Simulationen für *Pratylenchus penetrans* und *Meloidogyne chitwoodi* zu berechnen. Hierzu wurde NemaDecide2 völlig neu programmiert und erstmalig auch Modelle zur Konkurrenz zwischen den angesprochenen Nematodenarten integriert. Zudem konnte die Benutzerfreundlichkeit des Programms deutlich erhöht werden. Unterdessen wird ein weiterer Schritt in der Entwicklung von NemaDecide vorbereitet: GeoNema – ein internet-

basiertes (GoogleMaps) Decision Support System anhand dessen Landwirte Einblick in den Zustand ihrer Flächen erhalten. Hierbei sollen Daten zur geographischen Lage, zur Geschichte (Fruchtfolge) oder auch zum phytosanitären Zustand einer Fläche in Form digitaler Karten Eingang finden, und letztlich auch die Bewertung einer Fläche in Form einer Karte dargestellt werden. Landwirte werden teilweise freien Zugang zu diesem System erhalten. Anhand einiger Musterdatensätze werden die weitläufigen Möglichkeiten von NemaDecide 2 illustriert.

(DPG AK Nematologie und freilebende Nematoden)

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

In 2011 the Working Group “Nematology” of the German Phytomedical Society (Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, DPG) met with the Working Group “Free Living Nematodes” from March 15 to 16, at the Plant Protection Service in Wageningen, The Netherlands. For the kind invitation and excellent local arrangements the organisers warmly thank Dr. Loes den Nijs from the Plant Protection Service. The total attendance of the meeting was 75 participants from Germany, The Netherlands, Austria and Switzerland who presented 25 oral presentations and 11 posters. The presentations covered the broad field of Nematology from fundamental and applied aspects in plant nematology all the way to nematode ecology and molecular aspects on the evolution of certain nematode traits. A complete overview of all abstracts can be viewed at the homepage of the DPG ([www.phytomedizin.org](http://www.phytomedizin.org)). With the end of the meeting Johannes Hallmann and Peter Knuth finished their term as chair and co-chair of the Working Group Nematology. As new chair was elected Dr. Matthias Daub from the Julius Kühn Institut, Institute for Plant Protection in Field Crops and Grassland, Dürener Straße 71, 50189 Elsdorf, [matthias.daub@jki.bund.de](mailto:matthias.daub@jki.bund.de) and as co-chair Dr. Ulrike Hakl from the Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Plant Protection Service, Siebengebirgsstraße 2000, 53229 Bonn, [ulrike.hakl@lwk.nrw.de](mailto:ulrike.hakl@lwk.nrw.de). The next joint meeting of the two working groups will be held from March 13-14, 2012 at the Humboldt University in Berlin. Local arrangements are kindly organised by Prof. Dr. Liliane Rueß.

Johannes Hallmann & Peter Knuth, Working Group “Nematology”  
Liliane Rueß, Working Group “Free Living Nematodes”

### Effects of the endophytic fungus *Piriformospora indica* on development of *Heterodera schachtii*

Roshanak Daneshkhah<sup>1</sup>, Florian M.W. Grundler<sup>2</sup> & Julia Hofmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Natural Resources and Life Sciences, Institute of Plant Protection, Department of Plant Sciences and Plant Biotechnology, Peter Jordan-Straße 82, 1190 Vienna, Austria;

<sup>2</sup> University of Bonn, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Karlrobert-Kreiten-Straße 13, 53115 Bonn, Germany, [roshanak.daneshkhah@boku.ac.at](mailto:roshanak.daneshkhah@boku.ac.at)

The endophytic fungus *Piriformospora indica* has been shown to stimulate plant growth and seed production, and

to enhance plant defence and tolerance against pathogens and abiotic stresses. The aim of the present work was to study the interaction between *P. indica* inoculation, application of fungal cell wall fragments and culture filtrate with the plant parasitic cyst nematode *Heterodera schachtii* in roots of *Arabidopsis thaliana*. The results showed that fungus colonisation leads to reduced nematode development, smaller syncytia and reduced reproduction rate compared to nematode development in non-colonised control plants. The effect however, was restricted to the plants colonised three days prior to nematode inoculation and could not be observed at other time points. Treatment of nematodes with fungal cell wall fragments and culture filtrate revealed a direct effect on *H. schachtii* juveniles resulting in increased mortality and reduced development. The results indicate that *P. indica* both effects plant and nematode through so far unknown effectors.

### Edaphobase – online soil organism data warehouse for taxonomy, literature and ecological data management

Carmen Trog & Karin Hohberg

Senckenberg Museum für Naturkunde Görlitz,  
Am Museum 1, 02826 Görlitz, [carmen.trog@senckenberg.de](mailto:carmen.trog@senckenberg.de)

Edaphobase is a database project aiming to bring together information concerning taxonomy, literature references and ecological requirements of important soil taxa in a combined database system. At present, Collembola, Enchytraeidae, Gamasina, Lumbricidae, Myriapoda, Nematoda and Oribatida will be included. Data are to be extracted from literature, collection data and unpublished material from research institutions with a focus on Germany and its neighbouring countries. Linking such data on a wide range of soil-organism groups from several trophic levels with habitat and geographical, climatic data will allow detailed subsequent analyses on geographical distribution as well as ecological requirements of single species such as, e.g., preferences for temperature, pH, moisture or nitrogen content or effects of anthropogenic perturbation. In addition, prognostic tools will be provided to discern changes within soil biocenotic assemblages as a reaction to, e.g., modifications in land-use techniques or effects of climatic changes. The final data set will be available for public access via a web-based application, including investigation tools for construction of fine-scaled distribution maps, analysis results regarding parameter preferences or estimations of threats to soil-organism distribution. First results are presented and discussed.

## The nematode fauna of mofette fields (natural carbon-dioxide springs)

Karin Hohberg<sup>1</sup>, Hans-Jürgen Schulz<sup>1</sup> & Hardy Pfanz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Senckenberg Museum für Naturkunde Görlitz, Am Museum 1, 02826 Görlitz, Germany;

<sup>2</sup> Universität Duisburg-Essen, Campus Essen, Abteilung Angewandte Botanik, 45141 Essen  
karin.hohberg@senckenberg.de

We are investigating soil nematode communities in mofette fields where geogenic CO<sub>2</sub> rises from magma chambers through clefts and cracks in the crust upwards to the soil surface. The uppermost soil layers around these gas escapes show small-scale patches where CO<sub>2</sub> concentrations are up to 100% and O<sub>2</sub> concentrations are accordingly low or even zero. Our first, preliminary results show that nematodes occur in high densities even in 100% CO<sub>2</sub> spots, with 1.5 to 9.3 10<sup>6</sup> nematodes m<sup>-2</sup> independent of CO<sub>2</sub> concentration. Nematode species numbers, on the other hand, were clearly reduced compared to 0.1% CO<sub>2</sub>-spots: We determined a mean number of 4.3 (100% CO<sub>2</sub>) vs. 19.9 (<0.3% CO<sub>2</sub>) species per 10 cm<sup>2</sup> soil sample, with the “mofette species” *Aglenchus agricola*, *Acrobeloides* cf. *buchneri*, and *Aphelenchoides* cf. *parietinus* comprising 97.3% of overall nematode densities at 100% CO<sub>2</sub>, 31.0% at 56% CO<sub>2</sub>, 5.0% at 26% CO<sub>2</sub> and only 1.0% at 0.1% CO<sub>2</sub>. We consider the main driving forces of CO<sub>2</sub> elevation on soil communities to be the parallelly growing soil acidity and a lack of oxygen. At the moment we intend to culture the three “mofette species”, i. e. species which we find in soils with high CO<sub>2</sub> concentrations, in order to provide life history data at different CO<sub>2</sub> concentrations and to get insight into their adaptations to the temporary or even lasting lack of oxygen.

## A literature review on the damage caused by *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*

Björn Niere

Julius Kühn Institute, Institute for National and International Plant Health, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Germany, bjoern.niere@jki.bund.de

A systematic literature was carried out to review existing literature on the damage reported by the root knot nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. The methodology for the systematic literature review will be described in detail; databases used and the original publications briefly presented. The results will then be summarised and discussed. An outlook will be given.

## A new bioassay for the detection of the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi*

Gerard W. Korthals, Johnny H.M. Visser & A.W. Wianda van Gastel-Topper

Applied Plant Research, Wageningen University and Research Centre, Plant Sciences Group, Edelhertweg 1, NL-8219 PH Lelystad, The Netherlands, gerard.korthals@wur.nl

The temperate root-knot nematode species *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax* have a quarantine status and can therefore form high risks for growing planting material, such as seed potatoes. At the moment there are several methods to detect both species in soil and crops, in order to assess their presence and the consequences upon the potential risks of new introductions of *M. chitwoodi* or *M. fallax* via infected planting material (in this case potatoes). Many factors of the life-strategy of these nematodes species are not well known, especially in comparison with the better studied PCN-nematodes. Some characteristics of these meloidogyne species, such as a broad host-plant-range, multiple generations a year, and a relatively quick decline during periods without a host-plant, may have a high impact on population dynamics, detection methods and their potential risks leading to new introductions. Therefore new detection methods to detect *M. chitwoodi* or *M. fallax* should be investigated. In the present study results on the development of a new bioassay's for the early detection of *M. chitwoodi* with the use of natural infested soils and different crops will be presented and discussed.

## Reproduction potential of multiple *Meloidogyne* spp. populations on resistant tomato and cucumber root-stock.

Sebastian Kiewnick<sup>1</sup>, Stefanie Wolf<sup>1</sup>, Peter Knuth<sup>2</sup> & Johannes Hallmann<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg, Reinsburgstraße 107, 70197 Stuttgart, Germany;

<sup>3</sup> Julius Kühn Institute, Institut for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Toppheideweg 88, 48161 Münster, Germany, sebastian.kiewnick@acw.admin.ch

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) cause extensive damage to tomato and cucurbit crops in protected cultivation systems. As chemical control is no longer available, plant resistance offers an environmentally benign solution



to mitigate yield losses and reduce population densities of root-knot nematodes in soil. A collection of 3 tomato and 6 cucumber root-stocks was tested for resistance against 8 *M. incognita* populations (6 avirulent and 2 virulent) and *M. enterolobii*. The susceptible variety Moneymaker and the resistant varieties Phantasia or Oskar served as controls. Tests were either conducted in 1 l field soil-sand mix (1:1) or 100 ml plastic containers filled with quartz sand and evaluated after completion of one reproduction cycle. Pot experiments revealed that none of the tested root-stocks showed resistance comparable to the control Phantasia. The virulent *M. incognita* population and *M. enterolobii* population caused severe root galling and high numbers of egg masses on all root-stocks. Resistance against an avirulent population was found in one tomato root-stock. Furthermore, screening the test plants against six additional *M. incognita* populations did show low damage and reproduction of one tomato and one cucumber root-stock when challenged with avirulent populations. However, a virulent *M. incognita* population was able to produce galls and egg masses on all tested plants, including the resistant control Oskar. These studies demonstrate that few root-stocks are suitable for control of avirulent *M. incognita* populations, but resistance was overcome by virulent *M. incognita* populations and *M. enterolobii*.

#### UDP-glucose dehydrogenase (UGD) genes are involved in cell wall modifications during development of syncytium in roots of *Arabidopsis* induced by *Heterodera schachtii*

Shahid Siddique<sup>1,4</sup>, Rebecca Reboul<sup>2</sup>, Miroslaw Sobczak<sup>3</sup>, Raimund Tenhaken<sup>2</sup>, Florian M.W. Grundler<sup>1,4</sup> & Holger Bohlmann<sup>4</sup>

- 1 University of Bonn, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Karlrobert-Kreiten-Straße 13, 53115 Bonn, Germany;
- 2 Department of Plant Physiology, University of Salzburg, Austria;
- 3 Department of Botany, Warsaw University of Life Sciences (SGGW), Poland;
- 4 University of Natural Resources and Life Sciences, Institute of Plant Protection, Department of Plant Sciences and Plant Biotechnology, Peter Jordan-Straße 82, 1190 Vienna, Austria, siddique@uni-bonn.de

The cyst nematode *Heterodera schachtii* is a biotrophic plant parasite, which cause significant economic losses on sugar beet but can also complete its life cycle on a variety of other plants including *Arabidopsis thaliana*. Second stage juveniles (J2) of *H. schachtii* invade the roots of the host plants and induce a feeding site called syncytium. During development, cell walls of syncytia undergo modifications to support its function as sole source of nutrients for the nematodes. These modifications include thickening as well as local dissolution of cell wall. Moreover, cell wall ingrowths

are formed at the interface between xylem and syncytium and are thought to be involved in increase transport of water and solutes to syncytium. In order to undergo these modifications, syncytium requires the *de novo* synthesis of cell wall polysaccharides. In plants, UDP-glucuronic acid (UDP-GlcA) is a precursor for cell wall polysaccharides and is synthesised by the oxidation of UDP-glucose by UDP-glucosedehydrogenase (UGD). The enzyme UGD is encoded by four genes in *Arabidopsis* (*UGD1*, *UGD2*, *UGD3*, *UGD4*). In this study, we analysed the importance of these genes in syncytium development and maintenance in *Arabidopsis* plants. Histological assays were performed with the help of promoter::GUS lines, which showed a syncytium specific expression of all four *UGD* genes during different stages of nematode development. At least two of these genes (*UGD2* and *UGD3*) were expressed in syncytium as early as 1 days post inoculation (dpi). Nematode infection assays with T-DNA inserted knockout mutants showed a significantly reduced number of females in two single (*ugd2*, *ugd3*) and a double *UGD* mutant (*ugd23*). A time course ultrastructural investigation revealed degeneration of syncytia as early as 3 dpi in roots of *ugd23* mutant. Moreover, syncytia contain electron translucent cytoplasm in which cell wall ingrowths were either absent or collapsed. As these genes are involved in synthesis of cell wall matrix, we analysed the hemicellulose content of roots and syncytia of *ugd23* plants. The resulting data showed syncytium specific changes in cell wall composition in these mutants. We, therefore conclude that *UGD2* and *UGD3* play an important role in cell wall modifications during development of syncytium.

#### A possible role for trehalose 6-phosphate synthase (TPS) in the parasitism of the plant-parasitic nematodes

Abd el Naser El Ashry<sup>1</sup>, Etienne G.J. Danchin<sup>2</sup>, Julia Hofmann<sup>3</sup>, Pierre Abad<sup>2</sup> & Florian M.W. Grundler<sup>1</sup>

- 1 University of Bonn, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Karlrobert-Kreiten-Straße 13, 53115 Bonn, Germany;
- 2 INRA National Institute for Agricultural Research, Plant-Microbe Interactions and Plant Health, Sophia Antipolis, France;
- 3 University of Natural Resources and Life Sciences, Institute of Plant Protection, Department of Plant Sciences and Plant Biotechnology, Peter Jordan-Straße 82, 1190 Vienna, Austria, elashry@uni-bonn.de

The establishment and progress of a successful plant-nematode interaction depends on directed changes in the gene expression of plant and nematode. *A. thaliana* GeneChip analyses showed that genes involved in carbohydrates metabolism and regulation were differentially expressed after *H. schachtii* infection. Furthermore, metabolic studies proved a significant different level of enrichment of certain sugars in *A. thaliana* after *H. schachtii* infection. One of the

sugars that were both locally and systemically strongly enriched after nematode infection is trehalose. *A. thaliana* trehalose 6-phosphate synthase genes (AtTPS), which play a role in catalysing trehalose, were significantly up regulated in *H. schachtii* infected plants. On the plant parasitic nematode (PPN) side, there is only little information about the TPS genes. Analysis of TPS genes of *M. incognita* (MINC) and *M. hapla* (Mh) showed an over-representation of TPS in comparison with the TPS from free-living nematodes (FLN) and animal-parasitic nematodes (APN). We identified 6 MINC-TPS and their Mh-TPS homologues while FLN-TPS have typically two TPSs, TPS-1 and TPS-2. TPS phylogenetic tree, which was formed using the available nematode TPS showed that there is only one of MINC-TPS and its *M. hapla* homologue that clustered with FLN- and APN-TPS-2. All other MINC- and Mh-TPS clustered in a separate branch. We conclude that the latter TPS have evolved in *Meloidogyne* spp. or generally in PPN species to fulfil functions related to pathogenicity. The gene that clustered with TPS-2 might still represent the ancestral TPS functions in FLN and APN. Furthermore, our analysis showed that two MINC-TPS have a predicted signal peptide. Interestingly, these MINC-TPS genes were included under the PPN specific branch. We expect that further studies on the PPN-TPS genes can help us gaining more understanding about evolutionary processes in PPN.

### Damage and reproduction potentials of Egyptian populations of *Heterodera avenae* on wheat

Mohamed Baklawa<sup>1,2</sup> & Björn Niere<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Julius Kühn Institute, Institute for National and International Plant Health, Messeweg 11/12, 38401 Braunschweig, Germany;
- <sup>2</sup> Technical University, Faculty of Life Science, Braunschweig, Germany, mohamed.baklawa@jki.bund.de

The cereal cyst nematode *Heterodera avenae* has been reported on wheat and other cereals in many countries with different climatic types throughout the world. Management of these nematodes based on cultivar resistance is considered a valuable method for nematode control in cereal production. Breeding and use of resistance need knowledge on the virulence spectrum of *H. avenae* in order to establish an effective and durable control of these nematode populations. In Egypt, little is known about the occurrence of cereal cyst nematode on wheat and no information is available about the resistance levels in the Egyptian wheat genotypes to *H. avenae*. Therefore, this study was carried out to characterise the virulence of six *H. avenae* populations (five

Egyptian populations and one German population) based on their reproduction potentials on different wheat cultivars and to assess the resistance levels in ten wheat cultivars (nine Egyptian cultivars, one German cultivar) using five wheat genotypes from the International Test Assortment (NordGen, Alnarp, Sweden). On the other hand, the damage potentials of different *H. avenae* populations on several growth parameters of wheat cultivars (shoot dry weight; root dry weight; spike weight and grain yield) were recorded. Al Qassaseen and Al Sharq populations showed the highest reproduction factors (*R<sub>f</sub>*) on wheat cultivars while the lowest were reordered by Abu Sawyer and Abu Khalifa populations. Most of the tested wheat cultivars from Egypt were found to be susceptible to *H. avenae* populations. All *H. avenae* populations suppressed several recorded plant growth parameters, the highest reduction in grain yield was recorded by Al Qassaseen and Al Sharq populations on the wheat variety 'Troll' with 40.7 and 44%, respectively.

### Pathogenicity to *Meloidogyne hapla* of ninety fungi isolated from *Meloidogyne* spp. egg masses from three regions in Chile

Caroline Eberlein<sup>1</sup>, N. Andrade<sup>2</sup> & L. Böhm<sup>2</sup>

- <sup>1</sup> Julius Kühn Institute, Institute for Plant Protection in Field Crops and Grassland, Toppheideweg 88, 48161 Münster, Germany;
- <sup>2</sup> Universidad Austral de Chile, Producción y Sanidad Vegetal, Independencia 641, 5110566 Valdivia, Chile, caroline.eberlein@jki.bund.de

Ninety fungi were evaluated *in vitro* for their pathogenicity to eggs and juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne hapla*. These fungi were isolated from *Meloidogyne* spp. egg masses associated to roots from infested plants from three regions in Chile. *Fusarium* spp., *Paecilomyces* spp., *Acremonium* spp., *Verticillium* spp., and *Murogenella* spp., were the most frequent isolated genera. The egg and juvenile mortality, as well as the egg hatch rate were determined. Pathogenicity varied among isolates, being all of them able to infect healthy eggs and juveniles. Two fungi that belong to the genera *Murogenella*, showed an egg mortality of 100%, while thirty four fungi reached over 80% egg mortality. Of these thirty four fungi, seven belong to the genera *Fusarium*, seven to fungi that only produced chlamydospores, six to *Murogenella*, three to *Paecilomyces*, two to *Verticillium*, two to *Cladosporium*, two to *Acremonium*, two to *Alternaria*, one to *Trichocladium*, one to *Trichoderma*, and one to a non-sporulating fungus. This study provides a useful step in the selection of a potential biological control agent for this nematode pest.

**Development of a simple multiplex PCR protocol for identification of the tropical root-knot nematode species *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. javanica*.**

Sebastian Kiewnick<sup>1</sup>, Stefanie Wolf<sup>1</sup>, Martin Willareth<sup>1</sup> & Jürg E. Frey<sup>1</sup>

Agroscope Changins-Wädenswil, Research Station ACW, Schloss, 8820 Wädenswil, Switzerland, sebastian.kiewnick@acw.admin.ch

*Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* are considered to be the economically most important root-knot nematode species due to a wide host range and high damage potential. Next to the detection of the quarantine species *M. chitwoodi*, *M. fallax*, and *M. enterolobii*, identification of the morphologically similar tropical species in routine testing often required more than one PCR test. Therefore, a multiplex PCR protocol was developed for rapid identification these species. For the detection of *M. javanica* and *M. arenaria*, the available SCAR primers Mjav/Fjav and Far/Rar producing species specific products of 720 bp and 420 bp, respectively, were chosen. These primers are routinely used in our lab and have given reliable results in routine diagnostics. In order to develop a complementary primer for *M. incognita*, the 399 bp product of the SCAR primer inc-K14-F/R was sequenced and the primers Mi2F4/Mi2R1 designed to produce a product of 300 bp. This primer combination has been proven to produce reliable results in multiplex PCR assays with a number of different populations and no cross reaction was found with other

*Meloidogyne* species. Furthermore, the amplified species specific products allow separation by high-resolution capillary electrophoresis and can be used in high-resolution-melting-curve analysis.

**Microbial communities associated with juveniles of *Meloidogyne* spp. in soil**

Mohamed A. Abdou<sup>1</sup>, Johannes Hallmann<sup>2</sup> & Holger Heuer<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Julius Kühn Institute, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Messeweg 11/12, 38401 Braunschweig, Germany;
- <sup>2</sup> Julius Kühn Institute, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Toppheideweg 88, 48161 Münster, Germany, holger.heuer@jki.bund.de

Root-knot nematodes are the most widespread and commonly encountered species in tropical and subtropical regions. The diversity of bacterial and fungal communities in soil from an organic farm (SEKEM, Egypt) and attached to second-stage juveniles of *Meloidogyne* spp. extracted from the same soil were analysed by DNA-based techniques. DGGE fingerprints of amplified ribosomal genes of bacteria and proteobacterial subclasses, and of fungal ITS regions revealed numerous ribotypes that are tightly attached to the nematode cuticle. The ecological role of this attachment will be investigated.

# AK NUTZARTHROPODEN UND ENTOMOPATHOGENE NEMATODEN, 29.11.2011

## REPORT ON THE 30<sup>TH</sup> ANNUAL MEETING OF THE WORKING GROUP “BENEFICIAL ARTHROPODS AND ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES”

Dr. Annette Herz and Prof. Dr. Ralf-Udo Ehlers

The 30<sup>th</sup> Annual Meeting of the Working Group “Beneficial Arthropods and Entomopathogenic Nematodes” of DPG and DGaE was held on the 29<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> of November 2011 at the RheinMain University of Applied Sciences, Campus Geisenheim. Prof. Dr. Annette Reineke and her team from the Geisenheim Research Center, Department of Phytomedicine arranged the event in a smooth and perfect manner, including an extraordinary winetasting at the University’s wine cellar as highlight during the evening.

This year, the Working Group celebrated its 30<sup>th</sup> anniversary and the first two talks addressed the history of the working group as well as the history of the use of beneficials for biological control – both are examples of true success stories! The other 14 presentations focused on current problems in plant protection and perspectives to solve them with the help of beneficial organisms. The scientific program included also a poster session where four posters were shortly presented by their authors. Over 40 participants from research institutions, universities, extension services and biocontrol companies attended the meeting and a part of them also joined the subsequent “20<sup>th</sup> of Workshop of Biological Control”, a meeting of representatives of private and governmental extension services, biocontrol companies and other practitioners. Thus, *summa summarum*, 50 years of successful biological control with the help of beneficials!

Our next meeting will take place end of the year 2012. Exact date and venue will be announced in due time. We would like to thank all contributors and especially those who submitted their abstracts for publication.

### 30 YEARS WORKING GROUP “BENEFICIAL ARTHROPODS AND ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES” - A STORY OF SUCCESS!

Annette Herz

*Julius Kühn-Institut, Institute for Biological Control, Heinrichstr. 243, D-64287 Darmstadt*  
*Email: Annette.Herz@jki.bund.de*

It was in the year 1981 during the 43<sup>rd</sup> German Congress of Plant Protection at Hamburg, when three researchers launched the idea to establish a discussion forum for scientists and practitioners engaged in basic and applied research on beneficial arthropods for use in biological control. Said and done, the first meeting of the Working Group “Beneficial arthropods” was held at the Institute for Biological Control in Darmstadt in April 1982 and the “founder-trio” – Dr. G. Neuffer, Dr. S. A. Hassan and Dr. J. Schliesske – was elected as management board by the audience. From the beginning, the working group was associated to the **DPG** - Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e. V. (German Phytomedical Society r. S.) and the **DGaE** – Deutsche Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie (German Society for General and Applied Entomology). The general goal was to bring the application of beneficial arthropods into practice and to consider them as an important component of integrated pest management. The scientific meetings were supposed to provide a lively platform to exchange ideas, to discuss methodological issues and to involve especially young scientists at the beginning of their career – still one of the leading ideas until today! In subsequent years, the meetings were annually held at various locations, including universities, governmental bodies and research institutions all over Germany – particular thanks to all

colleagues who took over the task of event organization. Entomopathogenic nematodes “entered” our working group in 2001, when - after several common meetings - the DPG-group “entomopathogenic nematodes” officially joined, causing the consideration of these particular beneficials in our working group’s name. Beyond that also other biocontrol agents like viruses and entomopathogenic fungi were regularly considered in scientific contributions and these topics are of course highly welcome also in the future. The challenge to develop safe and efficient pest control methods in plant protection will certainly never finish and we hope that our working group can actively contribute to feasible solutions also in the forthcoming years.

### **30 YEARS USE OF BENEFICIAL INSECTS IN BADEN-WUERTTEMBERG - REASONS FOR THE SUCCESS AND PROSPECTS FOR THE FUTURE**

Reinhard Albert

*Agricultural Technology Centre Augustenberg (LTZ) - branch Stuttgart, Stuttgart.*

*Email: reinhard.albert@ltz.bwl.de*

This review of the development of "biological pest control" in Baden-Wuerttemberg (BW) presents the first steps up to today’s success, the introduction area and the reasons for the success. The first attempts with the use of beneficial insects in greenhouses at the end of the 60's failed due to the lack of pesticides, which could be integrated. From the end of the 70's until the mid-80's only two beneficials were used in horticulture: *Phytoseiulus persimilis* against *Tetranychus urticae* on cucumber and *Encarsia formosa* against *Trialeurodes vaporariorum* on tomato and cucumber. At that time the beneficials were bought only from the Netherlands. That brought considerable problems with the availability of the beneficials, customs formalities, the quantity and quality of the beneficials due to the long transport or because of storage at the customs. At the beginning of my career, the effect of the beneficials needed to be demonstrated to the growers under the conditions of Baden-Wuerttemberg in model or pilot plants. Because of the uncertainty in the purchase of beneficials from a foreign country local growers started with the production of them and had to be advised scientifically. The search for compatible pesticides also was important. As a next step, overall concepts for biological and integrated pest management in greenhouse crops had to be developed. The aim was to control all major and minor pests and also fungal pathogens in the different cultures, if possible, only by use of biological measures. At the same time, the number of commercially available beneficials rose continuously. Currently, about 60 beneficials are used in many horticulture cultures in greenhouses and other areas (stored products, botanical and zoological gardens, show rooms, offices etc.) in Germany. Twelve of them are used on larger areas and in some cases on more than 100 ha in BW. This development produced new tasks for the employees of the LTZ. The accurate determination of pest species was necessary for the correct choice of adequate beneficials. The newly introduced natural enemies had to be checked in regard to their efficiency on different plant species, the effective and manageable stages, the required quantity, the cost of the control and also to be tested for insecticide susceptibility. New predators and parasitoids had to be integrated into existing concepts and abiotic and biotic conditions in the greenhouse had to be observed.

After an initial success in vegetable and some ornamental crops special consulting services for biocontrol have been established in areas with intensive horticulture since 1990. Ten consultants are specially trained in biocontrol, but conventional plant protection consultants are now also involved in biocontrol. Without the steady support of the consultant Klaus Schrameyer, Heilbronn, who has been responsible for biocontrol in the North Eastern part of Baden-Wuerttemberg, biocontrol would not have progressed so far. Constantly new problems arose, when others had just been solved. Especially the occurrence of invasive pests, like



*Bemisia tabaci*, *Frankliniella occidentalis*, *Aphis gossypii* and *Liriomyza* species, which were highly resistant to many pesticides, caused tremendous problems. Meanwhile beneficials are used on an area of over 250 ha in protected cultivation in Baden-Wuerttemberg. The vegetable crops in greenhouses suitable for the introduction of beneficial insects, mites and nematodes are supplied to almost 100%. For potted plants, the percentage is almost 70% and for cut flowers more than 20%. Of particular interest is the use of beneficials in indoor landscapes, plantings in aqua parks, greenhouses of botanical and zoological gardens, offices and similar environments. Nowadays, beneficials are used to a great extent also in the open field. Innovations such as *Amblyseius cucumeris* and *A. swirskii* in little bags, the application systems ‚Bioline‘ and ‚Amblyline‘ or the ‚AquaNemix‘ device for the application of insect-parasitic nematodes simplify the use of beneficials. Further innovations are necessary in this field to improve the acceptance of biocontrol even more. But there are still some increasingly harmful insects, like certain mealybugs (e.g. *Pseudococcus viburni*), some scale insects like the Rose Scale *Aulacaspis rosae* and thrips species like *Frankliniella occidentalis* or *Thrips tabaci*, which cannot easily be controlled with beneficials. If the "biological plant protection" should not be a temporary phenomenon, an effective biocontrol of those species must be possible. Due to the newly developed possibilities of biological control as a tool of plant protection in horticulture there has been a complete turnaround over the past 27 years from chemical control to biocontrol. In many vegetable cultures in Baden-Wuerttemberg, biocontrol is the overall accepted standard. In cultures with ornamental plants, there are still opportunities for new biocontrol developments. As natural enemies do not work against every pest or disease, pesticides that can be used in IPM in combination with biocontrol agents are necessary also for quality assurance. The good cooperation between growers, nursery associations, consulting, governmental research and the producers of beneficials has ensured the success of biocontrol in BW. But there is still the need for intensive research and the development of new biocontrol measures.

### **SUSCEPTIBILITY OF THE PLUM FRUIT MOTH, *CYDIA FUNEBRANA* (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) TOWARDS THE *CYDIA POMONELLA* GRANULOVIRUS (CPGV)**

Annette Reineke, Mirjam Hauck

*Forschungsanstalt Geisenheim, Fachgebiet Phytomedizin, Von-Lade-Str.1, 65375 Geisenheim*  
Email: [reineke@fa-gm.de](mailto:reineke@fa-gm.de)

The *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) is effectively used worldwide for controlling *Cydia pomonella* (codling moth) larvae in apple orchards. Although CpGV is known to be highly specific thus not affecting non-target organisms, a few studies have shown that CpGV can infect other *Cydia* spp. and species in the family Tortricidae, in particular, if viral dosages are substantially increased. The plum fruit moth, *Cydia funebrana* is regarded as one of the key pests of plum in Europe, with biological control being severely hold back mainly due to a lack of available and efficient control agents. To test whether infection of plum fruit moth larvae by CpGV is, in principal, possible, viral suspensions of different CpGV isolates were sprayed on green or ripe plums in the laboratory, containing *C. funebrana* eggs in the black-head stage. Experiments were performed in three successive years and virus concentrations were between  $3 \times 10^5$ ,  $3 \times 10^6$  or  $3 \times 10^7$  occlusion bodies/ml. Sterile water was used as a control. Freshly hatched *C. funebrana* larvae were allowed to feed and to bore into these fruits and were assessed for mortality or for hatch of adults. A substantial number of dead and liquefied larvae were present in the virus treated plums and absent in the control. Presence of CpGV in the cadavers was confirmed with CpGV specific primers in polymerase chain reactions (PCR) and subsequent sequence analysis of obtained PCR products. Highest efficacies between 80-

60% were obtained for CpGV isolate V15 in all three years. An initial series of applications of this isolate in the field indicated that *C. funebrana* larvae had taken up the virus but that mortalities were apparently not high enough to achieve sufficient control levels under field conditions.

### **BIOLOGICAL CONTROL OF THE BOX TREE MOTH (*CYDALIMA PERSPECTALIS*) WITH A BACULOVIRUS**

Jana Rose, Regina G. Kleespies, Johannes A. Jehle

*Federal Research Center for Cultivated Plants, Julius Kühn-Institut, Institute for Biological Control, Heinrichstr.243, D-64287 Darmstadt.*

*Email: johannes.jehle@jki.bund.de*

Since several years, box trees (*Buxus* spp.) are severely affected by the box tree moth, *Cydalima perspectalis*, which originated from South-East Asia. It rapidly spreads in Europe and can cause complete defoliation of box trees. In laboratory experiments, the effect of the baculovirus *Anagrapha falcifera* nucleopolyhedrovirus (AnfaNPV) on *C. perspectalis* was investigated. Two isolates of AnfaNPV, BI-235 and Dn10, were propagated in different larval stages of *C. perspectalis* and then purified by sucrose density gradient centrifugation. To assess the virulence of AnfaNPV, a bioassay with neonate larvae of *C. perspectalis* was established. Therefore, suspensions of each virus isolate of varying concentrations were applied to leaf disks of box tree. Mortality was scored after seven days and the median lethal concentrations (LC<sub>50</sub>) were determined for both isolates using probit analysis. In comparison, the LC<sub>50</sub> value for the isolate BI-235 ( $7.8 \times 10^5$  OB/ml) was three times higher than the LC<sub>50</sub> value for the isolate Dn10 ( $2.3 \times 10^6$  OB/ml). In addition, the infection of *C. perspectalis* larvae with AnfaNPV was verified by light and electron microscopic examinations. Both isolates of AnfaNPV infected fat body, epidermis and tracheal matrix of *C. perspectalis*. These results demonstrated the susceptibility of *C. perspectalis* to AnfaNPV. In conclusion, AnfaNPV might have the potential of a biological control agent of the box tree moth.

### **FIRST EXPERIMENTS TO EVALUATE THE EFFICACY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES FOR BIOCONTROL OF THE BOX TREE PYRALID MOTH, *CYDALIMA PERSPECTALIS* (WALKER 1859)**

Stefanie Göttig, Simon Feiertag, Annette Herz

*Federal Research Center for Cultivated Plants, Julius Kühn-Institut, Institute for Biological Control, Heinrichstr.243, D-64287 Darmstadt.*

*Email: Annette.Herz@jki.bund.de*

The box tree pyralid *Cydalima perspectalis* (Walker1859) is an invasive alien moth from East Asia which occurs in Central Europe since 2007. It is an insect pest on plants of the genus *Buxus*, causing serious damage. Because of the rapid spread in Germany and nearby countries like Switzerland, one part of this study was testing different ways of eco-friendly regulation with commercially available beneficials and plant extracts like NeemAzal-T/S. In addition to host acceptance and host location tests with *Trichogramma* wasps in the laboratory, the susceptibility of *C. perspectalis* larvae to three entomopathogenic nematode (EPN) species was investigated in various bioassays. *Steinernema carpocapsae* was the most effective nematode which produced mortalities ranging from 80 to 100% at four concentrations (25, 50, 100, 200 EPN/larvae). Also *Steinernema feltiae* produced high mortalities, whereas in the treatment with *Heterorhabditis bacteriophora* only low mortality was recorded. The investigation of the infectivity of various larval instars (2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup>) caused by *S. carpocapsae*

demonstrated a mortality of 100% at 50, 100 and 200 EPN/larvae for both larval instars, but 4<sup>th</sup> larvae were infected faster than 2<sup>nd</sup> instars. On the other hand, entomopathogenic nematodes are not effective against pupae of *C. perspectalis*. The susceptibility of *C. perspectalis* larvae under more natural conditions was carried out on box trees. The application of *S. carpocapsae* with a pressure sprayer caused a mortality of 95%, despite the formation of feeding webs in the foliage. One experiment was applied to determine the persistence of *S. carpocapsae* on the foliage of box trees. After the application in the field, treated branches were sampled and fed to *C. perspectalis* larvae, followed by incubation in the laboratory. Even after 16 h of exposure, the resulting rate of insect mortality was 95%. An increase in the persistence by using an adhesive could not be shown. First field experiments on infested box hedges were carried out in September with *S. carpocapsae* and in October 2011 with *S. feltiae* (autumn treatment). The results of the experiments indicated that feeding larvae can generally be infected whereas larvae in winter cocoons are not susceptible to nematodes. This study has shown that under laboratory conditions *S. carpocapsae* is a suitable biological control agent for *C. perspectalis*, but the experimental conditions in field, such as the time of application and the application rates, need to be optimized.

## **CONTROL OF THE CORN ROOTWORM WITH *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* READY FOR USE**

Ralf-Udo Ehlers

*University Kiel, Inst. Phytopathology, Dept. Biotechnology and Biological Control, Hermann-Rodewald Str. 9, 24118 Kiel*

*Email: ehlers@biotec.uni-kiel.de*

The entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* has been tested successfully against larvae of the Corn Rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*) for the last 5 years in Hungary, Austria and Italy. When applied at a dose of  $1 \times 10^9$  nematodes per ha the results have been comparable to those obtained with chemical seed dressing with neonicotinoides or application of granular insecticides containing the pyrethroid Tefluthrin. At higher dose of  $2 \times 10^9$  the results were more stable at control between 70 and 90%. Although the differences are remote, in comparison to chemical insecticides the nematodes usually provided higher reduction of adults, whereas less root damage was recorded for chemical insecticides. The effect of nematodes is equally high, whether applied during sowing of the maize or at occurrence of the larvae approximately 6 weeks later. Different application techniques have been tried and the problems with seed dressing and granular application were discussed. Liquid applications into the drill with 200-400 liters of water have provided optimal conditions for nematode establishment and persistence until the occurrence of the larvae. With the implementation of the new EU regulation 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and replacing Directive 91/414/EEC since 14 June 2011 the legal conditions favour biological control measures. Article 55 explicitly implies the promotion of the use of non-chemical and natural alternatives. Directive 2009/128/EC aims to achieve the sustainable use of pesticides, Article 14 lines out that “the Member States shall take all necessary measures to promote low pesticide-input pest management, giving wherever possible priority to non-chemical methods, so that professional users of pesticides switch to practices and products with the lowest risk to human health and the environment”. Biological control industry is preparing to supply the markets with the necessary amounts of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. In 2010 the first product based on this nematode was introduced.

## ESTABLISHMENT OF *BEAVERIA BASSIANA* IN DIFFERENT POTTING MEDIA AND IMPLICATIONS OF AN APPLICATION ON THE INDIGENOUS SOIL FUNGAL COMMUNITIES OF AN AGRICULTURAL FIELD

Jacqueline Hirsch<sup>1</sup>, Monika Bischoff-Schaefer<sup>1</sup>, Sandhya Galidevara<sup>2</sup>, Benno Gottwald<sup>1</sup>, K. Uma Devi<sup>2</sup>, Stephan Strohmeier<sup>3</sup>, Martin Pfannkuchen<sup>4</sup>, Annette Reineke<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Geisenheim Research Center, Department of Phytomedicine, Von-Lade-Straße 1, 65366 Geisenheim, Germany

<sup>2</sup>Andhra University, Department of Botany, 530 003 Visakhapatnam, India.

<sup>3</sup>SMS-Development, Ortsstr. 6, 69226 Nussloch, Germany

<sup>4</sup>Center for Marine Research, Institute Ruder Boskovic, Giordano Paliaga 5, 52210 Rovinj, Croatia.

Email: hirsch@fa-gm.de

Worldwide, entomopathogenic fungi (EPF) are used for biocontrol of various arthropod pests. In practice, they are either mixed into the potting media at the time of planting or sprayed directly onto the plants or the soil. One of the most widely used EPF is the species *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. As *B. bassiana* comprises of a cryptic phylogenetic species complex, molecular tools for strain-specific identification of applied *B. bassiana* isolates are required. Therefore, 17 *B. bassiana* strains were analysed with five microsatellite markers (SSR markers) resulting in a strain-specific SSR profile for the *B. bassiana* isolate ATCC 74040, which is the active ingredient in the commercially available product Naturalis<sup>®</sup> (Bischoff-Schaefer 2010). In addition, these SSR markers were used to analyse the fate of *B. bassiana* strain ATCC 74040 (Naturalis<sup>®</sup>) when mixed into different potting media. As a result, strain-specific SSR products were amplified up to 14 weeks after incorporating Naturalis<sup>®</sup> into the different media (Bischoff-Schaefer 2010). Moreover, in a second study, when *B. bassiana* isolate ATCC 74040 (Naturalis<sup>®</sup>) was poured as a water-based solution onto pots containing soil, strain-specific SSR profiles were amplified only from DNA isolated from the upper soil layers, indicating that *B. bassiana* was not leached from the upper to the lower soil layers, although pots were watered several times after Naturalis<sup>®</sup> application (Gottwald 2011). EPF may be used for biological control in greenhouses as well as in the field. Whereas the effect of *B. bassiana* on non-target-arthropods is relatively well known, less is known about the implications of such a microbial biocontrol agent on microorganisms such as fungi and bacteria present in the soil. Therefore a field experiment, analysing the fate, spread and the effect of artificially applied *B. bassiana* strain ITCC 4688 on the indigenous soil fungal community, was performed. This study used 454 pyrosequencing and the above mentioned SSR markers for the description of fungal diversity before and after EPF application as well as for strain-specific identification of *B. bassiana* isolate ITCC 4688, respectively. The investigation revealed that *B. bassiana* strain ITCC 4688 got established within the field and had no effect on the indigenous soil fungal communities. Moreover, a natural spread of *B. bassiana* strain ITCC 4688 was detected during the seven weeks of study.

### References:

**Bischoff-Schaefer, M. (2010):** Genetische Charakterisierung von *Beauveria bassiana* (Stamm ATCC 74040) zur stammspezifischen Reisolation aus verschiedenen Kultursubstraten. Masterarbeit Gartenbauwissenschaften, Hochschule RheinMain, Fachbereich Geisenheim.

**Gottwald, B. (2011):** Das Potential des entomopathogenen Pilzes *Beauveria bassiana* zur Kontrolle der Kaktusmotte *Cactoblastis cactorum* und die Etablierung im gärtnerischen Kultursubstrat. Bachelorarbeit Gartenbau, Hochschule RheinMain, Fachbereich Geisenheim.



## **THE MYRMECOPHILOUS LADYBIRD *PLATYNASPIS LUTEORUBRA* - AN OPTION TO CONTROL THE BLACK BEAN APHID BIOLOGICALLY?**

Tobias Koch, Simon Feiertag, Annette Herz

*Federal Research Center for Cultivated Plants, Julius Kühn-Institut, Institute for Biological Control, Heinrichstr.243, D-64287 Darmstadt*

*Email: Annette.Herz@jki.bund.de*

The black bean aphid, *Aphis fabae*, is difficult to control by beneficial organisms, because even in greenhouses this species is frequently attended by ants, which defend the aphid colonies. Therefore, most aphidophagous beneficial organisms have a reduced effectiveness. Within the ladybird family, however, there are some species, which are able to live close to ants. Such species are termed myrmecophilous ladybirds, and *Platynaspis luteorubra* (GOEZE) is one of these, thus possibly antagonising the black bean aphid. Up to now biology and ecology of this beetle are just known rudimentarily, which made us investigate the predatory benefit and the preferred prey of this species in the laboratory. At first, a suitable rearing system had to be developed. A small-scale petridish system worked well, but turned out to be too labour-intensive for using it in a commercial production. Furthermore, the weight and size of filial generations were declining, probably due to suboptimal rearing conditions on *Aphis fabae*. The egg production was very low in contrast to commonly used beneficial ladybirds such as *Coccinella septempunctata*. In comparative experiments with the well-known aphid antagonists *Chrysoperla carnea* and *Aphidoletes aphidimyza*, *Platynaspis luteorubra* was partly able to constrain the growth of the aphid population considerably. Nevertheless *P. luteorubra* lacks some of the most important properties of beneficial organisms, commercially used in biological plant protection: a high reproduction rate, a high voracity as well as a simple and inexpensive method for mass-rearing. The undeniable advantage of this beetle is its myrmecophily, which could be useful while applying other useful animals against the black bean aphid. Hence, *P. luteorubra* has to be scrutinized more thoroughly. This paper is one of the early steps to explore the abilities of this beneficial predator as an antagonist of the black bean aphid, *Aphis fabae*.

## **EFFICIENCY OF DIFFERENT STRAINS OF *HABROBRACON HEBETOR* AGAINST SOME STORAGE INSECTS *PLODIA INTERPUNCTELLA* AND *EPHESTIA KUEHNIELLA* IN THE LABORATORY**

Juliane Richter<sup>1</sup>, Christa Volkmar<sup>1</sup>, Olaf Zimmermann<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,*

<sup>2</sup>*AMW Nützlinge GmbH. Email: volkmar@landw.uni-halle.de*

Storage insects such *Plodia interpunctella* (Hübner) and *Ephestia kuehniella* (Zeller) are pests in warehouses. It is preferable to use biological control measures for controlling these insects, i.e. the antagonists. Nowadays, the well-known method is using *Trichogramma* wasps. In this study, an alternative method was tested, using the larval parasitoid *Habrobracon hebetor* (Say). Three different local types from Germany, Spain and Egypt were evaluated. The longevity of *H. hebetor*, the paralyzing and parasitisation rate, cocoon formation, emergence rate and survival of the F1-generation were investigated. These experiments were conducted in Petri dishes in the laboratory, separated for each local type. Three different hosts were used: First, five *Plodia* larvae, second, five *Ephestia* larvae and third, three *Plodia* plus three *Ephestia* were each exposed to one *H. hebetor* female in a Petri dish. The dishes were inspected daily. Three replicated were used for each treatment. Mean of female longevity of



*H. hebetor* German-strain was 6.7 days, of the Spanish 8.1 days and of the Egyptian strain 11.4 days. The parasitoid longevity on *Plodia* and *Ephestia* was similar, but on *Ephestia* it is slightly longer (8 days) than on *Plodia* (7 days). The average paralyzing rate caused by *H. hebetor* was 12.5% (German strain), 25% (Spanish) and 39.1 % (Egyptian strain). All such damaged larvae died. The parasitization rate of *H. hebetor* Spanish strain was 40.1% on all different hosts and only 21.9% of the German strain and reached 26.1% with the Egyptian strain. Generally, cocoons were formed in a high number but the hatching rate was low (19.6%). In the German strain *H. hebetor* formed 31 cocoons, but only 5 individuals emerged out of the cocoons (emergence rate 16.13%). While the emergence rate was 18.1% in the Spanish strain (116 cocoons were formed and 21 wasps emerged). The highest emergence rate was recorded for the Egyptian strain, reaching 25.0% (72 cocoons produced and 18 adults hatched). The survival of the F1-generation was 3.6 days (German), 3.3 (Spanish) and 6.4 days (Egyptian strain). Finally, we can conclude that it is possible to use all three local types for biological control of *Plodia interpunctella* and *Ephestia kuehniella*. Life table experiments should be planned to get more biological data of the antagonist.

### **TRACKING APHID PARASITOIDS WITH MICROSATELLITES: PARENTAGE ANALYSIS OF *DIAERETIELLA RAPAE***

Isabelle Eisele, Rainer Meyhöfer, Hans-Michael Poehling  
*Leibniz University Hannover (LUH), Institute of Plant Diseases and Plant Protection,  
Herrenhäuser Str. 2, D-30419 Hannover  
Email: eisele@ipp.uni-hannover.de*

Beneficial organisms as well as pest species have to move frequently between crops and neighboring natural habitats. Such alternative habitats may act as source or sink habitat depending on the needs of the organisms and the availability of prey, hosts or nectar. In order to increase the efficiency of beneficial insects it is necessary to optimize habitat structures. The project aim is to analyze the foraging behavior, i.e. the movements of *Diaeretiella rapae* - a primary parasitoid of the mealy cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* - between different habitats. Standard methods to track movements of insects, like direct observations or capture-recapture methods, are difficult to implement due to the small size of aphid parasitoids. Instead we focused on molecular methods, i.e. microsatellite markers, as a new method to track foraging decisions made by female parasitoids on the basis of parentage and kinship analysis. As a first step the suitability of nine newly selected microsatellite primer pairs as genetic identifier was tested under standardized conditions in the lab. Therefore nine families of *D. rapae* were produced using females and males from the same rearing. The pairs were placed into containers with a single Brussels sprout plant infested by *B. brassicae*. For the kinship analysis the parents as well as four to five individuals of the emerging offspring were genotyped with nine microsatellite primers. As outgroups 18 other females from six different rearings and their offspring were included into the analysis. Genetic fingerprints of offspring and candidate parents were compared with a parentage analysis software. The results showed that 38 of 46 offspring were assigned correctly to the true mother and father, 5 were assigned either to the true mother or father, and only 3 were assigned to the wrong parents. All individuals from outgroups were correctly not assigned to the candidate parents. Based on these promising results a first field experiment was designed in order to investigate the specific impact of flowering strips (sink or source) on the parasitoid *D. rapae* in cabbage fields. Therefore, we released 45 genotyped females in flowering strips in the neighborhood of Brussels sprout plots. Offspring of females, i.e. parasitized aphids, were collected on aphid infested Brussels sprout trap plants in three day intervals. First results show no obvious

habitat preferences. Parentage and kinship analysis of the offspring to analyze individual foraging decisions is in progress.

**THE CHALCID WASP *SCHIZONOTUS SIEBOLDI* (PTEROMALIDAE) AS A PUPAL PARASITOID OF THE RED POPLAR LEAF BEETLE, *CHRYSOMELA POPULI* L. (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE), IN SHORT ROTATION COPPICE (SRC)**

Richard Georgi, Michael Müller

*Technische Universität Dresden, Professur für Forstschutz, Piennner Str. 8, 01737 Tharandt*

*Email: richard.georgi@tu-dresden.de*

*Chrysomela populi* is the main pest species in SRC (short rotation coppice) with poplar in Germany. Mass development of this pest species can result in loss of increment and loss of cuttings and coppice shoots. The larger the area of SRC and the greater their linking the higher is the probability for damage. Therefore, this species has become more and more an important economic factor when managing SRC. There is relatively little knowledge about natural enemies of *C. populi*. The chalcid wasp *Schizonotus sieboldi* has been proven to be a very important pupal parasitoid on all three investigated study sites in Brandenburg and Saxony. The parasitisation rate ranged from 35% to 73% (50% on average) in a total of six investigations. Imagines of *S. sieboldi* deposit eggs on the abdominal side of the pupae thorax. The development of the six larval stages and the pupal stage takes place under the wing pads and the thoracic appendages of *C. populi*. In average 11.5 adults of *S. sieboldi* (maximum 29) emerged per pupae. The more pteromalid wasps emerged per pupae the higher is the male percentage. Female Imagines are significantly larger (2.61 mm on average) than male Imagines (2.19 mm on average). With respect to the introduction of guidelines for Integrated Pest Management (IPM) in 2014, this natural enemy is a potential species to prevent mass outbreaks of *C. populi*. Further research is needed in terms of promoting *S. sieboldi* by improving of habitat structures.

**PARASITOIDS OF THE MULBERRY SCALE *PSEUDAULACASPIS PENTAGONA***

H. Rauleder, R. Albert

*Agricultural Technology Centre Augustenberg (LTZ), Stuttgart*

*Email: reinhard.albert@ltz.bwl.de*

The mulberry scale originates from East Asia and was imported to Italy at the end of the nineteenth century. The first detection in Germany was in the 60s in Bavaria. The scale has been active in Baden-Wuerttemberg since 1985. Since about 10 years heavy infestation by the scale insect with massive damage has occurred in commercial horticulture and since about 5 years also in private gardens. The foliage of infested trees often becomes sparse and yellow. Heavy infestations can lead to stunted growth, premature fruit drop and may result in the death of the host plant. The trunk, branches and twigs of heavily infested plants may look as if whitewashed. From the United States of America 121 host plants are known. These include among others peaches, currants, raspberries, maple, bluebeard, pear, blue bells, oak, ash, lilac, kiwi, lime, mulberry, black locust, catalpa and walnut. The mulberry scale has 2 generations per year in the north and four generations in the south. The adult female is a yellowish-white to reddish-orange unsegmented (sac-like) insect about 1 mm in diameter. The females are covered by an oval to circular scale, which is normally white with a brown centre and 2 - 2.5 mm in diameter. The adult male is a tiny aphid-like yellow insect, less than 1 mm long, with only two-wings (wing span is 1.4 mm) but four eyes and a long genital stylus at the end. The scale of immature males is snowy white and 1.5 mm long. The 100-150 eggs are laid by the

female scale underneath the scale covering. They are orange for the future females or pink for males. The crawlers are also tiny, oval, and normally orange with six darker legs. All stages live on the bark. Fertilized females hibernate on the bark and lay eggs in spring before they die. The pest is distributed with infested plant material. The crawlers are spread by wind, birds and other insects. The parasitoids of the mulberry scale were caught with photoelectrodes. Infected twigs of peach as well as red and black currants were given into a darkened box. Parasitoids that were hatching out of the scales were then trapped in glass tubes that were fixed in holes in the cardboard. There were only two species present in the investigated 4 infected orchards in the Upper Rhine valley: *Aphytis diaspidis* and *Encarsia berlesei*. 66% of them were *A. diaspidis* and 34% *E. berlesei*. *A. diaspidis* is a solitary ectoparasitoid that hibernates as a young larvae on the host, whereas *E. berlesei* is a solitary endoparasitoid. This species reproduces without fertilization of the females (parthenogenesis), and hibernates also as a young larva in the host. The mortality caused by the parasitism of the two parasitoids on the fruit trees in the Upper Rhine valley was on average 10.8% (min. 2% and max. 23%). But the mortality due to the host-feeding of the two parasitoids seems to play a role in the regulation of the pest. The amount of host-feeding was not assessed. The host-feeding takes place during the oviposition period of females and is an important protein resource for them. The natural enemies of the mulberry scale, the parasitic wasps *Aphytis diaspidis* and *Encarsia berlesei*, have followed their host into Germany and distributed in the Upper Rhine valley. The parasitism and apparently the host-feeding can be quite high in some orchards. But it is not an effective control measurement. Further experiments on biological control with these two parasitic wasps and other beneficial organisms may therefore be necessary.

## **THE IMPACT OF FOOD RESOURCES ON PREDATORY HOVERFLY *EPISYRPHUS BALTEATUS* FITNESS**

Michael Kahato, Rainer Meyhöfer, Hans-Michael Poehling

*Leibniz Universität Hannover, Institute of Plant Diseases and Plant Protection Herrenhäuser  
Str. 2, 30419 Hannover*

*Email: meyhoefer@ipp.uni-hannover.de*

The foraging behaviour of aphidophagous predators plays a key role in conservation biological control. However, for understanding the foraging behaviour of females, most investigations have focused on the interaction between prey and host while overlooking the importance of food foraging and supply during oviposition. In Europe, *Episyrphus balteatus* is one of the most important aphid specific predators. It depends on pollen and nectar for reproduction and longevity. However, in agroecosystems the spatial and temporal pattern of crops change, consequently food resources are fluctuating, which may limit syrphids predatory performance. Thus, it is important to know how they react to changing food resources. We studied the impact of resource availability on the fitness of *E. balteatus*. Individual mated female syrphids were released in net cages with a rape plant infested with *Brevicoryne brassicae* while pollen and sugar supply was manipulated to simulate limitation in food resources. As a control, pollen and sugar were provided unrestricted throughout the lifespan while the treatments included: pollen only, sugar only, withdraw of pollen from 1<sup>st</sup> to 11<sup>th</sup> day and 11<sup>th</sup> to 25<sup>th</sup> day. Deposited eggs were counted daily and foraging patterns recorded with a video observation system. Results show that syrphids contacted the food patch quite often and for longer durations before day 11. From day 11 onwards egg laying started, but food visiting frequency decreased. When syrphids could feed on pollen and sugar throughout, they laid 2 fold egg numbers compared to different shortage treatments. The highest longevity occurred when pollen and sugar were available throughout the experiment, being twice as long as if feeding on sugar only. These results demonstrate that pollen

availability is not only essential for oviposition but also for survival. Consequently, lack of pollen sources during pre-oviposition has a negative impact on egg output and longevity, both key factors for predatory efficacy of syrphids.

## **INVESTIGATION OF LONG- AND SHORT-TERM EFFECTS OF ELEVATED TEMPERATURES ON *COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA* L. AND *HARMONIA AXYRIDIS* (PALLAS) (COL.: COCCINELLIDAE)**

Sandra Krengel, Bernd Freier

*Julius Kühn-Institut, Institute for Strategies and Risk Assessment, Kleinmachnow, Germany.*

*Email: sandra.krengel@web.de*

Global warming will have a decisive impact on pests and their natural enemies (Jahn&Freier 2001, Harrington et al. 2007). Elevated temperatures could even lead to an increased predatory potential of coccinellids (Dunn 1952, Frazer and Gilbert 1976, Triltsch et al. 1996). The seven-spotted ladybird, *Coccinella septempunctata* L., is one of the most important native coccinellid species feeding on aphids in winter wheat in Germany. Because of its rapid spread in Europe, the invasive Asian ladybird, *Harmonia axyridis* (Pallas), seems to be well adapted and is expected to become highly relevant for wheat-aphid-coccinellid interactions. Based on data from the literature (e.g. Freier and Triltsch 1996, LaMana and Miller 1998, Katsarou et al. 2005) and our previous studies (Krengel and Freier 2011), it must be assumed that *C. septempunctata* and *H. axyridis* are quite different in terms of some responses to elevated temperatures, but that they share some temperature-dependent characteristics. The aim of the present study was to compare the short-term and long-term effects of elevated temperatures on *C. septempunctata* and *H. axyridis*. We investigated the short-term effects of different day temperature profiles inside one generation of both species, and long-term effects in several generations of *H. axyridis*. These climate chamber experiments were performed using three day temperature profiles: normal (T0 - Mean: 17.8 °C, Max: 21.8 °C, Min: 13.4 °C), elevated (T3 - Mean: 20.8 °C, Max: 25.5 °C, Min: 15.7 °C) and highly elevated (T6 - Mean: 23.8 °C, Max: 29.5 °C, Min: 17.9 °C). Larvae and adults were fed *Sitobion avenae* F. ad libitum ( $\geq 200$  aphids per day) for the entire test period, from fresh emerged first instar to 10-day-old adult. For investigation of short-term effects, *C. septempunctata* and *H. axyridis* individuals obtained from rearing over several generations at normal T0 temperatures were treated at T0, T3 or T6 for the entire experimental period. Long-term effects were investigated using *H. axyridis* individuals from stocks reared at T0 (6<sup>th</sup> generation) and T6 (10<sup>th</sup> generation), which were kept at T3 temperatures for the entire experimental period. The investigation of short-term effects of elevated temperatures inside one generation revealed that the developmental times of both coccinellid species were very similar. The development time decreased by half, from 28.6 and 27.8 days at normal temperatures (T0) to 14.0 and 14.7 days at highly elevated temperatures (T6) for *C. septempunctata* and *H. axyridis*, respectively. Both species showed increasing aphid consumption in response to elevated temperatures. However, *C. septempunctata* fed more *S. avenae* per day than *H. axyridis* at all temperatures, and all females ate more than males. Female *C. septempunctata* consumed about 80.7 aphids/d at T0 and 141.2 aphids/d at T6. Female *H. axyridis* consumed 68.4 aphids/d and 103.7 aphids/d at T0 and T6, respectively. The live weight of 10-day-old imagines ranged from 32.7 mg (male *H. axyridis* at T0) to 49.1 mg (female *C. septempunctata* at T3). *C. septempunctata* reached highest weights at T3 and *H. axyridis* at T0, whereas the live weight of male *H. axyridis* in particular more or less stagnated. We observed big differences in fat body accumulation in both species. *C. septempunctata* showed an increasing and higher fat body content than *H. axyridis* from T0 to T6. That of *H. axyridis* stagnated at a low level, independent of temperature. The long-term investigation of the effects of normal (T0) versus

elevated (T6) temperatures over multiple generations of *H. axyridis* revealed that only the live weights of 10-day-old adults were affected by different temperatures during previous parental generations. Developmental time and fat body content do not seem to be affected by long-term temperature experiences.

A list of cited references is available from the corresponding author.

## **THE ARTHROPOD FAUNA OF HOP CONES, WITH SPECIFIC CONSIDERATION OF THE NEUROPTERA**

Florian Weihrauch

*Bavarian State Research Center for Agriculture, Institute for Crop Science and Plant*

*Breeding, Hop Research Center Hüll, Hüll 5 1/3, 85283 Wolnzach*

*Email: Florian.Weihrauch@LfL.bayern.de*

From 2008 to 2010 the arthropods colonising hop (*Humulus lupulus*) cones were monitored in 60 hop gardens of 27 farms in the Bavarian 'Hallertau' growing region. As part of a larger research project to establish a control threshold for the damson-hop aphid *Phorodon humuli*, a novel extraction method was developed for monitoring aphids and other arthropods in hop cones. By the use of modified Berlese funnels, arthropods were driven by light and heat from the samples of green cones into small vessels containing a sampling liquid, and counted exactly. A total of 1,174 samples, each comprising 100 green hop cones, were taken from field plots (both treated and untreated with insecticide) and individuals were identified and counted. Over the three year project, the total catch of 159,348 arthropods was dominated by *P. humuli* (71 %) and thrips (Thysanoptera; 25 %). The beneficials accounted for only 2.3 % of the total catch and their average number per sample ranged from 2.44 to 4.42 individuals. The rest of the catch (1.7%) consisted of other arthropod pests (hop flea-beetle, two-spotted spider mite), and indifferent species like scavenging beetles and phorid flies. The 3,732 individual predators counted within the hop cones belonged predominantly to six insect families in the following proportions: minute pirate bugs (Anthocoridae, adults and larvae) 73.8 %; predaceous gall midges (Cecidomyiidae, larvae) 10.7 %; hoverflies (Syrphidae, larvae) 5.1 %; brown lacewings (Hemerobiidae, larvae) 3.8 %; green lacewings (Chrysopidae, larvae) 2.4 %; and ladybirds (Coccinellidae, larvae with few adults) 2.3 %. The 230 individuals belonging to the two Neuroptera families (green lacewings, 38.7 %, and brown lacewings, 61.3 %), consistently every year accounted for about 6 % of all predators. The Chrysopidae found were exclusively *Chrysoperla* spp., whereas the Hemerobiidae were represented primarily by the genera *Hemerobius*, *Micromus*, and *Wesmaelius*. The species *Chrysoperla carneas*.str., *Hemerobius humulinus*, *H. lutescens*, *Micromus variegatus*, *Wesmaelius nervosus* and *W. subnebulosus* are regarded as the most important Neuroptera in hop cones. The highest proportion of beneficials found was of Anthocoridae (73.8%) and this is best explained by their flat bodies permitting them to hunt their prey deep inside the hop cone between the bracts, which grow overlapping each other closely leaving only narrow spaces in between. Furthermore, although the Hemerobiidae and Chrysopidae constituted only a small (6.2%) proportion of the beneficials, they are estimated as essential natural aphid predators in hop growing.

This project was generously funded by Deutsche Bundesstiftung Umwelt, Osnabrück.



## Agenda Arbeitskreis Pflanzenschutztechnik am 08.- 09.03.2011 bei der Firma John Deere in Mannheim

| Tagung am 08. März 2011 |                      |   |
|-------------------------|----------------------|---|
| 13:30                   | H. Kramer            | Eröffnung der Arbeitskreistagung  |
| 13:50                   | H. Kramer            | Erfahrungen zur Behandlung gegen Diabrotica in NRW                              |
| 14:10                   | K. Schmidt           | Ergebnisse zur Applikation in hohen Maisbeständen                               |
| 14:30                   | R. Heinkel           | Erste Erfahrungen zum Dropleg-Einsatz im Mais                                   |
| 14:50                   | Ch. Schulze-Stentrop | Situation zur Applikation in hohen Maisbeständen aus Sicht der Gerätehersteller |
| 15:10                   | Kaffeepause          |   |
| 15:40                   | E. Herbst            | Praxisergebnisse zur kontinuierlichen Innenreinigung im Obstbau                 |
| 16:00                   | W. Heller            | Praxisergebnisse zur kontinuierlichen Innenreinigung im Feldbau                 |
| 16:20                   | S. Gräf              | Praktische Erfahrungen mit der Nachrüstung zur kont. Innenreinigung             |
| 16:40                   | S. Kiefer            | Untersuchungen der Reinigungsleistung von Innenreinigungssystemen               |
| 17:00                   | Organisatorisches    |   |

| Tagung am 09. März 2011 |   |   |
|-------------------------|---|---|
| 08:30                   | H. Ganzelmeier  | Reduzierung des PSM-Einsatzes durch laubdichteabhängige und gerätespezifische Anpassung der Dosierung   |
| 08:50                   | H. Knewitz  | Driftfreie Applikation von Herbiziden in Rebanlagen   |
| 09:10                   | U. Tilinski   | Solarparks, eine neue Herausforderung für den Pflanzenschutz  |
| 09:30                   | M. Röttele  | Bericht über das EOS- Projekt zur Reduktion von PSM Einträgen durch Technik   |
| 09:50                   | Kaffeepause   |   |
| 10:20                   | H. Koch   | Benetzung bei der Pflanzenschutzmittelapplikation   |
| 10:40                   | R. Frießleben   | Einfluss von Applikationstechnik auf die Ungrasskontrolle im Getreide - zusammengefasste Versuchsergebnisse   |
| 11:00                   | H.-J. Osterrorth<br>H. Ganzelmeier                                | Hohe Fahrgeschwindigkeiten beim Pflanzenschutz im Ackerbau – Ergebnisse der Jahre 2008 bis 2010   |
| 11:20                   | BASF  | Untersuchungen zur Applikation von Fungiziden im Getreide mit unterschiedlichen Fahrgeschwindigkeiten und Wasseraufwandmengen – zusammengefasste Ergebnisse |
| 11:40                   | Berichte aus den Arbeitsgruppen                                   |   |
| 12:00                   | Arbeitskreis intern - Mitgliedschaft / Sonstiges / nächste Tagung |   |
| Ende der Tagung         |   |   |

Die nächste Tagung findet am 07/03 – 08/03/2012 statt. Die Veranstaltung wird bei der Fa. Lemken in Alpen stattfinden.

## **Zusammenfassung des Vortragsteils**

Die Vorträge befassten sich mit der Thematik der Applikationsmöglichkeiten in hohen Maisbeständen. Dieser Aspekt ist vor dem Hintergrund der Ausbreitung des Quarantäneschädling *Diabrotica virgifera* und dem Maiszünsler *Ostrinia nubilalis* für die Praxis von immer größer werdendem Interesse. Als weiterer Themenblock wurde der Gerätereinigung Beachtung geschenkt. Zusätzlich wurden applikationstechnische Fragestellungen über Präsentationen von Versuchsergebnissen vorgestellt und diskutiert – siehe Kurzfassung der Vorträge

## **Kurzfassung der Beiträge**

### **Erfahrungen zur Behandlung gegen *Diabrotica virgifera* in NRW**

H. Kramer (Landwirtschaftskammer NRW, Pflanzenschutzdienst)

Im Jahr 2010 kam es erstmalig zum Auftreten des Quarantäneschädling *Diabrotica virgifera* in Nordrhein Westfalen. Insgesamt konnten zwei Befallsregionen ausgemacht werden. Zum Einen in Köln Wahn (11 Käfer) und zum Zweiten in Herongen (1 Käfer). In beiden Fällen konnte durch sofortige Behandlungen mit dem Insektizid Biscaya auf diese Funde reagiert werden um den vorgeschriebenen Ausrottungsmaßnahmen gerecht zu werden. Zum Einsatz kam ein Selbstfahrer der Firma Amazone, der über eine ausreichende Bodenfreiheit verfügte. Vorteilhaft im Befallsjahr waren die Wuchsbedingungen die zu einem reduzierten Längenwachstum beim Mais geführt hatten und somit eine Applikation mit einer Standardgestängehöhe von ca. 2,50 m ermöglichten. Im Falle Köln Wahn kam noch hinzu, dass der betroffene Landwirt seinen Mais mit einem Fahrgassensystem auf 27 m angelegt hatte und somit keine Schäden im Mais beobachtet werden konnte.

### **Ergebnisse zur Applikation in hohen Maisbeständen**

K. Schmidt (Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg)

### **Erste Erfahrungen zum Dropleg-Einsatz im Mais**

Dr. R. Heinkel (Lechler)

Die Bedeutung des Maisanbaues hat in Deutschland in den vergangenen Jahren unter anderem durch die Energiegewinnung deutlich zugenommen. In 2010 betrug die Maisanbaufläche ca. 2,31 Mio ha.

Mais verträgt im Jugendstadium keinen Unkrautdruck. Eine erfolgreiche Unkrautbekämpfung setzt optimale Witterungsbedingungen voraus. Problematisch erweisen sich stark wechselnde Tag-/Nachttemperaturen, kühle Temperaturen, Bodentrockenheit und unzureichende Wachsschicht durch Niederschläge. Eine zunehmend engere Fruchtfolge führt zu einer Veränderung des Unkrautspektrums. Mehrere Auflaufwellen auch gerade von wärmeliebenden Unkräutern erfordert eine Anpassung in der Herbizidanwendung. Nach Untersuchungen der LWK-Niedersachsen können Sulfonylharnstoffe in voller Aufwandmenge die TM-Erträge um bis zu 6,9% reduzieren.

Das Dropleg<sup>UL</sup> bietet hierfür Ansätze ab dem 5 Blatt-Stadium in den Reihen eine Herbizidanwendung mit einer FT-Zungendüse / Strahlwinkel 140° bodennah durchzuführen. Dabei werden die Blattetagen des Maises unterfahren und die

Kulturpflanzen nicht direkt mit Wirkstoff beaufschlagt. Spritzschatten an den Unkräutern durch darüberstehende Maisblätter lassen sich einfach verhindern. Neben Herbiziden kann auch Flüssigdünger mit der Dropleg<sup>UL</sup>-Technik ausgebracht werden. Technisch gesehen kommt je Reihe ein Dropleg<sup>UL</sup> zum Einsatz. Das flexible und quer zu den Reihen pendelnde Rohr ist sehr pflanzenschonend. Der Anbau kann an alle gängigen Gestänge erfolgen.

Nach Erfahrungen von Lohnunternehmern aus 2010 stehen für Pflanzenschutzmaßnahmen größere Anwendungsfenster mit dem Dropleg<sup>UL</sup> zur Verfügung. Anwendungen sind dadurch witterungsunabhängiger bis zu einer Pflanzenhöhe von 1,30 m durchführbar. Problem- und wärmeliebende Unkräuter lassen sich durch dieses Verfahren sicher erfassen. Durch die Spätanwendung kann das Samenpotential bei ansonsten bestehender Restverunkrautung deutlich reduziert werden. Das Unterfahren der Blätter des Mais erhöht die Verträglichkeit der Herbizidanwendung und beugt Ertragsminderungen insbesondere in gestressten Beständen vor. Mögliche weitere Ansätze ergeben sich zukünftig für Insektizid- und Fungizidanwendungen.

### **Situation zur Applikation in hohen Maisbeständen aus Sicht der Gerätehersteller**

Ch. Schulze-Stentrop (Hardi)

### **Praxisergebnisse zur kontinuierlichen Innenreinigung im Obstbau**

E. Herbst (Herbst Pflanzenschutztechnik)

### **Praxisergebnisse zur kontinuierlichen Innenreinigung im Feldbau**

W. Heller (LfL, Bayern)

Die kontinuierliche Behälterinnenreinigung ermöglicht es dem Landwirt, die vollständige Gerätereinigung auf dem Feld vom Schlepper aus, und in deutlich kürzerer Zeit durchzuführen, als dies bisher möglich war. Von einigen Herstellern dazu angebotene Nachrüstsätze können relativ einfach an vorhandenen Altgeräten eingebaut werden. Gleichzeitig bieten die zusätzlichen Pumpen auch die Möglichkeit eines zusätzlichen Anschlusses für die Außenreinigung mit Klarwasser.

Untersuchungen zur Reinigungsleistung einschließlich Wirkstoffanalysen haben gezeigt, dass mit der kontinuierlichen Innenreinigung eine bis zu 10-fach höhere Reinigungsleistung erzielbar ist, als dies mit herkömmlichen Methoden möglich ist. Außerdem lassen sich die Pflanzenschutzgeräte mit dieser Methode einfach und in deutlich kürzerer Zeit reinigen. Dies bestätigte ein Versuch mit einem Tracer (fluoreszierender Farbstoff). Bereits nach weniger als 3 Minuten lag die Restkonzentration bei unter 2 % der Ausgangskonzentration.

Allerdings ist auch bei der kontinuierlichen Innenreinigung eine gewisse Sorgfalt notwendig. Moderne Spritzen besitzen zunehmend Sonderausstattungen mit einer Vielzahl an Armaturen, Ventile und Leitungen, welche alle mit Spritzbrühe in Berührung kommen. Unförmige Behälter, sowie darin verlegte Schläuche erschweren häufig die Reinigung. Um Rückstände zu vermeiden, müssen alle mit Spritzflüssigkeit in Berührung kommenden Bauteile mit Klarwasser gereinigt werden. Hier sind besonders auch die Gerätehersteller gefordert, praxisnahe Lösungen anzubieten.

Nur wenn die Spritzenreinigung einfach, schnell, sauber und dazu noch ohne Absteigen realisierbar ist, wird sie auch angenommen und dementsprechend durchgeführt. Damit kann sie auch ein wichtiger Beitrag sein, Punkteinträge in Oberflächengewässer zu vermeiden.

## **Praktische Erfahrungen mit der Nachrüstung zur kont. Innenreinigung**

F. Renner (Agrotop)

## **Untersuchungen der Reinigungsleistung von Innenreinigungssystemen**

S. Kiefer (Amazonen Werke)

Als neueste Herausforderung gilt es die Reinigungssysteme von Feldspritzen zu optimieren um neben der automatischen Reinigung im Feld auch die Handhabung zu vereinfachen.

Dabei gilt es zu prüfen inwieweit das System der kontinuierlichen Innenreinigung eine Alternative zu den heute verfügbaren absetzigen Verfahren (Comfort-Paket aus dem Hause Amazone) ist. Im Rahmen einer Bachelorarbeit an der Hochschule Osnabrück wurden die beiden Alternativsysteme an einer Anbaufeldspritze untersucht. Im Ergebnis unterscheidet sich die Reinigungsqualität beider Systeme nicht. Die kontinuierliche Innenreinigung hat allerdings in der Anwendung einen Zeitvorteil.

Aus Sicht von Amazone eignet sich die neue kontinuierliche Innenreinigung sehr gut für die Nachrüstung an Altgeräten. Damit kann die Bereitschaft erhöht werden die Maschine im Feld zu reinigen. Bei preissensiblen Maschinen wie Anbauspritzen und kleinen Anhängergeräten wird es schwierig sein die Kosten eines integrierten Systems im Markt durchzusetzen. Im Profibereich sind die Ansätze zur kontinuierlichen Innenreinigung eine interessante Alternative, die wahrscheinlich in einer Kombination mit dem absetzigen Verfahren besonders effektiv wird.

## **Reduzierung des Pflanzenschutzmittel-Aufwandes durch laubdichteabhängige und gerätespezifische Anpassung der Dosierung im Obstbau**

Dr.-Ing. Heinz Ganzelmeier (JKI), Dr.-Ing. Peter Kaul (JKI), Dr. Gerd Palm (OVA)

Neben der Lückenschaltung und des Recyclens von nicht angelagerter Sprühflüssigkeit werden auch Anstrengungen unternommen, den Pflanzenschutzmittelaufwand an die Intensität/Dichte der Belaubung der Apfelbäume und in Abhängigkeit von den Leistungsparametern des Sprühgerätes anzupassen. Zur Entwicklung dieses Verfahrens wurden durch das Institut für Anwendungstechnik des Julius Kühn-Instituts in Zusammenarbeit mit dem Obstversuchsring Jork umfangreiche mehrjährige Versuche unter praxisähnlichen Bedingungen durchgeführt. Bei diesen Versuchen wurden neben den Spritzbelagsmessungen an den Außenseiten und in der Mitte der Baumreihen alle praktisch relevanten Einflussfaktoren auf den Applikationsvorgang erfasst. Die Beschreibung der Laubdichte erfolgte durch wenige Kennwerte und eine Baumgalerie, die typische Apfelbaumbestände des Alten Landes in einer Serie von „Schattenbildern“ zeigt.

Bei Auswertung dieser Messungen mittels multipler Regressionsanalyse erhält man die Einflussparameter nach Relevanz geordnet sowie Regressionsgleichungen zur Berechnung der Spritzbeläge im Baum.

Der Berechnung zur Anpassung der Aufwandmenge an die Gegebenheiten der Laubwand und des Sprühgerätes wurde ein Spritzbelag an der Peripherie der Baumreihe von 100 % der festgelegten Aufwandmenge zugrunde gelegt. Eine Reduzierung der Aufwandmenge an Pflanzenschutzmittel ist dann möglich, wenn die Baumreihe vollständig von der Sprühwolke durchdrungen wird und auf deren Rückseite - vom Sprühgerät aus gesehen - eine zusätzliche Ablagerung von Pflanzenschutzmittel erzielt wird. Dadurch können bei beidseitiger Behandlung im Einzelfall bis zu 35 % der Aufwandmenge eingespart werden. Im jahreszeitlichen Verlauf nimmt die einsparbare Menge dann mit zunehmender Belaubungsdichte ab. Durchgeführt wurden 150 Versuche, bei denen die Applikationsbedingungen stark variiert worden waren.

Zur Überprüfung dieses Einsparungspotentials/Rechenmodells wurden ab 2007 durch den Obstbauversuchsring Jork vergleichende Wirkungsversuche bei Apfelschorf, Rote Spinne und Apfelmehltau mit voller und entsprechend reduzierter Aufwandmenge angelegt. Im Ergebnis ist die biologische Wirksamkeit beider Varianten als gleichwertig einzuschätzen.

Von besonderer Bedeutung für die Akzeptanz und Umsetzung dieser Erkenntnisse in die obstbauliche Praxis sind Handlungsempfehlungen zur Aufwandmengenanpassung für die Praktiker. Dazu wird ein gerätespezifischer Handzettel mit der o.g. Baumgalerie vorgeschlagen, die die Zuordnung zu den Apfelbaumbeständen der jeweiligen Obstanlage ermöglichen bzw. erleichtern soll.

Zur Absicherung dieser Ergebnisse und zur Einführung dieser Aufwandmengenanpassung in die obstbauliche Praxis sollen diese Untersuchungen in den nächsten Jahren fortgesetzt werden.

### **Driftfreie Applikation von Herbiziden in Rebanlagen**

H. Knewitz (DLR Rheinhessen-Nahe-Hunsrück)

### **Solarparks, eine neue Herausforderung für den Pflanzenschutz**

U. Tilinski (Landesamt für Landwirtschaft Lebensmittelsicherheit und Fischerei, Mecklenburg Vorpommern)

### **Bericht über das EOS- Projekt zur Reduktion von PSM Einträgen durch Technik**

M. Röttele (Better Decisions – Koordinator des TOPPS- & EOS-Projektes)

EOS ist die Abkürzung für „Environmentally Optimized Sprayer“; TOPPS nimmt Bezug auf das abgeschlossene EU-Projekt zur Vermeidung von PSM- Punkteinträgen ([www.TOPPS-life.org](http://www.TOPPS-life.org)).

Das EOS - Projekt wurde in einer internationalen Arbeitsgruppe von Applikationstechnik Experten aus Wissenschaft und Beratung, sowie vom Maschinenherstellern und Vertretern der Pflanzenschutzindustrie durchgeführt. Die Bedeutung der Punkteintragsrisiken wurde bewertet und Risikoreduktionspotentiale der Technik (Feldspritzen / Obstspritzen) und die entsprechenden verfügbaren technischen Lösungen analysiert und bewertet. Die Bereiche mit den größten Optimierungsmöglichkeiten liegen bei der Reinigung der Spritze (innen / außen), beim Befüllen, bei der Behandlung von kontaminierten Restflüssigkeiten (Waschwasser) und in der Vermeidung von Drift und Spritzbrüheverlusten.

Ergebnis des EOS - Projektes ist ein „Internet“ basierter Fragebogen der es erlaubt die technische Ausstattung eines konkreten Gerätes mit einem „EOS – Gerät“ zu vergleichen und zu bewerten.

Der EOS Index zeigt an, ähnlich wie bekannte Crashtests bei Automobilen, wie gut das Gerät hinsichtlich seiner Umweltfreundlichkeit ausgestattet ist.



Eine ausführliche Projektdokumentation kann von der EOS – Webseite heruntergeladen werden. EOS richtet sich zunächst an Spritzenhersteller und Berater, sowie Lohnunternehmer und technisch orientierte Landwirte. Ziel ist die Wahrnehmung für die erwähnten Umweltaspekte zu schärfen und damit auch die Ausstattung der Geräte positiv zu beeinflussen. Die Website kann unter <http://prototype.TOPPS-eos.org> aufgerufen werden.

Bis September 2011 steht EOS in einer Testphase ausschließlich Geräteherstellern und Beratern zur Verfügung. Nach Austausch der Testerfahrungen ist daran gedacht EOS breit bekannt zu machen.

## **Benetzung bei der Pflanzenschutzmittelapplikation**

Dr. H. Koch (DLR Rheinhessen-Nahe-Hunsrück)

In den Beratungsaussagen (Gebrauchsanleitungen, Produktinformationen, Warndienst, Fachartikeln,..) wird der Begriff Benetzung sehr unterschiedlich verwendet.

Beispiele sind:

1. ...auf eine möglichst lückenlose Benetzung der Blätter und Beeren achten
2. ...feinste Tropfen, die eine optimale Benetzung erzeugen
3. Eine gründliche beidseitige Benetzung der Reben ist unabdingbar sowohl für Oidium, Botrytis- als auch Wurm-Wirkung
4. ...ist eine vollständige Benetzung der Pflanze vorzunehmen
5. Beim Ausbringen ist auf eine gute, gleichmäßige Benetzung der Pflanzen zu achten
6. ...ist auf eine gute, gleichmäßige Benetzung der Laubwand und der Trauben in Reben sowie des Blattwerkes und der Blüten in Erdbeeren zu achten
7. Der Erfolg setzt neben dem richtigen Zeitpunkt eine intensive Benetzung des Laubes und die richtige Mittelwahl voraus
8. Auf eine gleichmäßige und gründliche Benetzung der Traubenzone ist zu achten
9. Eine weitere Voraussetzung für gute Stoppwirkung ist die exakte Benetzung der Trauben und der Laubwände
10. ...auf vollständige Benetzung insbesondere auch der Blattunterseite achten.
11. Eine gute und vollständige Benetzung ist für den Behandlungserfolg die wichtigste....
12. Heutzutage soll bis zur sichtbaren Benetzung gespritzt werden
13. ...flächendeckende Benetzung der Blattunterseiten ist von entscheidender Bedeutung
14. Die sorgfältige Benetzung der Blattunterseiten erspart weitere Anwendungen.
15. Applikationstechnik optimieren, auf gute Benetzung mit hoher Eindringtiefe achten

Wenn man berücksichtigt, dass Benetzung nur ein kurzzeitiges Phänomen ist und definiert ist als „Benetzung ist ein Verhalten von Flüssigkeiten bei Kontakt mit der Oberfläche von Festkörpern“, dann sind diese Formulierungen für den Anwender, an den sie sich richten, wenig hilfreich.

Tatsächlich geht es, wie wir aus umfangreichen Untersuchungen zur Belagsbildung und zur Belagsverteilung wissen darum, dass die ausgebrachten Pflanzenschutzmittel tatsächlich an den relevanten Zielobjekten angelagert werden.

Es wird angeregt, diese Formulierungen zu überprüfen und ggf. abzuändern. Benetzung ist ein sehr kurzzeitiges Phänomen. Es geht eigentlich um die Anlagerung der Spritztropfen mit dem Ziel der für die biologische Wirksamkeit entscheidenden Belagsmassen.

## **Einfluss von Applikationstechnik auf die Ungraskontrolle im Getreide - zusammengefasste Versuchsergebnisse**

Dr. R. Frießleben (Bayer Crop Science AG)

Durch die breite Einführung von Luftinjektordüsen (z.B. AI; ID; TD oder AirMix, AI XR oder IDK) zur Applikation von Pflanzenschutzmitteln im Feldbau wurde ein bedeutender Beitrag zur Driftreduzierung geleistet. Diese Driftreduzierung wird durch ein deutlich vergrößertes Tropfenspektrum erreicht. Insbesondere die Verwendung sehr grobtropfiger Düsen (90% Reduktion) zur Ungraskontrolle im Getreide wird diskutiert.

In umfangreichen mehrjährigen Feldversuchen wurden bei verschiedenen Bedingungen incl. Tageszeiten, und Einsatzbedingungen von Pflanzenschutzmitteln (z.T. 50% Dosierung) die Wirkung von verschiedenen Luftinjektordüsen im Vergleich zu Standarddüsen (z.B. XR, LU) bewertet. Insgesamt wurden von 2004 – 2010 Vergleiche mit dem Herbizid Atlantis im Winterweizen durchgeführt. Der bisherige Standard (XR / LU) wurde bei der Bewertung = 100 gesetzt und die erzielten Wirkungen bei Verwendung von Luftinjektordüsen bei verschiedenen Wasseraufwandmengen relativ dazu verglichen.

Aus Sicht der biologischen Wirkung werden aus diesen mehrjährigen Feldversuchen folgende Schlussfolgerungen abgeleitet:

- Die Tropfengröße sowie die Wasseraufwandmenge haben dabei den stärksten Einfluss auf den Bekämpfungserfolg während die Fahrgeschwindigkeit eine eher untergeordnete Rolle spielte
- sehr grobe Tropfen (90% driftreduzierende Einstellung) führen zu Wirkungsminderungen – dies war besonders sichtbar in frühen Entwicklungsstadien vom Ackerfuchsschwanz (Abrolleffekt)
- fein – mitteltropfige Applikationen führen zu sicheren Bekämpfungserfolgen können aber bei hohen Windgeschwindigkeiten und Lufttemperaturen zu Abdrift und damit Minderwirkung führen
- kein signifikanter Unterschied zwischen den Düsentypen gleichen Tropfenspektrums erkennbar – auch Doppelflachstrahldüsen haben die Wirkungssicherheit nicht erhöht
- Wirkungen werden durch Blattfeuchte beeinflusst – Abrollen von Tropfen - dies wird durch höhere Wasseraufwandmengen noch verstärkt (Gefahr bei Früh- und Nachtspritzungen) bei Früh- und Nachtspritzungen muss zwingend eine Anpassung der Wasseraufwandmenge vorgenommen werden

### Empfehlungen zur Ackerfuchsschwanzkontrolle:

- Brüheaufwandmenge:  $\leq 200$  L/ha
- bei Früh- und Nachtapplikationen mit Blattfeuchte muss die Spritzflüssigkeitsmenge der Blattfeuchte angepasst werden
- 90% driftreduzierende Einstellung der Düsen nur im sensiblen Randbereich fahren – durch Druckanpassung oder Düsenwechsel auf der Restfläche hohe Wirkungssicherheit garantieren
- Bevorzugte Düsenempfehlung: kompakte Injektordüsen AIXR / AirMix / IDK z.B. Kaliber 03 oder 04 bei  $> 3$  bar Druck
- betriebsübliche Applikationsgeschwindigkeit

Aufgrund der Komplexität des Anlagerungsprozesses bei Applikationen unter Freilandbedingungen sind endgültige Bewertungen von technischen Fragestellungen nur auf Basis einer hinreichenden Anzahl von Versuchen unter praxisnahen Bedingungen vorzunehmen. Die zusammengefassten Ergebnisse unterstützen den Einsatz von Luftinjektordüsen im Feldbau aus biologischer Sicht und sollen die Beratungssicherheit bei Düsenempfehlungen erhöhen.

## **Hohe Fahrgeschwindigkeiten beim Pflanzenschutz im Ackerbau – Ergebnisse der Jahre 2008 bis 2010**

H.-J. Osteroth (JKI), Dr.-Ing. Heinz Ganzelmeier (JKI)

Fahrgeschwindigkeiten jenseits der in der „Guten fachlichen Praxis“ festgelegten (8 km/h) sind heute im Ackerbau oftmals anzutreffen. Ob dabei die Abdrift zunimmt, die Anlagerung und die Durchdringung der Bestände hingegen abnimmt, sollte ein Versuchsprogramm mit Beteiligung des VDMA und des JKI zeigen. In den Jahren 2008 bis 2010 erfolgten Applikationsversuche mit einem John-Deere Anhängespritzgerät auf Flächen der Dawa Agrar GmbH Dahlenwarleben mit Fahrgeschwindigkeiten von 8, 16 und 24 km/h mit jeweils 100 und 200 l/ha. Dabei ging es zunächst um Untersuchungen zur Durchdringung von Weizenbeständen bei verschiedenen Wachstumsstadien und zur Abdrift. Im Jahr 2010 erfolgten zusätzliche biologische Versuche zur Wirksamkeit der Pflanzenschutzmaßnahmen, die im Jahr 2011 weitergeführt werden sollen.

Die Ergebnisse belegen keine signifikanten Unterschiede im Durchdringungsverhalten zwischen niedrigen und hohen Fahrgeschwindigkeiten bei Verwendung grobtropfiger Injektordüsen (AI 110-015, ID 120-025, AI 110-04, AI 110-05, ID 120-08), höhere Wasseraufwandmengen (200 l/ha) sichern aber in jedem Fall höhere Belagsbildungen. Hohe Fahrgeschwindigkeiten erzeugen eindeutig mehr Abdrift (Datenpool aus 900 Einzelwerten), wobei die gemessenen Abdriftsedimente zwischen den einzelnen Varianten und BBCH-Stadien teils erheblich schwanken. Fahrgeschwindigkeitserhöhungen von 8 auf 24 km/h erzeugten bis zu 3fach höhere Abdriftsedimente, wobei die 100 l/ha-Varianten schlechter als die 200 l/ha – Varianten abschneiden.

Aufgrund des geringen Krankheitsauftretens im Jahr 2010 kamen im Rahmen der biologischen Versuche die Schaderreger Septoria-Blattdürre und Ascochyta-Blattflecken zur Auswertung. Zusätzlich zu den bereits genannten Varianten wurde auch eine Variante mit stark reduzierter Aufwandmenge von 67 l/ha aufgenommen. Es zeigte sich, dass tendenziell die Varianten „24 km/h – 67 l/ha“ und „24 km/h – 200 l/ha“ den Varianten „8 km/h – 200 l/ha“ und „16 km/h – 100 l/ha“ mindestens gleichwertig, zum Teil sogar geringfügig überlegen waren. Allerdings sind die Ergebnisse mit der im Jahr 2010 verwendeten Versuchsanlage statistisch nicht absicherbar, so dass weitere Versuche im Jahr 2011 folgen werden.

## **Untersuchungen zur Applikation von Fungiziden im Getreide mit unterschiedlichen Fahrgeschwindigkeiten und Wasseraufwandmengen – zusammengefasste Ergebnisse**

Dr. M. Nolte (BASF)

## AK PHYTOBAKTERIOLOGIE, 1.9.2011

### GENOMES OF ERWINIAS AND THEIR PHAGES (GENOME VON ERWINIEN UND IHRER PHAGEN)

Geider, Klaus<sup>1</sup>

<sup>1</sup>JKI OW Dossenheim

Contact: Klaus.Geider@jki.bund.de

Sequencing of short DNA is achieved with PCR fragments and shot gun sequencing. Large scale sequencing becomes faster and cheaper than in the past. The sequencers such as Roche FLX (454) and Illumina produce an increasing fragment length. The standard length at present are 450 and 36 bp, respectively. Problems arise with assembly of fragments and the annotation on the Mega-base level. Bacterial genomes can be automatically annotated in the internet with RAST and even metabolic profiles are created. Batch annotations are often done with servers and submitted to nucleotide databases by a curator. Small DNA fragments can be processed by hand and submitted via WEBIN. Comparison of the genomes of *Erwinia amylovora* Ea273 and CFBP 1430 as well as *E. pyrifoliae* strains Ep1/96 from Korea and Ejp617 from Japan show inversions for large chromosomal fragments in MAUVE alignments, although they are highly matching in nucleotide blasts. The genomes of *Serratia* strains, but also of *P. ananatis* and *P. agglomerans* strains match without inversions. Primer walking on cosmid/fosmid clones can resolve ambiguous assemblies. The genomes of *E. amylovora* phages could not be completely assembled from shot gun sequences due to interference of viral promoters in the cloned fragments with the *E. coli* host cells. Pyrosequencing avoids this type interaction, but is relatively expensive for small genomes.

### GENES FOR THE HOST RANGE OF ERWINIAS (GENE FÜR DEN WIRTSBEREICH VON ERWINIEN)

Geider, Klaus<sup>1</sup>

<sup>1</sup>JKI OW Dossenheim

Contact: Klaus.Geider@jki.bund.de

Many bacterial pathogens show specific host ranges. *Erwinia pyrifoliae* is a typical pear pathogen, whereas *E. amylovora* infects *Maloideae*. Apart from the strains causing fire blight on fruit trees, a few are specialized to raspberry. The related epiphytic species *E. tasmaniensis* is HR-positive and possesses a complete set of genes for EPS synthesis. Nevertheless, *E. tasmaniensis* does not produce capsular EPS to avoid recognition by host defense mechanisms. *E. billingiae* strains cannot induce HR on non-host plants. Comparison of large genomic sequences show differences of *E. amylovora* rubus and "fruit tree" strains. In a recent publication the *eop12* (orfB) in the *hrp/dsp* region was associated with host specificity (Asselin et al., Phytopathology 2011). The protein is less than 70% similar to its analog in Ea273 from apple. A mutation in *eop1* expanded the host range of an *E. amylovora* rubus strain to cause necrotic symptoms on pear. Vice versa, expression of rubus-*eop1* in Ea273 from apple significantly reduced necrosis on pear. The mode of action is not understood. The protein contains domains of a serine/threonine acetyltransferase is related to YopJ of *Yersinia* an effector of immune response blocking the MAP kinase pathway. Differences in the *hrp/dsp* region were also found between *E. amylovora* and *E. pyrifoliae*. If these are associated with host specificity is open.

## **INHIBITORS FOR AND FROM ERWINIAS (INHIBITOREN FÜR UND VON ERWINIEN)**

Geider, Klaus<sup>1</sup>, Gernold, Marina<sup>1</sup>, Müller, Ina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>JKI OW Dossenheim

Contact: Klaus.Geider@jki.bund.de

In the genome of *E. amylovora* phages as well as *Erwinia* strains blast searches revealed genes for proteins with the properties of lysozymes. We have cloned and characterized some of these ORFs. In addition, we cloned two genes for proteins, which interfere with invertebrate lysozymes (Ivy). These and lysozyme genes were expressed in *E. coli*. Lytic activity was assayed with chloroform-treated *E. amylovora* cells and most cell extracts produced lysis. The lysozyme from *E. amylovora* phage phi-Ea1h was inhibited by Ivy proteins from *E. amylovora* and *E. pyrifoliae* unlike other virus-encoded lysozymes. Insertion of *lyz* into a broad host range vector killed *E. amylovora* carrier cells after induction, but reduced transfer efficiency. The low rate of delivery into the pathogen was therefore not sufficient to destroy the majority of *E. amylovora* cell population.

Several *E. amylovora* phages were isolated in orchards near Heidelberg and compared with American isolates. The Podoviridae require an EPS capsule of the host, whereas the Myoviridae lysed all *E. amylovora* strains. They were effective in inoculation assays with slices of immature pears and against *E. amylovora* on apple flowers, but did not completely suppress symptoms. A lysogenic phage and a bacteriocin were induced from Australian *E. tasmaniensis* strains. Their host range is restricted to non-producing *E. tasmaniensis* strains.

## **GEZIELTE MUTAGENESE IN ERWINIEN ÜBER LAMBDA-RED VERMITTELTE REKOMBINATION.**

Wensing, Annette<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut/Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Schwabenheimer Straße 101, 69221 Dossenheim

Contact: annette.wensing@jki.bund.de

Mit zunehmender Menge an bakterieller Sequenzinformationen ist die gezielte Mutagenese zur Analyse von Genfunktionen eine wichtige Technik. Klassische Methoden benötigen oft viele Klonierungs-Zwischenschritte und sind daher zeitaufwendig. Zudem findet der korrekte Einbau eines "Knock-out Konstrukts" über doppelt-homologe Rekombination mit sehr niedriger Effizienz statt. In der Medizin sind für die Erforschung pathogener Enterobakterien wie *Escherichia coli* vereinfachte Mutagenese-Systeme auf Basis von Mechanismen der Phagen-Rekombination etabliert worden. Häufig verwendet wird dazu das Lambda-Red System, das sich zur Rekombination von sehr kurzen homologen Bereichen (40-80bp) linearer DNA in die Ziel-DNA eignet. Eine Übertragung solcher für Laborstämme entwickelten Protokolle auf klinische bzw. Freilandisolate von Bakterien scheitert meist an zu niedrigen Raten von genetischem Transfer. Ein zweistufiges Protokoll, bei dem das Knock-out Konstrukt im ersten Schritt über ein replizierendes Plasmid in den Zielstamm transferiert und erst danach im zweiten Schritt zur Rekombination gebracht wird, soll diese Probleme umgehen. Wir haben die Anwendung des zweistufigen Verfahrens mit dem Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* sowie dem Epiphyten *E. tasmaniensis* getestet. Beide Arten konnten die benötigten Plasmide mit guter Effizienz aufnehmen und waren in der Lage, sie stabil zu replizieren. Mit der Induktion der Rekombination wurden die Plasmide in beiden Arten eliminiert und es konnte eine hohe Anzahl potentieller Rekombinanten selektiert werden. Über PCR Analyse muss nun noch abschließend die richtige Integration der Knock-out Konstrukte überprüft werden.



## **FREILANDSORTENPRÜFUNG AUF FEUERBRANDRESISTENZ AN APFEL.**

Wensing, Annette<sup>1</sup>, Richter, Klaus<sup>2</sup>, Wöhner, Thomas<sup>3</sup>, Peil, Andreas<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Julius Kühn-Institut/Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Schwabenheimer Straße 101, 69221 Dossenheim*

<sup>2</sup>*JKI/Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg*

<sup>3</sup>*JKI, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und Obst, Pillnitzer Platz 3a, 01326 Dresden*

<sup>4</sup>*JKI, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und Obst, Pillnitzer Platz 3a, 01326 Dresden*

Contact: [annette.wensing@jki.bund.de](mailto:annette.wensing@jki.bund.de)

In der Züchtung krankheitsresistenter Obstkultivare muss für die jeweilige Nachkommenschaft eine große Anzahl an Individuen auf ihre Anfälligkeit getestet werden. In der Züchtung Feuerbrand-resistenter Sorten wird dabei meist im Gewächshaus-Versuch eine künstliche Triebinfektion durchgeführt und anschließend die Symptom-Entwicklung ausgewertet. Inwieweit die im Gewächshaus beobachtete Widerstandsfähigkeit einer Resistenz im Freiland entspricht ist unklar. Auch sind unterschiedliche Anfälligkeit zwischen der Blüteninfektion und einer Triebinfektion denkbar.

Um eine Infektion unter natürlichen Bedingungen zu simulieren wurden in der Freilandversuchsanlage Kirschgartshausen die Nachkommenschaft einer Kreuzung „anfällig“ x „resistent“ (*M. x robusta* 5) angepflanzt. Frisch geöffnete Blütencluster dieser Bäume wurden mit einer hohen Konzentration von *E. amylovora* eingesprüht und die Symptom-Entwicklung verfolgt. Von 242 Bäumen trugen im Versuchsjahr 53 Bäume gar keine und weitere 41 Bäume weniger als 5 Blütencluster. Damit konnten etwa 40 % der Nachkommenschaft nicht ausgewertet werden.

Die übrigen Bäume zeigten eine große Spannbreite in der Symptom-Ausprägung. Bei der gewählten Inokulations-Methode zeigte ein Vergleich der Einzelcluster keinen Einfluss des Infektionsdatums (Witterungsunterschiede). 64 Bäume zeigten eine hohe Resistenz gegen den Erreger während 28 Bäume klar Feuerbrand anfällig waren. Die im Freilandversuch ermittelte Anfälligkeit zeigte eine sehr gute Übereinstimmung zu den Ergebnissen der Triebinfektions-Versuche im Gewächshaus.

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

### 32. Jahrestagung des DPG-Arbeitskreises Phytobakteriologie

Die Tagung 2011 des Arbeitskreises Phytobakteriologie fand am 1. und 2. September 2011 am Landwirtschaftlichen Technologiezentrum Augustenberg in Karlsruhe statt. Die Beiträge in Form von Referaten behandelten Themen aus den Bereichen Diagnose, Taxonomie, Resistenztestung und Resistenzmechanismen, molekularbiologische Themen sowie aktuelle Probleme aus der Praxis der Pflanzenschutzämter. Die Teilnehmer kamen von den Universitäten, dem Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, aus der Industrie und vom amtlichen Pflanzenschutzdienst.

Die nächste Tagung ist für den 6. bis 7. September 2012 im JKI in Braunschweig geplant. Neben den hier veröffentlichten sind weitere Kurzfassungen der Vorträge auf der Homepage des Arbeitskreises eingestellt (<http://www.phytomedizin.org/phytobakteriologie.html>).

Für den AK Phytobakteriologie:  
Dr. Esther MOLTSMANN  
(Landwirtschaftliches Technologiezentrum  
Augustenberg, Stuttgart)

Die Zusammenfassungen zweier Vorträge werden im Folgenden wiedergegeben.

#### 1) Spektralanalytische Methoden zur nicht-invasiven Erfassung des Feuerbrandbefalls

Anna HUMMELICH, Ralf T. VÖGELE  
Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, Fachgebiet  
Phytopathologie, Otto-Sander-Str. 5, 70599 Stuttgart, Deutschland

*Erwinia amylovora*, der Erreger des Feuerbrands, verursacht im Erwerbsobstbau regelmäßig große Schäden an Kernobst, vor allem bei Apfel und Birne. Aufgrund der eingeschränkten Bekämpfungsmöglichkeiten kommt der Früherkennung von Feuerbrandinfektionen eine besondere Bedeutung zu, um Behandlungsmaßnahmen gezielt und effizient einleiten zu können. Die Anwendung optischer Methoden hat den Vorteil, dass diese nicht invasiv und damit auch wiederholbar sind; eine schnelle Erkundung großer Bestände, sowie eine Fernerkundung sind möglich. Dabei werden die Reflektionseigenschaften des pflanzlichen Gewebes genutzt, die sich je nach Gesundheitszustand der Pflanze unterscheiden.

Im Rahmen des Projektes wurden mit einem Fluoreszenz- und einem Infrarotspektrometer Messungen an künstlich

inokulierten und nicht-inokulierten Kontrollbäumen mehrerer unterschiedlich anfälliger Apfelsorten durchgeführt. Erste Ergebnisse deuten auf eine gute Unterscheidbarkeit der infizierten von den gesunden Bäumen hin.

Die Spezifität des spektralphotometrischen Nachweises, vor allem in Bezug auf die Abgrenzung der Feuerbrandinfektion von anderen Krankheiten, ist das Ziel weiterer Untersuchungen.

(DPG AK Phytobakteriologie)

#### 2) Analyse alter Hochstammsorten bezüglich ihrer Anfälligkeit gegenüber Feuerbrand

Michael JOOS, Ralf T. VÖGELE  
Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin FG. Phytopathologie,  
Otto-Sander-Str. 5, 70599 Stuttgart, Deutschland

Feuerbrand stellt weltweit eines der größten Probleme im Kernobst-Anbau dar. Da diese durch das Bakterium *Erwinia amylovora* verursachte Bakteriose nicht mehr auszumerzen ist, wird verstärkt an Möglichkeiten geforscht den wirtschaftlichen Schaden auf ein erträgliches Maß zu reduzieren. Ein wesentlicher Bereich dieser Forschung ist die Sortentestung, durch die gering-anfällige Sorten identifiziert werden sollen, damit diese für Neuanpflanzungen genutzt werden können. Hierzu wurden im Rahmen des Interreg IV Projektes „Gemeinsam gegen Feuerbrand“ im Laufe der letzten zwei Jahre 39 verschiedene alte Hochstammsorten aus der Bodenseeregion auf M9 veredelt und als Handveredelungen im Gewächshaus künstlich mit *Erwinia amylovora* inokuliert. Im Anschluss wurden im Abstand von 7, 14, 21 und 28 dpi visuelle Bonituren durchgeführt, um die relative Läsionslänge der einzelnen Sorten zu ermitteln. Im Vergleich zu den Ergebnissen von 2010 konnten 12 von 16 Ergebnissen reproduziert werden, wobei diese Ergebnisse sowohl gering- als auch hoch-anfällige Sorten beinhalten. Außerdem wurde festgestellt, dass man die Sorten bereits anhand der optisch erfassbaren Symptomausprägung in gering-, mittel- und hoch-anfällig klassifizieren kann. Die hierbei gewonnenen Ergebnisse werden nun von den Obstbauberatern mit in ihre Sortenempfehlungen einbezogen.

(DPG AK Phytobakteriologie)

## Report on the 32<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Working Group “Phytobacteriology”

The Working Group “Phytobacteriology” of the German Society of Plant Protection and Plant Health (Deutsche Phyto-medizinische Gesellschaft, DPG) met on September 1 – 2, 2011 at the Center for Agricultural Technology Augustenberg in Karlsruhe. Seventeen presentations covered topics of diagnosis, taxonomy, breeding for resistance, mechanisms of resistance, molecular biology of pathogens and current problems from the practical work of the plant protection services. The meeting was attended by scientists from university, the Julius Kuehn-Institute, industry and the plant protection services. The next meeting has been set for September 6 – 7, 2012 at the JKI in Braunschweig. Additional abstracts of the presentations are hosted on the homepage of the DPG ([www.phytomedizin.org/phytobakteriologie.html](http://www.phytomedizin.org/phytobakteriologie.html)).

### Bacterial leaf blight of *Cornus mas* caused by *Pseudomonas syringae*

Wolfgang WP Gerlach<sup>1</sup>, Anne Heinke<sup>1</sup>, Georg Poschenrieder<sup>2</sup> & Sigrid Theil<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hochschule Weihenstephan – Triesdorf, Fakultät Gartenbau und Lebensmitteltechnologie, Freising, Germany

<sup>2</sup> Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, Freising, Germany, [wolfgang.gerlach@hswt.de](mailto:wolfgang.gerlach@hswt.de)

In the arboretum of the research station of horticulture in Weihenstephan/Freising for the past two to four years, a number of different cultivars of *Cornus mas* were planted in order to demonstrate the characteristics of the plants and to evaluate their yield capacity. In August 2011, after a very rainy summer, we observed that some cultivars displayed serious leaf blight, while some cultivars appeared virtually resistant. The leaf spots were 1–10 mm in diameter, angular in shape, of dark brown colour, with a thin red-brown margin. Due to the dramatically large differences in symptom expression between the cultivars, various different pathogens were suspected as the cause of the blight.

Gram-negative, rod-shaped blue-green fluorescing bacteria were consistently isolated from lesions on King's B medium. The isolates were levan positive, oxidase negative, and arginine dihydrolase negative. They did not cause soft rot on potato slices but induced hypersensitive reaction on tobacco (*Nicotiana tabacum* ‘White Burley’). On the basis of LOPAT tests, the bacteria were identified as *Pseudomonas syringae*.

The cultivar ‘Shan’ was most seriously affected by the leaf blight, leading to a loss of functional leaf area of 20–50%. The lower branches were almost denuded of leaves, with leaf area loss of about 80%, while the upper part of the plant, which was more directly exposed to the sun, had a loss of leaf area of about 30%. The very few large fruits were

slightly indented and showed brown areas. The cultivar ‘Kasanlak’ displayed leaf spots as well, but had a reduced intensity of about 20% of the leaf area. Also slight fruit necroses were observed. The leaves of the cultivar ‘Jolico’ were affected by leaf necroses by about 10% of the leaf area. The individual plant of the cultivar ‘Pancharevo’ was virtually free of leaf spots and could be judged to be almost resistant to *Pseudomonas syringae*, even though the plant was heavily shaded. Also a heavy fruit set could be observed, with virtually no damage on the fruits. A hedge of the wild type of *Cornus mas*, which was located about 100 m away, showed also some bacterial leaf blight symptoms, but of much lower incidence of about 5%.

### Characterisation of the siderophores from *Pantoea agglomerans* 48b/90 and its influence on the biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*

Katharina Reiher

Institute for Mikrobiologie, Mikrobielle Phytopathologie, Neugasse 25, 07743 Jena, Germany

The nonpathogenic epiphyte *Pantoea agglomerans* 48b/90 (Pa48b) suppresses, *in vitro* as well as *in planta*, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (Psg), the causal agent of bacterial blight on soybean. So far, the mechanism of interaction is not understood. The knowledge about antagonism details helps to develop treatments against plant diseases with biological control agents instead of pesticides.

The aim of this work was to investigate the impact of siderophores of Pa48b in the antagonism. Quorum sensing and induction of systemic resistance in soybeans was studied and compared with *P. syringae* pv. *syringae* 22d/93 (Pss22d), another potential biocontrol agent against bacterial blight, in order to include other possible mechanisms.

The second siderophore of Pa48b, besides the hydroxamate desferrioxamine E, was identified as enterobactin via ESI-MS/MS. In contrast to desferrioxamine E, enterobactin is strongly temperature regulated with maximal production at 18°C. The isolate *Pantoea agglomerans* 39b/90 (Pa39b) synthesises five times more enterobactin in another temperature-dependent profile. Pa39b suppresses the pathogenic population one up to two orders of magnitude stronger than Pa48b *in planta*. Furthermore, the transposon mutant Pa48bM27, which produces less desferrioxamine E than Pa48b, behaves like the wildtype *in planta*. The antagonists differ in their AHL production. Therefore, quorum sensing is most probably not directly involved in the antagonism. Additionally, Pa48b does not induce systemic resistance, but Pss22d reduces the population of Psg 8/83 without direct contact on soybean leaves.

Consequently, all studied mechanisms, besides enterobactin production, could be excluded as direct factors in the antagonistic interaction between Pa48b and Psg 8/83. Most likely, siderophores, toxin production, fast growth, and diverse utilisation of C-sources maximise Pa48b fitness and mediate pathogen suppression indirectly. This supports the role of competition for nutrients and space in the phyllosphere.

Besides the main project, an infection of soybean plants grown on a test field near Dornburg (Germany) was analysed. Psg was isolated and identified *via* amplification of the coronatine gene cluster in five soybean cultivars. Furthermore, a new set of epiphytes was collected. The isolation of toxin and siderophore producing strains enables the discovery of new effective antagonists.

## Mitteilungen und Nachrichten

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

### Projektgruppe „Schädlinge in Getreide und Mais“ des DPG-Arbeitskreises Integrierter Pflanzenschutz – Ergebnisprotokoll der 21. Tagung

Die Projektgruppe traf sich am 23. und 24. Februar 2011 in Braunschweig zu ihrer 21. Tagung, an der etwa 45 Wissenschaftler und Vertreter des amtlichen Pflanzenschutzdienstes, von Behörden, der Forschung und der Industrie teilnahmen. Nach den Berichten aus den Bundesländern über das Auftreten von Schadtieren im Jahr 2010 erfolgten Kurzvorträge über den Insektizidanwendungsumfang im Getreidebau und über teils mehrjährige Untersuchungen an Gallmücken, Drahtwürmern, Maiszünsler, Maiswurzelbohrer sowie Getreideviren und deren Überträger. Dem „Workshop“-Charakter der Veranstaltung entsprechend wurde im Anschluss an die einzelnen Vorträge rege diskutiert.

### Berichte der Pflanzenschutzdienste aus den Bundesländern

Das überwiegend kalte und trockene Frühjahr mit anschließenden ergiebigen Regenfällen war für die Entwicklung der Schadtiere wenig förderlich, so dass der Schädlingsbefall im Jahr 2010 insgesamt auf einem geringen Niveau blieb. Regional konnten sich jedoch einzelne Schadtiere weiter ausbreiten und teilweise auch stärkere Schäden verursachen, wie beispielsweise der **Maiszünsler** in Baden-Württemberg, Bayern, Hessen und Sachsen. Zur Maiszünslerbekämpfung wurden lediglich in Rheinland-Pfalz, aufgrund eines finanziellen Anreizes, in hohem Maße Nützlinge ausgebracht. Ansonsten wurden insbesondere im Südwesten zunehmend Insektizide eingesetzt, in Bayern auf nur ca. 10 000 ha. In vergleichenden Versuchen in Hessen erwies sich das Mittel Coragen als etwas wirksamer als Steward. Auch in Sachsen-Anhalt und Niedersachsen breitete sich der Zünslerbefall weiter aus, blieb aber nicht bekämpfungswürdig. Im Sommer 2010 wurde Maiszünslerbefall erstmals auch im Südosten Schleswig-Holsteins an Einzelpflanzen festgestellt.

Im Süden Baden-Württembergs nahmen die Probleme mit dem **Drahtwurm** aufgrund des verstärkten Kartoffel- und Maisanbaus weiter zu. Auch in Bayern ergaben sich trotz Santana-Einsatzes Schwierigkeiten, so dass 2010 ca. 100 ha Mais umgebrochen werden mussten. In Hessen blieb der Drahtwurmbefall 2010 schwächer als im Vorjahr, obwohl deutlich mehr Schnellkäfer in den Pheromonfallen zu finden waren. Auf behandelten Flächen wurden keine Fraßschäden mehr festgestellt. In Niedersachsen, Schleswig-Holstein und Rheinland-Pfalz ergaben sich regionale Probleme insbesondere dort, wo Mais im Zuge der Ausbreitung von Biogasanlagen neu angebaut wird. Positive Erfahrungen wurden in Hessen mit dem Einsatz von Goldor Bait in Kartoffel gesammelt.

Das Auftreten von **Getreideblattläusen** und **Getreidehähnchen** blieb in 2010 allgemein schwach und war lediglich auf Einzelschlägen bekämpfungswürdig und auch die von Insekten übertragbaren **Verzweigungsviren** BYDV und WDV blieben unproblematisch. Der Befall durch **Weizengallmücken** war bundesweit insgesamt schwach, verlief aber regional sehr unterschiedlich. In Baden-Württemberg war teilweise ein Starkbefall in ES 59 festzustellen. Vereinzelt ergaben sich Probleme mit **Minierfliegen** (20% der Flächen in Sachsen), **Getreide-**

**laufkäfern** auf einigen Flächen an besseren Standorten (Sachsen-Anhalt) sowie **Fritfliegen** (Sachsen-Anhalt).

### Insektizideinsatz im Getreidebau

Herr FREIER (JKI Kleinmachnow) berichtete über dreijährige Ergebnisse zum Anwendungsumfang von Insektiziden in der Wintergerste und im Winterweizen, die im Rahmen des Projektes Netz Vergleichsbetriebe Pflanzenschutz von 2007 bis 2009 erhoben und kritisch bewertet wurden. In der Wintergerste wurden dabei in der Behandlungsintensität (Behandlungsindex, BI) keine nennenswerten regionalen Unterschiede festgestellt, wohl aber eine jährliche Abnahme der Behandlungsintensität. Als häufigste Indikation wurden Blattläuse als Virusvektoren genannt. Im Winterweizen wurden im Norden und Westen deutlich mehr Insektizideinsätze gefahren als im Osten und Süden, zumeist gegen Blattläuse als Saugschädlinge, aber auch gegen Blattläuse als Virusvektoren, Getreidehähnchen oder Weizengallmücken. Zwischen 13 und 37% der Maßnahmen wurden dabei von amtlicher Seite als unnötig bewertet, wovon überwiegend Frühjahrsanwendungen betroffen waren. Sowohl im Winterweizen als auch in der Wintergerste wurde die zugelegte Aufwandmenge der Insektizide kaum reduziert.

### Gallmücken

Herr TAYLOR (Limagrain, Rosenthal) berichtete über erste Erfahrungen mit möglichen partiellen Resistenzen gegen die Sattelmücke (*Haplodiplosis equestris*) in Winterweizensorten. In einem Versuchsfeld mit 40 verschiedenen Weizensorten waren neben den beiden Weizengallmückenarten auch massiv Sattelmücken vorhanden. Der Höchstbefall lag bei 12 Sätteln pro Halm. Zwischen den Sorten ergaben sich sehr große Befallsunterschiede, jedoch nicht auffällig zwischen Früh- und Spätsorten. Bei keiner Sorte trat eine totale Resistenz auf, und es ergab sich auch kein Zusammenhang mit der teilweise vorhandenen Resistenz gegen die Orangerote Weizengallmücke. Rückschlüsse auf eine genetische Vererbung waren nicht möglich. Für 2011 sind weitere Untersuchungen geplant.

Seit 2007 organisiert die Projektgruppe ein bundesweites **Weizengallmücken-Monitoring** an jährlich insgesamt 30–40 Standorten, wobei das Auftreten und die Schadwirkung der Orangeroten Weizengallmücke (*Sitodiplosis mosellana*) und der Gelben Weizengallmücke (*Contarinia tritici*) mittels Pheromonfallen, Weißschalen und Ährenbonitur erfasst werden. Herr LEHMUS (JKI Braunschweig) stellte die umfangreichen Untersuchungen zu verschiedenen Aspekten aus dem Jahr 2010 vor und fasste anschließend die Ergebnisse von 2007 bis 2010 zusammen. Während im Jahr 2010 im Norden und Nordwesten fast ausschließlich *Sitodiplosis mosellana* auftrat, kamen bei einem etwas stärkeren Auftreten in den südlichen und südöstlichen Bundesländern häufig Mischpopulationen vor. Beide Arten besiedelten häufig dieselben Ähren, selten jedoch dieselben Körner in der Ähre. In vielen Fällen war wiederum keine gute zeitliche Übereinstimmung zwischen dem Hauptflug der Gallmücken und dem für die Eiablage günstigen Weizenentwicklungsstadium gegeben und häufig fand sich wiederum kein Zusammenhang zwischen dem per Pheromonfalle überwachten Mückenflug, dem Larvenbefall in der Ähre und den Schäden zur Ernte. Nähere Untersuchungen anhand markierter Einzelhalme deuten darauf hin, dass die Eiablage vermutlich in hohem Maß vom genauen Entwicklungsstadium der jeweiligen Ähre abhängig ist. Es wurde daher festgestellt, dass die Pheromonfallen keine Hinweise zu einer erwarteten Befallsstärke der



Weizengallmücken liefern, sondern lediglich einen Hinweis auf das generelle Auftreten und zum möglichen Behandlungszeitpunkt. In diesem Zusammenhang wurde nach intensiver Diskussion beschlossen, das Weizengallmücken-Monitoring in dieser Form nicht weiterzuführen. Stattdessen wird im Jahr 2011 ein genaueres Monitoring während des Ährenschiebens an wenigen ausgewählten Standorten erfolgen.

Frau GAFFAR (Uni Halle) stellte in einen weiteren Vortrag umfangreiche Datenerhebungen zum Auftreten von Weizengallmücken an verschiedenen Weizensorten seit 2007 vor. Aus diesem Datenmaterial soll unter Verrechnung mit Wetterdaten ein „Expertensystem“ zur Entscheidung über Bekämpfungsmaßnahmen in Form eines Internet-Programms entwickelt werden.

### Getreideviren und saugende Insekten

Herr RABENSTEIN (JKI Quedlinburg) gab einen Überblick über die Virussituation an Wintergerste in Deutschland und stellte dabei auch neue Viren und Virusstämme vor. Neben der Gefährdung dieser wichtigen Kulturart durch insekten- (BYDV-Komplex, Gerstenvariante des WDV) und pilzübertragbare Viren (BaYMV, BaMMV) ist mit dem Auftreten neuer resistenzbrechender Pathotypen bei der GM-Virose zu rechnen. Hinzu kommt Gefährdungspotential durch ein bodenbürtiges Furovirus, das nach den Ergebnissen der vorläufigen serologischen und molekular-genetischen Analysen weitgehende Identität mit einem Virus zeigt, welches bereits 2007 in Frankreich an Gerste (SBBMV) gefunden worden war und Ähnlichkeiten mit einem in Japan als SBWMV-JT bezeichneten Erreger von Gerste aufweist. Fragen zum Schadpotenzial des neuen Erregers sowie zu möglichen Interaktionen mit anderen Viren, und der Symptomatik sind derzeit noch nicht zu beantworten. Herr RABENSTEIN rief zur Einreichung virusverdächtiger Gerstenproben an das JKI in Quedlinburg auf.

Frau FINGER (Uni Halle) ermittelte die Artenzusammensetzung von Zikadenpopulationen in abreifender Wintergerste, Ausfallgetreide und Wintergerste-Neuansaat an Hand von Kescherfängen, Gelbschalen und Gelbtafeln an mehreren Standorten in Mitteldeutschland. Dabei wurden jeweils im Saumbereich mehr Arten gefunden als direkt im Feld. Mit Abstand die meisten Zikaden waren in Kescherproben im Ausfallgetreide zu finden, die meisten Arten (25) im Saum- und Randbereich des abreifenden Getreides, wobei jeweils die Wander-Sandzirpe *Psammodettix alienus* und die Löffel-Sandzirpe *P. helvolus* mit Abstand am häufigsten vertreten waren. Ein Ziel weiterer Untersuchungen ist es festzustellen, ob auch andere Zikadenarten außer *P. alienus* als Überträger des WDV in Frage kommen.

Herr RICHTER (Uni Halle) stellte ein neuartiges Vorhersagemodell für die Gradation von Getreideblattläusen am Beispiel von *Sitobion avenae* vor. Im Gegensatz zu anderen Modellen rechnet sein Modell mit Entwicklungswertesummen anstelle von Temperatursummen. Kennzeichnend ist die differenziertere Beurteilung von Temperatureffekten. Ein Plus von wenigen Grad bewirkte nahe des Entwicklungsnullpunktes weitaus mehr als ein ebenso großer Unterschied bei optimaleren Bedingungen. Außer einer verbesserten Übereinstimmung von Prognose und Realität ergab sich für *S. avenae* der Hinweis auf eine ca. 3-wöchige Diapause im Januar. Diese Ergebnisse lassen hoffen, dass nach Aktualisierung der für die Bewertung thermaler Einflüsse zugrunde gelegten Funktion bzw. Anpassung des Verfahrens an weitere Arten, in naher Zukunft präzisere standortspezifische Prognosen zum Auftreten der Großen Getreideblattlaus und anderer Getreideschädlinge im Frühjahr möglich werden.

### Maiszünsler

In von Herrn SCHRÖDER (PSD Brandenburg) präsentierten Ringversuchen zur Bekämpfung von Maiszünslern wurden die neueren Insektizide Steward, Coragen, Spintor, Gladiator sowie ein Prüfmittel von BASF an sechs Standorten in Thüringen, Sachsen, Brandenburg und Hessen verglichen. Dabei erwiesen sich sämtliche Mittel als ähnlich wirksam, wobei sich das Coragen auf den meisten Standorten als das sicherste Präparat herausstellte. Mit diesen, verschiedenen Wirkstoffklassen zuzuordnenden Mitteln wäre – die Zulassung vorausgesetzt – ein Antiresistenzmanagement bei der Maiszünslerbekämpfung gut möglich.

Herr ZELLNER (PSD Bayern) zeigte anhand von Versuchen mit simulierter Bodenbearbeitung nach der Maisernte, dass das saubere Unterpflügen der Maisstoppeln die sicherste Vorbeugungsmaßnahme gegen Maiszünslerbefall ist, wobei der Zeitpunkt der Bodenbearbeitung offenbar keine Bedeutung hat. Mulchsaat nach Mais ist zu vermeiden, da Maiszünslerlarven untergepflügte Maisstoppeln in großer Zahl verlassen und am Boden aufliegendes Maisstroh neu besiedeln können.

### Maiswurzelbohrer

Herr BAUFELD (JKI Braunschweig) gab einen Überblick über die weitere Ausbreitung des Westlichen Maiswurzelbohrers im Jahr 2010 in Europa, zum Beispiel in Belgien, Ukraine oder Frankreich. In einigen Regionen konnten im Vorjahr aufgetretene Populationen aber auch erfolgreich lokal bekämpft werden, wie zum Beispiel im Pariser Becken, den Niederlanden, Polen oder Großbritannien. Insgesamt hat sich die Situation in Europa in vielen Befallsgebieten deutlich verbessert, aber von Italien aus besteht aufgrund der dort hohen Käferdichte eine hohe Einschleppungsgefahr für Deutschland. Hier liegen die Befallsschwerpunkte weiterhin in Baden-Württemberg und Bayern, die nunmehr beide als Eingrenzungsgebiete betrachtet werden. 2010 wurde für ein Gebiet in Nordrhein-Westfalen Erstbefall gemeldet, wo aufgrund einer guten Vorbereitung rasch entsprechende Eradikationsmaßnahmen eingeleitet werden konnten. In einem weiteren Vortrag zeigte Herr ZELLNER speziell für Bayern, wie sich die Käfer entlang des Donau- und Innerts auch im Jahr 2010 immer weiter ausbreiteten. Für die großzügig um die letztjährigen Befallsgebiete herum festgelegten Eingrenzungsgebiete in Niederbayern, Oberbayern und der Oberpfalz ist als Maßnahme für 2011 geplant, mit einer Fruchtfolgeregelung ohne weitere chemische Maßnahmen zu reagieren.

### Drahtwurm

Frau JUNG (ZEPP, Bad Kreuznach) stellte erste Modellansätze zum Einfluss der Bodenfeuchte auf die vertikale Verteilung von Drahtwürmern vor. Anhand von Halbfreilandversuchen mit Drahtwurmkäfigen sowie Rohrversuchen im Labor mit simulierter Bodenfeuchte wurden vielversprechende Daten gesammelt, die erste Modellansätze zur Prognose der Drahtwurmkäfigaktivität in der Fraßzone erlauben. Auf dieser Basis sollen weitere Untersuchungen zum quantitativen Auftreten von Drahtwürmern in diversen Bodenarten durchgeführt werden. In einem weiteren Vortrag berichtete Frau JUNG von ersten Modellansätzen zur Prognose der Flugaktivität von Schnellkäfern der Gattung *Agriotes* anhand von Fallenfängen aus den Jahren 2008 bis 2010. Als weitere Basis fungieren in Rheinland-Pfalz durchgeführte Temperaturmessungen in 5 cm Bodentiefe. Für die verschiedenen *Agriotes*-Arten ergaben sich dabei unter-

schiedliche Modellansätze, die in den kommenden Jahren validiert werden sollen.

Herr LEHMUS (JKI Braunschweig) befasste sich mit dem Auftreten von Drahtwürmern und Schnellkäfern an Ackerstandorten in Niedersachsen im Jahr 2010. Von speziellem Interesse war dabei, welche Schnellkäferarten tatsächlich vorkommen und ob die Gattung *Agriotes* auch bei den Drahtwürmern dominiert. Es zeigte sich anhand der **Pheromonfallenfänge**, dass unter den Schnellkäfern der Gattung *Agriotes* die Art *A. lineatus* die dominierende Art in Niedersachsen ist und die Art *A. sordidus* nicht gefunden wurde. Die Pheromonfallen für *A. obscurus* und *A. sordidus* wiesen viele Fehlfänge auf, die Fallen für die übrigen 3 Arten dagegen kaum. Es ergab sich kein Zusammenhang zwischen dem Fang adulter Schnellkäfer und der Artenzusammensetzung bei den Drahtwürmern an einem Standort. Die in der Handhabung sehr aufwändigen Drahtwurm-Köderfallen wiesen nur auf Starkbefallsstandorten mit deutlichen Schäden eine gute Fängigkeit auf. Damit wurde an den untersuchten Ackerstandorten eine Vielzahl an Arten nachgewiesen, wobei die Gattung *Agriotes* dominierte.

In Pheromonfallenfängen der Jahre 2009 und 2010 aus den nördlichsten Bundesländern, die Herr PETERSEN (PSD Schleswig-Holstein) gemeinsam mit Herrn BUSCH (PSD Mecklenburg-Vorpommern) präsentierte, zeigte sich, dass hier die Arten *A. lineatus*, *A. obscurus* und *A. sputator* dominierten, während die Art *A. sordidus* nicht nachgewiesen wurde.

Herr VIDAL (Uni Göttingen) stellte die Ergebnisse des bundesweiten Schnellkäfer-Monitorings vor. Dabei wurde das Auftreten der *Agriotes*-Arten in Zusammenarbeit mit den Pflanzenschutzdiensten der Länder allein im Jahr 2010 an 78 Standorten regelmäßig erfasst. Nach Auswertung des umfangreichen Datenmaterials kann *A. lineatus* als die dominierende Art im Norden Deutschlands angesehen werden. Auch im Süden ist *A. lineatus* offenbar die häufigste Art, gefolgt von *A. obscurus* und *A. sputator*. In südlichen Regionen gibt es auch Standorte mit starkem Vorkommen von *A. sordidus* und *A. ustulatus*. Bei der Nachbestimmung der in den Pheromonfallen gefundenen Individuen zeigte sich bei *A. lineatus* eine gute Übereinstimmung zwischen dem Pheromon und den gefangenen Käfern, während bei den *A. sordidus*-Fallen die häufigsten Fehlfänge festzustellen waren. Auch die mit Pheromonen von *A. ustulatus* oder *A. obscurus* bestückten Pheromonfallen lieferten hohe Fehlfangquoten zwischen 40 und 60%. Die mit *A. sputator*-Pheromon bestückten Fallen lieferten in der Regel eine gute Übereinstimmung, wo doch eine hohe Fehlfangquote vorkam, wurden Individuen der Art *A. gallicus* bestimmt. Zukünftig sollen weitere Auswertungen der vorhandenen Daten nach Standortfaktoren und zur Phänologie der Arten in den verschiedenen Regionen erfolgen. Die Daten aus dem zweijährigen Monitoring sollen anschließend unter Nennung aller Beteiligten publiziert werden. Das Monitoring wird in dieser Art im Jahr 2011 nicht fortgeführt. Stattdessen werden in diesem Jahr an mehreren Standorten im Bundesgebiet im Schwerpunkt vergleichende Untersuchungen zwischen dem Schnellkäferauftreten und den im Boden vorkommenden Drahtwürmern durchgeführt. Herr LEHMUS übernimmt die Koordination.

Herr KRÜSSEL (PSD Niedersachsen) stellte Versuchsergebnisse zur Drahtwurmbekämpfung in Niedersachsen vor. Auf Starkbefallsflächen zeigte sich eine enorme Ertragswirkung der in den Versuchen eingesetzten – bisher aber nicht zugelassenen – Beizmittel. Aber auch mit dem zu diesem Zweck speziell genehmigten Granulat Santana konnte im Versuch zumindest der Bestand gerettet werden, auch wenn die Wirkung gegenüber den Beizmitteln etwas abfiel. Auf sehr stark befallenen Flächen wird dazu geraten, auf den Maisanbau zu verzichten, ansonsten sollte generell eine Saatgutbehandlung mit dem

einzig zugelassenen Mesurool wegen Drahtwurmnebenwirkung erfolgen, auch wenn zusätzlich Santana Granulat angewendet werden sollte. Auf potentiellen Befallsflächen sollte zur Bekämpfung der sensiblen Drahtwurmstadien die Intensität der Bodenbearbeitung erhöht werden.

Im letzten Vortrag der Tagung berichtete Frau RITTER (LFA, GKZ, Mecklenburg-Vorpommern) aus einem Projekt zur Bekämpfung von Drahtwürmern in Gemüsekulturen. In Freilanduntersuchungen führte ein neues Pilzisolat von *Metarhizium anisopliae* als einziges Testpräparat neben Spinosad und Thymianöl zu einer signifikanten Reduktion des Pflanzenausfalls auf einer Fläche mit *A. ustulatus*-Befall., während bei *A. sputator*-Befall kein Effekt erzielt wurde. In einer Versuchsserie mit einzelnen Plastikgefäßen wurde unter kontrollierten Bedingungen die Wirkung von Kalkstickstoff auf Drahtwürmer untersucht. Dabei zeigte sich ein repellenter, aber kein abtötender Effekt des Kalkstickstoffs auf *A. ustulatus* Larven. Weitere Untersuchungen, z.B. zum *Metarhizium*-Isolat und zur Anfälligkeit von Gemüsekulturen, sollen 2011 folgen.

Der Termin für das 22. Treffen der Projektgruppe wurde auf den 29. Februar/ 1. März 2012 festgelegt und findet im Anschluss an die Tagung der Projektgruppe Raps statt.

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

## Mitteilungen und Nachrichten

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

### Arbeitskreis Phytomedizin in Ackerbau und Grünland – Projektgruppe Krankheiten im Getreide – 2011

Die 24. Tagung der Projektgruppe (PG) Krankheiten im Getreide des Arbeitskreises (AK) Phytomedizin in Ackerbau und Grünland fand am 31. Januar und 1. Februar 2011 im Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen in Braunschweig statt. Schwerpunktthemen waren: Ährenfusariosen und Mykotoxine in Getreide, Krankheitsbekämpfung in Weizen und Gerste.

Die nächste Tagung ist für den 30. und 31. Januar 2012 in Braunschweig geplant.

PG-Leiter: Dr. Helmut TISCHNER, Freising

Die Zusammenfassungen der Vorträge werden – soweit von den Vortragenden eingereicht – im Folgenden wiedergegeben.

#### 1) Neue Ergebnisse zum Auftreten des Schad-erregers *Ramularia collo-cygni* in der Gerste und seine Bedeutung für die integrierte Bekämpfung

Michael HESS<sup>1</sup>, Marika NYMAN<sup>1</sup>, Hans HAUSLADEN<sup>1</sup>, Stephan WEIGAND<sup>2</sup>

<sup>1</sup> TU München, Lehrstuhl für Phytopathologie, Emil-Ramann-Straße 2, 85350 Freising, Deutschland

<sup>2</sup> LfL Bayern, Institut für Pflanzenschutz, Lange Point 10, 85354 Freising, Deutschland

E-Mail: m.hess@lrz.tu-muenchen.de

Grundlage des Projektes sind die gemeinsam mit den Ämtern für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten durchgeführten Monitoring- und Fungizidversuche. Trotz des im Jahr 2010 im Vergleich zu den Vorjahren regional sehr unterschiedlichen Witterungsverlaufs konnten die zentralen Ergebnisse der Vorjahre bestätigt werden. In der Gerste gilt es ein breites Krankheitsauftreten zu kontrollieren. *Ramularia collo-cygni* als pilzliche Ursache des Blattfleckenkomplexes kann oftmals schon im Frühjahr auf seneszenten Blättern nachgewiesen werden. Die Epidemie tritt aber immer erst spät zum Zeitpunkt der Abreife hin auf. Ein Nachweis des Erregers ist im Labor über PCR oder im Feld über den Schnelltest immer schon vor der Epidemie möglich.

Auf dieser epidemiologischen Grundlage kann ein einfaches Schadschwellenkonzept nicht greifen, vielmehr muss ein an die jeweilige Situation angepasstes Risikomanagement die hohe Schadrelevanz des Blattfleckenkomplexes berücksichtigen.

Die Ergebnisse des in diesem Jahr erstmals durchgeführten Vergleichs des Gerstenmodells mit einem auf den Ergebnissen langjähriger Fungizidversuche aufbauenden Modell, welches den Blattfleckenkomplex optimal miterfasst, waren an den 7 Standorten überwiegend positiv. Trotz der höheren Behandlungsintensität gab es auch bei den kostenbereinigten Erträgen im Durchschnitt keine Nachteile.

Das Auftreten des Blattfleckenkomplexes zeigt auch eine hohe Abhängigkeit von der Witterung, doch war es bisher nicht möglich die spezifischen Parameter zu identifizieren, die eine sichere Prognose zulassen. Beschattung ist einer der Versuchsansätze, welche einen großen Effekt auf das Auftreten zeigen,

doch werden dabei über die Lichteinstrahlung hinaus eine Vielzahl von Parametern verändert. Die Erfassung mit Sensoren im Bestand konnte zeigen, dass besonders der Verlauf der Blattnässe stark verändert wird, was zu neuen Ansätzen in der Untersuchung der Erregerbiologie führt.

Mikroskopische Untersuchungen haben soweit gezeigt, dass Sporenproduktion von dem Pilz in vitro möglich, aber schwer reproduzierbar ist. Die Induktion von Sporen stellt einen wichtigen Baustein dar, um die Infektion und den Lebenszyklus von *Ramularia collo-cygni* besser zu verstehen. Einen neuen Ansatz zum besseren Verständnis der Erregerbiologie bieten GFP-transformierte Pilzisolat. Erste Untersuchungen wurden präsentiert.

Verschiedene Untersuchungen weisen darauf hin, dass bei *Ramularia collo-cygni* eine samenbürtige Verbreitung eine Rolle spielt. Daher kann die Untersuchung von Ernteproben Rückschlüsse auf das Auftreten und die Verbreitung geben. Erste qualitative, molekularbiologische Untersuchungen von Archivproben der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft haben gezeigt, dass *Ramularia collo-cygni* schon seit langem in Bayern auf Gerste nachweisbar ist, obwohl sie als Schaderreger erst in den letzten 10 Jahren bedeutend geworden ist. Eine quantitative Untersuchung der Kontaminierung des Saatguts soll hier weitere Erkenntnisse bringen.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

#### 2) Mehrjährige Erfahrungen mit produktionstechnischen Sortenversuchen – Sortenleistung vs. Pflanzenschutz

Andreas JACOBI

Strube Research GmbH & Co. KG, Hauptstraße 1, 38387 Söllingen, Deutschland

E-Mail: a.jacobi@strube.net

Initiiert durch Dr. SPANAKAKIS wurden bei der Saatzucht Strube bereits vor 25 Jahren produktionstechnische Versuche angelegt, um die Sortenreaktion auf unterschiedliche Fungizidstrategien zu prüfen. Dieser Versuch steht seit 1985 und wurde in seinem Grundkonzept seitdem nur wenig verändert. Die Firmen BASF, Bayer und Syngenta beteiligen sich jeweils mit einer eigenen, jedes Jahr neu bestimmten Mittelvariante, Strube stellt insgesamt 18 aktuelle Sorten in jeweils 4 Wiederholungen in jeder Variante zur Verfügung. Abgeprüft wird gegen eine unbehandelte Variante, die bei Wachstumsregler und N-Niveau den sonstigen, behandelten Varianten gleicht. Über nunmehr 19 Jahren wurde eine Erhöhung des Mittels der behandelten Intensitätsstufen um 55 kg/ha und Jahr bedingt durch Pflanzenschutz und Sortenleistung erreicht. Dagegen wies die fungizidlose Variante eine jährliche Steigerung von nur 15 kg/ha und Jahr auf. Dies bestätigt die klare Aussage der Züchter des Hauses Strube, dass der Ertrag beim Landwirt von der Sortenleistung und der Behandlungsleistung als Summe abhängt.

Die Ergebnisse der von den jeweiligen Firmen vorgeschlagenen Varianten unterschieden sich im Mittel der Jahre nur geringfügig voneinander. Im Mittel der Jahre waren alle vorgeschlagenen Varianten der jeweiligen Firmen bezüglich erreichter Ertragsleistung und Fungizidkosten gleich anzusehen. Allerdings gibt es sehr große Unterschiede, wenn man sich die Ergebnisse der einzelnen Jahre betrachtet.

Während die Pflanzenschutzindustrie bezüglich der Leistungsfähigkeit der verwendeten Mittel ausschließlich mit dem Mittel der geprüften Sorten arbeitet, interessiert den Züchter, ob es Interaktionen zwischen Sorten und Behandlungen gibt. Diese wurden in allen Versuchsjahren festgestellt, wobei der Effekt deutlich geringer ausfiel als der Effekt durch die Behandlung alleine (hochsignifikant Rang 1) und die Sorte (hochsignifikant



Rang 2). Diese Interaktionen zwischen Sorte und Behandlung sind sehr komplex und lassen sich nicht immer auf die fungizide Wirkung gegen die in den jeweiligen Einzeljahren dominierenden Erreger ableiten.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

### 3) Strategien der Krankheitsbekämpfung in einem Langzeitversuch – erste Ergebnisse nach drei Versuchsjahren

Marga JAHN, Christina WAGNER

Julius Kühn-Institut, Institut für Strategien und Folgenabschätzung im Pflanzenschutz, Stahnsdorfer Damm 81, 14532 Kleinmachnow, Deutschland  
E-Mail: marga.jahn@jki.bund.de

Im Jahr 1995 wurde auf dem Versuchsfeld Dahnsdorf ein Dauerfeldversuch unter dem Leitmotiv „Strategievergleich – umweltschonender Pflanzenschutz“ angelegt. Dieser Versuch wurde im Herbst 2007 unter Berücksichtigung der veränderten ökonomischen und ökologischen Gegebenheiten neu ausgerichtet. Das Jahr 2008 ist damit als Übergangsjahr zu betrachten.

Die Untersuchungen dienen der Ermittlung des langfristig notwendigen Maßes bei der Anwendung von Pflanzenschutzmitteln. Schwerpunkt des Versuches ist der Vergleich der Pflanzenschutzstrategien „gute fachliche Praxis“ (GfP) und „integrierter Pflanzenschutz“ (IPS). In GfP werden Pflanzenschutzmittel gemäß der regionalen Praxis unter Einbeziehung des Warndienstes und von Beraterempfehlungen, im IPS unter Nutzung von Bekämpfungsschwellen, Prognosemodellen und Expertensystemen sowie situationsbezogen hinsichtlich Fungizidwahl und Aufwandmenge angewendet.

In der sechsfeldrigen Fruchtfolge sind aus Sicht der Krankheitsbekämpfung die Getreidekulturen sowie der Winterraps relevant.

Im Winterroggen (Sorte 'Visello') entwickelte sich der Braunrost (*Puccinia recondita*) in jedem Jahr. Im Jahr 2008 wurde ein hoher Befall (> 50% in der unbehandelten Kontrolle auf dem F-1), in den Jahren 2009 und 2010 ein mittlerer Befall von ca. 30% bzw. 20% in beiden Strategien sehr gut reduziert. Die Behandlungsindices lagen in den Jahren 2008 bis 2010 bei 1,5, 1,4 und 1,2 (GfP) sowie 1,8, 1,1 und 0,8 (IPS). Die Fungizidbedingte Ertragssteigerung war jahresabhängig, weitgehend unabhängig von der Strategie. 2009 wurde bei einem bereits hohen Ertrag ohne Fungizid (> 90 dt/ha) ein hoher Mehrertrag erzielt (16 dt/ha in beiden Strategien), dagegen waren 2010 Ertrag (70 dt/ha) und Mehrertrag (5,8 und 3,4 dt/ha in GfP bzw. IPS) witterungsbedingt relativ niedrig.

Im Winterweizen (Sorte 'Brilliant') erfolgten in allen Jahren Behandlungen gegen die wichtigste Krankheit am Standort, Septoria-Blattdürre (*Mycosphaerella graminicola* Syn. *Septoria tritici*), die sich jedoch nur 2010 zu hohem Befall entwickelte. Die Behandlungsindices lagen in der Jahresfolge bei 2,1, 2,4 und 1,0 (GfP) sowie 1,1, 2,4 und 0,8 (IPS); sie erwiesen sich vor allem 2009 als zu hoch. Die Krankheiten wurden durch die Behandlungen zwar reduziert, die Ertragswirksamkeit war jedoch gering (höchster Mehrertrag im Jahr 2008 5,9 dt/ha in GfP). Insbesondere 2009 wurde ein hoher Ertrag (87 dt/ha) bereits ohne Fungizidanwendung erreicht, während 2010 der Ertrag witterungsbedingt niedrig war (< 70 dt/ha, Mehrertrag ca. 5 dt/ha). Zwischen GfP und IPS waren keine signifikanten Unterschiede vorhanden.

In Wintertriticale (Sorte 'Grenado') entwickelte sich Gelbrost (*Puccinia striiformis*), auf wenige Wiederholungen begrenzt, erstmals 2009, im Jahr 2010 zu hohem Befall. Die gute Wirkung der Behandlungen (Behandlungsindex in beiden Jahren und Strategien 0,8) spiegelte sich im Mehrertrag, zwischen 6 und 11 dt/ha, wider.

Im Winterraps erfolgte in GfP in allen Jahren eine Behandlung (Behandlungsindex 1,0) gegen Weißstängeligkeit (*Sclerotinia sclerotiorum*). Im IPS wurde nur 2010 auf Grund der Empfehlung durch das Modell SkleroPro eine Behandlung (Index 1,0) durchgeführt. Der Unterschied im Ertrag zwischen GfP und IPS war 2008 signifikant. Da im Raps keine Kontrolle ohne Fungizid vorhanden ist, kann angenommen, aber nicht belegt werden, dass diese Differenz der Fungizidanwendung zuzuordnen ist.

Die Behandlungsindices zeigen, dass die Unterschiede zwischen GfP und IPS bisher gering sind. Nächstliegendes Ziel ist die weitere Reduzierung der Behandlungsindices im IPS, um die Grenzen für das notwendige Maß der Fungizidanwendung ausloten zu können.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

### 4) Welche Auswirkungen könnte der prognostizierte Klimawandel auf Weizenkrankheiten haben?

Peter JUROSZEK, Andreas VON TIEDEMANN

Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Allgemeine Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen, Deutschland  
E-Mail: pjurosz@uni-goettingen.de

Eine Erderwärmung könnte zumindest mittelfristig in derzeit zu kühlen Gebieten Deutschlands positive Auswirkungen auf das Wachstum des Weizens und seine Erträge haben. In jetzt schon sehr trockenen und warmen Gebieten könnte dagegen der Stress auf den Weizen verstärkt werden, so dass dort zukünftig der Anbau von besser angepassten Kulturpflanzenarten erfolgen müsste, obwohl die projizierte CO<sub>2</sub>-Erhöhung der Atmosphäre vermutlich einige negative Effekte auf die Pflanzenproduktivität kompensieren wird. Problematisch könnte es werden, wenn Virose (Vektoren) im Getreideanbau erheblich zunehmen würden, wie dies bereits in Jahren mit milden Wintern als Folge erhöhter Vektorenaktivität beobachtet werden konnte. Außerdem könnten abiotische Schadfaktoren (z.B. Ozon, Hitze, Trockenheit) bedeutsamer werden. Langfristige Klimaänderungen sind dynamische Prozesse. Einige Wissenschaftler vermuten daher, dass es bis zur Mitte des 21. Jahrhunderts zu einer Zunahme der meisten pilzlichen Pathogene bei mäßiger Erwärmung und häufig noch ausreichender Feuchtigkeit kommen könnte, während bei fortschreitender Erwärmung und dann häufig nicht mehr ausreichender Feuchtigkeit eine Abnahme der meisten pilzlichen Pathogene möglich wäre. *Mycosphaerella graminicola* (anamorph: *Septoria tritici*) könnte somit langfristig an Bedeutung in Deutschland verlieren, während *Puccinia triticina* (Braunrost) an Bedeutung zunehmen könnte, weil Braunrost besser an warme und trockene Umweltbedingungen angepasst ist (derzeit das wichtigste Pathogen im Weizenanbau in Südwest-Frankreich). Da in jüngster Vergangenheit thermophile Pathotypen von *Puccinia striiformis* (Gelbrost) in den USA gefunden wurden, kann man nicht automatisch davon ausgehen, dass Pathogene, die bisher an kühle Bedingungen angepasst sind, in Zukunft unbedeutend sein werden. Ein weiteres zukünftiges Risiko könnten Pathogene sein, die von wärmeren Gebieten ausgehen könnten (z.B. Magnaporthe grisea, 'wheat blast' in Südamerika), obwohl dieses Pathogen lang anhaltende Feuchteperioden benötigt, um sich etablieren zu können. Andererseits stehen dem Landwirt zur Kontrolle pilzlicher Pathogene vielfältige Instrumente zur Verfügung, wie weite Fruchtfolge und standortangepasste Anbautechnik (z.B. Bodenbearbeitung, Saattermin, Sortenwahl, Düngung, zielgerichteter Pflanzenschutzmitteleinsatz), um potenziellen negativen Auswirkungen von veränderten Klimabedingungen zu begegnen.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

## 5) Untersuchungen zur Pathogenese der Kolbenfusariose beim Mais

Elisabeth OLDENBURG<sup>1</sup>, Frank ELLNER<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland

<sup>2</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Str. 19, 14195 Berlin-Dahlem, Deutschland

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

Mais wird häufig von Pilzen der Gattung *Fusarium* befallen und kann in der Folge mit Fusariumtoxinen belastet sein. Bei der Körnermais-Produktion sind direkte Infektionen der weiblichen Blüte und des Kolbens die Ursache für unerwünschte Toxingehalte im Ernteprodukt. Um den Infektionsweg der Schaderreger zu verfolgen und den Verlauf der Mykotoxinbildung aufzuklären, wurden im Jahr 2009 zwei Maissorten auf je 100 m<sup>2</sup> Freiland-Parzellen nahe Braunschweig kultiviert. Zur Vollblüte Ende Juli wurden die Kolben mit *Fusarium culmorum*-Sporen infiziert und anschließend in 14-tägigem Rhythmus bis Mitte Oktober geerntet (2 × 10 Kolben pro Sorte), entliescht und einer optischen Schadbild-Bonitur unterzogen. Danach wurden die Kolben in jeweils vier Teile segmentiert und gefriergetrocknet. Nach der Trennung der Körner von den Spindelsegmenten erfolgten die Vermahlung sowie die HPLC-Analyse der Fusariumtoxine in den einzelnen Fraktionen.

Erste Fusariose-Symptome zeigten sich 4 Wochen nach der Inokulation an der Kolbenspitze durch eingetrocknete und hellbraun verfärbte Blütchen, die im Verlauf von weiteren 2 Wochen verbräunten. In den nachfolgenden 4 Wochen hellten sich an der Kolbenspitze befindliche kleine Körner auf oder zeigten bräunlich marmorierte Flecken. Fallweise waren weißliche Beläge oder weißes Mycel an der Kolbenspitze sichtbar. Bei der letzten Probenahme Mitte Oktober zeigten die infizierten Körner an der Basis dunkelbraune und die darunterliegenden Spindelteile rötliche oder grau-bräunliche Verfärbungen. Diese Infektionssymptome entwickelten sich bei beiden Maissorten in ähnlicher Weise.

Zeitgleich mit dem Sichtbarwerden der Schadsymptome wurden zunächst geringe Mengen an Deoxynivalenol (DON) und Acetyl-DON in der Spindel Spitze festgestellt.

Danach stiegen die Toxinkonzentrationen in der Spindel deutlich an und erreichten bei der letzten Ernte in der Spindel Spitze beider Sorten die höchsten Werte (67 bzw. 109 mg DON/kg; 75 bzw. 39 mg Acetyl-DON/kg; 3,4 bzw. 24 mg Zearalenon/kg). Demgegenüber waren die an den kontaminierten Spindelteilen anhaftenden Körner an der Kolbenspitze deutlich geringer mit Fusariumtoxinen belastet (3,1 bzw. 4,9 mg DON/kg; 1,4 bzw. 0,4 mg Acetyl-DON/kg; 0,03 bzw. 0,08 mg Zearalenon/kg). Bei einer Sorte waren die Segmente unterhalb der Kolbenspitze nur gering oder gar nicht mit Fusarientoxinen kontaminiert. Dagegen enthielten bei der anderen Sorte alle unterhalb der Kolbenspitze liegenden Spindelteile sowie Körner Fusariumtoxine, jedoch mit deutlich abnehmenden Konzentrationen in Richtung auf die Kolbenbasis. Dies zeigt an, dass die Ausbreitung der Infektion bei den Sorten im Verlauf der Abreife unterschiedlich schnell erfolgte.

Diese Ergebnisse belegen, dass Kolbeninfektionen mit *Fusarium culmorum* von der Spitze ausgehend zunächst basipetal durch die Spindel verlaufen und nachfolgend in die an den infizierten Spindelteilen anhaftenden Körner übergehen. Da das Spindelgewebe deutlich sichtbare Schadsymptome aufweist und wesentlich höher mit Fusariumtoxinen kontaminiert sein kann als die Maiskörner, sollte die Spindel in die Evaluierung der Kolbenfusariose, z.B. im Rahmen einer Sorten-Resistenzbewertung, einbezogen werden.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

## 6) Fusarium-Artenspektren an Halmbasis und Ähre von Weizen in unterschiedlichen Weizenfruchtfolgen

Marcel TILLMANN, Andreas VON TIEDEMANN

Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Allgemeine Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Grisebachstraße 6, 37077 Göttingen, Deutschland  
E-Mail: mtillma@gwdg.de

Im Jahre 2010 wurde das Fusarium-Artenspektrum an Weizen in einem Fruchtfolgeversuch nördlich von Göttingen untersucht. Ziel war es, den Einfluss der Vorfrüchte Winterweizen, Mais, Zuckerrübe und Ölrettich sowie der Weizensorte (Ritmo, hochanfällig; Centrum, resistent) und den Effekt einer Blattfungizidbehandlung auf die Fusarium-Artenzusammensetzung an der Halmbasis zu BBCH 37–39, 61–65 und 71–75 und an der Ähre zu BBCH 91–92 zu ermitteln. Die Identifikation der Arten erfolgte sowohl morphologisch als auch molekular mittels TEF1alpha-PCR und anschließender RFLP sowie mittels spezies-spezifischer PCR. Insgesamt wurden sieben Fusarium-Arten identifiziert: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. poae* und *F. tricinctum*. Bei den von der Halmbasis isolierten Arten dominierten insgesamt *F. tricinctum* (34,1%), *F. culmorum* (32,1%) und *F. equiseti* (21,2%). *F. avenaceum* (5,0%), *F. oxysporum* (3,8%) und *F. graminearum* (3,8%) kamen dagegen selten vor, *F. poae* wurde nicht gefunden. Zu BBCH 71–75 konnte nach Vorfrucht Zuckerrübe mit 66,7% Befallshäufigkeit im Vergleich zu den anderen Vorfrüchten Weizen (43,3%), Mais (41,7%) und Ölrettich (28,3%) eine signifikant höhere Befallshäufigkeit mit *Fusarium spp.* gezeigt werden. An der Ähre zeigten sich *F. tricinctum* und *F. poae* als vorherrschende Arten. Während insgesamt *F. tricinctum* mit 40,4% der Gesamtzahl an Isolaten nach allen Vorfrüchten stark vertreten war, konnte *F. poae* (34,5%) besonders häufig nach Mais und Zuckerrübe isoliert werden. *F. graminearum* (16,3%) trat nur nach Mais häufig auf. *F. culmorum* (7,4%) wurde allgemein selten isoliert. *F. equiseti* (1,3%), *F. avenaceum* (0,2%), und *F. oxysporum* (0,0%) spielten keine Rolle an der Ähre. In Bezug auf den Einfluss der Versuchsfaktoren auf die Artenspektren konnte an der Ähre für die anfällige Sorte Ritmo eine signifikant höhere Befallshäufigkeit mit *Fusarium spp.* im Vergleich zur resistenten Sorte Centrum in den drei Vorfrüchten Mais (Centrum 15,8%, Ritmo 38%), Zuckerrübe (Centrum 9%, Ritmo 31,5%) und Ölrettich (Centrum 11,2%, Ritmo 30,5%) gezeigt werden. Die Blattfungizidbehandlung zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Artenspektren.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

## 7) Krankheitsbekämpfung im Weizen – Versuchsergebnisse aus Bayern

Stephan WEIGAND

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

Nach 2008 und 2009 war auch im Jahr 2010 die Septoria-Blattdürre die dominierende Krankheit im Winterweizen in Bayern. Allein an 45 der 72 Monitoringstandorte des amtlichen Pflanzenschutzdienstes verursachte *Septoria tritici* die erste Überschreitung der Bekämpfungsschwellen. Auch Mehltau und DTR traten regional etwas häufiger bekämpfungsrelevant auf als im Vorjahr, Braunrost und *Septoria nodorum* dagegen nur vereinzelt, meist erst zum Ährenschieben. Halmbruch und Gelbrost überschritten im Jahr 2010 an keinem der Standorte die Bekämpfungsschwellen.

Aufgrund eines frühen Epidemiebeginns Mitte April und eines anhaltend hohen Infektionsdruckes im sehr feuchten Mai,



erlangte *Septoria tritici* in Bayern eine hohe Ertragsbedeutung. Im Mittel aller 8 Standorte eines Fungizidversuches erreichte der Ertragsunterschied zwischen der unbehandelten Kontrolle und der Gesundvariante 25,8 dt/ha und damit die größte Differenz seit Beginn dieser Versuchsserie im Jahr 1994. Neben der Witterung war dafür auch der häufige Anbau von überdurchschnittlich *Septoria*-anfälligen Sorten mitverantwortlich. So standen an 7 der 8 Versuchsstandorte die Sorten JB Asano, Akteur oder Cubus. Dies deckt sich jedoch mit den Verhältnissen in der Praxis, wo diese Sorten in den letzten Jahren deutlich zugenommen haben und im Erntejahr 2010 bereits 41% der bayerischen Weizenvermehrungsflächen einnahmen. Unter den bisher schon am Markt befindlichen Produkten waren die Varianten mit Champion + Diamant, bei der Doppelbehandlung mit Capalo-Vorlage, nach Abzug der Mittel- und Überfahrtskosten, am wirtschaftlichsten. Mischungen mit den neuen SDHI-Wirkstoffen Bixafen (im Aviator Duo, Input Xpro oder BAY18570F) und Xemium (im zukünftigen Adexar) zeigten dagegen die beste Ertragsleistung.

Häufige Regenfälle in den ersten beiden Junidekaden erschwerten im Jahr 2010 auch die Bekämpfung von Ährenfusariosen. In einem mit Maisstoppeln natürlich inokuliertem Exaktversuch wurden dazu die Terminierung und die Fungizidwirkung geprüft. Die beste Variante erzielte eine Toxinminderung um 76% und einen Ertragszuwachs von 17,5dt/ha. Im dreijährigen Mittel dieser Versuchsserie verminderte Prosaro die DON-Gehalte am wirksamsten, gefolgt von Input und Osiris.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

## 8) Abbau von Fusarium-Biomasse in Weizenrückständen durch Regenwürmer – ein Beitrag zur biologischen Kontrolle eines phytopathogenen Schaderregers

Friederike WOLFARTH<sup>1</sup>, Stefan SCHRADER<sup>1</sup>, Elisabeth OLDENBURG<sup>2</sup>, Joachim WEINERT<sup>3</sup>, Joachim BRUNOTTE<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Johann Heinrich von Thünen-Institut, Institut für Biodiversität, Bundesallee 50, 38116 Braunschweig, Deutschland

<sup>2</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland

<sup>3</sup> Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt, Wunstorfer Landstraße 9, 30453 Hannover, Deutschland

<sup>4</sup> Johann Heinrich von Thünen-Institut, Institut für Agrartechnologie und Biosystemtechnik, Bundesallee 50, 38116 Braunschweig, Deutschland  
E-Mail: friederike.wolfarth@vti.bund.de

Durch die zunehmende Intensivierung der Landwirtschaft waren in der Vergangenheit negative Auswirkungen auf Bodenstruktur, Bodenqualität, Bodenfauna und Umwelt zu beobachten. Ein alternatives Bodenbearbeitungsverfahren zum konventionellen Pflug bietet die konservierende Bodenbearbeitung, wodurch ein aktiver Beitrag zum vorsorgenden Umweltschutz in der Landwirtschaft geleistet wird. Diese Bearbeitungsmethode gewährleistet Schutz gegen Erosion und Verschlammung, außerdem werden die biologische Aktivität und die biologische Vielfalt gefördert. Ein erheblicher Nachteil konservierender Bodenbearbeitung ist allerdings das erhöhte Risiko eines Schaderregers nachfolgender Kulturpflanzen mit pilzlichen Pflanzenpathogenen der Gattung *Fusarium*. Aufgrund ihrer saprotrophen Eigenschaften können Fusariumpilze auf Ernterückständen überleben und somit das Risiko einer Infektion des Getreides im Folgejahr deutlich erhöhen. Ein zentrales Element zur Minderung des Infektionsdrucks ist daher eine intensive Förderung der Strohhotte. Beim Abbauprozess von Pflanzenrückständen spielen vor allem Regenwürmer eine bedeutende Rolle. Außerdem erfolgt deren Nahrungsaufnahme selektiv, so dass eindeutige Nahrungspräferenzen für pflanzenpathogene

Pilze wie *Fusarium* vorliegen. In einem achtwöchigen Freilandexperiment auf einer Ackerfläche in Adenstedt (Landkreis Hildesheim), die seit über 20 Jahren mit Methoden konservierender Bodenbearbeitung bewirtschaftet wird, kamen zwei Regenwurmartenspezies mit unterschiedlicher ökologischer Funktion zum Einsatz: *Lumbricus terrestris* als detritivorer Primärzersetzer sowie *Aporrectodea caliginosa* als geophager Sekundärzersetzer. In Mesokosmen wurden die Regenwürmer in verschiedener Kombination (Reinkultur und Mix) künstlich mit *Fusarium*-infiziertem Weizenstroh ausgesetzt. In einem zweiten Ansatz wurde den Regenwürmern Weizenstroh angeboten, welches nicht künstlich infiziert war. Außerdem existierte jeweils eine Kontrollvariante ohne Versuchstiere. Nach Versuchsende wurden in Stroh, Boden und Losung der Tiere die *Fusarium*-Biomasse in Form von *Fusarium*-Protein-Äquivalenten (FPE) und die Konzentrationen des Mykotoxins Deoxynivalenol (DON) mittels der ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)-Methodik quantitativ bestimmt. In den Varianten mit *L. terrestris* konnte eine signifikante Reduzierung der *Fusarium*-Biomasse und DON-Konzentration nachgewiesen werden. Der Einfluss von *A. caliginosa* auf den Abbau von *Fusarium* und DON in Weizenrückständen ist dagegen von untergeordneter Bedeutung. Ebenfalls wurde das mit *Fusarium* angereicherte Weizenstroh vor allem von *L. terrestris* dem nicht infizierten Stroh vorgezogen und folglich vermehrt in den Boden eingearbeitet. Auf diese Weise sind vor allem detritivore, anektische Regenwürmer an der Minderung von Pflanzenrückständen auf dem Ackerboden aktiv beteiligt. In Agrarökosystemen, in denen durch reduzierte Bodenbearbeitung günstige Bedingungen für Regenwürmer geschaffen werden, können diese einen nicht zu unterschätzenden Beitrag zur Kontrolle pflanzenpathogener Pilze leisten.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

## 9) Screening for Ramularia leaf spot resistance in spring barley cultivars

Nazanin ZAMANI-NOOR, Andreas VON TIEDEMANN  
University of Göttingen, Department of Crop Sciences,  
Division of Plant Pathology and Crop Protection, Grisebachstr. 6,  
37077 Göttingen, Germany  
E-Mail-Adresse: nzamani@gwdg.de

*Ramularia collo-cygni* (*Rcc*) has gained increasing importance as the causal agent of a novel leaf spot disease on barley, *Ramularia leaf spot* (*RLS*). Thirty-four different spring barley genotypes were evaluated for resistance to *RLS*. Evaluations were conducted in replicated experiments in growth chambers (with leaf segments) and under greenhouse and field conditions (with whole plants). In the field experiments and whole plant inoculation trials in controlled conditions, plants were evaluated at late growth stage (65–70) for percentage of necrotic leaf area due to *RLS* on leaf F-1. In growth chamber experiments, after inoculating leaf segments with  $1 \times 10^5$  spores/ml, the number of necrotic spots on individual leaflets was counted after 15 days post inoculation. There were significant differences among genotypes in their response to *Rcc* infection in the field, greenhouse and growth chamber experiments. Upon natural infection in the field, the severity of *Rcc* symptoms depended strongly on local weather conditions. While the cultivar IPZ 24727 showed a moderate resistance to *Rcc*, the other cultivars were more or less susceptible. The strongest correlations were found between leaf segment assays and greenhouse experiments ( $P < 0.0001$ ,  $R_s = 0.68$ ). A significant correlation has been also observed between field experiments in two different years ( $p < 0.0419$ ,  $R_s = 0.42$ ). The results demonstrate the potential of screening barley cultivars for *Rcc* resistance in controlled conditions.

(DPG PG Krankheiten im Getreide)

## PROTOKOLL

ZUR 12. SITZUNG DER PROJEKTGRUPPE „HEIL-, DUFT- UND  
GEWÜRZPFLANZEN“ DES ARBEITSKREISES „PHYTOMEDIZIN IM GARTENBAU“  
DER DEUTSCHEN PHYTOMEDIZINISCHEN GESELLSCHAFT (DPG)

**Datum:** 22. Februar 2011 17.15 Uhr bis 18.45 Uhr

**Ort:** Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau (LLFG)  
des Landes Sachsen - Anhalt  
Strenzfelder Alle 22  
06406 Bernburg

**Teilnehmer:** 19 Teilnehmer (siehe Teilnehmerliste)

**Verteiler:** Teilnehmer der Projektgruppensitzung  
an alle Mitarbeiter der PG und Personen, welche die PG unterstützen  
DPG-Vorstand  
Deutscher Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen  
Thüringer Interessenverband Heil-, Duft- und Gewürzpflanzen

### Tagesordnung:

- TOP 1: Begrüßung
- TOP 2: Genehmigung der Tagesordnung
- TOP 3: Genehmigung des Protokolls der 11. Sitzung vom 23. Februar 2010
- TOP 4: Versuche zur Regulierung von Falschem Mehltau an Petersilie  
Herr Hans van der Mheen  
Kräuteranbau Saatzucht und Consultancy Elburg Niederlande
- TOP 5: Einfluss von Quassia-MD auf den Zikadenbefall an Salbei und Zitronenmelisse  
- Ergebnisse aus dem Versuchsjahr 2010  
Herr Malte Michaelsen  
Fachhochschule Erfurt  
Fakultät Landschaftsarchitektur, Gartenbau und Forst  
Fachrichtung Gartenbau
- TOP 6: Kurzinformation  
Neues Projekt „Untersuchungen zu den Pathosystemen Echter Mehltau/Petersilie  
und Falscher Mehltau/Petersilie und Entwicklung einer Screeningmethode für die  
Resistenzzüchtung (Verbund GFP, DLR und JKI)  
Frau Dr. Ute Gärber  
Julius Kühn-Institut Kleinmachnow
- TOP 7: Verschiedenes

### **Zu TOP 1:**

Herr Prof. Dr. Dercks eröffnete die 12. Sitzung der Projektgruppe und begrüßte die Teilnehmer.

### **Zu TOP 2:**

TOP 6 wurde an TOP 4 angeschlossen, da beide Themen sich auf Petersilie beziehen.

### **Zu TOP 3:**

Zum Protokoll der letzten Sitzung gab es keine Einwände oder Ergänzungen.

Im Mittelpunkt der Projektgruppensitzung standen diesmal zwei Themen. Das erste bezog sich auf den Falschen Mehltau an Petersilie, der in den Anbaugebieten Deutschlands, aber auch in den Niederlanden ein großes Gefahrenpotenzial für den Petersilienanbau darstellt. Zu dieser Problematik konnte Herr van der Mheen von der Kräuteranbau Saatzucht und Consultancy Elburg aus den Niederlanden für einen Kurzvortrag gewonnen werden, der seine Erfahrungen zu dem Schaderreger und zur Bekämpfung des Falschen Mehltaus darlegte. Der zweite Themenschwerpunkt beschäftigte sich wie bereits im Vorjahr mit der Regulierung von Zikaden mit Quassia-MD an Zitronenmelisse und Salbei, wobei im Mittelpunkt die neuesten Ergebnisse der Freilanduntersuchungen standen. Zikaden sind für den Ökolandbau ein großes Problem im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau und insbesondere im Freilandanbau schwer zu regulieren.

### **Zu TOP 4:**

Der Falsche Mehltau an Petersilie wird seit 2000 in den Niederlanden zunehmend beobachtet und tritt insbesondere in der 2. Saisonhälfte ab Juli nach dem 2. Schnitt auf. Zur Biologie und Epidemiologie des Erregers liegen kaum Kenntnisse vor. Vermutet wird eine Verbreitung des Erregers über das Saatgut. Mikroklimatische Bedingungen wie Blattnässedauer von über fünf Stunden und Temperaturen von über 15°C sind für die Infektion mit Falschem Mehltau günstig. Aufgrund der hohen Infektionsgefahr mit Falschem Mehltau wurden 2007 und 2008 Versuche zur Wirkung verschiedener Mittel im Feld durchgeführt. In 2007 wurden Daconil und Paraat in voller (1l/ha) und im Splitting-Verfahren in halber Aufwandmenge sowie Acrobat DF (2l/ha) und der Blattdünger Phosphik 3-27-18 (3l/ha) geprüft. In 2008 wurden zusätzlich Fubol Gold (2,5l/ha) und Revus (0,6l/ha) in die Prüfung einbezogen. Die Aufwandmenge bei Daconil wurde auf 1,5l/ha erhöht. Im Ergebnis zeigte sich, dass die Fungizide im Splitting-Verfahren wirksamer waren und den Befall mit Falschem Mehltau zunächst stärker unterdrückten. Eine signifikante Wirkung konnte für Fubol Gold (2,5l/ha) nachgewiesen werden. Allerdings war 2008 ein nur geringer Infektionsdruck mit Falschem Mehltau zu verzeichnen. Bei einer Blattdüngung mit Phosphik wurde keine Wirkung auf den Falschen Mehltau erzielt. Phytotoxische Wirkungen wurden bei keinem der Mittel in den geprüften Aufwandmengen beobachtet. Rückstandsuntersuchungen wurden nicht durchgeführt. Die Ertragsdaten bei der krausen Petersilie lagen in den mit Fungizid behandelten Varianten unter denen der nicht behandelten Varianten. In 2008 wurden glatte und krause Petersilie vergleichend angebaut. Obgleich die glatte Petersilie auf dem Feld rein visuell stärker befallen erschien als die krause Petersilie, erwies sich in den exakten Befallsbonituren, dass die krause Petersilie stärker anfällig war. In morphologischen Untersuchungen unterschieden sich Isolate, die von glatter bzw. krauser Petersilie gewonnen wurden, in der Größe ihrer Sporangien. Sporangien, die von glatter Petersilie isoliert wurden, waren kleiner als die von krauser Petersilie. Es wird demnach nicht ausgeschlossen, dass eventuell verschiedene Arten des Falschen Mehltaus vorkommen könnten, was jedoch in weiteren Untersuchungen zu klären wäre.

### **Zu TOP6:**

Frau Dr. Gärber berichtete, dass seit November 2010 in Zusammenarbeit von JKI Kleinmachnow und DLR Rheinpfalz ein Projekt zu Echem und Falschem Mehltau an Petersilie bearbeitet wird. Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung. Antragsteller ist die Gemeinschaft zur Förderung der Privaten Deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP). Wie in den Niederlanden tritt der Falsche Mehltau auch in Deutschland seit 2000 regelmäßig an Petersilie auf und hat andere Blattfleckenerreger wie *Septoria* oder *Alternaria* zunehmend in ihrer Bedeutung verdrängt. In heißen Sommermonaten wird verstärkt der Echte Mehltau beobachtet, der in Topfkulturen bereits das Hauptproblem ist. Fungizide sind wegen fehlender Daten zur Epidemiologie und des erheblichen Risikos von Rückständen im Erntegut nur begrenzt einsetzbar. Zur Sortenanfälligkeit gegen beide Erreger liegen nur wenige, teils widersprüchliche Angaben vor. Projektziel ist die Erarbeitung und Evaluierung von Methoden, die der Züchtung ein verlässliches, routinemäßiges Screening von Petersilien-Zuchtmaterial auf seine Anfälligkeit für Echten und Falschen Mehltau in möglichst kurzer Zeit erlauben. Hierbei sind besonders die Grunddaten zur Biologie und Epidemiologie beider Erreger zu untersuchen. Die Ergebnisse ermöglichen den Züchtern, mit einfach anzuwendenden, verlässlichen Methoden die Resistenzeigenschaften von Sorten und Zuchtmaterial gegen Echten und Falschen Mehltau zu prüfen. Dies ist die Voraussetzung für eine effiziente Selektion von Sortenkandidaten auf das Merkmal Resistenz gegen Echten und/oder Falschen Mehltau. Frau Dr. Gärber verwies auf das auf dem Bernburger Winterseminar aufgestellte Poster zu dieser Problematik und rief auf, bei Befall Pflanzenproben mit Falschem bzw. Echem Mehltau einzusenden, um möglichst viele Isolate aus verschiedenen Anbauregionen in die Untersuchungen zur Biologie der Erreger einbeziehen zu können. Die Untersuchungen zu Falschem Mehltau werden am DLR Rheinpfalz und zu Echem Mehltau am JKI Kleinmachnow durchgeführt. Eine Anleitung zur Sammlung der Proben und ein Probebegleitzettel wurden dem Anhang beigelegt.

### **Zu TOP 5:**

Herr Michaelsen berichtete über die Versuchsergebnisse des Jahres 2010 zur Regulierung von Zikaden an Salbei und Zitronenmelisse mit Quassia-MD, die auf die positiven Erfahrungen aus den Vorjahren 2008 und 2009 aufbauten.

Um die Vorjahresergebnisse zu verifizieren, wurde Quassia-MD (18g/ha Quassin) in Kombination mit dem Netzmittel Trifolio S-forte (0,05%) an Salbei- und Zitronenmelissepflanzen im Freiland mit drei unterschiedlichen Applikationshäufigkeiten in zwei Blockversuchen (Salbei: 4 Varianten, 4 Wiederholungen; Melisse: 5 Varianten, 5 Wiederholungen) getestet. Die Applikationen mit Quassia-MD und dem Netzmittel Trifolio S-forte wurden in Variante 2 einmal, Variante 3 zweimal und Variante 4 dreimal in 14-tägigen Abständen durchgeführt. Als Vergleich diente die unbehandelte Kontrollvariante 1. Die Variante 5 im Zitronenmelisseversuch bestand nur aus dem Netzmittel Trifolio S-forte um zu überprüfen, ob dieses eventuell selbst eine insektizide Wirkung entfaltet.

Bonitiert wurde die wöchentliche Anzahl an Zikadenlarven und Adulten an fünf markierten Pflanzen pro Parzelle, um die Wirkung des Mittels auf die Befallszahlen zu erfassen. Einen Tag nach der Bonitur wurden die Spritzmittel ausgebracht. Sonstige kulturtechnische Abläufe wie bspw. Düngung oder Bewässerung erfolgten auf praxisübliche Weise nach ökologischen Anbaubedingungen.

Es wurden für die ermittelte Anzahl an Adulten, Larven und den errechneten Wirkungsgraden (nach ABBOTT; der Mittel in Bezug auf den Larvenbefall) Diagramme erstellt um den Befallsverlauf und die Wirkung grafisch darzustellen.

Der Larvenbefall zum Zeitpunkt des stärksten Befalls in der Kontrolle und der Gesamtbefall der einzelnen Varianten nach der Spritzung wurden mittels Varianzanalyse und anschließendem Mittelwertvergleich (Student-Newman-Keuls-Test) auf statistisch gesicherte Unterschiede, mit der Software SPSS, untersucht.

Da der Zikadenbefall im Frühjahr 2010 sehr gering war und sich die Insekten nicht ausreichend entwickelten, mussten die ersten Versuchsdurchführungen abgebrochen werden. Während der zweiten Versuchsdurchführung stabilisierte sich die Zikadenpopulation, so dass diese Versuchsdurchgänge ausgewertet werden konnten.

Quassia-MD ist ein Kontakt- und Fraßgift und wirkt vorrangig gegen Zikadenlarven, deshalb konnte die Wirkung des Mittels über den Larvenbefall am zuverlässigsten ermittelt werden. Ein Rückgang der Adultenanzahl war somit (zeitlich versetzt) auf die vorherige Abnahme der Larven zurückzuführen.

Eine einmalige Applikation führte in den behandelten Varianten schon zu einer starken Abnahme der Zikadenlarvenanzahl. Allerdings stiegen die Werte der Variante 2 nach der Applikation wieder an, da vermutlich nicht alle Larven von dieser Spritzung erfasst worden waren. Durch die zweite Applikation wurde der Larvenbefall in der Variante 3 deutlich gemindert, so dass bereits nach zwei Applikationen nur noch wenige Zikaden gefunden und hohe Wirkungsgrade (99%) erreicht wurden. Die dritte Applikation zeigte sehr gute Regulierungserfolge bei den Zikaden der Variante 4. Sowohl bei den Larven als auch bei den Adulten wurden in dieser Variante durchschnittlich die niedrigsten Befallszahlen ermittelt. Hier nahm die Anzahl gefundener Larven auf weniger als 1 Larve pro hundert Blatt konstant ab. In dieser Variante wurden maximale Wirkungsgrade (nach ABBOTT) des Mittels in Bezug auf den Larvenbefall von 100% ermittelt. Das Netzmittel Trifolio S-forte zeigte in der Variante 5 keinen nennenswerten Einfluss auf den Zikadenbefall.

Zum Ende der Versuche stieg die Anzahl der adulten Zikaden in allen Varianten an. Dieser Anstieg war vermutlich auf ein Überfliegen der adulten Zikaden nach den Applikationen in die Versuchsvarianten zurückzuführen.

Generell war es für einen Bekämpfungserfolg von entscheidender Bedeutung, dass man das Erstauftreten der Larven nicht verpasste und unmittelbar handelte. Dem frühen und regelmäßigen Kontrollieren des Pflanzenbestandes kommt somit eine große Bedeutung zu. Obwohl Quassia-MD in erster Linie auf die Larven wirkt, ist es wichtig, dass die Anzahl adulter Zikaden nach dem Applikationszeitraum abnimmt, um den Aufbau weiterer Generationen der Zikadenpopulationen zu vermeiden.

Aufgrund der schlechten Witterungsverhältnisse und des damit verbundenen starken Pilzbefalls (*Septoria melissae*), konnte am Ende der 2. Versuchsdurchführung keine Blattbonitur der Zikadenschäden bei Zitronenmelisse durchgeführt werden. Die Blattbonitur der Salbeipflanzen bestätigte dagegen indirekt die Versuchsergebnisse, so wiesen die behandelten Pflanzen deutlich weniger Blattschäden auf als die unbehandelten.

Herr Michaelsen berichtete, dass pilzliche Schaderreger wie Echter Mehltau und *Septoria melissae* durch den Zikadenbefall in Zitronenmelisse anscheinend begünstigt werden. In den



vorliegenden Versuchen an Salbei und Zitronenmelisse konnte keine vollständige Bekämpfung der Zikaden erreicht werden, da die Zikaden aus der unbehandelten Kontrolle und dem umgebenden Freiland immer wieder in die behandelten Varianten übersiedelten. Es gibt derzeit noch keine Schadgrenzen, die die Qualität der Ware aus Sicht der Vermarktung sicher stellt. Bei Frischware wird eine Nulltoleranz verlangt. Virussymptome als mögliche Folgen einer Virusübertragung durch Zikaden in Melisse wurde in den Versuchen nicht beobachtet. Quassia-MD ist derzeit noch kein zugelassenes Mittel. Damit Quassia-Extrakte als Pflanzenschutzmittel zugelassen werden bzw. die enthaltenen Wirkstoffe in den Anhang I der EU-Richtlinie 91/414/EWG aufgenommen werden können sind weitere Untersuchungen unerlässlich. So müssen insbesondere Fragen zum Verbleib von Rückständen (Bitterstoffen) im Erntegut und die damit verbundene Korrelation der geschmacklichen Veränderung, zur Festlegung einer Wartezeit, der Einfluss auf weitere Schad- und Nutzorganismen (Wirkmechanismus), zum Verhalten in und auf der Pflanze (Systemizität) sowie in der Umwelt (Rückstandsverhalten) in naher Zukunft geklärt werden. Für den ökologischen Anbau stellt Quassia-MD generell ein wichtiges pflanzliches Insektizid zur effektiven, umweltschonenden und nachhaltigen Regulierung von Insekten dar. Die Verfügbarkeit von Pflanzenschutzmitteln ist bei dieser Anbauweise sehr stark bis auf wenige Mittel eingeschränkt. Für die Regulierung von Zikaden gibt es derzeit keine einsetzbaren Nützlinge. Aufgrund des ökotoxikologisch günstigen Profils und der vielseitigen insektiziden Eigenschaften ist die Verwendung von Quassia-Extrakten auch für den konventionellen und integrierten Anbau im Sinne eines Resistenzmanagements durch die Erweiterung der Spritzfolge von großer Bedeutung.

**Zu TOP 7:**

Die Projektgruppe wird ab 2011 in zweijährigem Rhythmus tagen. Das nächste Treffen der Projektgruppe wird demnach 2013, am ersten Tagungstag des Bernburger Winterseminars, dann 2015, 2017 usw. stattfinden.



-----  
Frau Dr. Ute Gärber



-----  
Prof. Dr. Wilhelm Dercks

## PG MIKROBIELLE SYMBIOSEN, 24.11.2011

### PHYLOTAXONOMY VON ARBUSKULÄREN MYKORRHIZAPILZEN UND DEREN DNA-BASIERTE DETEKTION IM FELD

Arthur Schüßler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grosshaderner-Str. 4, 82152 Martinsried, Germany

Contact: arthur.schuessler@lmu.de

Gegenwärtig gibt es kontroverse Diskussionen über die Taxonomie und Systematik der arbuskulären Mykorrhiza (AM) Pilze. Viele dieser Diskussionen basieren auf fragmentierten oder zum Teil auch falschen Annahmen. Neue Erkenntnisse über die Phylogenie der AM Pilze wurden in eine robuste Phylotaxonomie eingeordnet, und die DNA basierte Detektion der Pilze im Feld wird diskutiert. Letzteres verlangt eine bessere Standardisierung der molekulargenetischen Charakterisierung der Pilze, ist aber in den letzten Jahren bereits deutlich vorangekommen. Eine detaillierte Charakterisierung von AM Pilz Gemeinschaften im Feld ist in naher Zukunft durch 454FLX+ Sequenzierung möglich.

### PHYLOGENETIC REFERENCE DATA FOR SYSTEMATICS AND PHYLOTAXONOMY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI FROM PHYLUM TO SPECIES-LEVEL.

Krüger M, Krüger C, Walker C, Stockinger H, Schüßler A (2011)

*New Phytologist, in press*

More recent publications on the topic see

<http://www.genetik.bio.lmu.de/research/schuessler/publications/index.html>

### NACHWEIS UND QUANTIFIZIERUNG VON ARBUSKULÄREN MYKORRHIZAPILZEN

Florschütz, Kristina<sup>1</sup>, Schröter, Anja<sup>1</sup>, Vetter, Katja<sup>2</sup>, Watzke, Roland<sup>2</sup>, Kunze, Gotthard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IPK AG Hefegenetik, Corrensstr. 3, 06466 Gatersleben

<sup>2</sup>AMykor GmbH, Kühlturmstr., 06803 Bitterfeld-Wolfen

Contact: florschuetz@ipk-gatersleben.de

Die Interaktion zwischen Mikroorganismen und Pflanzen nimmt in der Landwirtschaft einen immer größeren Stellenwert ein. So ist es von großer Bedeutung schnelle und kostengünstige Detektionsmethoden zur Verfügung zu haben, mit denen sich auch Symbionten, wie z.B. arbuskuläre Mykorrhizapilze (AMP), nachweisen lassen.

Mykorrhizapilze sind Mikroorganismen, die mit Pflanzen in Symbiose leben. Diese Pilze liefern der Pflanze Nährsalze und Wasser und erhalten ihrerseits einen Teil der durch die Photosynthese der Pflanzen erzeugten Assimilate.

Die im Boden mit am häufigsten vorkommenden Mykorrhizapilze sind die arbuskulären Mykorrhizapilze (AMP's) mit verzweigten, zarten Hyphen in Bäumchenform innerhalb der Wurzelzellen (Arbuskeln). Die Zahl der Pflanzen, die mit diesen AMP's eine Symbiose eingehen, ist sehr groß. Darunter zählen viele Nutzpflanzen wie Mais, Weizen, Gerste, aber auch Gartenkräuter. Auf Grund ihrer vielfältigen Einsatzmöglichkeiten zur Ertragssteigerung werden die AMP's kommerziell als Wurzelvitalgranulat produziert und vertrieben.

Um eine Besiedlung der Pflanzen mit AMP's zu detektieren, bedarf es schneller und kostengünstiger Nachweismethoden. Hierzu wurde am Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben ein Schnelltest (Plattentest) zum Nachweis der AMP's aber auch anderer Organismen entwickelt. Mit diesem ist es uns möglich z.B.

mykorrhizierte von nicht-mykorrhizierten Pflanzen schnell und eindeutig zu unterscheiden und eine Quantifizierung des Mykorrhizierungsgrades vorzunehmen.

Der für den Nachweis von AMP etablierte und optimierte sog. „Molecular Beacon“ Plattentest beruht auf dem Prinzip der Hybridisierung zweier zueinander komplementärer Nukleotidsäurestränge. Dabei wird ein DNA-Strang, das „Fänger“-molekül oder die DNA-Sonde, mittels Biotin-Molekül an einer Streptavidin-beschichteten Mikrotiterplatte immobilisiert. Die DNA-Sonde besteht aus zwei Segmenten :

**A – der Loop:** Hier befindet sich die Sequenz, die komplementär zum nachzuweisenden Organismus ist und somit den Organismus bestimmt, der in diesem Test nachgewiesen werden soll (z.B. FR-Oligonukleotid zum Nachweis *Glomus intraradices*).

**B – der Stamm:** Dieser besteht sowohl am 5'- als auch am 3'-Ende der Sonde aus jeweils 6 Basen, wobei diese Basen komplementär zueinander sind und somit unter bestimmten Bedingungen (Temperatur, pH-Wert) miteinander hybridisieren. Erst durch das Vorhandensein von zur Loop-Sequenz komplementären Nukleinsäure-Fragmenten „bricht“ der Stamm auf und die DNA-Sonde liegt als Einzelstrang vor.

Auf Grund dieser räumlichen Änderung wird das am 5'-Ende der DNA-Sonde vorhandene DIG-Molekül aktiviert. Es kann nun zugegebene Anti-DIG-Antikörper binden. Diese Antikörper wiederum sind verbunden mit einer Phosphatase. Wird nun zum Probegemisch *p*-Nitrophenylphosphat gegeben, wird dieses Substrat vom Enzym Phosphatase verwertet und es entsteht *p*-Nitrophenol - eine Substanz mit gelber Färbung, deren Konzentration bei einer Absorption von 405nm gemessen werden kann. Diese Konzentration ist proportional zu den Bindungen komplementärer Nukleinsäure-Fragmente an die DNA-Sonden. Der Test kann somit auch zur quantitativen Bewertung genutzt werden.

Mit diesem auf einer DNA-DNA Hybridisierung basierenden Test konnte die Mykorrhizierung in verschiedenen Pflanzen wie z.B. Mais, Vetivergras, Vogelkirsche und Pappel bestimmt werden. Parallel wurde der Test auch zum Nachweis phytopathogener Viren, z.B. PVY in Kartoffeln oder BSMV in Gerste und Weizen bereits erfolgreich eingesetzt.

## HOW TO MEASURE THE IMPACT OF COVER CROPS ON AM FUNGAL POPULATIONS?

Veronika Storbeck<sup>1</sup>, Thomas Fester<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH - UFZ, Permoserstraße 15, 04318 Leipzig*

Contact: [thomas.fester@ufz.de](mailto:thomas.fester@ufz.de)

Since the cultivation of cover crops is mainly aimed at improving soil physics, chemistry and biology, the effects of such plants on AM fungal populations are an important part of the overall features of such plants. While the effect of a given plant for AMF communities is not necessarily correlated to the above-ground “responsiveness” of this plant, variability of this property on the level of individual plant varieties (to a similar extent as responsiveness) can be predicted. Data from respective measurements should therefore be of interest for plant breeders trying to establish new varieties, as well as for decision-makers in agricultural management for the selection of suitable cover crops. For establishing such measurements under greenhouse conditions, we followed two different approaches. While trying to imitate natural conditions as far as possible in the first approach, our second approach was aimed at establishing an experimental system of maximum speed. Here the effect of cover crops in supporting AM fungi for a certain time period was translated into their ability to support spatial propagation of the fungi. Experiments from the two systems indicate that the second approach considered can indeed be used to measure cover crop effects for AM fungal populations.

## **PRESENTATION OF INOCULUMPLUS**

Wipf Daniel<sup>1</sup>, Gianinazzi Silvio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UMR INRA 1088/CNRS 5184/Université de Bourgogne, Plante-Microbe-Environnement, BP 86510, 21065 Dijon Cedex, France

<sup>2</sup>UMR INRA 1088/CNRS 5184/Université de Bourgogne, Plante-Microbe-Environnement, INRA-CMSE, BP 86510, 21065 Dijon Cedex, France

Contact: [contact@inoculumplus.eu](mailto:contact@inoculumplus.eu)

INOCULUMplus is a spin off from the UMR Plant-Microbe-Environment which aims to develop arbuscular mycorrhizal inocula and associated services for their optimal use in order to promote new agricultural practices based on biotools rather than chemicals. Technologies involved: open and in vitro production of inoculants, methods of inoculation, assessment of viability and efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi, molecular probes for tracing inoculants in the field. These technological developments are associated to educational activities towards food producers and consumers ([www.inoculumplus.com](http://www.inoculumplus.com)).

INOCULUMplus is a spin off from the UMR Plant-Microbe-Environment which aims to develop arbuscular mycorrhizal inocula and associated services for their optimal use in order to promote new agricultural practices based on biotools rather than chemicals. Technologies involved: open and in vitro production of inoculants, methods of inoculation, assessment of viability and efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi, molecular probes for tracing inoculants in the field. These technological developments are associated to educational activities towards food producers and consumers ([www.inoculumplus.com](http://www.inoculumplus.com)).

## **MYKOSAT - EIN UPDATE AUS DEM OBERMENZINGER GYMNASIUM**

Witt, Carsten<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dorfstr. 23, 82287 Jesenwang

Contact: [carsten.witt@obermenzinger.de](mailto:carsten.witt@obermenzinger.de)

### **Historie**

Die ehemalige Klasse 8a des Obermenzinger Gymnasiums in München hatte im Jahre 2010 am 14. Focus Schülerwettbewerb teilgenommen. Das eingereichte Thema lautete *Mykorrhiza – Geheimnis fruchtbarer Böden*.

*With support from the Biology Department and the GeoBio-Center –Organic Biology: Mycology of the Ludwig-Maximilians-University of Munich (Prof. Dr. Reinhard Agerer) the Obermenzinger students demonstrated that inoculation of radix with spores of soil fungi stimulates the growth of plants, even if they are stressed due to a lack of water or minerals.*

Von anfangs etwa 1.400 teilnehmenden Schulen erreichte das Obermenzinger Gymnasium die letzte Stufe und gehörte zu den 16 Schulen, die zur Endausscheidung nach Berlin eingeladen wurden. Die Jury hat der *Mykorrhiza Klasse* den Sonderpreis für Nachhaltigkeit und Ernährung sowie den 4. Platz in der Gesamtbewertung zuerkannt.

Bei der Vorstellung des Projektes im Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV, Referat L2) wurde die Verbindung zur Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft hergestellt und damit die Teilnahme an der Mykorrhiza Tagung 2010 in Halle begründet. Dort wurde die Fortführung des Mykorrhiza Projektes als praktische Anwendung unter dem Titel *MykoSAT (Rural Development in Semi Arid Tropics driven by Mykorrhiza)\** vorgestellt. In Zusammenarbeit mit URBIS Foundation wurden Versuche auf deren Pilotfarm in Zentraltogo durchgeführt.

Weitere praktische Anwendungen sind mit BIONADE im Gespräch, um deren Holunderplantagen mit Mykorrhiza gegen Schädlingsbefall resistenter zu machen. Im Kreis Fürstentfeldbruck wurden im Rahmen eines Vergleichsversuches einige Bäume einer Obstplantagenneuanlage, 1.100 Bäume, mit Mykorrhizasubstrat inokuliert.

## LANDWIRTSCHAFTLICHES PROJEKT IN ANGOLA

Das Obermenzinger Gymnasium führt mit 11 Partnerschulen aus europäischen Ländern das von der EU geförderte Projekt *EUSOLA (European Solidarity in Action)* durch. Hierfür wurde die Unterstützung des Berufs- und Kompetenzzentrums in Njambasana/ Angola ausgewählt. Gemäß des MykoSAT Konzeptes wird ein Versuchs- und Pilotgarten angelegt. Mit dem Garten soll demonstriert werden, dass die Bewohner dieses wüstenähnlichen Gebietes sich selbst ernähren und energetisch versorgen können.

Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) fördert im Rahmen der Strategie der Bundesregierung zur Internationalisierung von Wissenschaft und Forschung Mobilitätsmaßnahmen zur Anbahnung von wissensbasierten Partnerschaften für nachhaltige Lösungen mit Subsahara-Afrika. Über dieses Programm möchten wir Projektaufenthalte in Angola finanzieren. Schulen sind nicht antragsberechtigt. Deshalb suchen wir Partner aus dem Wissenschaftsbereich, die als Projektträger in Kooperation mit dem Obermenzinger Gymnasium MykoSAT als Forschungsthema aufgreifen wollen.

München, den 21.11.2011

### Anhang zu Abstract ID 1734

Witt, Carsten<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Dorfstr. 23, 82287 Jesenwang*

Contact: [carsten.witt@obermenzinger.de](mailto:carsten.witt@obermenzinger.de)

### Anhang zu: MykoSAT – ein Update aus dem Obermenzinger Gymnasium

*MykoSAT* is as successor of the Mycorrhiza project a non-profit, non-political organization, which is open to individuals, schools, research institutes, business entities and organizations. It will be incorporated as a foundation.

### Intention

The knowledge gained about mycorrhiza is to be applied under real conditions. *MykoSAT* intends to cooperate with international organizations, which already are engaged in countries of the semi arid tropics. Covering 6.5 million square kilometers of land in 55 countries, the semi-arid tropics has a population of over 2 billion, 644 million of whom are among the poorest of the poor. *MykoSAT* and its partners strive to empower these people to overcome poverty, hunger and a degraded environment through better agriculture.

### Objective

Rural communities (village, small town, districts) in semi arid tropics areas will be chosen as cooperation partners. The precondition for starting a cooperation with *MykoSAT* is a *Memorandum of Understanding (MoU)*, which fixes the will to cooperate in good faith, provides for the formation of a co-operative, the establishment of a school, the development of local agricultural projects driven by mycorrhiza (starting with planting of hedges of *jatropha curcas* as protection against cattle, wind and erosion as a source of energy crop), and procurement of renewable energy systems.

A stand-alone status for each rural community is a target of the MykoSAT projects.



## **AK PHYTOMEDIZIN IN DEN TROPEN UND SUBTROPEN, 07.10.2011**

Integriert in den:

***Tropentag 2011***

***Development on the margin***

**October 5 - 7, 2011, University of Bonn, Bonn, Germany**

(<http://www.tropentag.de/2011/proceedings/proceedings.pdf>)

# Crop biotic stresses (DPG session)

---

|  |            |
|--|------------|
| <b>Oral Presentations</b>  | <b>536</b> |
| SIMONE KATHRIN KRIESEMER, KATINKA WEINBERGER, SRINIVASAN RAMASAMY:<br><b>At the Edge of Farmers' Health? Pesticide Use in Intensive Vegetable Production in Three Indian States</b>  | 536        |
| BERNA VAN WENDEL DE JOODE, DOUGLAS BARRAZA, CLEMENS RUEPERT, ANA MARÍA MORA, LEONEL CÓRDOBA, CATHARINA WESSELING, DONNA MERGLER, CHRISTIAN H. LINDH:<br><b>Indigenous Children's Chlorpyrifos Exposure in Banana and Plantain Hamlets in Talamanca, Costa Rica</b>   | 537        |
| MARC COTTER, RENZOANDRE DE LA PENNA LAVANDER, JOACHIM SAUERBORN:<br><b>Predicting the Potential Future Geographic Distribution of <i>Striga</i> under Climate and Land Use Change</b>  | 538        |
| MUHAMMAD FARHAN SAEED, CHRISTIAN BRUNS, ANDREAS. F. BUTZ, MARIA RENATE FINCKH:<br><b>Effect of Different Biofumigant Brassicas and Mixed Cropping of Pea and Oat on their Growth and Yield</b>   | 539        |
| JUDITH ZIMMERMANN, BENINWECK NDAMBI, GEORG CADISCH, FRANK RASCHE:<br><b>A Molecular Detection Tool for the Biocontrol Agent <i>Fusarium oxysporum</i> F.sp. <i>strigae</i>, a Putative Mycoherbicide for <i>Striga hermonthica</i>, in Soil</b>  | 540        |
| MUNA SULTAN, DESSIE SALILEW WONDIM, DAWIT TESFAYE, KARL SCHELLANDER, ABD EL NASER EL ASHRY, FLORIAN M. W. GRUNDLER, HEINZ-WILHELM DEHNE, ULRIKE STEINER:<br><b>Microarray Analysis of Gene Expression Induced by <i>Bacillus subtilis</i> in Tomato Leaves infected with <i>Phytophthora infestans</i></b> | 541        |
| <b>Posters</b>   | <b>542</b> |
| PAMELLA AKOTH OGADA, HANS-MICHAEL POEHLING, EDGAR MAISS:<br><b>The Principle of Vector Competence of Western Flower Thrips (<i>Frankliniella occidentalis</i>) in the Transmission of Tomato Spotted Wilt Virus</b>  | 542        |

|   |     |
|---|-----|
| PATCHARIN KRUTMUANG:<br><b>Climate Change Effect on Insect Pest: Brown Plant Hopper and Pest Management in Thailand</b>   | 543 |
| SHREE RAM PARIYAR, AMER A DABABAT, JULIE M. NICOL, RICHARD A. SIKORA, ALEXANDER SCHOUTEN:<br><b>Effect of Fungicide Seed Treatment on Control of Cereal Cyst Nematode <i>Heterodera filipjevi</i> on Wheat with Different Levels of Genetic Resistance</b>  | 544 |
| THI THANH XUAN NGUYEN:<br><b>Symptoms of <i>Fusarium proliferatum</i> on Maize Leaves</b>   | 545 |
| OMAR A. A. SIDAHMED, AWAD KHALAFALL TAHA, GASIM A. HASAN:<br><b>Effect of Soil Type and Moisture on some Biological Aspects of <i>Bactrocera invadens</i></b>   | 546 |
| LEONARD KIIRIKA, FRANK COLDITZ, HANS-PETER BRAUN:<br><b>The Role of Plant Defense Proteins During Early Symbiotic and Pathogenic Infection in Model Legume <i>Medicago truncatula</i></b>   | 547 |
| ADENIR VIEIRA TEODORO, ADRIANO SOARES RÊGO, AMANDA CAROLINA BORGES DA SILVA:<br><b>Relative Contribution of Environmental Factors to the Population Dynamics of the Cassava Green Mite</b>  | 548 |
| VIKTORIA KOLBE, LAURA GOTTSCHALK, HEIDRUN MEYER, M. IMDADUL HOQUE, RAKHA HARI SARKER, SALIM KHAN, HANNY TANTAU, HANS-PETER MÜHLBACH, MIHIR LAL SAHA, SHEIKH SHAMIMUL ALAM:<br><b>Characterisation of Novel Bacteria of the Genus <i>Pseudomonas</i> from Dieback affected <i>Dalbergia sissoo</i> in Bangladesh</b> | 549 |
| JOHANNA GYSIN, URS SCHEIDEGGER:<br><b>Control of <i>Phytophthora palmivora</i> in Organic Cocoa in Southern Vietnam</b>   | 550 |
| EMMANUEL OMOGO OGAH, ADEBAYO A. OMOLOYE, FRANCIS E. NWILENE:<br><b>Assessing the Impact of New Rice for Africa (NERICA) in the Management of African Rice Gall Midge (<i>Orseolia oryzivora</i>, Harris and Gagné) in Nigeria</b>   | 551 |
| MUHAMMAD FARHAN SAEED, CHRISTIAN BRUNS, HARALD SCHMIDT, MARIA RENATE FINCKH:<br><b>Seed-borne Pathogens Associated with Organic Pea (<i>Pisum sativum</i> L.) and Faba Bean (<i>Vicia faba</i> L.)</b>  | 552 |
| OLUSOLA LADOKUN, ADEKUNLE ADEJUWON:<br><b>Amylase from <i>Aspergillus fumigatus</i> Associated with Deterioration of Rice (<i>Oryza sativa</i>)</b>   | 553 |

|   |     |
|---|-----|
| ALFONSO MARTINUZ, ROY DONALD MENJIVAR, RICHARD A. SIKORA:<br><b>Treating Plants with a Cocktail of Beneficial Microorganisms: Implications for the Biological Management of Sucking Insects</b>   | 554 |
| JULIET AKELLO, ADENIRIN CHABI-OLAYE, RICHARD A. SIKORA:<br><b>Seed Priming with Fungal Endophytes: A New Strategy to Minimize Leafminer Damage in Leguminous Crops</b>  | 555 |
| SIRIRAT MANKUNG, PATCHARIN KRUTMUANG, PICHAI KONGPITAK:<br><b>Laboratory Bioassays of Entomopathogenic Fungi <i>Ascospaera apis</i> against Larvae of Fire Ants (Hymenoptera: Formicidae)</b>   | 556 |
| ABDALLA KURMUT, MOHAMED KHEIR, HALA ELAMEIN:<br><b>Evaluation of some Promising Wheat Lines for their Resistance to Prevailing Rust Races in Sudan</b>  | 557 |
| LAZGEEN ASSAF, FEYROZ RAMADAN HASSAN, GEHAN YOUNIS:<br><b>Effect of the Entomopathogenic Fungus <i>Paceilomyces farinosus</i> on the Reproductive Potential of Poplar Leaf Beetle <i>Melasoma populi</i></b>  | 558 |
| SARA KEHAIL, HAYDER ABDELGADER, OLAF ZIMMERMANN:<br><b>The Efficiency of Using Different <i>Trichogramma</i> Species on the African Bollworm (<i>Helicoverpa armigera</i>) Eggs</b>   | 559 |
| TAG ELSIR ELAMIN ABDALLA:<br><b>Establishment and Parasitism Efficiency of <i>Trichogramma principium</i> on <i>Helicoverpa armigera</i> Attacking four Sudanese Cotton Cultivars</b>   | 560 |
| MICHAEL HAGEMANN, PAOLA A. ALVARADO PRICE, ROY DONALD MENJIVAR, RICHARD A. SIKORA:<br><b>Systemical Effects of Salicylic Acid, Methyl Jasmonate and a Mutualistic Fungal Entophyte on Homoptera Pests in the Phyllosphere of Summer Squash</b>                    | 561 |
| SUCHADA VEARASILP, JITRAMAS NAKA, SA-NGUANSAK THANAPORNPOONPONG, DIETER VON HÖRSTEN, WOLFGANG LÜCKE:<br><b>Influence of Milled Rice Packing Methods on Radio Frequency Heat Distribution in Controlling <i>Aspergillus flavus</i> and their Cooking Qualities</b> | 562 |
| MATTHIAS DONNER, PAULO DOS SANTOS FARIA LICHTENBERG, THEMIS J. MICHAILIDES:<br><b>Physiological Almond Development Associated with Preharvest Aflatoxin Contamination</b>   | 563 |

## At the Edge of Farmers' Health? Pesticide Use in Intensive Vegetable Production in Three Indian States

SIMONE KATHRIN KRIESEMER<sup>1</sup>, KATINKA WEINBERGER<sup>2</sup>,  
SRINIVASAN RAMASAMY<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AVRDC - The World Vegetable Center, Taiwan

<sup>2</sup>Centre for Alleviation of Poverty through Sustainable Agriculture (CAPSA), Indonesia

Risks related to the use of pesticides are known and pose a threat to the natural resource base and to the health of users. This study examined pesticide poisoning among 290 cabbage and cauliflower growers in three Indian states to identify factors that influence the occurrence of poisoning incidents. Multinomial logistic regression models were developed to reveal the factors influencing the number of signs and symptoms caused by pesticide exposure and those influencing the spillage of pesticides on the body. About 23 % of respondents reported one to three signs and symptoms of mild to moderate poisoning, and 44 % experienced four to twelve signs and symptoms. Forty percent used extremely hazardous and highly toxic pesticides, 28 % indicated applying more than the recommended dose, and almost 70 % spilled pesticide on their bodies. The multinomial logistic regression models had good fits and were able to correctly predict between 61 % and 77 % of the cases. Results showed that 'farmers' risk awareness', 'location', and 'pesticide spillage' significantly influenced the number of signs and symptoms experienced. 'Risk awareness' was found to be a result of previous poisoning experience rather than a precondition for careful handling. Excluding the variables 'location' and 'pesticide spillage' revealed the significance of the 'application frequency', 'farmers' risk awareness', and 'whether farmers applied pesticides on their own'. 'Whether farmers applied pesticides on their own or not', 'location' and 'application frequency' had a significant influence on pesticide spillage. It is alarming that farmers seem to develop increased risk awareness through trial and error, and often experience negative side effects from this learning method. Any extension approach should therefore emphasise information on negative health effects to increase farmers' risk awareness and note the need to follow correct dosages and appropriate application intervals. The latter two points deserve the attention of research from an ecological and economic point of view to quantify the damage caused to the environment as well as the loss small-scale farmers incur annually through the overuse of pesticides in vegetable production in India.

**Keywords:** *Brassica*, multinomial logistic regression, pesticide hazard, poisoning



## Indigenous Children's Chlorpyrifos Exposure in Banana and Plantain Hamlets in Talamanca, Costa Rica

BERNA VAN WENDEL DE JOODE<sup>1</sup>, DOUGLAS BARRAZA<sup>1</sup>, CLEMENS RUEPERT<sup>1</sup>, ANA MARÍA MORA<sup>1,2</sup>, LEONEL CÓRDOBA<sup>1</sup>, CATHARINA WESSELING<sup>1</sup>, DONNA MERGLER<sup>2</sup>, CHRISTIAN H. LINDH<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*National University, Central American Institute for Studies on Toxic Substances, Costa Rica*

<sup>2</sup>*University of California, Berkeley, School of Public Health, United States of America*

<sup>3</sup>*Lund University Hospital, Dept. of Occupational and Environmental Medicine, Sweden*

In Costa Rica, chlorpyrifos-treated bags are used to protect banana and plantain fruits from insects and to fulfil product standards.

To evaluate children's exposure to chlorpyrifos in hamlets situated nearby banana and plantain farms in Talamanca, Costa Rica.

The study was performed in three hamlets: in two, chlorpyrifos-treated bags were used in surrounding banana and plantain plantations whereas in the third, an organic village mostly not. In total, 140 children donated a urine sample of which forty on more than one occasion (n=207). TCPy levels were measured as a biomarker for chlorpyrifos exposure. Also environmental samples were taken.

Children from the banana and plantain hamlets had higher TCPy concentrations in urine than children from the organic hamlet, GM=2.6; 2.2 and 1.3  $\mu\text{g/g}$ , respectively. In the plantain hamlet boys had higher concentrations than girls: GM=2.9 versus 1.5  $\mu\text{g/g}$  creatinine, whereas in the other villages levels were similar for both sexes. Children from the banana village were more homogeneously exposed than children from the plantain hamlet. In the banana and plantain hamlets, chlorpyrifos was detected in several environmental media, including children's (n=12) hand and foot wash samples. Median estimated values of the Absorbed Daily Dose of children from the banana and plantain village were about five times above the chronic US-EPA established reference doses (RfD). Respectively, 2.5 and 10 % of these children had estimated values above the acute RfD.

Children living nearby plantations that use chlorpyrifos-treated bags are being exposed and at risk for overexposure. Measures are required to reduce this exposure.

**Keywords:** Banana, biomarkers, children, chlorpyrifos, developing countries, indigenous, plantain, plantations, TCP, urine

## Predicting the Potential Future Geographic Distribution of *Striga* under Climate and Land Use Change

MARC COTTER<sup>1</sup>, RENZOANDRE DE LA PENA LAVANDER<sup>2</sup>,  
JOACHIM SAUERBORN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Hohenheim, Dept. of Plant Production and Agroecology in the Tropics and Subtropics, Germany

<sup>2</sup>Georg-August-Universität Göttingen, Tropical and International Forestry (TIF), Germany

As parasitic weeds of the genus *Striga* (Orobanchaceae) are a major constraint to agriculture of the semi-arid regions in sub-Saharan Africa, *Striga*'s actual and future distribution needs to be estimated urgently, in order to better and more efficiently target available *Striga* management strategies. Using innovative GIS-based modelling complemented by greenhouse and field studies, our research aims to better understand the present geographic distribution of *Striga* species and to predict potential future expansion areas of these dangerous weeds. Parameters determining the presence or absence of *Striga* were analysed and available data complemented by new studies on *Striga* ecology and seed bank dynamics gained in green house and field studies at the University of Hohenheim and ICRISAT, Mali.

Based on the present geographic distribution and the factors affecting it, different climate and land use projections have been applied to indicate areas that will be (come) susceptible to *Striga* in future. Climate envelope models have been used to identify areas where climate conditions are expected to change into suitable ranges for the spreading of *Striga* subpopulations from different regions of Africa.

The outputs of this approach will directly support and target crop improvement research and variety (maize, sorghum, pearl millet) dissemination in *Striga*-affected areas, and provide important decision support tools for technology development and integrated *Striga* management strategies.

The aim of our work presented here is to provide the necessary information to fill in the current knowledge gaps in *Striga* research considering its geographic distribution and the effects of climate change on this distribution patterns.

**Keywords:** Climate change, parasitic weeds, potential distribution, *Striga*

## Effect of Different Biofumigant Brassicas and Mixed Cropping of Pea and Oat on their Growth and Yield

MUHAMMAD FARHAN SAEED, CHRISTIAN BRUNS, ANDREAS. F. BUTZ,  
MARIA RENATE FINCKH

*University of Kassel, Ecological Plant Protection, Germany*

A field experiment was set in April 2010 to investigate the effect of deep and shallow ploughed fields mulched with biofumigant brassica in the previous fall. The brassica differed in their levels of glucosinolate/isothiocyanate contents low (*Sinapis alba*), medium (*Raphanus sativus* conv. *oleiformis*) and high (*Brassica juncea*). These were grown from August to October 2009 as cover crops. Sole and mix cropping of pea and oat were studied to study the potential of the brassica crops on weeds, pea diseases and the mixture effects on nitrogen fixation, growth and yield.

In single pea cultures deep ploughed plots had less weeds as compared to shallow ploughed plots. In sole culture of oats and mixed cultures weeds were reduced. Sole pea crop had higher yield in deep ploughed field. In mixed crops pea seed yields were higher than the fifty percent of the sole pea cultures but oat yields were lower. Yields of peas grown in *S. alba* and *R. sativus* mulched plots in deep ploughed fields were somewhat higher. Disease severity data indicates that the brassicas did not differ in their effect on pea root disease. Fungi were identified from infected pea roots among all the *Phoma medicaginis* was dominant followed by *Fusarium* spp., *Mycosphaerella pinodes* and *Ascochyta pisi*. Except *P. medicaginis* there were relatively less pathogens when peas were intercropped with oat than in pea sole crops. At the end of the season plots with single pea had higher nitrogen, followed by mixes of pea and oat.

These initial results indicate that mixed cultures had profitable biomass, yield and nitrogen productions with less weed infestation. The biofumigation treatments had no differential effect on the parameters assessed.

**Keywords:** Biofumigation, biomass, disease severity, plough, sole and mix cropping, weed, yield

## A Molecular Detection Tool for the Biocontrol Agent *Fusarium oxysporum* F.sp. *strigae*, a Putative Mycoherbicide for *Striga hermonthica*, in Soil

JUDITH ZIMMERMANN, BENINWECK NDAMBI, GEORG CADISCH, FRANK  
RASCHE

*University of Hohenheim, Dept. of Plant Production and Agroecology in the Tropics  
and Subtropics, Germany*

The parasitic weed *Striga hermonthica* is one of the major constraints to cereal production in Sub-Saharan Africa affecting the livelihood of about 100 million people. *S. hermonthica* significantly affects crop yield of maize, and sorghum, sometimes leading to 100 % crop loss in the field. Biocontrol agents (BCA) of *S. hermonthica* such as the putative, soil-borne mycoherbicide, *Fusarium oxysporum* f.sp. *strigae* (acronym: Foxy 2) have been shown to effectively control *S. hermonthica*. For its application in the field, it is necessary to assess persistence and survival of Foxy 2 in the soil to evaluate if the target BCA is still useful in the preceding growing season and if it potentially induces undesired negative side-effects on the natural, sorghum-associated soil microbial community. As a prerequisite for this required field evaluation, a reliable detection tool needs to be developed to monitor the fate of Foxy 2 in the field. Cultivation-independent, nucleic acid-based molecular methods such as quantitative polymerase chain reaction (qPCR) may be appropriate as this technique has been proven as superior in detecting and monitoring microbes in soils as compared to other conventional, cultivation-dependent procedures such as estimating colony forming units (cfu). In the presented study, a laboratory experiment was performed in which two contrasting tropical soils were inoculated with  $4.56 \times 10^6$  microconidia per gram fresh soil and incubated at 28°C for 16 weeks. To assay a potential competitive effect of the natural soil microbial community, one proportion of each soil was sterilized. At defined time intervals, soil samples were obtained from which DNA for qPCR as well as cfu were isolated to determine the fate of Foxy 2 in the soils. Our results showed that Foxy 2 was able to survive and propagate over time in the soils; however, abundance of Foxy 2 was clearly reduced in the unsterilized soils showing a potential competition effect of natural microorganisms. In conclusion, the used molecular detection tool was suited to study, complementary to cultivation-dependent cfu counting, the fate of Foxy 2 under controlled conditions, but may further tested in the presence of sorghum and *S. hermonthica* under natural field conditions.

**Keywords:** Biological control agents, *Fusarium oxysporum* f.sp. *strigae*, *Striga hermonthica*

---

**Contact Address:** Frank Rasche, University of Hohenheim, Dept. of Plant Production and Agroecology in the Tropics and Subtropics, Stuttgart, Germany, e-mail: frank.rasche@uni-hohenheim.de

## Microarray Analysis of Gene Expression Induced by *Bacillus subtilis* in Tomato Leaves infected with *Phytophthora infestans*

MUNA SULTAN<sup>1</sup>, DESSIE SALILEW WONDIM<sup>2</sup>, DAWIT TESFAYE<sup>2</sup>, KARL SCHELLANDER<sup>2</sup>, ABD EL NASER EL ASHRY<sup>1</sup>, FLORIAN M. W. GRUNDLER<sup>1</sup>, HEINZ-WILHELM DEHNE<sup>1</sup>, ULRIKE STEINER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Bonn, Inst. Crop Sci. and Res. Conserv. (INRES), Germany

<sup>2</sup>University of Bonn, Inst. of Animal Science, Germany

*Bacillus subtilis*, the re-isolated cells from the biocontrol agent FZB 24® (Biotechnik GmbH, Berlin, Germany) and their metabolites harvested after 72 hours of culturing, has shown promising results in biological control of late blight caused by *Phytophthora infestans*. To gain a better understanding of the mode of protection, the effect of the bacteria and their metabolites on differential expression of tomato genes in leaf tissue infected with *Phytophthora infestans* were evaluated. Tomato plants were inoculated with the *P. infestans* 24 hours after applying the microbial cells or metabolites on the lower leaf pair. Total RNA was extracted from the upper leaves 12 hours after inoculation. The plants were divided into two groups healthy and diseased plants, which were untreated as well as treated with the microbial cells or metabolites, respectively. Extracted RNA was used for the microarray analysis and the validation of the array results using quantitative real-time PCR. For the healthy plants, the data created from the cell and the metabolite-treated plants showed a minority number of re-regulated genes of 34 and 8, respectively, when compared with the healthy untreated ones. Results from microarray analysis showed that the pathogen changed the expression level of a substantial number of 682 genes from over 9200 genes on the tomato genome array when compared to the healthy plants. Application of cells and metabolites altered the expression levels of 656 and 345 genes, respectively. From those 489 and 299 genes are common between the two comparisons, which might be responsible to the infection. Interestingly, the comparison between cell or metabolite-treated and untreated diseased plants show 26 and 79 differentially expressed genes, respectively. Several genes were identified as up-regulated, including genes involved in plant defense responses, signal transduction, transcriptional regulators, and stress response. Down-regulated genes displayed identity with genes involved in cell regulation process. Differential expression of selected genes was validated by quantitative real-time PCR. Microarray analysis of gene expression showed a stimulation of systemic defense response in tomato plants induced by *B. subtilis* cells and its metabolites against *P. infestans*.

**Keywords:** *Bacillus subtilis*, gene expression, microarray, *Phytophthora infestans*, plant resistance, systemic protection, tomato

---

**Contact Address:** Muna Sultan, University of Bonn, Inst. Crop Sci. and Res. Conserv. (INRES), Nussallee 9, 53115 Bonn, Germany, e-mail: muna\_soltan@yahoo.com



## The Principle of Vector Competence of Western Flower Thrips (*Frankliniella occidentali*) in the Transmission of Tomato Spotted Wilt Virus

PAMELLA AKOTH OGADA, HANS-MICHAEL POEHLING, EDGAR MAISS

*Leibniz Universität Hannover, Inst. Plant Diseases and Plant Protection, Entomology, Germany*

The complex and specific interplay between thrips, tospovirus and their shared host plant, has led to outbreaks of crop disease epidemics of economic and social importance. The exact details of the processes promoting the vector-virus-host interaction and their coordinated evolution, increases our understanding of the general principles involved in pathogen transmission by insects, which can then be exploited to develop sustainable strategies for

controlling the spread of the virus through plant populations. In this study, the model systems *Frankliniella occidentalis* and Tomato spotted wilt virus (TSWV) were used to examine more in detail the influence of TSWV on the *F. occidentalis* vector competence, as well as the contribution of *F. occidentalis* behaviour pattern and sex biasness in promoting vector competence.

Thrips were reared on either infected or uninfected *Capsicum annum* leaflet throughout their larval stages, and later transferred individually on healthy leaf disks for further experiments. The exposure to TSWV improved the fitness of the WFT in regard to longevity and survival, with mean longevity being higher in exposed thrips compared to unexposed. 15-day mortality test showed low rates of mortality in exposed as opposed to unexposed thrips. The results also showed a reduction in mean daily fecundity as well as lifetime fecundity in the exposed

compared to unexposed on uninfected leaf disks. Choice test towards infected and uninfected host plants showed significantly higher preference of adult WFT to the infected plant over the uninfected. This suggests that the nutritional situation for the developing larvae would be better on the infected plants and is a determinant for the fitness of the adults. The ongoing and future work is envisaged to give a clear understanding into the plant-vector-virus interaction, which is essential for accurate diagnosis and control of the TSWV epidemic, as well as the control of *F. occidentalis* as crop pest.

**Keywords:** *Capsicum annum*, *Frankliniella occidentalis*, thrips, tomato spotted, tospovirus, vector competence, wilt virus (TSWV)

---

**Contact Address:** Pamella Akoth Ogada, Leibniz Universität Hannover, Inst. Plant Diseases and Plant Protection, Entomology, Dorotheen Straße 7 Zim 617, 30419 Hannover, Germany, e-mail: pamogada@yahoo.com

## Climate Change Effect on Insect Pest: Brown Plant Hopper and Pest Management in Thailand

PATCHARIN KRUTMUANG

*Chiang Mai University, Dept. of Entomology and Plant Pathology, Thailand*

Rice is a major food security crop in Thailand as well as in other countries of the Asian region. Thailand is the world's largest exporter of rice; in 2010 9.03 million tons of rice were exported. The most produced strain of rice in Thailand is jasmine rice, which is a higher quality type of rice. However, jasmine has a significantly lower yield than other types of rice, but it normally fetches more than double the price of other strains on the global market. Insect pests are a serious problem in rice production and decrease rice yields. Outbreaks of pests are due to a number of reasons and is symptomatic for unsustainable agricultural practices. Amongst the unsustainable practices are the excessive and indiscriminate pesticide applications that impact upon beneficial organisms through ecological disruptions and resistance of the target pests to the applied pesticide. Furthermore, global warming may affect crop damage caused by insect pest, by changing the degree of synchronisation between pest occurrence and the susceptible stage of crops. This is the case of the brown plant hopper (BPH), *Nilaparvata lugens* Stal is a serious insect pest, especially in tropical Asia on continuously cultivated rice. Both nymphs and adults of BPH damage rice plants through extensive feeding on them. BPH also transmits viruses such as rice ragged stunt (RRSV) and rice grassy stunt (RGSV). Thus, increased levels of BPH occasionally accompany substantial losses of rice crops through virus diseases. There is now clear evidence of resistance development to some of the recently introduced pesticides such as imidacloprid and other groups of chemical use in rice field. Reducing the vulnerability of the rice crop to pest outbreaks entails a holistic management approach and understanding of the key sciences, *viz.* ecology and toxicology. This paper will discuss, how climate change could impact insect pest management practices including brown planthopper management in Thailand.

**Keywords:** Brown planthopper, global warming, integrated pest management (IPM), rice pest

## Effect of Fungicide Seed Treatment on Control of Cereal Cyst Nematode *Heterodera filipjevi* on Wheat with Different Levels of Genetic Resistance

SHREE RAM PARIYAR<sup>1</sup>, AMER A DABABAT<sup>2</sup>, JULIE M. NICOL<sup>2</sup>, RICHARD A. SIKORA<sup>1</sup>, ALEXANDER SCHOUTEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Bonn, Inst. Crop Sci. and Res. Conserv. (INRES), Germany

<sup>2</sup>International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT), Turkey

This study was carried out to investigate the influence of a fungicide FO EZA 14510 used as a seed coating to determine its efficacy in reducing infection of the sedentary cereal cyst nematode *Heterodera filipjevi* and possible interactions with wheat germplasm having different genetic sources of resistance under controlled condition in ATEAM, Eskisehir, Turkey. The three different susceptible S wheat germplasm (Seri, Bezostaya & Gerek) and three moderately resistant MR wheat germplasm (F130L 1.12/ATTAILA, Katea & Sonmez) were tested at increasing fungicide concentrations of 25 g ai/100 kg seed, 50 g ai/100 kg and 100 g ai/100 kg seeds. The fungicide was applied as standard seed coating used to control damping-off fungi. The MR germplasm gave a significant reduction in nematode reproduction in terms of *H. filipjevi* cyst number per root system when compared to the susceptible S germplasms. A significant reduction in cyst number was observed on the S germplasms Seri ( $3.8 \pm 1.5$ ), Gerek ( $5.4 \pm 2.6$ ) and Bezostaya ( $6.4 \pm 2.0$ ) when the seed was treated with the fungicide. The plant growth parameters were not significantly increased by the seed treatment when compare with control as measured by plant height, shoot weight, root length and root weight. However, the greatest increase in shoot height was detected on the fungicide treated and moderately resistant germplasm. No phytotoxicity symptoms were observed on the plant at any of the fungicide concentrations used. The results demonstrated the presence of an interaction between fungicide and specific types of germplasm and fungicide seems to increase plant resistance to *H. filipjevi* infection by mechanisms still to be identified.

**Keywords:** Germplasm, pesticide interactions, seed treatment, tolerance

## Symptoms of *Fusarium proliferatum* on Maize Leaves

THI THANH XUAN NGUYEN

University of Bonn, Inst. Crop Sci. and Res. Conserv. (INRES) - Phytomedicine, Germany

Maize (*Zea mays*) is an important food crop and a well-known host of *Fusarium* species. Some of these including *F. proliferatum* are capable of producing large quantities of mycotoxins that are harmful to humans. Different *Fusarium* species have been isolated from maize showing typical rot symptoms at ears or stems. However, no report is available on the symptom development of *Fusarium* spp. on maize leaves, especially for *F. proliferatum* producing fumonisin. Maize plants, cultivar Tassilo, were grown under two different light intensities and durations of 5800–6000 lux, 9 hours per day and 18000–20000 lux, 15 hours per day under climate chamber condition. The plants were inoculated by hand spraying the leaves at BBCH 13–15. Data on disease incidence (*i.e.* the proportion of symptomatic plants within a sampling unit) and re-isolation frequency (*i.e.* the proportion of the leaf tissues colonized by *F. proliferatum*) were collected. For microbial initiation, symptomatic and asymptomatic leaves were incubated on CZID media. Disease incidence of *F. proliferatum* was 40%. Re-isolation frequency from leaves with symptoms was higher than from asymptomatic leaves, with a colonisation frequency of 100% and 63%, respectively. Heavy symptoms of *F. proliferatum* appeared on young leaves emerging from the whorl from 7 days after inoculation. Holes were present in the emerging leaves or folded leaves were rotten. Mild symptoms including white- or brown- round or oval spots were observed on upper leaves. On old leaves, the symptoms appeared later and less severity with brown or yellow lesion ranging from 0.5 to 2.5 cm in length and mostly at the leaf edges. The same symptoms of *F. proliferatum* were also detected in the green house during winter with low light conditions. This indicates that the symptoms of *F. proliferatum* appear on maize leaves under less ideal condition of plant growth.

**Keywords:** *Fusarium proliferatum*, maize leaves, symptoms

## Effect of Soil Type and Moisture on some Biological Aspects of *Bactrocera invadens*

OMAR A. A. SIDAHMED<sup>1</sup>, AWAD KHALAFALL TAHA<sup>2</sup>, GASIM A. HASAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Omdurman Islamic University, Dept. of Plant Protection, Sudan

<sup>2</sup>Sudan University of Science and Technology, Dept. of Plant Protection, Sudan

The invasive fruit fly (*Bactrocera invadens*) was found in Sudan in 2004 as unknown species introduced into the country. In 2005, the pest was recorded and identified in Sri Lanka and a number of African countries. Recently, *B. invadens* has made a rapid expansion across several states in Sudan. Most of the fruit fly larvae pupate in the soil, but the influence of soil type and soil moisture on *B. invadens* pupal mortality is not known. Soil moisture is considered a major pupal mortality factor on other tropical tephritid species. In Sudan, all orchards are generally irrigated by surface irrigation system. Surface irrigation cause a high humidity in the orchards soil and consume large quantity of water. A laboratory trial was conducted to test the effects of soil type and soil moisture on the pupal survival through a factorial experiment, using three soil types (clay, sand and silt) and five levels of water (0, 5, 10, 15, and 20 ml). Each treatment was replicated three times. Each replicate (a plate, 9 cm in diameter) contain 50 g of soil. Twenty late, third-instars' larvae (reared from guava fruits) were added to each replicate. The three soil types were analysed to determine the pH, EC, soil moisture and organic content, in addition to the classification of the soil type. Also, percentages of emerged and non emerged adults, deformed larvae and that of males and females were calculated. The results revealed highly significant differences between soil types and soil moisture. The results showed that, the soil moisture is an affecting factor on *B. invadens*. The results of this study also indicate that, the surface irrigation applied in orchards is an important factor determining the population density of the fruit fly during the season. The study suggested that, a change of this system of irrigation would be of value in controlling the invasive fruit fly. More investigations are needed on other factors affecting the fruit fly population.

**Keywords:** *Bactrocera invadens*, moisture, soil type, Sudan



## The Role of Plant Defense Proteins During Early Symbiotic and Pathogenic Infection in Model Legume *Medicago truncatula*

LEONARD KIIRIKA, FRANK COLDITZ, HANS-PETER BRAUN

*Leibniz Universität Hannover, Institute of Plant Genetics, Germany*

Legumes are among the most economically important crop families playing a vital role in human and animal diet as excellent sources of protein, vitamins, minerals and other nutrients. Grain legumes including chickpea, pigeon pea, soybean, dry beans, etc, form an extremely essential protein source for millions of poor families in semi-arid and tropical regions of many Asian and African countries. Legumes are unique in establishing rhizobial bacteria association which allows nitrogen fixation, production of protein-rich food and hence able to grow in nitrogen starved soils. Legumes are also capable of establishing symbiotic association with arbuscular mycorrhizal fungi. However, their pathogenic interactions with oomycete root rot pathogens like *Aphanomyces euteiches* often lead to major yield losses worldwide. The infection physiology involves protein-protein interactions between the pathogen and the host plant, where the latter generates symbiotic and pathogenic specific cellular responses. Our research study focuses on the two plant response mechanisms using the model legume *Medicago truncatula*.

We characterised the early host plant response upon infection by symbiotic (*Sino rhizobium meliloti* and *Glomus intraradices*) and pathogenic (*Aphanomyces euteiches*) microorganisms in wild type and transgenic plants lines deficient of a candidate signalling protein MtRac1 involved in host plant defense and symbiosis. Phenotypic comparisons of MtRac1-deficient plant cultures with wild type plants shows significant differences indicating the role of this protein in plant growth. Our results on gene expression analysis via semi-quantitative RT-PCR show significant expression of MtRac1 in wild type plants and transformed vector control cultures upon infection but not in Rac1 deficient cultures. Furthermore, analysis on evaluation of infection profiles, proteomic analysis and mass spectrometry to identify protein patterns activated in the plant cells will confirm the role of initial defense proteins against microbial infections. These results contributes to the development of new practices for control of soil borne pathogens and provides an outlook to investigations on opportunities for disease resistance development in legumes and in plant breeding to capture possibilities of raising crop yield, nutritional quality, limited pesticide use and over all poverty alleviation.

**Keywords:** *Aphanomyces euteiches*, arbuscular mycorrhizal symbiosis, *Medicago truncatula*, plant defense proteins, *Rhizobia* bacteria symbiosis

## Relative Contribution of Environmental Factors to the Population Dynamics of the Cassava Green Mite

ADENIR VIEIRA TEODORO<sup>1</sup>, ADRIANO SOARES RÊGO<sup>2</sup>,  
AMANDA CAROLINA BORGES DA SILVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>EMBRAPA Coastal Tablelands, CPATC, Brazil

<sup>2</sup>Maranhão State University (UEMA), Graduate Programme in Agroecology, Brazil

The producing landscape of Northeast Brazil is dominated by smallholder agriculture. Slash and burn management practices are still used by local farmers to cultivate staple crops such as cassava (*Manihot esculenta*), which is attacked by a variety of pests, including the cassava green mite *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae). This pest is responsible for high yield losses in Brazil and may be kept in check by naturally occurring predatory mites of family Phytoseiidae. In addition to predatory mites, environmental factors may also contribute to regulate pest populations in the field. We evaluated the population dynamics of *M. tanajoa* and the most abundant predatory mite found in the study region, the generalist phytoseiid *Euseius ho* (Acari: Phytoseiidae), over the cultivation cycle (11 months) of cassava in four farms. In each farm, 10 cassava plants were randomly selected and 6 leaves taken monthly, totaling 60 leaves per farm per month. The number of mites per leaf was recorded and subsequently converted into number of mites per cm<sup>2</sup>. Moreover, we determined the relative contribution of biotic (abundance of *E. ho*) and abiotic (rainfall, temperature and relative humidity) environmental factors to the abundance of *M. tanajoa*. The abundance of *M. tanajoa* was high and increased whereas the abundance of *E. ho* was low and remained constant throughout the cultivation cycle of cassava. Hierarchical partitioning analyses revealed that most of the variance for the abundance of *M. tanajoa* was explained by rainfall and relative humidity followed by *E. ho* abundance and temperature. In conclusion, although the generalist predatory mite *E. ho* contributed to regulate populations of the cassava green mite the main mechanisms explaining the abundance of *M. tanajoa* were abiotic environmental factors.

**Keywords:** Biological control, ecosystem services, pest mites, predatory mite

## Characterisation of Novel Bacteria of the Genus *Pseudomonas* from Dieback affected *Dalbergia sissoo* in Bangladesh

VIKTORIA KOLBE<sup>1</sup>, LAURA GOTTSCHALK<sup>1</sup>, HEIDRUN MEYER<sup>1</sup>, M. IMDADUL HOQUE<sup>2</sup>, RAKHA HARI SARKER<sup>2</sup>, SALIM KHAN<sup>3</sup>, HANNY TANTAU<sup>1</sup>, HANS-PETER MÜHLBACH<sup>1</sup>, MIHIR LAL SAHA<sup>2</sup>, SHEIKH SHAMIMUL ALAM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Hamburg, Biocentre Klein Flottbek, Germany

<sup>2</sup>University of Dhaka, Department of Botany, Bangladesh

<sup>3</sup>Tissue Culture Section, BCSIR, Bangladesh

Dieback of sissoo (*Dalbergia sissoo* Roxb.) is a disastrous disease, which destroyed millions of trees in South Asia. This novel dieback disease is characterised by a combination of symptoms, beginning with wilting of leaves. In later stage leaves become necrotic and fall down as well as smaller twigs do, leading to increasing crown transparency. Loss of branches follows and the disease ends up in the final stage of stagheadedness, where the affected trees loose almost all parts of the canopy. Black spots with gummosis appear on the basis of the trunk and are found up to a height of three to five meters with progressing disease. Various biotic and abiotic factors have been discussed as cause of the dieback disease, but the causal agent(s) could not yet be identified unequivocally. Our recent studies are focused on the molecular detection and characterisation of bacteria of the genus *Pseudomonas*, which are found to be associated with dieback affected sissoo trees from various sites of Bangladesh, including the regions around Dhaka (Mirpur), Tangail, Sirajganj, and Bogra. The bacteria were detected in roots, bark, branches and leaves of dieback affected *Dalbergia sissoo* trees. Phylogenetic analyses based on sequences of 16S rDNA and single copy gene *gacA* revealed that the isolated bacteria represent strains of a yet unassigned species of *Pseudomonas*. To proof Koch's postulates, sissoo seedlings were inoculated via various techniques including leaf infiltration and submersing the roots of very young seedlings in suspensions of representative *Pseudomonas* isolates. The symptom development was analysed during a period of culture ranging from one week up to twelve months. To analyse whether the *Pseudomonas* isolates used for inoculation could be identified later in the inoculated plants, bacteria were re-isolated from these plants and characterised by sequencing.

**Keywords:** Bacteriosis, dieback, shisham, sissoo

## Control of *Phytophthora palmivora* in Organic Cocoa in Southern Vietnam

JOHANNA GYSIN, URS SCHEIDEGGER

*Swiss College of Agriculture (SHL), International Agriculture, Switzerland*

Worldwide, *Phytophthora palmivora* is the most important disease of cocoa, causing yield losses of 30 to 90 %. Smallholders, who produce the largest share of cocoa worldwide, often face constraints regarding access to inputs. Botanical sprays or resistant cultivars could help smallholders, because they often do not imply cash expenditures. Therefore the Eco-Cocoa programme (supported by the Swiss NGO Helvetas) in southern Vietnam worked with garlic as botanical spray and tested 83 cocoa clones available at research station level for resistance to *Phytophthora palmivora*.

When pure garlic extract was mixed with carrot agar at concentrations of 0.2 and 0.5 %, no fungal growth at all was observed after inoculation with *P. palmivora*. When the garlic extract concentration in the medium was lower, the effect was weaker, but still significant. In a field trial, cocoa seedlings were first sprayed with garlic extract diluted in water to make a 0.2 % and 0.5 % solution. 36 hours later the seedlings were inoculated with *P. palmivora*. The effect was weak; the differences between the garlic treatments and the check were not significant. However, since the trial was set up in the dry season, development of the fungus was relatively slow.

Due to the encouraging laboratory results, it is suggested to repeat the experiment under conditions closer to the field reality and to test other forms of application like: 1) As a soil drench by spraying the solution on the soil under the cocoa tree to reduce the build-up of the fungal population in the soil; 2) “Spot spray” of a highly concentrated garlic solution on the pods; 3) Mixtures of garlic extract with other botanical agents like neem extract in order to increase the efficiency of the spray.

Of the 83 cocoa clones tested in the resistance trial, 41 clones were rated as highly susceptible, 26 clones were susceptible and 11 clones were moderately susceptible. Only 5 clones received the rating “moderately resistant” and none was rated as resistant. The statistical analysis showed that the test (performed on 15 pods per clone) was not sufficiently sensitive to discern reliably between different degrees of resistance.

**Keywords:** Cocoa, garlic, *Phytophthora*, resistance to disease

## Assessing the Impact of New Rice for Africa (NERICA) in the Management of African Rice Gall Midge (*Orseolia oryzivora*, Harris and Gagné) in Nigeria

EMMANUEL OMOGO OGAH<sup>1</sup>, ADEBAYO A. OMOLOYE<sup>2</sup>, FRANCIS E. NWILENE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ebonyi State University, Dept. of Crop Production and Landscape Management, Nigeria

<sup>2</sup>University of Ibadan, Crop Protection and Environmental Biology, Nigeria

<sup>3</sup>Africa Rice Center (WARDA), Entomology, Nigeria

Rice is one of the staple food crops in Nigeria and is grown in almost all of the Nigerian ecologies. One major cause of low rice yield in Nigeria is depredation by insect pests. African rice gall midge (AfRGM) is the most serious insect pest of lowland/irrigated rice in the recent years. Host plant resistance has been used effectively in the management of related gall midge in Asia. However, screening has shown that most of the *Oryza sativa* cultivars planted in Africa, that are resistant to Asian rice gall midge are susceptible to African rice gall midge, and that *Oryza glaberrima* of African origin that are resistant to African rice gall midge are of low quality. Therefore, hybridisation in order to combine the useful traits of both rice species to resist most biotic stresses has given rise to New Rice for Africa (NERICA). The objective of this study was to evaluate the impact of NERICA in the management of AfRGM in Nigeria.

Field evaluation was conducted at two AfRGM endemic areas in Nigeria (Ogidiga Southeast Nigeria and Edozhigi Northcentral Nigeria) during two successive seasons 2009 and 2010 under rain fed conditions. Thirty rice varieties were used for the experiments: 10 *O. sativa*, 10 *O. glaberrima* and 10 NERICA lines. The fields were laid out as factorial experiments in a RCBD with three replications. Samples for AfRGM infestation were conducted at 42 and 63 days after tillering (DAT) at both locations. For each field sampling, 50 plants were randomly selected to assess the rate of damage by AfRGM (% tiller infestation). All screen house evaluations were conducted at Africa Rice Center, IITA Ibadan.

The results indicated that NERICA lines have significant impact on the management of AfRGM. This was evident for the percentage of tiller infestation reduction recorded among the NERICA lines compared to the *O. sativa* lines. The NERICA has additional advantage of higher grain yield than both *O. sativa* and *O. glaberrima*. On the bases of improved resistance to AfRGM infestation and higher grain yield, it is concluded that NERICA could enhance food security and improve livelihoods in Africa.

**Keywords:** African rice gall midge management, NERICA, rice yield



## Seed-borne Pathogens Associated with Organic Pea (*Pisum sativum* L.) and Faba Bean (*Vicia faba* L.)

MUHAMMAD FARHAN SAEED<sup>1</sup>, CHRISTIAN BRUNS<sup>1</sup>, HARALD SCHMIDT<sup>2</sup>,  
MARIA RENATE FINCKH<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Kassel, Ecological Plant Protection, Germany

<sup>2</sup>Stiftung Ökologie und Landbau, Germany

Pea (21) and Faba bean (11) seed samples were obtained over 2 years from 32 organic farms throughout Germany to investigate the seed borne pathogens in organic seed lots and on the harvested crop. There was considerable variation in two years (2009 and 2010) in seed borne fungi.

In both years most of the samples were infected with pathogens. However, in six of the pea and none of the faba bean seed lots infestations exceeded 10 % in 2009. In 2010 four of the pea seed lots out of 21 had >10 % infestation. In the harvested faba bean crop infection rates exceeded 10 % in 2 cases in 2009 but not in 2010.

Pea infestation rates >10 % were found in 10 out of 21 cases in 2009 and in 5 out of 21 cases in 2010. The most commonly found pathogens on faba bean were *Ascochyta fabae* and *Fusarium* spp. with a mean of 2–3 % in both years. On peas *A. pisi* was dominant both years with 7–14 % infestation. In 2009, *M. pinodes* dominated over *P. medicaginis* in some seedlots but *P. medicaginis* dominated in harvested seed. In contrast in 2010 *M. pinodes* dominated both in the sown and harvested seeds over *P. medicaginis* only in one case *M. pinodes* dominated. Some lots with high seed infestation also had high infestation at harvest. In contrast, a few seed lots had high final infestation, despite healthy seeds. Single and mixed infections with ascochyta blight complex pathogens were found within single seeds. *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. redolens*, and *F. avenaceum* were identified. Some other fungi including *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Trichoderma* spp., *Botrytis* spp., *Sclerotinia* spp. and some unknown species were also found with different percentages.

**Keywords:** Infestation, organic farms, seed lots

## Amylase from *Aspergillus fumigatus* Associated with Deterioration of Rice (*Oryza sativa*)

OLUSOLA LADOKUN, ADEKUNLE ADEJUWON

Lead City University, Biochemistry, Nigeria

In recent years the new potential of using microorganisms as biotechnological sources of industrially relevant enzymes has stimulated renewed interest in the exploration of extracellular enzymatic activity in several microorganisms. Starch degrading enzymes like amylase have received great deal of attention because of their perceived technological significance and economic benefits. In the work reported here *Aspergillus fumigatus* was subcultured on potato dextrose agar slants incubated at 25°C for 72 hours. The spores on the surface of the agar medium were dislodged by carefully scraping them with sterile inoculating loop. *A. fumigatus* grew in a medium containing rice. Cultures of the filtrate exhibited amylase activity. Amylase activity was determined using the modified method of Pfueller and Elliot (1959). Maximum enzyme activity was observed on the 5<sup>th</sup> day of incubation. Amylase activity was determined by measurement of dextrinized power which is a measure of the change in the blue colour of starch-iodine complex due to decrease in the amount of starch. The effect of temperature on the enzyme was examined. The activity of the enzyme was optimum at 35°C and pH 6.0, the enzyme was heat labile losing its activity completely after thirty minutes of heating at 80°C. The cations Al<sup>3+</sup> and Fe<sup>3+</sup> stimulated the activity of the amylase. P-chloromercuric benzoate and iodoacetamide inhibited enzyme activity. There was a gradual increase in the amylase activity as substrate concentration increased. Optimum activity was observed at 1 % starch concentration. Amylase activity gradually declined as period of heating increased. Activity was completely lost at 30 minutes.

**Keywords:** Amylase, *Aspergillus*, deterioration of rice

## Treating Plants with a Cocktail of Beneficial Micro-organisms: Implications for the Biological Management of Sucking Insects

ALFONSO MARTINUZ, ROY DONALD MENJIVAR, RICHARD A. SIKORA  
*University of Bonn, Inst. Crop Sci. and Res. Conserv. (INRES), Germany*

The control of aphids is normally chemical-based using insecticides from the groups of organophosphates, carbamates and pyrethroids. However, resistance to insecticides, due to their long history of use, joined to aphids' high reproduction rate, has become a serious problem to agriculture and the environment. Because of the known harmful effects of pesticides, there is an increasing use of non-chemical alternatives to reduce risks. The use of endophytic fungi and bacteria represent an interesting alternative to pesticides. The mutualistic endophytes *Fusarium oxysporum* strain 162 (Fo162) and *Rhizobium etli* strain G12 (G12) have been shown to induce systemic resistance against the sucking insect *Aphis gossypii* Glover (Hom., Aphididae) when applied individually. The simultaneous application of both organisms may therefore be a strategy to further increase the biocontrol efficacy. Through a split-root experiment we determined that the simultaneous but spatially-separated inoculation of both endophytes reduced the aphid population in comparison to untreated squash plants. However, the concomitant treatment did not lead to significant synergistic or even additive levels of biocontrol activity with respect to reducing aphid population when compared to individual inoculation. Furthermore, the cocktail consortium caused significant reductions in root colonisation by the beneficial fungal endophyte when both were applied to the same squash plant. The results demonstrate that the mutualistic antagonistic bacterium systemically reduces the activity of the antagonistic fungus without coming into direct contact. The data demonstrated that cocktail type inoculants comprising of different beneficial microorganisms will not always enhance biocontrol efficacy against a pest - in this case *A. gossypii*. This is the first report showing induced resistance mediated by spatially-separated co-inoculation of two beneficials toward *A. gossypii* by means of a split-root system. In conclusion, mutual interactions between beneficial microbes that induce resistance and that are effective individually have to be examined for cross protection activity against one another.

**Keywords:** Aphid, biocontrol, endophyte, mutualism, rhizobacteria, systemic induced resistance

## Seed Priming with Fungal Endophytes: A New Strategy to Minimize Leafminer Damage in Leguminous Crops

JULIET AKELLO<sup>1</sup>, ADENIRIN CHABI-OLAYE<sup>2</sup>, RICHARD A. SIKORA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>University of Bonn, Center for Development Research (ZEF), Germany

<sup>2</sup>International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Kenya

<sup>3</sup>University of Bonn, Inst. Crop Sci. and Res. Conserv. (INRES), Germany

The occurrence of invasive *Liriomyza* sp. in farms across sub-Saharan Africa has continued to devastate vegetable production as well as threaten food security income and livelihoods. Seed treatment with pesticides and or beneficial microbes has become an important aspect of modern IPM systems to provide seedlings with broad protection against pests and diseases. However, prior to utilisation of any biopesticide in pest management, its efficacy and environmental behaviours must be assessed. The present study evaluated the effects of fungal endophyte seed priming on seedling emergence, host plant preference, fitness and performance of two leaf miner species, *Liriomyza sativae* and *L. trifolii*. Overall, there was no effect of endophyte seed priming on seed germination, with endophyte and untreated seeds having a germination rate of 66.7–100% and 80.0–93.3%, respectively. Irrespective of leafminer species, the number of eggs laid on ten-day old common bean seedling was not affected by endophyte seed treatment, 48 h after plant infestation. However, seed priming with *Trichoderma asperellum* strain M2RT4 and *Beauveria bassiana* strains S4SU1 and G1LU3 significantly suppressed larval hatching, development and pupation. Consequently, the number of larvae quadrupled in the endophyte free treated plants while those of pupae and adults doubled for the untreated seedlings. As a result, bean seedlings primed with *T. asperellum* or *B. bassiana* were less damaged when compared to the untreated controls. The results of this study suggests that seed priming with mutualistic endophytic fungi can be a useful tool for expanding IPM strategies for effective management of leaf miner damage in leguminous crops.

**Keywords:** Fungal endophytes, IPM, leafminers, legumes, seed priming

## Laboratory Bioassays of Entomopathogenic Fungi *Ascospaera apis* against Larvae of Fire Ants (Hymenoptera: Formicidae)

SIRIRAT MANKUNG, PATCHARIN KRUTMUANG, PICHAI KONGPITAK  
*Chiang Mai University, Department of Entomology and Plant Pathology, Thailand*

Chalkbrood is a fungal disease of honey bee larvae caused by *Ascospaera apis*. The fungus spores enter the larvae by food and germinate in the hind end of the gut around the time when the cells are sealed. Most of the larvae die when they are stretched in the cell. At an apiary there are many ants as a bee predator such as fire ants. They destroy a hive, including eggs, larvae, pupae, and adults that were contaminated by spores of *A. apis*. So the ants were infected with the same disease that the bees had by the similar feeding behaviour. Little attention has been focused on the study of entomogenous fungi in natural environment for ant control. The present study used *A. apis* to control the fire ants. Ants were allowed to walk on filter paper discs, inside Petri dishes, previously impregnated with 1 ml of a conidia suspension  $1 \times 10^6$  conidia ml<sup>-1</sup> at 26°C maintained at 75 % RH and transferred to sterile Petri dishes, maintained at 26°C, 80 % RH, 24 h dark. Mortality was evaluated 7 days after application, the dead larvae were kept in Petri dishes in moist-chambers. The results showed some pathogenic effects on the ant. Mortality due to fungal infection were 30 %, the LT50 values were 3.52. This is the first report of the pathogenic effect of entomopathogenic fungi on fire ants. However, studies of the efficiency of this fungus against ant in the field are required before it can be used for ant management in practice.

**Keywords:** *Ascospaera apis*, chalkbrood, entomopathogenic fungi, fire ant, honey bee



## **Evaluation of some Promising Wheat Lines for their Resistance to Prevailing Rust Races in Sudan**

ABDALLA KURMUT, MOHAMED KHEIR, HALA ELAMEIN

*Agricultural Research Corporation, New Halfa Research Station, Sudan*

Wheat is the second most important cereal crop in Sudan. Wheat stem (including Ug99) and leaf rusts are the main diseases of wheat in New Halfa area and occasionally in Gezira scheme. Resistant varieties are the most efficient measure for the control of the disease. Bread and durum wheat lines from national and advanced yield trials of the breeding programme together with some Ug99 promising lines were field-assessed for their reaction to stem and leaf rusts at New Halfa Research Station Farm in season 2010/2011. The materials were grown under mist irrigation and were artificially inoculated. Each entry of the materials was sown on one metre long. Irrigation was done every 10-14 days and 2N of nitrogen fertiliser was added in form of Urea after the first irrigation. Other cultural practices were carried out according to the Agricultural Research Corporation Recommendation. The occurrence of the wheat leaf rust was rare; therefore the evaluation for stem rust is presented. Forty (31%) of the tested lines showed RMR reaction, 81 lines (63%) had MSS reaction (10MSS-80MSS) while the S reaction (60S-70S) was recorded for 7 (6%) lines. The results indicate that the breeding programme accumulated considerable number of resistance lines that could be recommended for commercial production to replace the current susceptible cultivars.

**Keywords:** New Halfa, rust, stem, Sudan, wheat

## Effect of the Entomopathogenic Fungus *Paceilomyces farinosus* on the Reproductive Potential of Poplar Leaf Beetle *Melasoma populi*

LAZGEEN ASSAF, FEYROZ RAMADAN HASSAN, GEHAN YOUNIS

University of Dohuk, Plant Protection Department, Iraq

A local strain of *Paceilomyces farinosus* (isolated from infected sunn insects *Eurygaster integriceps* Put. in Duhok region) was obtained from the Mycology bank/ Plant Protection Dept./ School of Plant Production/ faculty of Agriculture and Forestry/ Duhok University, under the No. PEG-12. Fungus was grown on Potato Dextrose Agar (PDA) for 6–7 days at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . The concentration of fungal suspension was diluted to  $(10^8)$  spore  $\text{ml}^{-1}$ . Spore concentration was determined by hemocytometer. The effect of the *Entomopathogenic fungus* and *Paceilomyces farinosus* on the reproductive potential of female survivors, egg viability and total egg production of poplar leaf beetle *Melasoma populi* L. was investigated under laboratory conditions. Prepupae, pupae and newly emerged adults were treated with spore suspension of *P. farinosus* ( $1 \times 10^8$  conidia  $\text{ml}^{-1}$ ). Another group of adults were reared on sprayed poplar leaves with a same concentration of conidial suspension. Egg production and hatching percentage were monitored daily over a 7- week period. Overall reproductive capacity (mean no eggs per female survived from fungus inoculums) were significantly lower as compared to the control. The total number of eggs per surviving female were 85.50, 149.50, 123.43 and 280.24 eggs for pre-pupa, pupa, adult and leaves treated, respectively, as compared to 299.75 in the control after fourth week. Pre-oviposition, oviposition, post-oviposition and the longevity of females and males were shorter in treated individuals compared to the control. The lowest hatching percentage was 75.12% in eggs deposited by adult feed on treated leaves as compared to 98.42% in the control.

The mortality of different stages was recorded 12 days after spraying with spore suspension. The data proved that *P. farinosus* have an effect on the different stages of *M. populi* particularly when sprayed on adults; 39.13 and 43.63% mortality was observed after 12 days when directly sprayed or reared on sprayed poplar leaves, respectively.

**Keywords:** *Entomopathogenic fungi*, reproductive potential, *Melasoma populi*, *Paceilomyces farinosus*

## The Efficiency of Using Different *Trichogramma* Species on the African Bollworm (*Helicoverpa armigera*) Eggs

SARA KEHAIL<sup>1</sup>, HAYDER ABDELGADER<sup>1</sup>, OLAF ZIMMERMANN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agricultural Research Corporation, Crop Protection Research Centre, Entomology Section, Sudan

<sup>2</sup>JKI Institute for Biological Control, Beneficial Group, Germany

Egg parasitoid *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) are extremely tiny wasps. Their females seek out and parasitize host eggs of noxious lepidopterous insect pests such as the African bollworm (ABW), *Helicoverpa armigera*. The recent study aimed at measuring the egg parasitism, emergence rate and female ratio for 5 species per strains of *Trichogramma* (*T. bourarachae* EG 02, *T. bourarachae* KE 99, *T. nerudai* PT 93, *T. piceum* MD 91 and *T. turkestanica* PT 93) at different holding temperatures, with the objective to evaluate the efficiency of using this beneficial to combat infestation of the bollworm both on edible and non-edible crops in Sudan and other countries with similar environmental conditions. The experiments were conducted in two separate temperatures (25°C and 30°C), where *H. armigera* egg-card (containing 60–70 eggs) was exposed to a fertile female of *Trichogramma* sp., each experiment consists of 18–20 females. The average of parasitized eggs, emerging adults, emergence rate and percentage female per female were determined. The results showed clearly that all *Trichogramma* species accepted ABW eggs as a host, but they varied greatly in their egg laying capacity. The emergence rate ranged from 1.12 to 1.55 at 25°C and 1.09 to 1.56 at 30°C. The percentage female ranged from 76 % to 91 % at 25°C and 70 % to 86 % at 30°C. *T. piceum* showed the highest fertility at 25°C and 30°C (91 % and 86 %, respectively) and lower emergence rate (1.16 and 1.09, respectively) compared with other *Trichogramma* tested. The highest emergence rate was obtained from *T. turkestanica* (1.55 and 1.56) at 25°C and 30°C, respectively compared with other *Trichogramma* spp. tested. *T. bourarachae* (KE 99) showed higher emergence rate and percentage female compared with *T. bourarachae* (EG 02).

**Keywords:** Egg parasitism, emergence rate and percentage female, *Helicoverpa* spp., temperature, *Trichogramma*

## Establishment and Parasitism Efficiency of *Trichogramma principium* on *Helicoverpa armigera* Attacking four Sudanese Cotton Cultivars

TAG ELSIR ELAMIN ABDALLA

*Agricultural Research Corporation, Wad Medani, Entomology, Biological Control, Sudan*

This study was conducted at the Gezira Research Station farm during 2010/11 season to verify establishment and parasitism efficiency of *Trichogramma principium* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in eggs of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) attacking the Sudanese cotton cultivars 'Barac 67B', 'Hamid', 'Burhan' and 'Abdin'. *Trichogramma* was acquired from the Rearing Unit, ARC, at preimaginal (prepupal) stage, in eggs of the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). One release was done on each of Barac and Hamid and two on each of Abdin and Burhan, at 24000 parasitoids per fed,  $7 \times 7$  m distance between release points and 14 day intervals. Evaluation was done between treated plots with *Trichogramma* versus untreated. Observations included the percentage (%) of emerged parasitoids, % of parasitism and numbers of larvae /100 plants. At the first release, the % of emerged parasitoids ranged between 71 % as in Barac 67B and 86.4 % as in Hamid; the cultivars' average ranged between 60.5 % and 94.8 % and the overall average was 79.2 %. The % of parasitized *H. armigera* eggs ranged between 60 % and 22.2 %. At the second release, the % of emerged adults ranged between 73.2 % as in Burhan and 82.1 % as in Abdin; the cultivars average ranged between 46.6 and 96.7 % and the overall average was 77.7 %. The % of parasitized *H. armigera* eggs ranged between 77.7 % and 22.2 %. The high level of parasitoid emergence declares a good viability of the released material. The levels of parasitism reported were quite acceptable for the first occurrence of the parasitoid in this new cotton agroecosystem. A positive signal of migration from treated to untreated plots was observed through parasitized *H. armigera* eggs detected in the latter plots. The numbers of *H. armigera* larvae was negligible in both treatments. Accordingly, for proving potential capacity of establishment and parasitism efficiency against *H. armigera*, *T. principium* is strongly recommended for use on Sudanese cotton cultivars.

**Keywords:** *Helicoverpa armigera*, Sudanese cotton cultivars, *Trichogramma principium*

## Systemical Effects of Salicylic Acid, Methyl Jasmonate and a Mutualistic Fungal Entophyte on Homoptera Pests in the Phyllosphere of Summer Squash

MICHAEL HAGEMANN<sup>1</sup>, PAOLA A. ALVARADO PRICE<sup>2</sup>, ROY DONALD MENJIVAR<sup>2</sup>, RICHARD A. SIKORA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Hohenheim, Dept. of Crop Science, Germany

<sup>2</sup>University of Bonn, Inst. Crop Sci. and Res. Conserv. (INRES), Germany

In the past it has been shown that *Fusarium oxysporum* strain 162 (FO162) is a reliable inducer of systemic resistance and further for lack-of-attraction effects on parasitic nematodes. Therefore the understanding of the underlying mode-of-action and the further studies on the potential usage can help to improve its adoption as a cheap to produce biocontrol agent especially for tropical regions. In the current study similarities were examined between the fungal actions with Systemic Acquired Resistance (SAR) and Induced Systemic Resistance (ISR). The FO162, Salicylic Acid (SA) as trigger for SAR and Methyl Jasmonate (MJ) as trigger of ISR were tested for systemic based control activity on the aphid *Aphis gossypii* and on the whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. Drench applications of the fungus or the chemical inducers resulted in a reduction of aphid, with the strongest reduction following the MJ treatment. However, a second replicate of the experiment showed no significant differences between treatments, although a reduction of the number of insects on plants treated with MJ showed the same tendency. A possible resistance against whitefly was tested in a choice experiment based on the number of adults that settled on the aerial parts of squash plants. Whiteflies were more attracted to untreated plants, whereas the lowest number of insects was found on MJ and FO162 treated. The root weight was significantly reduced on plants treated with MJ compared to the other treatments, but the shoot/root ratio was not affected by any of the treatments. The outcomes of this study elucidate that the effects of FO162 are comparable to those exerted by induced systemic resistance elicitors and although MJ showed to have the highest effectiveness against *A. gossypii* or *T. vaporariorum*, it affects plant growth and development. A HPLC profile from squash plant parts show similarities between FO162 and the SA induced SAR pathway.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum*, methyl jasmonate, mutualistic endophyte, salicylic acid, systemic resistance

## **Influence of Milled Rice Packing Methods on Radio Frequency Heat Distribution in Controlling *Aspergillus flavus* and their Cooking Qualities**

SUCHADA VEARASILP<sup>1</sup>, JITRAMAS NAKA<sup>2</sup>, SA-NGUANSAK THANAPORNPOONPONG<sup>2</sup>, DIETER VON HÖRSTEN<sup>3</sup>, WOLFGANG LÜCKE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Chiang Mai University, Postharvest Technology Institute / Postharvest Technology Innovation Center, Thailand*

<sup>2</sup>*Chiang Mai University, Dept. of Plant Science and Natural Resources, Thailand*

<sup>3</sup>*Georg-August-Universität Göttingen, Institute of Agricultural Engineering, Germany*

This study aimed to determine the uniformity of heat distributed in different milled rice packages after various radio frequency heat treatments. The responses from the samples in controlling a contamination of *Aspergillus flavus* by heat distribution from an electromagnetic field were investigated. Milled rice var. KDML 105 with 14 percent initial moisture content was used. Samples were inoculated with *A. flavus* at a concentration of  $10^6$  spores per ml and incubated for 7 days. Three different loading densities were packed and evaluated: (1) vacuum full loaded, (2) non vacuum full loaded and (3) 85% loose loaded. The samples were exposed to radio frequency (RF) heat treatments at an operating frequency of 27.12 MHz with temperatures of 80, 85 and 90°C for 1, and 3 minutes. The heat distribution was taken by infrared cameras, kernel moisture content, degree of remained *A. flavus* infection, amount of aflatoxin, amylose content and cooking qualities were determined. It was found that packing methods affected the distribution of heat significantly. The packing type 1 showed to be the most effective in heat distribution which resulted to a significantly decreasing *A. flavus* infection. The RF treatment at 90°C for 3 minutes duration was the best treatment, the fungus remained was 0.64 %, aflatoxin decreased significantly from 6.68 to 2.8 ppb. The moisture content of all samples decreased with no significant differences. The cooking qualities changed: the gel consistency decreased, the percentage of amylase increased, and the elongation ratio of the rice kernel increased also. Including the changes in their viscosities: the rice's final viscosity, setback value and pasting temperature value increased, in contrast its peak viscosity and breakdown value decreased. The texture of cooked rice increased in hardness and cohesiveness but decreased in adhesiveness. Thus, vacuum packing with RF heat treatment can control *A. flavus* and aflatoxin formation effectively with positive changes in their cooking qualities.

**Keywords:** *Aspergillus flavus*, cooking qualities, milled rice, packaging, radio frequency

---

**Contact Address:** Sa-nguansak Thanapornpoonpong, Chiang Mai University, Dept. of Plant Science and Natural Resources, Huay Keaw road, 50002 Chiang Mai, Thailand, e-mail: sa\_nguansak\_t@hotmail.com



## Physiological Almond Development Associated with Preharvest Aflatoxin Contamination

MATTHIAS DONNER, PAULO DOS SANTOS FARIA LICHTENBERG,  
THEMIS J. MICHAILIDES

*University of California - Davis, Dept. of Plant Pathology, United States of America*

Presence of aflatoxin in food causes acute and chronic health effects in humans, ranging from immune-system suppression to growth retardation which can cause liver disease and/or cancer. *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* are the most important causal agents of aflatoxin contamination in almonds, causing considerable economic losses for the almond industry in California. During the month of August 2010, after the almond hull splits, weekly samplings of Nonpareil almonds were performed. Almond kernel moisture content was measured for each sampling time as followed: 1<sup>st</sup> 35.26%, 2<sup>nd</sup> 31.49%, 3<sup>rd</sup> 19.49% and 4<sup>th</sup> 3.06%. In order to evaluate the most susceptible almond humidity stage for aflatoxin contamination, three highly toxigenic *Aspergillus* strains, *A. flavus* “S-strain” (3G39), *A. flavus* “L-strain” (A224) and *A. parasiticus* (P194) were inoculated (50 $\mu$ l, 5  $\times$  10<sup>4</sup> ml per spores) on the almond hull and the peeled almond kernel. After 30 days incubation at 30 °C, aflatoxin content was extracted and concentrations were quantified with High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) analyses. Inoculated almonds with and without hull and the highest moisture content (35.26%) had the highest incidence of aflatoxin, whereas the almonds with the lowest moisture content had the lowest aflatoxin. The highest concentration 583 ng g<sup>-1</sup> of B1 aflatoxin was measured in kernels inoculated with the *A. flavus* S-strain and gradually decreased to 4.7 ng g<sup>-1</sup> aflatoxin at the last tested stage. The aflatoxin concentrations of nuts inoculated with an S-strain were positively correlated with the moisture content of the nuts ( $r=0.84$ ,  $p < 0.001$ ). The results demonstrate that the first days after the hull split, almonds show the highest susceptibility to infection by *A. flavus* and *A. parasiticus* and the susceptibility decreases along with the moisture content of the nuts. Fortunately, the California almond industry has taken a number of measures that reduce preharvest and postharvest aflatoxin contamination. These measures include: 1) Good agricultural practices like insect pest management and product handling; 2) Drying the nuts to a safe moisture content (3–6%); and 3) Sorting of insect damaged nuts.

**Keywords:** Aflatoxin, *Aspergillus* spp., moisture content, nut crop

---

**Contact Address:** Matthias Donner, University of California - Davis, Dept. of Plant Pathology, Kearney Agricultural Center, 9240 South Riverbend Ave., 93648 Parlier, United States of America, e-mail: matthiasdonner@gmail.com

## Report on the meeting of the working groups “Population dynamics and epidemiology” of DPG and “Epigeic arthropods” of DGaaE

The meeting for the working groups “Epigeic arthropods” and “Population dynamics and epidemiology” of DGaaE and DPG took place in September, 22–23 2011 at Halle (Saale).

It was organised by Prof. Dr. Christa Volkmar and team from Institute of Agriculture & Nutritional Sciences, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg. In total, 28 specialists from research and practice attended the meeting from University Halle, Julius-Kuehn-Institute (JKI) Quedlinburg and Kleinmachnow, National Research Center Dokki Giza, Institute for Land Use Systems, Leibniz-Centre for Agricultural Landscape Research (ZALF) Müncheberg, Federal Research Centre for Cultivated Plants; Institute for Crop and Soil Science Braunschweig, RANA – Office for ecology and nature protection, Halle (Saale), Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben, Limagrain GmbH Peine-Rosenthal, BioChem agrar GmbH, Bayer Crop-Science Deutschland GmbH.

During the two days, 14 contributions were presented on the following subjects:

- Information about rapid habitat changes in Short Rotation Coppices (SRC) on ecology of Carabid assemblages (Coleoptera: Carabidae)
- Information about the monitoring of non-target arthropods in transgenic maize lines under different weed control regimes
- pests and beneficials in agro-ecosystems
- Evaluation of wheat midges and thrips
- Information about efficiency of different strains of *Habrobracon hebetor* against some storage insects *Plodia interpunctella* and *Ephesia kuehniella* in the laboratory
- Information about the prognosis in plant protection

A new head of the working group “Epigeic arthropods” of DGaaE was elected: Dr. Wolfgang Büchs, Federal Research Centre for Cultivated Plants; Institute for Crop and Soil Science Braunschweig (wolfgang.buechs@jki.bund.de).

The deputy is: Dr. Ralph Platen Institute for Land Use Systems, Leibniz-Centre for Agrarian Landscape Research (ZALF), Müncheberg.

The working group “Population dynamics and epidemiology” will meet in 2012 organised by Prof. Dr. Christa Volkmar, Institute of Agricultural & Nutritional Sciences, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg.

Christa Volkmar, Halle (Saale)

### Biodiversity of click beetles (Elateridae) in the agriculture landscape of Saxony-Anhalt – Results of pheromone trap-Monitoring in 2011

Maria Tackenberg<sup>1</sup>, Christian Wolff<sup>2</sup>, Christa Volkmar<sup>1</sup> & Marita Lübke-Al Hussein<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften

<sup>2</sup> Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau Sachsen-Anhalt

Contact: maria-tackenberg@gmx.de

Wireworms are considered an important insect pest in the agriculture landscape of Saxony-Anhalt. In 2001 a similar monitoring had conducted to study the population dynamics of *Agriotes sordidus* in France. The click beetle population was surveyed by pheromone traps of FURLAN from Syngenta for *Agriotes* spp. in Saxony-Anhalt in 2009, 2010 and 2011. In 2011 the pheromone traps were placed in 8 habitats in different geographic natural environments in Saxony-Anhalt. These habitats were Poppau (Altmarkkreis Salzwedel), Giesenslage, Rengerslage and Wust (Altmarkkreis Stendal), Quedlinburg (Harz), Bornum (Anhalt-Zerbst), Dederstedt (Mansfeld-Südharz) and Saubach (Burgenlandkreis). With the use of pheromone traps it is possible to get more information about the habitat requirements of click beetles. This method of catch is used to get data for Elateridae population dynamic and not to decimate the population. In the time of copulation the females recognise this pheromone, so the males can find the females and mated them. The different species of *Agriotes* differ in their lifecycle and their quantity of larval stages. All species of click beetles have a good response to specific sexual pheromones. Averaging there are 12 to 14 larval stages possible. The whole lifecycle of a wireworm lasts from 3 to 5 years according to the different Elateridae species. The traps were placed mostly in a quadrangle and sometimes in a row. The distance between the traps was 50 meters and around the traps there must be a free area of high vegetation of 1 m<sup>2</sup>. This is necessary for an optimal turbulence of the pheromone scent. The attempt was running from early April to end of July; the traps were changed every 30 to 45 days and located in the head of the trap. After the weekly depletion of the traps the catches were conserved in alcohol. Later the catches were determined with a binocular (Nikon SMZ 645) in the laboratory. In 2011 in all habitats we provided the evidence of the species: *Agriotes lineatus*, *Agriotes obscurus* and *Agriotes sputator*. In Quedlinburg and Saubach we also found *Agriotes ustulatus*. We didn't provided the evidence of *Agriotes sordidus*. In addition to the pheromone traps we positioned also traps for catching wireworms. These traps located at the soil and contained germinated wheat in a tea bag. This wheat was germinated 24 hours before locating in the trap. All 14 days the traps were changed. And after these 14 days we had to crumble the tea bag, because the wireworms hidden between the young plants. The most wireworm catches were found in Saubach with 52 individuals of different Elateridae species. After the biweekly depletions the results of the wireworm catches showed their natural behaviour of different weather conditions.

## The impact of rapid habitat changes in Short Rotation Coppices (SRC) on ecology of Carabid assemblages (Coleoptera: Carabidae)

Jessika Konrad, Ralph Platen & Michael Glemnitz

Institute for Land Use Systems, Leibniz-Centre for Agricultural Landscape Research (ZALF), Eberswalder Straße 84, 15374 Müncheberg, Germany.  
Contact: konrad@zalf.de

Short Rotation Coppices (SRC) are new agricultural systems where rapidly growing woods (e.g. *Populus*- and *Salix* hybrids) are planted for energy production. In this study, we investigate the impact of habitat dynamics in the SRC on ground beetle assemblages. We hypothesised that a) species composition and dominance structure of the SRC are different from those in the adjacent arable field, b) the proportion of forest species, wingless species and spring breeders are positively correlated with the older SRC whereas that of arable field species, winged species and autumn breeders is negatively correlated. The area of investigation is situated in the sub-alpine region of Hesse, Germany. Ground beetles were caught with five pitfall traps, which were arranged in a straight line with a distance of 5 m each, at altogether 10 plots (four SRC), aged 0–3 years, a deciduous forest, an isolated forest patch, a meadow, a fallow land, a field of winter rye, and a headland. The traps are operated during the vegetation time, where the traps are changed every fortnight. In this paper, preliminary results of the first three months of the study are presented. Although, only two aspects are examined closely here, the outcomes give a hint of the confirmation of the hypotheses. In total, 73 species in 14742

individuals were caught. Most species (42) and individuals (3650) were present at the one year old SRC. The lowest number of species (8) and individuals (309) were found in the deciduous forest. Species composition and dominance structure of the SRC in contrast to the arable field are shown in Table 1.

Besides two species which are dominant at all the plots, the dominance of arable field species decreases in the SRC, whereas forest species are only present with low dominance values or lacking at all in the arable field and the young SRC, respectively. The proportion of wing morphs of the species caught at the SRC and the arable field is presented at Fig. 1.

In tendency, the percentage of brachypterous species increases from the arable field to the oldest SRC whereas a decrease of macropterous species can be observed. The proportion of dimorphic species is ambiguous. With all precaution, we conclude that even after the relatively short standing time of three years, the SRC provide enough favourable habitat conditions for at least eurytopic forest species.

### Acknowledgement

This work is part of the research project “Entwicklung extensiver Landnutzungskonzepte für die Produktion nachwachsender Rohstoffe als mögliche Ausgleichs- und Ersatzmaßnahmen” (ELKE III), which is financially supported by the Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe (FNR) with funds provided by the Federal Ministry of Nutrition, Agriculture and Consumer Protection (BMELV) and coordinated by the Institut für angewandtes Stoffstrommanagement (IfaS). Our thank goes to Viessmann Werke GmbH & Co. KG for providing the field site and to Gerrit Engelbach (bfu) for the support.

Table 1: Ground beetle species of arable fields and different forest types with a dominance of > 1%. WIRY = winter rye, SRC1-4 = Short Rotation Coppices, aged 0–3 years, HP = Habitat preference (after GAC 2009, changed): AFI = arable fields, WFO = wet forests, MFO = moist forests, FOR = forests (in general).

| Species                               | WIRY | SRC1      | SRC2 | SRC3        | SRC4 | HP  |
|---------------------------------------|------|-----------|------|-------------|------|-----|
| <i>Harpalus rufipes</i>               | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | AFI |
| <i>Pterostichus melanarius</i>        | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | AFI |
| <i>Bembidion lampros</i>              | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | AFI |
| <i>Anchomenus dorsalis</i>            | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | AFI |
| <i>Abax parallelepipedus</i>          | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | MFO |
| <i>Limodromus assimilis</i>           | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | WFO |
| <i>Carabus violaceus purpurascens</i> | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | FOR |
| <i>Nebria brevicollis</i>             | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | FOR |
| <i>Notiophilus biguttatus</i>         | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | FOR |
| <i>Pterostichus oblongopunctatus</i>  | ■    | ■         | ■    | ■           | ■    | FOR |
|                                       | ■    | > 32 %    | ■    | 3,2 - 9,9 % | ■    |     |
|                                       | ■    | 10 - 32 % | ■    | 1,0 - 3,1 % | ■    |     |

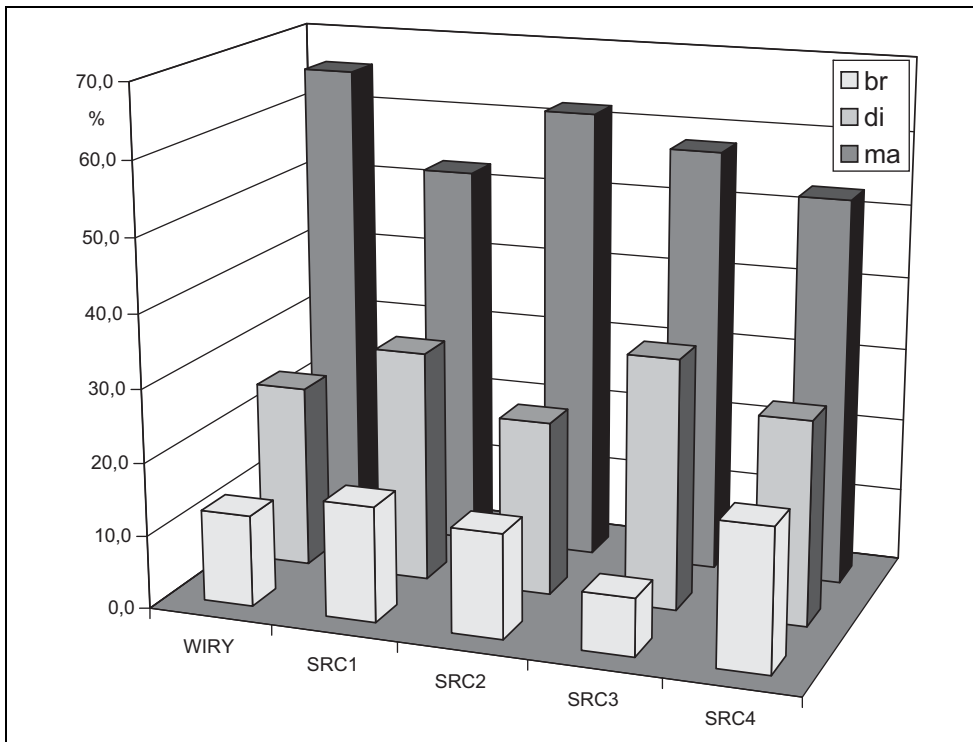


Fig. 1: Proportion of wing morphs of ground beetle species caught at the arable field and the SRC (abbreviations see Table 1). br = brachypterous, di = dimorphic, ma = macropterous.

#### References

Gesellschaft für angewandte Carabidologie (GAC) (Eds.), 2009. Lebensraumpräferenzen der Laufkäfer Deutschlands – Wissensbasierter Katalog. Angewandte Carabidologie Supplement V, 45 pp. + CD.

#### Monitoring of non-target arthropods in transgenic maize lines under different weed control regimes

Nabil El-Wakeil & Christa Volkmar

Institute of Agriculture & Nutritional Sciences, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Germany  
Contact: nabil.el-wakeil@landw.uni-halle.de

Non-target arthropod populations were monitored in both transgenic and non-transgenic maize. A major concern regarding the deployment of insect resistant transgenic plants is their potential impact on non-target organisms, in particular on beneficial arthropods such as predators. This study aimed to evaluate the impact of maize hybrids managed with different herbicide regimes on abundance of key non-target arthropods; also to evaluate the impact of insect and weed control strategies, including insect-resistant lines and herbicide-tolerant transgenic maize hybrids, on key non-target arthropods. To assess the risks that transgenic plants pose to parasitoids and predators, various experimental treatments had been conducted. There is no significant difference between GM and non-GM maize in insect populations. Glyphosate resis-

tance did not alter the beneficial insect populations between Bt and non-Bt maize. There are significant differences in weather conditions (temperature and rainfall) between two years; therefore the insect populations are varied. Using low or no insecticides on Bt-plants led to increase parasitoids which could keep aphids to sub-economic levels. Herbicide resistance to insect protected the transgenic maize.

#### Remarkable spiders (Arachnida, Araneae) and ground beetles (Coleoptera, Carabidae) of the FFH area "Salt place Wormsdorf" (Saxony-Anhalt)\*

Ismail A Al Hussein<sup>1</sup>, Marita Lübke Al Hussein<sup>1</sup>, Frank Meyer<sup>2</sup> & Thomas Süßmuth<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Malachitweg 24, D-06120 Halle (Saale)

<sup>2</sup> RANA – Office of Ecology and Conservation Frank Meyer: Mühlweg 39, D-06114 Halle (Saale)

\* Principal: State of Saxony-Anhalt, represented by the State Office for Environmental Protection Halle, FB 4 (Lead Agency)

Contact: alhussein@t-online.de

Natural inland salt meadows are very legitimate and extremely endangered habitats. They have a very limited distribution and accommodate a number of plant and animal species that are still only known from natural internal salt places. This facts increase their worthiness of protection and protection neediness opposite other biotope types. This clarifies also its classification as priority habitats in accordance with

appendix I of the FFH guideline. The Natura 2000 area, SCI 202 “place Salt Wormsdorf” is located in the western district of Saxony-Anhalt. Outstanding importance for nature conservation, have the salt springs, which are lined up along the fault zone of the upper Aller Valley trench, including the “place Salt Wormsdorf”.

The FFH area “Wormsdorf” belongs to the dry and warm Region of Central Germany. This is characterised by the boundary layer to the Hercynian dry region. The area encloses approximately 3.2 ha. It is a bog in the area of Aller Valley fault zone.

The habitat type of “place Salt Wormsdorf” has a high species richness with high numbers of individuals. It includes saline waters (source ponds and ditches with rising salt water), vegetation-free areas, spring swamps, salt grass, reeds and brackish water marshes. In this habitat occur the obligate halophytes *Salicornia europaea* L. and *Atriplex pedunculata* L. Other halophytes and salt-tolerant species are present in large numbers (see Rana 2010). In the context with a management plan for the salt site the indicator groups (spiders and ground beetles) were examined.

In the period from 20<sup>th</sup> of April to 20<sup>th</sup> of August 2010 both groups were captured with standard pitfall traps (colourless plastic cups, 7 cm diameter hole, covered, about 3% formalin). In each area five traps were used. They were emptied at approximately 4-week intervals. Simultaneously with the collection of flies (Diptera) were a yellow and a white dish (30 × 20 cm) exposed to the same place. The incurred by catch of spiders and ground beetles have been integrated into the results.

At the beginning of the study were no data available for both the spiders and ground beetles, so that the present surveys bear the status of a first inventory. Despite the small size of the FFH area and the short study period, these two groups turned out to be relatively rich in species and individuals, with a considerable number of halobiotic and halophilous species. Spiders: Altogether, 73 species of spiders in 1813 individuals could be assigned, which are distributed to 12 families. Of these 54 species found in pitfall traps and 19 species in the colour dishes. According to the Red Lists 17 species are assigned a risk status. The identified species represent a wide range of ecological types, but almost all belong to the open landscape residents. Only six species are more likely to be found on wooded sites. As expected, wetland habitat preferring presented with 29 recorded species for the largest share. While numerous species live in rather dry habitats, other species have their distribution area in extensively or uncultivated wetlands and wet meadows. Fifteen species are among the inhabitants of the fields, fallow land and ruderal places. They inhabit mainly the adjacent farmland habitats. Despite its small size, the investigated habitats show a comparatively large number of endangered species. Noteworthy among these are mainly the jumping spider *Sitticus caricis* (Westring), which in Saxony-Anhalt as “extinction endangered” is classified and could only be occupied by an individual. This extremely rare species occurs stenotopic on eutrophic bogs including its terrestrialised vegetations. Few species are halophilic or halobiont. These include the species *Enoplognatha mordax* (Thorell), *Erigone*

*longipalpis* (Sundevall), and *Argenna patula* (Simon). The latter is found very rarely and is considered as “endangered”. Here it occurred even in larger individual number. These species are found regularly in studies of saline sites, as in studies of the salt place in Hecklingen (Hiebsch 1962, Sacher 1996a) or the salt place Sülldorf (Sacher 1996b), the salty lake (Al Hussein 2000) and in Salza-Valley at Langenbogen (Rana 1998).

Ground beetles: Regarding the ground beetles salt meadows are characterised by a small, but this highly specialised range of species. This applies also to the salt place Wormsdorf. Here only 17 species of ground beetles could be determined, from which three were to be proven only over the colour dishes.

Remarkable is the very high portion of halotolerant and/or halobiotic ground beetle species. The halobiotic *Anisodactylus poeciloides* (Stephens), *Bembidion aspericolle* (Germar), *Pogonus chalceus* (Marsham) and *Dicheirotichus obsoletus* (Dejean) in Saxony-Anhalt were classified as “strongly endangered”. These four species had the most individuals. In the Red List of Germany, the first three are as “strongly endangered” classified, *Dicheirotichus obsoletus* (Dejean), even as “critically endangered”. To the halotolerant species include *Amara convexiuscula* (Marsham), *Bembidion aspericolle* (Germar), *B. minimum* (Fabricius) and *Stenolophus mixtus* (Herbst). The proportion of salt-bound species in the total spectrum of species was more than 30%. Also noteworthy is the presence of preferred eutrophic vegetation siltation types *Blethisa multipunctata* (Linnaeus) and *Chlaenius tristis* (Schaller). They possess both in Saxony-Anhalt as well as a nationwide threat status.

Most of the species found here were also at other domestic salt-sites in Saxony-Anhalt, so at the salt-place of Hecklingen (Hiebsch 1961, Ciupa 1992) or the salty lake (Rana 1999). These results confirm the high ecological and conservation-related value of this relatively small salt-area inland.

## References

- Al Hussein IA, 2000. Zur Spinnenfauna (Arachnida, Araneae) des ehemaligen Salzigen Sees. – Hercynia NF 33, 281-292.
- Ciupa W, 1992. Kommentierte Carabiden-Artenliste für das NSG Salzstelle Hecklingen (Col.). Entomol – Nachr Ber 36, 249-254.
- Hiebsch H, 1961. Faunistisch-ökologische Untersuchungen an den Salzstellen bei Hecklingen und westlich der Numburg mit Angaben über die Biologie von *Henestaris halophilus* (Burm.). – 113 S.; Diss. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Hiebsch H, 1962. Vergleichende ökologische Studien der Spinnenfauna in den Naturschutzgebieten Salzstelle bei Hecklingen und westlich der Numburg. – Archiv Natursch Landschaftsforsch 2, 53-84.
- Rana – Büro für Ökologie und Naturschutz Frank Meyer, 1998. Pflege- und Entwicklungsplan für das einstweilig gesicherte NSG „Salzatal bei Langenbogen“ (Saalkreis). – Unveröff. Gutachten im Auftrag des Regierungspräsidiums Halle, Obere Naturschutzbehörde.



### Analyses of virulence of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) sampled in different European oilseed rape growing regions

Wolfgang Lueders<sup>1</sup>, Stefan Abel<sup>2</sup>, Wolfgang Friedt<sup>3</sup>, Doris Kopahnke<sup>4</sup> & Frank Ordon<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Limagrain GmbH, 31234 Edemissen, Germany

<sup>2</sup> Limagrain GmbH, 31226 Peine-Rosenthal, Germany

<sup>3</sup> Justus Liebig University, Department of Plant Breeding, 35392 Giessen, Germany

<sup>4</sup> JKI-Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute of Resistance Research and Stress Tolerance, 06484 Quedlinburg, Germany  
Contact: wolfgang.lueders@limagrain.com

Clubroot caused by the obligate biotrophic protist *Plasmodiophora brassicae* is a serious soil-borne disease of cruciferous crops. It causes galls on roots leading to premature death of the plant. Most problematic is the longevity of the resting spores in the soil up to 20 years. Therefore, there are no economically reasonable control measures once a field has been infested. Clubroot infestations are already known for nearly 100 years in the United Kingdom, France and Northern Germany. Currently, due to the raising density of oilseed rape cultivation within the last three decades the number of contaminated fields detected in many European regions is constantly increasing. According to the fact that numerous populations and races of *P. brassicae* differing in pathogenicity are known, breeding for resistance is a difficult task.

For successful resistance breeding it is important to have information on different pathotypes available and their implications on agricultural production. Therefore, samples of infected plant material were taken from different locations in several European countries. The virulence of these samples was phenotypically determined under greenhouse conditions by using on the one hand the European Clubroot Differential Set 'ECD' and on the other hand the set of differentials composed by INRA.

Nearly no virulence of the isolates tested against *Brassica rapa* genotypes was detected but large differences within *B. napus* and *B. oleracea* genotypes. First results confirm that different pathotypes are present and that the highly virulent race 'P1' occurs mainly in Northern Europe. The pathotypes 'P5', 'P7' and 'P8' out of eight races in total have not been detected up to now.

### The diversity and vector function (*Cereal dwarf virus*) of leafhoppers of an agricultural landscape in Central Germany

Luise J Finger<sup>1</sup>, Torsten Block<sup>3</sup>, Werner Witsack<sup>2</sup>, Nadine Drechsler<sup>4</sup> & Christa Volkmar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften

<sup>2</sup> Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Biologie/Zoologie

<sup>3</sup> Syngenta Agro GmbH

<sup>4</sup> Bio-Test Labor GmbH Sagerheide

Contact: luisefinger@gmx.de

Vectors of insect-transmitted viruses become increasingly important due to the global warming (Habekuss 2009). Plant leafhoppers of the genus *Psammotettix* are the vectors for three different *Cereal dwarf viruses* (CDV). High temperatures are crucial for the development of leafhoppers. In 2010 two winter barley fields were screened at Rumpin (Saxony-Anhalt). From July to the end of October the investigation period covered the three barley propagation phases: ripening winter barley; volunteer cereals; newly sown winter barley. With the aid of the sweet-net-method the vector abundance was determined. In ripening winter barley 77 adult leafhoppers, in volunteer cereals 1359 adult leafhoppers and 31 larvae, and in newly sown winter barley 66 adult leafhoppers have been documented. A total number of 27 species was determined. Realtime-PCR was used for *Cereal dwarf virus* detection in the leafhoppers. In BBCH 10-14 and BBCH 12-16 samples of winter barley plants were randomly selected for CDV analyses by ELISA. The results show that the volunteer cereals as well as the leafhoppers were infected with CDV.

### References

Habekuss A, Riedel C, Schliephake E & Ordon F, 2009. Breeding for resistance to insect-transmitted viruses in barley – an emerging challenge due to global warming. – *Journal für Kulturpflanzen* 61, 53-61.

### Examination of the susceptibility of winter wheat genotypes to wheat midge infestation (Field study 2011)

Franz Fleischer<sup>1</sup>, Ulrike Lohwasser<sup>2</sup>, Christa Volkmar<sup>1</sup> & Andreas Börner<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

<sup>2</sup> Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben

Contact: franz.fleischer@web.de

Different winter wheat accessions have been investigated at the Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research in Gatersleben in 2011 aiming to find genotypes resistant against orange and yellow wheat midges (*Sitodiplosis mosellana* (Géhin) and *Contarinia tritici* (Kirby)). The panel comprised 96 accessions from 21 countries worldwide. The tested genotypes differed significantly in their phenotype with respect to growth pattern and colouration. In addition there was variation for ear morphology and hairiness of different organs. Regarding flowering time we have evaluated three types: early, intermediate and late ones.

Wheat midges were surveyed using pheromone traps, white water traps and evaluation of insects in the ear sam-



ples. The pheromone traps were activated on 11<sup>th</sup> May 2011 (BBCH 45) at a distance of 15 meters in the experimental plots and took off on 13<sup>th</sup> July 2011 (BBCH 75). The flight activity of the orange wheat midge was investigated weekly (9 times) by counting the orange wheat midge males on the adhesive surfaces. To evaluate the larval infestation of wheat ears, 6 samples per plot were collected at 3 periods (flowering, milky and late milky stages). Later, these wheat ears will be inspected for counting thrips and wheat midges.

The results of the pheromone traps at the Gatersleben site showed a good activity of males of orange wheat midge; the maximum record was 59/trap/week. There was a weak coincidence between the main flight period of wheat midge and the optimum wheat stage of winter wheat for laying eggs (BBCH 47-60), because the weather condition in 2011 was not suitable for wheat midges development. The white traps results were subjected to a genetic association mapping study and analysed with the programs STRUCTURE and TASSEL. Numerous highly significant marker-trait associations for both wheat midge species were detected on different chromosomes. The experiments will be repeated with the same panel in the experimental field in Gatersleben in 2012.

### Testing for resistance to the orange wheat blossom midge (*Sitodiplosis mosellana*) at the Limagrain Breeding Station, Rosenthal

Mike Taylor

Limagrain GmbH; 31226 Peine-Rosenthal; Germany  
Contact: Mike.TAYLOR@limagrains.de

Wheat blossom midges cause widespread damage on wheat and other cereal crops. They were already identified in the 18th century and since this time there have been many reports in the agricultural and scientific literature on their occurrence and the damage they have caused. In the past attempts to reduce this damage were made by cultivation and rotation measures. No significant differences between varieties were found and variety choice played no role in prevention measures.

With the development of modern insecticides, breeding for insect resistance has become a low priority for breeders in Western Europe. The mainly partial resistances developed by breeders have not been an economic alternative to highly effective chemical treatments.

In the last 10–15 years the orange wheat blossom midge (*Sitodiplosis mosellana*) has again become a serious pest. Up to this time the midge occurred only cyclically, but in the main cereal growing areas of England it has now become endemic. This trend can also be seen in Denmark and Germany. In 2008 and 2009 there were also serious epidemics in France.

At the same time as the spread of the midge in England, varieties were identified that showed absolute resistance. By crossing with these sources of resistance, the proportion of

resistant varieties on the market and in development has risen dramatically. The basis of this resistance is now known and DNA markers have been developed to assist in selection work.

The major gene *Sm1* has remained effective over a widespread area for more than 50 years. However new resistance sources are necessary in case *Sm1* breaks down.

The orange wheat blossom midge reduces yield by larval feeding on developing grain and destruction of grain sites. Reduction of Hagberg falling number and hectolitre weight can also be expected.

The *Sm1* resistance is based on the antibiotic effects of higher levels of p-coumaric and ferulic acid found in the developing grain of resistant varieties. There is evidence, that the raised levels of these cell-wall bound phenolic acids occur constitutively (naturally) and also inductively (in response to insect attack).

Higher levels of ferulic acid are also involved in *Fusarium* resistance in Maize and wheat. It remains to be seen if varieties that are resistant to midge also have a higher resistance to *Fusarium*.

Ferulic acid is also involved in cross linkages between pentosan components of gluten and plays an important role in gas retention of dough.

Over the last eight years, the Limagrain breeding station in Rosenthal has proved to be ideal for screening varieties for resistance to the orange wheat blossom midge. Minimal soil cultivation, use of cannon-irrigation and 2nd and 3rd wheat and no insecticide sprays have certainly played a large role in this. Screening with head-threshers and the use of water catching trays have enabled resistance to be identified for the first time in many wheat varieties (eg. Altigo, Skalmjeje, Kometus, Batuta, Sakura).

A second Limagrain site, Oberpleichfeld, (Wuerzburg region of Bavaria) is now being used for screening for resistance to the yellow (lemon) wheat blossom midge (*Contarinia tritici*). The yellow wheat blossom midge has been increasing dramatically over the last three years in England and almost nothing is known about genetic resistance mechanisms apart from the fact they appears to be very different from resistance mechanisms to the orange wheat blossom midge.

### Investigation of long-term effects of different temperatures on development time, body weight and fat body content of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Col.; Coccinellidae)

Sandra Krenzel & Bernd Freier

Julius Kühn-Institut (JKI), Institute for Strategies and Technology Assessment, Stahnsdorfer Damm 81, 14532 Kleinmachnow, Germany.

Contact: Sandra.Krenzel@jki.bund.de

A climate chamber experiment was performed to investigate long-term effects of elevated temperatures on *Harmonia axyridis* (Pallas). Therefore, individuals of two separate strains, reared at “normal” (T0 – mean: 17.8°C, max: 21.8°C, min.: 13.4°C) and “highly elevated” (T6 – mean: 23.8°C,

max: 29.5°C, min: 17.9°C) temperature conditions, were used. At the time of experiment, the stocks comprised 6 generations at T0 and 10 generations at T6. Freshly hatched first instars of both strains (T0 and T6) were treated at the same elevated temperature regime T3 (mean: 20.8°C, max: 25.5°C, min: 15.7°C). The coccinellids were kept separately and daily fed on *Sitobion avenae* (Fabr.) ad libitum for entire development time up to ten-day-old adults. Development time and eclosion weight of fresh adults as well as body weight and fat body content of 10-day-old adults were measured within this investigation.

Individuals of both treatments required very similar development times. *H. axyridis* reared at T0 accumulated higher eclosion weights and body weights (10-day-old adult) than individuals out of T6. Previous investigations (Krengel & Freier 2011) on short-term effects of elevated temperatures confirm these tendencies. Females out of normal temperatures (T0) reached 48.8 mg and females out of highly elevated temperatures (T6) 42.3 mg, for example. At both treatments, body weights of *H. axyridis* males are significantly lower than those of females. The analyses of fat body contents of 10-day-old adults revealed surprisingly similar results. Both, males reared at T0 and T6, accumulated exactly the same fat body content of 103.7 µg triglycerides per mg dry mass when treated at T3. Females out of T0 synthesised 54.4 µg triglycerides per mg dry mass and females out of T6 60.0 µg triglycerides per mg dry mass and therefore considerable less than males. We assume a higher energy conversion as one reason for lower fat body contents in reproductive females. Studies of Seagraves (2009) and Beenackers et al. (1985) confirm this assumption.

Only in term of body weight, the present study suggests long-term effects of different temperatures. At same temperature conditions (T3), *H. axyridis* individuals reared at T0 accumulated higher body weights than individuals reared at highly elevated temperatures (T6). In term of development time and fat body content no significant differences between treatments could be resulted.

#### References

- Beenackers AMTh, Horst van der DJ & Marrewijk van WJA, 1985. Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological processes. *Prog Lipid Res* 24, 19-67.
- Krengel S & Freier B, 2011. Comparative climate chamber investigation of the effects of different temperature profiles on the development, feeding, weight and fat body content of *Coccinella septempunctata* and *Harmonia axyridis*. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 18.
- Seagraves MP, 2009. Lady beetle oviposition behavior in response to the trophic environment. *Biol Control* 51, 313-322.

#### Population development of the lupine aphid *Macrosiphum albifrons* on different genotypes of the narrowleaf lupine *Lupinus angustifolius*.

Annette Berndt & Edgar Schliephake

JKI-Federal Research Centre for Cultivated Plants; Institute of Resistance Research and Stress Tolerance; 06484 Quedlinburg; Germany

Contact: edgar.schliephake@jki.bund.de

Lupines are agricultural valuable crop species due to the high protein content in the seeds, the ability to fix nitrogen with the help of symbiotic bacteria, and due to its deep root system being ameliorative for the soil structure. Plant and seeds of most lupine species contain toxic metabolites like quinolizidine alkaloids which are poisonous for herbivores and also for humans and animals. To enhance the use of lupine seeds for human nutrition and animal feed, at the beginning of the last century varieties with low alkaloid content were developed resulting in a loss of their natural defense against herbivores like aphids. Aphids reduce the amount of assimilates by feeding on the phloem, inhibit the plant growth and are also vectors of different plant viruses. *Lupinus* spp. are host plants for many different aphids, but most important is the lupine aphid *Macrosiphum albifrons*. *M. albifrons* is originated from North-America, known in Europe since 1981 and is well adapted to the alkaloids of *Lupinus* species. With the tendency to enlarge the cultivation of sweet lupines in Germany it is necessary to investigate how the alkaloid content of lupine plants influences aphid development.

To get information on this, the aphid population development of *M. albifrons* on the sweet variety "Boregine" with low alkaloid content was compared to that on the alkaloid rich varieties "Azuro" and "PSG Otsaat Blaue". As parameters for the development, the weight growth of the larvae, the pre-reproduction time, longevity and the number of new born larvae per day were estimated. On the basis of these data life table parameters were calculated, i.e. net reproduction rate, the intrinsic rate of population increase, mean generation time, population doubling time and finite rate of population increase. The mean growth of the larvae as mg day<sup>-1</sup>, pre-reproduction time and all life table parameters showed that the sweet lupine variety "Boregine" was significantly more suitable for the aphid population than the bitter lupines. Among those "Azuro" was less suitable than "PSG Otsaat Blaue". These results indicate that a reduction of the alkaloid content leads to a better aphid population development. Therefore, an important goal of lupine breeding is the development of varieties having low alkaloid contents in the seeds but a satisfactory amount of alkaloids in leaves and stems to suppress the aphid population development.

### Efficiency of different strains of *Habrobracon hebetor* against some storage insects *Plodia interpunctella* and *Ephestia kuehniella* in the laboratory

Juliane Richter<sup>1</sup>, Christa Volkmar<sup>1</sup> & Olaf Zimmermann<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,

<sup>2</sup> AMW Nützlinge GmbH

Contact: Juliane.Richter89@web.de

Storage insects such *Plodia interpunctella* and *Ephestia kuehniella* occur in warehouses very often. It preferred to use biological control measures for controlling these insects, i.e. the antagonists. Nowadays, the well-known method is using *Trichogramma* wasps (This egg parasitoid lays its eggs into moth eggs, so they mortify). In this study, we tested an alternative method, the larval parasitoid *Habrobracon hebetor* (Say). Three different strain-origins were evaluated, from Germany, Spain and Egypt. The longevity of *H. hebetor*, the paralysing and parasitisation rates, also cocoons building, emergence rate and survival of the F1-generation were investigated. These experiments were conducted in Petri dishes in the laboratory, separated for each strain-origin. Three different host variants were used: The first, five *Plodia* larvae, the second, five *Ephestia* larvae and the third, three *Plodia* plus three *Ephestia*; one *H. hebetor* female was added for each Petri dish which was inspected daily. Three replicates were used for each treatment.

Mean of longevity of *H. hebetor* German-strain female was 6.7 days, the Spanish 8.1 days and the longest one was the Egyptian strain to 11.4 days. The parasitoid longevity on *Plodia*- and *Ephestia* Petri dishes was similar, but *Ephestia* is slightly longer with 8 days than *Plodia* (7 days). The average of paralysing rate by *H. hebetor* was 12.5% on German strain and 25% on Spanish origin; while it was 39.1% on Egyptian strain. Later, these damaged larvae were died. The parasitism rates by *H. hebetor* Spanish line were 40.1% on all different hosts and by German strain were only 21.9% whereas it reached up to 26.1% by the Egyptian one. Generally, cocoons were formed in a high number but the hatching rate was low (19.6%). In the German strain, *H. hebetor* formed 31 cocoons, but only 5 individuals emerged out (emergence rate was 16.13%). While the emergence rate was 18.1% in the Spanish line (116 cocoons were built and 21 wasps emerged). The best emergence rate

was recorded by the Egyptian strain, it reached to 25.0% (72 cocoons were produced and 18 adults hatched out). The survival of the F1-generation was 3.6 days for the German line and 3.3 days for the Spanish strain; while the best one was the Egyptian line which reached to 6.4 days.

Finally, we can conclude that the Egyptian strain obtained the best outcomes. Further studies are ordered to investigate the efficiency of these 3 strains in greenhouse experiments to suppress European corn borer, *Ostrinia nubilalis*.

### Development unit-days – Improvement in the realism of elementary temperature supported prognosis in plant protection

Lutz Richter

Martin-Luther-University Halle-Wittenberg

Contact: lutz.richter@landw.uni-halle.de

Since about 100 years degree-days was used in the forecast of the duration of biological processes in agriculture, horticulture and forestry. For extended periods the conformity of these predictions with the reality, many times is not enough accurate. Differences between measured data from the air and actual temperatures in microclimate until now are considered to be a main cause of such discrepancies. From inquiries of the English grain aphid (*Sitobion avenae* FABR.) in winter wheat over 27 years from the area Halle/Saale (Germany) resulting indications, that changes of the effective temperatures and the pace of development, already in the range of the lower developmental threshold temperature and the thermal optimum, to interrelate nonlinear. Thereby the prerequisite to implement degree-days (development time (t) • effective temperature (T) = constant) is not fulfilled. With the help of an equation adapted to the real growth a developmental value for every temperature is to calculate. Data by a system of equations adapted to that effect can be used as equivalents for the progress of development in a modified degree-day calculation. In the example the proximity to the realness could be increased so up to the factor one thousand. It is to assume that development unit-days be applicable also in many other cases for a successful perfecting or create of prediction models.

**43. JAHRESTREFFEN  
DES DPG- ARBEITSKREISES  
„VIRUSKRANKHEITEN DER PFLANZEN“  
AM 31.MÄRZ + 1.APRIL 2011**

**PROGRAMM DES 43. JAHRESTREFFENS DES DPG-ARBEITSKREISES  
"VIRUSKRANKHEITEN DER PFLANZEN"  
AM 31. MÄRZ + 1 APRIL 2011**

*Großer Sitzungssaal des Julius Kühn Instituts (JKI), Messeweg 11-12*

| <b>Donnerstag, 31. März 2011</b> |  |
|----------------------------------|--|
| 13:00 – 13:20                    | Anreise und Tagungsanmeldung im Vorraum des Großen Sitzungssaals des Julius Kühn Instituts (JKI), Messeweg 11-12   |
| 13:20 – 13:30                    | Stephan Winter & Heinrich-Josef Vetten: Begrüßung & Organisatorische Bekanntmachungen  |
| <b>13:30 – 15:00</b>             | <b>Sektion I: Moderation Edgar Maiss</b>   |
| 13:30 – 14:10                    | Gastvortrag<br><b>Genetic recombination in plant RNA viruses: the example of brome mosaic virus</b><br>Jozsef Bujarski, USA  |
| 14:10 – 14:30                    | <b>Tobacco rattle virus (TRV)-Infektionen in Alstroemeria und Tulpen: Deletionen und Rekombinationen mit den 3'-Enden unterschiedlicher tobaviraler RNA 1-Spezies haben zu einer Vielzahl von TRV-TCM-verwandten RNA 2-Spezies geführt</b><br><i>Koenig, R., Lesemann, D.-E., Pfeilstetter, E., Winter, S.</i> |
| 14:30 – 14:50                    | <b>Gewebe-spezifischer Einfluss von Geminiviren auf die somatische homologe Rekombination der Wirtspflanze</b><br><i>Richter, K., Kleinow, T., Jeske, H.</i>   |
| <b>14:50 – 15:40</b>             | <b>KAFFEE-/TEEPAUSE (Poster Session)</b>   |
| <b>15:40 – 18:00</b>             | <b>Sektion II: Moderation Wulf Menzel / Stephan Winter</b>   |
| 15:40 – 16:00                    | <b>Untersuchungsmethoden der Elektronenmikroskopie für die Pathogendiagnose</b><br><i>Richert-Pöggeler, K., Maaß, C., Schuhmann, S., Zimmermann, E.</i>  |
| 16:00 – 16:20                    | <b>European nanoviruses: Identification of three new species and new DNA components</b><br><i>Grigoras, I., Timchenko, T., Gronenborn, B., Vetten, H.-J.</i>   |
| 16:20 – 16:40                    | <b>Ein für Deutschland neues bodenbürtiges Furovirus an Wintergerste</b><br><i>Rabenstein, F., Fomitcheva, V., Kühne, T.</i>   |
| 16:40 – 17:00                    | <b>Sind serologisch eng mit dem Cowpea mild mottle virus verwandte Carlaviren abweichende Isolate oder verschiedene Spezies?</b><br><i>Menzel, W., Hamed, K., Winter, S., Vetten, H.-J.</i>  |
| <b>17:00 – 17:10</b>             | <b>PAUSE</b>   |
| 17:10 – 17:30                    | <b>Real-Time-PCR in der Kartoffelforschung - vielfältige Einsatzmöglichkeiten am Beispiel des quantitativen Nachweises von Potato virus Y in Kartoffelpflanzen und Aphiden</b><br><i>Hühnlein, A., Schubert, J., Thieme, T., Schliephake, E.</i>   |
| 17:30 – 17:50                    | <b>Herstellung eines infektiösen Klons des Hop latent virus</b><br><i>Ziegler, A., Schubert, J.</i>  |
| 17:50 – 18:10                    | <b>Herstellung infektiöser Vollängenklone durch Circular Polymerase Extension Cloning (CPEC)</b><br><i>Maiss, E.</i>   |
| 18:10 – 18:20                    | <b>Vorschlag für ein bundesweites Pflanzenvirologie-Projekt</b><br><br>Adam, G.  |

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| 18:20 – 19:00                 | <b>Allgemeines</b>   |
| ab 19:00                      | <b>Abendessen und Gemütliches Beisammensein im Gewächshaus</b>   |
| <b>Freitag, 1. April 2011</b> |  |
|                               |  |
| <b>09:00 – 10:30</b>          | <b>Sektion III: Moderation Bruno Gronenborn</b>  |
| 09:00 – 09:30                 | Einführungsvortrag<br><b>Circomics of geminiviruses</b><br><i>Jeske, H., Krenz, B., Horn, J., Wyant, P., Paprotka, T.</i>  |
| 09:30 – 09:50                 | <b>Inter-species complementation of Old and New World begomoviruses in spread: "Artificial" two-component infections dissect virus-plant-interactions</b><br><i>Deuschle, K., Saalfank, H., Kober, S., Krenz, B., Wege, C.</i> |
| 09:50 – 10:10                 | <b>Changes in the architecture of nuclei and nuclear membranes evoke a novel intracellular traffic route of plant DNA viruses</b><br><i>Kleinow, T., Krenz, B., Kepp, G., Neugert, F., Wege, C., Jeske, H.</i>                 |
| <b>10:10 – 11:00</b>          | <b>KAFFEE-/TEEPAUSE (Poster Session)</b>   |
| <b>11:00 – 12:40</b>          | <b>Sektion IV: Moderation Christina Wege</b>   |
| 11:00 – 11:20                 | <b>Methylierung geminiviraler DNA</b><br><i>Deuschle, K., Paprotka, T., Metzler, V., Jeske, H.</i>   |
| 11:20 – 11:40                 | <b>Wie verhalten sich Begomoviren unterschiedlicher Pathogenität bei inaktivierter RNA-abhängiger RNA-Polymerase 6 (RDR6)?</b><br><i>Schnepf, V., Vo, D., Wege, C.</i>   |
| 11:40 – 12:00                 | <b>Ein RNase III Enzym des Sweetpotato chlorotic stunt virus (SPCSV) als ein Suppressor von RNA Silencing</b><br><i>Weinheimer, I., Rajamäk, M.-L., Cuellar, W., Kreuze, J.-F., Valkonen, J.-P.T.</i>                          |
| 12:00 – 12:20                 | <b>Modifizierung der Wirt-Vektor-Beziehung durch das Cucumber mosaic virus 2b-Protein</b><br><i>Ziebell, H., Murphy, A., Lewsey, M., Westwood, J., Du, Z., Tungadi, T., Moulin, M., Smith, A., Stevens, M., Carr, J.</i>       |
| 12:20 – 12:40                 | <b>HSP70 implication in the transmission of mono- and bipartite begomoviruses by the whitefly Bemisia tabaci B biotype</b><br><i>Kollenberg, M., Götz, M., Popovski, S<sup>2</sup>, Czosnek, H., Winter, S., Ghanim, M.</i>    |
| anschließend                  | <b>Tagungsende</b>   |



## POSTER

### **1 A new badnavirus infecting enset (*Ensete ventricosum*, Musaceae) in Ethiopia**

*Abraham, A., Menzel, W., Winter, S.*

### **2 Functionalization on a nanoscale: Tobacco mosaic virus exposing antibodies**

*Bartels, M., Mangold, S., Brodbeck, D., Eiben, S., Eber, F., Kadri, A., Kontermann, R., Jeske, H., Wege, C.*

### **3 Gewebespezifische und temperaturabhängige Rizomania-Resistenz in Rz1 Zuckerrübenhybriden**

*Bornemann, K., Varrelmann, M.*

### **4 Distribution of symptom determinants on the Arabis Mosaic Nepovirus genomic RNA2**

*Dupuis, L., Hember, C., Dunoyer, P., Bassler, A., Keller, M., Wetzler, T.*

### **5 RNA-directed in vitro assembly of mixed Tobacco mosaic virus coat proteins derived from *E. coli* and plants**

*Eiben, S., Eber, F., Jeske, H., Wege, C.*

### **6 Virussympptome an Zierpflanzenarten**

*Hamacher, J.*

### **7 Untersuchungen der Interaktion zwischen dem Beet necrotic yellow vein virus Pathogenitätsfaktor P25 und einem putativen Auxin-induzierbaren Transkriptionsfaktor aus *Beta vulgaris* und der subzellulären Ko-Lokalisation**

*Thiel, H., Varrelmann, M.*

### **8 Molekulare Analyse des Genus Betacryptovirus der Familie Partitiviridae**

*Lesker, T., Maiß, E.*

### **9 DsRNA-Screening an *Asparagus officinalis***

*Lesker, T., Blockus, S., Maiß, E.*

### **10 Binding of small double-stranded RNAs by a plant viral suppressor is enhanced by a member of the plant cupin superfamily**

*Füllgrabe, M., Boonrod, K., Rana, J.*

### **11 Expression des African cassava mosaic virus AC4-Proteins in *S.pombe* und seine Lokalisation mittels Fluoreszenzmikroskopie.**

*Rau, P., Hipp, K., Kleinow, T., Jeske, H.*

### **12 Vergleich der Nucleocapsidsequenz des European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV) aus schwedischen Ebereschen mit anderen Standorten**

*Robel, J., Arndt, N., von Barga, S., Jalkanen, R., Büttner, C.*

### **13 Monitoring von Hopfen auf Hop Stunt Viroid**

*Seigner, L., Anton, L., Seigner, E.*

**14 Ektopische Expression des ACMV Hüllproteins und Entwicklung von in vitro Bindungsstudien**

*Stachorski, L., Hipp, K., Kleinow, T., Kadri, A., Jeske, H.*

**15 Die Reaktionen von Abutilon mosaic virus und Tomato yellow leaf curl Sardinia virus auf Inaktivierung der RNA-abhängigen RNA-Polymerase 6 in Nicotiana benthamiana**

*Vo, D., Schnepf, V., Wege, C.*

**16 Die Helferkomponente-Protease (HC-Pro) des Plum pox virus interagiert in einem bimolekularen Fluoreszenzkomplementations (BiFC)-Assay in Nicotiana benthamiana nicht mit sich selbst.**

*Zilian, E., Maiß, E.*

**17 Erster Nachweis von CLRV und EMARAV in Laubgehölzen in Schweden**

*von Barga, S., Arndt, N., Dierker, L., Jalkanen, R., Büttner, C.*

## ABSTRACTS/VORTRÄGE

### **CIRCOMICS OF GEMINIVIRUSES**

Jeske, Holger, Krenz, Björn , Horn, Judith, Wyant, Patricia , Paprotka, Tobias  
*Universität Stuttgart*

“Circomics” is coined to describe the combination of RCA-based diagnosis of viruses with small circular DNA, deep sequencing, and cell-free construction of recombinant molecules in order to learn more about functional genomics and population genetics of geminiviruses. During a three years European project and two international summer schools on this topic, we have collected valuable experience that will be presented. Batch sequencing of 50 isolates revealed 79 geminiviral DNA components and satellite DNAs from all over the world within two weeks. Population structures of three geminiviruses have been analysed in further detail. A rational bioinformatic comparison of RFLP patterns and batch sequencing data will be explained and the consequences of the accumulating information on a meaningful naming of geminiviruses will be discussed.

### **METHYLIERUNG GEMINIVIRALER DNA**

Deuschle, Kathrin, Paprotka, Tobias, Metzler, Verena, Jeske, Holger  
*Biologisches Institut, Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen,  
Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart, Deutschland*

Geminiviren sind weltweit bedeutende Pflanzenpathogene, die zirkuläre einzelsträngige DNA enthalten (ssDNA). Diese wird durch Komplementär-strangsynthese zu doppelsträngiger, kovalent geschlossener zirkulärer DNA kopiert, welche in Nukleosomen verpackt wird und dabei Minichromosomen bildet. Des Weiteren wird die DNA auch über Rolling circle- und Rekombinationsabhängige Replikation repliziert, was zu einer großen Ansammlung heterogener linearer dsDNA führt. In vergangenen Experimenten konnte durch Bisulfitsequenzierung mit anschließender Polymerasekettenreaktion (PCR) gezeigt werden, dass geminivirale DNA an Cytosinen methyliert sein kann. Bisher basierten jedoch alle Versuche auf PCR und es war deshalb nicht möglich, eine Unterscheidung der verschiedenen geminiviralen Formen in Bezug auf Methylierung zu treffen. Es ist besonders interessant herauszufinden, ob vorwiegend heterogene lineare oder zirkuläre dsDNA methyliert wird.

Aus diesem Grund wurden verschiedene Methoden auf Basis von rolling circle Amplifizierung entwickelt, die das Vorhandensein einer C-Methylierung in zirkulärer geminiviraler DNA überprüfen sollten. Dadurch konnte zum ersten Mal eine statistische Überprüfung der Relevanz der C-Methylierung durchgeführt werden. Es wurden exemplarisch zwei unterschiedliche Viren des Genus Begomovirus gewählt: Tomato Yellow Leaf Curl Sardinia Virus (TYLCSV), ein monopartites Alt-Welt-Virus, und Abutilon Mosaic Virus, ein bipartites Neu-Welt-Virus. Beide Viren wurden innerhalb des Virusverlaufs in der Modellpflanze *Nicotiana benthamiana* untersucht. Erste Experimente mit methylierungssensitiven Restriktionsenzymen ließen vermuten, dass Geminiviren dem durch Methylierung verursachten silencing durch rolling circle- und Rekombinationsabhängige Replikation entkommen könnten. Methylierte Basen wurden außerdem anhand methylcytosin-spezifischer Antikörper und methylierungsabhängiger Restriktionsenzyme detektiert und die DNA anhand von ein- und zweidimensionaler Gelelektrophorese mit Chloroquin als DNA-Interkalator analysiert.

## **INTER-SPECIES COMPLEMENTATION OF OLD AND NEW WORLD BEGOMOVIRUSES IN SPREAD: "ARTIFICIAL" TWO-COMPONENT INFECTIONS DISSECT VIRUS-PLANT-INTERACTIONS**

Deuschle, Kathrin, Saalfank, Heike, Kober, Sigrid, Krenz, Björn, Wege, Christina  
*University of Stuttgart, Institute of Biology, Dpt. of Molecular Biology and Plant Virology, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Germany*

Tomato-infecting begomoviruses have realized distinct concepts of genome organization and utilization. Whereas the Old World Tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV) harbours a single ssDNA circle fulfilling all functions, New World viruses such as Abutilon mosaic virus (AbMV) express two movement-associated proteins from a separate DNA B. Their mode of action differs from the transport system of TYLCSV. Unexpectedly, we have discovered that TYLCSV may not only fully replace the AbMV DNA B for long-distance spread in *N. benthamiana*, but can even perpetuate and intensify systemic establishment of AbMV DNA A. This was shown by Southern analyses, and by extensive tracing of a GFP-expressing AbMV- $\Delta$ CP-DNA A longitudinally along stems, which prove that AbMV CP was not essential in the interaction. Cross-slicing of whole stems revealed that TYLCSV sustained continuous infiltration of many cells in the inner and outer phloem by AbMV A, ongoing throughout the host's lifespan. This dramatically differed from its behaviour with cognate DNA B, when - after a peak - AbMV A accumulation soon ceased and remained limited to only few productive cells in newly grown tissues. In situ hybridisation on systemic organs and on isolated nuclei revealed that both types of viral DNAs did not share same, but segregated into distinct nuclei. This was strikingly different from co-infections with closely related begomoviruses, which co-invaded numerous cells. This hints at an indirect support of AbMV by TYLCSV, e.g. via its silencing suppression system, rather than at a direct gating or even a physical co-transport through plasmodesmata.

## **EUROPEAN NANOVIRUSES: IDENTIFICATION OF THREE NEW SPECIES AND NEW DNA COMPONENTS**

Grigoras, Ioana<sup>1</sup>, Timchenko, Tania<sup>1</sup>, Gronenborn, Bruno<sup>1</sup>, Vetten, H. Josef<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institut des Sciences du Végétal, CNRS, 91198, Gif sur Yvette, France*

<sup>2</sup>*Julius Kühn Institute, Federal Research Centre for Cultivated Plants (JKI), Institute of Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany*

Viruses of the genus Nanovirus (family Nanoviridae) predominantly infect legumes, are persistently transmitted by aphids, and have small virions (17-20 nm) and genome segments (~1 kb). The nanovirus genome is typically formed by a set of eight circular single-stranded (ss) DNAs, each of which is individually encapsidated. Nanoviruses occur in the Old World but, until recently, were not known to occur in Europe, apart from the sporadic occurrence of Faba bean necrotic yellows virus (FBNYV) in southern Spain. By characterizing viruses of pea crops in Germany in 2009, we identified a hitherto undescribed nanovirus. Its eight DNA components were sequenced, and clones thereof served to reconstitute an infectious and aphid-transmissible nanovirus. Since this virus differed from known nanoviruses by ~40% in overall nucleotide sequence we regarded it as a new nanovirus species and named it pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV). The use of selected broad-spectrum monoclonal antibodies for the analysis of about 100 symptomatic pea plants collected in Austria, Hungary, Serbia and Sweden in 2010 revealed that >50% of these plants were infected by a nanovirus. Epitope profiling and sequence analysis suggested that the vast majority of the infections are caused by PNYDVs, very similar to the German isolate of PNYDV. The high incidence and severe symptoms of PNYDV in Austria, Hungary and Serbia suggest that this virus emerges as important production constraint for organically farmed pea crops in south-eastern Europe. Moreover, both epitope profiling and sequence analysis indicated the

existence of two additional nanovirus species in Europe, which differ in capsid protein amino acid sequences from PNYDV and other nanoviruses by > 40%. These new species are currently represented by (i) a pea isolate from Austria (AT15) and (ii) a pea isolate from Sweden (SE153) and a nanovirus isolate from a Medicago lupulina plant in Austria (AT3). The latter are sufficiently similar to be considered as host-adapted and/or geographic variants of the same nanovirus species. Two strikingly distinct variants of DNA-U2 differing also from all other known DNA-U2 components were also encountered in both AT3 and AT15. In addition to a genetically diverse range of hitherto undescribed paraRep-encoding DNAs ('alphasatellites') that were associated with AT3, AT15, SE153, and PNYDV isolates, we identified a small (503 nts) DNA component (DNA-X) from an Austrian isolate of PNYDV (AT1). Its sequence lacks a major ORF but shares the common regions SL (stem loop) and II with the genomic DNAs of PNYDV. DNA-X was detected in 9 of 16 geographically separated PNYDV isolates from Austria and could be maintained by aphid transmission. Therefore, it may represent a new type of satellite DNA associated with nanoviruses. Our data suggest that nanoviruses are more widespread in the Old World than originally thought and exhibit new features in genome organization and association with satellite DNAs.

## **REAL-TIME-PCR IN DER KARTOFFELFORSCHUNG - VIELFÄLTIGE EINSATZMÖGLICHKEITEN AM BEISPIEL DES QUANTITATIVEN NACHWEISES VON POTATO VIRUS Y IN KARTOFFELPFLANZEN UND APHIDEN**

Hühnlein, Anja<sup>1</sup>, Schubert, Jörg<sup>1</sup>, Thieme, Thomas<sup>2</sup>, Schliephake, Edgar<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Sicherheit in der Gentechnik bei Pflanzen, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

<sup>2</sup>BTL Biotest Labor Sagerheide, Birkenallee 19, 18184 Sagerheide

<sup>3</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

Im Rahmen eines BMBF-geförderten Projektes wurde eine Methode zum quantitativen Nachweis von PVY in Kartoffelpflanzen, -knollen und Aphiden entwickelt, welche vielfältige Anwendungsmöglichkeiten in der Kartoffelforschung eröffnet. Mit dem entwickelten qPCR-Assay wurde eine Methode erarbeitet, mit der effizient, kostengünstig und mit hohem Durchsatz PVY sicher detektiert und quantifiziert werden kann. Zudem ist dabei eine Unterscheidung der PVY-Stämme PVYO und PVYNWilga auf der einen und PVYN und PVYNTN auf der anderen Seite möglich. Die Methode kann sehr vielfältig in den verschiedensten Bereichen der Kartoffelforschung und -züchtung angewendet werden.

Die erarbeitete Methode findet u.a. in der Sicherheitsforschung gentechnisch veränderter (GV) Kartoffelsorten ihre Anwendung. Mit ihr wurde untersucht, ob GV-Sorten veränderte Empfindlichkeiten gegen PVY im Vergleich zu ihren isogenen Linien und verschiedenen Vergleichsorten aufweisen. Die getesteten GV-Sorten zeigten keine Veränderung der Empfindlichkeit gegen PVY.

Die hohe Sensitivität der entwickelten Methode macht es weiterhin möglich, eine PVY-Infektion bereits in den noch nicht gekeimten Knollen zu detektieren. Somit könnte für die Zertifizierung von Pflanzkartoffeln auf die platz-, kosten- und zeitintensive Augenstecklingsprüfung verzichtet werden.

Eine weitere Einsatzmöglichkeit des Nachweises von PVY durch real-time PCR findet sich in der Kartoffelzüchtung, da mittels Quantifizierung des Virusgehaltes bestimmt werden kann, ob in einer zu untersuchenden Pflanze eine extreme Resistenz vorhanden ist. Diese Resistenz ist charakterisiert durch das Fehlen oder Vorhandensein nur sehr geringer Virusmengen in der Pflanze nach Inokulation. Da beim ELISA häufig unspezifische Reaktionen zu beobachten sind, die eine Unterscheidung nicht infizierter von sehr schwach infizierten Pflanzen erschweren, ermöglicht die exakte Quantifizierung des PVY-Gehaltes eine höhere Sicherheit

bei der Bestimmung des Resistenztyps. So wurden beispielsweise bei Klonen, die Resistenzgene aus *Solanum tarnii* enthalten, eine um das Tausendfache verringerte Anzahl PVY-Partikel im Vergleich zu anfälligen Sorten nachgewiesen. Eine Schwelle, die den Beginn einer extremen Resistenz markiert, muss allerdings anhand von Experimenten mit weiteren Herkünften möglicher extremer Resistenz noch festgelegt werden.

Da *Myzus persicae* neben *Aphis nasturtii* als der bedeutendste Vektor zur Übertragung und Verbreitung von PVY angesehen wird, soll das entwickelte qPCR-Assay auch zur Untersuchung des PVY-Gehaltes in Aphiden eingesetzt werden. Die Verdrängung der Stämme PVYN und PVYO durch PVYNTN und PVYNWilga könnte eine Folge von unterschiedlich effizienter Übertragung durch *M. persicae* sein. Daher soll untersucht werden, ob im Saugrüssel von *M. persicae* mehr Viruspartikel der rekombinanten Formen von PVY binden als Partikel der Hauptstämme PVYN und PVYO. Auf Grund der hohen Empfindlichkeit der Nachweismethode, war es möglich, noch zwei PVY-Partikeln in *M. persicae* zu detektieren.

### **EIN RNASE III ENZYM DES SWEETPOTATO CHLOROTIC STUNT VIRUS (SPCSV) ALS EIN SUPPRESSOR VON RNA SILENCING**

Isabel Weinheimer<sup>1</sup>, Minna-Liisa Rajamäki<sup>2</sup>, Wilmer Cuellar<sup>3</sup>, Jan F. Kreuze<sup>3</sup>, Jari P.T. Valkonen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Agricultural Sciences, PO Box 27, FIN-00014 University of Helsinki, Finland, RLP AgroScience GmbH, AlPlanta-Institute for Plant Research, Breitenweg 71, D-67435 Neustadt, Germany*

<sup>2</sup>*Department of Agricultural Sciences, PO Box 27, FIN-00014 University of Helsinki, Finland*

<sup>3</sup>*International Potato Center, Germplasm Enhancement and Crop Improvement Division, Apartado 1558, Lima 12, Peru*

Süßkartoffel (*Ipomoea batatas* L.) ist die siebtwichtigste Nahrungspflanze der Welt, das drittwichtigste Knollen- und Wurzelgemüse nach Kartoffel und Maniok, und eine sehr wichtige Grundlage und der Lebensmittelsicherheit dienende Kulturpflanze für die ländliche Bevölkerung in vielen tropischen Regionen der Welt. Die Viruserkrankung der Süßkartoffel (SPVD) ist die einzige schwere Erkrankung von Süßkartoffeln in Afrika südlich der Sahara. Sie entwickelt sich in einer Ko-Infektion der Pflanze mit dem auf das Phloem beschränkten Sweetpotato chlorotic stunt virus (SPCSV, Familie Closteroviridae) und dem heterologen, nicht Phloem beschränkten Sweetpotato feathery mottle virus (SPFMV, Familie Potyviridae). Dieser Synergismus ermöglicht die Erhöhung des Titers von SPFMV um das 600-1000 fache, während der Titer des SPCSV unverändert bleibt. SPCSV kodiert für zwei Proteine, p22 und RNase3, die in einem frühen Infektionsstadium exprimiert werden. RNase3 ist eine doppelsträngige RNA (dsRNA)-spezifische Endoribonuklease III der Klasse 1. Diese ermöglicht die Unterdrückung des RNA-Silencing (RNAi), dem grundlegenden antiviralen Abwehrsystem der Pflanzen, wenn sie zusammen mit p22, einem starken Silencing Suppressoren exprimiert wird. Das Ziel dieser Studie war es, die Rolle von p22 und RNase3 im viralen Synergismus, dem Auslöser des schwerwiegenden SPVD, zu ergründen. Eine SPFMV resistente Süßkartoffelsorte "Huachano" wurde transformiert um die RNase3 oder das p22 transgen zu exprimieren. Transgene Linien wurden mittels SPFMV Infektion überprüft. Die Expression von RNase3 alleine reichte aus, um Huachano anfällig für SPFMV zu machen. Die transgenen Pflanzen akkumulierten hohe Titer an SPFMV und entwickelten die typischen Symptome der SPVD. Im Gegensatz dazu konnte die Expression von p22 alleine die Resistenz gegen SPFMV nicht durchbrechen. Dies geht mit der Tatsache einher, dass SPCSV Isolate, denen das p22-Gen fehlt, auch in einer Ko-Infektion mit SPFMV in der Süßkartoffel Symptome des SPVD verursachen. Kürzlich wurde entdeckt, dass die RNase3 synthetische doppelsträngige small interfering RNAs (siRNAs) spalten kann sowie in einem in vitro Experiment die gesamten isolierte siRNAs aus infiziertem Pflanzengewebe reduzierte.



Diese Ergebnisse implizieren einen neuen Mechanismus, mit dem Viren RNA-Silencing unterdrücken können. In diesem Zusammenhang sind wir daran interessiert, die Substratspezifität der RNase 3 aufzuklären.

## **UNTERSUCHUNGSMETHODEN DER ELEKTRONENMIKROSKOPIE FÜR DIE PATHOGENDIAGNOSE**

Katja R. Richert-Pöggeler<sup>1</sup>, Christina Maaß<sup>1</sup>, Sabine Schuhmann<sup>1</sup>, Elke Zimmermann<sup>2</sup>

<sup>1</sup>JKI/EP, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

<sup>2</sup>JKI/EP, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Germany

Die Mikroskopie im Allgemeinen und die Elektronenmikroskopie im Besonderen erlebt seit den letzten Jahren eine Renaissance. Während früher hauptsächlich morphologische Aspekte im Vordergrund standen, sind heutzutage neben deskriptiven auch funktionelle Analysen durch die zur Verfügung stehende Vielfalt an Untersuchungsmethoden möglich. Die neueren Geräte zeichnen sich durch Bedienungsfreundlichkeit und digitale Bilderstellung aus.

Die Entwicklung neuer Vakuumsysteme und Detektoren in der Rasterelektronenmikroskopie erlaubt eine direkte und damit schnelle Untersuchung von biologischen Proben. Somit ist eine aufwendige Aufarbeitung zur Trocknung und Herstellung der Leitfähigkeit nicht mehr erforderlich.

Beispiele für den Einsatz verschiedener Optionen des Transmissions- und Rasterelektronenmikroskops für die Diagnose von Viren bzw. deren Vektoren werden dargestellt.

## **TOBACCO RATTLE VIRUS (TRV)-INFEKTIONEN IN ALSTROEMERIA UND TULPEN: DELETIONEN UND REKOMBINATIONEN MIT DEN 3'-ENDEN UNTERSCHIEDLICHER TOBRAVIRALER RNA 1-SPEZIES HABEN ZU EINER VIELZAHL VON TRV-TCM-VERWANDTEN RNA 2-SPEZIES GEFÜHRT**

Koenig, R.<sup>1</sup>, Lesemann, D.-E.<sup>1</sup>, Pfeilstetter, E.<sup>2</sup>, Winter, S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>c/o JKI, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11, D38104 Braunschweig

<sup>2</sup>JKI, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit, Messeweg 11, D38104 Braunschweig

<sup>3</sup>DSMZ Plant Virus Department, Messeweg 11, D38104 Braunschweig

Tobraviren (z.B. Tobacco rattle virus – TRV; Pea early browning virus - PEBV) werden als gestreckte Viren mit bipartitem Genom beschrieben. Ihre RNA 1 enthält die Gene für Replikationsenzyme, Transport-Protein und silencing suppressor. Ihre RNAs 2 bestehen aus einem RNA 2-spezifischen 5'-Bereich mit Hüllprotein-Gen und u.U. weiteren Genen und einem unterschiedlich langem 3'-Ende, das weitgehend identisch mit dem 3'-Ende einer tobaviralen RNA 1 ist. In einer Tobravirus-infizierten Alstroemeria identifizierten wir eine RNA 1 (TRV-AL RNA 1) und sieben verschiedene RNAs 2. Letztere zeigten in ihrem RNA 2-spezifischen 5'-Bereich eine fast 100 %ige Sequenzidentität mit der TRV-TCM RNA 2 aus Tulpen. Allerdings war der RNA 2-spezifische Bereich in einigen TRV-AL RNA 2-Molekülen länger, in anderen wesentlich kürzer als in der TRV-TCM RNA 2. Die Größe und darüber hinaus auch die Basenzusammensetzung der RNA 1-verwandten 3'-Enden variierten ebenfalls in den verschiedenen TRV-AL RNA 2-Molekülen. In Molekülen mit langem RNA 2-spezifischem Anteil war der RNA 1-verwandte Teil mit ca. 250 Basen relativ kurz, während er bei Molekülen mit verkürztem RNA 2-spezifischem Anteil wesentlich länger war. Erstaunlicherweise war der RNA 1-ähnliche Teil in den Molekülen mit langem RNA 2-spezifischem Anteil (TC3'PE-Moleküle) fast 100 % identisch mit dem 3'-Ende der PEBV RNA 1. In RNA 2-Molekülen mit verkürztem RNA 2-spezifischem Anteil war er hingegen

100% identisch mit dem 3'-Ende der TRV-AL RNA 1 (TC3'AL-Moleküle). Offenbar handelt es sich bei den TC3'-PE-Molekülen um phylogenetisch ältere Formen, aus denen die TC3'-AL-Moleküle durch Deletionen und Rekombinationen mit dem 3'-Ende der als einziger vorhandenen TRV-AL RNA 1 hervorgegangen sind. Möglicherweise repräsentieren die in *Alstroemeria*, Tulpen und einigen anderen Wirten beschriebenen RNA 2-Varianten mit unterschiedlich hohem Anteil an PEBV-Genomanteilen Schritte eines Adaptationsprozesses, in dem in PEBV RNA 2-Molekülen PEBV-Genomelemente durch entsprechende TRV-Genomteile ausgetauscht werden. Da das TRV im Gegensatz zum PEBV eine große Anzahl unterschiedlicher Wirte infiziert, könnten derartige Austausche Teil eines Adaptationsprozesses sein, der den weiten Wirtspflanzenkreis des TRV auch für ursprünglich vom PEBV stammende RNAs 2 öffnet (JGV im Druck).

## **HERSTELLUNG INFEKTIÖSER VOLLLÄNGENKLONE DURCH CIRCULAR POLYMERASE EXTENSION CLONING (CPEC)**

Maiss, Edgar

*Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*

Infektiöse Vollängenklone von Pflanzenviren sind wichtige Werkzeuge zur Untersuchung viraler Funktionen im Infektionsverlauf. Für die Herstellung infektiöser Klone von Viren deren Genom aus RNA besteht, wurden in den vergangenen Jahren verschiedene Prozeduren entwickelt, u.A. wurden Vollängenklone aus einzelnen DNA-Fragmenten über z.B. gemeinsame Restriktionsendonuklease-Schnittstellen zusammengefügt. Sehr häufig wurde die cDNA dabei auch unter die Kontrolle eines Phagenpromoters gebracht, so dass die Produktion von viralen Transkripten *in vitro* ermöglicht wurde. Eine Alternative dazu ist die Klonierung der cDNA Teilkclone unter die Kontrolle eines in Pflanzen aktiven Promoters. Hierfür wurde sehr häufig der 35S Promoter des Cauliflower mosaic virus (CaMV) verwendet. Nach Übertragung des Vollängenklones durch mechanische Inokulation oder Partikelbombardment entstehen virale Transkripte *in planta*, die zur Infektion führen.

Mit Hilfe von Circular Polymerase Extension Cloning (CPEC) ließen sich infektiöse Vollängenklone des Tobacco mosaic virus (TMV) und des Plum pox virus (PPV) ohne die Verwendung von Restriktionsenzymen und Ligase herstellen. Hierzu wurde zunächst ein binärer Vektor mit dem 35S Promoter des CaMV sowie Terminationssequenzen ausgestattet. Mittels RT-PCR wurden 4 Fragmente des TMV, bzw. 6 Fragmente des PPV erzeugt. Diese Fragmente wurden anschließend gleichzeitig (TMV) oder sukzessive (TMV, PPV) in den binären Vektor durch CPEC eingebracht. Die erhaltenen Vollängenklone wurden nach Elektroporation in Agrobakterien auf *Nicotiana benthamiana* Pflanzen agroinokuliert. Nach etwa 12-18 Tagen konnte die erfolgreiche Infektion der Pflanzen durch Symptombonitur bzw. RT-PCR Nachweis der Viren bestätigt werden. Damit steht ein Verfahren zur Verfügung, welches neben Oligonukleotiden lediglich den Einsatz einer Reversen Transkriptase sowie einer hitzestabilen Polymerase erfordert und in relativ kurzen Zeiträumen die Herstellung von infektiösen Vollängenklonen im Bereich bis etwa 10 kb ermöglicht.

## **SIND SEROLOGISCH ENG MIT DEM COWPEA MILD MOTTLE VIRUS VERWANDTE CARLAVIREN ABWEICHENDE ISOLATE ODER VERSCHIEDENE SPEZIES?**

Menzel, Wulf<sup>1</sup>, Hamed, Khalid<sup>1</sup>, Winter, Stephan<sup>1</sup>, Vetten, Heinrich-Josef<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*DSMZ Plant Virus Collection, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig*

<sup>2</sup>*Julius Kühn Institute, Institute of Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig*

Das Cowpea mild mottle virus (CPMMV, Carlavirus) wurde erstmals 1973 in Westafrika an Kundebohne beschrieben und in den folgenden Jahren an vielen weiteren Leguminosen wie z.B. Erdnuss oder Sojabohne auch in anderen Erdteilen (Südamerika, Asien) gefunden. Darüber hinaus wurden Isolate aus Tomate und Aubergine beschrieben, die zwar Ähnlichkeiten aufwiesen, aber eindeutig unterscheidbar waren. Bisher waren nur von mehreren Leguminosenisolaten kurze Sequenzen vom 3'-Ende verfügbar. Wir haben über dsRNA-Isolierung, random RT-PCR und TdT-RACE die vollständigen Genome des Typisolats aus Ghana, zweier Tomatenisolate aus dem Sudan (PV-0914 und W-149) und eines Auberginenisolats aus Jordanien (83-970) ermittelt. Alle diese Isolate konnten experimentell durch die Weiße Fliege (*Bemisia tabaci*) übertragen werden. Vergleiche zeigten, dass sich bereits die Genomgrößen deutlich unterscheiden, von ca. 8,1 kb für das Typisolat und W-149 bis ca. 8,7 kb für 83-970 und PV-0914. Diese Unterschiede sind überwiegend durch die Größe des ORF1 bedingt. Die nt Sequenzidentitäten liegen zwischen 55% und 64% (Typ und W-149). Vergleiche der Aminosäuresequenzen zeigen deutliche Unterschiede zwischen allen Isolaten für die Replikase (49-62%), das TGB1 (47-62%), TGB2 (42-66%), TGB3 (22-52%) und NABP (49-58%). Lediglich die Hüllproteine weisen größere Ähnlichkeiten auf: 91% für das Typisolat mit dem Tomatenisolat W-149 und 68-72% für die anderen Kombinationen. Entsprechend den molekularen Demarkationskriterien für Arten der Gattung Carlavirus (aa/nt Sequenzidentitäten  $\leq 80\%/72\%$ ) für die Replikase oder das CP) wären alle vier Isolate als eigenständige Spezies anzusehen. Es ist denkbar, dass es sich bei Isolat W-149 um eine Rekombinante aus einem CPMMV-Isolat und einem zweitem, bisher noch unbekanntem Elter handelt. Die Sequenzvergleiche für das CP bieten auch eine Erklärung für offensichtliche serologische Verwandtschaften. Das Tomatenisolat W-149 zeigte eine deutlich stärkere ELISA-Reaktion mit einem gegen ein Kundebohnenisolat erzeugten Antiserum als das Tomatenisolat PV-0914 und das Auberginenisolat. Auch im Wirtspflanzenkreis gibt es Unterschiede. So kann das Tomatenisolat W-149 ebenso wie das Typisolat auch *Phaseolus vulgaris* infizieren, das andere Tomatenisolat und das Auberginenisolat dagegen nicht.

## **EIN FÜR DEUTSCHLAND NEUES BODENBÜRTIGES FUROVIRUS AN WINTERGERSTE**

Rabenstein, Frank, Fomitcheva, Viktoria, Kühne, Thomas

*Julius Kühn-Institut - Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Quedlinburg*

Am Versuchsstandort Bornum in Niedersachsen werden in Kooperation mit dem Bundesortenamt im Rahmen hoheitlicher Aufgaben durch das JKI jährlich Prüfungen von Sortenkandidaten und Akzessionen auf Virusresistenz gegen die beiden bodenbürtigen Viren Barley yellow mosaic virus (BaYMV) und Barley mild mosaic virus (BaMMV) durchgeführt. Unerwartet traten im Frühjahr 2010 an Pflanzen des Kontrollsortiments, die das Resistenzgen *rym5* tragen, wie z.B. den beiden Gerstensorten 'Jorinde' und 'Nerz' Mosaiksymptome und Blattvergilbungen auf, die denen der Gelbmosaikvirose stark ähnelten. Deshalb wurde zunächst ein Resistenzdurchbruch durch einen neuen Pathotyp von Viren des Gelbmosaikvirus-Komplexes vermutet. In diesen Pflanzen waren jedoch keine Bymoviren nachweisbar. Es waren jedoch stäbchenförmige Viruspartikeln mit ca. 180 und 300 nm Länge und einem Durchmesser von ca. 20 nm vorhanden, die sich mit goldmarkierten Furovirus-spezifischen Antikörpern dekorieren ließen. Serologische Tests mit Antiseren bzw. monoklonalen Antikörpern und erste molekulare Analysen zeigten eine enge Verwandtschaft mit Isolaten des Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) bzw. dem Soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV), die aber bisher in Deutschland nicht an Wintergerste sondern nur in Roggen, Triticale und Winterweizen gefunden wurden. Das Isolat Jorinde-1 konnte durch mechanische Inokulation auf verschiedene Gerstensorten übertragen werden, darunter auch

solche mit Resistenzen gegen die beiden Bymoviren BaYMV/BaMMV. Die Inokulation mehrerer Weizensorten ergab starke Unterschiede in deren Anfälligkeit, während zwei Roggensorten nicht infiziert wurden. Auf *Nicotiana tabacum* 'Samsun-NN' sowie 'Samsun-nn' zeigten sich bereits 4 d p.i. auf den inokulierten Blättern zahlreiche nekrotische Lokalläsionen. Dagegen konnten die Tabakpflanzen mit SBWMV bzw. SBCMV nicht infiziert werden.

Mit Hilfe sequenzspezifischer Primer für die RNA1 des SBCMV bzw. des SBWMV wurde nach RT-PCR nur für die homologen Viren, nicht jedoch für den neuen Erreger ein Amplifikationsprodukt erhalten. Dies weist auf Sequenzunterschiede hin. Die Sequenzanalyse der RNA 2 belegte für das neue Gerstenvirus eine weitgehende Identität mit dem Isolat Marne (F), das erstmals 2007 in Frankreich unter der Bezeichnung Soil-borne barley mosaic virus beschrieben wurde und nahezu identisch mit einem als SBWMV-JT bezeichneten Virus ist, welches in Japan bereits 1986 aus Gerste isoliert worden war. Das Isolat Jorinde-1 besitzt im Hüllprotein (CP), in der Position 63 im Vergleich zu diesen beiden Isolaten anstelle von Phenylalanin ein Leucin. Der Vergleich der CP-Sequenzen von 14 Furoviren deutet auf gemeinsame Muster für die Isolate Jorinde-1 (D), Marne (F) und JT (Japan) hin.

Nach den bisherigen Erfahrungen mit bodenbürtigen Viren ist zu erwarten, dass sich das neue, erstmals an Wintergerste in Deutschland nachgewiesene Furovirus in Zukunft weiter ausbreiten wird. Daher muss auch die Frage nach der Möglichkeit und den Konsequenzen von Mischinfektionen mit anderen Viren, wie Bymo- bzw. insektenübertragbaren Viren gestellt werden. Sollte sich das neue Virus als ökonomisch bedeutsam erweisen, werden neue resistenzzüchterische Arbeiten erforderlich, die wahrscheinlich mit der Suche nach Resistenzquellen im Genpool der Gerste beginnen müssen.

## **GEWEBE-SPEZIFISCHER EINFLUSS VON GEMINIVIREN AUF DIE SOMATISCHE HOMOLOGE REKOMBINATION DER WIRTS-PFLANZE**

Richter, Kathrin, Kleinow, Tatjana, Jeske, Holger

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

Verschiedene abiotische sowie biotische Stressfaktoren aktivieren die somatische homologe Rekombination (SHR) in Pflanzen. Die rasante Ausbreitung von Geminiviren in den letzten Jahrzehnten und ihre Fähigkeit, sich schnell an neue Wirtspflanzen und Umweltbedingungen anzupassen, ist auch verbunden mit ihrer Neigung zur Rekombination. Der von Geminiviren angewandte Replikationsmodus der Recombination-dependent Replication kann diesen Zusammenhang erklären. Es ist es daher denkbar, dass Geminiviren ebenfalls einen Einfluss auf die Rekombinationsmaschinerie ihrer Wirtspflanzen haben. Um dies zu untersuchen, wurden transgene *Arabidopsis thaliana*-Linien mit Reporterkonstrukten für homologe Rekombination, bestehend aus zwei nichtfunktionellen, aber teilweise überlappenden Teilen des GUS-Reportergens (kodiert für  $\beta$ -Glucuronidase) verwendet. Durch Rekombination wird das Enzymgen in einzelnen Zellen dieser Pflanzen rekonstituiert, was durch Blaufärbung von X-Gluc-Farbsubstraten nachweisbar ist. Die Pflanzenlinien wurden mit den Geminiviren *Euphorbia mosaic virus* (EuMV-MGS1 und -MGS2) und *Cleome leaf crumple virus* (CLCrV) infiziert und die homologe Rekombinationsfrequenz (HRF) im Vergleich zu mock-infizierten Pflanzen ermittelt. Nach Optimieren der Inokulations- und Wuchsbedingungen konnte eine etwa dreifach erhöhte HRF für die Linie 1445 nach EuMV-MGS1-Infektion festgestellt werden. Dieser Effekt war ausschließlich auf die Leitgewebe beschränkt. Entsprechend konnte EuMV-MGS1 durch tissue blotting und In-situ-Hybridisierung Phloem-limitiert gefunden werden. Diese Ergebnisse weisen auf einen spezifischen Einfluss von Geminiviren auf die SHR-Maschinerie der Pflanze hin.



## **WIE VERHALTEN SICH BEGOMOVIREN UNTERSCHIEDLICHER PATHOGENITÄT BEI INAKTIVIERTER RNA-ABHÄNGIGER RNA-POLYMERASE 6 (RDR6)?**

Schnepf, Vera, Vo, Dieu, Wege, Christina

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

Pflanzeigene RNA-abhängige RNA-Polymerasen (RDR) sind Teil der antiviralen Abwehr. In noch nicht befallenen Zellen nutzt RDR6 eintretende virusspezifische Silencing-Signale, um sekundäre small interfering (si) RNAs zu produzieren, welche später eintreffende Virus-Nukleinsäuren über Enzymkomplexe (AGO/RISC) degradieren. Dadurch wird eine weitere Ausbreitung der Viren in verschiedene Gewebe der Pflanze verlangsamt.

Bisher konnte noch kein Effekt der RDR6 auf Geminiviren nachgewiesen werden. In unseren Studien wurde nun molekular analysiert, welchen Einfluss eine Inaktivierung der RDR6 auf die bipartiten Geminiviren Abutilon mosaic virus (AbMV) und Sida golden mosaic Costa Rica virus (SiGMCRV) ausübt. Die ssDNA-Viren wurden in unterschiedlicher Kombination ihrer Genomkomponenten in *Nicotiana benthamiana*-Pflanzenlinien (Schwach et al., 2005; Ratcliff et al., 2001) untersucht, deren RDR6 durch ein RNAi-Hairpinkonstrukt inaktiviert war. Zu drei Zeitpunkten nach der Inokulation wurden Symptome und Titer der viralen DNA untersucht. Fluoreszenzanalysen und In-situ-Hybridisierungen zeigten erstmals den Gewebetropismus von SiGMCRV, der Pseudorekombinanten AbMV A/SiGMCRV B und AbMV in den Test- und in entsprechenden Kontrollpflanzen.

## **MODIFIZIERUNG DER WIRT-VEKTOR-BEZIEHUNG DURCH DAS CUCUMBER MOSAIC VIRUS 2B-PROTEIN**

Ziebell, Heiko<sup>1</sup>, Murphy, Alex<sup>2</sup>, Lewsey, Mathew<sup>3</sup>, Westwood, Jack<sup>2</sup>, Du, Zhiyou<sup>2</sup>, Tungadi, Trisna<sup>2</sup>, Moulin, Michael<sup>4</sup>, Smith, Alison<sup>2</sup>, Stevens, Mark<sup>5</sup>, Carr, John<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Julius Kühn-Institut,*

*Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Messeweg 11-12, D-38104 Braunschweig*

<sup>2</sup>*Cambridge University, Dept. of Plant Sciences, Downing St, Cambridge CB2 3EA, Großbritannien*

<sup>3</sup>*Salk Institute for Biological Studies, 10010 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, USA*

<sup>4</sup>*University of Geneva, Dept. of Botany and Plant Biology, Science III, Room 1059, Quai E. Ansermet 30, 1211 Geneva 4, Schweiz*

<sup>5</sup>*Brooms Barn Sugar Beet Research Station, Higham, Bury St. Edmunds, Suffolk, IP28 6NP, Großbritannien*

Das 2b-Protein vom Gurkenmosaikvirus (CMV) unterdrückt antivirales RNA silencing und Salicylsäure-vermittelte Resistenz. Desweiteren kann das 2b-Protein Jasmonsäure-regulierte Genexpression in *Arabidopsis thaliana* inhibieren. Mittels DNA-Microarrays wurde der Effekt der Infektion mit CMV und der 2b-Deletionsmutante CMV $\Delta$ 2b auf das Transkriptom von Tabakpflanzen untersucht. Infektionen mit CMV oder CMV $\Delta$ 2b führten zu weitreichenden, aber unterschiedlichen Änderungen in der Genexpression, unter anderem Salicylsäure-regulierter Gene. Infektion mit CMV, aber nicht Infektion mit der CMV $\Delta$ 2b-Deletionsmutante führte außerdem zu einer erhöhten Biosynthese von Salicylsäure.

Die Behandlung infizierter Pflanzen mit Jasmonsäure führte zu einer komplexen Änderung der Jasmonsäure-regulierten Genexpression. So wurde z. B. die Expression von mRNAs, die JAZ-Faktoren kodieren, in CMV-infizierten Pflanzen stark inhibiert. Desweiteren induzierte die Infektion mit CMV $\Delta$ 2b eine Resistenz gegen die Blattlaus *Myzus persicae* an Tabakpflanzen. Dieses deutet daraufhin, dass CMV-kodierte Faktoren eine Blattlausresistenz induzieren, die aber durch das 2b-Protein unterdrückt werden kann. Außerdem führte CMV-

Infektion zu einer erhöhten Reproduktion von Blattläusen und ermöglichte eine höhere Überlebensrate von Nymphen. Da CMV von Blattläusen übertragen wird, könnte das 2b-Protein ein neuer Faktor sein, der die Blattlausübertragbarkeit beeinflusst.

## **HERSTELLUNG EINES INFEKTIÖSEN KLONS DES HOP LATENT VIRUS**

Ziegler, Angelika, Schubert, Jörg

*JKI Quedlinburg, SG, 06484 QLB, Erwin-Baur-Str. 27*

Im Rahmen eines DFG-Projektes zum Pathogenese-mechanismus von Viroiden soll ein VIGS-Vektor für Hopfen entwickelt werden. Das Hop latent virus, ein Hopfen symptomlos infizierendes Carlavirus, wurde ausgewählt, da es weit verbreitet und kein Quarantänevirus ist. Die Konstruktion des Volle-Länge-Klons wird dargestellt. Experimente zur Untersuchung der Infektiösität des genomischen Klons in Testpflanzen werden diskutiert.

## **CHANGES IN THE ARCHITECTURE OF NUCLEI AND NUCLEAR MEMBRANES EVOKE A NOVEL INTRACELLULAR TRAFFIC ROUTE OF PLANT DNA VIRUSES**

Kleinow, Tatjana<sup>1</sup>, Krenz, Björn<sup>1</sup>, Kepp, Gabi<sup>1</sup>, Neugert, Felix<sup>2</sup>, Wege, Christina<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*

<sup>2</sup>*Universität Stuttgart/Institute für Zellbiologie, Allmandring 30, 70550 Stuttgart, Deutschland*

Geminiviruses constitute a large and economically important group of ssDNA plant viruses with circular genomes. The DNA A component of bipartite geminiviruses encodes proteins necessary for viral replication, transcription and encapsidation, among which the replication-associated protein (Rep) is essential for replication within nuclei. The two DNA B-encoded gene products, nuclear shuttle protein (NSP) and movement protein (MP), enable systemic spread within the host and affect pathogenicity. Although previous studies indicated that NSP mediates trafficking of viral DNA into and out of the nucleus, and MP serves as a membrane adaptor and facilitates cell-to-cell transfer as well as long distance spread, the functional details of how both proteins coordinate viral DNA transport remain to be determined. Here, we show that geminiviral infections and over-expression of viral proteins induce characteristic changes in the nuclear architecture. Over-expression of Rep alone led to intense budding and even division of nuclei. Upon co-expression of Rep, MP and NSP, nuclear envelope-derived vesicles invaginated into the nucleus and budded into the cytoplasm. These vesicles are likely to contain nucleoplasm as indicated by a nucleoli/cajal body (No/CB) marker. Subsequent accumulation of the No/CB marker at the cell periphery denotes that the vesicles may traffic from the nucleus to the plasma membrane. These data suggest that a concerted action of plant viral replication and shuttling/movement proteins re-organizes nuclear and membrane domains, paving a novel intracellular trafficking route for DNA geminiviruses.



## ABSTRACTS POSTER PRÄSENTATION

### A NEW BADNAVIRUS INFECTING ENSET (ENSETE VENTRICOSUM, MUSACEAE) IN ETHIOPIA

Abraham, Adane<sup>1</sup>, Menzel, Wulf<sup>2</sup>, Winter, Stephan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Ethiopian Institute of Agricultural Research, Holetta Agricultural Research Center, P.O.Box 2003, Addis Ababa, Ethiopia*

<sup>2</sup>*DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Inhoffenstraße 7 B, 38124 Braunschweig*

Enset [*Ensete ventricosum* Cheesman, (Syn. *Musa ensete* Gmel)] and banana (*Musa* spp.) are two taxonomically and morphologically related horticultural crops widely cultivated in Ethiopia. Enset is a staple food crop for over 15 million people in southern Ethiopia while banana is an important fruit crop. Although virus-like diseases are commonly observed on these crops, little information is available on the identity of the associated viruses. Badnaviruses represent the main group of viruses infecting banana and related crops. To identify badnaviruses infecting enset, we used a rolling circle amplification (RCA) strategy on DNA extracted from suspected samples followed by using its product as template in a PCR with degenerated badnavirus primers. Based on the sequence of the fragment obtained, an outward directed virus-specific primer pair was designed and used in an inverse PCR which gave a product of ca. 6 kbp. After sequencing, the complete genome of a putatively new badnavirus species (7163 bp) was obtained. The virus has genome properties typical of the genus *Badnavirus* with three ORFs predicted to encode proteins of the following sizes: ORF1, 21.5 kDa; ORF2, 14.5 kDa and ORF3, 202.5 kDa. Electron microscopy of leaf dip preparations of the studied sample showed the presence of bacilliform particles. BLAST search and comparison with other badnaviruses using the complete nucleotide sequences showed that the new virus is most closely related to a badnavirus from sugarcane (73.6%), which has been recently entered to the database (virus species not clearly named) followed by Banana streak Mysore virus (60.8%). Based on the current species demarcation criteria of the genus *Badnavirus*, the new virus is sufficiently distinct from all known viruses and hence should be considered as a distinct species for which the name Enset streak virus (ESV) is suggested. The badnavirus was detected from several enset samples using virus specific primers based on the sequence obtained. In addition, Banana streak OL virus (BSOLV), which could not be detected in enset samples, was identified in some banana samples originating from Ethiopia. These results suggest that distinct badnavirus species infect enset and banana crops in Ethiopia.

### FUNCTIONALIZATION ON A NANOSCALE: TOBACCO MOSAIC VIRUS EXPOSING ANTIBODIES

Bartels, Markus<sup>1</sup>, Mangold, Stefan<sup>1</sup>, Brodbeck, David<sup>1</sup>, Eiben, Sabine<sup>1</sup>, Eber, Fabian<sup>1</sup>, Kadri, Anan<sup>1</sup>, Kontermann, Roland<sup>2</sup>, Jeske, Holger<sup>1</sup>, Wege, Christina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Deutschland*

<sup>2</sup>*Universität Stuttgart, Institut für Zellbiologie und Immunologie, Allmandring 31, 70569 Stuttgart, Deutschland*

Beim Tabakmosaikvirus (TMV) handelt es sich um ein röhrenförmiges Pflanzenvirus aus 2130 identischen Hüllproteinen (coat proteins, CP) und einer positivsinnigen RNA. Das Virus formiert sich aus „Disks“ (2-lagige, zylindrische Aggregate aus 34 CP) und der RNA. Wegen seiner definierten Länge, Stabilität und polyvalenten Struktur eignet sich TMV besonders für nanotechnologische Anwendungen.

Daher wurde ein Fusionsprotein aus CP, einem scFv-Antikörperfragment und einem Signalpeptid für Translokation ins Endoplasmatische Reticulum (ER) und nachfolgende Sekretion konstruiert und in der Spalthefe *Schizosaccharomyces pombe* exprimiert. Eine N-Glykosylierung wies auf einen Transport des Fusionsproteins ins ER der Hefezellen hin, während kein Export ins Medium erfolgte. Auch kam es nicht zur Assemblierung virusähnlicher Partikel. Da die Glykosylierung vermutlich im CP-Anteil des Proteins stattfand und daher mit der Assemblierung interferieren konnte, wurde die Glykosylierungsstelle mutagenisiert und das entstehende Produkt für Folgeversuche eingesetzt.

Um die Ausbeute des Fusionsproteins zu erhöhen, wurde parallel dazu das Expressionssystem *Escherichia coli* getestet. Nach gründlicher Optimierung konnten daraus große Mengen an Zielprotein gereinigt werden. Unter Zusatz von pflanzlich produziertem TMV-CP assemblierten beide heterolog produzierten Fusionsproteine aus Hefe und Bakterium erfolgreich zu virusähnlichen Partikeln. Diese "Antikörper-Trägersticks" wiesen nicht nur spezifische Reaktivität mit dem Ziel-Antigen auf, sie erlaubten auch dessen Nachweis mit bis zu 500facher Signalverstärkung gegenüber dem reinen Fusionsprotein im ELISA, unter Einsatz von indirekt detektiertem antiTMV-IgG. Damit ist ein wichtiger Schritt zur praxisnahen Nutzung funktionalisierter TMV-Derivate als sensorische Biotemplate getan.

## **GEWEBESPEZIFISCHE UND TEMPERATURABHÄNGIGE RIZOMANIA-RESISTENZ IN RZ1 ZUCKERRÜBENHYBRIDEN**

Bornemann, Kathrin, Varrelmann, Mark

*Institut für Zuckerrübenforschung, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen*

Die Rizomania in Zuckerrüben wird durch das Benyvirus Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) erzeugt und führt zu erheblichen Ertragseinbußen. Die Krankheit wird nahezu ausschließlich durch den Anbau toleranter Sorten kontrolliert, die das Rz1-Majorresistenzgen besitzen. Seit einigen Jahren treten in den USA und Spanien in klimatisch wärmeren Regionen mit künstlicher Bewässerung BNYVV-Isolate mit bestimmten Mutationen auf, die in der Lage sind, diese Resistenz zu überwinden und sich vermehrt in Seitenwurzeln und im Rübenkörper zu replizieren. Unklar ist, ob die Replikation und damit die Variabilität von BNYVV durch erhöhte Temperaturen und Feuchtigkeit gefördert werden und ob eine Abhängigkeit der Resistenz von Umweltfaktoren besteht. Eine mechanische Blattinfektion zeigte, dass eine offensichtliche Rz1-unabhängige Ausbildung von Lokalläsionen das Virus an seiner Ausbreitung hindert. Zusätzlich zu Gewächshausversuchen mit natürlicher Infektion über den Boden mittels *Polymyxa betae* wurde geprüft, inwieweit eine Temperaturabhängigkeit beider gewebespezifischer Resistenzphänotypen besteht.

Die BNYVV-Blattinfektion von Zuckerrüben-Genotypen unterschiedlicher Anfälligkeit bei Temperaturen von 18°, 24° und 30°C zeigte eine starke Temperaturabhängigkeit der Ausbildung von Lokalläsionen. Bei einer Temperaturerhöhung von 18°C auf 24°C wiesen die Läsionen nach vier Wochen einen vergrößerten Durchmesser und einen erhöhten Virusgehalt auf. Durch Temperaturen von 30°C wurde die Läsionsbildung stark unterdrückt und eine teilsystemische Ausbreitung des Virus nachgewiesen. Die Virusgehalte waren jedoch stark reduziert. Diese Veränderungen des Virusgehaltes waren insgesamt Rz1-unabhängig.

Darüber hinaus wurde die temperaturabhängige Rz1-Resistenz nach natürlicher Bodeninfektion und mechanischer Wurzelinfektion untersucht. Dabei konnte sechs Wochen nach Infektion in Pflanzen des anfälligen Genotyps bei zunehmenden Temperaturen (18°, 24° und 30°C) unabhängig von der Art der Infektion ein sinkender Virusgehalt nachgewiesen werden. Im resistenten Genotyp war bei natürlicher Infektion eine Temperaturstabilität der Resistenz zu beobachten. Bei mechanischer Infektion war jedoch bei 24°C ein erhöhter Virusgehalt nachzuweisen. Aus den erhobenen Daten lässt sich eine gewebespezifische Expression der Rz1-Resistenz ableiten und eine temperaturabhängige hypersensitive Resistenzreaktion im Blatt vermuten. Die Rz1-Resistenz erscheint jedoch unter natürlichen

Infektionsbedingungen temperaturstabil. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob „RNA-silencing“ Ursache für die beobachtete Temperaturabhängigkeit sowohl in Blatt als auch Wurzelgewebe ist.

## **DISTRIBUTION OF SYMPTOM DETERMINANTS ON THE ARABIS MOSAIC NEPOVIRUS GENOMIC RNA2**

Dupuis, Laurence<sup>1</sup>, Himber, Christophe<sup>2</sup>, Dunoyer, Patrice<sup>2</sup>, Bassler, Alexandra<sup>1</sup>, Keller, Mario<sup>2</sup>, Wetzel, Thierry<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*RLP Agrosience, AlPlanta, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Germany*

<sup>2</sup>*IBMP-CNRS, 12 rue du General Zimmer, 67084 STRASBOURG Cedex, France*

Arabis mosaic virus (ArMV) belongs to the plant virus genus Nepovirus of the family Comoviridae. In the wine producing areas southwest of Germany, including Neustadt an der Weinstrasse (NW), ArMV is, along with the Grapevine fanleaf virus (GFLV) and the Raspberry ringspot virus (RpRSV), two other nepoviruses, a causative agent of the grapevine fanleaf disease, one of the most widespread and damaging virus diseases affecting grapevine. Nepoviruses have two single-stranded positive sense genomic RNAs, which are linked to a VPg at their 5' ends, and polyadenylated at their 3' ends. While ArMV-NW produces no symptoms on *Chenopodium quinoa*, ArMV-lilac and -Lv, isolated from lilac and privet respectively, produce chlorotic symptoms and extremely severe symptoms eventually leading to the death of the plant. The availability of full-length infectious clones of ArMV-NW (under the control of a double 35S promoter) allowed the generation of chimeric constructs between ArMV-NW and ArMV-lilac or -Lv. These clones were assessed in mechanical inoculation assays on *Chenopodium quinoa* for their infectivity and their symptomatology. The results with chimeric constructs between RNAs 2 seem to indicate that the N-terminal region of the 2A gene, but also regions in the movement and coat proteins are involved in the development of symptoms on *Chenopodium quinoa*.

## **RNA-DIRECTED IN VITRO ASSEMBLY OF MIXED TOBACCO MOSAIC VIRUS COAT PROTEINS DERIVED FROM E. COLI AND PLANTS**

Eiben, Sabine, Eber, Fabian, Jeske, Holger, Wege, Christina

*Universität Stuttgart, Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart, Deutschland*

Tobacco mosaic virus (TMV) is one of the most interesting viruses for the application as a structural scaffold in nanotechnology. This is due to its outer dimensions, a hollow rod of 300 nm length and 18 nm in diameter, but also due to its chemical and temperature stability. Different researchers have shown that it is possible to generate particles of altered length, change their outer surface or inner channel properties both genetically and chemically, and to immobilize virus-like particles (VLPs) to several substrates. These modifications have been used for example to mineralise or metallise VLPs. One of the remaining challenges is that some TMV coat protein (CP) mutants interfere with self assembly and therefore, concomitantly, with their propagation in plants. However, numerous intended applications do not depend on particles of which each CP subunit is modified; therefore mixed assembly could constitute an alternative route to functionalised VLPs. It has already been shown that it is possible to express TMV CP in *E. coli*, but up to now, in vitro assembly with *E. coli*-derived CP species in combination with specific RNA has failed in different laboratories. We therefore have combined an *E. coli*-expressed mutant CP species elongated by a C-terminal His6-tag with wildtype CP from plants, upon in vitro assembly with RNAs of different length. VLPs of the predicted defined length were efficiently generated and the incorporation of the *E. coli*-derived CP mutant proven by several tests, amongst others employing His6-specific

antibodies. Hence, the "protein-blend-technology" is a versatile procedure facilitating the exposure of bacterially expressed functionalities on TMV backbones.

## **VIRUSSYMPTOME AN ZIERPFLANZENARTEN**

Hamacher, Joachim

*INRES Uni Bonn, Pflanzenkrankheiten, Nussallee 9, 53115 Bonn, NRW*

Es werden typische Symptome von Zierpflanzenvirosen, die am Agro-Horti-Testlabor diagnostiziert wurden dargestellt. Als Beispiele werden Virose an Impatien (BaCV, CMV, CVB, IFBV, INSV, TMGMV, TVCV) Petunien/Calibrachoa (AMV, BaCV, CbMV, INSV, Panaschüren, PVY, TMV, TVCV) und Pelargonien (PFBV, PLPV, PLCV, PCRPV, TSWV) Diascia und Nemesia (ScrMV, NeRNV, TSWV), Verbenen (BaCV, AMV, BBWV1, CMV, INSV/TSWV), Phalaenopsis (CaCV, INSV, CymMV) und Zantedeschia/Philodendron selloum (ZaMV) gebracht. Virussympome geben gute Hinweise auf die Ätiologie der Krankheit und können zu bestimmten Jahreszeiten gute Hinweise auf die Virusgattung oder -art geben.

## **UNTERSUCHUNGEN DER INTERAKTION ZWISCHEN DEM BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS PATHOGENITÄTSFAKTOR P25 UND EINEM PUTATIVEN AUXIN-INDUZIERBAREN TRANSKRIPTIONSFAKTOR AUS BETA VULGARIS UND DER SUBZELLULÄREN KO-LOKALISATION**

Heike Thiel, Mark Varrelmann

*Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen*

Ein cDNA-Klon (Bv-iaa) mit Sequenzhomologie zu einem "Auxin responsiven Gen" aus *Nicotiana tabacum* konnte auf Proteinebene mittels "Yeast-two hybrid" (YTH) erfolgreich auf Interaktion mit dem Pathogenitätsfaktor P25 des Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) getestet werden. Da BNYVV anfällige Zuckerrüben auf eine Infektion mit erhöhten Auxingehalten reagieren, wurde dieser Kandidat für weitere funktionelle Untersuchungen ausgewählt. Die genauen Funktionen des P25 sind bisher unbekannt. Es ist aber sicher, dass dieses für Ertragseinbußen, Translokalisierung des Virus im Wurzelsystem und Symptomausprägung in anfälligen Zuckerrüben verantwortlich ist. Bv-IAA konnte erfolgreich aus resistenten und anfälligen Genotypen mittels RT-PCR als Voll-Längen Sequenz gewonnen und die Interaktion mit P25 im YTH bestätigt werden. Im Rahmen von Agrobakterium vermittelter Expression, basierend auf N- bzw. C-terminal fluoreszenzmarkierten Fusionsproteinen, wurden der Bv-IAA Kandidat alleine und in Ko-Expression mit P25 auf subzelluläre Lokalisation in *N. benthamiana* Epidermiszellen überprüft. Bei alleiniger Agroexpression lokalisierte Bv-IAA erwartungsgemäß ausschließlich im Zellkern. P25 wurde sowohl im Cytoplasma, wie auch im Zellkern detektiert. Bei Ko-Expression beider Gene fand eine Re-Lokalisierung des Bv-IAA aus dem Nukleus ins Cytoplasma statt. Da kein Polymorphismus zwischen Allelen in BNYVV resistenten und anfälligen Genotypen identifiziert wurde, wird vermutet, dass es sich bei der Wechselwirkung nicht um eine Resistenzinteraktion handelt. Die exakten Funktionen von "Auxin responsiven" Genen, neben ihrer allgemeinen Beteiligung an Wachstum und Zelldifferenzierung in Pflanzen, sind bisher ungeklärt. Aus diesem Grund stellt sich die Frage, warum P25 das Bv-IAA aus dem Zellkern re-lokalisiert und es wahrscheinlich an der Durchführung seiner Funktion(en) hindert. Es wird postuliert, dass die Interaktion des P25 mit Bv-IAA Teil der viralen Aggressivität ist und über diese die vermehrte Seitenwurzelbildung induziert wird. Weitere Studien müssen die Auxin-Induzierbarkeit und die Expression in Abhängigkeit der BNYVV Infektion zeigen.

## **HSP70 IMPLICATION IN THE TRANSMISSION OF MONO- AND BIPARTITE BEGOMOVIRUSES BY THE WHITEFLY BEMISIA TABACI B BIOTYPE**

Kollenberg, Mario<sup>1</sup>, Götz, Monika<sup>1</sup>, Popovski, S.<sup>2</sup>, Czosnek, Henryk<sup>3</sup>, Winter, Stephan<sup>1</sup>, Ghanim, Murad<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*DSMZ, Pflanzenviren, Inhoffenstrasse 7b, 38124 Braunschweig, Deutschland*

<sup>2</sup>*Israel*

<sup>3</sup>*Institute of Plant Sciences and Genetics, Faculty of Agriculture, Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel*

<sup>4</sup>*Department of Entomology, Volcani Center, Bet Dagan, Israel*

HSP70 implication in the transmission of mono- and bipartite begomoviruses by the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype

Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) and Watermelon chlorotic stunt virus (WmCSV) are two begomoviruses (Geminiviridae), exclusively vectored by the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) in a persistent circulative manner. The circulative passage of virions from the midgut to the hemolymph and from the hemolymph to the primary salivary glands requires specific recognition between virions and whitefly proteins and/or receptors located in the midgut, hemolymph and salivary gland barriers, where specificity is thought to reside.

1D and 2D virus overlay protein binding assays with purified WmCSV and TYLCV virions revealed specific binding of virus particles to a couple of whitefly proteins amongst which HSP70 showed a pronounced binding. Interaction between HSP70 and TYLCV was confirmed using an immunocapture PCR approach with a HSP70-specific antibody and TYLCV-specific PCR primers. In addition, over-expression of the HSP70 proteins was observed in a western blot assay, and over-expression of the *hsp70* gene was observed in whole whiteflies and dissected midguts of viruliferous whiteflies compared to non viruliferous insects in a microarray approach and confirmed using a real-time PCR assay.

A combined fluorescence in situ hybridization (FISH) and immunolocalization approach revealed co-localization and association of HSP70 with TYLCV virions in midgut epithelial cells. Immunolocalization of HSP70 and WmCSV also showed areas in which the virions were associated with HSP70. Transmission tests of TYLCV revealed enhanced transmission of the virus after *B. tabaci* had fed on an artificial diet containing a HSP70-specific antibody. These results suggest that the viruses act as a stress factor for *B. tabaci* leading to an up-regulation and expression of HSP70 which reduces the virus transmission.

## **MOLEKULARE ANALYSE DES GENUS BETACRYPTOVIRUS DER FAMILIE PARTITIVIRIDAE**

Lesker, Till, Maiß, Edgar

*Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenschutz und Pflanzenkrankheiten, Herrenhäuser Strasse 2, 30419 Hannover*

Kryptische Viren (Familie Partitiviridae) nehmen aufgrund ihrer Apathogenität und der limitierten Übertragbarkeit eine Sonderstellung ein. Diese Viren werden nur über den Samen übertragen und ausschließlich durch Zellteilung in Pflanzen verteilt. Trotzdem sind kryptische Viren in verschiedenen Kulturpflanzen weit verbreitet.

Die Literatur lieferte bislang nur wenige Daten über kryptische Viren in Pflanzen; Ergebnisse zur Systematik stammen zumeist aus den 80er Jahren. Derzeit werden kryptische Viren in die Genera Partivirus, Alphacryptovirus und Betacryptovirus gegliedert. Während Viren der ersten Gattung in Pilzen zu finden sind, finden sich Viren aus den anderen beiden Gattungen in Pflanzen.



Für das Genus Betacryptovirus, für das bisher keine Sequenzen zur Verfügung standen, konnten mehrere Viren aus verschiedenen Kulturpflanzen isoliert und bestimmt werden. Weiterführende phylogenetische Betrachtungen der Sequenzen ergaben ein Cluster, welches eine starke Sequenz-Diversität zu den Pflanzenviren des Genus Alphacryptovirus aufzeigt, jedoch eine nahe Verwandtschaft zum Genus Partitivirus besitzt.

Die Mykoviren weisen sehr ähnliche Eigenschaften auf und wurden in vielen pflanzenpathogenen Pilzen gefunden. Die gewonnenen Informationen können zum einen zur Verbesserung der Systematik der Virusfamilie Partitiviridae genutzt werden, zum anderen liefern sie Hinweise auf die evolutionäre Beziehung von kryptischen Viren aus Pflanzen zu Partitiviren aus Pilzen.

### **DSRNA-SCREENING AN ASPARAGUS OFFICINALIS**

Lesker, Till, Blockus, Sebastian, Maiß, Edgar

*Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenschutz und Pflanzenkrankheiten,  
Herrenhäuser Strasse 2, 30419 Hannover*

Die Untersuchung von doppelsträngiger RNA (dsRNA Screening) aus Pflanzen ist ein unspezifischer Test für mögliche Virusinfektionen, ohne weitere Information von Symptomen oder Sequenzen zu benötigen. Dabei ist es möglich Viren mit dsRNA als Genom oder ssRNA-Viren aufgrund ihrer replikativen Übergangsformen zu erkennen. Charakteristische dsRNA Bandenmuster (Anzahl, Größe und Konzentration) geben dabei erste Hinweise auf mögliche Virusinfektionen.

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

*Asparagus officinalis* L. (Gemüsespargel) ist eine Langzeitkultur mit Standzeiten von rund 9 Jahren. Bisher wurden nur wenige Viren bei Spargelkulturen entdeckt. Weit verbreitet sind *Asparagus Virus 1* (AV-1), *Asparagus Virus 2* (AV-2) und Gurkenmosaikvirus (CMV), welche zu Ertragseinbußen von bis zu 70% führen können. Es ist sowohl eine mechanische Übertragung, beim Stechen des Spargels, als auch eine Übertragung durch Blattläuse, Samen und Pollen möglich.

In Rahmen eines Qualitätssicherungsprojektes wurden Proben von 5 kommerziellen Anbau Feldern in Niedersachsen mit unterschiedlichen Pflanzzeiten und eine Versuchsfeldprobe mit Hilfe des dsRNA Screenings untersucht. Nach Klonierung und Sequenzanalysen konnten einige bekannte Viren und Satelliten aber auch bislang unbekannte Viren in unterschiedlichen Konzentrationen nachgewiesen werden.

### **BINDING OF SMALL DOUBLE-STRANDED RNAs BY A PLANT VIRAL SUPPRESSOR IS ENHANCED BY A MEMBER OF THE PLANT CUPIN SUPERFAMILY**

Marc Füllgrabe, KaJohn Boonrod, Rana Jamous, Gabi Krczal, Michael Wassenegger  
*RLP AgroScience GmbH, AlPlanta-Institute for Plant Research, Breitenweg 71, 67435  
Neustadt, Germany*



The Helper component-proteinase (HC-Pro) protein of potyviruses is a suppressor of gene silencing and has been shown to elicit plant developmental defect-like symptoms. Both functions are related to the small double-stranded RNA (dsRNA) binding activity of HC-Pro. Up to now little is known about the role of host plant proteins in viral suppression of gene silencing. We report that a plant factor enhances the silencing suppression capacity of HC-Pro. Addition of plant extracts from *Nicotiana benthamiana* and *Arabidopsis thaliana* but not from *N. tabacum* and *Curcubita pepo* to bacterially expressed HC-ProFRNK enhanced its binding capacity for small double-stranded RNAs. Via MALDI-TOF analysis and protein sequencing a peptide belonging to the cupin superfamily of proteins was identified as the enhancing factor. The type of interaction between this peptide and HC-Pro proteins will be discussed.

## **EXPRESSION DES AFRICAN CASSAVA MOSAIC VIRUS AC4-PROTEINS IN S.POMBE UND SEINE LOKALISATION MITTELS FLUORESZENZMIKROSKOPIE.**

Peter Rau, Katharina Hipp, Tatjana Kleinow, Holger Jeske

*Universität Stuttgart, Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen*

African cassava mosaic virus (ACMV), ein Geminivirus, befällt Maniokpflanzen, was zu beträchtlichen Ernteausfällen führt. Sein AC4-Protein wurde als Suppressor des posttranscriptional gene silencing (PTGS) beschrieben.

Durch Fusion von AC4-ORF und GFP-Gen wurden Konstrukte hergestellt, um die Fusionsproteine in der Spalthefe *Schizosaccharomyces pombe* (*S. pombe*) zu exprimieren. Sie vermittelten die Expression von beiden der möglichen Startcodons des AC4-Gens aus.

Drei Konstrukte enthielten entweder eine Leadersequenz, die dem AC4-ORF im viralen Genom vorausgeht, oder begannen direkt mit dem ersten möglichen Startcodon. Alle von diesen Konstrukten exprimierte Proteine wiesen dasselbe Laufverhalten in SDS-PAGEs auf, wobei zum Teil ein Protein nachweisbar war, das der Expression vom zweiten Startcodon entsprach. Ein viertes Konstrukt begann direkt mit dem zweiten möglichen Startcodon des AC4-ORFs und exprimierte ein entsprechendes Protein.

Ihr Aufenthaltsort wurde fluoreszenzmikroskopisch in den Hefezellen verfolgt und es zeigte sich, dass sich je nach verwendetem Startcodon die AC4:GFP-Proteine in den Zellen verschieden verteilten. Bei Verwendung des ersten Startcodons lagen die Proteine im Zellinneren in wenigen Loki je Zelle vor, wurde das zweite Startcodon verwendet hielten sich die Proteine nahe der Zellmembran auf. Nur für das AC4-Protein mit dem zweiten Startcodon wurde bioinformatisch Myristoylierungs- und Palmitoylierungs-Stellen vorhergesagt, zwei Fettsäuremodifikationen, welche die Membranbindung von Proteinen begünstigen könnten. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sowohl das erste, als auch das zweite Startcodon von AC4 zu dessen Expression genutzt werden könnte.

## **VERGLEICH DER NUCLEOCAPSIDSEQUENZ DES EUROPEAN MOUNTAIN ASH RINGSPOT-ASSOCIATED VIRUS (EMARAV) AUS SCHWEDISCHEN EBERESCHEN MIT ANDEREN STANDORTEN**

Robel, Jenny<sup>1</sup>, Arndt, Nick<sup>1</sup>, von Barga, Susanne<sup>1</sup>, Jalkanen, Risto<sup>2</sup>, Büttner, Carmen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Humboldt-Universität zu Berlin, Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, FG Phytomedizin, Königin-Luise-Str. 19, 14195 Berlin*

<sup>2</sup>*The Finnish Forest Research Institute METLA, Northern Research Unit, PL 16, FI-96301 Rovaniemi, Finnland*

Charakteristische Krankheitssymptome, wie chlorotische Ringflecken und Scheckungen an Blättern der Eberesche (*Sorbus aucuparia*) wurden erstmals 1960 beschrieben. Eine Assoziation dieser Symptome mit dem European mountain ash ringspot-associated virus

erfolgte erst 2005 (Benthack et al., 2005; Mielke und Mühlbach 2007). Aufgrund der Genomorganisation dieses phytopathogenen Virus ist vom International Committee of Taxonomy of Viruses (ICTV) das neue Genus Emaravirus mit dem Virus als Typspezies etabliert worden. EMARaV besitzt ein viergeteiltes Genom, bei dem die einzelsträngigen, negativ orientierten RNAs jeweils einen ORF aufweisen.

Die RNA 3 kodiert für das virale Nucleocapsidprotein (120-1064 nt) mit einer Größe von 35 kDa.

Im Jahr 2010 wurde Blattmaterial von Ebereschen mit charakteristischen EMARaV-Symptomen in Schweden und Nordfinnland (Rovaniemi) gesammelt. Die Nucleocapsid-kodierende Genomregion des Virus wurde mittels RT-PCR aus isolierter Gesamt-RNA, unter Verwendung der von Kallinen et al. (2009) publizierten Primer amplifiziert. Die generierten Produkte wurden im Anschluss direkt bzw. nach Klonierung sequenziert.

Ein Vergleich der Nucleotidsequenzen (7 schwedische-, 2 nordfinnische-, 1 Berliner EMARaV-Variante) mit bis dahin veröffentlichten Sequenzen (16 finnische, 4 russische, 1 Hamburger EMARaV-Isolat) bestätigte die hohe Konservierung des Nucleocapsids (97-99 %), wie sie von Kallinen et al. (2009), sowie von Valkonen und Rännäli (2010) beschrieben wurde. Eine der beiden Proben aus Nordfinnland (Rovaniemi) weist eine geringere Nucleotidsequenz-Identität des Nucleocapsid-kodierenden Genombereiches von 96 % auf. Dieses bedingt zudem eine geringere Identität auf Aminosäureebene von 97-98 %, im Vergleich zu den anderen EMARaV-Isolaten, die eine Sequenzähnlichkeit von (99-100 %) aufweisen. Phylogenetisch gruppiert diese EMARaV-Variante aus Rovaniemi mit einer schwedischen EMARaV-Variante (Skellefteå) in ein separates Cluster. Neben den beiden von Valkonen und Rännäli beschriebenen zwei separaten EMARaV-Populationen repräsentieren diese beiden Sequenz-Varianten eine dritte Population.

Insgesamt korreliert die genetische Distanz der EMARaV-Varianten aus Schweden und Nordfinnland (Rovaniemi) nicht mit ihrer geographischen Distanz, wie es ebenfalls für die bislang untersuchten Isolate beschrieben wurde (Kallinen et al. 2009, Valkonen und Rännäli 2010). Benthack, W., Mielke, N., Büttner, C. & Mühlbach, H.-P. (2005) Archives of Virology 150: 37-52. Mielke, N. & Mühlbach, H.-P. (2007) Journal of general Virology 88: 1337-1346. Kallinen, A. K., Lindberg, I. L., Tugume, A. K. & Valkonen, J. P. T. (2009) Phytopathology 99: 344-352. Valkonen, J. P. T. & Rännäli, M. (2010) Disease Notes 94, Nr. 7, S. 921.

## **MONITORING VON HOPFEN AUF HOP STUNT VIROID**

Seigner, Luitgardis<sup>1</sup>, Anton, Lutz<sup>2</sup>, Seigner, Elisabeth<sup>3</sup>

<sup>1</sup>85354 Freising, Deutschland, Bayerische Landesanstalt fuer Landwirtschaft, Institut fuer Pflanzenschutz, Lange Point 10

<sup>2</sup>85283 Wolnzach, Deutschland, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Hüll 5 1/3

<sup>3</sup>85354 Freising, Deutschland, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 2

### **Problematik**

Hopfen wird von Pilzen, tierischen Schädlingen sowie Viren und Viroiden befallen. Letztere sind besonders problematisch, da sie durch Pflanzenschutzmittel nicht zu bekämpfen sind. Vor allem die sehr leicht mechanisch übertragbaren Viroide werden bei Kulturarbeiten großflächig innerhalb eines Bestandes und von Bestand zu Bestand verschleppt. Viroid-infizierte Pflanzen bleiben oft lange Zeit symptomlos, so dass es zunächst zu einer unbemerkten großflächigen Verbreitung der Infektion kommen könnte. Die Gefahr der Einschleppung neuer Pathogene ist infolge des intensiven weltweiten Austausches von Hopfenpflanzgut sehr groß. Wegen fehlender Bekämpfungsmöglichkeiten sind gerade im Hinblick auf Viroide wirksame Vorbeugemaßnahmen unerlässlich. Im Falle des gefährlichen,

in Japan seit den 1940er Jahren, in den USA seit 2004 und in China seit 2007 vorkommenden Hop stunt viroids (HSVd) wird seit 2008 an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) ein Monitoring in den Hopfenanbaugebieten Deutschlands durchgeführt. Primäre Befallsherde würden damit frühzeitig aufgedeckt und einer großflächigen HSVd-Verschleppung könnte durch unverzüglich veranlasste phytosanitäre Maßnahmen entgegengewirkt werden. Präventiv wird die Einfuhr von Hopfen insbesondere aus HSVd-Befallsgebieten streng kontrolliert. Die wirtschaftlichen Verluste einer HSVd-Infektion wären für die deutschen Hopfenpflanzer wie auch für die Brauwirtschaft dramatisch.

#### HSVd-Monitoring

2008 wurde mit einem HSVd-Monitoring in der Hallertau, dem größten deutschen Hopfenanbaugebiet, und den anderen bedeutenden Hopfenanbauregionen Deutschlands begonnen, das 2009, 2010 weitergeführt wurde und auch künftig fortgesetzt wird. Beprobte wurden/werden Hopfensorten aus Praxisbeständen in der Hallertau (Bayern), im Gebiet um Tettang (Baden-Württemberg), in der Elbe-Saale-Region (Thüringen, Sachsen, Sachsen-Anhalt), Pflanzen auf Versuchsflächen, Mutterpflanzen der Vermehrungsbetriebe der Gesellschaft für Hopfenforschung, männliches und weibliches Zuchtmaterial des LfL-Hopfenforschungszentrums Hüll, Hüller Zuchtsorten und Sorten aus dem Ausland im Sortenregister und Sortengarten des Hopfenforschungszentrums, Wildhopfen aus der Wildhopfensammlung des Hopfenforschungszentrums, in Quarantäne gehaltene Gewächshaus-Bestände.

Bei der Beprobung werden nach Möglichkeit junge, frische Blätter von Hopfenpflanzen mit „verdächtigem“ Erscheinungsbild (Chlorosen, gelbliche Sprenkelung, eingerollte Blätter, auffällig kleine Dolden, Stauchung) ausgewählt. Die Blätter werden schnellst möglich ins Labor transportiert und bis zur Untersuchung bei minus 80 °C gelagert. Die RNA wird mit dem QIAGEN RNeasy Plant Mini Kit extrahiert. Der HSVd-Nachweis erfolgt über RT-PCR mit HSVd-spezifischen Primern (Eastwell und Nelson 2007). Zusätzlich wird eine auf Hopfen mRNA-basierende interne RT-PCR-Kontrolle mitgeführt (Seigner et al. 2008).

Ergebnisse aus dem Monitoring der Jahre 2008-2010 werden auf dem Poster präsentiert.

### **EKTOPISCHE EXPRESSION DES ACMV HÜLLPROTEINS UND ENTWICKLUNG VON IN VITRO BINDUNGSSTUDIEN**

Stachorski, Lena, Hipp, Katharina, Kleinow, Tatjana, Kadri, Anan, Jeske, Holger  
*Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart*

Das African cassava mosaic virus (ACMV) ist ein bipartites Geminivirus aus dem Genus Begomovirus. Sein Hüllprotein wurde ektopisch in der Spalthefe (*S. pombe*) exprimiert und in in vitro Bindungsstudien eingesetzt.

Nach der Auftrennung über SDS-PA-Gele wurden zwei Proteinbanden mit verschiedenen apparenten Molekulargewichten mittels Antikörper nachgewiesen. Ein kleineres Protein mit einem MW von 30,1 kDa, das in der Größe mit dem ACMV CP aus *N. benthamiana*-Pflanzen übereinstimmt, sowie ein langsamer wanderndes Protein mit einem MW von ungefähr 32 kDa, das in infizierten Pflanzen nicht nachzuweisen war. Eine Massenspektrometrie (MS) hat gezeigt, dass im Protein aus infizierten Pflanzen ein Peptid fehlt, was die schnellere Migration im Gel erklären könnte. Jedoch konnte dieses Peptid mit einem Peptid-spezifischen Antikörper sowohl im Pflanzen-CP, als auch im Hefen-CP nachgewiesen werden.

## **DIE REAKTIONEN VON ABUTILON MOSAIC VIRUS UND TOMATO YELLOW LEAF CURL SARDINIA VIRUS AUF INAKTIVIERUNG DER RNA-ABHÄNGIGEN RNA-POLYMERASE 6 IN NICOTIANA BENTHAMIANA**

Vo, Dieu, Schnepf, Vera, Wege, Christina

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

Begomoviren der Familie Geminiviridae gehören zu den Pathogenen, die ökonomisch wichtige Nutzpflanzen wie Baumwolle, Tomaten, Paprika befallen und zu enormen Ernteausfällen führen können. In dieser Arbeit wurden das bipartite Abutilon mosaic virus (AbMV), eine AbMV-Mutante und das monopartite Tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV) im Hinblick darauf untersucht, wie sie auf eine Inaktivierung der pflanzeigenen RNA-abhängigen RNA Polymerase 6 (RDR6) reagieren. Dazu wurden entsprechende *Nicotiana benthamiana* Pflanzen (Schwach et al., 2005) mit AbMV DNA A und DNA B (AbMV), AbMV DNA A  $\Delta$ CP-GFP und DNA B (AbGFP), oder TYLCSV durch Agroinokulation infiziert. Symptomatische Pflanzen wurden mittels Southern Blotting Analysen, In-situ-Hybridisierungen sowie Lichtmikroskopie untersucht. Es wurden erste Hinweise eines Einflusses von RDR6 auf den viralen DNA-Titer bei AbMV beobachtet. Durch Fluoreszenzmikroskopie und In-situ-Hybridisierungen konnte der Gewebetropismus von AbMV und TYLCSV analysiert werden.

## **ERSTER NACHWEIS VON CLRV UND EMARAV IN LAUBGEHÖLZEN IN SCHWEDEN**

von Barga, Susanne<sup>1</sup>, Arndt, Nick<sup>1</sup>, Dierker, Luise<sup>1</sup>, Jalkanen, Risto<sup>2</sup>, Büttner, Carmen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Humboldt-Universität zu Berlin, Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, FG Phytomedizin, c/o JKI, Königin-Luise-Str. 19, 14195 Berlin, Deutschland*

<sup>2</sup>*The Finnish Forest Research Institute METLA, Northern Research Unit, PL 16, FI-96301 Rovaniemi, Finnland*

In Schweden zählen Birken (*Betula* spp.) und Ebereschen (*Sorbus aucuparia*) zu den nativen Laubhölzern, die aufgrund ihrer Frosthärte in Europa auch bis zur nördlichsten Baumgrenze verbreitet sind. Die Vertreter beider Taxa sind wichtige Pioniergehölze, deren Vorhandensein wesentlich zur Diversität von Fauna und Flora z.B. im Zuge der natürlichen Sukzession von Lichtungen in den Koniferen-dominierten Wäldern der borealen Zone Skandinaviens beiträgt. Symptome einer Infektion, wie sie durch das Cherry leaf roll virus (CLRV) verursacht werden, konnten bereits an Birken in Nordschweden beschrieben werden (Jalkanen et al. 2007). Ebenso wurden Ringfleckensymptome, die mit dem European mountain ash ringspot-associated virus (EMARAV) assoziiert sind, an Ebereschen in der Region Norrbotten festgestellt (Valkonen und Rännäli 2010). Bisher konnte keines der beiden Viren in Schweden nachgewiesen werden.

Im Sommer 2010 wurden Blattproben mehrerer *Betula*-Arten (*B. pendula* und *B. pubescens*) sowie Ebereschen mit charakteristischen Virus-Symptomen von verschiedenen schwedischen Standorten entnommen und mittels RT-PCR untersucht. CLRV-spezifische Genombereiche der 3' nicht-kodierenden Region sowie des Hüllproteins ließen sich in einer von 11 untersuchten Birken mit Blattrollen bzw. Chlorosen nachweisen. In keiner der 14 untersuchten Ebereschen mit Ringfleckensymptomen ließ sich CLRV detektieren. Dagegen waren alle Ebereschen mit EMARAV infiziert, wie durch die Amplifikation spezifischer Fragmente der viralen RNA1 bis RNA4 gezeigt werden konnte. Die Sequenzierung gereinigter PCR-Produkte bestätigte die Infektion der Birke mit CLRV und den EMARAV-Nachweis in Ebereschen an verschiedenen Standorten in Nord- und Südschweden.

R. Jalkanen, C. Büttner, S. von Barga (2007) *Silva Fennica* 41, 755 -762. J.P.T. Valkonen, M. Rännäli (2010) *Plant Disease* 94, 921

**DIE HELFERKOMPONENTE-PROTEASE (HC-PRO) DES PLUM POX VIRUS  
INTERAGIERT IN EINEM BIMOLEKULAREN  
FLUORESZENZKOMPLEMENTATIONS (BiFC)-ASSAY IN NICOTIANA  
BENTHAMIANA NICHT MIT SICH SELBST.**

Zilian, Eva, Maiß, Edgar

*Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz,  
Herrenhäuser Straße 2, 30419 Hannover*

Das Genom von Vertretern des Genus Potyvirus, wie z.B. des Plum pox virus (PPV), innerhalb der Familie der Potyviridae, kodiert u.a. für ein Polyprotein, das von drei viruseigenen Proteasen in 10 funktionelle Proteine prozessiert wird. Interaktionen zwischen diesen Proteinen spielen eine wichtige Rolle während des viralen Infektionszyklusses. Generell können zur Detektion von Protein-Interaktionen eine Reihe unterschiedlicher Methoden genutzt werden. Das „Yeast two-hybrid“-System stellt dabei eines der bekanntesten dar. Mittlerweile erlangt zudem die Bimolekulare Fluoreszenzkomplementation (BiFC) einen immer höheren Stellenwert, da dieses System im Gegensatz zu anderen Systemen eine direkte Visualisierung von Protein-Interaktionen in lebenden Zellen ermöglicht.

Eines der potyviralen Proteine ist die Helferkomponente-Protease (HC-Pro), ein multifunktionelles Protein, das u.a. als Protease bei der Prozessierung des Polyproteins fungiert, eine wichtige Rolle bei der Aphiden-Übertragung spielt und zudem die Funktion des Gene-Silencing Suppressors erfüllt. HC-Pro stand bereits im Mittelpunkt vieler Studien. Mittels „Yeast two-hybrid“-System wurde in der Vergangenheit für eine Vielzahl an Potyviren eine Selbstinteraktion des HC-Pros gezeigt.

Mittels eines optimierten BiFC-Systems, basierend auf einem monomeren rot fluoreszierenden Protein (mRFP), sollten in einer Studie die Protein-Protein Interaktionen eines PPV-NAT Isolates untersucht werden. Dabei konnte in *N. benthamiana* Epidermiszellen keine Selbstinteraktion des HC-Pros nachgewiesen werden. Auch für ein weiteres PPV Isolat (PPV-AT) und ein PVY-Isolat konnten keine Interaktionen der HC-Pros festgestellt werden. Vergleichsuntersuchungen mit dem vollständigen TuMV HC-Pro hingegen, für das vor kurzem erst mittels eines YFP-basierten BiFC eine Selbstinteraktion in *N. benthamiana* gezeigt werden konnte, resultierten auch mit dem mRFP-basierten BiFC eindeutig in einer Interaktion. Zudem wurden sowohl für TuMV als auch für PPV die Interaktionen zweier HC-Pro Fragmente (Aminosäurebereich 1-99 bzw. 100-458) detektiert. Damit konnte eindeutig gezeigt werden, dass die fehlende Interaktion des kompletten HC-Pros beider PPV-Isolate und des PVY-Isolats nicht auf einem unzureichenden BiFC-System beruht. Die gewonnenen Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass eine Selbstinteraktion des HC-Pros in planta speziesabhängig sein könnte.



## TEILNEHMERLISTE

| Name                    | Institut   | E-mail Adresse   |
|-------------------------|--|--|
| Abraham, Adane          | DSMZ Plant Virus Department                        | adaneabraham@yahoo.com   |
| Adam, Günter            | Universität Hamburg, Inst.f.angewandte Botanik     | guenter.adam@iangbot.uni-hamburg.de  |
| Bandte, Martina         | Humboldt-Universität zu Berlin                     | <a href="mailto:martina.bandte@agrار.hu-berlin.de">martina.bandte@agrار.hu-berlin.de</a>         |
| Bartels, Markus         | Universität Stuttgart, Biologisches Institut       | <a href="mailto:markus.bartels@bio.uni-stuttgart.de">markus.bartels@bio.uni-stuttgart.de</a>     |
| Bitterlin, Walter       | BIOREBA AG   | <a href="mailto:bitterlin@bioreba.ch">bitterlin@bioreba.ch</a>                                   |
| Bornemann, Kathrin      | Institut für Zuckerrübenforschung                  | bornemann@ifz-goettingen.de  |
| Brinkmann, Philipp      | Leibniz Universität Hannover, IPP                  | <a href="mailto:philip.brinkmann@hotmail.com">philip.brinkmann@hotmail.com</a>                   |
| Bujarski, Jozef         |  | <a href="mailto:jbujarski@niu.edu">jbujarski@niu.edu</a>   |
| Büttner, Carmen         | HU Berlin, Fachgebiet Phytomedizin                 | <a href="mailto:carmen.buettner@agrار.hu-berlin.de">carmen.buettner@agrار.hu-berlin.de</a>       |
| Deuschle, Kathrin       | Abt. Molekularbiologie und Virologie der Pflanze   | <a href="mailto:Kathrin.Deuschle@bio.uni-stuttgart.de">Kathrin.Deuschle@bio.uni-stuttgart.de</a> |
| Dierker, Luise          | Phytomedizin, HU Berlin                            | <a href="mailto:luise.dierker@hu-berlin.de">luise.dierker@hu-berlin.de</a>                       |
| Drechsler, Nadine       | BTL Bio-Test Labor GmbH Sagerheide                 | <a href="mailto:nadine.drechsler@jki.bund.de">nadine.drechsler@jki.bund.de</a>                   |
| Eiben, Sabine           | Universität Stuttgart, Biologisches Institut       | <a href="mailto:sabine.eiben@bio.uni-stuttgart.de">sabine.eiben@bio.uni-stuttgart.de</a>         |
| Eisold, Anne-Mareen     | HU Berlin, Fachgebiet Phytomedizin                 | <a href="mailto:anne-mareen.eisold@hu-berlin.de">anne-mareen.eisold@hu-berlin.de</a>             |
| Götz, Monika            | DSMZ Plant Virus Department                        | <a href="mailto:monika.goetz@jki.bund.de">monika.goetz@jki.bund.de</a>                           |
| Gronenborn, Bruno       | Institut des Sciences du Végétal, CNRS             | <a href="mailto:gronenborn@isv.cnrs-gif.fr">gronenborn@isv.cnrs-gif.fr</a>                       |
| Gund, Nadine A.         | Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, IPS2c | <a href="mailto:Nadine.Gund@LfL.bayern.de">Nadine.Gund@LfL.bayern.de</a>                         |
| Hamacher, Joachim       | INRES-Uni Bonn                                     | <a href="mailto:hamacher@uni-bonn.de">hamacher@uni-bonn.de</a>                                   |
| Hamed, Khalid           | DSMZ, Plant Virus Collection                       | <a href="mailto:khalidarc@yahoo.com">khalidarc@yahoo.com</a>                                     |
| Held, Katja             | Leibniz Universität Hannover, IPP                  | <a href="mailto:katja.held@gmx.net">katja.held@gmx.net</a>                                       |
| Hühnlein, Anja          | Julius Kühn Institut                               | <a href="mailto:anja.huehnlein@jki.bund.de">anja.huehnlein@jki.bund.de</a>                       |
| Jeske, Holger           | Universität Stuttgart                              | <a href="mailto:holger.jeske@bio.uni-stuttgart.de">holger.jeske@bio.uni-stuttgart.de</a>         |
| Klinkenbuß, Dominik     | Leibniz Universität Hannover, IPP                  | <a href="mailto:dom_klinkenbuss@web.de">dom_klinkenbuss@web.de</a>                               |
| Koenig, Renate          | Julius Kühn Institut, EP                           | <a href="mailto:renate.koenig@jki.bund.de">renate.koenig@jki.bund.de</a>                         |
| Kollenberg, Mario       | DSMZ Plant Virus Department                        | <a href="mailto:kollenberg-my@gmx.de">kollenberg-my@gmx.de</a>                                   |
| Krczal, Gabi            | RLG Agrosience GmbH, AlPlanta                      | <a href="mailto:gabi.krczal@agrosience.rlp.de">gabi.krczal@agrosience.rlp.de</a>                 |
| Landgraf, Maria         | HU Berlin LGF Fachgebiet Phytomedizin              | <a href="mailto:maria.landgraf@agrار.hu-berlin.de">maria.landgraf@agrار.hu-berlin.de</a>         |
| Langer, Juliane         | HU Berlin, Fachgebiet Phytomedizin                 | <a href="mailto:phytomedizin@agrار.hu-berlin.de">phytomedizin@agrار.hu-berlin.de</a>             |
| Lesker, Till            | Leibniz Universität Hannover                       | <a href="mailto:lesker@ipp.uni-hannover.de">lesker@ipp.uni-hannover.de</a>                       |
| Maiss, Edgar            | Leibniz Universität Hannover, IPP                  | <a href="mailto:maiss@ipp.uni-hannover.de">maiss@ipp.uni-hannover.de</a>                         |
| Menzel, Wulf            | DSMZ Plant Virus Department                        | <a href="mailto:wulf.menzel@dsmz.de">wulf.menzel@dsmz.de</a>                                     |
| Otto, Bettina           | Natural Resources Institute, Uni. of Greenwich     | <a href="mailto:b.otto@gre.ac.uk">b.otto@gre.ac.uk</a>   |
| Plate, Julia-Kristin    | Humboldt-Universität zu Berlin                     | <a href="mailto:Julia-Kristin.Plate@hu-berlin.de">Julia-Kristin.Plate@hu-berlin.de</a>           |
| Rabenstein, Frank       | Julius Kühn Institut                               | <a href="mailto:frank.rabenstein@jki.bund.de">frank.rabenstein@jki.bund.de</a>                   |
| Rau, Peter              | Universität Stuttgart                              | <a href="mailto:peterrau1@googlemail.com">peterrau1@googlemail.com</a>                           |
| Richert-Pöggeler, Katja | JKI/EP   | <a href="mailto:katja.richert-poeggeler@jki.bund.de">katja.richert-poeggeler@jki.bund.de</a>     |
| Richter, Kathrin        | Universität Stuttgart, Biologisches Institut       | <a href="mailto:kathrin.richter@bio.uni-stuttgart.de">kathrin.richter@bio.uni-stuttgart.de</a>   |
| Robel, Jenny            | HU Berlin, Fachgebiet Phytomedizin                 | <a href="mailto:jenny.robel@gmx.de">jenny.robel@gmx.de</a>                                       |



|                        |   |  |
|------------------------|---|--|
| Schnepf, Vera          | Universität Stuttgart                                       | <a href="mailto:vera.schnepf@bio.uni-stuttgart.de">vera.schnepf@bio.uni-stuttgart.de</a>         |
| Schuster, Anna         | HU Berlin, Fachgebiet Phytomedizin                          | <a href="mailto:phytomedizin@agrار.hu-berlin.de">phytomedizin@agrار.hu-berlin.de</a>             |
| Seigner, Luitgardis    | Bayerische Landesanstalt fuer Landwirtschaft                | <a href="mailto:Luitgardis.Seigner@LfL.bayern.de">Luitgardis.Seigner@LfL.bayern.de</a>           |
| Stachorski, Lena       | Universität Stuttgart, Biologisches Institut                | <a href="mailto:lena.stachorski@bio.uni-stuttgart.de">lena.stachorski@bio.uni-stuttgart.de</a>   |
| Thiel, Heike           | Institut für Zuckerrübenforschung                           | <a href="mailto:thiel@ifz-goettingen.de">thiel@ifz-goettingen.de</a>                             |
| Varrelmann, Mark       | Institut für Zuckerrübenforschung                           | <a href="mailto:varrelmann@ifz-goettingen.de">varrelmann@ifz-goettingen.de</a>                   |
| Vetten, Heinrich Josef | Julius Kühn Institut  | <a href="mailto:heinrich-josef.vetten@jki.bund.de">heinrich-josef.vetten@jki.bund.de</a>         |
| Vo, Dieu               | Uni Stuttgart   | <a href="mailto:dieu.vo(at)bio.uni-stuttgart.de">dieu.vo(at)bio.uni-stuttgart.de</a>             |
| von Bargen, Susanne    | HU Berlin, Fachgebiet Phytomedizin                          | <a href="mailto:susanne.von.bargen@agrار.hu-berlin.de">susanne.von.bargen@agrار.hu-berlin.de</a> |
| Wege, Christina        | Universität Stuttgart, Biol. Institut                       | <a href="mailto:christina.wege@bio.uni-stuttgart.de">christina.wege@bio.uni-stuttgart.de</a>     |
| Weinheimer, Isabel     | RLP Agrosience GmbH AlPlanta                                | <a href="mailto:isabel.weinheimer@agrosience.rlp.de">isabel.weinheimer@agrosience.rlp.de</a>     |
| Werre, Hassan          | Masinde Muliro University of Science and Technology (MMUST) | <a href="mailto:hwere@mmust.ac.ke">hwere@mmust.ac.ke</a>   |
| Wetzel, Thierry        | RLP Agrosience  | <a href="mailto:thierry.wetzel@agrosience.rlp.de">thierry.wetzel@agrosience.rlp.de</a>           |
| Winter, Stephan        | DSMZ Plant Virus Department                                 | <a href="mailto:stephan.winter@jki.bund.de">stephan.winter@jki.bund.de</a>                       |
| Ziebell, Heiko         | Julius Kühn-Institut  | <a href="mailto:heiko.ziebell@jki.bund.de">heiko.ziebell@jki.bund.de</a>                         |
| Ziegler, Angelika      | JKI Quedlinburg   | <a href="mailto:Angelika.Ziegler@jki.bund.de">Angelika.Ziegler@jki.bund.de</a>                   |

## AK VORRATSSCHUTZ 16.11.2011

### LABORVERSUCH ZUR MOTTENENTWICKLUNG DER MEHLMOTTE EPHESTIA KUEHNIELLA BEI PHEROMON-VERWIRRTECHNIK

Adler, Cornel<sup>1</sup>, Beier, Sandra<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsanstalt für Kulturpflanzen, Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Str. 19, D-14195 Berlin

<sup>2</sup>Hartensteiner Str. 11, 08118 Hartenstein OT Thierfeld

Contact: cornel.adler@jki.bund.de

In Laborversuchen wurden 100 Mehlmotten im Puppenstadium in Versuchsräumen bei  $22\pm 2^\circ\text{C}$  und  $53\pm 10\%$  r.Lf. unter leicht gedämpften Tageslichtbedingungen ausgebracht, um einen natürlichen Befallsherd zu simulieren. Zehn Labortablets mit je einem Kilo Weizenkörnern standen im Zentrum des Raums, um den Weibchen eine Möglichkeit zur Eiablage zu geben. Ein Sutterra CheckMate® SPM Dispenser, der zur Verwirrung der Mottenmännchen (Z,E)-Tetradeca-9,12-dienylacetat (TDA) freisetzt, wurde von der Decke des Versuchsraumes mit einem Volumen von 30 m<sup>3</sup> gehängt, während in einem Nachbarraum zur Kontrolle keine Pheromonverwirrung stattfand. Nach drei Wochen wurden die zehn Kilo Weizen in Glasgefäße gefüllt und bei  $24\pm 1^\circ\text{C}$  und  $65\pm 5\%$  r.Lf. bebrütet. Die geschlüpften Falter wurden gezählt, um den Einfluss der Verwirrmethode auf die erzeugte Nachkommenschaft zu prüfen. In drei Wiederholungen schlüpften im Mittel  $1377\pm 546$  Motten in Versuchen mit Verwirrtechnik. Im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle entspricht dies einer Reduktion von  $45,4\pm 21\%$ . Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Verwirrmethode die Zahl an erfolgreichen Paarungen reduziert, aber in geschlossenen Räumen bei starker Schädlingsentwicklung nicht als Bekämpfungsmethode ausreicht. Die häufig berichtete starke Abnahme der Fangzahlen in Pheromon-Lockstofffallen ist kein zuverlässiges Zeichen für den Erfolg einer Maßnahme, da den Fallen bei Anwendung der Verwirrtechnik lediglich ihre Köderwirkung verloren geht. Besser geeignet zur Bestimmung der Populationsentwicklung bei Einsatz der Pheromon-Verwirrtechnik wären Fallen, die unabhängig von TDA-Ködern sind.

### BIOLOGISCHE BEKÄMPFUNG DES REISMEHLKÄFERS TRIBOLIUM CONFUSUM IN EINER MÜHLE

Adler, Cornel<sup>1</sup>, Schöller, Matthias<sup>2</sup>, Beier, Sandra<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsanstalt für Kulturpflanzen, Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Str. 19, D-14195 Berlin

<sup>2</sup>Grünberger Str. 33, 10245 Berlin

<sup>3</sup>Hartensteiner Str. 11, 08118 Hartenstein

Contact: cornel.adler@jki.bund.de

*Holepyris sylvanides* ist ein larvaler Ectoparasitoid des Amerikanischen Reismehlkäfers *Tribolium confusum*. In einem Praxis-Versuch wurde eine fünfgeschossige Mühle im April 2010 wärmebehandelt, um die Zahl vorhandener Schadinsekten auf ein Minimum zu reduzieren. Anschließend wurden etwa 300 H. *sylvanides* im Abstand von zwei Wochen in der Mühle freigelassen, wobei 150 Individuen im ersten Stock und 140 Tiere im zweiten Stock ausgesetzt wurden. Das Auftreten vorratsschädlicher Insekten wurde mit Dometraps und selbst angefertigten Futterköderfallen in dreieckigen Mäuseboxen mit Datalogger zur Temperatur- und Feuchtemessung überprüft. Die Zahlen gefangener Reismehlkäfer blieben niedrig bis Mitte November 2010. Eine üblicherweise für den Herbst terminierte zweite Wärmebehandlung konnte unterbleiben. Unter den gefangenen Käfern befanden sich neben T.

confusum auch *Sitophilus oryzae* and *S. granarius*. Auch eine natürliche Population des Larvalparasitoiden *Lariophagus distinguendus* konnte durch Fänge im Öl der Dometrap festgestellt werden. Als im November wegen winterlich kalter Witterung die Versendung Freilassung von *H. sylvanides* eingestellt wurde, kam es zu einem Anstieg der Population des Reismehlkäfers. Dadurch musste die zunächst für Pfingsten geplante Wärmebehandlung auf April 2011 vorgezogen werden. In vor der Wärmebehandlung ausgelegten Ködern mit Larven des Reismehlkäfers fand sich eine tote *H. sylvanides* und parasitierte Larven, was darauf hinweist, dass sich eine Population des Gegenspielers über den Winter halten konnte.

## **PRAKTISCHE ERFAHRUNGEN MIT MOTTENVERWIRRTECHNIK EXOSEX SPTABS**

Biebl, Stephan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Mariabrunnweg 15, 83671 Benediktbeuern, Deutschland*

*Contact: info@holzwurmfluesterer.de*

Erste praktische Erfahrungen mit der Mottenverwirrtechnik „Exosex™ SPTab“ First practical experiences with the moth Auto-confusion™ system “Exosex™ SPTab” S. Biebl [www.holzwurmfluesterer.de](http://www.holzwurmfluesterer.de) Das Exosex-System aus England ist in Deutschland seit Anfang des Jahres 2011 kommerziell erhältlich. Zur Anwendung im Vorrats- oder Materialschutz können unterschiedliche Pheromontabletten für Lebensmittel- motten (*Plodia/Ephestia*) oder Kleidermotten (*Tineola*) eingesetzt werden, die mit zwei verschiedenfarbigen Tablettenhaltern an Oberflächen fixierbar sind. Praktische Erfahrungswerte liegen bislang nur aus England vor, wo die Firma Exosect Limited ihre seit 2001 entwickelte und patentierte „Entostat-Pulvertechnologie“ in verschiedenen Versuchen in Lebensmittelbetrieben und Museen testen und anwenden konnte. Die Ergebnisse aus England lassen auf eine wirksame Technologie schließen, die jedoch bezüglich Anwendungstechnik mit gewisser Ausbildung und Erfahrung des Anwenders (z.B. Schädlingsbekämpfer) verbunden ist. Anhand von verschiedenen Einsatzorten, wie Museen, Sammlungen und Lebensmittelbetrieben, werden die ersten praktischen Erfahrungen bei der Installation und Anwendung der Mottenverwirrtechnik beschrieben. Zur Diskussion stehen Fragen, wie alternative Befestigungstechnik in unterschiedlichen Umgebungen, Querverbindungen und Aussagekraft der Fangergebnisse mittels Pheromonfallen oder Dauerhaftigkeit der Pulvertabletten unter wirtschaftlichen Aspekten.

## **ERPROBUNG DER VERWIRRTECHNIK UNTER PRAKTISCHEN BEDINGUNGEN IM VORRATSSCHUTZ**

Böye, Jürgen<sup>1</sup>, Mück, Otto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*BM Seminar & Consulting GmbH, Hohenböckener Weg 2, 27798 Hude*

<sup>2</sup>*BM Deminar & Consulting GmbH, Falkenstr. 14. 22885 Barsbüttel*

*Contact: juergen.boeye@bm-seminar.de*

Das Verfahren der Verwirrtechnik gegen vorratsschädigende Motten im Vorratsschutz beruht auf einer Übersättigung des Luftraumes mit der Hauptkomponente des weiblichen Sexuallockstoffs. Wegen der hohen Pheromonkonzentrationen können die männlichen Motten nicht mehr paarungsbereite Weibchen lokalisieren; die Partnerfindung und Paarung wird gestört und die Fortpflanzung der Tiere reduziert. Im hier beschriebenen Versuch wurde untersucht, ob durch den Einsatz von Allure® MD-Pheromondispensern die Entwicklung von Mottenpopulationen unter Praxisbedingungen nachweislich verringert werden kann.

Der Praxisversuch wurde in drei Mühlen und einem Getreidelagerbetrieb durchgeführt. An jedem Standort wurden je ein Testraum und ein unbehandelter Referenzraum ausgewählt. Die Anzahl der Allure MD-Dispenser wurde jeweils nach Raumgröße entsprechend den Herstellerangaben festgelegt. Die Ergebnisse in einem der drei Mühlenbetriebe und dem Getreidelager zeigten eine eindeutige Wirkung, während in den beiden übrigen Mühlen keine Wirkung nachgewiesen werden konnte. Offenbar sind Allure MD-Dispenser als alleinige Abwehrmethode gegen vorratsschädliche Motten vor allem bei größeren Populationen nicht ausreichend. Bei geringem Mottenbefall und frühzeitiger Anwendung erscheint die Verwirrtechnik jedoch in Kombination mit anderen Verfahren des integrierten Vorratsschutzes beachtliches Potenzial aufzuweisen, da sie die Befallsentwicklung verzögern kann und gegenüber routinemäßigen Insektizid-Vernebelungen einen erheblichen Kostenvorteil aufweist.

## **VAKUUMVERPACKUNGEN FÜR DEN VORRATSSCHUTZ**

Boeye, Jürgen<sup>1</sup>, Mück, Otto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*BM Seminar & Consulting GmbH, Hohenböckener Weg 2, 27798 Hude*

<sup>2</sup>*EWCS GmbH, Südweststraße 19, 28237 Bremen*

*Contact: juergen.boeye@bm-seminar.de*

Als neues Verfahren des Vorratsschutzes durch Sauerstoffentzug wurde das mit einem Patentventil versehene vQm System entwickelt. Es kann für Gebindegrößen von wenigen Litern bis hin zu Big Bags eingesetzt werden. Die dabei verwendete siebenlagige und lebensmittelechte Folie erlaubt Lagerzeiten von mehr als einem Jahr. Mit Hilfe eines speziellen Vakuumeräts und eines handelsüblichen Kompressors (8 bar) lässt sich leicht ein definiertes Vakuum erzeugen. Optional kann vorher mit Stickstoff gespült werden, so dass ein Restsauerstoffgehalt von etwa 0,1 % erzielt werden kann. Die Ware wird hierbei hervorragend konserviert, vorhandene Schadinsekten aller Stadien einschließlich der Eier sterben ab und ein Neubefall ist infolge der durch die Folie entstehenden Geruchsbarriere ausgeschlossen. Außer vorratsschädigenden Insekten und Milben wird auch aeroben Mikroorganismen (z.B. Schimmel) die Existenzgrundlage entzogen. Ölhaltige Produkte wie Nüsse werden überdies wesentlich langsamer ranzig als konventionell gelagerte. Das vQm Verfahren ist für Vorratsgüter aller Art geeignet, so zum Beispiel für Nüsse, Kakao, Trockenfrüchte, Reis, Hülsenfrüchte, Kräuter und Tees, Gewürze. Das eigens für dieses Verfahren entwickelte Ventil erlaubt es, Volumina über 50 l und pulverförmige Waren unter Vakuum zu verpacken. Auch Bioware kann mit diesem giftfreien Verfahren behandelt werden. Sowohl die Investitions- als auch die Betriebskosten sind im Vergleich zu anderen Verfahren wie etwa der Druckentwesung vergleichsweise gering.

## **SIMULATION ZUR GAS AusBREITUNG BEI ÖFFNUNG ODER UNDICHTIGKEITEN BEGASTER CONTAINER**

Flingelli, Gabriele<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Julius Kühn-Institut, Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, 14195 Berlin*

*Contact: gabriele.flingelli@jki.bund.de*

Frachtcontainer können im Falle einer vorausgegangener Begasung bei falscher oder fehlender Kennzeichnung für die Personen, welche die Container öffnen, unkalkulierbare Gesundheitsrisiken bergen. Möglicherweise bedeutet bereits der zufällige Aufenthalt in der

Nähe eines solchen Containers eine Gefahr. Dies gilt vor allem für Logistiker und Zollbeamte aber auch für Soldaten bei der Inspektion auf See oder für Mitarbeiter am Frachtziel.

Für das Ausbreitungsverhalten von Gasen aus begasten Containern liegen insbesondere für Sulfurylfluorid nur wenige Daten vor. Einem Bericht der niederländischen Behörde für Risikobewertung RIVM zufolge, wird aufgrund von Modellrechnungen zur Gasausbreitung eine Ausweitung des Sicherheitsabstandes während einer Begasung auf 20 m diskutiert.

Studien aus 2003 und 2007 im Rotterdamer und Hamburger Hafen ergaben bei bis zu 20% der geprüften Importcontainern Belastungen mit Begasungs- aber auch Produktionsmitteln, welche in einigen Fällen oberhalb des Arbeitsplatzgrenzwertes lagen.

In eigenen Versuchen wurde die Gasausbreitung im Raum nach Öffnen einer begasten Versuchskammer simuliert. Die Versuche wurden exemplarisch mit Sulfurylfluorid durchgeführt. In verschiedenen Szenarien wurde der zeitliche Verlauf der Gaskonzentration an verschiedenen Messpunkten im Raum mithilfe von FTIR-Spektrometern bestimmt. Die Versuche erfolgten unter besonderen Vorkehrungen hinsichtlich der Arbeitssicherheit.

Insbesondere im windstillen Raum beim Öffnen einer kleinen Lucke zeigte sich ein Bild, das dem Grenzfall einer Gasausbreitung durch Diffusion entsprechend interpretiert werden kann. In einigen Fällen waren nach 20 h noch Restkonzentrationen in der Kammer nachweisbar. Auch wurden an Messpunkten neben der Kammer bei gleichzeitiger Raumlüftung im „LUV“-Bereich unerwartet hohe Konzentrationen gemessen.

Die Ergebnisse zusammenfassend, ist die Gasausbreitung nach dem Öffnen von begasten Containern schwer vorhersehbar. Dem Risiko ließe sich mit der Bereithaltung geeigneter Messgeräte begegnen, sofern die Art des Gases bekannt ist.

## **PHOSPHORWASSERSTOFFRESISTENZ BEI VORRATSSCHÄDLICHEN INSEKTEN**

Gabriele Flingelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Königin-Luise-Straße 19, 14195 Berlin

Contact: [gabriele.flingelli@jki.bund.de](mailto:gabriele.flingelli@jki.bund.de)

Vor dem Hintergrund zunehmend verschärfter Vorgaben bezüglich der Grenzwerte für Pflanzenschutzmittelrückstände und der Expositionsgrenzwerte aus der Sicht des Arbeitsschutzes wächst die Bedeutung der zur Verfügung stehenden Methoden und Mittel. Dennoch findet sich gerade im Vorratsschutz eine stetig schrumpfende Zahl an zugelassenen Pflanzenschutzmitteln. Auf dem Markt erhältlich sind derzeit insgesamt 39 Vorratsschutzmittel (incl. Rodentizide). Die Zahl der insektiziden Wirkstoffe beträgt 10; Es sind diese Phosphorwasserstoff und Phosphorwasserstoff-entwickelnde Präparate, Sulfurylfluorid, Kohlendioxid, Pyrethrine, Pyrimiphos-methyl, Lambdacyalothrin, Deltamethrin und Kieselgur.

Die Begasung mit Phosphorwasserstoff (PH<sub>3</sub>) ist ein bewährtes Verfahren im Vorratsschutz und wird hinsichtlich der Pflanzenschutzmittelrückstände günstig bewertet. Sie ist gerade für die Anwendung bei befallenen Getreide und Getreideerzeugnissen beinahe alternativlos.

Das weltweit dokumentierte Auftreten von Resistenzen vorratsschädlicher Insekten gegen den Wirkstoff PH<sub>3</sub> wird auf unsachgemäße Begasung oder den Import resistenter Stämme zurückgeführt. Es besteht die latente Gefahr, dass hochgradige Resistenzen eine Bekämpfung mit PH<sub>3</sub> bedeutend erschweren.

Die Mechanismen der Resistenzbildung sind bislang nur wenig aufgeklärt, wenn auch die Fähigkeit der Insekten zur verringerten Giftaufnahme eine entscheidende Rolle zu spielen scheint.

In einer fortdauernden Studie des Julius Kühn-Institutes wurden resistente und resistenzverdächtige Tierstämme untersucht. Anhand einer Auswahl an Ergebnissen soll die



Tragweite der Resistenz aufgezeigt und die Frage nach der Resistenz in Deutschland kritisch diskutiert werden.

Den Testverfahren zugrunde liegen Tierproben, welche an das Julius Kühn-Institut eingesandt und parallel zu Laborstämmen in Zucht genommen wurden. In Resistenztests wurden jeweils 180 adulte Tiere in Drahtkäfigen in gasdichten Versuchsgefäßen bei 23°C für 72h PH<sub>3</sub>-Konzentrationen zwischen 5vpm und 1400vpm exponiert. Die Mortalität wurde auf die nicht begaste Kontrolle bezogen. Für Schnelltests wurden je 10 oder 20 adulte Tiere in Petrischalen einer Konzentration von 1000 ppm ausgesetzt. Der Fortgang der Wirkung wurde über mehrere Stunden bis Tage durch wiederkehrende Kontrollen auf sichtbare Lebenszeichen während der Exposition dokumentiert. PH<sub>3</sub> wurde aus Mg<sub>3</sub>P<sub>2</sub> entwickelt. Die Zugabe erfolgt mithilfe von gasdichten Spritzen. PH<sub>3</sub>-Gehalte wurden mittels eines gaschromatographischen Verfahrens bestimmt. PH<sub>3</sub> ist ein sehr giftiges Gas. für alle Arbeiten mit PH<sub>3</sub> wurden besondere Vorkehrungen hinsichtlich der Arbeitssicherheit getroffen.

Die Ergebnisse führen vor, wie Proben des Getreidekapuziners *Rhizopertha dominica* aus dem außereuropäischen Ausland im Vergleich zum Laborstamm eine etwa 10 fach höhere Dosis zur vollständige Abtötung erfordern. Im Bereich von Konzentrationen unter 700ppm tritt die unterschiedliche PH<sub>3</sub>-Toleranz deutlich zu Tage. Im Schnelltest mit einem resistenzverdächtigen Stamm des Rotbraunen Leistenkopfplattkäfers *Cryptolestes ferrugineus* ist die Immobilisierung der Tiere zu beobachten. Die resistenzverdächtigen Tiere bleiben länger mobil und überdauern die PH<sub>3</sub>-Exposition in einem „narkotisierten“ Zustand. Ein weiterer Verdacht auf einen resistenzverdächtigen Stamm *Cryptolestes ferrugineus* aus einem Kraftfutterwerk in Deutschland konnte im Labor nicht bestätigt werden.

Insgesamt sind dem Julius Kühn-Institut bislang nur drei Funde aus Deutschland mit, durch obige Tests bestätigter leichter Resistenz bekannt: *Cryptolestes ferrugineus* an importiertem Kakao sowie Korn- und Reiskäfer *Sitophilus granarius* u. *S. oryzae* aus Getreidelagern. Eine systematische Erhebung zum Auftreten von Resistenzen ist bislang nur in wenigen außereuropäischen Ländern erfolgt. Zusammenfassend bleibt es weiterhin bedeutsam, die Situation in Deutschland zu beobachten. An dieser Stelle ist die Kooperation mit Lagerhaltern und professionellen Schädlingsbekämpfern zu suchen.

## **BEKÄMPFUNG VERBORGENER BEFALLSHERDE DER KLEIDERMOTTE DURCH SCHLUPFWESPEN**

Jotzies, André<sup>1</sup>, Plarre, Rudy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hufelandstraße 47, Berlin 10407

<sup>2</sup>Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Fg IV.1, Berlin

Contact: sechsechsfuenf@gmx.de

Abstract: „Bekämpfung verborgener Befallsherde der Kleidermotte durch Schlupfwespen“ Von A. Jotzies und R. Plarre, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Berlin Die parasitoide Schlupfwespe *Apanteles carpatus* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) ist eine solitäre, koinobionte Endoparasitoide von Tineidenlarven, speziell der Pelz- und Kleidermottenlarven. Die Entwicklungsdauer vom Ei bis Adultus beträgt 19-34 Tage, die Lebensdauer der Adulti beträgt 3-4 Tage (ohne Futter) und bis zu 27 Tage (mit Futter) und die Anzahl der Nachkommen beträgt durchschnittlich 24-30 Wespen. Bisherige Untersuchungen konnten einen guten Spürsinn für Larven der Pelz- und Kleidermotte sowie deren Habitate feststellen sowie gute Parasitierungserfolge an den Mottenlarven. Die Ergebnisse der Versuche zum Eindringvermögen und zur Parasitierungsleistung von *A. carpatus* an Larven der Kleidermotte in unterschiedlichen Substrattiefen zeigen in allen getesteten Positionierungen der Wirtslarven einen signifikanten Rückgang des Mottenbefalls. Dabei zeigt *A. carpatus* ein gutes Eindringvermögen in alle verborgenen Befallsherde. Die



Ergebnisse stützen die gute Eignung von *A. carpatus* als Kandidat zur biologischen Bekämpfung der Kleidermotte. Ihre Zucht in großer Zahl ist möglich. An schwer zugänglichen Orten (z.B.: Textillager, Dämmwolle etc.), bei denen physikalische und chemische Maßnahmen nur unzureichend eingesetzt werden können, hat *A. carpatus* großes Anwendungspotential. André Jotzies, Berlin den 14. 11. 2011

## **VERWIRRTECHNIK IM VORRATSSCHUTZ**

Lachmuth, Ulrich<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*formaco pmc ag, Althardstrasse 70. CH 8105 Regensdorf, Schweiz*

*Contact: u.lachmuth@formaco.ch*

In der Landwirtschaft und im Obstbau ist die Verwirrtechnik zum Schutz von Erntegütern seit vielen Jahren eine standardisierte Technik. Die Anzahl der Schädlinge ist überschaubar, ihre Biologie und Populationsdynamik ist bekannt, das Umfeld ist homogen; Umwelteinflüsse, Tag-/Nacht-Wechsel und natürliche Feinde sind vorhersehbar.

Mit einer genügend hohen Anzahl von Pheromondispensern kann in einem Gebiet flächendeckend eine hohe Konzentration an Pheromon aufgebaut und gehalten werden – männliche Motten finden keine Geschlechtspartner mehr, die Schädlingspopulation bricht zusammen. Der Erfolg der Massnahme ist daran abzulesen, dass aufgestellte Pheromonfallen leer bleiben – die Pheromonkonzentration ist so hoch, dass nicht nur die "natürlichen" Quellen (=Weibchen), sondern auch die Fallen maskiert und nicht mehr gefunden werden.

Im Vorratsschutz und in der Lebensmittelindustrie liegen andere Voraussetzungen vor. Das Umfeld eines Befalls ist meist komplex und wenig homogen, Befälle werden durch eine Vielzahl versteckter Brutstätten gefördert, natürliche Feinde sind nicht vorhanden, speziell Produktionen sind klimatisiert und haben durch permanenten Betrieb auch keine klar erkennbaren Tagesrhythmen. Dazu kommt, dass meist unter bestimmten Industriestandards produziert wird, die weitgehende Dokumentationen fordern – permanente "Null-Fänge" würden die Aussagekraft installierter Monitoringsystems unterlaufen.

Exosex SPTab ® ist eine neue Technologie, die den Ansatz der traditionellen Verwirrtechnik und die Anforderungen im Vorratsschutz und in der Lebensmittelindustrie miteinander vereint und erstmals eine echte Integrierte Schädlingsbekämpfung in der professionellen Anwendung ermöglicht.

Ein mit Pheromon imprägniertes elektrostatisches Pulver lockt männliche Motten der fünf wichtigsten vorratsschädlichen Arten in spezielle Dispenser und bleibt dort an ihnen haften. Die Rezeptoren der Männchen werden überladen und verhindern, dass paarungsbereite Weibchen gefunden werden können. Gleichzeitig werden die Mottenmännchen selbst zu mobilen Pheromonquellen - der Verwirreffekt wird potenziert und falsche Pheromonspuren werden direkt in die Aktivitätsbereiche und -zeiten der Motten gebracht. Das Pheromon wird dabei in physiologischen Dosen angeboten, ein konventionelles Monitoring über Fallen ist nicht beeinträchtigt und der Erfolg der Massnahme kann überwacht werden. Für die Produktion biologischer Lebensmittel bietet die Verwirrtechnik darüber hinaus eine echte pestizidfreie Langzeitkontrolle von Mottenbefällen.

Die effektive Verwirrung und die Auswirkung auf die Eiablage von Mottenweibchen wurde mittlerweile durch spezielle Versuche unter Realbedingungen nachgewiesen (noch nicht publiziert).

SPTab ® ist kein Ersatz für Vorratsschutz-Präparate und erfordert vor der Anwendung sorgfältige Planung – der Hersteller bietet daher umfassenden Produktsupport und Hilfestellung bei Problemfällen und kann für die Organisation von internen oder firmenübergreifenden Workshops kontaktiert werden. Das Produkt ist in Deutschland unter der BAUA-Nummer 39129 registriert.

## ÜBERBLICK ÜBER DIE CORESTA FORSCHUNG ZUR ENTWICKLUNG EINES STANDARDS ZUM BEHANDELN VON TABAK MITTELS SOGENANNTER "CONTROLLED ATMOSPHERE" TECHNIK

Murray, Annette<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Reemtsma Cigarettenfabriken GmbH Abt. CQM, Max-Born-Str. 4, 22761 Hamburg  
Contact: [annette.murray@reemtsma.de](mailto:annette.murray@reemtsma.de)

Die CORESTA Arbeitsgruppe: Pest and Sanitation Management in Stored Tobacco beschäftigt sich seit ca. 2 Jahren sehr intensiv mit der Controlled Atmosphere (CA) Behandlung.

Im gelagerten, trockenen Tabak kommen zwei Schädlinge vor: Tabakkäfer (*Lasioderma serricorne*) und Tabakmotte (*Ephestia elutella*). In der Vergangenheit wurden als Bekämpfungsmaßnahmen gute Hygiene, Phosphorwasserstoffbegasung, Tiefkühlung und in der Raumluft vernebelte Insektizide benutzt. Gestiegene Sensibilität gegenüber toxischen Substanzen, ineffektive Begasung unterhalb 16°C Produkttemperatur, sowie die Entwicklung von phosphorwasserstoffresistenten Stämmen haben die Notwendigkeit der Bereitstellung einer weiteren, alternativen Bekämpfungsmethode entstehen lassen.

Unter dem Begriff CA-Behandlung werden mehrere unterschiedliche Verfahren beschrieben. Nach vorhergehendem Literaturstudium und Beurteilung der unterschiedlichen Gaszusammensetzungen entschied die Arbeitsgruppe sich für ein Verfahren bei dem der Luftsauerstoff mittels „Filtern“ aus der Umgebungsatmosphäre entfernt wird, übrig bleibt somit der Stickstoff. Beeinflussende Größen sind hierbei der verbleibende Sauerstoffgehalt, die Temperatur des Produktes, die relative Luftfeuchte und natürlich die Einwirkzeit.

Dieses Verfahren wird bereits seit mehreren Jahren erfolgreich im Bio-Lebensmittel Bereich angewandt und es gibt Anbieter für die Technologie.

In der Literatur - und auch nach den Erfahrungen der Anbieter - werden Käfer als toleranter gegenüber CA-Behandlungen eingestuft als Motten. Deshalb wurde der Tabakkäfer - und hier wiederum ein phosphorwasserstoffresistenter Stamm - von uns für die Versuche ausgewählt.

Nach orientierenden Vorversuchen wurden Parameter für die 100%ige Mortalität der Testinsekten definiert, die dann in umfangreichen Praxisversuchen geprüft wurden. Die endgültigen Bedingungen, die in einer CORESTA Richtlinie publiziert werden sollen, wurden noch nicht abschließend festgelegt. Es stehen auch noch einige chemisch-analytische Daten aus.

In der Arbeitsgruppe werden folgende Parameter geprüft:

0,5 % Sauerstoffgehalt

Produkttemperatur 28°C, 9 Tage Einwirkzeit

Produkttemperatur 38°C, 4 oder 5 Tage Einwirkzeit

Da sich in der Praxis die Kontrolle der Luftfeuchtigkeit, bei den von uns in Großversuchen durchgeführten Behandlungen, als schwierig erweist, wurde dies von uns zunächst nicht mit in den Parameter-Katalog aufgenommen.

Nach dem jetzigen Stand der Untersuchungen ist die Arbeitsgruppe sicher, daß es in nächster Zukunft mit der CA-Behandlung eine weitere Alternative zu den bestehenden Methoden der Tabakschädlingsbekämpfung geben wird.

## **BEGASUNGSMITTEL UND ANDERE SCHADSTOFFE IN IMPORTCONTAINERN**

*Otto Mück<sup>1</sup>, Jürgen Böye<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*EWCS GmbH, Südweststraße 19, 28237 Bremen*

<sup>2</sup>*BM Seminar & Consulting GmbH, Hohenböckener Weg 2, 27798 Hude*

*Contact: o.mueck@ewcs-gmbh.de*

Importcontainer werden teilweise im Ursprungsland begast, um Holz zerstörende oder an Vorräten schädigend wirkende Insekten abzutöten. Häufig fehlen entsprechende Begleitpapiere und/oder Kennzeichnungen. Daneben treten häufig weitere gas- oder dampfförmige Schadstoffe, insbesondere Industriechemikalien in zum Teil hohen Dosierungen auf. Daraus erwachsen erhebliche Gesundheitsgefährdungen für Beschäftigte, die solche Container öffnen und entladen und im Extremfall auch für die Verbraucher der darin enthaltenen Waren. Auswertung von Messungen an 51.174 Containern im Jahr 2010 und 61.349 Containern in 2011 in verschiedenen europäischen Ländern haben gezeigt, dass ca. 12 % dieser Container Schadstoffbelastungen im Luftraum aufwiesen, die die zulässigen Arbeitsplatzgrenzwerte überschritten. Zu den Warengruppen, in denen Grenzwertüberschreitungen gehäuft auftraten, zählen Konsumgüter (17 %), elektronische Geräte (16 %), Lebensmittel (15 %) und Schuhe (37 %). Die meisten belasteten Container stammen aus dem süd- und südostasiatischen Raum. Die beiden regelmäßig auftretenden Begasungsmittel waren Phosphorwasserstoff (552 Grenzwertüberschreitungen im Jahr 2011) und Brommethan (497 Überschreitungen). Sulfuryldifluorid wurde hingegen lediglich in 17 Containern in überhöhter Konzentration nachgewiesen und Cyanwasserstoff nur in einem. Weitere wichtige Stoffe sind flüchtige organische Verbindungen, allen voran 1,2-Dichlorethan (1.412 Grenzwertüberschreitungen/2011), Kohlenmonoxid (1.532 Überschreitungen) und Formaldehyd (1.376 Überschreitungen). Eine risikoorientierte Messstrategie mit hochempfindlichem und leistungsfähigem Messgerät (Massenspektrometer) und sofort verfügbarer Dokumentation in Form eines Gasmessprotokolls zur Verbesserung der Arbeitssicherheit wurde vorgestellt. Begaste Container werden über Aktivkohlefilter zwangsgelüftet und entsprechend den gefahrstoffrechtlichen Vorschriften freigegeben.

## **DIE HOHENHEIMER BOX: EINE METHODE ZUR KONTINUIERLICHEN MASSENZUCHT UND FREISETZUNG DER LAGERERZWESPE IM GETREIDELAGER ZUR BEKÄMPFUNG VON KORNKÄFERN.**

*Steffi Niedermayer<sup>1</sup>, Johannes L. M. Steidle<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Universität Hohenheim, Institut für Zoologie, Garbenstrasse 30, 70599 Stuttgart*

*Contact: johannes.Steidle@uni-hohenheim.de*

Der Kornkäfer *Sitophilus granarius* stellt weltweit eine der größten Bedrohungen von gelagertem Getreide dar. Zur Bekämpfung dieses Schädling insbesondere im ökologischen Landbau ist seit einigen Jahren die Lagererzwespe (*Lariophagus distinguendus*) in Deutschland und anderen europäischen Ländern erhältlich. Allerdings ergab eine Umfrage in Süddeutschland, dass nur wenige Landwirte des ökologischen Landbaues diese Methode der Bekämpfung nutzen, u.a. da sie als sehr zeitaufwendig und teuer empfunden wird.

Um die Anwendung der Lagererzwespe zu erleichtern und ihre Akzeptanz zu verbessern, wurde eine Zuchtbox entwickelt, in der Lagererzwespen vor Ort im Lager gezüchtet und über mehrere Monate hinweg kontinuierlich freigesetzt werden können. Die wichtigsten Schritte bei der Entwicklung der Zuchtbox werden in dem Vortrag vorgestellt. Dabei handelt es sich um

- die Bestimmung geeigneter Wirte und Wirtssubstrate

- die Entwicklung einer Auslassöffnung, welche nur die Wespen passieren läßt und die Wirte zurückhält
- die experimentelle Bestimmung von Startpopulationen an Wirten und Wespen, bei denen über mehrere Monate hinweg ausreichend Wespen aus der Zuchtbox in das Lager einwandern, ohne dass es zu einem Zusammenbruch der Populationen kommt oder zu einer Verpilzung und Vermilbung des Substrates.

### **QUALITÄTSKONTROLLE BEI NÜTZLINGEN ZUR MOTTENBEKÄMPFUNG: TRICHOGRAMMA EVANESCENS UND DIE MEHLMOTTENSCHLUPFWESPE BRACON HEBETOR.**

Zimmermann, Olaf<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AMW Nützlinge GmbH, Außerhalb 54, 64319 Pfungstadt

Contact: [zimmermann@amwnuetzlinge.de](mailto:zimmermann@amwnuetzlinge.de)

Der Einsatz von Nützlingen im Rahmen einer integrierten Mottenbekämpfung gewinnt zunehmend an Bedeutung. Sowohl der Gesetzgeber als auch der Verbraucher verlangen eine nachhaltige und rückstandsfreie Nahrungsmittelproduktion. Hierzu kann der Nützlichseinsatz einen erheblichen Teil beitragen. Die Anwendungsempfehlungen und die Wirksamkeit der verwendeten natürlichen Gegenspieler der Vorratsmotten hängen nicht zuletzt von einer konsequenten Qualitätskontrolle ab. Von der Zucht, der Produktion bis hin zur Anwendung durchlaufen die Nützlinge eine Reihe von Stationen, an denen ihre Qualität beeinflusst, aber auch geprüft werden kann. Im Bereich Pflanzenschutz bestehen bereits umfangreiche Prüfprotokolle für die Standardqualität von sogenannten Nutzarthropoden. Am Beispiel der Trichogramma-Schlupfwespe *T. evanescens* und der Mehlmottenschlupfwespe *Bracon (=Habrobracon) hebetor* wird anschaulich dargestellt, welche Parameter vergleichend untersucht und wie sie dokumentiert werden. Eine transparente und fachlich fundierte Qualitätskontrolle bei Nützlingen im Vorratsschutz ist für die Wirksamkeit in der Praxis von entscheidender Bedeutung.

## Mitteilungen und Nachrichten

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

### Arbeitskreis Wirbeltiere der DPG – 18. Tagung

Der AK Wirbeltiere traf sich zu seiner 18. Tagung vom 15. bis 16. November 2011 bei Lübben im Spreewald. Die Schwerpunkte der Beiträge lagen neben den Feldmäusen und den kommensalen Nagern auch bei den Wirbeltieren im Forst, besonders bei der Frage nach der natürlichen Waldverjüngung im Verhältnis zu Hege und Jagd. Ein besonderes, regional spezifisches Thema wurde in einem Vortrag über die Vorkommen des Wolfs in Brandenburg vorgestellt.

Ein Themenschwerpunkt der Vorträge und Diskussionen war wieder die Entwicklung von Prognosemodellen für die Vorhersage von Gradationen der Feldmaus. Mit der Einbeziehung immer größerer geographischer und bodenkundlicher Datenmengen werden die Modelle verlässlicher. Bei den kommensalen Nagern steht nach wie vor das Thema Resistenz gegen antikoagulante Rodentizide im Vordergrund. Insofern potentielle genetische Marker für Resistenz bekannt sind, geht es nun darum, jene zu finden, die in Verbindung mit erhöhter Toleranz stehen, und diese auch unter dem Aspekt der Konsequenzen für die Praxis zu charakterisieren. Der Themenkreis der diesjährigen Tagung wurde komplettiert durch zwei Vorträge über Hanta-Viren und ein neues Hepatitis E-Virus.

Die anschließende Versammlung der DPG-Mitglieder stimmte dem Vorschlag des Leiters des Arbeitskreises und seines Stellvertreters zu, ihre Positionen für die nächsten vier Jahre zu tauschen. Leiter des AK ist nun Dr. Jens JACOB, Stellvertreter ist Dr. Stefan ENDEPOLS.

Herrn Manfred LEHMANN und dem LELF Brandenburg, Pflanzenschutzdienst sei nochmals im Namen aller Teilnehmer für die perfekte Vorbereitung und die sehr gastfreundliche Betreuung der Tagung gedankt!

Für den AK Wirbeltiere im November 2011:  
Dr. Stefan ENDEPOLS (Monheim)

Die eingereichten Zusammenfassungen der Beiträge werden im Folgenden wiedergegeben:

#### 1) Populationschwankungen und Reproduktion bei Kleinnagern

Jens JACOB

Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung, Toppeideweg 88, 48161 Münster  
E-Mail: jens.jacob@jki.bund.de

Massenvermehrungen von Kleinnagern können zu Problemen im Pflanzen-, Gesundheits- und Naturschutz führen. Es ist seit langem bekannt, dass Massenvermehrungen in bestimmten Gebieten, bei bestimmten Arten aber oft auch über weite Strecken und viele Arten synchron auftreten. Trotzdem fehlt es an geeigneten Vorhersagesystemen, um den o.g. Problemen räumlich, zeitlich und methodisch angemessen zu begegnen. Noch weniger ist über die Mechanismen und Prozesse bekannt, die das Auf und Ab der Kleinnagerpopulationen ursächlich steuern. Während für letzteres umfangreiche empirische Studien erforderlich sind, können Prognosen möglicherweise auf wenigen Parametern mit hoher Vorhersagekraft basieren. Dazu gehören einerseits Wetter- und Geländeparameter, andererseits aber auch

intrinsische Faktoren wie Populationsdichte und Reproduktion. Zeitserien des Populationsverlaufes und des Fortpflanzungsgeschehens bergen die Möglichkeit, Muster in der Populationsdynamik und damit verbundene Änderungen in der Reproduktion zu erkennen, innerhalb und zwischen Arten zu vergleichen und eventuelle Zusammenhänge aufzudecken. Deshalb wurden Zeitserien aus Bayern, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Sachsen-Anhalt und Thüringen hinsichtlich Synchronität in der Dynamik innerhalb und zwischen Arten sowie Dichteeffekten auf Populationsdynamik und Reproduktion bei Feldmäusen ausgewertet. Die Zeitserien beruhen auf Erhebungen der Pflanzenschutzdienste, Landwirtschaftskammern und Forstbehörden der o.g. Länder. Die Daten aus Bayern wurden von Walter Bäumler zur Verfügung gestellt. Der s-Index als ein Indiz für die Stärke der Populationschwankungen zwischen Jahren war  $0,41 \pm 0,05$  bei Feldmäusen,  $0,34 \pm 0,01$  bei Rötelmäusen,  $0,29 \pm 0,02$  bei Erdmäusen. Partielle Autokorrelationen zeigten, dass 3–4 jährige Ausbruchsperioden in Sachsen-Anhalt und Nordrhein Westfalen vorherrschen, aber keine klaren Muster in den anderen Bundesländern auftraten. Die Ergebnisse paarweiser Korrelationen legten nahe, dass die Wachstumsraten der Kleinnagerpopulationen v.a. bei benachbarten Bundesländern synchron schwankten. Es gab aber auch einige 100 km voneinander entfernte Erd- und Rötelmäuspopulationen, die ähnliche Muster zeigten. Lediglich bei *Microtus*-Arten in Nordwestdeutschland und Feldmäusen in Mitteldeutschland gab es einen gegenläufigen Trend (negative Korrelation) bei der Wachstumsrate. Auf hohe reproduktive Aktivität von Feldmäusen im Frühjahr folgte niedrige Abundanz und niedrige Reproduktionsleistung im Herbst. Das Gleiche galt für die reproduktive Aktivität im Herbst und die Abundanz im folgenden Herbst. Diese negativen Rückkopplungen deuten auf dichteabhängige Prozesse hin, die auf intraspezifischen Ursachen (z.B. Seneszenz, Konkurrenz) beruhen können. Obwohl unterschiedlich ausgeprägte Fluktuationen/ Zyklen auftreten, scheint es eine generelle Übereinstimmung in den allgemeinen Mustern der Populationsdynamik zwischen Arten und Regionen zu geben. Das deutet darauf hin, dass ähnliche ökologische Prozesse eine Rolle spielen, die mit mehreren intrinsischen und extrinsischen Parametern verbunden sein können.

(DPG AK Wirbeltiere)

#### 2) Ergebnisse und Weiterentwicklung eines Prognosemodells zur Vorhersage von Massenvermehrungen der Feldmaus (*Microtus arvalis*)

Christian IMHOLT<sup>1</sup>, Benjamin BLANK<sup>2</sup>, Alexandra ESTHER<sup>1</sup>, Jörg PERNER<sup>3</sup>, Thomas VOLK<sup>4</sup>, Jens JACOB<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung, Toppeideweg 88, 48161 Münster

<sup>2</sup> Nordhornstr. 55, 48161 Münster

<sup>3</sup> U.A.S. Umwelt- und Agrarstudien GmbH, Ilmstraße 6, 07743 Jena,

<sup>4</sup> proPlant Gesellschaft für Agrar- und Umweltinformatik mbH, Albrecht-Thaer-Straße 34, 48147 Münster

E-Mail: c.imholt@posteo.de

Massenvermehrungen von Feldmäusen (*Microtus arvalis*) sind ein viel beschriebenes Beispiel multiannualer Fluktuationen der Populationsdichte kleiner Nagetiere. Solche Gradationen können erheblichen Schaden in der landwirtschaftlichen Produktion zu Folge haben. Zwar ist die Biologie und Ökologie der Feldmaus gut bekannt, jedoch existieren bisher keine praktikablen Prognosemodelle für die Populationsentwicklung wie beispielsweise bei anderen Nagern im Agrarraum (Bsp. Hausmause in Australien). Solche Populationsmodelle basieren meist



auf Korrelationen zwischen Abundanzen und extrinsischen Faktoren.

In den bisherigen Arbeiten am Julius Kühn-Institut konnte ein Prognosemodell basierend auf historischen Langzeitdatensätzen aus Sachsen-Anhalt und Thüringen erstellt und validiert werden, welches anhand von Wetterparametern das Risiko für das Auftreten von Feldmausmassenvermehrungen prognostiziert. Zusätzlich konnten in einem separaten Projekt wichtige statische Landschaftsfaktoren (Gebietshöhe, Bodentyp) ermittelt werden, die mit dem Auftreten von Massenvermehrungen verbunden sind. Mit der aktuellen Version des Modells lassen sich etwa 70% der Populationsverläufe der vergangenen Jahre korrekt vorhersagen, allerdings konnte mit aktuellen Validierungen auch belegt werden, dass das entwickelte Modell nicht auf Gegenden außerhalb des Kalibrierungsgebietes direkt übertragbar ist.

Ziel für die Weiterführung soll es sein, die bisherigen Ergebnisse und Vorarbeiten zur Verbreitung der Feldmausmassenvermehrungen zu vereinen. Hierbei soll speziell die Interaktion von landschaftlichen und klimatischen Faktoren und deren Auswirkung auf die Populationsdynamik der Feldmaus im Fokus stehen. Die Basis bilden hierbei noch nie wissenschaftlich aufgearbeitete lange Zeitserien von Feldmausabundanzen aus über 60 Jahren Erhebungen der Pflanzenschutzdienste. Die Kernhypothese ist dabei, dass mithilfe von abiotischen Parametern und Classification and Regression Tree (CART)-Analysen die Variationen in der Populationsdynamik der Feldmaus erklärt werden können. Der erweiterte Datensatz ermöglicht zunächst eine detaillierte Auflösung räumlicher und zeitlicher Muster der Populationsdynamik der Feldmaus (Fluktuationsmuster, räumliche Gradienten, etc.) in Deutschland. Dazu werden zusätzlich zu meteorologischen nun auch agrarmeteorologische (Phänologie, Frosteindringtiefe) Daten in unterschiedlichen Landschaftstypen genutzt, um Parameterkonstellationen zu beschreiben, die auf regionaler Ebene zu hohem oder niedrigem Gradationsrisiko führen. Ein weiteres Ziel wird die Nutzung der identifizierten Wetterparameter der einzelnen Landschaftsformen, zur Vorhersage von Frequenz und Amplitude der Gradationsjahre unter zukünftigen, projizierten klimatischen Bedingungen. Die im erweiterten Datensatz erhaltenen Zählungen von Embryonen erlauben zusätzlich einen Abgleich zwischen extrinsischen und intrinsischen Faktoren.

(DPG AK Wirbeltiere)

### 3) Ausbreitungsdynamik von Feldmäusen – Ergebnisse aus zwei Jahren Feldarbeit

Angela LEUKERS, Jens JACOB

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, – Wirbeltierforschung, Toppeideweg 88, 48161 Münster  
E-Mail: [angela.leukers@jki.bund.de](mailto:angela.leukers@jki.bund.de)

Feldmäuse (*Microtus arvalis*) können sich von Refugien (z.B. Ackerrandstreifen) auf Ackerflächen ausbreiten und dadurch vor allem bei Massenvermehrungen signifikante Ernteverluste in Land- und Forstwirtschaft verursachen. Um Schäden an Kulturpflanzen zu minimieren, ist es sinnvoll, die Feldmäuse an der Ausbreitung auf den Acker zu hindern. Fundierte Kenntnisse der dem Dispersionsdruck zugrunde liegenden Prozesse sind eine wichtige Voraussetzung für das Verständnis der Ausbreitungsdynamik und für die Entwicklung räumlich und zeitlich gezielter Gegenmaßnahmen. Das Ziel dieser von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt geförderten Studie ist die Erforschung der Ausbreitungsmuster von Feldmäusen vom Refugium auf den Acker als Basis für die Entwicklung eines nachhaltigen Feldmausmanagements.

Das Untersuchungsgebiet befindet sich in Sachsen-Anhalt, Grünlandflächen unter Windkraftanlagen dienen als experimentelle Refugien. Um den Dispersionsdruck vom Refugium auf den Acker zu messen, wurde ein Teil der Refugien mit Barrierezäunen ausgestattet, welche Immigration erlauben, aber Emigration verhindern. Seit Oktober 2009 werden monatlich mittels Fang-Wiederfang-Serien Populationsentwicklung und Dispersionsdruck gemessen. Die Wiederfangwahrscheinlichkeit innerhalb einer Fangserie betrug jeweils mindestens 50%. Die durchschnittliche Individuenzahl pro Refugium schwankte hochgerechnet zwischen 150 und 300 Individuen/ha. Mahd im Juni und September 2010 bewirkte eine Verringerung der Feldmausabundanz. Starkes Populationswachstum im August 2010 und August 2011 führte zu hochgerechneten Maximalwerten von 850 bzw. 1300 Individuen/ha. Die Feldmausabundanz in Refugien ohne Barrierezaun stieg dabei stärker an als in eingezäunten Refugien. Radio-Telemetrie und Luftbildüberwachung wurden eingesetzt, um die Ausbreitungsdynamik auf dem Acker für Individuen- und Populationslevel zu untersuchen. Bisher konnte keine Etablierung von aus Refugien stammenden Individuen auf dem Acker nachgewiesen werden. Obwohl keine Schäden an der Ackervegetation sichtbar waren, wurden Feldmäuse in geringen Dichten auf dem Acker festgestellt (hochgerechnet 100 Individuen/ha). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die maximal mögliche Populationsdichte in den Refugien noch nicht erreicht ist. Nachfolgende DNA-Analysen werden Rückschlüsse auf eventuelle Subpopulationen und Wanderungsbewegungen auf dem Acker ermöglichen.

(DPG AK Wirbeltiere)

### 4) House Mouse Field Trials to Assess Resistance to Warfarin and Difenacoum in Relation to the Occurrence of Variants in the *vkorc1*-Gene before and after the Treatments

Stefan ENDEPOL<sup>1</sup>, Nicole KLEMMANN<sup>2</sup>, Michael Hans KOHN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bayer CropScience, Alfred-Nobel-Str. 50, 40789 Monheim, Germany

<sup>2</sup> 48231 Warendorf, Germany

<sup>3</sup> Department of Ecology and Evolutionary Biology, Rice University, Houston, TX 77005, USA

E-Mail: [Stefan.Endepols@bayer.com](mailto:Stefan.Endepols@bayer.com)

In house mice (*Mus musculus domesticus*) field studies that are guided by genetic monitoring of *vkorc1* need to be done to conclusively implicate the gene with any observed resistance, i.e. fitness advantage in field populations. We characterised the degree of resistance in relation to *vkorc1* genotypes in local mouse groups on two farms in Germany. We tested whether certain resistance profiles and *vkorc1* genotypes displayed dynamics over the course of sequential treatments with warfarin and difenacoum that are consistent with *vkorc1* variants being the cause for resistance and having higher fitness (frequencies) than others.

Three phenotypic resistance profiles were identified on farm I: A = warfarin-susceptible, B = resistant to warfarin but susceptible to difenacoum, C = resistant to both anticoagulants. On farm II, profiles A and B were identified also. Unexpectedly, a high degree of resistance was observed in *vkorc1* wild-type mice. Next to wildtype *vkorc1* sequences only the R58G variant was found.

In the mouse infestations studied here practical resistance to anticoagulants was found present. However, it cannot be explained by *vkorc1* coding or intronic variants, but must be due to non-coding *vkorc1* variants or entirely due to other genetic



factors. The R58G variant does not appear to be a resistance marker in house mice.

(DPG AK Wirbeltiere)

## 5) VKORC1 Polymorphismen bei Wanderratten: Verbreitung in Deutschland und Konsequenzen

Alexandra ESTHER<sup>1</sup>, D. BECKER<sup>2</sup>, Silke BRAUNE<sup>3</sup>, T. EILER<sup>4</sup>, Jona FREISE<sup>5</sup>, M. VON KEYSERLING<sup>3</sup>, Hans-Joachim PELZ<sup>1</sup>, Anita PLENGE-BÖNIG<sup>2</sup>, Simone ROST, Clemens MÜLLER-REIBLE<sup>6</sup>, Martin RUNGE<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung, Münster

<sup>2</sup> Institut für Hygiene und Umwelt der Freien und Hansestadt Hamburg

<sup>3</sup> Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES)

<sup>4</sup> Landwirtschaftskammer, Oldenburg,

<sup>5</sup> LAVES, Task Force, Schädlingsbekämpfung, Oldenburg

<sup>6</sup> Department of Human Genetics, Universität Würzburg

E-Mail: alexandra.esther@jki.bund.de

Derivate von 4-Hydroxycoumarin und 1,3-Indandion als Blutgerinnungshemmer (Antikoagulantien) werden weltweit ab etwa 1950 als Rodentizide eingesetzt. Schon nach wenigen Jahren zeigten Wanderratten Resistenz gegenüber diesen Rodentiziden. Mittlerweile sind diese Resistenzen weltweit zu finden. Verantwortlich dafür sind im Wesentlichen Mutationen im VKORC1 (Vitamin K Epoxid Reduktase Complex Subunit 1) Gen. Die genetisch bedingte Resistenz von Wanderratten gegenüber antikoagulantien Rodentiziden führt zu Schwierigkeiten bei der Bekämpfung, weshalb in Deutschland verschiedene Studien zur Verbreitung genetisch bedingter Resistenzen und den damit verbundenen Konsequenzen durchgeführt werden.

So laufen seit der Entdeckung des VKORC1-Gens Untersuchungen zur Identifikation von Mutationen und speziell zur Verbreitung und Häufigkeit der bekannten resistenzvermittelnden Tyr139Cys Sequenzvariante auf Bundesebene durch das Julius Kühn-Institut und auf Landesebene in Niedersachsen durch das LAVES und in Hamburg durch das Institut für Hygiene und Umwelt. Durch die Analyse von mehr als 1000 Proben mittels real-time PCR und ARMS-PCR wurde nun zusammenfassend bestätigt, dass das Verbreitungsgebiet der Tyr139Cys Sequenzvariante im Nord-Westen von Deutschland, in Nordrhein-Westfalen und den benachbarten südwestlichen sowie südlichen Landkreisen Niedersachsens liegt. Zusätzlich konnte ein Vorkommen in Kiel nachgewiesen werden. In Hamburg konnte demgegenüber kein VKORC1-Polymorphismus festgestellt werden. Durch Sequenzierung wurde zudem bestätigt, dass Tyr139Cys die häufigste Sequenzvariante bei Wanderratten in Deutschland ist. Es konnten noch zwei weitere Sequenzvarianten identifiziert werden: in Magdeburg die bislang unbekannte Sequenzvariante Ser79Phe und in Berlin die aus England bekannte Ala26Thr Sequenzvariante. Das Resistenzpotential dieser beiden Sequenzvarianten ist unbekannt.

In Blutgerinnungstests konnte gezeigt werden, dass die ED50 für Bromadiolon bei Tyr139Cys-homozygoten Tieren im Gegensatz zum Wildtyp mehr als 9-fach erhöht ist. Homozygote Weibchen zeigen keine veränderten Blutgerinnungszeiten nach einer Injektion dieser Dosis. Hingegen sind die Zeiten bei homozygoten Männchen nach 24 h leicht erhöht, nach 72 h jedoch wieder auf Normalniveau. Individuelle Unterschiede bei allen Tieren lassen vermuten, dass neben dem VKORC1-Polymorphismus noch andere Faktoren wie schnellere Metabolisierung zur Antikoagulantienverträglichkeit beitragen.

Für eine effektive Bekämpfung sollten daher potentere Antikoagulantien als Bromadiolon im Resistenzgebiet eingesetzt werden. Außerhalb des Resistenzgebietes sollten weiterhin

bevorzugt niedrig potente Antikoagulantien zum Einsatz kommen, um das Vergiftungsrisiko von Nicht-Zielarten geringer zu halten.

Durch die Nähe der Wanderratten zu Menschen und Nutztieren wird die Übertragung von Infektionserregern erleichtert. Unzureichende Bekämpfung geht daher auch mit einem erhöhten Infektionsrisiko durch epizootische bzw. zoonotische Pathogene einher. Im Rahmen des Rodentizidresistenz-Monitorings wurden daher Wanderratten aus Niedersachsen zusätzlich auf verschiedene bakterielle Krankheitserreger untersucht. Bei mehr als 21% der Ratten konnten pathogene Leptospiren nachgewiesen werden. Die Nachweise waren allerdings nicht gleichmäßig verteilt, sondern beschränkten sich auf die nordöstlichen, an der Elbe gelegenen Landkreise und auf den Landkreis Vechta. Gerade in diesem Landkreis wurden auch vermehrt homozygote Rodentizidresistenzen nachgewiesen. Salmonellen (3,6%), der Erreger des Q-Fiebers *Coxiella burnetii* (1,3%) und Yersinien (1,0%) wurden vereinzelt detektiert. Im Gegensatz zu Mäusen wurde der Tularämie-Erreger *Francisella tularensis* bei den Wanderratten nicht nachgewiesen. Der Nachweis verschiedenster Krankheitserreger von Mensch und Tier bei den Wanderratten unterstreicht die Notwendigkeit einer Bekämpfung.

(DPG AK Wirbeltiere)

## 6) Characteristics of the local distribution of the Y139C resistance gene in Norway rats (*Rattus norvegicus*) in a focus of resistance in Westphalia, Germany

Nicole KLEMMANN<sup>1</sup>, Alexandra ESTHER<sup>2</sup>, Stefan ENDEPOL<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Consultant, Spillenweg 3, 48231 Warendorf

<sup>2</sup> Julius-Kühn-Institut, Toppheideweg 81, 48161 Münster

<sup>3</sup> Bayer CropScience AG, Environmental Science, Alfred-Nobel-Straße 50, 40789 Monheim

E-Mail: info@nicole-klemann.com

The Westphalian resistant Norway rat strain is characterised by the possession of the Y139C variant of the *vkorc1* gene, and practical resistance occurs in rat infestations at different frequencies to the anticoagulants warfarin, coumatetralyl, bromadiolone and difenacoum. Within the present study we investigated whether there was an obvious pattern in the distribution of resistance in relation to the distance to an identified hot spot of resistance from the site of sampling and whether the frequency of the resistance gene was connected with local conditions, such as rodent control history.

Rats were trapped at a single infested site in each of 12 1 km × 1 km squares in a line including a resistance hot spot. Tissue samples were taken from all trapped rats, and genotyped for the Y139C variant of the *vkorc1* gene. The frequency of the resistance gene was determined for each site sampled. Data were also collected about rodent control measures applied in the past and other relevant local conditions.

The frequency of the resistance gene varied considerably between < 20% and > 80%. There was no obvious correlation of the frequency of the resistance gene and the distance to the hot spot, and there was no increase or decrease of the gene frequency in west-east direction. Permanent baiting and poor rodent control practice seemed to increase the incidence of resistance in the respective site. The implementation of good rodent control practice is recommended to prevent an increase in the frequency of resistance.

The study was funded by the Rodenticide Resistance Action Committee (RRAC) of CropLife International.

(DPG AK Wirbeltiere)

## 7) Zusammenhang von Rötelmauspopulationsdynamik und Hantavirus-Infektion in Deutschland

Daniela REIL<sup>1</sup>, Ulrike M. ROSENFELD<sup>2</sup>, Christian IMHOLT<sup>1</sup>, Sabrina SCHMIDT<sup>2</sup>, Nastasja KRATZMANN<sup>2</sup>, Jana ECCARD<sup>3</sup>, Rainer G. ULRICH<sup>2</sup>, Jens JACOB<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung, Toppeideweg 88, 48161 Münster

<sup>2</sup> Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger, Südufer 10, 17493 Greifswald – Insel Riems

<sup>3</sup> Universität Potsdam, Institut für Biochemie und Biologie, Tierökologie, Maulbeerallee 1, 14469 Potsdam  
E-Mail: daniela.reil@jki.bund.de

Die Rötelmaus (*Myodes glareolus*) ist die am weitesten verbreitete Wühlmausart Deutschlands. Saisonale sowie jahreszyklische Populationschwankungen der Rötelmaus sind vor allem auf die Nahrungsverfügbarkeit (Mastereignisse von Rotbuchen, *Fagus sylvatica*) zurückzuführen, welche stark vom Klima beeinflusst wird.

Die Rötelmaus gilt in Deutschland als einziger Überträger des Puumalavirus, einer in Europa weit verbreiteten Hantaviruspezies. Infektionen mit diesem Hantavirus führen beim Menschen zu einer milden Form des Hämorrhagischen Fiebers mit renalem Syndrom (HFRS), der Nephropathia epidemica (NE).

In Jahren hoher Rötelmauspopulationsdichte treten vermehrt Humaninfektionen mit Hantaviren auf, deshalb ist es unser Ziel mögliche Zusammenhänge zwischen klimatischen Bedingungen, Buchenmast, Rötelmausabundanz und der Häufigkeit von Puumalavirus-Infektionen beim Menschen sowie innerhalb des Nagetierwirtes zu untersuchen.

In Deutschland werden dazu in vier klimatisch unterschiedlichen Regionen (Nordrhein-Westfalen – NRW, Baden-Württemberg – BW, Mecklenburg-Vorpommern – MVP und Thüringen – THR) Nagetierfänge mit Lebendfallen (Fang-Wiederfang-Methode) durchgeführt, um die Populationsdichte und -dynamik von Rötelmäusen zu ermitteln. Die Untersuchungsgebiete in den jeweiligen Bundesländern sind Waldgebiete, die dreimal im Jahr (April, Juli und Oktober) befangen werden. Von den gefangenen Tieren werden Blutproben genommen, um mittels serologischer Analysen Puumalavirus-Infektionen nachzuweisen und somit die Seroprävalenz in den Wirtspopulationen bestimmen zu können.

Im Jahr 2010 schwankten die Rötelmausabundanzen zwischen 30–180 Individuen/ha mit der höchsten Abundanz in BW (80–180 Individuen/ha). Die Populationsdichten nahmen jeweils vom Frühjahr zum Sommer zu und zum Herbst hin wieder ab. Anfang 2011 brachen die Rötelmauspopulationen zusammen, stiegen zum Juli 2011 wieder an, erreichten jedoch maximal ca. 50 Individuen/ha. Die ermittelten Puumalavirus-Seroprävalenzen in den Rötelmauspopulationen unterlagen ebenso jahreszeitlichen Schwankungen, wobei die Werte im April 2010 am höchsten waren, im Anschluss abnahmen und im Oktober des Jahres ein Minimum erreichten. Die Seroprävalenzen nahmen Anfang 2011 in BW und MVP weiter ab, in NRW und THR leicht zu. Die ermittelten Rötelmausabundanzen korrelieren positiv sowohl mit den Puumalavirus-Seroprävalenzen der Nagetierwirtspopulationen ( $R^2 = 0,35$ ) als auch mit der Zahl gemeldeter Puumalavirus-Humaninfektionen ( $R^2 = 0,33$ ).

Förderung durch das Umweltbundesamt im Rahmen des Umweltforschungsplanes des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (FKZ 3710 63 401) und das Robert Koch-Institut (FKZ 1362/1-924).

(DPG AK Wirbeltiere)

## 8) Wanderratten: Überträger eines neuen humanpathogenen Hepatitis E-Virus?

Rainer G. ULRICH<sup>1</sup>, Anika SCHIELKE<sup>2</sup>, Paul DREMSEK<sup>1</sup>, Eveline KINDLER<sup>3</sup>, Jochen REETZ<sup>2</sup>, Anita PLENGE-BÖNIG<sup>4</sup>, Ute WESSELS<sup>1</sup>, Martin H. GROSCHUP<sup>1</sup>, Gerald HECKEL<sup>5</sup>, Reimar JOHNE<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

<sup>2</sup> Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin, Deutschland

<sup>3</sup> Institut für Immunbiologie, Kantonsspital St. Gallen, St. Gallen, Schweiz

<sup>4</sup> Institut für Hygiene und Umwelt, Hamburg, Deutschland

<sup>5</sup> Universität Bern, Institut für Ökologie und Evolution, Bern, Schweiz  
E-Mail: rainer.ulrich@fli.bund.de

Wanderratten (*Rattus norvegicus*) sind als Überträger verschiedener Zoonoseerreger wie Leptospiren und Hantaviren bekannt. Das Hepatitis E-Virus verursacht eine akute Leberentzündung und wird bei autochthonen Fällen in Europa von den Reservoirwirten Wildschwein und Hausschwein auf den Menschen übertragen. Ausgangspunkte für unsere Suche nach einem Hepatitis E-Virus bei der Wanderratte waren zwei Befunde: (i) Hepatitis E-Virus-reaktive Antikörper sind zum Teil mit großer Prävalenz bei Wanderratten und anderen Rattenarten in Indien, Japan und den USA nachgewiesen worden, wohingegen kein Virusgenom detektiert werden konnte. (ii) Untersuchungen bei Personen aus industrialisierten Ländern haben Antikörperprävalenzen von bis zu 20% gezeigt, während die Zahl der gemeldeten Hepatitis E-Erkrankungen vergleichsweise sehr niedrig ist. Eine Erklärungsmöglichkeit für die beiden Befunde könnte die Existenz eines bisher unbekanntes Hepatitis E-Virus sein, das mit den bekannten nur gering verwandt ist, aber eine kreuzreaktive Antikörperantwort hervorruft.

Die Entwicklung einer neuen Breitspektrum-PCR-Methode führte zum erstmaligen Nachweis eines neuen Hepatitis E-Virus in Kotproben von Wanderratten aus Hamburg. Anschließend Untersuchungen von Leberproben führten zur Identifikation des kompletten Genoms dieses Virus, das eine Hepatitis E-Virus-typische Organisation aufweist. Ein Vergleich der Genomsequenzen dieses Virus mit denen von humanpathogenen und aviären Hepatitis E-Viren zeigte jedoch große Unterschiede. Deshalb wurde das neue Virus von uns als ein neuer Genotyp klassifiziert. In weiterführenden Untersuchungen wurden jetzt Wanderratten aus anderen Großstädten Deutschlands untersucht; die aktuellen Ergebnisse aus diesen Untersuchungen werden vorgestellt.

Zukünftige Untersuchungen sollen prüfen, inwieweit dieses Virus auch Infektionen und Erkrankungen beim Menschen hervorruft. Die molekularepidemiologischen Untersuchungen sollen in Deutschland fortgesetzt und auf weitere Länder Europas ausgeweitet werden, um einerseits den Übertragungsmechanismus des Virus aufzuklären und andererseits dessen geografische Verbreitung und molekulare Evolution zu erfassen.

(DPG AK Wirbeltiere)

## AK WIRBELTIERE– 18. TAGUNG, 15. - 16. 11. 2011

### **ERGEBNISSE AUS DEM FELDMAUSPROJEKT SACHSEN-ANHALT, 2008 – 2011**

Eggert, Jens<sup>1</sup>, Wolff, Christian<sup>2</sup>, Prof. Dr. Richter, Klaus<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Hochschule Anhalt (FH), Fachbereich LOEL, Strenzfelder Allee 28, 06406 Bernburg*

<sup>2</sup>*Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau Sachsen-Anhalt, Dezernat Pflanzenschutz, Strenzfelder Allee 22, 06406 Bernburg*

*Contact: j.eggert@loel.hs-anhalt.de*

Das Feldmausprojekt Sachsen-Anhalt wurde Ende August 2008 initiiert und läuft Ende 2011 aus. Ziel des Projektes ist es, eine Handlungsempfehlung zum Umgang mit der Feldmaus für betroffene Betriebe zu entwickeln. Zu den weiteren, im Rahmen des Projektes beauftragten Arbeiten gehörten u.a. ein Populationsmonitoring und die Eingrenzung der Hauptrisikogebiete für Feldmausgradationen in Sachsen-Anhalt.

Hierfür wurden die Ämter für Landwirtschaft, Flurneuordnung und Forsten nach ihren Erfahrungen in den Gradationsjahren 2004/2005 und 2007 befragt und auf Grundlage der Gemeindegrenzen eine Einstufung für ein Gradationsrisiko der Feldmäuse vorgenommen.

Im Rahmen des Monitorings wurden auf Befallsschlägen regelmäßig Bonituren mittels Lochtretmethode durchgeführt und diese Daten ausgewertet.

Ein weiterer Schwerpunkt lag in der Bewertung der Beeinflussung der Feldmauspopulation in Abhängigkeit von Art und Intensität der Bodenbearbeitung. Hierzu wurde ein im Agrarunternehmen Barnstädt von der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und den AMAZONEN-WERKE H. Dreyer GmbH & Co. KG zum Untersuchungsgegenstand Bodenfeuchte angelegter Bodenbearbeitungsversuch genutzt. Der Versuch besteht aus fünf unterschiedlichen Bodenbearbeitungsvarianten (Pflügen, flache Grubbern, tiefes Grubbern, flaches Scheibeneggen, Direktsaat). Der Versuch wurde während der gesamten Projektlaufzeit begleitet. Je nach Kultur und Bearbeitungszustand wurde das Feldmausaufkommen in den einzelnen Varianten fortlaufend erfasst. Dabei konnte neben den Auswirkungen unterschiedlich tiefer Bodenbearbeitung auf den Feldmausbefall auch festgestellt werden, dass auf den Direktsaatvarianten immer eine Restpopulation vorhanden war und im weiteren Verlauf eine Ausbreitung auf die anderen, in bestimmten Situationen befallsfreien Varianten stattfand.

Im Rahmen des Monitorings konnten Ergebnisse zum Einfluss der Winterwitterung auf die Populationsentwicklung gewonnen werden. Hier besteht weiterer Forschungsbedarf.

## AK WIRT-PARASIT-BEZIEHUNGEN, 24.03.2011

### **ROOT FUNGAL ENDOPHYTES: IMPACT OF PIRIFORMOSPORA INDICA AND LEPTODONTIDIUM ORCHIDICOLA ON TOMATO PLANT GROWTH, PATHOGEN RESPONSE, YIELD AND FRUIT QUALITY.**

Andrade-Linares, Diana Rocío<sup>1</sup>; Grosch, Rita<sup>1</sup>; Krumbein, Angelika<sup>1</sup>; Franken, Philipp<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Leibniz-Institute of Vegetable and Ornamental Crops, Theodor-Echtermeyer-Weg 1, 14979 Großbeeren, Germany

Contact: andrade@igzev.de

The effect of the root endophyte *Piriformospora indica* (Basidiomycota, Sebaciniales) has been evaluated in different monocotyledonous crops like barley, maize or wheat and a positive impact on plant performance was revealed. Another group of root colonizing fungi, the dark septate endophytes (DSE) can be found in roots of many plants in different ecosystems, but little is known about their impact on crop plant development. The interaction between tomato plants and *P. indica* or the DSE *Leptodontidium orchidicola* (Ascomycota, Helotiales) was studied to evaluate their effects on root and shoot growth, their influence on fruit yield and quality and their ability to reduce the wilt disease caused by the pathogen *Verticillium dahliae* under glass house conditions. In response to *P. indica* root colonization, the vegetative growth of tomato plants was only enhanced at the early stages of development between 4 and 7 weeks after inoculation. In long term experiments, this positive effect disappeared. The DSE *L. orchidicola* also showed a positive effect on shoot and root growth only in young tomato plants. Concerning fruit yield and quality, both endophytes could double the biomass of fruits at the first weeks of harvest and *L. orchidicola* increased glucose content by 17%, but also this was dependent on date of harvest and on root colonization density. Additionally, both root endophytes decreased the negative effect of *V. dahliae* on tomato plants but at high concentration of the pathogen, this effect was only evident for *P. indica*-colonized plants. Although total yield seems not to be increased, the application of *P. indica* and *L. orchidicola* in tomato production could be recommended for particular purposes. It remains for example to be investigated how tomato plants react to the two root endophytic fungi under abiotic stress conditions.

### **IDENTIFIZIERUNG VON RHIZOCTONIA SOLANI INDUZIERTEN UND RESISTENZ-SPEZIFISCHEN GENEN IN ZUCKERRÜBE MITTELS SUPPRESSIVER SUBTRAKTIVER HYBRIDISIERUNG (SSH)**

Behn, Anneke<sup>1</sup>; Varrelmann, Mark<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen

Contact: Varrelmann@ifz-goettingen.de

Die Späte Rübenfäule der Zuckerrübe, verursacht durch den Schaderreger *Rhizoctonia solani* Kühn, hat in den vergangenen Jahren an Bedeutung zugenommen. Etwa 5 % der deutschen Anbaufläche sind befallen, Ertragseinbußen bis hin zur Nichtverarbeitbarkeit der Rüben sind möglich. Als geeignete Kontrollmaßnahme gilt neben der Gestaltung der Fruchtfolge nur der Anbau resistenter Sorten, die den Erreger quantitativ an der Besiedlung hemmen. Von der Resistenz selbst ist bekannt, dass sie polygen ist. Um an den Abwehrmechanismen beteiligte Gene zu identifizieren, wurde das Verfahren der Suppressiven Subtraktiven Hybridisierung (SSH) zur Erzeugung einer Resistenz-spezifischen cDNA-Bibliothek gewählt.

Resistente und anfällige Zuckerrübenzüchtungslinien wurden im Gewächshaus angezogen und künstlich mit *R. solani* inokuliert. In mehreren Zeiternten wurde aus den Befallsstellen



benachbartem Gewebe Poly A+ RNA isoliert und für eine cDNA-Synthese eingesetzt. Die Erstellung der Bibliothek erfolgte mittels SSH, wodurch in dem resistenten Genotyp differentiell exprimierte Sequenzen selektiv amplifiziert wurden. Das subtrahierte Hybridisierungsprodukt wurde kloniert und bislang 200 Klone sequenziert. Die erhaltenen Gen-Sequenzen wurden mit Hilfe der BLAST Gen-Datenbank analysiert und, wenn möglich, eine Funktion abgeleitet. Kandidaten wurden als potentiell an der *Rhizoctonia*-Resistenz beteiligte Gene eingestuft, wenn ein hohes Maß an Homologie zu anderen Genen vorlag, die als Pathogen- oder Stress-induziert, oder als konstitutive Resistenzfaktoren bekannt sind. Die Durchführung von semi-quantitativer RT-PCR belegte die differentielle Expression mehrerer Kandidaten in den untersuchten Genotypen.

## **OPTIMIERUNG DER RHIZOCTONIA RESISTENZPRÜFUNG VON ZUCKERRÜBEN IM FELD**

Dircks, Christine<sup>1</sup>; Behn, Anneke<sup>1</sup>; Varrelmann, Mark<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Holtenser Landstraße 77, 37079 Göttingen

Contact: dircks@ifz-goettingen.de

Im Zuckerrübenanbau wird *Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB, ein bodenbürtiger ubiquitär vorkommender Pilz, zu einem schwerwiegenden Problem. Frühe Symptome eines *R. solani* Befalls zeigen sich oberirdisch durch das Umliegen chlorotischer Blätter und am Rübenkörper durch kleine und dann größer werdende Faulstellen. Die Infektion mit *R. solani* kann so zu Ertragsverlusten von bis zu 50% führen. In Deutschland gibt es derzeit kein zugelassenes Fungizid, so dass die Vermeidung von Ernteverlusten hauptsächlich auf den Anbau *R. solani* resistenter Zuckerrübensorten ausgerichtet ist, welche quantitative Resistenzeigenschaften unterschiedlicher Ausprägung aufweisen. Die Resistenzprüfung neuer Sorten ist allerdings ein zeit- und kostenaufwendiger Prozess: die Sorten werden auf vielen künstlich inokulierten Feldern parallel angebaut, um die durch Standort, Wetter und Umwelteinflüsse bedingte Variabilität des Befallsverlaufes zu minimieren.

Unter warmen und feuchten Umwelteinflüssen zeigt *R. solani* ein optimales Wachstum und Infektionspotential. Durch die artifizielle Generierung solcher Umweltbedingungen mittels Beregnung und Vliesabdeckung sollte unter Feldbedingungen untersucht werden, ob damit eine bessere Differenzierung der Zuckerrüben genotypen hinsichtlich ihrer Anfälligkeit gegenüber *R. solani* möglich ist.

An zwei Standorten wurden vier verschiedene Zuckerrübensorten mit unterschiedlichen Resistenzeigenschaften ausgesät und zum natürlichen Befallsbeginn parzellenweise für drei Wochen beregnet, mit Vlies abgedeckt bzw. mit einer Kombination aus beidem versehen. Temperatur- und Bodenfeuchte wurden über den Versuchszeitraum aufgezeichnet. Über die Bonitur der Zuckerrüben wurde die Befallsausprägung direkt nach Beendigung der Vliesabdeckung und Beregnung als prozentual befallene Oberfläche festgestellt. In den Parzellen mit der Kombination aus Beregnung und Vliesabdeckung konnte für die anfällige Sorte eine achtfach höhere Schädigung festgestellt werden, während die resistenteren Sorten wesentlich weniger Schädigung aufwiesen. In den Einzelbehandlungen und Kontrollen waren direkt nach Beregnung und Vliesabdeckung nur geringe bis keine Unterschiede zwischen den Sorten erkennbar. Durch die Verwendung von Beregnung und Vliesabdeckung in Kombination kann eine deutlichere Differenzierung zwischen *R. solani* anfälligen und resistenten Sorten erreicht werden und damit möglicherweise der Feldresistenztest ergebnissicherer durchgeführt werden.



## MUTATIONS AND MIGRATION OF BOTRYTIS CINEREA FIELD STRAINS WITH MULTIDRUG RESISTANCE PHENOTYPES IN FRENCH AND GERMAN VINEYARDS

Mernke, Dennis<sup>1</sup>; Mosbach, Andreas<sup>1</sup>; Leroch, Michaela<sup>1</sup>; Hahn, Matthias<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biology, University of Kaiserslautern, P.O. box 3049, 67653 Kaiserslautern, Germany

Contact: mernke@rhrk.uni-kl.de

*Botrytis cinerea* is a destructive pathogen of many fruit and vegetable crops worldwide, which needs to be controlled by fungicide treatments. In French and German vineyards, *B. cinerea* strains with multiple fungicide resistance (MDR) phenotypes have been observed with increasing frequencies. MDR results from mutations that lead to constitutive overexpression of genes encoding drug efflux transporters. In MDR1 strains, several point mutations in a transcription factor encoding gene (*mrr1*) have been identified that lead to constitutive activation of the ABC transporter gene *atrB*. In MDR2 strains, overexpression of the MFS transporter gene *mfsM2* has been found to result from two rearrangements in the *mfsM2* promoter caused by insertion of a retroelement (RE)-derived sequence. MDR2 strains containing the type A rearrangement are widely distributed in French and German vineyards, while strains with type B rearrangement have been found only in the Champagne. MDR2 strains harbouring either *mfsM2* type A or type B mutations show the same resistance phenotypes, and similar overexpression of *mfsM2*. Population genetic analyses were conducted that support the hypothesis that the two MDR2-related mutations have only occurred once, and are responsible for the appearance and subsequent spread of all known MDR2 strains in French and German wine-growing regions.

## ALCOHOL DEHYDROGENASE 1 OF BARLEY MODULATES SUSCEPTIBILITY TO THE PARASITIC FUNGUS *BLUMERIA GRAMINIS* F.SP. *HORDEI*

Priyadarshini Pathuri, Indira<sup>1</sup>; Reitberger, Ines E.<sup>1</sup>; Hückelhoven, Ralph<sup>1</sup>; Proels, Reinhard K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Technische Universität München, LS Phytopathologie, Emil-Ramann-Straße 2, 85350 Freising, Deutschland

Contact: indu@wzw.tum.de

The plant primary energy metabolism is profoundly reorganized under biotic stress conditions and there is increasing evidence for a role of the fermentative pathway in biotic interactions. However, the mechanisms regulating metabolic reprogramming are not well understood despite its critical function in the biotic stress response. Here the function of alcohol dehydrogenase (ADH) in the interaction of barley with the parasitic fungus *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) is addressed. Challenge of susceptible barley leaves with *Bgh* resulted in transcriptional activation of *HvADH1* and an induction of ADH enzyme activity starting 24 h after infection and reaching a clear-cut effect 4 days after infection. This increase of ADH enzyme activity was not observed in the resistant near-isogenic *mlo5* line. Moreover, an induction of ADH enzyme activity by *Bgh* was enhanced in the presence of sucrose in hydroponically grown seedlings. Transient knock down or over-expression of *HvADH1* in barley epidermal cells mediated a decrease or increase of penetration success of *Bgh*, respectively. Inhibition of ADH activity by pyrazole resulted in a delayed symptom formation. The pyrazole effect could be overcome by adding glucose to the incubation medium pinpointing a nutritional effect of ADH in the barley-*Bgh* interaction. Taken together, mis-expression of pathogen inducible *HvADH1* or variation of ADH activity modulates the pathogen response of barley to the biotrophic fungal parasite *Bgh*. Thereby, ADH knock

down/inhibition results in reduced fungal success. The possibility is discussed that ADH activity supports biotrophy by keeping the glycolytic metabolism upright in pathogen stressed barley.

## **ANALYSIS OF EFFECTS OF INVERTASE INHIBITORS ON THE INTERACTION OF THE CYST NEMATODE HETERODERA SCHACHTII AND ARABIDOPSIS THALIANA**

Kammerhofer, Nina<sup>1</sup>; Grundler, Florian<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Univ. f. Bodenkultur Wien, Institut für Pflanzenschutz, Peter Jordan St. 82 1190 Wien*

<sup>2</sup>*Universität Bonn, Int. f. Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Abteilung Molekulare Phytomedizin, Karlrobert-Kreiten-Straße 13, 53115 Bonn*

Contact: [nina.kammerhofer@boku.ac.at](mailto:nina.kammerhofer@boku.ac.at)

The sedentary plant parasitic beet cyst nematode *Heterodera schachtii* invades roots cells of Brassicaceae and Chenopodiaceae where it induces a specific syncytial feeding structure. This structure consists of up to several hundred merged cell, is metabolically highly active, and becomes a strong sink for assimilates. Invertases play a major role in sugar partitioning, apoplasmic phloem unloading, and in signaling pathways within the plant. Active apoplasmic sugar transport into sink cells is performed either by sucrose transporters or, after cleavage of sucrose by cell wall invertases into fructose and glucose, by hexose transporters. Early stage syncytia are symplasmically isolated and hexose transporters are highly expressed. Therefore we hypothesized that invertases play a major role in the sugar supply of nematodes. In our experiments we used different transgenic *Arabidopsis thaliana* lines expressing inhibitors of cell wall invertase (CWII) and vacuolar invertase (VII). Transgenic and control plants were grown under axenic conditions on nutrient agar and inoculated with *H. schachtii* juveniles. Nematode infection and development was significantly higher in the CWII line compared to the VII line and the wild type. However, the size of syncytia, the size of developing females and the reproduction rate of developed females was significantly reduced in both invertase inhibitor lines. We therefore conclude that infection and/or syncytium induction is facilitated when cell wall invertase is inactivated, whereas syncytium development and female development is impaired by the inhibition of cell wall and vacuolar invertases.

## **LACK OF EVIDENCE FOR A ROLE OF HYDROPHOBINS IN CONFERRING SURFACE HYDROPHOBICITY TO CONIDIA AND HYPHAE OF BOTRYTIS CINEREA**

Mosbach, Andreas<sup>1</sup>; Leroch, Michaela<sup>1</sup>; Böhm, Andreas<sup>1</sup>; Mendgen, Kurt<sup>2</sup>; Hahn, Matthias<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*University of Kaiserslautern, Department of Biology, Erwin-Schrödinger-Straße, D-67663 Kaiserslautern, Germany*

<sup>2</sup>*University of Konstanz, Department of Biology, Universitätsstraße 10, D-78457 Konstanz, Germany*

Contact: [mosbach@rhrk.uni-kl.de](mailto:mosbach@rhrk.uni-kl.de)

Conidial germination in *B. cinerea* can be induced by several chemical and physical stimuli. To study whether a reduction in conidial surface hydrophobicity affects the hydrophobic contact-induced germination, we sought to construct mutants devoid of hydrophobins in the spore wall. Hydrophobins are small, cysteine-rich, secreted proteins that were found to render the surfaces of spores and aerial mycelia of many filamentous fungi hydrophobic. In the *B. cinerea* genome sequences, three hydrophobin genes were identified, one encoding a class I hydrophobin (Bhp1, for "*Botrytis* hydrophobin"), and two encoding class II hydrophobins

(Bhp2, Bhp3). In addition, six hydrophobin-like sequences were found. However, all except one of these (Bhl1, for "*Botrytis* hydrophobin-like") showed either low overall hydrophobicity, or an unusual spacing of the eight cysteine residues, and are thus probably no functional hydrophobins. Gene expression studies by RT-PCR, using cDNA from various growth stages revealed that the hydrophobin (-like) genes are expressed in at least one of these stages. Therefore, deletion mutants in each single hydrophobin gene and in *bhl1* were constructed, followed by hydrophobin double and triple mutants; and the resulting mutants were tested for their hydrophobic surface characters, as well as for germination, plant infection and sclerotia formation. All the mutants were indistinguishable from the wild type, and none of them exhibited an "easily wettable" phenotype, which is often observed with fungal hydrophobin mutants. Analysis of the conidial surface of *B. cinerea* by scanning electron microscopy revealed neither rodlet layers, as in the case of *A. nidulans* conidia, nor any differences between wild type and the hydrophobin mutants. At present, there is no evidence for a role of hydrophobins for the water repellent properties of *B. cinerea* conidia and aerial mycelium, in contrast to other ascomycetous fungi. However, a function of the hydrophobins in the sexual development cannot be excluded.

### **THE MUTUALISTIC FUNGUS *PIRIFORMOSPORA INDICA* INITIATES ER STRESS TO INDUCE A CASPASE-DEPENDENT VACUOLAR CELL DEATH IN *ARABIDOPSIS* ROOTS**

Qiang, Xiaoyu<sup>1</sup>; Zechmann, Bernd<sup>2</sup>; Kogel, Karl-Heinz<sup>1</sup>; Schäfer, Patrick<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Centre for Biosystems, Land Use and Nutrition, Institute of Phytopathology and Applied Zoology, Justus Liebig University, Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392 Giessen, Germany

<sup>2</sup>Institute of Plant Sciences, University of Graz, Schubertstraße 51, A-8010 Graz, Austria  
Contact: [patrick.schaefer@agrar.uni-giessen.de](mailto:patrick.schaefer@agrar.uni-giessen.de)

The root colonizing basidiomycete *Piriformospora indica* is well-defined for the beneficial effects it transfers to various hosts as indicated by growth promotion, increased yield, elevated abiotic stress tolerance as well as local and systemic resistance against pathogens. The fungus is able to colonize a broad range of plants. In barley and *Arabidopsis*, root colonization was found to be dependent on programmed cell death. However, colonized roots do not show physiological impairments such as tissue necrotisation. Recent studies even indicate an initial biotrophic phase preceding the cell death-associated colonization phase. Based on molecular, biochemical, and cytological studies, we examined the cell death program associated with root colonization by the mutualist. These studies revealed a manipulation of ER integrity. *P. indica* was found to induce ER stress but, at the same time, suppresses the adaptive ER stress response pathway (syn. unfolded protein response, UPR), which is activated by eukaryotic cells to relieve ER stress. In metazoans and yeast, sustained ER stress initiates apoptosis. Similarly, the disturbance of ER integrity by *P. indica* results in a VPE/caspase 1-mediated cell death, which is required for the establishment of the symbiosis. This invasion strategy has not been reported for any microbe colonizing plants or eukaryotes. Our results suggest the presence of an at least partially conserved ER stress-induced caspase-dependent cell death pathway in plants as has been reported for metazoans.

## **THE ROLE OF TUBBY-LIKE PROTEINS IN THE MUTUALISTIC PLANT ROOT - PIRIFORMOSPORA INDICA INTERACTION**

Reitz, Marco Uwe<sup>1</sup>; Pai, Subhash<sup>1</sup>; Kogel, Karl-Heinz<sup>1</sup>; Schäfer, Patrick<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Centre for BioSystems, Land Use and Nutrition (IFZ), Justus-Liebig University, Institute of Phytopathology and Applied Zoology, Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 Giessen Germany

Contact: marco.u.reitz@bio.uni-giessen.de

The basidiomycete *Piriformospora indica* is a root-colonizing endophytic fungus. It shows an enormous host range and among the colonized plants are important crops like barley and wheat as well as the model plant *Arabidopsis thaliana*. Colonization results in the transfer of several beneficial effects to its hosts. Amongst others plants show increased seed yield and enhanced resistance to biotic stresses. Furthermore, the fungus can be grown in axenic cultures and is transformable. Therefore it is a suitable model for mutualistic plant root-microbe interactions.

TUBBY-like proteins (TLPs) constitute a family of membrane tethered transcription factors. In mammals TLPs are bound to the plasma membrane. After external stimuli they relocalize into the nucleus and act as transcriptional regulators. In contrast to this, knowledge about plant TLPs is very limited. However, first experiments in *Arabidopsis* and *Oryza sativa* point towards a function in plant defense and hormone signaling.

Our studies with *Arabidopsis tlp* mutant lines indicate a reduced colonization of mutants by *P. indica*, but no altered resistance to the fungal pathogens *Botrytis cinerea* and *Erysiphe cruciferarum*. We also tested the response of these lines to several phytohormones. Finally, we will introduce our current efforts in the elucidation of the function and subcellular localization of *Arabidopsis* TLPs.

## **STARTS- A STABLE ROOT TRANSFORMATION SYSTEM FOR RAPID FUNCTIONAL ANALYSES OF PROTEINS OF THE MONOCOT MODEL PLANT BARLEY**

Schäfer, Patrick<sup>1</sup>; Li, Liang<sup>1</sup>; Imani, Jafargholi<sup>1</sup>; Kogel, Karl-Heinz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Centre for BioSystems, Land Use and Nutrition (IFZ), Justus-Liebig University, Institute of Phytopathology and Applied Zoology, Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 Giessen Germany

Contact: patrick.schaefer@agrar.uni-giessen.de

A major drawback in the functional characterization of plant proteins supporting or restricting microbial root colonization of monocotyledonous plants is the lack of appropriate root transformation systems. In order to study the impact of barley proteins on the outcome of mutualistic and pathogenic root-microbe interactions, we established a robust and fast transformation system for barley roots. As a proof of concept, we successfully used this “stable root transformation system” (STARTS) for overexpression of the *green fluorescent protein (GFP)* in barley roots. Further, STARTS was successfully applied for targeted gene silencing. In addition to silencing of the endogenous gene *HvEXPANSIN B1*, which resulted in a root hairless phenotype in silenced roots, we could efficiently silence *GFP* in roots regenerated from calli constitutively overexpressing *GFP*. STARTS was also successfully used for protein localisation studies by overexpressing *GFP* fused to an ER retention signal, whose ER localization was subsequently determined by confocal laser-scanning microscopy. Finally, we overexpressed the negative cell death regulator *HvBAX INHIBITOR-1* in order to determine its impact on resistance against pathogenic *Fusarium graminearum* and mutualistic *Piriformospora indica*. The results demonstrated that STARTS-mediated overexpression of

the HvBAX *INHIBITOR-1* decreased the colonization of the necrotrophic pathogenic *Fusarium graminearum* and mutualistic *Piriformospora indica*. Our results demonstrate the applicability of STARTS to study diverse aspects of root development, of root microbe-interactions and the functional analysis of plant proteins in a short period of time.

## **EVOLUTION OF HYALOPERONOSPORA EFFECTORS: EFFECTOR GENES IN SISTER SPECIES OF *H. ARABIDOPSIS*.**

Solovyeva, Irina<sup>1</sup>; Kamoun, Sophien<sup>2</sup>; Thines, Marco<sup>3</sup>

<sup>1</sup>LOEWE - Biodiversität und Klima Forschungszentrum BiK-F, Frankfurt am Main, Germany

<sup>2</sup>The Sainsbury Laboratory, Norwich, UK

<sup>3</sup>LOEWE - Biodiversität und Klima Forschungszentrum BiK-F, Goethe University, Department of Biological Sciences, Frankfurt am Main, Germany

Contact: irina.solovyeva@senckenberg.de

Effectors are pathogen proteins that alter host cell structure and function. Such an alteration can facilitate infection or trigger defense response (ability of plants to recognise the presence of a pathogen and restrict its growth). Effector triggered immunity is mediated by a large group of structurally related resistance proteins (R-proteins), which recognise pathogen effectors, leading to a hypersensitive response (HR), halting the infections due to cell death of the infected cells.

The most studied effectors of *H. arabidopsis* are ATR1 and ATR13 (from *Arabidopsis Thaliana* Recognized). The corresponding R-proteins are called RPP proteins (from Recognition of Peronospora Parasitica). At least 27 RPP genes have been mapped along the five chromosomes of *Arabidopsis* (1, 2).

Six diverse clades were recognized within *Hyaloperonospora*. Clade 3, to which belongs *H. arabidopsis* comprises parasites of a rather diverse assemblage of hosts. The interactions between different hosts and isolates of *Hyaloperonospora* show extreme levels of phenotypic and genotypic variation, reflecting the natural coevolution that has taken place between host and parasite.

In the frame of this work ATR1 and ATR13 effector genes were indentified in sister species of *H. arabidopsis*: *H. thlaspeos-perfoliati* (host: *Microthlaspi perfoliatum*) and *H. crispula* (host: *Reseda lutea*). The maximum likelihood tree for ATR1 effectors was constructed from the sequence alignment for 8 *H. arabidopsis*, 9 *H. crispula* and 19 *H. thlaspeos-perfoliati* sequences. Effector genes from *H. thlaspeos-perfoliati* form a separate clade with small sequence variations 1, 4%. The sequences of *H. crispula* are splitted onto 2 clades according to the host plant.

The maximum likelihood tree for ATR13- effector was constructed from the sequence alignment for 48 *H. arabidopsis* and 165 *H. thlaspeos-perfoliati* sequences. Less variation, but paralogisation could be observed for *H. thlaspeos-perfoliati*- ATR13s.

The RPP1- Ws was tested for the recognition response to ATR1 from sister species of *Arabidopsis* by *Agrobacterium*-mediated transient expression. We observed the race specific recognition pattern in tobacco for the positive control ATR1-Emoy2, but no recognition for the tested ATR1s from *H. crispula* and *H. thlaspeos-perfoliati*.

These results begin to elucidate the complex evolution of effectors after host jumps and during adaptation to a new host, like strong signals of positive selection and differential recognition by R-proteins in hosts of sister species.

1. M.Thines and S. Kamoun, *Curr.Op.in Plant Biology*, 2010

2. ME Coates and JL Beynon, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 2010



## **IMPROVEMENT OF RAPE (BRASSICA NAPUS) RESISTANCE TO SCLEROTINIA STEM ROT DISEASE BY EXPLORING WILD BRASSICA SPECIES AND MUTANTS OF ARABIDOPSIS THALIANA.**

Rietz, Steffen<sup>1</sup>; Bernsdorff, Friederike<sup>1</sup>; Dreyer, Felix<sup>2</sup>; Mühlenbeck, Silke<sup>3</sup>; Orsini, José<sup>3</sup>; Weyen, Jens<sup>3</sup>; Cai, Daguang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut of Phytopathology, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Germany*

<sup>2</sup>*Norddeutsche Pflanzenzucht H.-G. Lembke KG, Hohenlieth, Germany*

<sup>3</sup>*Saaten-Union Biotec GmbH, Leopoldshöhe, Germany*

Contact: s.rietz@phytomed.uni-kiel.de

Sclerotinia stem rot, caused by the necrotrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*, became one of the most devastating diseases in rape cultivation and can generate yield losses of up to 50%. Currently no rape varieties with increased resistance against *Sclerotinia* are available and disease control is managed by fungicide application. To investigate the rape-*Sclerotinia* interaction and to explore wild *Brassica* species for new resistance traits a joint project between the SU Biotec GmbH (Leopoldshöhe) and the Institute of Phytopathology (CAU Kiel) was initiated. In the frame of this project we pursue two strategies: 1. A collection of *Brassica napus* varieties and wild *Brassica* species was tested for increased resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and six lines have been chosen for detailed molecular characterization. 2. Various mutants of *Arabidopsis thaliana*, which is also a host of *Sclerotinia*, will be tested in the interaction with *Sclerotinia*. Among those, an activation-tagged population of more than 40.000 individuals is currently screened for resistant *Arabidopsis* lines. Identification of up-regulated and mutated alleles that confer increased resistance to *Sclerotinia* shall disclose molecular mechanisms of plant defense. Additionally, these genes will serve as templates for molecular marker to breed new rape varieties using *Brassica* species investigated in the first strategy. Recent progress of this project is presented.

## **MANIPULATION OF PRIMARY METABOLISM OF MAIZE BY COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA**

Teutschbein, Jenny<sup>1</sup>; Wirsal, Stefan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg, Institut für Agrar- und*

*Ernährungswissenschaften. Professur für Phytopathologie und Pflanzenschutz, Betty-Heimann-Str.3, 06120 Halle*

Contact: Jenny.Teutschbein@landw.uni-halle.de

Phytopathogenic fungi develop sexual and / or asexual spores to complete their life cycle on the host. These spores are often enriched with storage substances which are derived from the plant. Pathogens compete with sink tissues of the host for carbohydrates and probably also for other compounds. The redirection of plant metabolism towards the establishing mycelium is a major aspect of pathogenicity. In previous work we showed that in the interaction between the hemibiotrophic fungus *Colletotrichum graminicola* and maize one of six known invertases of the host is transcriptionally upregulated. Invertases are important for the determination of the sink strength. Since the importance of fungal invertases to pathogenesis is mostly unknown they are being analysed in this project. For three invertases identified in the genome of *C. graminicola* transformants will be generated that overexpress invertase genes or carry gene deletions. So far the deletion of two invertase genes was accomplished. The transformants are further analysed for virulence, carbohydrate utilisation patterns in vitro, carbohydrate concentrations at infection sites and their influence on the photosynthetic activity of the host.

## **IDENTIFICATION OF SPORISORIUM REILIANUM EFFECTORS INVOLVED IN HOST SPECIFICITY**

Wollenberg, Theresa<sup>1</sup>; Poloni, Alana<sup>1</sup>; Zuther, Katja<sup>1</sup>; Donner, Jannik<sup>1</sup>; Stannek, Lorena<sup>1</sup>; Schirawski, Jan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Georg-August-Universität Göttingen, Albrecht-von-Haller Institute for Plant Sciences, 37073 Göttingen

Contact: jschira@uni-goettingen.de

*Sporisorium reilianum* is a smut fungus with a narrow host range. The *S. reilianum* variety SRZ produces smut symptoms only on maize, while the *S. reilianum* variety SRS produces spores on sorghum. Microscopic analysis showed that after host plant penetration *S. reilianum* reaches the inflorescence via growth along the vascular bundles. SRS hyphae can also ramify in maize plants and reach the inflorescences but do not differentiate into spores. To identify fungal host specificity determinants we follow three independent approaches, based on genome comparison, transcription analysis, and segregant analysis. Using genome comparison of closely related smut fungi, we identified a candidate gene (*hsc1*) highly conserved in the maize-infecting fungi *Ustilago maydis* and SRZ, and absent in SRS. Deletion of *Umhsc1* in *U. maydis* reduced virulence on maize, while *Srhsc1* expression in SRS reduced virulence on sorghum. This confirms the role of *hsc1* as host specificity factor.

To identify additional genes involved in host specificity, we microscopically identify sorghum tissues, in which hyphae of SRZ behave differently than hyphae of SRS. Using laser microdissection we will collect these tissues to isolate RNA and determine the transcriptome. Transcriptome analysis will lead to the identification of tissue- and variety-specific up-regulated candidate genes.

In the third approach, we analyze segregants of a mixed-variety infection both phenotypically and genotypically. Approximately 100 offspring of a cross of SRZ x SRS are tested for virulence on maize and sorghum. Strains that do not lead to disease symptoms on sorghum and those showing full virulence on sorghum are subjected to genotypic analysis. Genomic regions stemming from the SRZ parent in non-virulent offspring and from the SRS parent in virulent offspring are expected to contain candidate genes for host specificity.

## **A NEW APPROACH FOR DEVELOPING RESISTANCE AGAINST VERTICILLIUM LONGISPORUM IN OILSEED RAPE (BRASSICA NAPUS)**

Thurau, Tim<sup>1</sup>; Häder, Claudia<sup>1</sup>; Dreyer, Felix<sup>2</sup>; Cai, Daguang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Christian-Albrechts-University Kiel, Institute of Phytopathology, Hermann-Rodewald-Straße 9, 24118 Kiel, Germany

<sup>2</sup>Norddeutsche Pflanzenzucht H.-G. Lembke KG, Hohenlieth, 24363 Holtsee, Germany

Contact: t.thurau@phytomed.uni-kiel.de

The hemibiotrophic soilborne fungus *Verticillium longisporum* represents one of the important pathogenic fungi in oilseed rape (*Brassica napus*) cultivation. So far, only minor genetic variation in resistance to the fungus could be found in oilseed rape germplasm. To develop resistance against the fungus, we follow a novel strategy based on the molecular understanding of plant-fungus interaction. So far, a set of candidate genes that are involved in the infection process were identified from oilseed rape by use of a genome-wide transcriptome analysis. Characterization of *Arabidopsis* knock-out mutants of the genes of interest identified mutant plants which show an altered reaction to the fungal infection, thus suggesting a crucial role of these genes in the plant-fungus interaction. Elimination of the candidate genes from the *Brassica napus* genome by e.g. TILLING- or by transgenic approaches is in progress.

## CHARAKTERISIERUNG DER FRÜHEN INFEKTIONSSTADIEN VON ERYSIPIHE NECATOR UND UNTERSUCHUNGEN DER WIRT-PATHOGEN-INTERAKTION AN ZWEI VERSCHIEDENEN VITIS-GENOTYPEN

Tisch, Christine<sup>1</sup>; Kassemeyer, Hanns-Heinz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Staatliches Weinbauinstitut, Abteilung Biologie, Merzhauser Str. 119, 79100 Freiburg (Deutschland)

Contact: [hanns-heinz.kassemeyer@wbi.bwl.de](mailto:hanns-heinz.kassemeyer@wbi.bwl.de)

The powdery mildew, caused by *Erysiphe necator* is one of the most important diseases on grapevines. The most native American species of *Vitis* are resistant to *E. necator* and have been used in grape breeding programs. Only little is known about the mechanisms of resistance and about the interaction between *E. necator* and different *Vitis* species.

Fluorescence microscopy and low temperature electron microscopy were used to define the early developmental stages of the asexual cycle of *E. necator* on vine leaves. At different points in time, the fungal development was evaluated on leaf discs of *Vitis vinifera* L. cv. Müller-Thurgau (susceptible) and *Vitis riparia* (resistant). Until the formation of the first appressoria, *E. necator* showed a very similar development on both genotypes. Afterwards less individual spores continued to grow on *V. riparia* and the development was delayed compared to that on Müller-Thurgau.

Subsequently the transcriptional changes of the leaf discs of both genotypes were studied after infection with *E. necator*. The expression of a  $\beta$ -1,3-glucanase and a lipoxygenase (LOX) was analysed with real-time quantitative PCR. The transcripts of glucanase appeared earlier and more intensive in samples of *V. riparia* compared to those of Müller-Thurgau. The transcripts of LOX accumulated in infected samples as well as in uninfected of *V. riparia* but not in samples of Müller-Thurgau.

It is known that *E. necator* develops haustoria after appressoria formation which are necessary in nutrient uptake and further growth of the fungus. The microscopic results indicate that *E. necator* is unable to establish a functional haustorium on epidermal cells of *V. riparia*. We suggest that post infectious mechanisms of resistance inhibit the haustoria formation and causes the resistance of *V. riparia*. The results of the expression analysis provide an indication that an early and intensive expression of glucanase may play an important role. Also the constitutive levels of PR-proteins in general and the hypersensitive reaction are under discussion.

## 2011 Report on the Annual Meeting of the Study Groups 'Host-Parasite Interactions' and 'Mycology'

This year's Annual Meeting of the Study Groups 'Host-Parasite Interactions' and 'Mycology' of the German Society of Plant Protection and Plant Health (Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e. V.) was held on March 24-25, 2011 at Technical University Munich. The meeting was hosted, and perfectly organised, by Prof. Dr. Ralph Hüchelhoven and his coworkers at the Center of Life and Food Sciences Weihenstephan. As for many years, the meeting was set up as a joint workshop with one combined and two separate sessions. In total, about 120 scientists attended the joint meeting presenting 38 lectures and 30 posters (21 for 'Host-Parasite Interactions, 9 for 'Mycology'). Talks and posters covered a broad spectrum of topics such as pathogenicity factors, gene expression in pathogens and attacked plants, fungal effector molecules, host and non-host resistance, mycotoxins, root-endophytic fungi, taxonomic aspects, and fungicide resistance, to name but a few.

The next joint meeting of the Study Groups 'Host-Parasite Interactions' and 'Mycology' will be on March 22-23, 2012 at the University of Stuttgart-Hohenheim. It will be hosted by Professor Dr. Ralf Vögele.

Professor Dr. Uwe Conrath, Dr. Ulrike Steiner

### Study Group "Host-Parasite Interactions"

#### Influence of sucrose-breakdown genes on the development of *Heterodera schachtii* in *Arabidopsis thaliana*

Susana Cabello & Julia Hofmann

BOKU, IPS, Peter-Jordan-Strasse 76, 1190 Vienna, Austria.  
Contact: susana.cabello@boku.ac.at

The obligate plant parasitic cyst nematode *Heterodera schachtii* induces formation of highly specific feeding structures in the central cylinder of plant roots. As obligate parasite it obtains needed nutrients, and thus, energy from these cells that have to be supplied by the host plants. Amongst different carbohydrates, sucrose is the major transport sugar in the phloem of *Arabidopsis thaliana*, and is therefore expected to be the major sugar imported into nematode-induced feeding cell systems. To make fructose and glucose available for energy-gaining reactions or synthesis of macromolecules like cellulose or starch, sucrose needs to be degraded by a sucrose synthase (SUS) or an invertase (INV). Therefore, we analysed development of the nematode in different *sus* and *inv* *Arabidopsis* T-DNA lines (Barratt et al. 2009). From these studies we found that most of the mutants show an increase in the infection rate, especially the double mutant of cytosolic invertases *cinv1/cinv2*. Besides an increase in the infection rate of the host plant, nematodes infecting *cinv1/cinv2* mutant have increased size and egg

production. These results suggest that both the lack in sucrose cleavage and the associated increase in the level of sucrose are beneficial for nematode development.

#### Chilean potato varieties and their potential in pathogen defense and biofuel production

Sergio Diez-de-Medina<sup>1</sup>, Herman Silva<sup>2</sup> & Uwe Conrath<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Universidad Andrés Bello, Biotechnology PhD program, República 217, Santiago, Chile
- <sup>2</sup> Universidad de Chile, Departamento de Producción Agrícola, Facultad de Ciencias Agronómicas, Avenida Santa Rosa 11315, Santiago, Chile
- <sup>3</sup> Plant Physiology Department, RWTH Aachen University, 52056 Aachen, Germany.  
Contact: s10dem@gmail.com

Potato (*Solanum tuberosum*) is one of the most important crops in the world. It is threatened by several devastating pathogens, such as *Phytophthora infestans*, an oomycete that causes late blight disease. In Chile, potato production exceeds 50'000 hectares a year and includes optimised commercial as well as native varieties. The latter are a valuable source for beneficial traits such as those causing high yield and tuber quality. In addition, many of the native varieties show enhanced resistance to even highly aggressive *P. infestans* isolates and, eventually, increased levels of monomeric sugars and starch. Based on a transgenic strategy in the Neuhaus and Conrath labs we initiated a search for native potato varieties from Chile that would come with altered sugar content and enhanced disease resistance. In pilot studies, some varieties from Chilean breeding programs have already been shown to have enhanced expression of defense genes and elevated resistance to *P. infestans* when compared to the commercial Desirée variety. Their tubers also had altered composition in terms of monomeric sugars and starch. They will now be tested for their biomass and their potential for biohydrogen gas production. This project is supported by CONICYT-DFG 062-2008, ICM P06-065-F, MECESUP-UAB602, and a CONICYT fellowship N°2108007 to SDM.

#### The role of the surface structure on the infection and colonisation of grapevine berries by *Botrytis cinerea*

Hanns-Heinz Kassemeyer & Franziska Peters

Staatliches Weinbauinstitut, Abteilung Biologie, Merzhauser Str. 119, 79100 Freiburg, Germany.  
Contact: hanns-heinz.kassemeyer@wbi.bwl.de

Young grapevine berries show a very low susceptibility to infections by *Botrytis cinerea* from berry set up to the beginning of ripening. During the first stages of ripening *i.e.* the enhanced influx of sucrose, intact berries are more or less resistant against *B. cinerea*. On berries colonised by *B. cinerea* the mycelium on the surface expresses a specific pattern, indicating weaknesses and wounds of the berry skin which served as entrance ports for *B. cinerea*. This observation supports the hypothesis, that the structure of the berry skin plays a role in the infection process. After fertilisation and berry set, the surface of the pericarp is perfectly coated with a dense cuticle. A network of epicuticular waxes covers the cuticle, forming a preformed barrier against *B. cinerea*. In this stage the young berry expresses very low susceptibility to *B. cinerea*. In the course of the berry development a dense layer of epicuticular waxes accumulates on the cuticle. The wax platelets are comb-shaped and form a visible grey film on the berry surface. At the stage of veraison (start of sucrose influx) the berry is totally covered by these platelets. During berry development and the ripening process the berry skin constitutes a preformed barrier against *Botrytis cinerea*. The dense layer of platelets of the epicuticular waxes inhibits the development of the pathogen. On developing berries *B. cinerea* colonises exclusively the stigmata. Not until erosion of the wax platelets or formation of cracks in the cuticle occur hyphae of the pathogen start to colonise the whole berry surface and conidia are able to germinate.

### Arginine cycling in nematode induced feeding structures.

Shahbaz Anwar<sup>1</sup>, Erich Inselsbacher<sup>2</sup>, Florian MW Grundler<sup>3</sup> & Julia Hofmann<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Institute of Plant Protection, University of Natural Resources and Life Sciences, Peter Jordan-Strasse 82, A-1190 Vienna, Austria.
- <sup>2</sup> Department of Forest Ecology and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, SE-901 83 Umeå, Sweden
- <sup>3</sup> INRES, Molecular Phytomedicine, University of Bonn. Karlrobert-Kreiten-Str.13, Germany.  
Contact: anwar.shahbaz@boku.ac.at

The plant parasitic cyst nematode *Heterodera schachtii* in addition to a variety of plant species also infects the roots of Arabidopsis where it induces specialised feeding structures called syncytia. A previous transcriptome analysis of nematode-induced syncytia showed a significant upregulation of genes involved in arginine metabolism (Szakasits et al. 2009). Arginine is an essential proteinogenic amino acid and an important medium for transport and storage of nitrogen in plants. Several arginine-derived metabolites such as polyamines have been recognised as cell differentiation regulators. In order to study the role of arginine metabolism in nematode-induced syncytia, gene expression analyses were performed. We selected genes coding for arginine-succinate synthase and arginine-succinate lyase both playing a

key role in arginine biosynthesis. Further, the expression of *ARGAH1* and *ARGAH2* were studied that code for arginase, which is hydrolysing arginine into ornithine and urea. Relative expression levels of these genes were quantified using qRT-PCR in 5-, 10- and 15-day-old *H. schachtii*-induced syncytia. All the genes analysed were upregulated as compared to the noninfected control roots. Promoter::GUS lines, when infected with *H. schachtii*, showed high promoter activity in syncytia, at 5 and 10 days post inoculation. Gene silencing lines of arginine-succinate synthase and arginine-succinate lyase under the control of the *PDF 2.1* promoter were produced. These lines showed a higher susceptibility to *H. schachtii* compared to the wild type, whereas infection tests with T-DNA mutants *argah1-1* and *argah2-1* did not show any significant difference. These results suggest that arginine cycling plays an important role in nematode development.

### Analysis of Arabidopsis FMO1 gene expression and intracellular protein distribution in response to infection by various pathogens

Florian Müller, Alexandra Thönnessen & Nikolaus Schlaich

RWTH Aachen University, Plant Physiology Department (Biology 3), D-52056 Aachen, Germany.  
Contact: florian.mueller1@rwth-aachen.de

Flavin-containing monooxygenases (FMOs) have been characterised to oxygenate or hydroxylate small molecules containing nitrogen or sulfur in animals. Animals use the five isoforms for detoxification of xenobiotics. In contrast, FMOs in plants have different functions on endogenous substrates. The 29 FMO-like Arabidopsidis genes can be divided in four clades with different physiological functions. FMOS in clade I, the so called "YUCCA-Clade" are involved in auxin biosynthesis, FMOs in clade III are involved in glucosinolate biosynthesis and clade IV contains FMOs that are not described yet. We have previously identified FMO1, the only member of clade II FMOs, as an essential component of the defense against *Pseudomonas* infections. To deepen the functional analysis of FMO1, we have generated plants expressing *FMO1-GFP* fusion proteins under the control of the authentic or *35S* promoter, allowing us to determine the intracellular distribution of the FMO1 protein. Also, plants expressing *FMO1::β-glucuronidase* were generated. Those plants will be analysed for expression and intracellular localisation of FMO1 in response to infection by *Pseudomonas* bacteria, the *Hyaloperonospora* oomycete, and *Alternaria* and *Botrytis* fungi.

### Glutathione mediates protein kinase A-dependent fungal apoptosis induced by the phytoanticipine allicin from garlic

Martin CH Gruhlke & Alan J Slusarenko



RWTH Aachen University, Plant Physiology Department (Biology 3), Worringer Weg 1, 52074 Aachen, Germany. Contact: Martin.Gruhlke@rwth-aachen.de

Alliin (diallylthiosulfinate) is the major antibiotic compound synthesised by freshly crushed garlic. It reacts with cellular SH groups in a thiol-disulfide exchange-like reaction and affects the redox state of the cell by disturbing the ratio of reduced to oxidised cellular glutathione. Reduced glutathione is the major redox buffer in the cell and the electrochemical redox-potential of the cell regulates its physiological status. We showed that chemically synthesised, pure alliin causes apoptosis and is able to oxidise glutathione in the model system *Saccharomyces cerevisiae*, and it shifts the redox-potential to a region that is associated with induction of apoptosis. The induction of apoptosis was confirmed by showing caspase activation and testing yeast strains expressing a human antiapoptotic Bcl<sub>x</sub>L and a deletion mutant in the pro-apoptotic 'apoptosis-inducing factor' (AIF). Thus, Bcl<sub>x</sub>L overexpressing cells and the AIF deletion mutant were both more resistant to alliin than the wild type. Furthermore, mutants that accumulate less glutathione were more susceptible to alliin. The oxidative route to the induction of apoptosis depends upon the catalytic TPK3-subunit of protein kinase A (PKA). A *tpk3* deletion mutant was more resistant to alliin than the wild type. These data suggest that alliin, by virtue of its pro-oxidant nature, can kill yeast by altering the GSH:GSSG redox couple in the cell which causes the PKA-dependent pathway to apoptosis induction to be activated.

### The *Ustilago* effector Pep1 and its role in biotrophy of smut fungi

Christoph Hemetsberger, Christian Herrberger & Gunther Doehlemann

Dept. for Organismic Interactions, Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, 35043 Marburg, Germany. Contact: christoph.hemetsberger@mpi-marburg.mpg.de

The secreted effector Pep1 is essential for successful penetration of the host epidermal cells and establishment of biotrophic interaction in the *Ustilago maydis*/maize pathosystem as well as in the related covered smut of barley, *Ustilago hordei*. Deletion of *pep1* does not affect saprobic growth, however pathogenic development is arrested after the penetration attempt and a strong plant immune response is elicited. Confocal microscopy revealed localisation of Pep1 surrounding intracellular growing hyphae within the biotrophic interface.

Initial localisation studies using transmission electron microscopy suggested a membrane bound activity of Pep1 within the plant cytoplasm. To verify uptake of Pep1 into the host cell, confocal and electron microscopic assays using different tags are being combined.

Functional conservation of Pep1 in the smut fungi *U. maydis* and *U. hordei* suggests a basic mechanism of the Pep1 protein in the host/microbe interaction. To investigate distribution of the Pep1 mechanism in different pathosystems, other smuts were isolated and their genome checked for occurrence of the *pep1* gene. Functional conservation of the different Pep1 orthologues is being investigated. Furthermore, several functional assays are being utilised to narrow down the functional mechanism of Pep1.

### Cell death suppression during the interaction of *Ustilago* and barley

Alexander Hof<sup>1</sup>, Daniela Schwammbach<sup>1</sup>, Ruth Eichmann<sup>2</sup>, Ralph Hückelhoven<sup>2</sup> & Gunther Doehlemann<sup>1</sup>

- 1 Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Karl-von-Frisch-Str. 10, D-35043 Marburg, Germany
  - 2 Lehrstuhl für Phytopathologie, Technische Universität München Emil-Ramann-Str. 2 D-85350 Freising-Weißenstephan, Germany.
- Contact: doehlemann@mpi-marburg.mpg.de

In plants programmed cell death (PCD) is not only a fundamental process during all vegetative and reproductive stages of plant development, but also an essential defense mechanism during pathogen attack. Detection of the pathogen is accomplished by the plants immune system, resulting in various defense responses, such as the hypersensitive response and eventually the sacrifice of the infected cell. Therefore the prevention of PCD is essential to biotrophic plant pathogens such as *Ustilago hordei*. This basidiomycetous fungus causes covered smut on barley and oat, respectively. In the compatible interaction of *U. hordei* and barley PCD is fully prevented and no macroscopic symptoms of infection are visible, whereas deletion mutants of the secreted effector protein Pep1 cause PCD comparable to the non-host resistance reaction after infection with *U. maydis*.

Microscopical analyses revealed that plants overexpressing the conserved cell death suppressor Bax Inhibitor-1 (BI-1) show an increased susceptibility to the non-host pathogen *U. maydis*. Interestingly, BI-1 seems to play no role in the interaction with the *U. hordei* effector mutant  $\Delta pep1$  and the induced cell death reaction by the effector mutant is obviously mediated by a BI-1 independent pathway.

We also showed that *U. hordei* is able to actively suppress PAMP-triggered cell death caused by chitosan. Therefore, we are trying to identify cell death suppressing proteins which enable the establishment of the biotrophic interaction of *U. hordei* and barley.

To this end we are now cloning candidate genes encoding for secreted effectors to use in different screening approaches for which recent progress will be presented.

### Germin-like proteins in the nonhost interaction between *Arabidopsis thaliana* and *Phakopsora pachyrhizi*

Christiane Klasen, Caspar Langenbach, Ruth Campe, Ulrich Schaffrath, Uwe Conrath & Katharina Goellner

RWTH Aachen University, Plant Physiology Department, Molecular Phytopathology Group, Worringer Weg 1, 52074 Aachen, Germany.  
Contact: goellner@bio3.rwth-aachen.de

Soybean (*Glycine max*) is one of the most important crops worldwide. A recent threat to soybean production is the fungal pathogen *Phakopsora pachyrhizi* causing Asian soybean rust. This disease can lead to significant yield losses. Since no resistant soybean varieties to the treat exist, soybean is an interesting target for genetic engineering. Putative candidates thereto could be nonhost resistance genes of Arabidopsis. Candidate genes showing differential regulation after soybean rust infection include Germin-like proteins (GLPs). For some GLPs a role in plant defense against biotic or abiotic stress was already demonstrated. Among diverse activities found among GLPs, oxalate oxidase or superoxide dismutase activity suggest a role in cell wall reinforcement. Silencing of a candidate GLP gene in Arabidopsis resulted in an altered phenotype showing weakened nonhost resistance to *P. pachyrhizi*. These candidate genes are further analysed together with similarly regulated homologues via over-expression, silencing and localisation studies. Additionally, the selected GLPs will be tested for oxalate oxidase and superoxide dismutase activity.

### GABI-phenome – A research consortium for quantitative gene-phenotype relationships in pathogen-attacked barley; knockout screening for pathogenicity factors and gene discovery and expression analysis in *Bipolaris sorokiniana*

Jorrit-Jan Krijger, Susanne Köllmer & Holger B Deising

Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Phytopathology and Plant Protection, Betty-Heimann-Str. 3, 06120 Halle (Saale), Germany.  
Contact: jorrit-jan.krijger@landw.uni-halle.de

*Bipolaris sorokiniana* (Teleomorph: *Cochliobolus sativus*) is a hemibiotrophic pathogen of various grasses, such as barley, wheat and rye. It can infect leaves, seeds or roots and cause spot blotch, seedling blight or root rot, respectively. Although it is a global player occurring in temperate regions of Asia, Africa, America and Australia, nothing is known about pathogenicity factors or developmental regulators in this plant pathogenic fungus. Our aim within the GABI-phenome consortium was to identify such factors by screening an ATMT-generated random mutant collection. In parallel, high-throughput EST-sequencing was employed to analyse the transcriptome of *B. sorokiniana* and the other fungi

studied in the context of the consortium, *Rhynchosporium secalis* and *Blumeria graminis*. Based on these data, interaction microarrays were produced to study the transcriptional responses of host and each of the pathogens in their interaction, with the aim of identifying candidate genes for targeted knockout.

### Identification of novel nonhost resistance genes in the Arabidopsis-soybean rust interaction

Caspar Langenbach, Christiane Klasen, Ruth Campe, Ulrich Schaffrath, Uwe Conrath & Katharina Goellner

RWTH Aachen University, Plant Physiology Department, Molecular Phytopathology Group, Worringer Weg 1, 52074 Aachen.  
Contact: langenbach@bio3.rwth-aachen.de

The causal agent of Asian soybean rust (ASR), *Phakopsora pachyrhizi*, represents one of the most important pathogens of soybean and other leguminous plants. Until now, control of the pest can only be achieved by expensive fungicide treatments. Since commercially available soybean varieties with stable resistance to different isolates of *P. pachyrhizi* are not yet available, new strategies are needed to counteract ASR spread and establishment. We aim at elucidating the molecular basis of Arabidopsis' non-host resistance to ASR to exploit these resistance traits for engineering of durably resistant soybean varieties. Employing a global gene expression approach we have identified genes which putatively antagonise the establishment of fungal haustoria in infected plant tissue. By applying dsRNAi-mediated gene silencing, we have analysed most of these candidate genes with respect to their function in the Arabidopsis ASR interaction. Here we present several genes which are contributing to Arabidopsis' postpenetration resistance to *P. pachyrhizi*.

### Targeted deletion of genes encoding ABC-type efflux transporters of the maize pathogen *Colletotrichum graminicola*

Mariela C Mielke<sup>1</sup>, Ulrike Ahmetovic<sup>1</sup>, Birgit Dräger<sup>2</sup> & Holger B Deising<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Phytopathology and Plant Protection, Betty-Heimann-Str. 3, D-06120 Halle (Saale), Germany

<sup>2</sup> Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Institute of Pharmacy, Hoher Weg 8, D-06120 Halle (Saale), Germany.

Contact: mariela.mielke@landw.uni-halle.de

In recent years efflux transporters moved into focus of fungicide resistance research. These membrane-integral proteins reduce the intracellular fungicide concentration and

allow plant pathogenic fungi to infect their host plants despite repeated fungicide treatment. Not only in agriculture but also in medical environments fungicide-resistant strains are of increasing relevance (Serfling et al. 2007, Reimann & Deising 2005).

In this work we used bioinformatics approaches to identify ABC transporters (ATP-binding cassette transporter) putatively related to fungicide resistance in the genome sequence of *Colletotrichum graminicola*, the cause of leaf anthracnose and stem rot of maize. Fungicides used in agriculture and medicine that interfere with sterol biosynthesis, i.e. tolnaftate and tebuconazole, were used as efflux transporter-inducing agents. Quantitative RT-PCR experiments revealed that three ABC transporter responded drastically to fungicide treatment and were therefore selected for targeted gene deletion experiments. Single, double and triple mutants have been generated, and mutants were tested for modified fungicide sensitivity and virulence on plants. The results will be discussed with respect to fungicide risk assessment and current chemical disease control strategies.

#### References

- Reimann S & Deising HB, (2005). Inhibition of efflux transporter-mediated fungicide resistance in *Pyrenophora tritici-repentis* by a derivative of natural 4'-hydroxyflavone and potentiation of fungicide activity. *Appl Environ Microbiol* 71, 3269-3275.
- Serfling A, Wohlrab J & Deising HB, (2007). Treatment of a clinically relevant plant pathogenic fungus with an agricultural azole causes cross-resistance to medical azoles and potentiates caspofungin efficacy. *Antimicrob Agents Chemother* 51, 3672-3676.

#### Inhibition of maize cysteine proteases by secreted effectors of *Ustilago maydis*

André Müller<sup>1</sup>, Steffi Treitschke<sup>1</sup>, Christian Herrberger<sup>1</sup>, Christoph Hemetsberger<sup>1</sup>, Farnusch Kaschani<sup>2</sup>, Renier van der Hoorn<sup>2</sup> & Gunther Doehlemann<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Karl-von-Frisch-Str. 10, D-35043 Marburg, Germany
- <sup>2</sup> Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Carl-von-Linné-Weg 10, D-50829 Köln, Germany.  
Contact: doehlemann@mpi-marburg.mpg.de

*Ustilago maydis*, the causative agent of maize smut, is a biotrophic fungus depending on living tissue for pathogenic development. This fungal lifestyle essentially requires efficient control of plant defense responses, in particular host cell death. Small proteins secreted by the fungus, so called effectors, are considered to be instrumental for the suppression of plant defense. While analysis of various *U. maydis* effector mutants revealed essential roles of these secreted proteins for virulence, only little is known about their actual molecular function. Therefore, our central aim is to understand how *U. maydis* effectors interact with particular host

cellular processes and which plant signaling cascades are manipulated to trigger susceptibility. Our recent findings suggest that suppression of maize cysteine proteases is a key process for the establishment of compatibility to *U. maydis*. In different assays we could show suppression of plant protease activity by *U. maydis* effector proteins. Our current studies aim on the identification of the individual maize proteases that are targeted by *U. maydis* effectors. Moreover, the role of these proteases for plant defense signaling will be studied.

#### The $\beta$ -1,3-glucan synthase gene is essential for vegetative and pathogenic development of *Colletotrichum graminicola*

Ely Oliveira Garcia & Holger B Deising

MLU Halle, Phytopathology and Plant Protection, Betty-Heimann-Str. 3, D-06120 Halle (Saale), Germany.  
Contact: ely.oliveira-garcia@landw.uni-halle.de

$\beta$ -1,3-Glucan is an essential cell wall component of all fungi. Like chitin,  $\beta$ -1,3-glucan is thought to be a key compound in the infection process and thus a likely pathogenicity factor. However, stringent genetic proof by targeted gene deletions has not been provided in plant pathogenic fungi. This may be due to the fact that fungal  $\beta$ -1,3-glucan synthase genes are single-copy genes and likely essential.

In this study, *Colletotrichum graminicola*, the causal agent of maize anthracnose, was used as a model system to understand the role of the  $\beta$ -1,3-glucan synthase gene *GLS1* in vegetative and pathogenic development. *GLS1:GFP* fusion proteins localised to the plasma membrane and in apical regions of growing hyphae. Conidia, appressoria and necrotrophic hyphae showed the strongest fluorescence, suggesting high *GLS1* expression levels. As targeted deletion of the single-copy  $\beta$ -1,3-glucan synthase gene may lead to a lethal phenotype, RNAi constructs were transformed into the WT strain CgM2, and transcript abundances were evaluated by quantitative RT-PCR. Our data show that the *GLS1* is essential for morphogenesis ex-planta and during plant infection. RNAi strains shown reduced growth rates, abnormal conidiation, swelling in the hyphae, and the appressoria formed non-infective hyphae. All transformants were unable to infect maize plants, suggesting an essential role of this gene in pathogenicity of *C. graminicola*.

#### Molecular characterisation of a hypersusceptibility and morphology *Arabidopsis thaliana* mutant

Janys Pleßmann, Nikolaus Schlaich, Sven Friehe & Rana Pooraiiouby

RWTH Aachen University, Plant Physiology Department (Biology 3), Worringer Weg 1, 52056 Aachen, Germany.  
Contact: janys.plessmann@rwth-aachen.de

An *Arabidopsis thaliana* mutant was isolated, showing abnormally shaped leaves and reduction in stature. In addition, this plant was hypersensitive to abiotic stress and a virulent race of *Hyaloperonospora arabidopsidis*, although the gene-for-gene interaction was not affected. Preliminary molecular studies of the mutant on the genomic level suggested a mutation in the gene At3g07970 which is encoding a polygalacturonase (PGase). PGases degrade polygalacturonan, a component of the plant cell wall. It is therefore suggested that the plant-parasite interaction is also influenced in this mutant. Furthermore, a mutant plant from the GABI-Kat collection with a mutation in the same PGase gene showed similar phenotypes. Identification and molecular characterisation of the mutation and the role of PGase in the development of the plant, its immune reaction and its response to abiotic stress will be presented.

#### **In vivo monitoring of cellular redox potential in Arabidopsis during host-pathogen and herbivore interactions using redox-sensitive green fluorescent protein (roGFP)**

Miriam Schreiber<sup>1</sup>, Alexandra Thönnessen<sup>1</sup>, Martin Gruhlke<sup>1</sup>, Andreas J Meyer<sup>2</sup> & Alan J Slusarenko<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Plant Physiology Department (Bio3), RWTH Aachen University, Worringer Weg 1, 52074 Aachen, Germany
- <sup>2</sup> Heidelberg Institute of Plant Sciences, University of Heidelberg, 69120 Heidelberg, Germany.  
Contact: Miriam.Schreiber@rwth-aachen.de

Upon infection or wounding there is an 'oxidative burst' measured as a generation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the apoplast. Transgenic Arabidopsis expressing a green-fluorescent protein modified to change its fluorescence in a redox-dependent manner (roGFP) was used to follow intracellular cellular redox changes after pathogen inoculation and herbivory. In roGFP two amino acids have been replaced with cysteines. In an oxidising environment the cysteines form a cystine disulfide bridge and the fluorescence decreases. To characterise cellular redox changes after infection, we inoculated roGFP2-Arabidopsis leaves with virulent or avirulent isolates of *Hyaloperonospora arabidopsidis* and followed fluorescence changes using a confocal laser-scanning microscope (CLSM). We also analysed the reaction of leaves after feeding by caterpillars of the cabbage white butterfly (*Pieris rapae*). Furthermore, quantitative studies of compatible and incompatible interactions were performed using a fluorometer-based method (Rosenwasser et al. 2010) with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*-inoculated leaf discs. Preliminary results suggest a rapid decrease in the electrochemical cellular redox potential (more reducing) in the symplast of cells at the immediate penetration site by virulent and avirulent isolates of *H. arabidopsidis*. Conversely, an increase in the electrochemical cell potential (more oxidising) was seen in cells at the edge of feeding sites of *P. rapae* caterpillars.

#### **Identification of in vivo substrates of MEK-MPK-modules in Arabidopsis**

Martin Thomas<sup>1</sup>, Gerold Beckers<sup>1</sup>, Anne Harzen<sup>2</sup>, Tom Colby<sup>2</sup>, Jürgen Schmidt<sup>2</sup> & Uwe Conrath<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Plant Biochemistry & Molecular Biology Group, Department of Plant Physiology (Bio3), RWTH Aachen University, Aachen, Germany.
- <sup>2</sup> Mass Spectrometry (MS) Group, Max Planck Institute for Plant Breeding Research (MIPZ), Cologne, Germany.  
Contact: martin.thomas1@rwth-aachen.de

Mitogen-activated protein kinase (MPK) cascades are universal, highly conserved signal amplification modules in eukaryotes. These protein phosphorylation cascades transmit extracellular stimuli to a wide range of cellular responses. Signaling through MPK cascades requires MPK-activating kinases (MEKs) and MEK-activating kinases (MEKKs). MPKs are proline (P)-directed serine (S)/threonine (T) kinases; that is they catalyse the addition of a phosphoryl group to the S or T residue in the dipeptide motif S/T-P. In animals and plants, many approaches to identify MPK substrates have been employed. Current advances emerged from mass spectrometry (MS)-based phosphoproteomic strategies that allow unbiased, high-throughput detection of *in vivo* phosphorylation events. We exploit a powerful combination of a highly specific, non-invasive *in planta* MPK activation concept and a sensitive MS-based quantitative phosphoproteomic analysis for the identification and subsequent validation of Arabidopsis MPK *in vivo* phosphorylation substrates.

#### **Suppression of plant defense during infection by *Ustilago maydis***

Karina van der Linde<sup>1</sup>, Christian Herrberger<sup>1</sup>, Christoph Hemetsberger<sup>1</sup>, Farnusch Kaschani<sup>2</sup>, Renier van der Hoorn<sup>2</sup> & Gunther Doehlemann<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Karl-von-Frisch-Str. 10, D-35043 Marburg, Germany
- <sup>2</sup> Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Carl-von-Linné-Weg 10, D-50829 Köln, Germany.  
Contact: doehlemann@mpi-marburg.mpg.de

*Ustilago maydis* infects primordia of all aerial organs of its host plant maize. During interaction, the infected host tissues are reprogrammed in their development and thereby transformed to tumors. Immediately upon host penetration, biotrophy is established and maintained during fungal proliferation up to formation of sexual spores. A key feature of the interaction is the suppression of host defense responses, particularly the formation of reactive oxygen species, salicylic acid (SA) signaling and as a consequence, the induc-

tion of programmed cell death. In activity based profiling assays we found that maize cysteine proteases are massively induced by SA, while they are efficiently suppressed during *U. maydis* interaction. In line with this observation we identified a maize cystatin (a cysteine protease inhibitor) being required for the suppression of plant defense during *U. maydis* infection. Functional analyses showed that the cystatin is sufficient to suppress SA induced defense responses. Moreover, protease activity assays showed that SA-induced apoplastic cysteine proteases are inhibited by the cystatin. In a parallel approach we could show that the *U. maydis* effector protein Pep1, which is essential to suppress plant defense responses, also targets apoplastic, SA-induced cysteine proteases. Together, this suggests a central role of apoplastic cysteine proteases for defense signaling in maize.

### Pectin and pectin degradation in nematode feeding structures

Krzysztof Wieczorek<sup>1</sup>, Abd El Naser El Ashry<sup>2</sup>,  
Michael Quentin<sup>3</sup>, Georg Seifert<sup>1</sup>, Bruno Favery<sup>3</sup>,  
Florian Grundler<sup>2</sup> & Holger Bohlmann<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Institute for Plant Protection (IPS), University of Natural Resources and Applied Life Sciences (BOKU), Vienna, Austria
- <sup>2</sup> Institute of Crop Science and Resource Conservation. Department Molecular Phytomedicine University of Bonn, Karlrobert-Kreiten-Str. 13, D-53115 Bonn, Germany
- <sup>3</sup> INRA-CNRS-Université de Nice Sophia Antipolis, UMR 1301-6243, Sophia Antipolis, France.  
Contact: krzysztof.wieczorek@boku.ac.at

Pectic polysaccharides are noncellulotic cell wall polymers are widely distributed in the primary plant cell wall. Pectin matrix is responsible for wall porosity, charge density and microfibril spacing and is the main component of the middle lamella between two adjacent plant cells. Plant parasitic nematodes have to secrete a cocktail of cell wall degrading enzymes that macerate the plant tissue allowing the penetration and migration within the roots. These enzymes are released only during the migration phase of the nematode. Recent studies, however, indicate that at later stages nematodes are able to interfere with the expression of enzymes involved in the degradation/modification of pectin. Accordingly, in this study we investigated the expression of two *Arabidopsis thaliana* pectate lyases, At4g24780 and At3g27400. We confirmed their upregulation based on our previous GeneChip results by the real-time RT-PCR and *in situ* RT-PCR. Further, we present results of the functional analysis that suggest the important role of pectate lyases in the development and maintenance of the nematode feeding structure.



## AK BIOMETRIE UND VERSUCHSMETHODIK, 30.6.2011

sind hier: [Arbeitsgruppen](#) / [Landwirtschaftliches Versuchswesen](#) / [Tagungsberichte \(ab 1996\)](#) / [Sommertagung in Limburgerhof](#)

Die Gesellschaft Termine Arbeitsgruppen Aus-/Weiterbildung Nachwuchs Publikationen Stellenbörse



### Sommertagung in Limburgerhof vom 30. Juni-01. Juli 2011

Hinweis:

Beiträge in Fettdruck liegen zum Download bereit.

#### Donnerstag, 30. Juni 2011

|             |  |
|-------------|--|
| 13:00-13:15 | Begrüßung  |
| 13:15-14:00 | <b><a href="#">Struktur und Aufgaben des Agrarzentrums Limburgerhof (Annette Freund)</a></b>   |
| 14:00-14.30 | <b><a href="#">Wirkungsgradberechnung nach Abbott und Henderson-Tilton in der angewandten Agrarforschung (Andreas Büchse)</a></b>                          |
| 14:30-15:00 | <b><a href="#">Auswertung longitudinaler ordinaler Daten (Mareike Kohlmann)</a></b>  |
| 15:00-15.30 | <b><a href="#">Befallserhebungen auf Praxischlägen - Auswertung unter Einbezug von Geo- und Sensordaten im Projekt iGreen (Gerald Johann to Büren)</a></b> |
| 15:30-16:00 | Kaffeepause  |
| 16:00-16:30 | <b><a href="#">Geostatistische Analyse räumlich hochaufgelöster Daten aus einer Serie von On-Farm-Sortenversuchen (Teil I) (Arndt Kunick)</a></b>          |
|             | <b><a href="#">Geostatistische Analyse räumlich hochaufgelöster Daten aus einer Serie von On-Farm-Sortenversuchen (Teil II) Karin Hartung</a></b>          |
| 16:30-17:00 | Leitfaden On-Farm Experimente - Stand und Perspektiven (Autorenkollektiv)  |
| 19:00-20:30 | Gemeinsames Abendessen   |
| 20:30-22:00 | Nachwanderung durch das mittelalterliche Speyer  |
| 22:00-23:00 | Nachtisch und Nachlese   |

#### Freitag, 01. Juli 2011

|             |   |
|-------------|---|
| 08:30-09:00 | <b><a href="#">Simultane Mittelwertvergleiche mit Proc Glimmix (Eckard Moll, Hans-Peter Piepho)</a></b> |
| 09:00       | <b><a href="#">Versuchsauswertung mit EVA im Rahmen von PIAF-Stat (Volker Michel)</a></b>               |
| 09:30       | Geschäftssitzung AG Landwirtschaftliches Versuchswesen  |
| 10:00       | Kaffeepause   |

Suchen

#### INFO

Das [e-Rundschreiben 78 vom 17. Januar 2012](#) ist online verfügbar

Das nächste planmäßige e-Rundschreiben erscheint Anfang März 2012

Das [Rundschreiben 2011-2](#) ist online verfügbar

[LINKS](#)

[SCHWARZES BRETT](#)

[IMPRESSUM](#)

[DISCLAIMER](#)

|              |   |
|--------------|---|
| 10:30        | Besichtigung des Agrarzentrums Limburgerhof |
| 13:00        | Gemeinsames Mittagessen                     |
| <b>13:30</b> | <b>Ende der Sommertagung</b>                |



# Sommertagung der Biometrischen Gesellschaft

 **BASF**

The Chemical Company

**Annette Freund**

**30. Juni 2011**



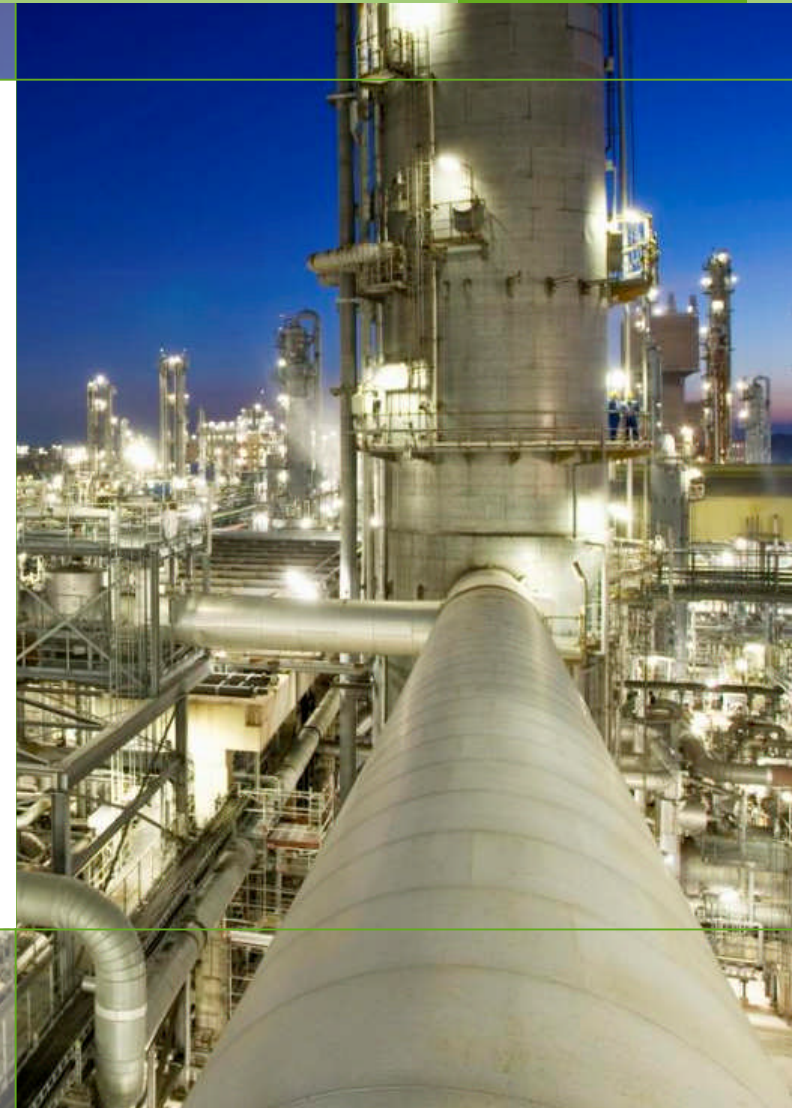




# Stammwerk Ludwigshafen – größtes zusammenhängendes Chemieareal

 **BASF**  
The Chemical Company

- **Werksfläche:** 10 Quadratkilometer
- **Anlagen:** über 160 Produktionsbetriebe
- **Straße:** 115 km  
(von Ludwigshafen bis nach Straßburg)
- **Schiene:** 213 km  
(von Ludwigshafen nach Bonn)
- **Rohrleitungen oberirdisch:** 2 000 km  
(von Ludwigshafen bis nach Sevilla)
- **Gebäude:** ca. 2 000





# BASF – The Chemical Company



- Das weltweit führende Chemieunternehmen
- Bietet intelligente Systemlösungen und hochwertige Produkte für fast alle Branchen
- Umsatz 2010: ~ 64 Milliarden €
- EBIT 2010: ~ 8 Milliarden €
- Mitarbeiter (31.12.2010): 109.140



# Segmentstruktur der BASF



**Chemicals**

Inorganics

Petrochemicals

Intermediates



**Plastics**

Performance  
Polymers

Polyurethanes



**Performance  
Products**

Dispersions  
& Pigments

Care Chemicals

Paper Chemicals

Performance  
Chemicals



**Functional  
Solutions**

Catalysts

Construction  
Chemicals

Coatings



**Agricultural  
Solutions**

Crop Protection

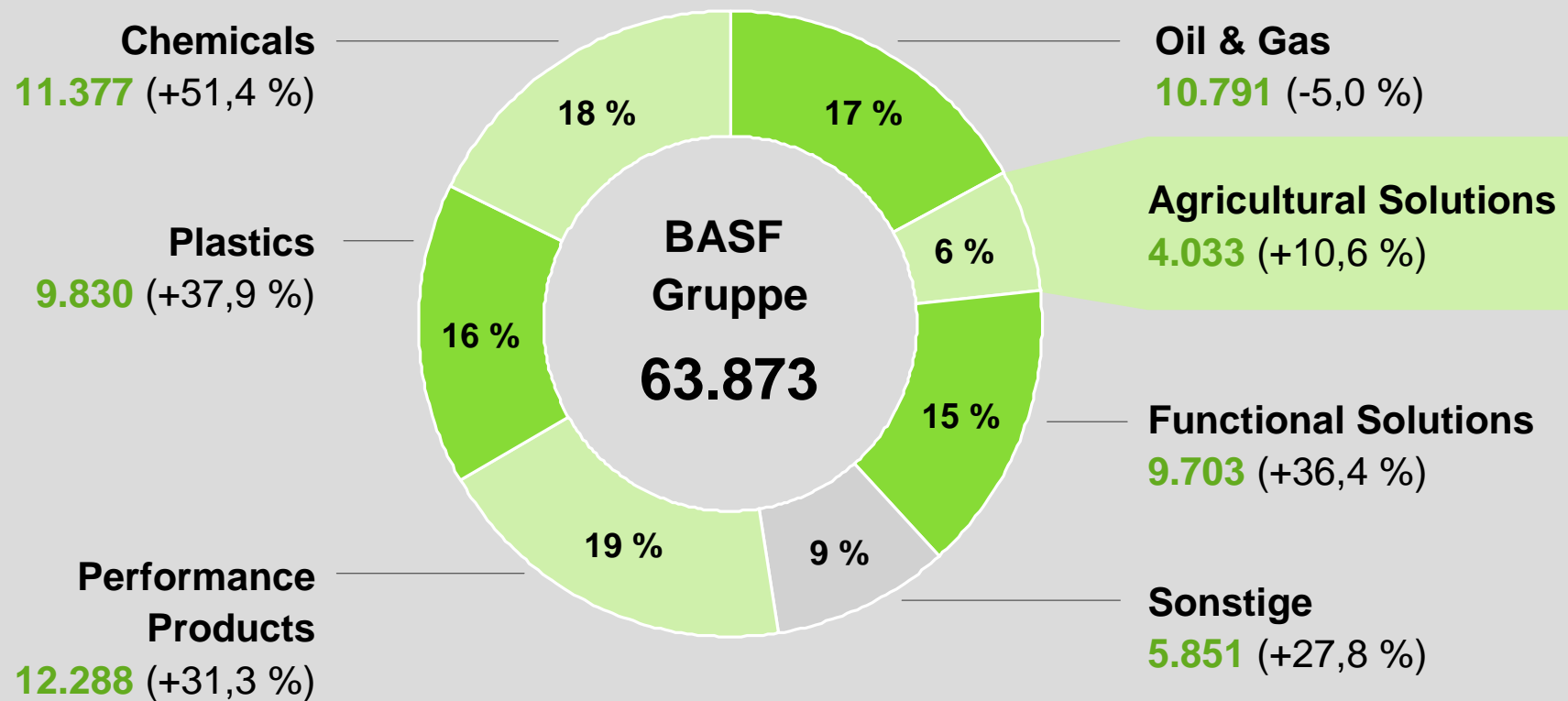


**Oil & Gas**

Oil & Gas

# BASF-Gruppe: Umsatz der Segmente 2010

Millionen € (Veränderung gegenüber Vorjahr)









# Gebündelte Kompetenz



Das **Argarzentrum Limburgerhof** ist die Drehscheibe der weltweiten Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten im Bereich Pflanzenschutz und der Pflanzenbiotechnologie.  
Europa- und Deutschlandorganisation

In Limburgerhof arbeiten

- ca. 1.500 Menschen auf einem Gelände von
- 11.000 m<sup>2</sup> Gewächshausfläche und
- ca. 40 Hektar Freilandfläche

Der **BASF Gutsbetrieb Rehhütte** (500 Hektar) liegt in unmittelbarer Nachbarschaft und zählt zu den größten landwirtschaftlichen Betrieben in der Vorderpfalz.

Viele Gebäudeteile dienen mittlerweile Veranstaltung- und Tagungszwecken.



# Schwerpunkte im Pflanzenschutz



**Fungizide**  
gegen Schadpilze



**Herbizide**  
gegen Unkräuter



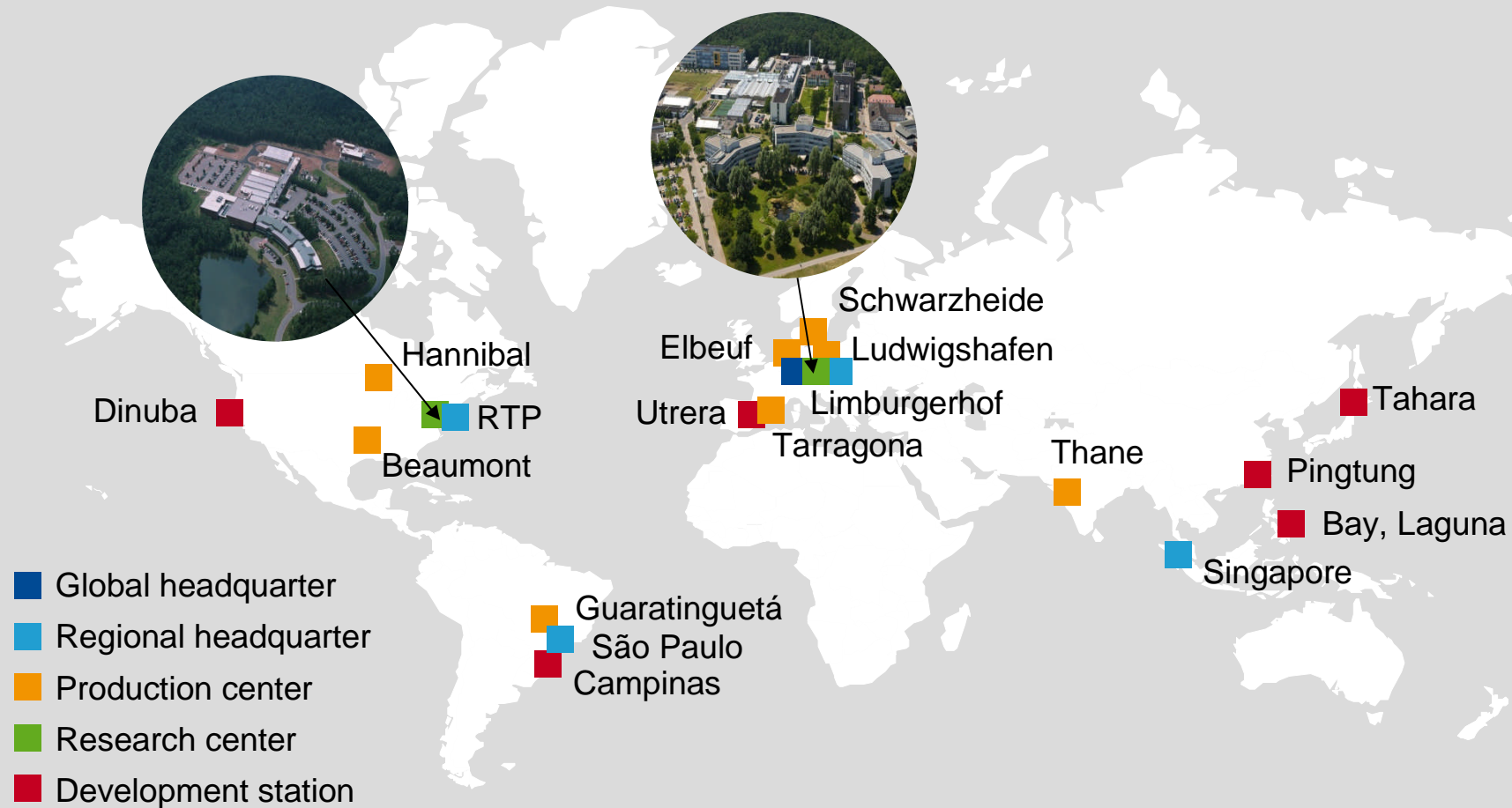
**Insektizide**  
gegen Schadinsekten



**Andere**  
z. B. Plant Health

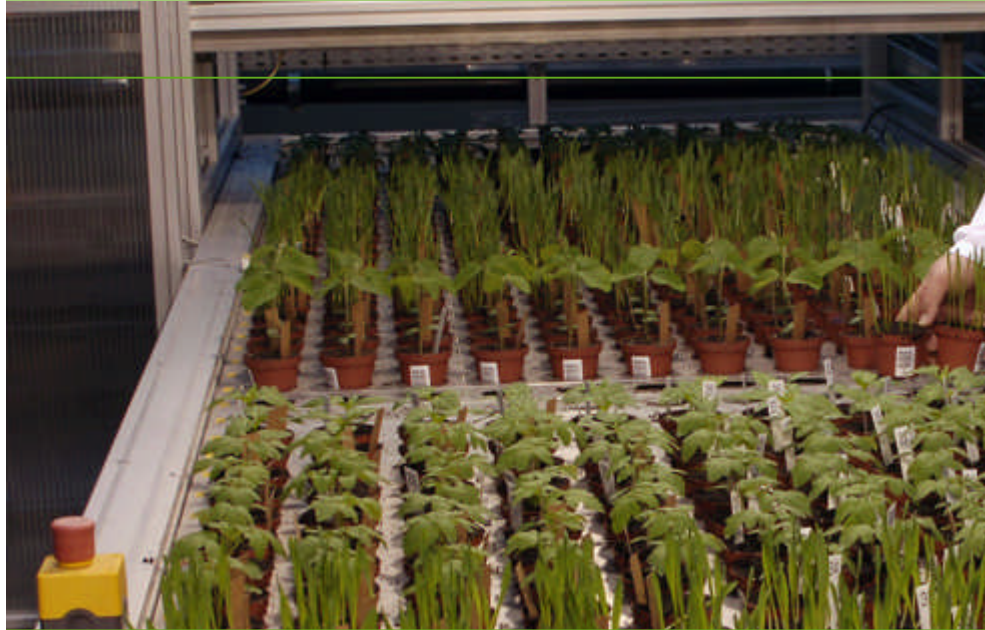


# BASF Pflanzenschutz Standorte weltweit





# Starkes Engagement in Forschung und Entwicklung

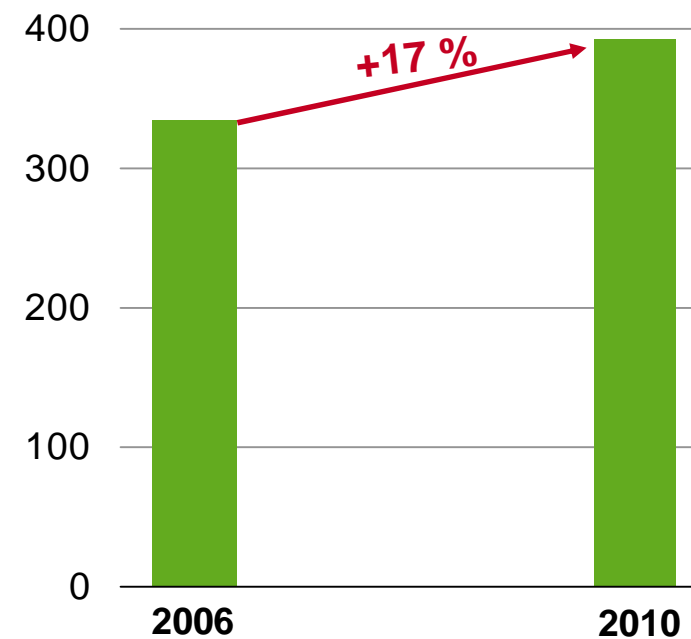


## STRATEGIE

- Jährliche Aufwendungen von 9–10 % des Umsatzes in Forschung und Entwicklung
- Aufstockung der Forschungsausgaben für innovative Produkte

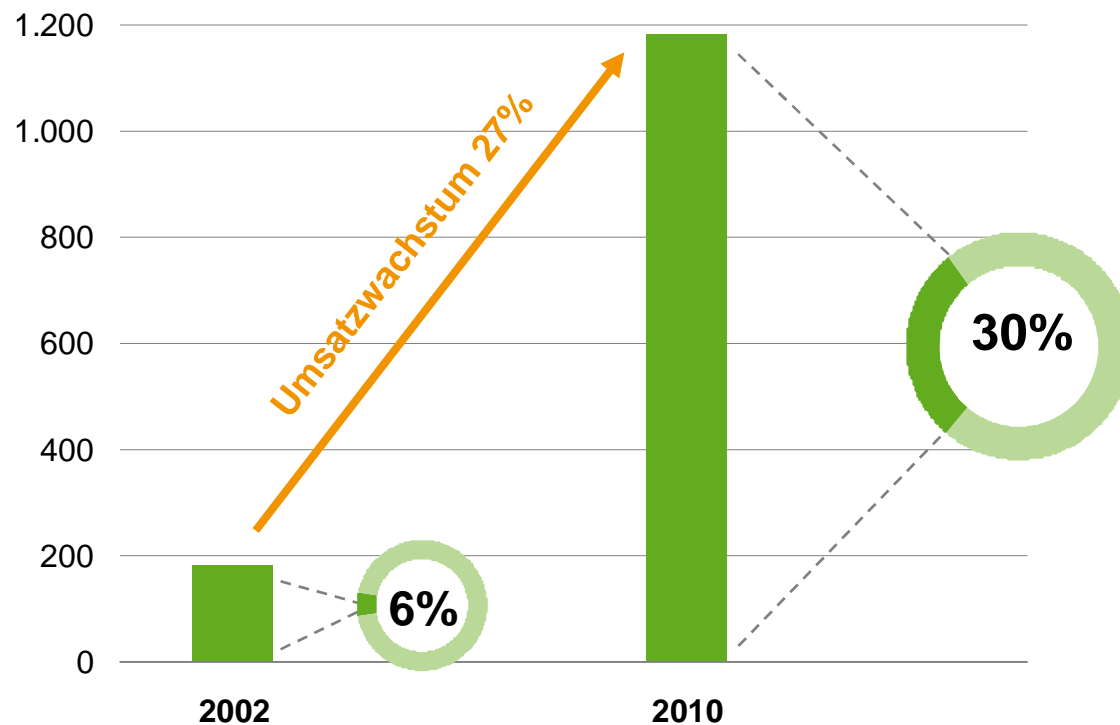
## Forschungsausgaben im Pflanzenschutz

in Millionen €



# Strategie: Wachstum durch Innovation

## ANTEIL INNOVATIVER WIRKSTOFFE am Gesamtumsatz in Mio. €



## INNOVATION IST DER SCHLÜSSEL ZUM ERFOLG

- Ausgaben für Forschung & Entwicklung 2010: 393 Mio. € (26 % der Gesamtinvestitionen von BASF in diesem Bereich)
- Anhaltendes Umsatzwachstum bei innovativen neuen Wirkstoffen, die seit 2002 auf den Markt kamen
- Jährliches Umsatzwachstum von 2002-2010 von 27 %
- Vitales Portfolio: 2010 betrug der Anteil neuer Wirkstoffe (seit 2002 im Markt) 30 %.

# Gezielte Auswahl der Kandidaten

- Eindeutige Entscheidungskriterien im Forschungsprozess
- Auswahl der richtigen Kandidaten und Entwicklungsprojekte
- Leistungskennzahlen



**FORSCHUNG**

- Biologische Aktivität?
- Regulat. Profil
- Passend zu Zielsegmenten?
- Leistungsprofil?

**ENTWICKLUNG**

- Finanzielles Ziel?

**EINFÜHRUNG**

**NEUE  
WIRKSTOFFE**



# Fotogalerie: Landwirte aus aller Welt

 **BASF**  
The Chemical Company



**Viel Spaß und anregende Diskussionen!**



The Chemical Company

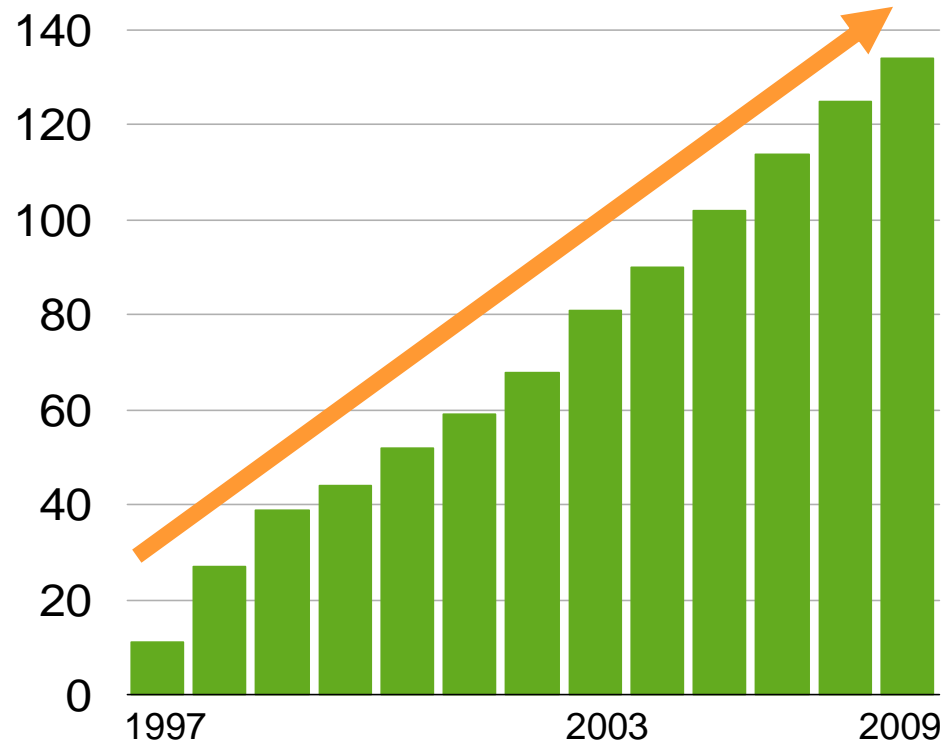
# Pflanzenbiotechnologie – Heute

## Heute



Quelle: ISAAA-Report

Millionen ha



Anbaufläche  
gentechnisch  
optimierter  
Pflanzen

- ▶ 134 Millionen Hektar (10% der weltweiten Agrarfläche)
- ▶ 14 Millionen Landwirte, davon 90% in Entwicklungsländern
- ▶ Kulturen: Mais, Soja, Baumwolle, Raps

# Die Stärkekartoffel Amflora für technische Zwecke



- Reine Amylopektin-Stärke für industrielle Anwendungen
- Zielkunden: Papier-, Klebstoff- und Textilindustrie
- Kartoffeln für europäische Bauern und Kartoffelstärke-industrie
- EU-Genehmigung im März 2010 erhalten



## Vorteile:

- Optimiert Prozesse und verbessert die Produktqualität z.B. glänzenderes Papier
- Produktionskosten sinken
- Weniger Wasser, Energie und



# Effizientere Landwirtschaft – Fortuna – schadpilzresistente Kartoffel



- Übertragung der Resistenzgene auf kommerziell angebaute Kartoffelpflanzen
- Markteinführung ab 2014

## Vorteile:

- ▶ Effizientere Schädlingsbekämpfung
- ▶ Gesunde Pflanzen und Knollen sichern die Ernte
- ▶ Vereinfachung für Bauern durch weniger Schädlingsbekämpfung



# Effizientere Landwirtschaft – Schutz vor Trockenheit

Gen für Trocken-  
toleranz identifiziert



Moose  
Mikroorganismen

Gen  
trans-  
fer

Test mit  
Modellpflanzen

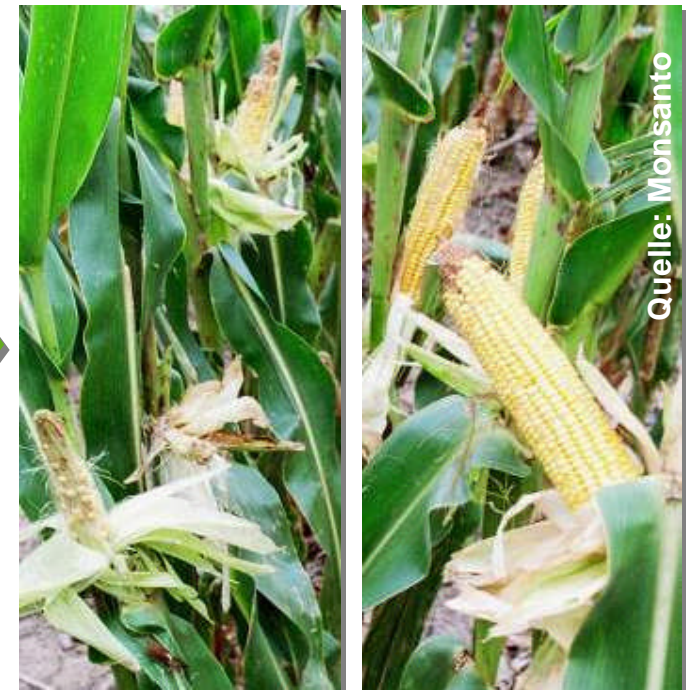


Kontrolle

Gentechnisch  
optimiert

Gen  
trans-  
fer

Feldversuche mit Mais unter  
Trockenheitsbedingungen



Kontrolle

Gentechnisch  
optimiert

➔ Ziel: 6-10% Ertragssteigerung

# Bessere, gesündere Ernährung – Gesunde Fettsäuren aus Pflanzen



- Gesunde langkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren in Rapsöl
- Algenogene auf Raps übertragen
- Markteinführung ab 2014

## **Vorteile:**

- ▶ Komfort für Verbraucher
- ▶ Gesunde Lebensmittel für Kreislauf- und Nervensystem

## **Positive Auswirkung auf die Gesundheit**

- ▶ EPA/DHA mindert das Risiko von Herz-Kreislauf- Erkrankungen
- ▶ ARA-Öl wichtig für Gehirn- und Augenentwicklung bei Kleinkindern

Crop Protection  
Global Research and Development

# **Nutzung der Wirkungsgradberechnung nach ABBOTT und HENDERSON-TILTON in der angewandten Agrarforschung**

**Limburgerhof, 30.06.2011**

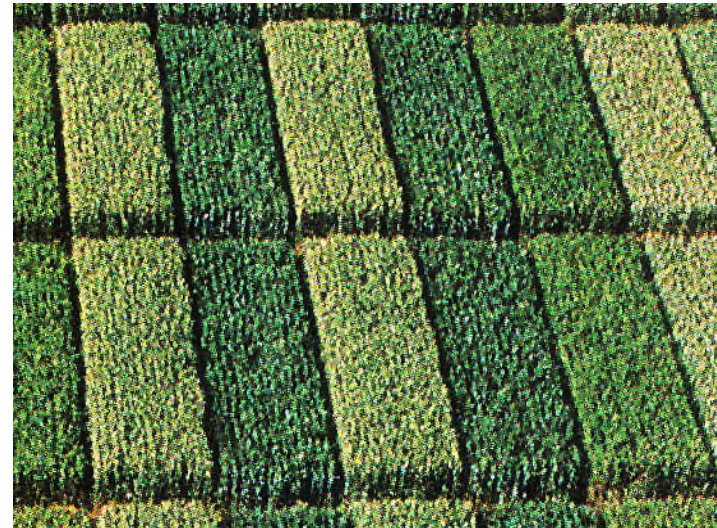
Andreas BÜchse (APR/PK)

[andreas.buechse@basf.com](mailto:andreas.buechse@basf.com)



The Chemical Company

# Biologische Tests / Mittelprüfung



- **In Gewächshaus und Feld wird die Wirkung von neuartigen Substanzen auf Unkräuter, Pilze und Insekten untersucht.**
- **Vergleich von Behandlungen, Vergleich mit Standards**
- **Vergleich mit unbehandelter Kontrolle**



# Skalen



- **Herbizide:**  
Anzahl Pfl./m<sup>2</sup>  
Herbizide Wirkung (% , geschätzt)



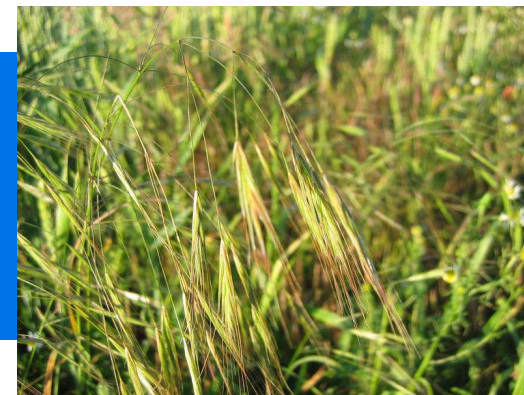
- **Fungizide:**  
% Befall (meist geschätzt, digitale Bildanalyse)  
Bonitur auf Ordinalskala [z.B. 1-6]



- **Insekten:**  
Zählung der Individuenzahl  
Befallsklassen [z.B. 0-10, 11-100, >100]



# Zählraten



## Dichte von Tauber Trespe (Pfl./m<sup>2</sup>) in Abhängigkeit von Herbizidmaßnahme

| Variante                | Block 1     | Block 2     | Block 3    | Block 4     | Mittel      |
|-------------------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| <b>VG 1 = Kontrolle</b> | <b>16.0</b> | <b>16.0</b> | <b>4.8</b> | <b>11.2</b> | <b>12.0</b> |
| <b>VG 2</b>             | <b>4.8</b>  | <b>4.0</b>  | <b>0</b>   | <b>2.4</b>  | <b>2.8</b>  |
| <b>VG 3</b>             | <b>10.4</b> | <b>2.4</b>  | <b>0</b>   | <b>0</b>    | <b>3.2</b>  |
| <b>VG 4</b>             | <b>8.0</b>  | <b>8.8</b>  | <b>7.2</b> | <b>4.0</b>  | <b>7.0</b>  |
| <b>Mittel</b>           | <b>9.8</b>  | <b>7.8</b>  | <b>3.0</b> | <b>4.4</b>  | <b>6.3</b>  |

*In jeder Parzelle Mittelwert aus 5 Zählstellen*

 **Wie ist die Wirkung der Herbizide 2, 3 und 4 zu bewerten?**

# Wirkungsgrad nach Abbott



Wirkungsgrad nach ABBOTT (1925):  $WG_{Ab} = \left( \frac{X_n - Y_n}{X_n} \right) = \left( 1 - \frac{Y_n}{X_n} \right)$

$Y_n$  = Anzahl in Behandlung,

$X_n$  = Anzahl in Kontrolle

| Variante         | Block 1 | Block 2 | Block 3 | Block 4 | Mittel |
|------------------|---------|---------|---------|---------|--------|
| VG 1 = Kontrolle | 16.0    | 16.0    | 4.8     | 11.2    | 12.0   |
| VG 2             | 4.8     | 4.0     | 0       | 2.4     | 2.8    |
| VG 3             | 10.4    | 2.4     | 0       | 0       | 3.2    |
| VG 4             | 8.0     | 8.8     | 7.2     | 4.0     | 7.0    |
| Mittel           | 9.8     | 7.8     | 3.0     | 4.4     | 6.3    |

Relativierung jeweils auf Kontrolle innerhalb des Blocks

| Variante         | Block 1 | Block 2 | Block 3 | Block 4 | Mittel |
|------------------|---------|---------|---------|---------|--------|
| VG 1 = Kontrolle |         |         |         |         |        |
| VG 2             | 70%     | 75%     | 100%    | 79%     | 81%    |
| VG 3             | 35%     | 85%     | 100%    | 100%    | 80%    |
| VG 4             | 50%     | 45%     | -50%    | 64%     | ?      |
| Mittel           | 52%     | 68%     | ?       | 81%     | ?      |

# Wirkungsgrad nach Abbott

| Variante         | Block 1 | Block 2 | Block 3 | Block 4 | Mittel |
|------------------|---------|---------|---------|---------|--------|
| VG 1 = Kontrolle | 16.0    | 16.0    | 4.8     | 11.2    | 12.0   |
| VG 2             | 4.8     | 4.0     | 0       | 2.4     | 2.8    |
| VG 3             | 10.4    | 2.4     | 0       | 0       | 3.2    |
| VG 4             | 8.0     | 8.8     | 7.2     | 4.0     | 7.0    |
| Mittel           | 9.8     | 7.8     | 3.0     | 4.4     | 6.3    |

**Relativierung  
jeweils auf  
Kontrolle innerhalb  
des Blocks**

| Variante         | Block 1 | Block 2 | Block 3 | Block 4 | Mittel |
|------------------|---------|---------|---------|---------|--------|
| VG 1 = Kontrolle |         |         |         |         |        |
| VG 2             | 70%     | 75%     | 100%    | 79%     | 81%    |
| VG 3             | 35%     | 85%     | 100%    | 100%    | 80%    |
| VG 4             | 50%     | 45%     | -50%    | 64%     | ?      |
| Mittel           | 52%     | 68%     | ?       | 81%     | ?      |

**Relativierung auf  
Versuchsmittel der  
Kontrolle**

| Variante         | Block 1 | Block 2 | Block 3 | Block 4 | Mittel |
|------------------|---------|---------|---------|---------|--------|
| VG 1 = Kontrolle |         |         |         |         |        |
| VG 2             | 60%     | 67%     | 100%    | 80%     | 77%    |
| VG 3             | 13%     | 80%     | 100%    | 100%    | 73%    |
| VG 4             | 33%     | 27%     | 40%     | 67%     | 42%    |
| Mittel           | 36%     | 58%     | 80%     | 82%     | 64%    |

# Wirkungsgrad nach Abbott



Blockweise oder auf Versuchsmittel relativieren?

Was ist besser?

# Ein extremes Beispiel

*Tab. 7: Insect counts example*

| Treatment | Block_1 | Block_2 | Block_3 | Block_4 | mean        |
|-----------|---------|---------|---------|---------|-------------|
| control   | 5       | 5       | 50      | 50      | <b>27.5</b> |
| A         | 1       | 1       | 10      | 10      | <b>5.5</b>  |
| B         | 1       | 10      | 1       | 10      | <b>5.5</b>  |
| C         | 1       | 1       | 10      | 10      | <b>5.5</b>  |
| D         | 10      | 10      | 1       | 1       | <b>5.5</b>  |
| E         | 10      | 1       | 10      | 1       | <b>5.5</b>  |

**Keine Unterschiede zwischen Behandlungen, hoher Versuchsfehler bzw. heterogener Befall.**

**Wenn 5.5 Insekten von 27.5 überleben, dann erwarte ich WG = 80%.**



# Ein extremes Beispiel

Tab. 7: Insect counts example

| Treatment | Block_1 | Block_2 | Block_3 | Block_4 | mean        |
|-----------|---------|---------|---------|---------|-------------|
| control   | 5       | 5       | 50      | 50      | <b>27.5</b> |
| A         | 1       | 1       | 10      | 10      | <b>5.5</b>  |
| B         | 1       | 10      | 1       | 10      | <b>5.5</b>  |
| C         | 1       | 1       | 10      | 10      | <b>5.5</b>  |
| D         | 10      | 10      | 1       | 1       | <b>5.5</b>  |
| E         | 10      | 1       | 10      | 1       | <b>5.5</b>  |

Tab. 9: relative to control in same block

| Treatment | Block_1 | Block_2 | Block_3 | Block_4 | mean       |
|-----------|---------|---------|---------|---------|------------|
| control   | 0%      | 0%      | 0%      | 0%      | <b>0%</b>  |
| A         | 80%     | 80%     | 80%     | 80%     | <b>80%</b> |
| B         | 80%     | -100%   | 98%     | 80%     | <b>40%</b> |
| C         | 80%     | 80%     | 80%     | 80%     | <b>80%</b> |
| D         | -100%   | -100%   | 98%     | 98%     | <b>-1%</b> |
| E         | -100%   | 80%     | 80%     | 98%     | <b>40%</b> |

Tab. 8: relative to global mean of control

| Treatment | Block_1 | Block_2 | Block_3 | Block_4 | mean       |
|-----------|---------|---------|---------|---------|------------|
| control   | 82%     | 82%     | -82%    | -82%    | <b>0%</b>  |
| A         | 96%     | 96%     | 64%     | 64%     | <b>80%</b> |
| B         | 96%     | 64%     | 96%     | 64%     | <b>80%</b> |
| C         | 96%     | 96%     | 64%     | 64%     | <b>80%</b> |
| D         | 64%     | 64%     | 96%     | 96%     | <b>80%</b> |
| E         | 64%     | 96%     | 64%     | 96%     | <b>80%</b> |

Tab. 10: relative to control in same block, setting  $x < 0$  to 0

| Treatment | Block_1 | Block_2 | Block_3 | Block_4 | mean       |
|-----------|---------|---------|---------|---------|------------|
| control   | 0%      | 0%      | 0%      | 0%      | <b>0%</b>  |
| A         | 80%     | 80%     | 80%     | 80%     | <b>80%</b> |
| B         | 80%     | 0%      | 98%     | 80%     | <b>65%</b> |
| C         | 80%     | 80%     | 80%     | 80%     | <b>80%</b> |
| D         | 0%      | 0%      | 98%     | 98%     | <b>49%</b> |
| E         | 0%      | 80%     | 80%     | 98%     | <b>65%</b> |

➔ Je größer die Fehlervarianz im Vergleich zur Blockvarianz ausfällt, desto eher sollte auf das Versuchsmittel der Kontrolle bezogen werden.

# Blick in die Originalliteratur



**ABBOTT, W.S. (1925): A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of economic Entomology, 18, 265-267.**

$$\text{percent\_control} = \left( \frac{X - Y}{X} \right)$$

***Let X = the per cent living in the check***

***Let Y = the per cent living in the treated plate.***

**„Percent living“ werden aus Vorbefall und Befall nach Applikation berechnet.**

# Wirkungsgrad nach Henderson & Tilton

**HENDERSON, Ch. F. & E. W. TILTON (1955): Tests with acaricides against the brown wheat mite. Journal of economic Entomology, 48, 157-161.**

$$WG_{HT} = \left( 1 - \frac{T_a}{T_b} \cdot \frac{C_b}{C_a} \right)$$

***T<sub>b</sub> = Befall in behandelter Parzelle vor Applikation („treated – before“)***

***T<sub>a</sub> = Befall in behandelter Parzelle nach Applikation („treated – after“)***

***C<sub>b</sub> = Befall in Kontrolle vor Applikation („control – before“)***

***C<sub>a</sub> = Befall in Kontrolle nach Applikation („control – after“)***

**➔ Gleicher Ansatz wie “Abbott – original”**

# Wirkungsgrad nach Henderson & Tilton

## Beispiel

$$WG_{HT} = \left( 1 - \frac{T_a}{T_b} \cdot \frac{C_b}{C_a} \right)$$

$$T_b = 300, T_a = 30, \\ C_b = 500, C_a = 1000$$

$T_b$  = treated – before  
 $T_a$  = treated – after  
 $C_b$  = control – before  
 $C_a$  = control – after

$$WG_{HT} = \left( 1 - \frac{30}{300} \cdot \frac{500}{1000} \right) = (1 - 0.1 \times 0.5) = 95\%$$

„Räumlicher“  
und zeitlicher Bezug

$$WG_{Ab} = \left( 1 - \frac{T_a}{C_a} \right) = \left( 1 - \frac{30}{1000} \right) = 97\%$$

Nur „räumlicher“  
Bezug

$$\text{Modifikation: } WG_{Ab^*} = \left( 1 - \frac{T_a}{T_b} \right) = \left( 1 - \frac{30}{300} \right) = 90\%$$

Nur zeitlicher Bezug

# Abbott oder Henderson-Tilton?

|                                    | Homogene Population | Heterogene Population (Vorbefall differenziert) |
|------------------------------------|---------------------|---|
| Befall oder lebende Individuen     | Abbott              | Henderson-Tilton                                |
| Sterblichkeit oder tote Individuen | Schneider-Orelli    | Sun-Shepard                                     |

- **Henderson-Tilton erlaubt zusätzlich Unterschiede in der Populationsdynamik zu bewerten.**
- **Frage der Bezugsbasis stellt sich genauso wie bei Abbott**



# Fragen

## (... und Antworten ...)

### **Relativierung blockweise oder auf Versuchsmittel der Kontrolle?**

- besser auf Versuchsmittel der Kontrolle beziehen
- was ist der Block bei Zeilen-Spalten-Plänen (z.B. Lat. Rechteck)?

### **Was tun bei negativen Wirkungsgraden?**

- für Mittelwertbildung negativ belassen, da sonst Bias
- für Transformation (z.B. ArcSin, Logit) auf Null setzen ( $0 \leq x \leq 100$ )

### **Signifikanztest mit Wirkungsgraden?**

- Transformation erforderlich, Varianzhomogenität u. Normalverteilung
- Warum nicht Signifikanztest mit Ausgangsdaten machen
- Anzahl UK, Anzahl Schädlinge -> loglineares Modell

# Auswertung Trespe-Daten mit Verallgemeinertem Linearem Modell, Log-Link

$$\log(\mu_{ij}) = \alpha + \beta_j + \tau_i + e$$

**Verteilungsannahme: Poisson**

Tab.: LSMeans für Dichte von Tauber Trespe (GLM mit Log-Link)

| Behandlung | Erwartungswert | Standardfehler | Rücktransformiert<br>[Pfl./m <sup>2</sup> ] | WG_Abbott                  |
|------------|----------------|----------------|---|----------------------------|
| 1          | 2.38           | 0.22           | 10.82                                       |                            |
| 4          | 0.93           | 0.44           | 2.52  | (10.82-2.52) / 10.82 = 77% |
| 5          | 1.06           | 0.41           | 2.89  | (10.82-2.89) / 10.82 = 73% |
| 6          | 1.84           | 0.28           | 6.31  | (10.82-6.31) / 10.82 = 42% |

## WG-Abbott mit Bezug auf Versuchsmittel der Kontrolle

| Variante                | Block 1    | Block 2    | Block 3     | Block 4     | Mittel     |
|-------------------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|
| <b>VG 1 = Kontrolle</b> |            |            |             |             |            |
| <b>VG 2</b>             | <b>60%</b> | <b>67%</b> | <b>100%</b> | <b>80%</b>  | <b>77%</b> |
| <b>VG 3</b>             | <b>13%</b> | <b>80%</b> | <b>100%</b> | <b>100%</b> | <b>73%</b> |
| <b>VG 4</b>             | <b>33%</b> | <b>27%</b> | <b>40%</b>  | <b>67%</b>  | <b>42%</b> |



**Details siehe BÜCHSE & PIEPHO (2006)**

## **Wirkungsgrade nach Abbott und Henderson-Tilton sind beliebt, werfen aber viele Fragen auf**

- Richtlinien (z.B. EPPO) sind nicht klar, wie hier zu verfahren ist.

## **Generalisierte Lineare Modelle erlauben direkten Bezug zu erhobenen Daten**

- Daten-Transformation und Verteilungsannahme sind Teil des Modells
- Ergebnisse können nach entsprechender Rück-Transformation durchaus in gewohnter „Wirkungsgrad-Form“ interpretiert werden.

Siehe auch ONOFRI et al. (2010): Current statistical issues in Weed Research. Weed Research 50, 5-24

- ABBOTT, W.S. (1925): A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of economic Entomology*, 18, 265-267.
- BLEIHOLDER, H. (1997): Methods for the evaluation of plant protection field trials. BASF 1989, 1st reprint 1997.
- BÜCHSE, A. & H.-P. PIEPHO (2006): Messen, Schätzen, Bonitieren: Konsequenzen des Skalenniveaus für die Auswertung und Interpretation von Versuchsdaten. DLG-Versuchstechnikertagung 30.-31.01.2006, Soest, 82-102.
- HENDERSON, Ch. F. & E. W. TILTON (1955): Tests with acaricides against the brown wheat mite. *Journal of economic Entomology*, 48, 157-161.
- ONOFRI, A., CARBONELL, E.A., PIEPHO, H.-P., MORTIMER, A.M. & R.D. COUSENS (2010): Current statistical issues in Weed Research. *Weed Research* 50, 5-24.
- PÜNTENER, W. (1981): *Manual für Feldversuche im Pflanzenschutz*. Ciba-Geigy AG, Basel. 2. Auflage
- SCHNEIDER-ORELLI, O. (1947): *Entomologisches Praktikum*. Sauerländer und Co. Aarau, 2. Auflage.

# SAS-Code Log-lineares Modell



```
data b;
  do Beh=1, 4, 5, 6;
    do Block=1 to 4;
      input y@; output;
    end;
  end;
datalines;
16.016.0 4.8 11.2
4.8 4.0 0.0 2.4
10.42.4 0.0 0.0
8.0 8.8 7.2 4.0
;
run;
proc genmod data = b ;
  ods output lsmeandiffs = diffs;
  class Beh Block;
  model y = Block Beh / dist=poisson scale=pearson link=log type1;
  lsmeans Beh / pdiff cl;
run;
data diffs;
set diffs;
if Beh = 1;
  WG = ( 1-exp(-estimate) )*100;
  Lower_WG = ( 1-exp(-LowerCL) )*100;
  Upper_WG = ( 1-exp(-UpperCL) )*100;
proc print data = diffs;
  var _Beh WG Lower_WG Upper_WG;
run;
```



# **Kumuliertes gemischtes Logit-Modell - ein Modell für Boniturdaten aus dem Pflanzenschutz?**

Dr. Mareike Kohlmann, GVC/S Scientific Computing

- Aktuelle Projekte mit Ordinaldaten in der BASF bei Scientific Computing
- Datenbeispiel aus dem Unternehmensbereich Pflanzenschutz
- Status Quo: Auswertung der aggregierten Daten mit allgemeinen linearen Modellen (GLS)
- Vorschlag: Kumulative gemischte Logit-Modelle (CLMM) mit Anwendung auf BASF-Agrodaten

# Aktuelle Projekte mit Ordinaldaten bei Scientific Computing



- Bewertung von **Schuppenshampoos** in Anwendungsentwicklung
  - Patienten bewerten Effekt auf ordinaler Datenskala
  - Zufällige Effekte durch Heterogenität der Patienten zu Studienbeginn und bzgl. des Behandlungseffekts



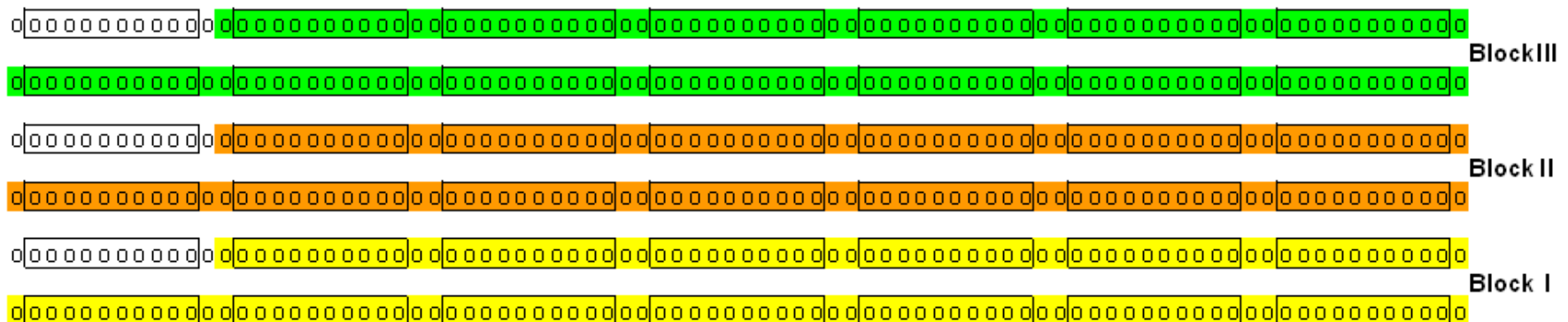
- Bewertung von Spülleistung in Automatic Dishwashing Lab:
  - Laboranten bewerten Spülergebnis auf ordinaler Datenskala
  - Zufälliger Effekt des Bewerterers oder der Spülmaschine möglich

# Agrodaten: Mehltau an Weinreben



## Datendesign:

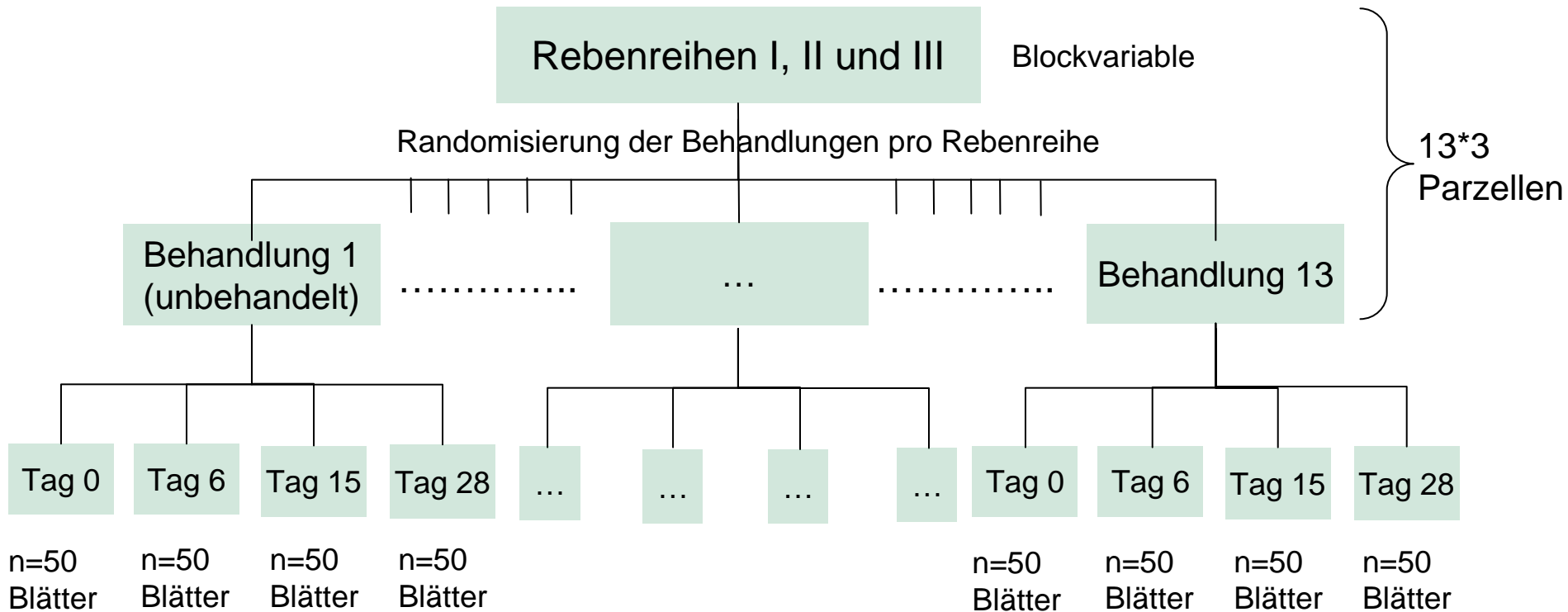
- Randomisierung der 13 Behandlungen innerhalb des Blocks, je 10 Pflanzen pro Behandlung
- Bonitur des Mehltaus von 5 Blätter pro Weinpflanze
- 4malige Bonitur: an Tag 0, 6, 15 und 28 nach letzter Beh.



# Agrodaten: Mehltau an Weinreben



Randomisiertes Blockdesign:

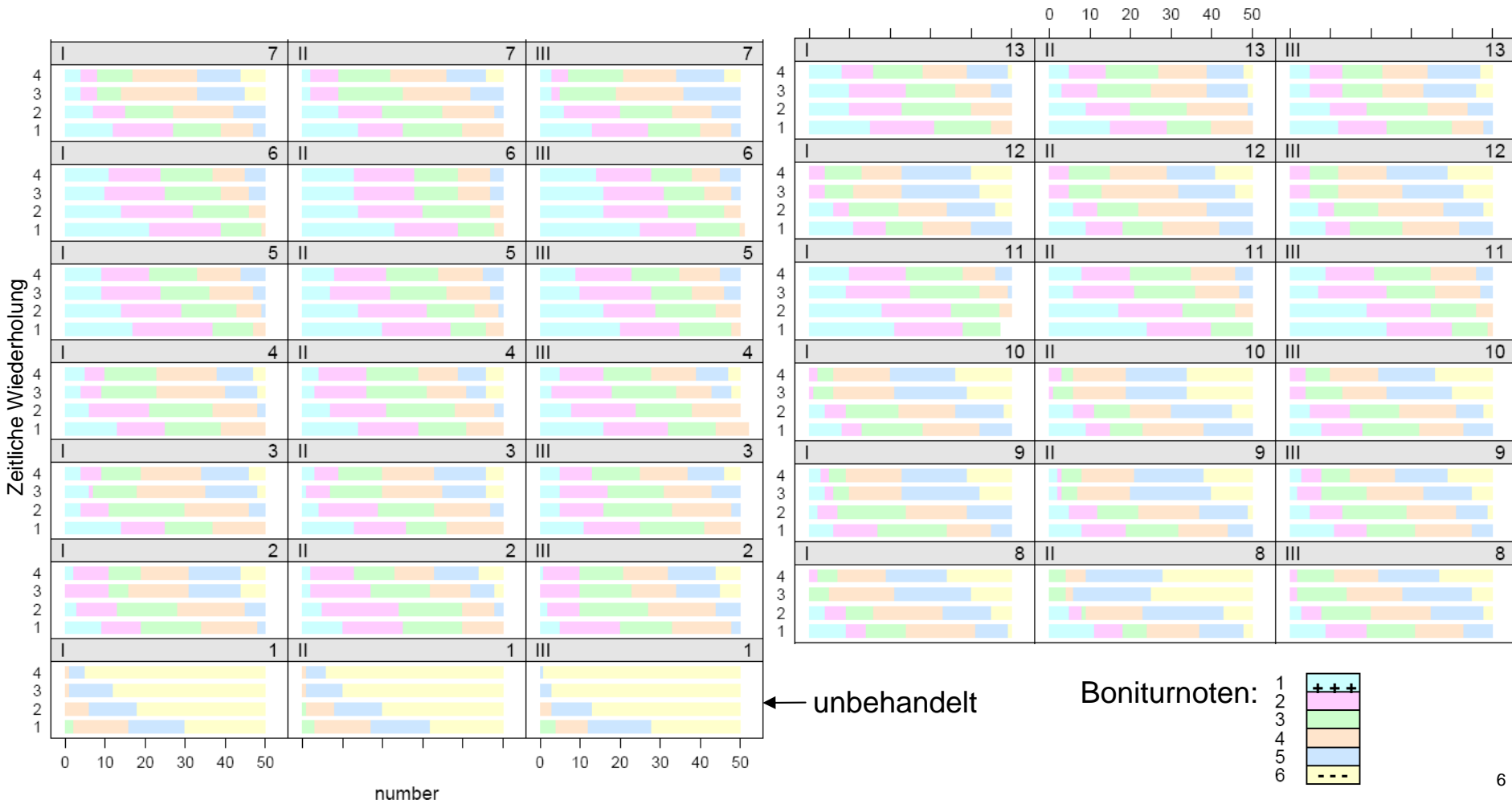




# Agrodaten: Mehltau an Weinreben



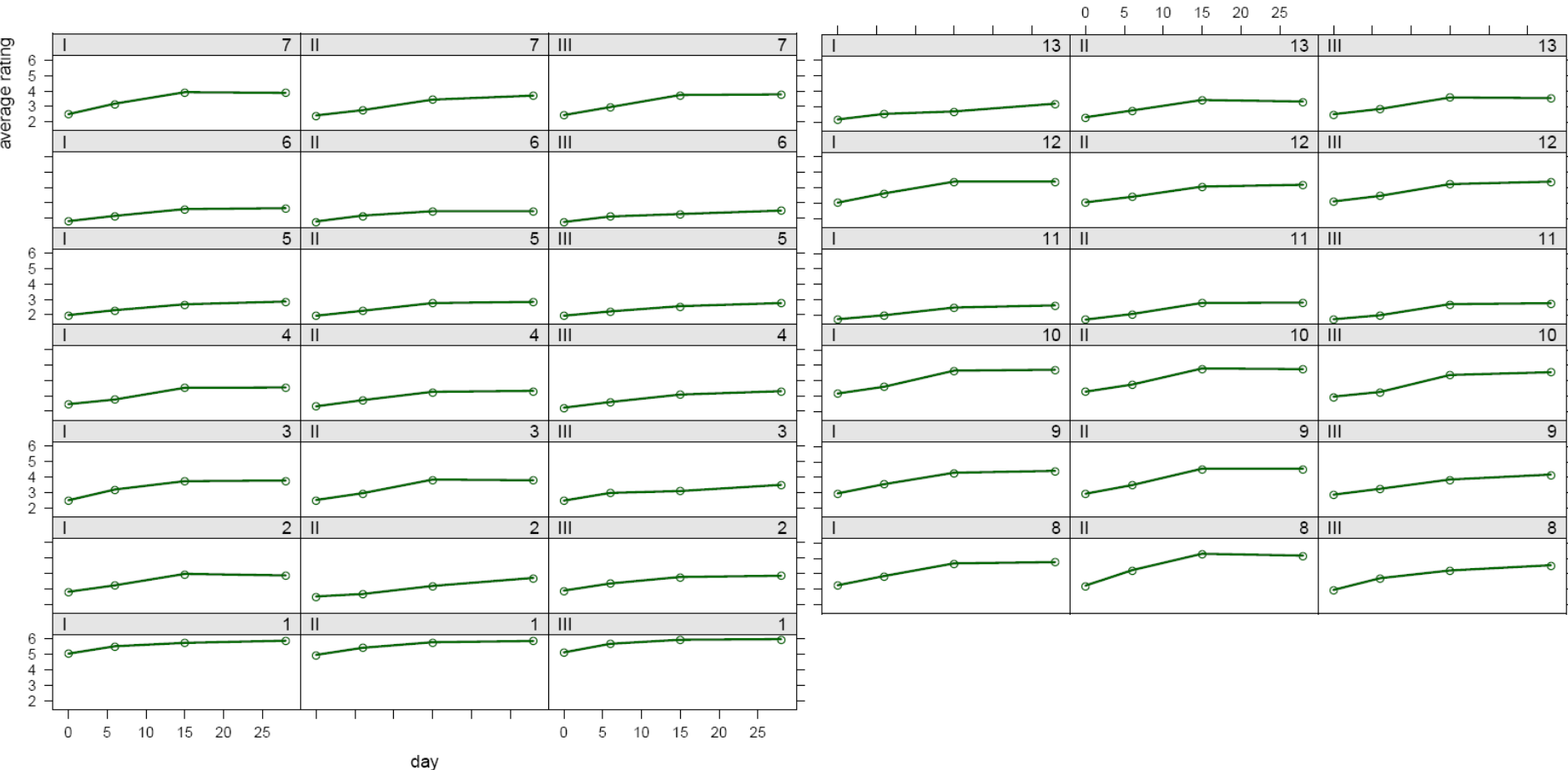
## Boniturdaten:



# Anwendung auf Agrodaten: Profile der mittleren Bonitur



**Neue Zielgröße:** Gewichtetes Mittel aus 50 Bonituren pro Tag und Parzelle



# Anwendung auf Agrodaten: LM für aggregierte Daten



Bestes lineares Modell:

$$rating_w = \beta_0 + \beta_t treat_t + \beta_s dayf_s + \beta_u treat_t : dayf_s + \varepsilon_w$$

$$w:1,..4 \quad t:1,..,12 \quad s:1,2,3 \quad u:1,..,36$$

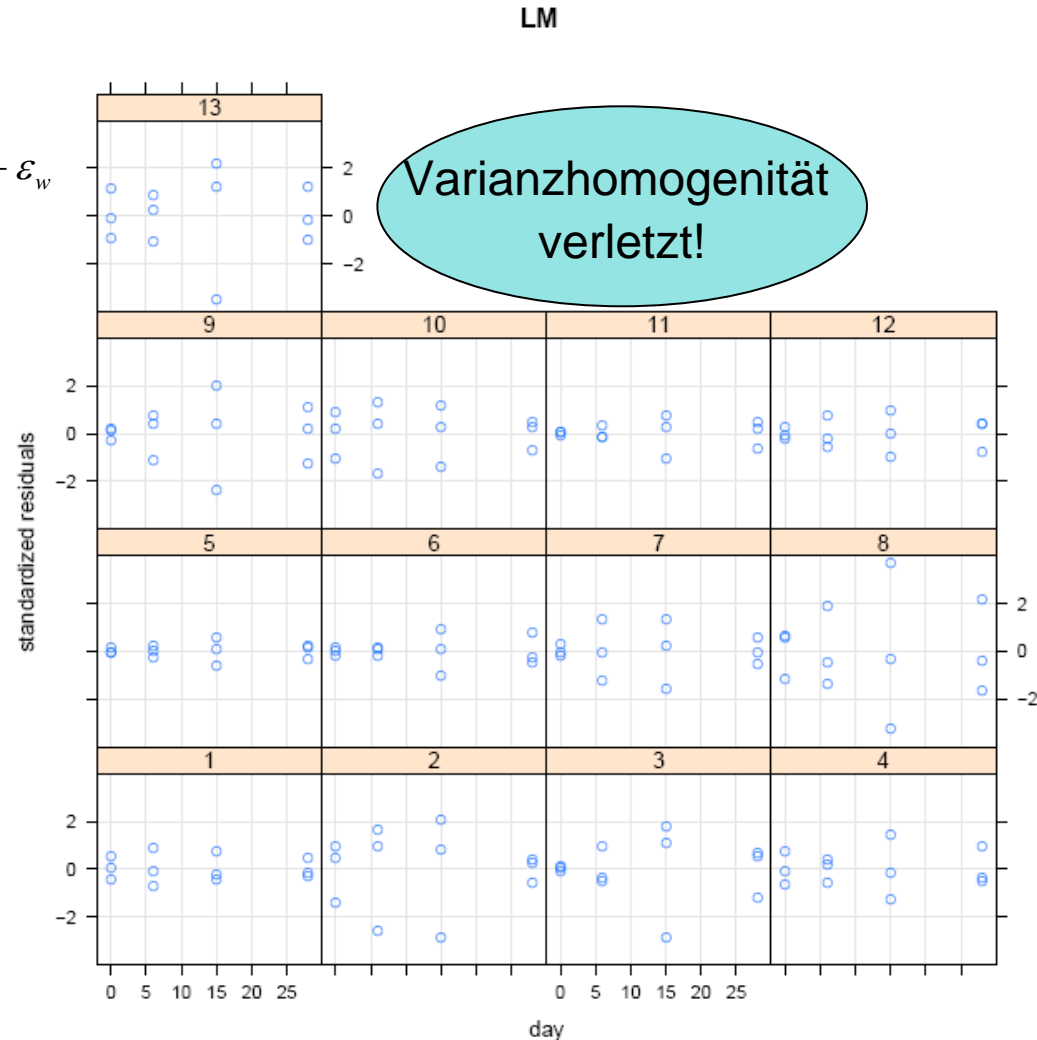
$$\varepsilon \sim N(0, \sigma^2 I)$$

-> Erweiterung zu allgemeinem  
linearem Modell (GLS)

$$\varepsilon \sim N(0, \sigma^2 V)$$

$$V = \text{diag}(v_1^2, \dots, v_4^2)$$

$$\text{Hier: } V = \text{diag}(v_1^2, v_1^2, v_2^2, v_1^2)$$



# Anwendung auf Agrodaten: GLS für aggregierte Daten



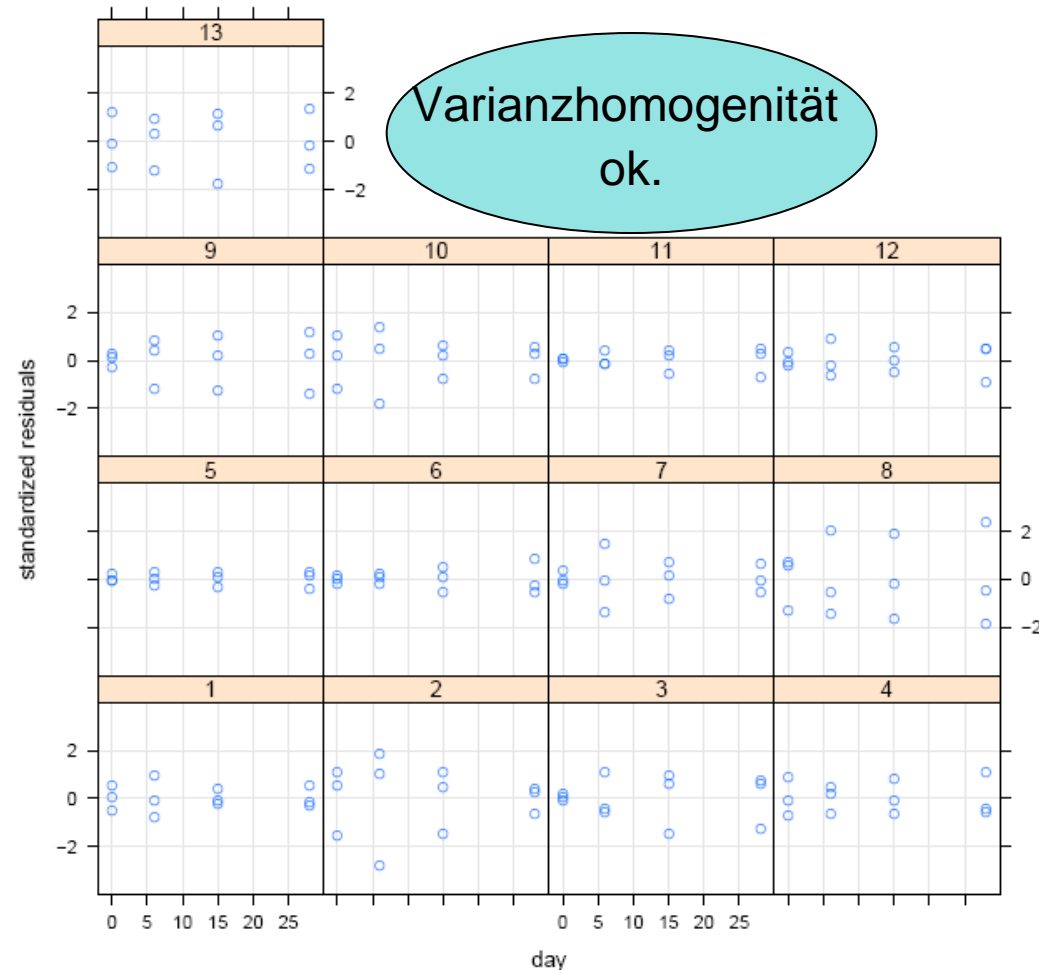
Schätzung der Varianzkomponenten:

v1: 0.15 [0.13;0.17]

v2 (Tag 15): 2.10 [1.52;2.84] \* v1

**Reduktion des BICs** von LM auf GLS  
um mehr als 20!

GLS

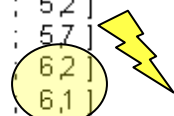
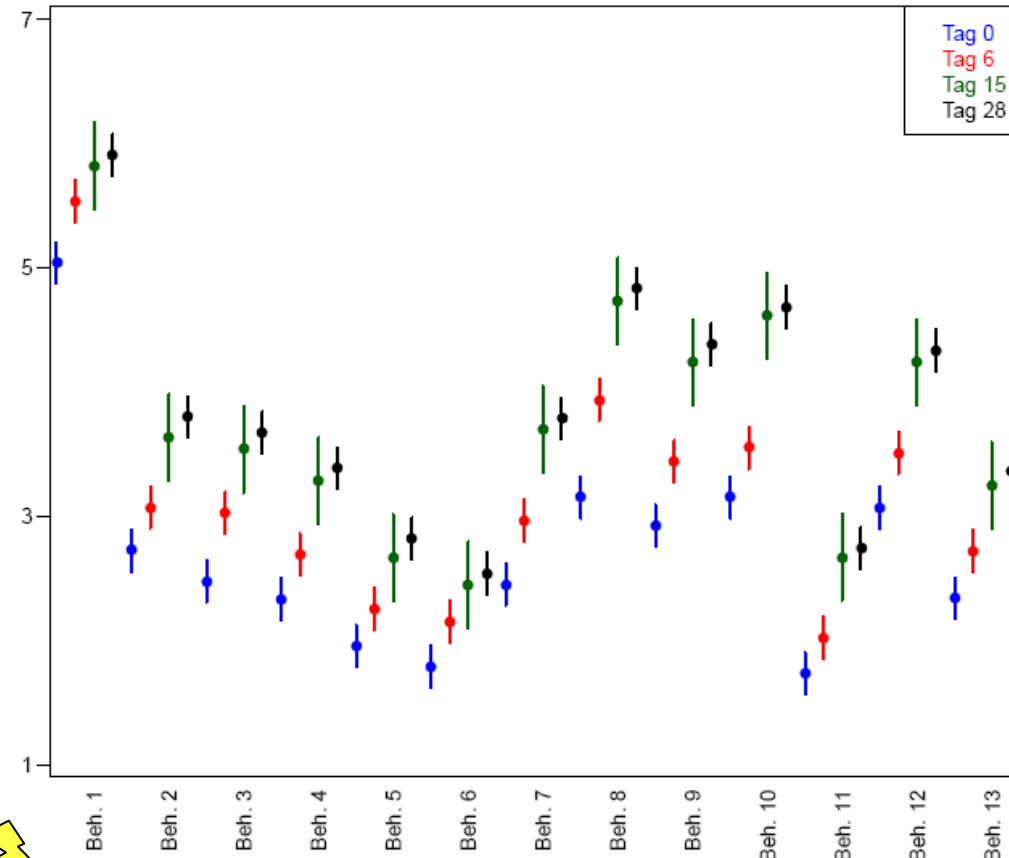


# Anwendung auf Agrodaten: GLS für aggregierte Daten



## Behandlungseffekte

| Beh.      | Effekt | 95% CI        |           |     |               |  |
|-----------|--------|---------------|-----------|-----|---------------|--|
| 6 Tag 0   | 1,8    | [ 1,6 ; 2,0 ] | 2 Tag 0   | 2,7 | [ 2,6 ; 2,9 ] |  |
| 6 Tag 6   | 2,2    | [ 2,0 ; 2,3 ] | 2 Tag 6   | 3,1 | [ 2,9 ; 3,2 ] |  |
| 6 Tag 15  | 2,4    | [ 2,1 ; 2,8 ] | 2 Tag 15  | 3,6 | [ 3,3 ; 4,0 ] |  |
| 6 Tag 28  | 2,5    | [ 2,4 ; 2,7 ] | 2 Tag 28  | 3,8 | [ 3,6 ; 4,0 ] |  |
| 11 Tag 0  | 1,7    | [ 1,6 ; 1,9 ] | 7 Tag 0   | 2,5 | [ 2,3 ; 2,6 ] |  |
| 11 Tag 6  | 2,0    | [ 1,9 ; 2,2 ] | 7 Tag 6   | 3,0 | [ 2,8 ; 3,1 ] |  |
| 11 Tag 15 | 2,7    | [ 2,3 ; 3,0 ] | 7 Tag 15  | 3,7 | [ 3,4 ; 4,0 ] |  |
| 11 Tag 28 | 2,7    | [ 2,6 ; 2,9 ] | 7 Tag 28  | 3,8 | [ 3,6 ; 4,0 ] |  |
| 5 Tag 0   | 2,0    | [ 1,8 ; 2,1 ] | 9 Tag 0   | 2,9 | [ 2,8 ; 3,1 ] |  |
| 5 Tag 6   | 2,3    | [ 2,1 ; 2,4 ] | 9 Tag 6   | 3,4 | [ 3,3 ; 3,6 ] |  |
| 5 Tag 15  | 2,7    | [ 2,3 ; 3,0 ] | 9 Tag 15  | 4,2 | [ 3,9 ; 4,6 ] |  |
| 5 Tag 28  | 2,8    | [ 2,7 ; 3,0 ] | 9 Tag 28  | 4,4 | [ 4,2 ; 4,6 ] |  |
| 4 Tag 0   | 2,3    | [ 2,2 ; 2,5 ] | 12 Tag 0  | 3,1 | [ 2,9 ; 3,2 ] |  |
| 4 Tag 6   | 2,7    | [ 2,5 ; 2,9 ] | 12 Tag 6  | 3,5 | [ 3,3 ; 3,7 ] |  |
| 4 Tag 15  | 3,3    | [ 2,9 ; 3,6 ] | 12 Tag 15 | 4,2 | [ 3,9 ; 4,6 ] |  |
| 4 Tag 28  | 3,4    | [ 3,2 ; 3,6 ] | 12 Tag 28 | 4,3 | [ 4,2 ; 4,5 ] |  |
| 13 Tag 0  | 2,3    | [ 2,2 ; 2,5 ] | 8 Tag 0   | 3,2 | [ 3,0 ; 3,3 ] |  |
| 13 Tag 6  | 2,7    | [ 2,6 ; 2,9 ] | 8 Tag 6   | 3,9 | [ 3,8 ; 4,1 ] |  |
| 13 Tag 15 | 3,2    | [ 2,9 ; 3,6 ] | 8 Tag 15  | 4,7 | [ 4,4 ; 5,1 ] |  |
| 13 Tag 28 | 3,4    | [ 3,2 ; 3,5 ] | 8 Tag 28  | 4,8 | [ 4,7 ; 5,0 ] |  |
| 3 Tag 0   | 2,5    | [ 2,3 ; 2,6 ] | 10 Tag 0  | 3,2 | [ 3,0 ; 3,3 ] |  |
| 3 Tag 6   | 3,0    | [ 2,9 ; 3,2 ] | 10 Tag 6  | 3,6 | [ 3,4 ; 3,7 ] |  |
| 3 Tag 15  | 3,5    | [ 3,2 ; 3,9 ] | 10 Tag 15 | 4,6 | [ 4,3 ; 5,0 ] |  |
| 3 Tag 28  | 3,7    | [ 3,5 ; 3,8 ] | 10 Tag 28 | 4,7 | [ 4,5 ; 4,8 ] |  |
|           |        |               | 1 Tag 0   | 5,0 | [ 4,9 ; 5,2 ] |  |
|           |        |               | 1 Tag 6   | 5,5 | [ 5,4 ; 5,7 ] |  |
|           |        |               | 1 Tag 15  | 5,8 | [ 5,5 ; 6,2 ] |  |
|           |        |               | 1 Tag 28  | 5,9 | [ 5,7 ; 6,1 ] |  |

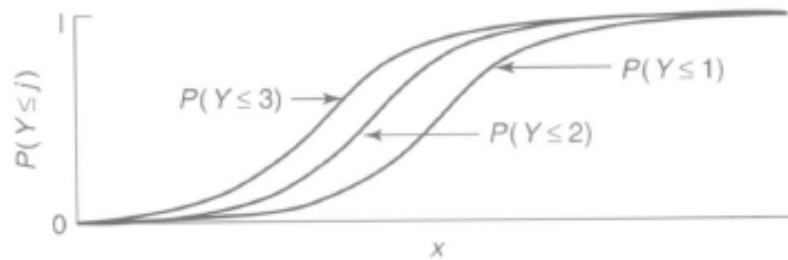




# Kumulative Modelle für Ordinaldaten

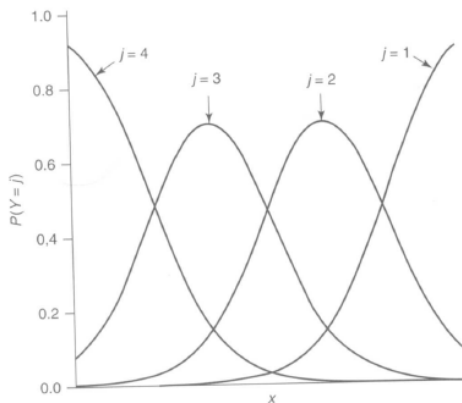


Modellierung von kumulativen Logits:

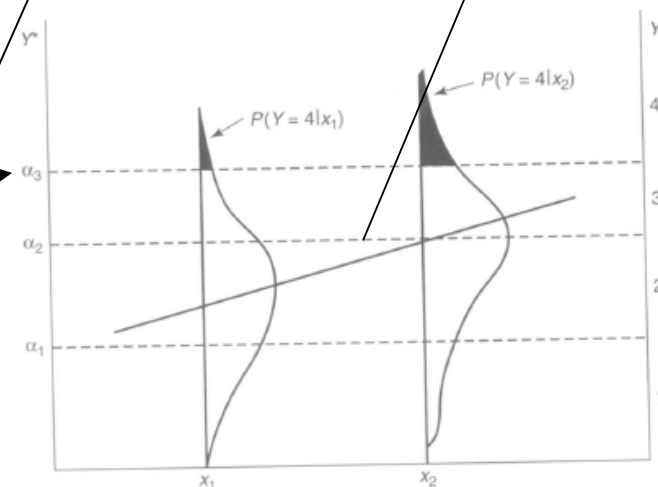


$$\text{logit}[P(Y_i \leq j) | \mathbf{x}_i] = \alpha_j - (\beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \dots)$$

entsprechende Kategorie-spezifische Wahrscheinlichkeiten:



Schwellenwert



↑ bei negativem Effekt von  $x_2$  auf Mittelwert

# Kumulative **gemischte** Modelle für Ordinaldaten (CLMM)

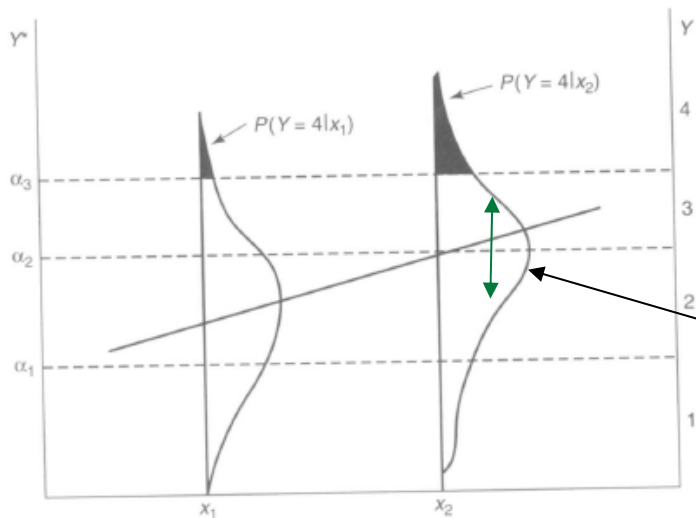


Zufälliger Parzelleneffekt

$$u_i \sim N(0, \sigma_u^2)$$

Es gilt für Beobachtung t in Parzelle i

$$\begin{aligned} & \text{logit}[P(Y_{it} \leq j) | \mathbf{x}_{it}] \\ &= \frac{\alpha_j - (u_i + \beta_1 x_{it1} + \beta_2 x_{it2} + \dots)}{\exp(\gamma x_T)} \end{aligned}$$



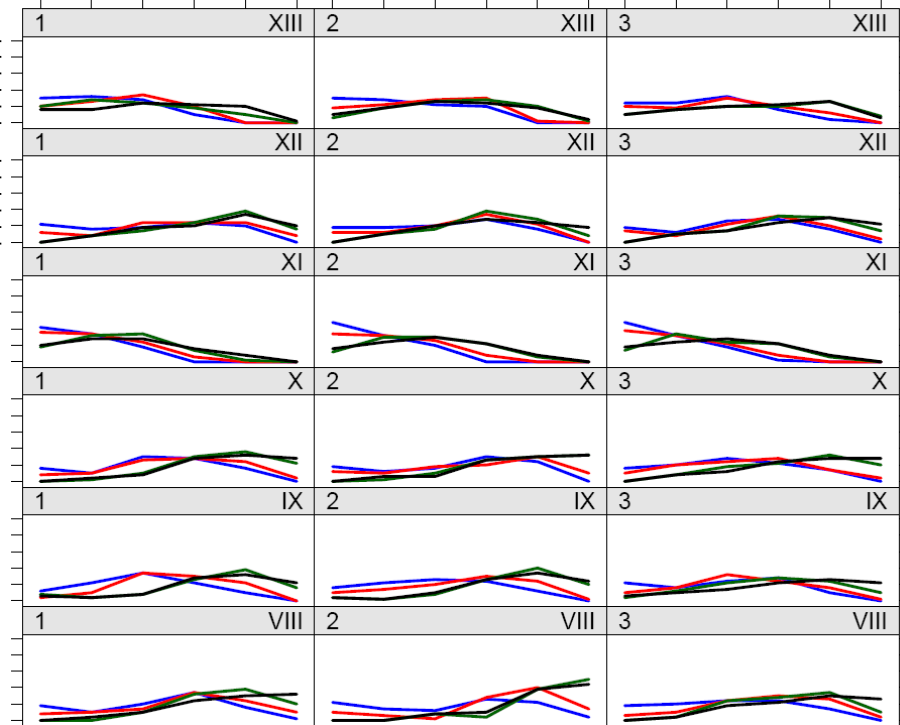
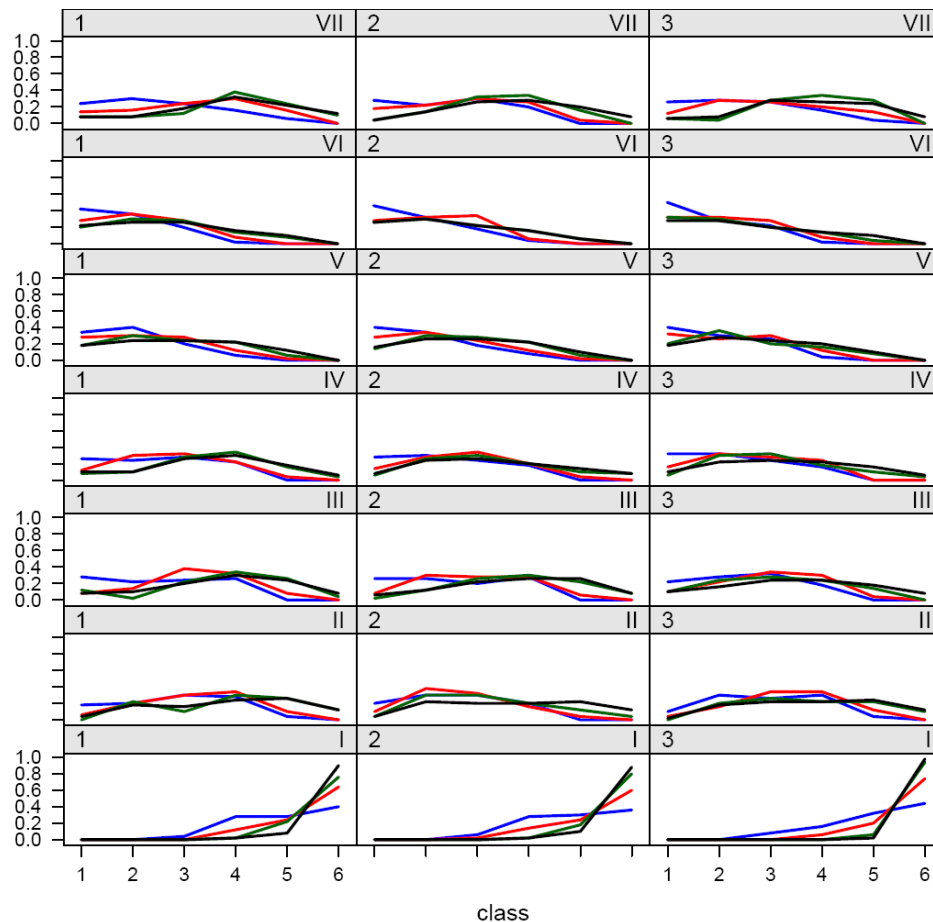
Dispersionseffekt für Kovariable  $x_T$

Hier für  $x_2$

# Anwendung auf Agrodaten: CLMM



Beobachtete Anteile an Tag 0, 6, 15 und 28:



- Geringe Varianz zwischen Blöcken
- Geringe Varianz über die Zeit

# Anwendung auf Agrodaten: CLMM



## Modellbildung

|          | Schwellenwerte |                         | Feste Effekte<br>Beh., Zeitpunkt u. Interaktion | Varianzkomponente<br>Tag 28 | Zufälliger Effekt<br>Parzelle | BIC   |
|----------|----------------|-------------------------|---|-----------------------------|-------------------------------|-------|
|          | flexibel       | symmetrisch äquidistant |   |                             |                               |       |
| Modell 1 | x              |                         | x   |                             |                               | 23532 |
| Modell 2 | x              |                         | x   | x                           |                               | 23503 |
| Modell 3 | x              |                         | x   |                             | x                             | 23498 |
| Modell 4 | x              |                         | x   | x                           | x                             | 23467 |
| Modell 5 |                | x                       | x   | x                           | x                             | 23545 |
| Modell 6 |                |                         | x   | x                           | x                             | 23560 |

## R Code für Modell 4

```
require(ordinal)

clmm(bonitur ~ treatf*dayf,
      random=cellf, data=rawdata,
      weights=number,
      scale=~day28, link="logistic",
      Hess=TRUE, method="nlminb",
      threshold="flexible", nAGQ=10)
```

## Ergebnisse von Modell 4

Schwellenwerte    1|2: -5.2      2|3: -3.8  
                       3|4: -2.6      4|5: -1.2      5|6: 0.6

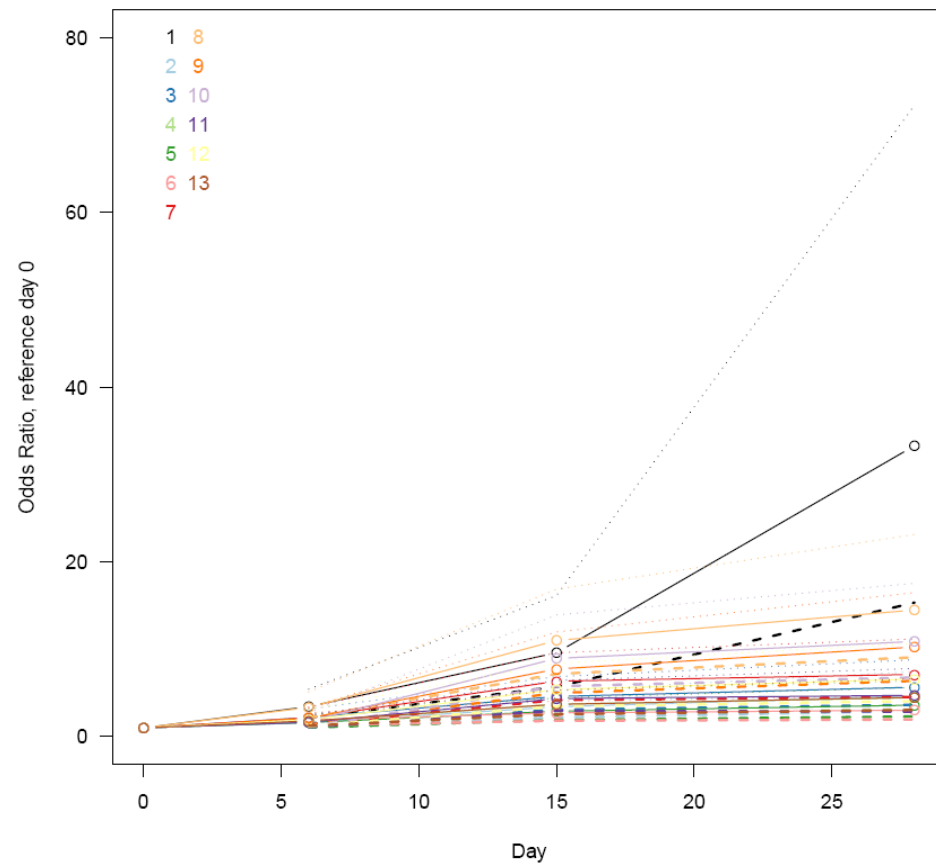
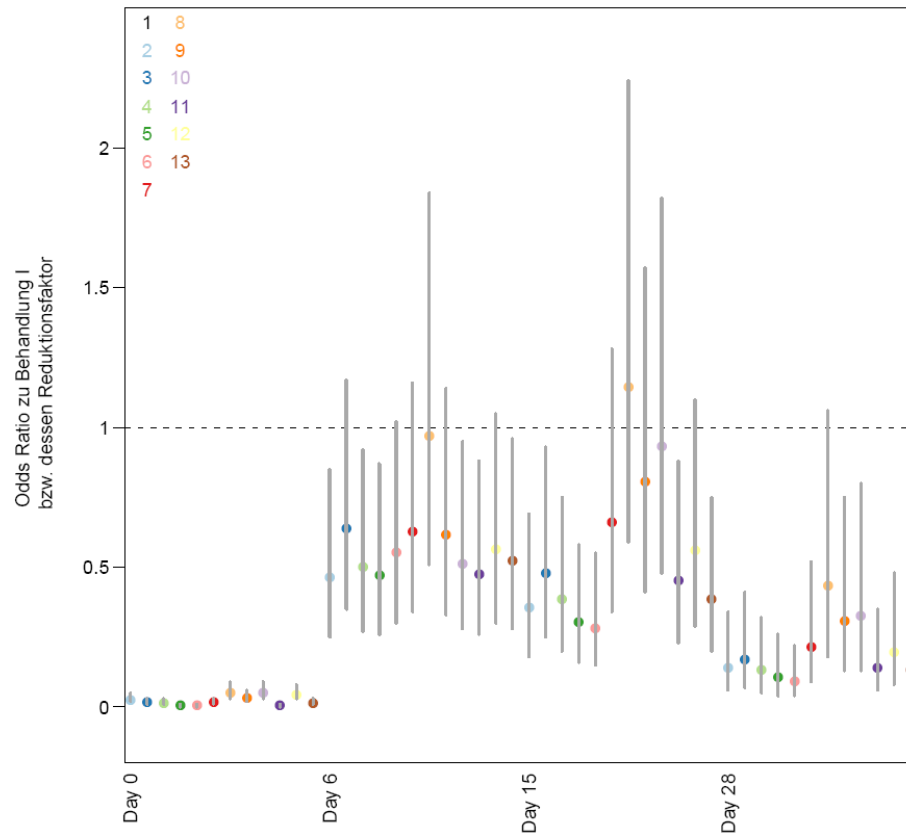
$s_{\text{Parzelle}}$ : 0.21 [0.15;0.29]

Dispersionsparameter für Tag 28:  
    1.17 [1.12;1.24]

# Anwendung auf Agrodaten: CLMM, Modell 4



## Behandlungseffekte





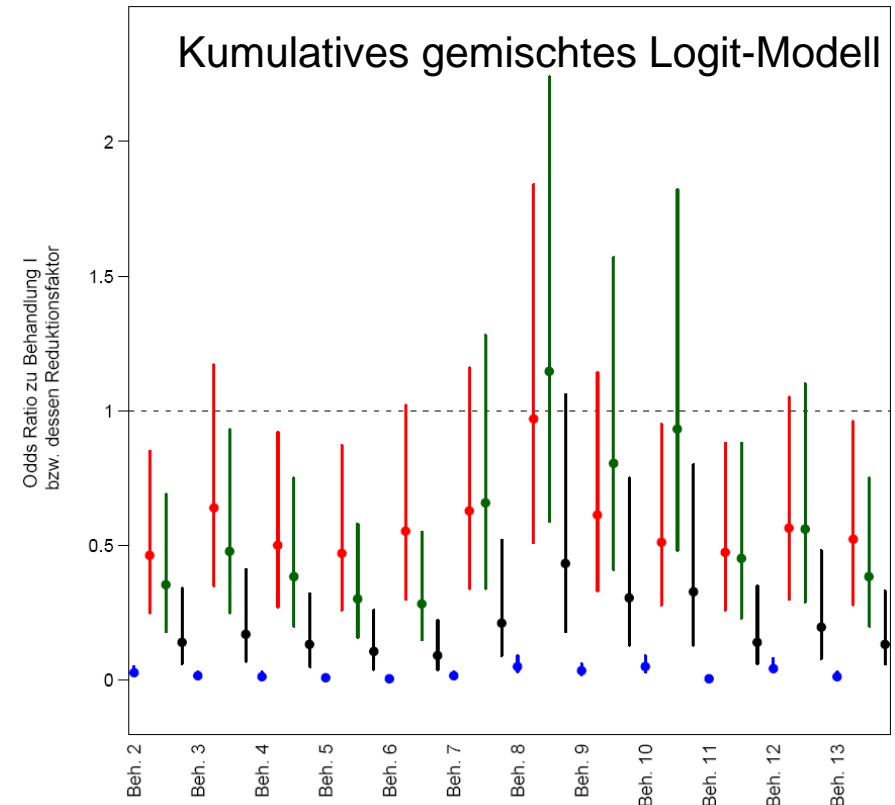
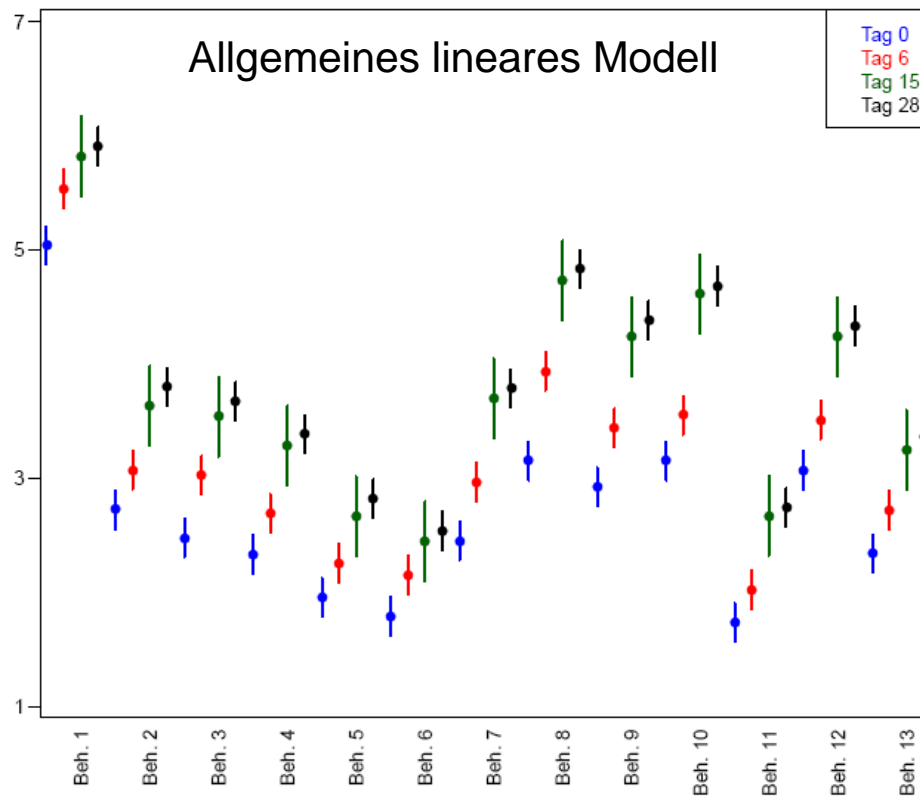
# Anwendung auf Agrodaten: Vegleich der 2 Modellierungsansätze



## ■ Modellstruktur:

- Bei beiden Modellen:  
Effekt durch Behandlung und über die Zeit, mit Interaktion
- Varianzheterogenität bei Tag 15 für GLS, bei Tag 28 für CLMM
- Zufälliger Parzelleneffekt in CLMM

# Anwendung auf Agrodaten: Vegleich der 2 Modellierungsansätze



-> Sehr ähnliches Ranking bzgl. Behandlungseffekten,  
Behandlungsunterschiede bei ordinalem Datenniveau jedoch nicht signifikant

## ■ Übersichtsliteratur

Agresti, A. (2010): Analysis of Ordinal Categorical Data, *Wiley*.

## ■ ANOVA und ordinale Regressionmodelle

Piepho, H.-P. (1997): Schwellenwertmodelle mit festen und zufälligen Effekten für Boniturdaten aus landwirtschaftlichen Versuchen, *Informatik, Biometrie und Epidemiologie in Medizin und Biologie*, 28, 183-195.

Piepho, H.-P., Kalka, E. (2003): Threshold models with fixed and random effects for ordered categorical data, *Food Quality and Preference* 14, 343-357.

## ■ Weiterführend: Bayes-Schätzung mit Agro-Daten

Lee, A. C.-L. (2009): Random Effects Models for Ordinal Data, Dissertation, verfügbar unter <https://researchspace.auckland.ac.nz/bitstream/handle/2292/4544/02whole.pdf?sequence=4>

- 1) Erfahrungen des Publikums mit kumulativem gemischtem Logit-Modell:
  - Modellierung
  - Im Vergleich zu Analysen mit aggregierten Daten
  
- 2) Blockeffekt trotz Nichtsignifikanz im Modell belassen?

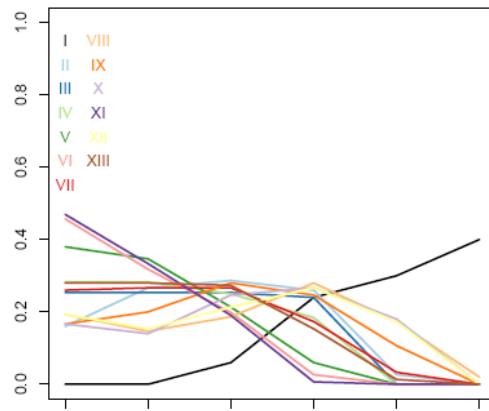
- Beobachtete kumulierte Logits
- Exploration: Lineares Modell pro Parzelle für aggregierte Daten
- CLMM: Tabelle mit Behandlungseffekte
- CLMM: BLUPs des zufälligen Parzellen-Effekts
- Offene Modellierungsaspekte für CLMMs



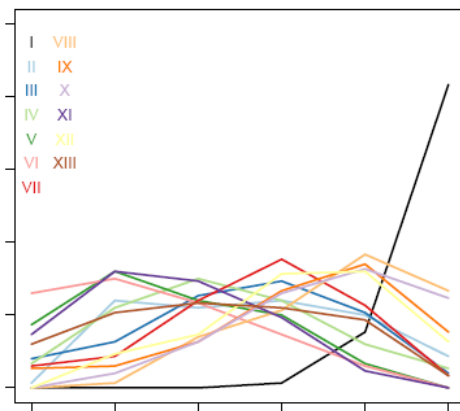
# Anwendung auf Agrodaten: Beobachtete kumulierte Logits



Day 0

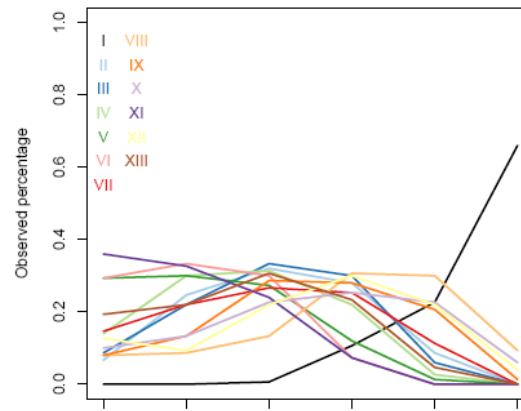


Day 15

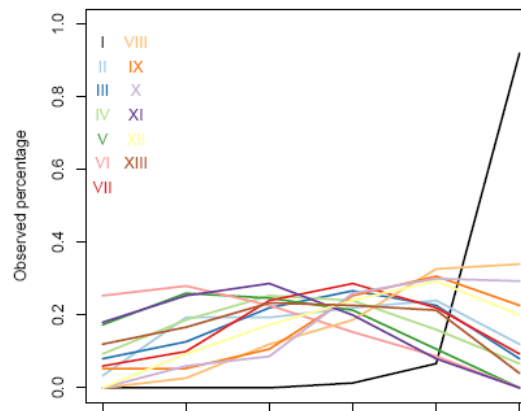


Class

Day 6



Day 28



Class

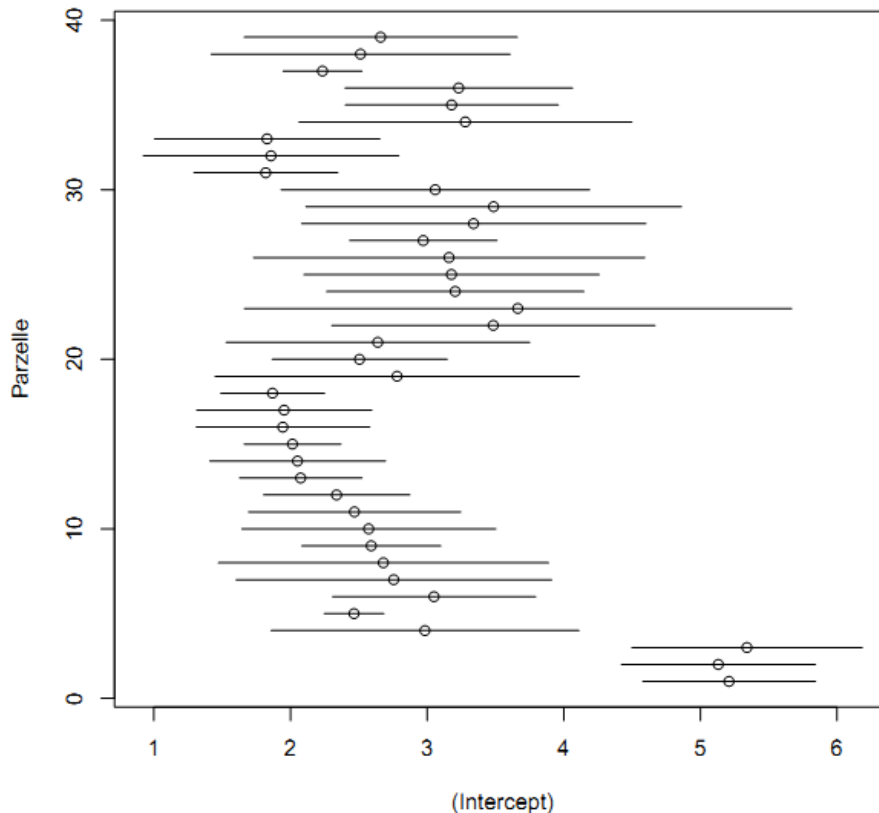
- Klasse 1 = Befallsfrei
- Klasse 2 = < 5% Befall
- Klasse 3 = 5-10% Befall
- Klasse 4 = 11 - 15% Befall
- Klasse 5 = 26-50% Befall
- Klasse 6 = > 50% Befall

# Anwendung auf Agrodaten: L(M)M für aggregierte Daten



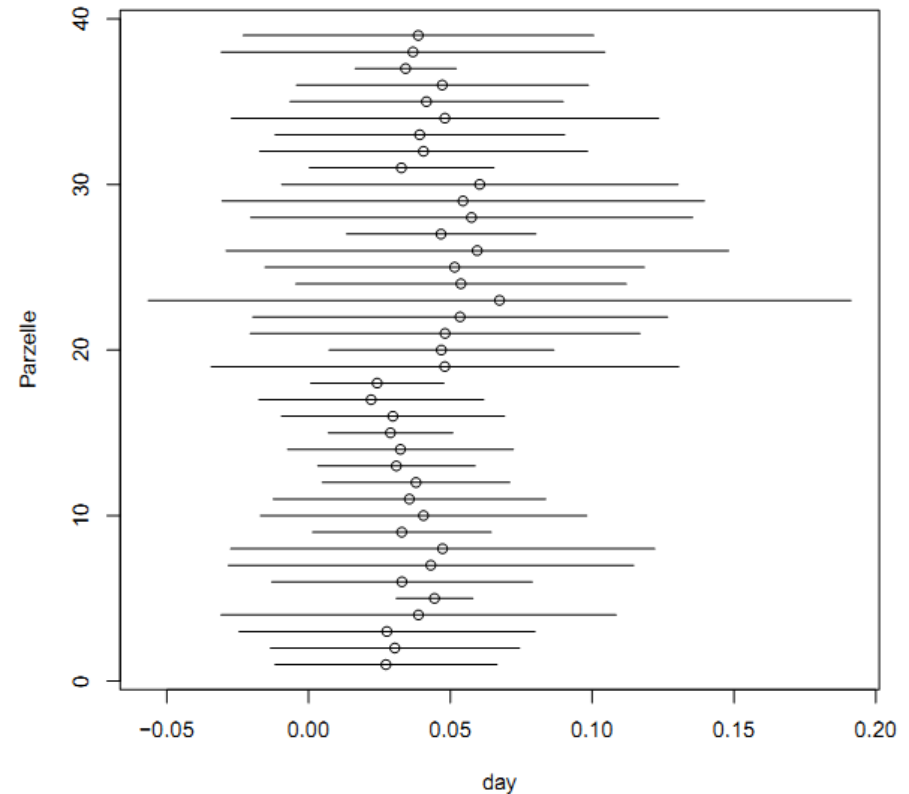
## Exploration: Lineares Modell pro Parzelle

95% confidence intervals



-> Variabilität zu Studienbeginn  
durch Behandlung,

95% confidence intervals



jedoch nicht über die Zeit

# Anwendung auf Agrodaten: CLMM, Modell 4



## Behandlungseffekte

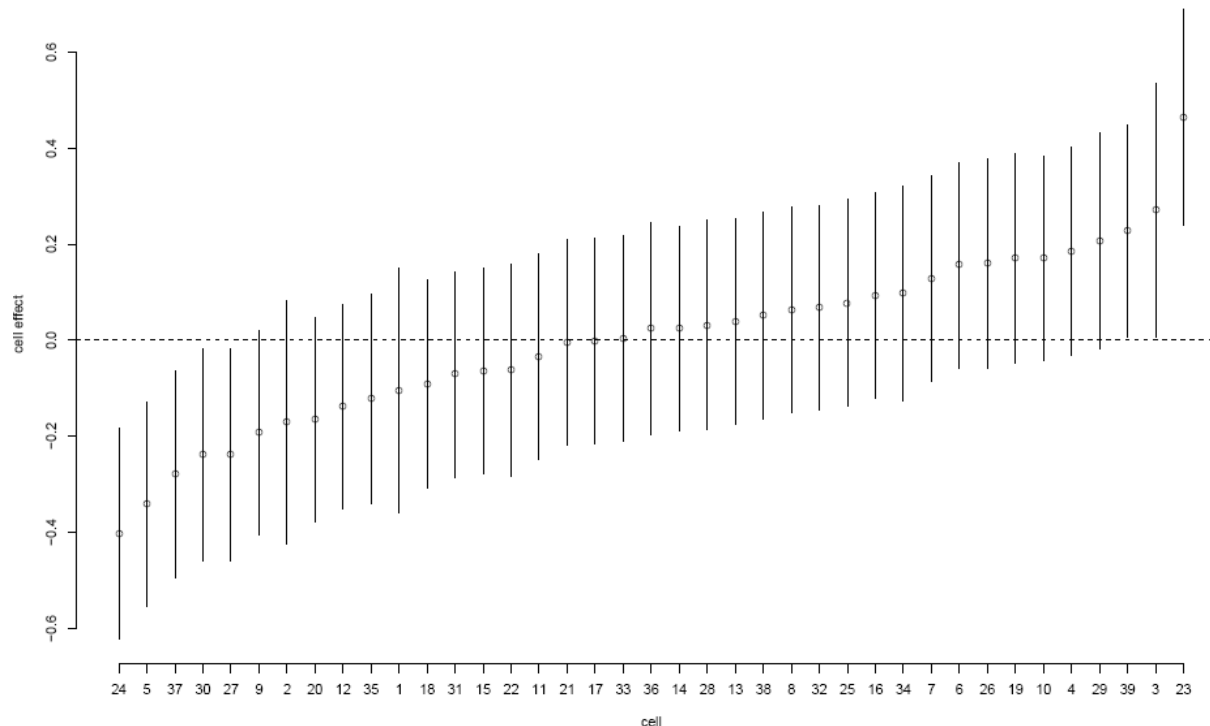
| Behandlung | Effekt | lowerCI | upperCI | Effekt2 | lowerCI | upperCI |
|------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 Tag 0    | 1,00   |         |         | 1,00    |         |         |
| 2 Tag 0    | 0,03   | 0,02    | 0,05    | 1,00    |         |         |
| 3 Tag 0    | 0,02   | 0,01    | 0,03    | 1,00    |         |         |
| 4 Tag 0    | 0,02   | 0,01    | 0,03    | 1,00    |         |         |
| 5 Tag 0    | 0,01   | 0       | 0,01    | 1,00    |         |         |
| 6 Tag 0    | 0,01   | 0       | 0,01    | 1,00    |         |         |
| 7 Tag 0    | 0,02   | 0,01    | 0,03    | 1,00    |         |         |
| 8 Tag 0    | 0,05   | 0,03    | 0,09    | 1,00    |         |         |
| 9 Tag 0    | 0,04   | 0,02    | 0,06    | 1,00    |         |         |
| 10 Tag 0   | 0,05   | 0,03    | 0,09    | 1,00    |         |         |
| 11 Tag 0   | 0,01   | 0       | 0,01    | 1,00    |         |         |
| 12 Tag 0   | 0,05   | 0,03    | 0,08    | 1,00    |         |         |
| 13 Tag 0   | 0,02   | 0,01    | 0,03    | 1,00    |         |         |
| 1 Tag 6    | 3,43   | 2,17    | 5,43    | 3,43    | 2,17    | 5,43    |
| 2 Tag 6    | 0,47   | 0,25    | 0,85    | 1,6     | 1,06    | 2,4     |
| 3 Tag 6    | 0,64   | 0,35    | 1,17    | 2,19    | 1,52    | 3,18    |
| 4 Tag 6    | 0,50   | 0,27    | 0,92    | 1,72    | 1,22    | 2,44    |
| 5 Tag 6    | 0,47   | 0,26    | 0,87    | 1,62    | 1,05    | 2,5     |
| 6 Tag 6    | 0,55   | 0,3     | 1,02    | 1,9     | 1,31    | 2,75    |
| 7 Tag 6    | 0,63   | 0,34    | 1,16    | 2,16    | 1,41    | 3,33    |
| 8 Tag 6    | 0,97   | 0,51    | 1,84    | 3,34    | 2,18    | 5,12    |
| 9 Tag 6    | 0,62   | 0,33    | 1,14    | 2,11    | 1,34    | 3,33    |
| 10 Tag 6   | 0,51   | 0,28    | 0,95    | 1,76    | 1,12    | 2,77    |
| 11 Tag 6   | 0,48   | 0,26    | 0,88    | 1,64    | 1,1     | 2,43    |
| 12 Tag 6   | 0,56   | 0,3     | 1,05    | 1,94    | 1,2     | 3,13    |
| 13 Tag 6   | 0,52   | 0,28    | 0,96    | 1,8     | 1,24    | 2,61    |
| 1 Tag 15   | 9,59   | 5,7     | 16,15   | 9,59    | 5,7     | 16,15   |
| 2 Tag 15   | 0,36   | 0,18    | 0,69    | 3,41    | 2,21    | 5,27    |
| 3 Tag 15   | 0,48   | 0,25    | 0,93    | 4,59    | 3,07    | 6,86    |
| 4 Tag 15   | 0,39   | 0,2     | 0,75    | 3,71    | 2,6     | 5,3     |
| 5 Tag 15   | 0,30   | 0,16    | 0,58    | 2,9     | 1,9     | 4,42    |
| 6 Tag 15   | 0,28   | 0,15    | 0,55    | 2,72    | 1,82    | 4,07    |
| 7 Tag 15   | 0,66   | 0,34    | 1,28    | 6,34    | 4,19    | 9,59    |
| 8 Tag 15   | 1,15   | 0,59    | 2,24    | 11      | 7,17    | 16,88   |
| 9 Tag 15   | 0,81   | 0,41    | 1,57    | 7,73    | 4,99    | 11,97   |
| 10 Tag 15  | 0,93   | 0,48    | 1,82    | 8,95    | 5,76    | 13,82   |
| 11 Tag 15  | 0,45   | 0,23    | 0,88    | 4,35    | 2,95    | 6,42    |
| 12 Tag 15  | 0,56   | 0,29    | 1,1     | 5,38    | 3,45    | 8,39    |
| 13 Tag 15  | 0,39   | 0,2     | 0,75    | 3,69    | 2,56    | 5,33    |
| 1 Tag 28   | 33,29  | 15,34   | 72,27   | 33,29   | 15,34   | 72,27   |
| 2 Tag 28   | 0,14   | 0,06    | 0,34    | 4,66    | 2,92    | 7,45    |
| 3 Tag 28   | 0,17   | 0,07    | 0,41    | 5,65    | 3,63    | 8,78    |
| 4 Tag 28   | 0,13   | 0,05    | 0,32    | 4,44    | 3,1     | 6,36    |
| 5 Tag 28   | 0,11   | 0,04    | 0,26    | 3,6     | 2,31    | 5,62    |
| 6 Tag 28   | 0,09   | 0,04    | 0,22    | 3,02    | 1,99    | 4,67    |
| 7 Tag 28   | 0,21   | 0,09    | 0,52    | 7,12    | 4,54    | 11,17   |
| 8 Tag 28   | 0,44   | 0,18    | 1,06    | 14,49   | 9,08    | 23,13   |
| 9 Tag 28   | 0,31   | 0,13    | 0,75    | 10,26   | 6,38    | 16,48   |
| 10 Tag 28  | 0,33   | 0,13    | 0,8     | 10,89   | 6,76    | 17,54   |
| 11 Tag 28  | 0,14   | 0,06    | 0,35    | 4,72    | 2,86    | 7,79    |
| 12 Tag 28  | 0,20   | 0,08    | 0,48    | 6,58    | 4,06    | 10,65   |
| 13 Tag 28  | 0,14   | 0,06    | 0,33    | 4,49    | 3,05    | 6,61    |

# Anwendung auf Agrodaten: CLMM, Modell 4



BLUPs des zufälligen Effekts:

- 39 Parzellen mit  $N(0, \sigma^2)$  mit  $\hat{\sigma} = 0.21$  [0.15;0.29],  
impliziert eine Intra-Parzellenkorrelation von 0.01



# Offene Modellierungsaspekte bei CLMM

- Weitere Modellerweiterungen möglich
  - andere Verteilungsannahmen für kumulative Logits  
(z.B. extreme minimal oder maximum value)
  - keine Parametrisierung über Schwellenwertmodell  
(z.B. adjacent categories, continuation-ratio Logits)
  - komplexere Struktur der zufälligen Effekte
  - multivariate Zielgröße



# **Befallserhebungen auf Praxisschlägen**

–

## **Auswertung unter Einbezug von Geo- und Sensordaten im Projekt iGreen**

# Inhalt

---

**Hintergrund**

**ZEPP**

**iGreen**

„Feldversuche“ in iGreen

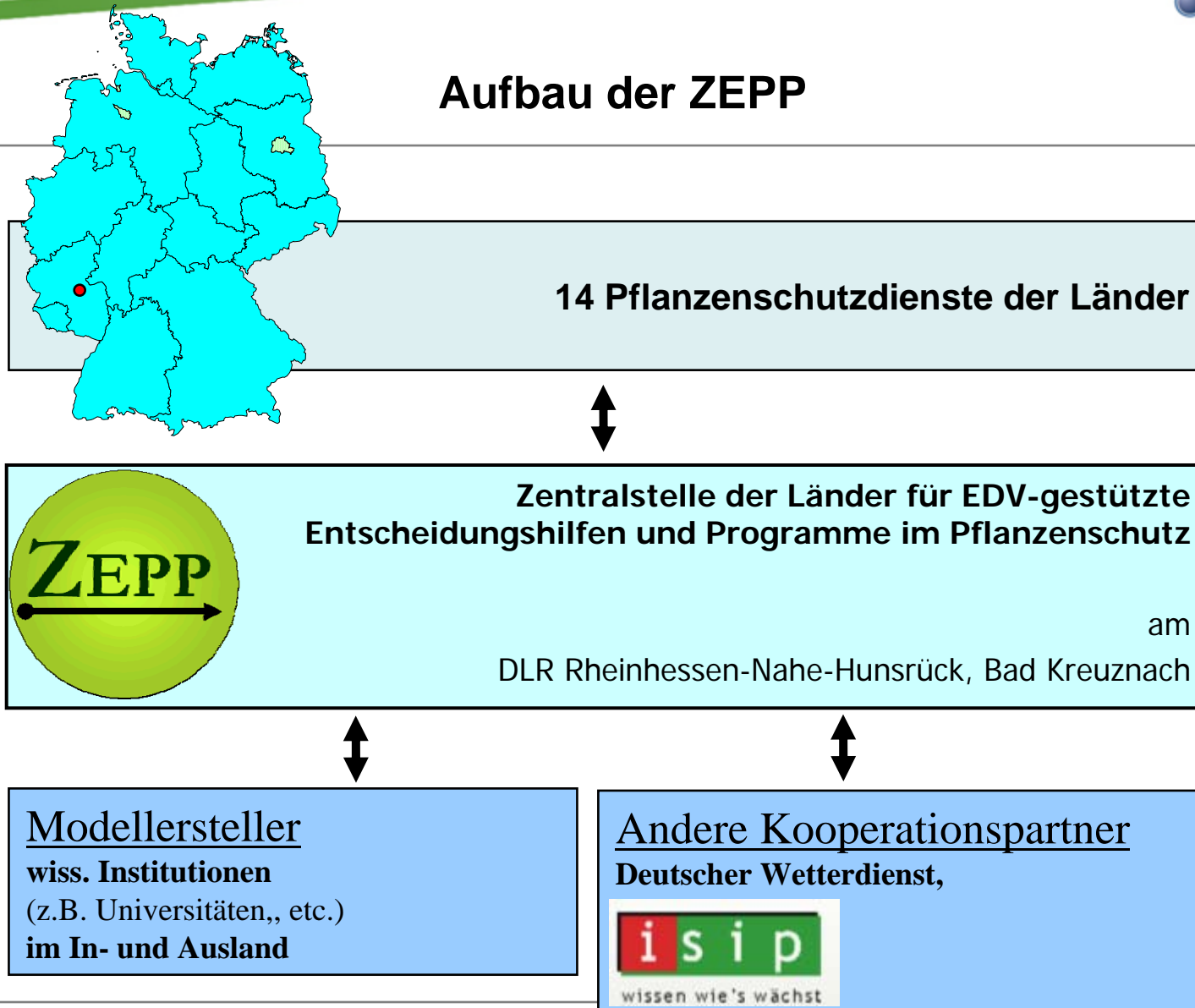
Beispiele anderer Teilprojekte

Befallserhebungen auf Praxisschlägen

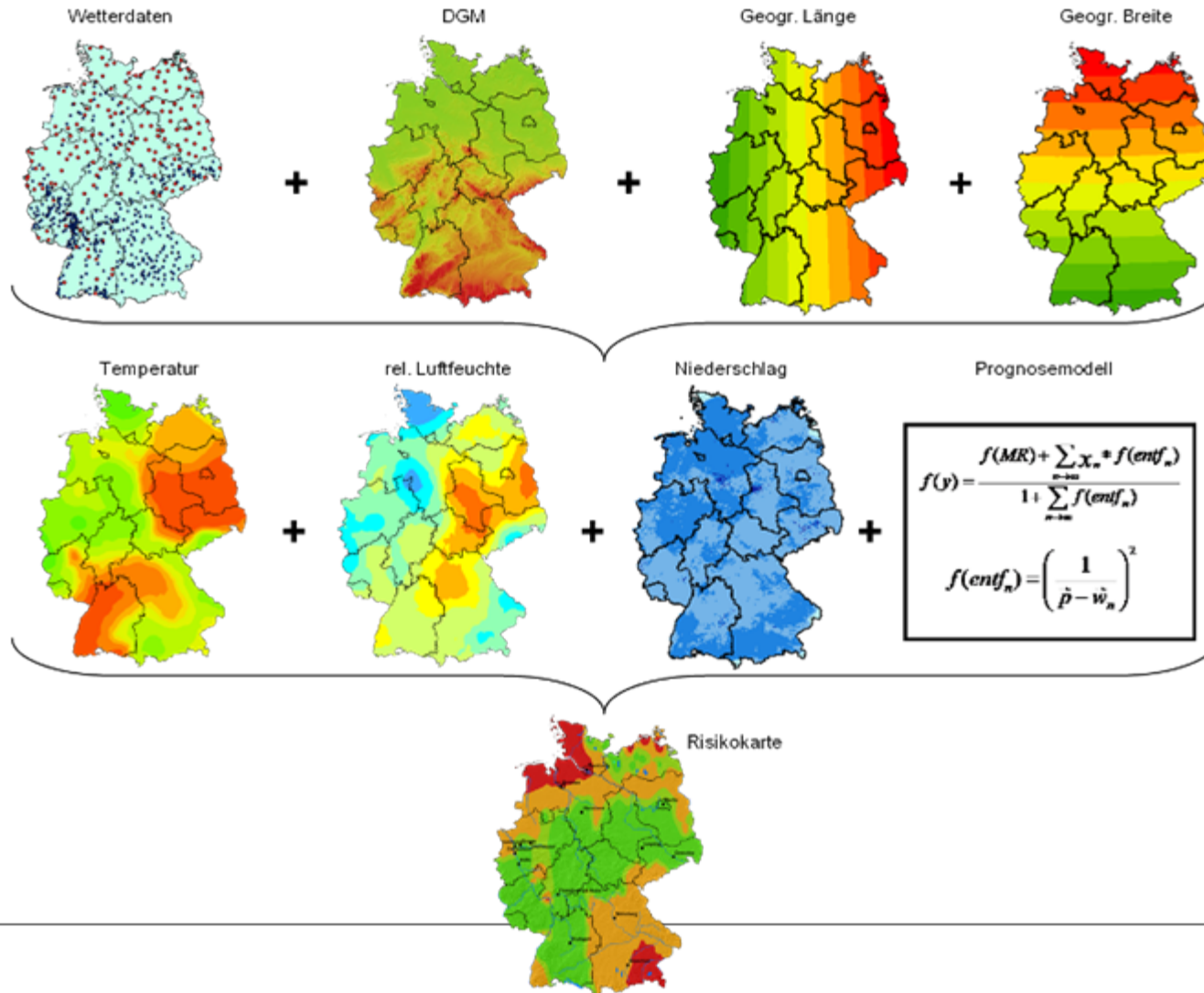
Arbeitsgruppe Geo- & Sensordaten in iGreen

Zusammenfassung

## Aufbau der ZEPP



# Prognosemodelle



# iGreen - Projekt

iGreen – Intelligente Wissenstechnologien für das öffentlich-private Wissensmanagement

Insgesamt arbeiten 24 Partner an iGreen, geleitet vom



Deutsches  
Forschungszentrum  
für Künstliche Intelligenz

- 8 Einrichtungen aus landwirtschaftlicher Praxis und Beratung,
- 8 Hersteller von Agrartechnik und
- 8 Unternehmen und Forschungseinrichtungen aus der Informations- und Kommunikationstechnologie



iGreen ist gefördert vom:



Laufzeit: 2009 bis 2012



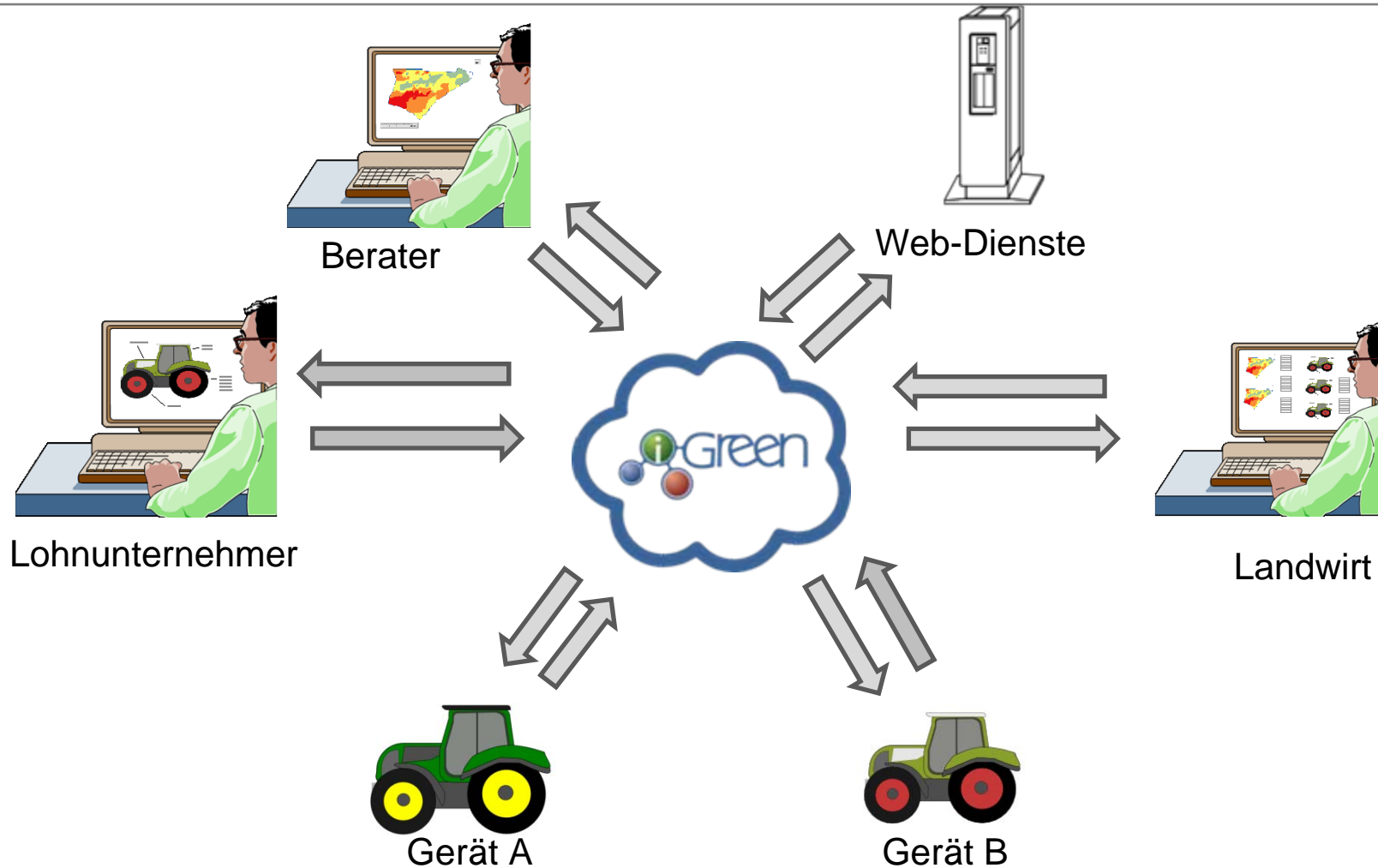
## iGreen - Projekt

Aufbau einer Infrastruktur zur Entscheidungsunterstützung von Landwirten mit Hilfe von öffentlichen und privaten Datenquellen

- Eine geeignete Infrastruktur zur Nutzung bestehender Standards ist notwendig
- Entscheidungsunterstützung jederzeit und überall über mobile Dienste
- Vernetzung von raum- und zeitbezogenen Daten und Services



# iGreen - Projekt



# Inhalt

Hintergrund

ZEPP

iGreen

**„Feldversuche“ in iGreen**

**Beispiele anderer Teilprojekte**

**Befallserhebungen auf Praxisschlägen**

Arbeitsgruppe Geo- & Sensordaten in iGreen

Zusammenfassung

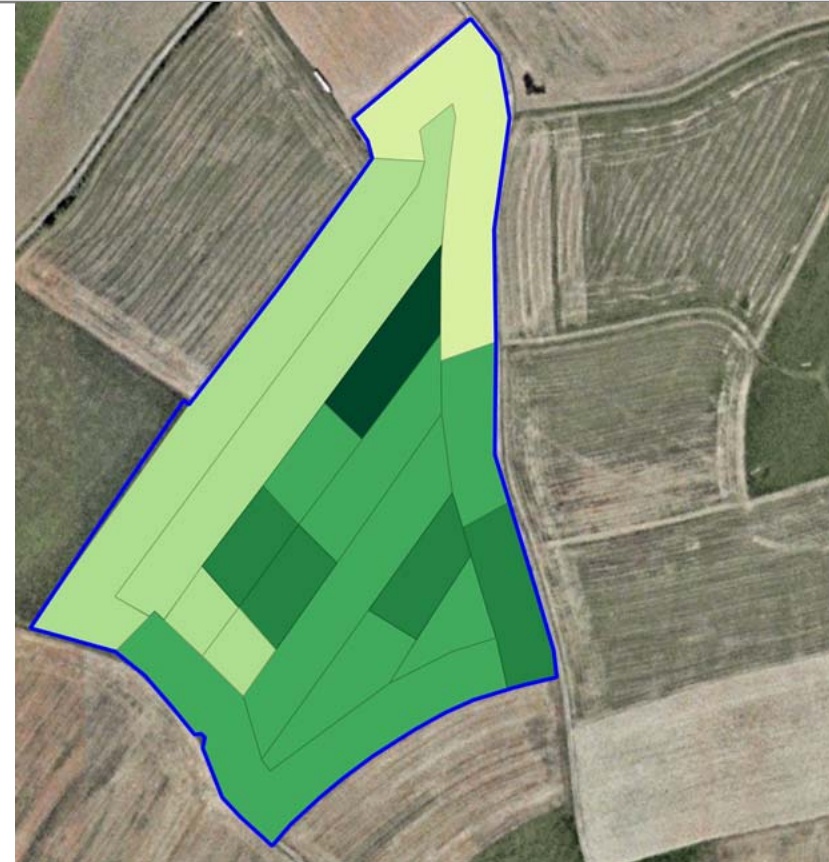
## „Feldversuche“ in iGreen

Pflanzenbauliche Forschung ist kein eigentliches Ziel des Projekts

Wissensmanagement und großflächige Auswertung von Daten ergänzen Feldversuche und On-Farm Experimente.

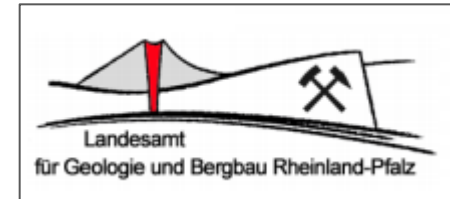
→ In iGreen hauptsächlich Demonstrationsversuche zur Weiterentwicklung des Datenmanagements

Beispiel: „Düngeplaner“-Webdienst erstellt anhand etablierter Düngemodelle und Boden- und Ertragskarten Applikationskarten für die Düngung

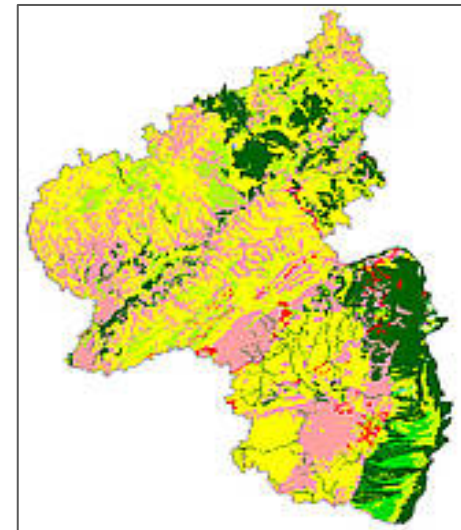


## Informationskreislauf in iGreen

„Öffentlich-Privates Wissensmanagement“ beinhaltet Rückfluss der Daten und die Auswertung vorhandener Praxisdaten.



Beispiel: Landesamt für Geologie und Bergbau (LGB-RLP) will großflächig erfasste Ertragsdaten für eine Validierung und Verbesserung der Ertragspotentialskarten nutzen.



Übersicht Ertragspotential Rheinland-Pfalz



## Geo- und Sensordaten für die Schaderregerprognose

Kultur: Winterweizen  
Pathogene: *Pseudocercospora herpotrichoides* (Halmbbruchkrankheit)  
*Rhizoctonia cerealis* (Scharfer Augenfleck)  
*Fusarium spp.* (Fusarium-Befall an der Halmbasis)

Ziel der Untersuchung:

Nutzbarmachung vorhandener privater und öffentlicher Daten für die Schaderregerprognose.

Zusätzliche Informationen verbessern die Qualität der Prognose

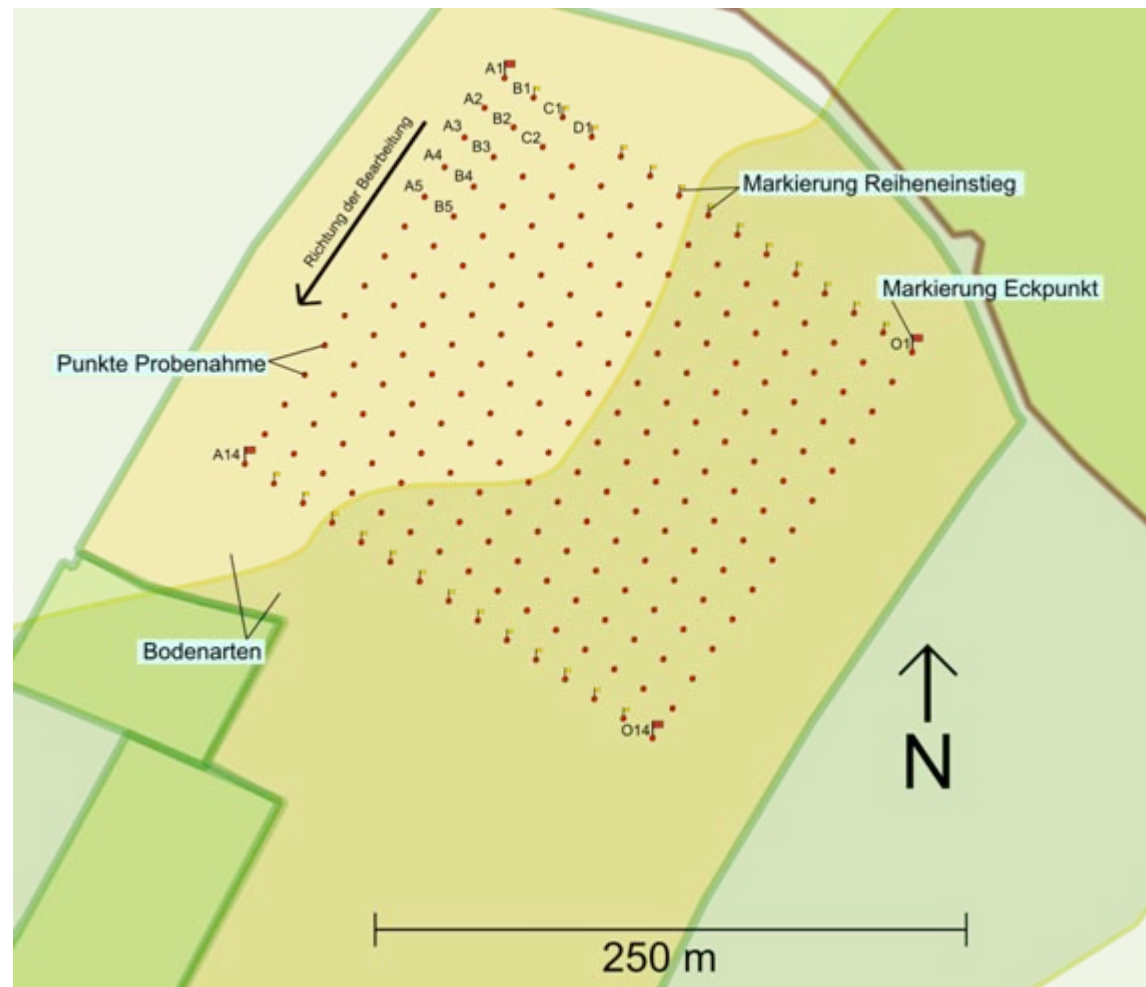
- Bislang liegen nur wenige Daten flächendeckend vor
- In Zukunft werden neue Datenquellen verfügbar (z.B. durch iGreen)

Fragestellungen:

- Wie lässt sich die Befallsverteilung in den Schlägen erklären?
- Kann man die Befallsverteilung mit den vorhandenen Daten prognostizieren?

# Felderhebungen 2010

- ca. 200 Punkte pro Feld
  - 17m-Abstand im Raster
  - 5 Pflanzen pro Punkt
- Keine Spritzfenster
- Bonitur über Smartphone

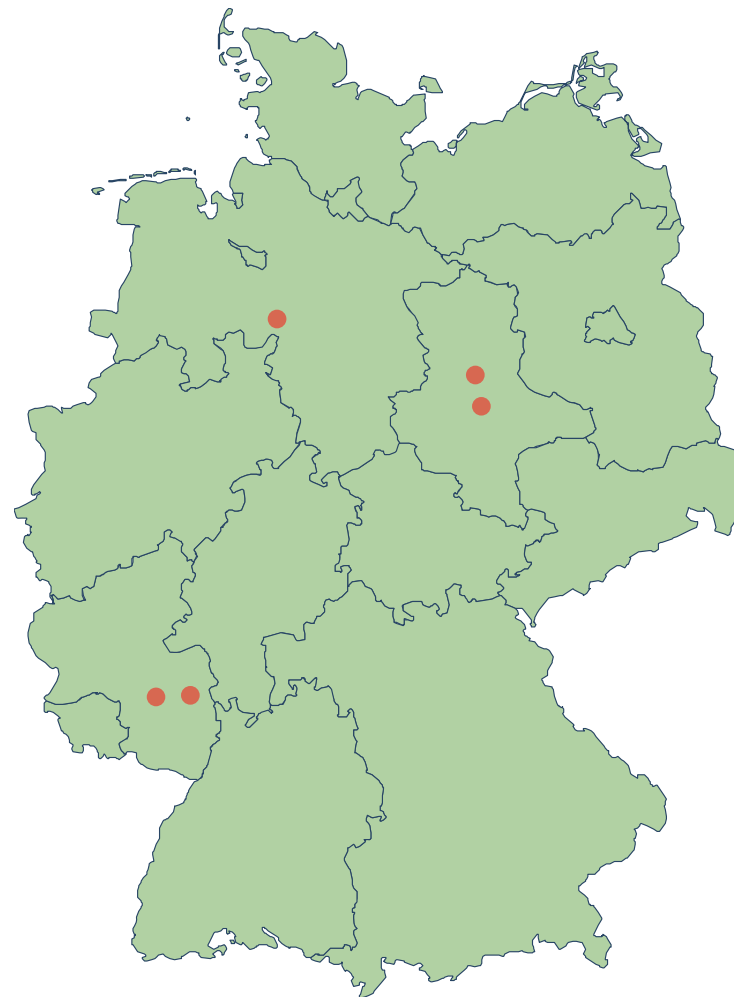


## Testbetriebe in drei Bundesländern

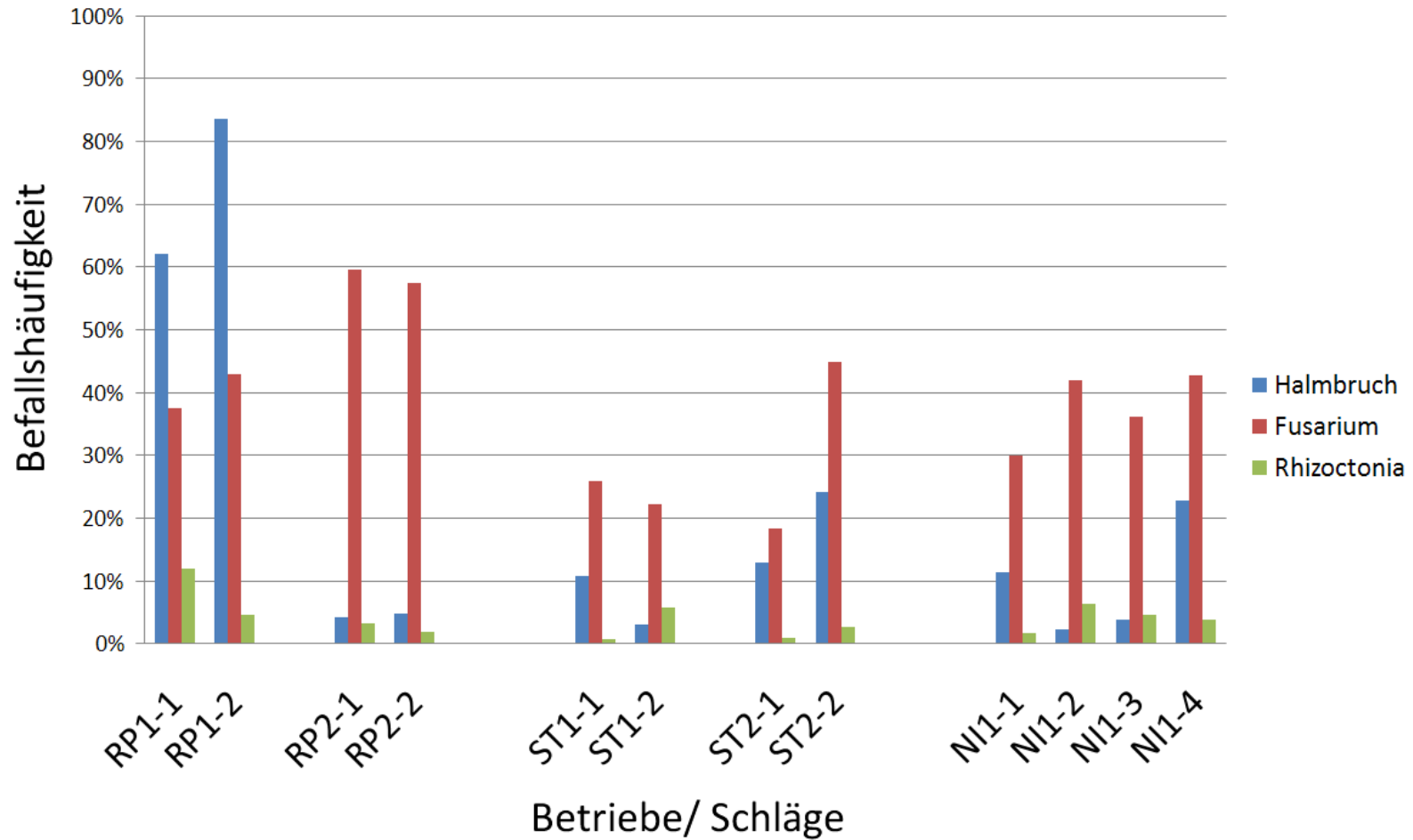
12 Versuchsschläge auf 6 Betrieben

- Rheinland-Pfalz (4)
- Niedersachsen (4)
- Sachsen-Anhalt (4)

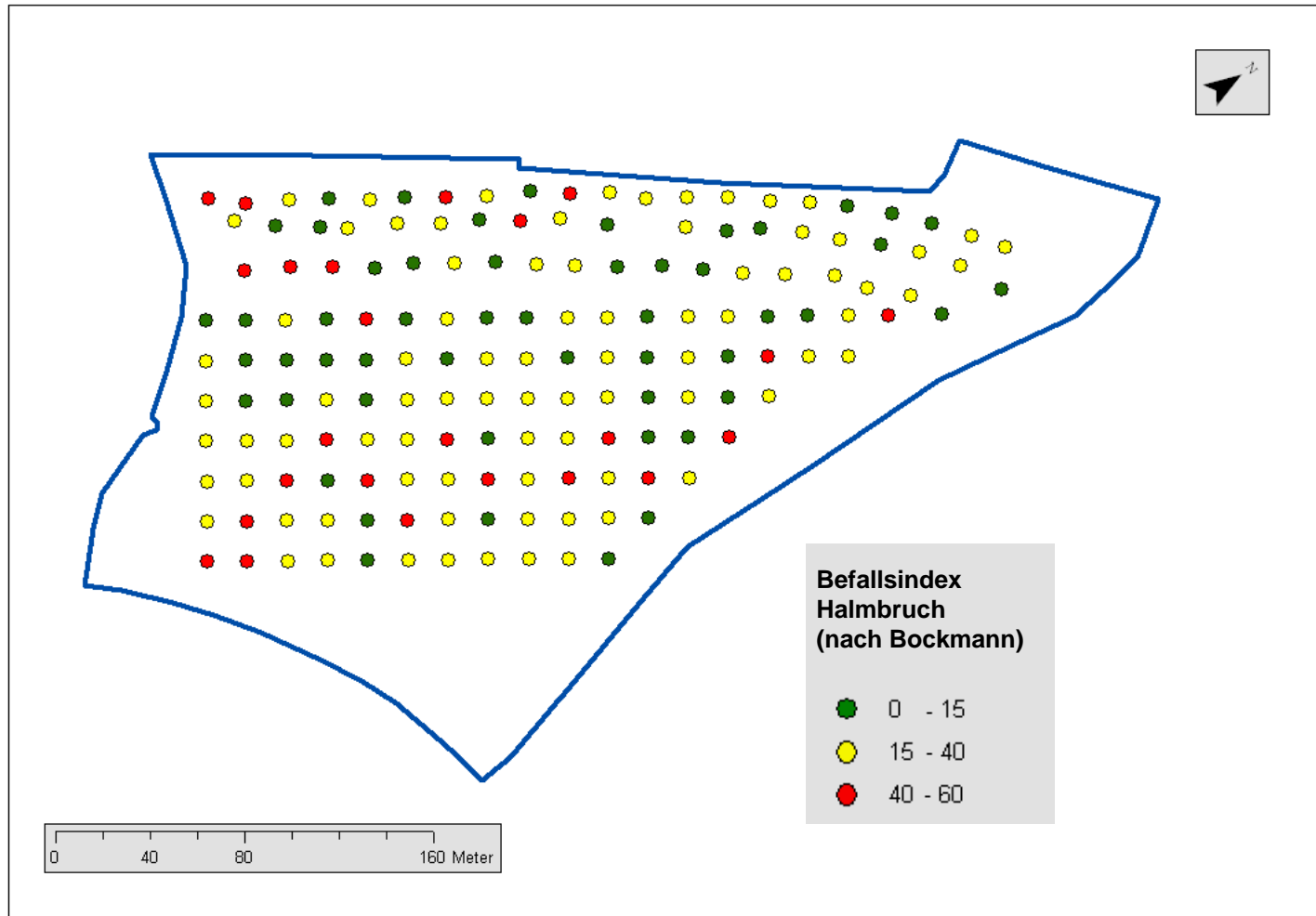
Mit moderner Technik  
ausgestattete Landwirte  
und Lohnunternehmer



# Übersicht Befall 2010

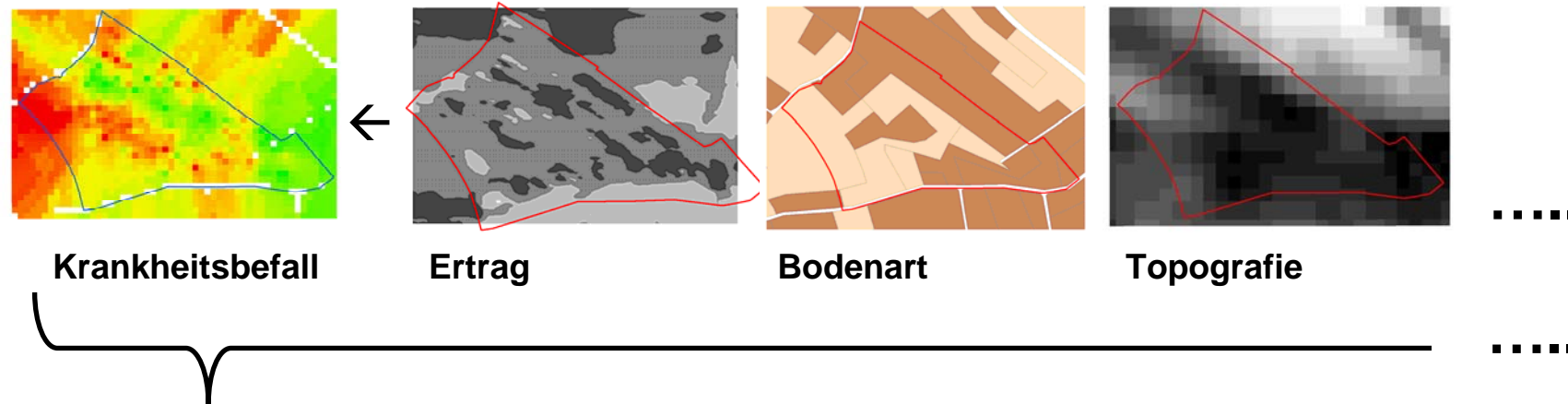


# Beispiel Befallsverteilung Halmbruch





## Vergleich Befall mit Schlag- und Sensordaten



### Überall verfügbar:

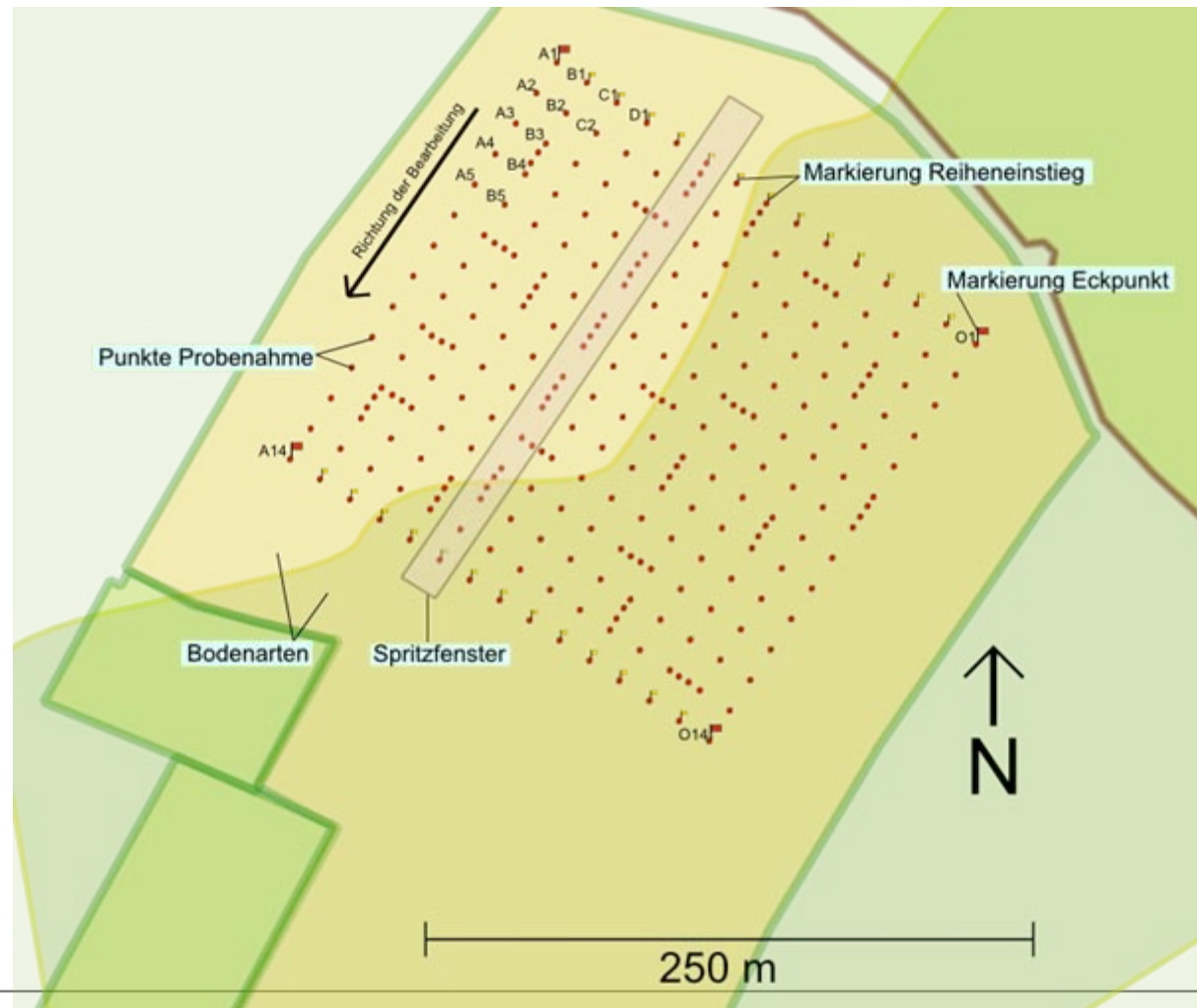
Höhe über NN  
 Hangneigung  
 Ertrag  
 Bodenart  
 Boden- /Ackerzahl

### Nicht überall:

Ertrag Vorjahre\*  
 Daten von Biomassesensoren\*  
 Ertragspotential\*  
 Feldkapazität\*  
 Bodenleitfähigkeit\*

## Probenahme 2011

- ca. 250 Punkte
- Zusätzliche Punkte zum Schätzen der kleinräumigen Variabilität
- Spritzfenster
- Kontrollreihen



# Inhalt

Hintergrund

ZEPP

iGreen

„Feldversuche“ in iGreen

Beispiele anderer Teilprojekte

Befallserhebungen auf Praxisschlägen

**Arbeitsgruppe Geo- & Sensordaten in iGreen**

**Zusammenfassung**

## iGreen-Arbeitsgruppe Geo- & Sensordaten

iGreen führt Dialog zwischen Landtechnikherstellern, Lohnunternehmern / Landwirten und Beratung. Akteure bringen ihre Anforderungen bzgl. Datenformaten und Standards ein.

→ Was ist mit den Anforderungen der Agrarforschung?

- Welche Rohdaten und Metadaten braucht man in welchem Datenformat?
- Welche Zusatzinformationen sind für die Qualitätssicherung notwendig?
- Welche Auswertungsmethoden sind zulässig für großflächig erfasste praxisübliche Daten?

Wer formuliert diese Anforderungen?

## Fazit

iGreen – Infrastrukturprojekt wird großflächig neue Datenquellen erschließen

Umgang mit praxisüblich erfassten Daten wird wichtiger

Die Forschung kann ihre Anforderungen einbringen.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

Das Projekt iGreen wird gefördert vom



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung



# Geostatistische Analyse räumlich hoch aufgelöster Daten aus einer Serie von On-Farm-Sortenversuchen

Arndt Kunick

Agri Con GmbH

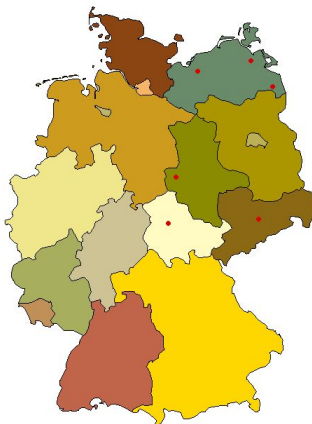
2011

VERSUCHSSERIE

STANDORTE

VERSUCHSMETHODIK

DATENAUFBEREITUNG



VERSUCHSSERIE

VERSUCHSMETHODIK

DURCHFÜHRUNG

STÖRGRÖSSEN

DATENAUFBEREITUNG

- Prüffaktorstufen
  - Halbzwerghybriden PR45D03, PR44D06
  - Normalstrohhhybriden PR46W20, PR46W31
- Anlageschema
  - randomisierte Blockanlage mit 4 vollständigen Wiederholungen
  - Parzellen an Fahrgassen gebunden
  - Versuchsfläche > 30 ha
- Technik
  - N-Sensor (spektralspektroskopische Messung)
  - Ertragskartiersystem (GPS-Autopilot)
  - GPS (RTK-Referenzierung, 2-3 cm Genauigkeit)
  - Geo-Informationssystem (GIS)





Der Einfluss exogener Wachstumsfaktoren erschwert eine Auswertung der Daten sowie die Interpretation der Versuchsergebnisse. Mit Hilfe von Sensortechnik und anderen Messgeräten lassen sich einige dieser Größen ohne wesentlichen Mehraufwand erfassen.

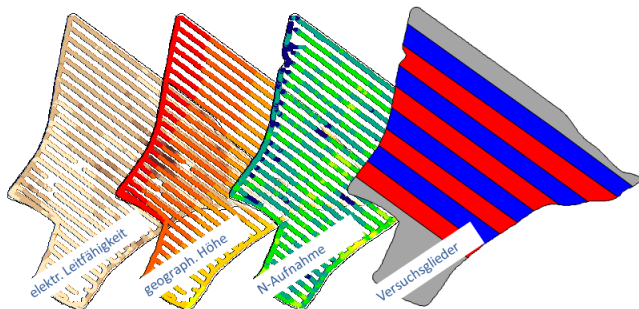
VERSUCHSSERIE

VERSUCHSMETHODIK

DURCHFÜHRUNG

STÖRGRÖSSEN

DATENAUFBEREITUNG





VERSUCHSSERIE

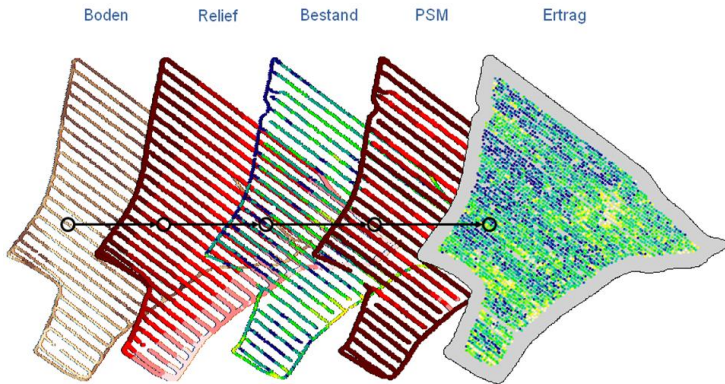
VERSUCHSMETHODIK

DATENAUFBEREITUNG

NEAREST NEIGHBOUR

DATENSTRUKTUR

VORPROZESSIERUNG



VERSUCHSSERIE

VERSUCHSMETHODIK

DATENAUFBEREITUNG

NEAREST NEIGHBOUR

DATENSTRUKTUR

VORPROZESSIERUNG

- Daten sind dichter als der Bearbeitungsmaßstab
- Messdaten enthalten Messfehler, Fehlwerte und Ausreisser
- GLS-Modelle sind nicht mit  $> 3000$  Datenpunkten ausführbar

VERSUCHSSERIE

VERSUCHSMETHODIK

DATENAUFBEREITUNG

NEAREST NEIGHBOUR

DATENSTRUKTUR

VORPROZESSIERUNG

- ① Räumliche Aggregation:
  - Reduziere Datendichte auf eine bestimmte Distanz zwischen Punkten
  - für jede Parzelle getrennt, für jede Variable
  - verwendet lokalen Median bzw. Mehrheitsentscheidung
- ② Entfernen von Ausreißern:
  - Entferne stark vom lokalen Median abweichende Messwerte
  - für jede Parzelle getrennt, für alle numerische Variablen

VERSUCHSSERIE

VERSUCHSMETHODIK

DATENAUFBEREITUNG

NEAREST NEIGHBOUR

DATENSTRUKTUR

VORPROZESSIERUNG

- Berechnung von Reliefparametern
  - Interpoliere digitales Höhenmodell
  - verwende SAGA GIS (<http://sourceforge.net/projects/saga-gis/>) und RSAGA package (<http://cran.r-project.org/>) zur automatischen Berechnung ausgewählter Reliefparameter
  - Hangneigung, Horizontal-, Vertikalwölbung, Bodenfeuchteindex

# Simultane Mittelwertvergleiche mit PROC GLIMMIX

Eckard.Moll@jki.bund.de

Hans-Peter.Piepho@uni-hohenheim.de

Sommertagung der AG Landwirtschaftliches Versuchswesen  
Limburgerhof, 30. Juni / 1. Juli 2011

# Aufgaben



- ① Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Versuchsmittel.
- ② Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwerte einer Bezugsbasis.
- ③ Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern.



## Lösungsmöglichkeiten

- t-Tests für Kontraste mehrerer ESTIMATE-Anweisungen mit anschließender Sidak-Korrektur des Signifikanzniveaus  
oder
- F-Test mehrerer Kontraste einer CONTRAST-Anweisung  
oder
- Einsatz der Macros von WESTFALL u.a. (1999) oder deren Modifikation von FRÖMKE u. BRETZ (2004)  
oder
- Multiple Tests für mehrere Kontraste einer LSMESTIMATE-Anweisung von PROC GLIMMIX unter Verwendung der ADJUST= Option

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Versuchsmittel



## Annahme:

Die LsMeans von 18 Prüfgliedern sollen jeweils mit dem Versuchsmittel verglichen werden.

## Beispiel für einen der 18 Kontraste:

Vergleich von LsMeans<sub>3</sub> mit dem Mittelwert aller 18 Prüfglieder

$$0 = \text{LsMean}_3 - \overbrace{(\text{LsMean}_1 + \text{LsMean}_2 + \text{LsMean}_3 + \text{LsMean}_4 + \dots + \text{LsMean}_{18})/18}^{\text{Versuchsmittel}}$$

$$0 = [18 \cdot \text{LsMean}_3 - (\text{LsMean}_1 + \text{LsMean}_2 + \text{LsMean}_3 + \text{LsMean}_4 + \dots + \text{LsMean}_{18})]/18$$

$$0 = (-\text{LsMean}_1 - \text{LsMean}_2 + 17 \cdot \text{LsMean}_3 - \text{LsMean}_4 - \dots - \text{LsMean}_{18})/18$$

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Versuchsmittel



```
proc glimmix;
  class Block A ;
  model <Merkmal> A / DDFM = kr ;
  random Block ;
  lsmeans A ;
  lsmeestimate A
```

z.B. für eine Blockanlage A-BI

|              |   |            |   |
|--------------|---|------------|---|
| 'A01-Mittel' | 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A02-Mittel' | -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A03-Mittel' | -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A04-Mittel' | -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A05-Mittel' | -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A06-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A07-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A08-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A09-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A10-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A11-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A12-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A13-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A14-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A15-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A16-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 -1 | divisor=18 | , |
| 'A17-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 -1 | divisor=18 | , |
| 'A18-Mittel' | -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 17 | divisor=18 | / |

```
adjust=simulate (ACC=0.001) cl ;
```

```
run ;
```



# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Versuchsmittel



```
ODS OUTPUT    LSMeans = LSMeans ;
```

```
proc mixed data=daten;  
  class Block A;  
  model <Merkmal> = A / DDFM = kr ;  
  random Block ;  
  lsmeans A ;  
run ;
```

```
data _null_;  
  set LSMeans (where=(Effect='A'));  
  i = _n_;  
  call symput('aa', i);  
  if i-1 < 1000 then la = 5;  
  if i-1 < 100 then la = 4;  
  if i-1 < 10 then la = 3;  
  call symput ('la', la);  
run;
```

→ Anzahl Prüfglieder (A-Stufen)

→ Stelligkeit

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Versuchsmittel



```
%LET aa1 = %EVAL(&aa - 1);
proc iml;
  vm = j(&aa, 1, &aa1);
  m1 = diag(vm);
  mm = m1;
  do i=1 to &aa;
    do j=1 to &aa;
      if m1[i,j] = 0      then mm[i,j] = -1;      → Matrix der Kontraste
      if m1[i,j] = &aa1 then mm[i,j] = &aa1;
    end;
  end;
  use lsmeans;
  read all var {A} into l1;      → Prüfgliedbezeichnungen } → Label
  l2 = j(&aa, 1, '-Mittel');
  l3 = j(&aa, 1, "divisor=");
  l4 = j(&aa, 1, "&aa");        } → divisor= 18
  l5 = j(&aa, 1, ',');
  l5[&aa] = '/';                → Vektor mit Kommata
```

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Versuchsmittel



```
esti1 = CATS("'",11," ",12,"");  
esti2 = CHAR(mm, &la);           → Stelligkeit verwenden  
esti3 = CATS(13, 14, 15);  
create est1 from esti1 [colname={'estim1'}];  
append from esti1;  
create est2 from esti2 ;  
append from esti2;  
create est3 from esti3 [colname={'estim3'}];  
append from esti3;  
quit;
```

```
data est1;  set est1;  i = _n_; run;  
data est2;  set est2;  i = _n_; run;  
data est3;  set est3;  i = _n_; run;
```

} → Bereitstellung einer BY-Variablen



# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Versuchsmittel



```
%LET W = %sysfunc(pathname(WORK));
FILENAME est "&W.\est.txt";
%LET aa = &aa;
data est4;
    FILE est ;
    merge est1 est2 est3;
    by i;
    if i=1 then lsmest='lsmestimate A'; else lsmest='          ';
    if i=&aa
        then adj = 'adjust=simulate(ACC=0.001) alpha=&alpha cl;' ;
        else adj = '          ' ;
    put lsmest estim1 COL1--COL&aa estim3 adj;
run;
```

Schreiben der Textdatei

```
ODS OUTPUT    LSMEstimates    = LSMEsti ;
```

```
proc glimmix data =daten;
    class Block A ;
    model <Merkmal> = A / DDFM = kr ;
    random Block ;
    lsmeans A;
    %INCLUDE est;
run ;
```

Einfügen der Textdatei

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Versuchsmittel



```
title1 'Vergleich der Mittelwerte mit dem Versuchsmittel ' ;
title2 "unter Einhaltung des simultanen Niveaus alpha=&alpha;"
title3 'mit dem Simulate-Verfahren' ;
proc print data=LSMEsti label split='*' noobs;
  Label      = 'A vs. Versuchsmittel'
  Estimate   = 'Differenz'
  Adjp       = 'Über-*schreitungs-*wahrschein-*lichkeit'
  AdjLower   = 'untere*KI-Grenze'
  AdjUpper   = 'obere*KI-Grenze' ;
  var Label Estimate Adjp AdjLower AdjUpper ;
run;
title;
```



# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



Der Mittelwert einer bestimmten Anzahl von LsMeans einer Bezugsbasis soll mit den LsMeans der (verbleibenden) Prüfglieder verglichen werden.

Beispiel für eine Bezugsbasis aus 2 Prüfgliedern A1 und A3:

Kontraste:

$$\text{BB\_A-A02:} \quad (\mu_{A1} + \mu_{A3})/2 - \mu_{A2}$$

$$\text{BB\_A-A04:} \quad (\mu_{A1} + \mu_{A3})/2 - \mu_{A4}$$

$$\text{BB\_A-A05:} \quad (\mu_{A1} + \mu_{A3})/2 - \mu_{A5}$$

$$\text{BB\_A-A06:} \quad (\mu_{A1} + \mu_{A3})/2 - \mu_{A6}$$

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
proc glimmix;  
  class Block A ;  
  model <Merkmal> = A / DDFM = kr ;  
  random Block ;  
  lsmeans A ;
```

z.B. für eine Blockanlage A-B1

```
Estimate 'A01-A03' A 1 0 -1 0 0 0 / alpha=&alpha;
```

zum Vergleich der  
Bezugsbasis (t-Test)

```
lsmestimate A
```

```
'BB_A-A02' 1 -2 1 0 0 0 divisor=2,
```

```
'BB_A-A04' 1 0 1 -2 0 0 divisor=2,
```

```
'BB_A-A05' 1 0 1 0 -2 0 divisor=2,
```

```
'BB_A-A06' 1 0 1 0 0 -2 divisor=2/
```

```
adjust=simulate(ACC=0.001) alpha=&alpha cl;
```

zum simultanen Vergleich aller  
Kontraste (Simulate-  
Verfahren)

```
run;
```



# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
ODS OUTPUT LsMeans = LsMeans ;
proc mixed data= daten ;
  class Block A ;
  model <Merkmal> = A / DDFM=kr;
  random Block ;
  lsmeans A ;
run;
```

z.B. für eine Blockanlage A-BI

```
proc sql NOPRINT;
  create table Stuf_A as
  select DISTINCT A
  from LsMeans ;
  select count(DISTINCT A) AS nA INTO: aa
  from Stuf_A ;
quit;
```

*Stuf\_A* enthält die alphabetisch geordneten Bezeichnungen der Prüfglieder,  
aa : deren Anzahl

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
proc iml;
  AM = { 'A01' 'A02' 'A03' 'A04' 'A05' 'A06' 'A07' 'A08' 'A09'
        'A11' 'A12' 'A13' 'A14' 'A15' 'A16' 'A17' 'A18' 'A19'
        'A21' 'A22' 'A23' 'A24' 'A25' 'A26' 'A27' 'A28' 'A29'
        'A31' 'A32' 'A33' 'A34' 'A35' 'A36' 'A37' 'A38' 'A39'
        'A41' 'A42' 'A43' 'A44' 'A45' 'A46' 'A47' 'A48' 'A49'
        'A51' 'A52' 'A53' 'A54' 'A55' 'A56' 'A57' 'A58' 'A59'
        'A61' 'A62' 'A63' 'A64' 'A65' 'A66' 'A67' 'A68' 'A69'
        'A71' 'A72' 'A73' 'A74' 'A75' 'A76' 'A77' 'A78' 'A79'
        'A81' 'A82' 'A83' 'A84' 'A85' 'A86' 'A87' 'A88' 'A89'
        'A91' 'A92' 'A93' 'A94' 'A95' 'A96' 'A97' 'A98' 'A99' };

  use Stuf_A;
  read all var {A} into StufenA;
  BBA = { 'PglA1'
          'PglA3' } ;           * oder Dateieingabe ;
  anzBB = nrow(BBA);

  canzBB = char(anzBB) ;
  call symput('canzBB' , canzBB);
```



# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
StufenA_neu = j(&aa-anzBB, 1, StufenA[1]);
j = 1;
do i = 1 to &aa;
  ex = 0;
  do k = 1 to anzBB ;
    if ex = 0 & StufenA[i] = BBA[k] then ex = 1;
  end;
  if ex = 0 then do;
    StufenA_neu[j] = StufenA[i];
    j = j + 1;
  end;
end;
ExCont = j(&aa, 1, 0);
do i = 1 to &aa;
  do k = 1 to anzBB ;
    if StufenA[i] = BBA[k] then ExCont[i] = 1;
  end;
end;
cont = j(&aa-anzBB, &aa-anzBB, 0);
do i = 1 to &aa-anzBB;
  cont[i, i] = anzBB * -1 ;
end;
BBCont = j(&aa-anzBB, 1, 1);
```

*StufenA\_neu:*  
Stufen A ohne Bezugsbasis

*ExCont:*  
Vektor der Kennzeichnung  
der Stufen der Bezugsbasis  
(0 oder 1)

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
k = 0;
do i = 1 to &aa;
  if ExCont[i] = 0 then do;
    if i = 1 then do;
      contrast = cont[, i-k];
    end;
    else contrast = contrast || cont[, i-k];
  end;
else
  if ExCont[i] = 1 then do;
    if i = 1 then contrast = BBCont;
    else contrast = contrast || BBCont;
    k = k + 1;
  end;
end;
end;
```

*Contrast:*  
Matrix für die Kontraste

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
do i=1 to anzBB;
  do j=1 to &aa;
    if BBA[i] = StufenA[j] then jj = j;
  end;
  if i=1 then NBBA=jj;
  else NBBA = NBBA // jj;
end;
A = StufenA;
BB_A = BBA;
Zuordnung = j(NROW(StufenA), 1, 'xxx');
do i = 1 to NROW(StufenA);
  Zuordnung[i] = AM[i];
end;
ZuordngBB_A = j(NROW(NBBA), 1, 'xxx');
do i = 1 to NROW(NBBA);
  ZuordngBB_A[i] = AM[NBBA[i]];
end;
```

*NBBA:*  
Lage der Stufen der  
Bezugsbasis

*Zuordnung* und  
*ZuordngBB\_A:*  
Vektoren der Zuordnungen

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
ex = 0;
do i = 1 to &aa;
  do j = 1 to &aa - anzBB;
    if StufenA[i] = StufenA_neu[j] then do;
      zuA = Zuordnung[i];
      if ex = 0 then do; ZA = zuA; ex = 1; end;
      else ZA = ZA // zuA ;
    end;
  end;
end;
label = CATS('BB_A-' , ZA);
Elabel    = CATS("'", label, "'");
Ncontrast = CHAR(contrast, 3) ;
divisor   = j(&aa-anzBB, 1, 'divisor=');
divZahl   = j(&aa-anzBB, 1, anzBB);
Komma     = j(&aa-anzBB, 1, ',');
Komma[&aa-anzBB] =      '/' ;
Abschluss = CATS(divisor, divZahl, Komma);
create est1 from Elabel [colname={'e1'}];
append from Elabel;
create est2 from Ncontrast ;
append from Ncontrast;
create est3 from Abschluss [colname={'e3'}];
append from Abschluss;
```

Aufbau der Kontraste:  
*Elabel*: Label  
*Ncontrast*: Kontraste (num.)  
*Abschluss*: Divisor u.  
Kommata

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



Aufbau der  
ESTIMATE-  
Anweisung(en)



```
if anzBB > 1 then do;
  do i=1 to anzBB;
    do j=1 to &aa;
      if BBA[i] = StufenA[j] then jj = j;
    end;
    if i=1 then NBBA=jj;
    else NBBA = NBBA // jj;
  end;
  Pos = j(1, 2, 0);
  do i = 1 to anzBB-1 ;
    do j = i+1 to anzBB;
      Pos[1] = NBBA[i];
      Pos[2] = NBBA[j];
      lab      = CATS(AM[NBBA[i]], '-', AM[NBBA[j]]);
      if i=1 & j=2 then do;
        pBBA = Pos;
        labA = lab;
      end;
      else do;
        pBBA = pBBA // pos;
        labA = labA // lab;
      end;
    end;
  end;
end;
```

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
ACon = j(NROW(pBBA), &aa, 0);
do i = 1 to NROW(pBBA);
  ACon[i, pBBA[i, 1]] = 1;
  ACon[i, pBBA[i, 2]] = -1;
end;
NAcon = CHAR(ACon, 3) ;
EstAT = j(NROW(pBBA), 1, 'Estimate');
ATXT = j(NROW(pBBA), 1, 'A ');
Aalph = j(NROW(pBBA), 1, "/ alpha=&alpha;");
Alab = CATS("'", labA, "'");
create Ae1 from EstAT [colname={'e1'}];
append from EstAT;
create Ae2 from Alab [colname={'e2'}];
append from Alab;
create Ae3 from ATXT [colname={'e3'}];
append from ATXT;
create Ae4 from NAcon ;
append from NAcon;
create Ae5 from Aalph [colname={'e4'}];
append from Aalph;
```

## Aufbau der ESTIMATE- Anweisungen:

|               |                         |
|---------------|-------------------------|
| <i>EstAT:</i> | Estmate                 |
| <i>Alab:</i>  | Label                   |
| <i>ATXT:</i>  | A<br>(für fixe Effekte) |
| <i>NAcon:</i> | A-Kontraste (num.)      |
| <i>Aalph:</i> | Vektor Alpha            |



# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
print
'===== ' ,
'Simulate-Verfahren - Vergleiche zur Bezugsbasis' ,
'----- ' ,
'Für die Kontraste werden den Stufen des Faktors' ,
'nachfolgende Kürzel zugeordnet ',
'(BB_A: Bezugsbasis A):', ,
A Zuordnung BB_A ZuordngBB_A ;
end;
else do;
print
'===== ' ,
'Simulate-Verfahren - Vergleiche zur Bezugsbasis' ,
'----- ' ,
'Für die Kontraste werden den Stufen des Faktors' ,
'nachfolgende Kürzel zugeordnet ',
'(BB_A: Bezugsbasis A):', ,
A Zuordnung BB_A ZuordngBB_A , ,
'(Es wurde nur eine Stufe als Bezugsbasis ausgewählt.)';
end;
quit;
```

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
%LET anzBB = %eval(&canzBB);  
  
%LET W = %sysfunc(pathname(WORK));  
  
%IF &anzBB > 1 %THEN %DO ;  
    data Ae1; set Ae1; i=_n_; run;  
    data Ae2; set Ae2; i=_n_; run;  
    data Ae3; set Ae3; i=_n_; run;  
    data Ae4; set Ae4; i=_n_; run;  
    data Ae5; set Ae5; i=_n_; run;  
    FILENAME eA "&W.\eBBA.txt" ;  
    data Ae6;  
        FILE eA ;  
        merge Ae1 Ae2 Ae3 Ae4 Ae5 ;  
        by i;  
        PUT e1 e2 e3 COL1--COL&aa e4 ;  
    run;  
%END;
```

←

Textdatei mit ESTIMATE-  
Anweisung(en)

←

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
data est1; set est1; i=_n_; run;
data est2; set est2; i=_n_; run;
data est3; set est3; i=_n_; run;
```

```
FILENAME est "&W.\est.txt" ;
```

```
%LET letzteZeile = %EVAL(&aa-&anzBB) ;
```

```
data est4;
```

```
FILE est ;
```

```
merge est1 est2 est3 ;
```

```
by i;
```

```
if i=1 then AnweisungAnfang = 'lsmestimate A' ;
           else AnweisungAnfang = '           ' ;
```

```
if i=&letzteZeile then AnweisungEnde =
    "adjust=simulate(ACC=0.001) alpha=&alpha cl;" ;
           else AnweisungEnde =
```

```
           "           " ;
```

```
put AnweisungAnfang e1 COL1--COL&aa e3 AnweisungEnde ;
```

```
run;
```

Textdatei mit der  
LSMESTIMATE-  
Anweisung

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



ODS OUTPUT

Estimates = Estimates

LsMeans = LsMeans

LSMEstimates = LSMEst

;

```
proc glimmix data= daten ;
```

```
class Block A;
```

```
model <Merkmal> = A / DDFM=kenwardroger;
```

```
random Block ;
```

```
lsmeans A ;
```

```
%INCLUDE eA ;
```

```
%INCLUDE est ;
```

```
run;
```

einfügen der  
ESTIMATE-Anweisung(en)  
LSMESTIMATE-Anweisung

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
data EstAzeilen;
  set Estimates (WHERE=(Label='A'));
  Test = ' n.s.          ';
  if Probt < &alpha then Test = 'signifikant';
run;
title1 'Vergleich der Stufen der Bezugsbasis untereinander';
title2 "t-Test(s), vergleichsbezogenes Signifikanzniveau &alpha";
proc print data=EstAzeilen label split='*' noobs;
  label Label      = "Vergleich"
         Estimate  = "Differenz"
         StdErr    = "Standard-*fehler"
         DF        = "Freiheits-*grade"
         Probt     = "Überschrei-*tungs-*wahrschein-*lichkeit"
         Lower     = "Konfidenz-*intervall*untere*Grenze"
         Upper     = "Konfidenz-*intervall*obere*Grenze" ;
  Var Label Estimate StdErr DF Probt Lower Upper Test ;
run;
title;
```

[Ausgabe nur, wenn &anzBB > 1.]

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



```
data LSMEsti;
  set LSMEsti;
  Test = ' n.s.          ';
  if AdjP < &alpha then Test = 'signifikant';
run;
proc print data=LSMEsti label split='*' noobs;
  label Estimate = "Differenz*des*Kontrasts"
        StdErr   = "Standard-*fehler"
        DF       = "Freiheits-*grade"
        AdjP     = "Überschrei-*tungs-*wahrschein-*lichkeit"
        AdjLower = "Konfidenz-*intervall*untere*Grenze"
        AdjUpper = "Konfidenz-*intervall*obere*Grenze"
        Label    = "Kontrast";
  VAR  Label Estimate StdErr DF AdjP AdjLower AdjUpper Test;
run;
title;
```





# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit einer Bezugsbasis



Blick auf einen zweifaktoriellen Fall: a=5, b=5, BB\_A: A<sub>1</sub> u. A<sub>2</sub>, BB\_B: B<sub>3</sub> u. B<sub>5</sub>

```
lsmestimate A*B
'A03-A04 | BB_B' 00000000000010100-10-100000 divisor=2,
'A03-A05 | BB_B' 00000000000010100000000-10-1 divisor=2,
'A04-A05 | BB_B' 0000000000000000000010100-10-1 divisor=2,

'BB_A-A03 | BB_B' 001010010100-20-200000000000 divisor=4,
'BB_A-A04 | BB_B' 001010010100000000-20-200000 divisor=4,
'BB_A-A05 | BB_B' 001010010100000000000000-20-2 divisor=4
/ adjust=simulate(ACC=0.001) alpha=0.05 cl;
```

## Kontrast:

$$A03-A05 \mid BB\_B: \mu_{A3B3}/2 + \mu_{A3B5}/2 - \mu_{A5B3}/2 - \mu_{A5B5}/2$$

$$(\mu_{A3B3} - \mu_{A5B3})/2 + (\mu_{A3B5} - \mu_{A5B5})/2$$

$$BB\_A-A05 \mid BB\_B: \mu_{A1B3}/4 + \mu_{A1B5}/4 + \mu_{A2B3}/4 + \mu_{A2B5}/4 - \mu_{A5B3}/2 - \mu_{A5B5}/2$$

$$[(\mu_{A1B3} + \mu_{A2B3})/4 - \mu_{A5B3}/2] + [(\mu_{A1B5} + \mu_{A2B5})/4 - \mu_{A5B5}/2]$$

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



Ausgangssituation:

```
%LET Standd = Standard;
proc mixed data=Serie;
  class Ort Jahr Block Pgl;
  model <Merkmal> = Jahr Pgl Jahr*Pgl /DDFM=kr ;
  random int Jahr Block*Jahr PGL Jahr*PGL / subject=Ort;
  repeated / GROUP=Ort*Jahr subject=Ort;
  lsmeans PGL /adjust=simulate
           diff=control("&Standd") cl alpha=&alpha;
run;
```

| Effect | PGL      | Estimate | StdErr | DF   | tValue | Probt  | Alpha | Lower   | Upper   |
|--------|----------|----------|--------|------|--------|--------|-------|---------|---------|
| PGL    | Standard | 0.8565   | 0.8259 | 5.73 | 1.04   | 0.3415 | 0.05  | -1.1879 | 2.9009  |
| PGL    | Eta      | 3.8443   | 0.8984 | 7.81 | 4.28   | 0.0028 | 0.05  | 1.7637  | 5.9250  |
| PGL    | Kappa    | .        | .      | .    | .      | .      | .     | .       | .       |
| PGL    | Pi       | .        | .      | .    | .      | .      | .     | .       | .       |
| PGL    | My       | 25.2019  | 0.9120 | 8.25 | 27.63  | <.0001 | 0.05  | 23.1099 | 27.2940 |
| PGL    | Omikron  | 21.9056  | 1.3034 | 14.7 | 16.81  | <.0001 | 0.05  | 19.1229 | 24.6884 |

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



Differences of Least Squares Means

| Effect | PGL     | PGL      | Estimate | Standard Error | DF   | t Value | Pr >  t | Adjustment | Adj P | Alpha | Lower   | Upper   | Adj Lower | Adj Upper |
|--------|---------|----------|----------|----------------|------|---------|---------|------------|-------|-------|---------|---------|-----------|-----------|
| PGL    | Eta     | Standard | 2.9878   | 1.1362         | 5.92 | 2.63    | 0.0396  | Simulate   | .     | 0.05  | 0.1988  | 5.7768  | .         | .         |
| PGL    | Kappa   | Standard | Non-est  | .              | .    | .       | .       | Simulate   | .     | .     | .       | .       | .         | .         |
| PGL    | Pi      | Standard | Non-est  | .              | .    | .       | .       | Simulate   | .     | .     | .       | .       | .         | .         |
| PGL    | My      | Standard | 24.3454  | 1.1468         | 6.14 | 21.23   | <.0001  | Simulate   | .     | 0.05  | 21.5545 | 27.1363 | .         | .         |
| PGL    | Omikron | Standard | 21.0491  | 1.4801         | 10.1 | 14.22   | <.0001  | Simulate   | .     | 0.05  | 17.7538 | 24.3444 | .         | .         |

## Sidak-Korrektur des Signifikanzniveaus oder PROC GLIMMIX

```
proc glimmix data=Serie;
  class Ort Jahr Block Pgl;
  model <Merkmal> = Jahr Pgl Jahr*Pgl /DDFM=kr ;
  random int Jahr Block*Jahr PGL Jahr*PGL / subject=Ort ;
  random int / subject=Ort GROUP=Ort*Jahr residual;
  lsestimate PGL 'A2-Standd' -1 1 0 0 0 0 ,
              'A5-Standd' -1 0 0 0 1 0 ,
              'A6-Standd' -1 0 0 0 0 1
  /adjust=simulate cl alpha=&alpha ;

run;
```

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



## PROC MIXED

Differences of Least Squares Means

| Effect | PGL     | PGL      | Estimate | Standard Error | DF   | t Value | Pr >  t | Adjustment | Adj P | Alpha | Lower   | Upper   | Adj Lower | Adj Upper |
|--------|---------|----------|----------|----------------|------|---------|---------|------------|-------|-------|---------|---------|-----------|-----------|
| PGL    | Eta     | Standard | 2.9878   | 1.1362         | 5.92 | 2.63    | 0.0396  | Simulate   | .     | 0.05  | 0.1988  | 5.7768  | .         | .         |
| PGL    | Kappa   | Standard | Non-est  | .              | .    | .       | .       | Simulate   | .     | .     | .       | .       | .         | .         |
| PGL    | Pi      | Standard | Non-est  | .              | .    | .       | .       | Simulate   | .     | .     | .       | .       | .         | .         |
| PGL    | My      | Standard | 24.3454  | 1.1468         | 6.14 | 21.23   | <.0001  | Simulate   | .     | 0.05  | 21.5545 | 27.1363 | .         | .         |
| PGL    | Omikron | Standard | 21.0491  | 1.4801         | 10.1 | 14.22   | <.0001  | Simulate   | .     | 0.05  | 17.7538 | 24.3444 | .         | .         |

## PROC GLIMMIX

Least Squares Means Estimates  
Adjustment for Multiplicity: Simulated

| Effect | Label     | Estimate | Standard Error | DF    | t Value | Pr >  t | Adj P  | Alpha | Lower   | Upper   | Adj Lower | Adj Upper |
|--------|-----------|----------|----------------|-------|---------|---------|--------|-------|---------|---------|-----------|-----------|
| PGL    | A2-Standd | 2.9876   | 1.1363         | 5.927 | 2.63    | 0.0396  | 0.0720 | 0.05  | 0.1988  | 5.7763  | -0.2845   | 6.2596    |
| PGL    | A5-Standd | 24.3462  | 1.1469         | 6.143 | 21.23   | <.0001  | <.0001 | 0.05  | 21.5556 | 27.1369 | 21.0435   | 27.6489   |
| PGL    | A6-Standd | 21.0491  | 1.4802         | 10.06 | 14.22   | <.0001  | <.0001 | 0.05  | 17.7539 | 24.3443 | 16.7867   | 25.3115   |



# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



```
proc glimmix data=Serie;
  class Ort Jahr Block Pgl;
  model <Merkmal> = Jahr Pgl Jahr*Pgl /DDFM=kr ;
  random int Jahr Block*Jahr PGL Jahr*PGL / subject=Ort ;
  random int / subject=Ort GROUP=Ort*Jahr residual;
  lsestimate PGL 'A2-Standd' -1 1 0 0 0 0 ,
               'A5-Standd' -1 0 0 0 1 0 ,
               'A6-Standd' -1 0 0 0 0 1
               /adjust=simulate cl alpha=&alpha ;
run;
```

Die Unterschiede zwischen den RANDOM-Anweisungen von PROC Mixed und PROC GLIMMIX sind zu beachten.

Es bleibt folglich **nur** die „Konstruktion“ der LSMESTIMATE-Anweisung mit den Kontrasten.

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



```
proc sql NOPRINT;
  create table StufA as
    select DISTINCT PGL
      from LsMeans ;
  select count(DISTINCT PGL) AS nA INTO: aa
      from StufA ;
  select count(Estimate) AS nN INTO: nn
      from LsMeans
      where Estimate GE 0 ;
quit;
%LET zz = %EVAL(&nn - 1);
```

Anzahl der Vergleiche mit  
einem Standard =  
Anzahl (Mittelwerte > 0) - 1



# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



```
proc iml;
  use lsmeans;
  read all var {PGL} into PGL;
  read all var {Estimate} into LsMean;

  ExSt=0;
  do i=1 to &aa;
    if PGL[i]="&Standd" then ExSt=i;
  end;

  cExSt = CHAR(ExSt);
  call symput ('cExSt' , cExSt);
```

Position des Standards

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



```
if ExSt > 0 & &zz > 0 then do;
  e = 1;
  do i = 1 to &zz;
    cont = j(1, &aa, 0);
    cont[ExSt] = -1;
    do j = e to &aa;
      if (j ^= ExSt) & (LsMean[j] >= 0) then do;
        cont[j] = 1;
        l1 = PGL[j];
        e = j +1;
        GOTO E;
      end;
    end;
  end;
E:
  if i = 1 then do;
    contrast = cont; l2 = l1;
  end;
  else do;
    contrast = contrast // cont; l2 = l2//l1;
  end;
end;
```

Matrix der Kontraste

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



```
l3 = j(&zz, 1, '-STANDARD');  
label = CATS("", l2, l3, "") ;  
div      = j(&zz, 1, 'divisor=1,');  
div[&zz] = 'divisor=1/';  
Ncontrast = CHAR(contrast, 3) ;
```

```
create est1 from label [colname={'s1'}];  
append from label;  
create est2 from Ncontrast ;  
append from Ncontrast;  
create est3 from div [colname={'s3'}];  
append from div;
```

```
end;  
else print  
'-----',  
" Für den Standard &Standd ",  
' wurde entweder kein Mittelwert berechnet oder es gibt keine',  
' weiteren Mittelwerte, d.h. es wird kein Test durchgeführt.';  
quit;
```

Aufbau der Kontraste:  
*label:* Label  
*Ncontrast:* Kontraste (num.)  
*div:* Divisor u.  
Kommata

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



```
%LET ExSt = %eval(&cExSt);
%LET aa    = &aa;
%IF &ExSt > 0 AND &zz > 0 then do;
  data est1; set est1; i=_n_; run;
  data est2; set est2; i=_n_; run;
  data est3; set est3; i=_n_; run;

  %LET W = %sysfunc(pathname(WORK));

  FILENAME ST_Pgl "&W.\lsme.txt" ;
  data est4;
    FILE ST_Pgl ;
    merge est1 est2 est3 ;
    by i;
    if i=1 then lsmest='lsmestimate PGL'; else lsmest='          ' ;
    if i=&zz
    then adj = 'adjust=simulate(ACC=0.001) alpha=&alpha cl;' ;
    else adj = '          ' ;
    PUT lsmest s1 COL1--COL&aa s3 adj ;
  run;
%END;
```

Aufbau der  
LSMESTIMATE-  
Anweisung

# Vergleich der Prüfgliedmittelwerte mit dem Mittelwert eines Standards im gemischten Modell einer Versuchsserie bei unbalancierten Prüfgliedern



```
proc glimmix data=Serie;
  class Ort Jahr Block Pgl;
  model <Merkmal> = Jahr Pgl Jahr*Pgl /DDFM=kr ;
  random int Jahr Block*Jahr PGL Jahr*PGL / subject=Ort ;
  random int / subject=Ort GROUP=Ort*Jahr residual;
  %INCLUDE ST_Pgl;
run;
```

vorher der Macrovariablen alpha Wert zuweisen



Vermutung:

Anstelle der Macros von WESTFALL u.a. (1999) bzw. FRÖMKE u. BRETZ (2004) lässt sich PROC GLIMMIX nutzen.



## Literatur

FRÖMKE, C. and BRETZ, F. (2004): Simultaneous Tests and Confidence Intervals for Evaluation of Agricultural Field Trials. *Agronomy Journal*, **96**, p. 1323-1330

WESTFALL, P. H., TOBIAS, R. D., ROM, D., WOLFINGER, R. D., and HOCHBERG, Y. (1999a): Multiple Comparisons and Multiple Tests Using the SAS System. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA

# **The „Hohenheim-Gülzow-method“**

**for analysis of series of trials  
as basic procedure with PIAFStat and SAS  
in a regionalized field trial system**

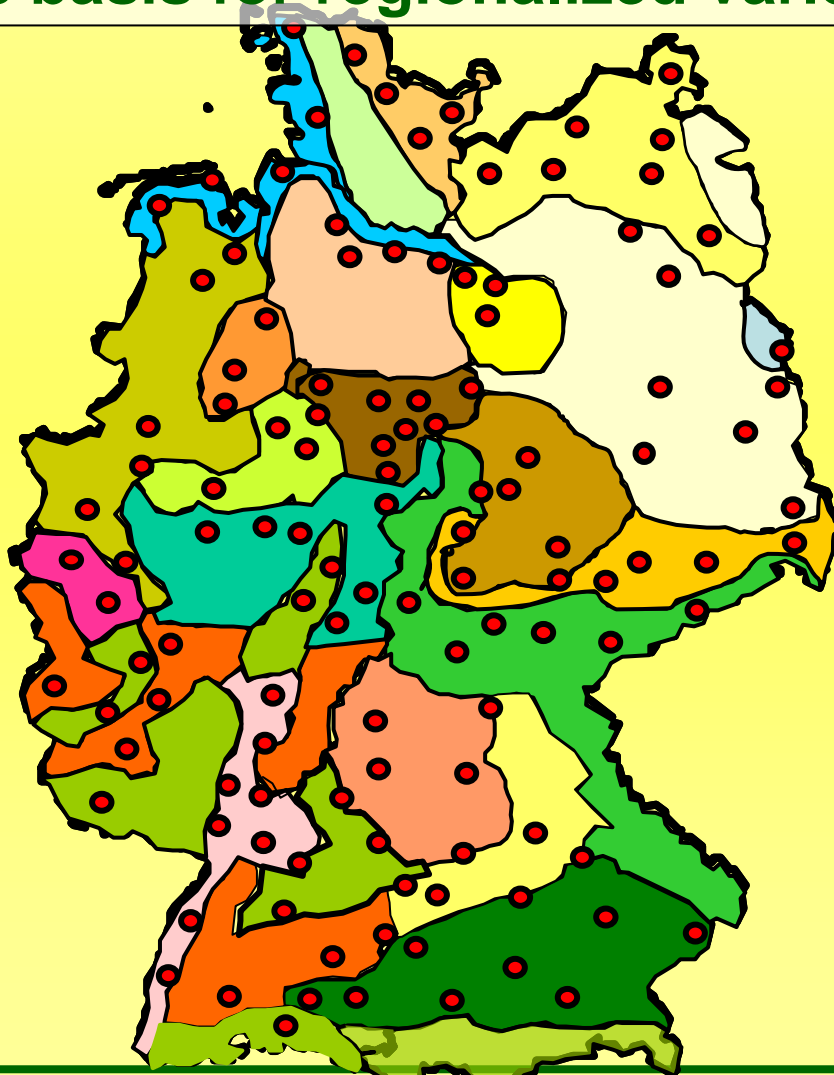
**Volker Michel, Andrea Zenk (Gülzow)**

**Jens Möhring, Hans-Peter Piepho (Stuttgart-Hohenheim)**

**Rudolf Graf (Freising)**



# Post-registration **State Variety Trials** in Germany (*VCU testing*) as basis for regionalized variety recommendations

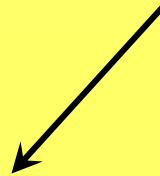


- locations of trials with wheat in the
  - federal states
  - **growing-regions**

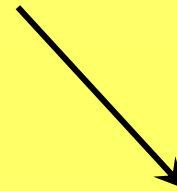


# Incentive to improve analysis systems in competitive variety testing

**number of trials is decreasing**



**loss in regionalized  
specification of  
varieties ?**



**loss in earliness  
and precision of  
estimation ?**



# Main possibility: enlarge the data basis

In the past the analysis systems of German states involved only:

- State Variety Trials of each individual state
- only 2 or 3 years
- only the balanced data - subset

in the interest of earliness and precision it is better to enlarge the dataset by using all available regional data →



# Enlarge the data basis

data basis can be enlarged by:

- using trials for registration by the Federal Office or from other pre-registration trial systems
- using more than three years
- using trials from neighbouring regions

**but:** such long-term series of trials in variety testing involve many complex and complicated system-inherent characteristics →





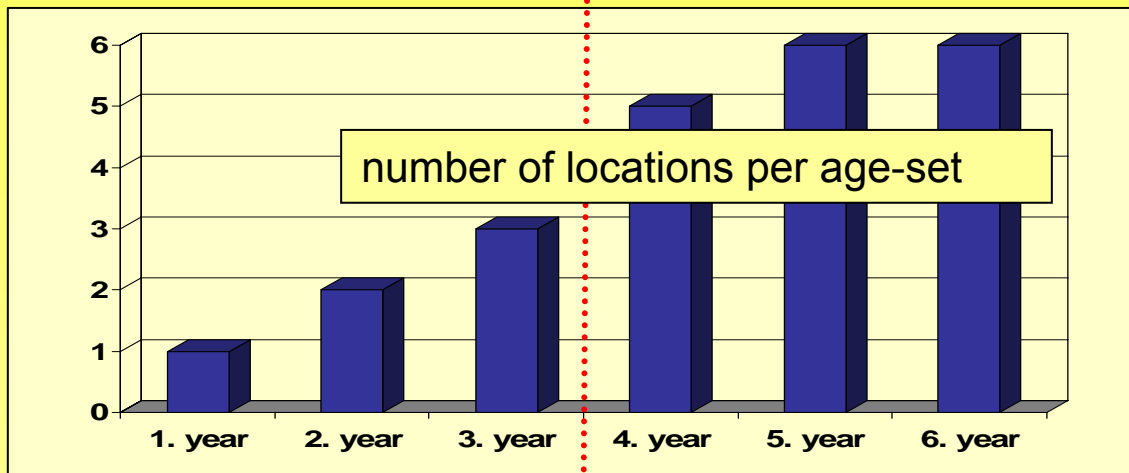
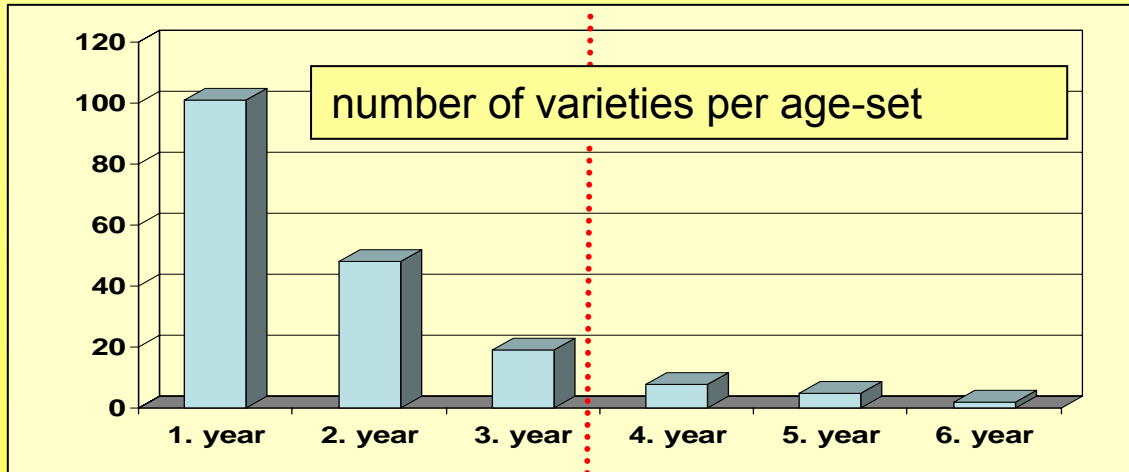
# The H-G-method comprises the following features

- a) **unbalancedness**
- b) regional neighbourhood and similarity
- c) heterogeneous standard errors
- d) non-additive data behavior





# a) Unbalancedness



before ← → after

**REGISTRATION**

selection process

different period of trial-process per variety

only few data per region in the early trial phase

even these data are useful to assess the interactions with years

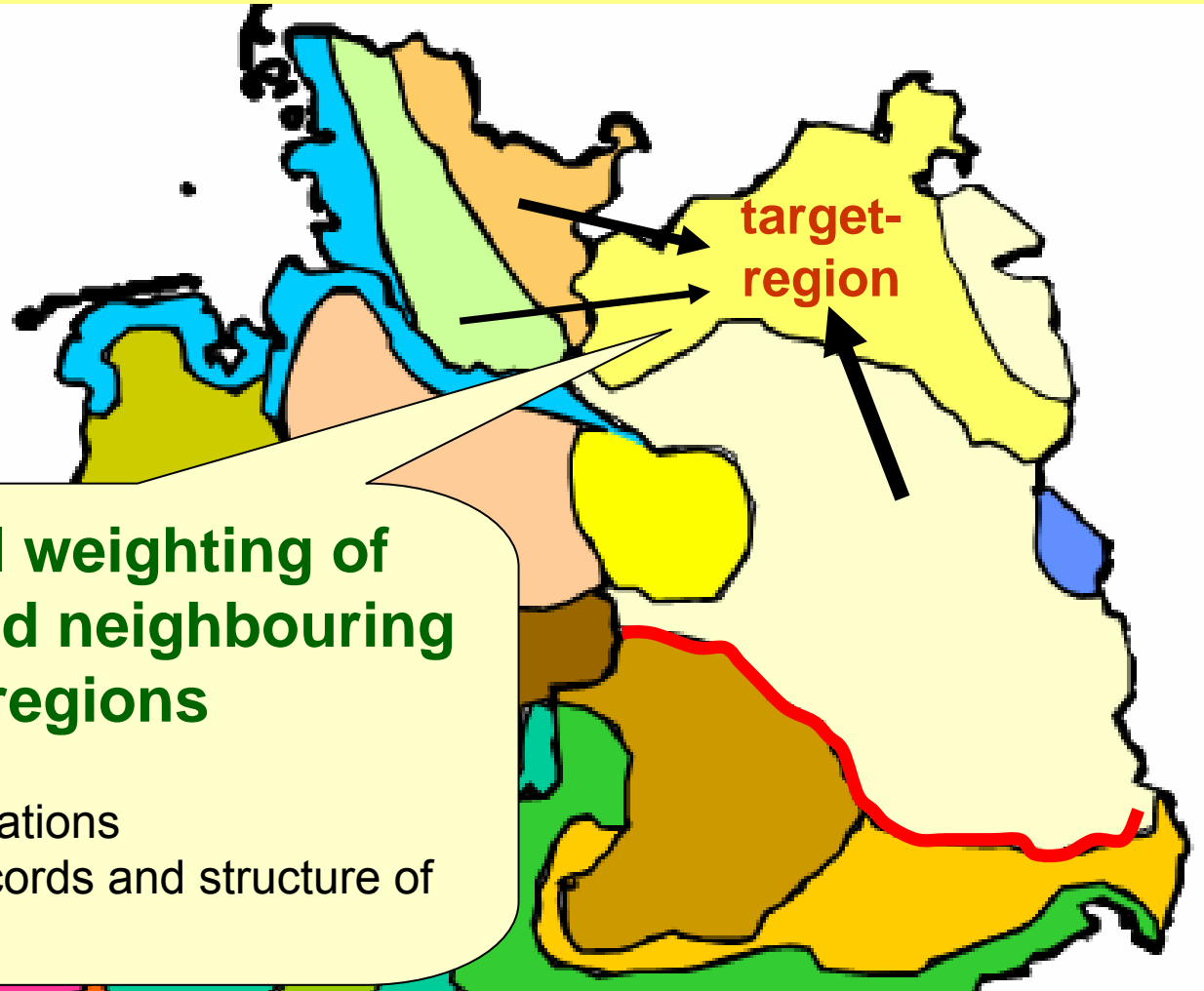


# The method comprises the following features

- a) unbalancedness
- b) regional neighbourhood and similarity**
- c) heterogeneous standard errors
- d) non-additive data behavior



## b) Regional neighbourhood and similarity



# The method comprises the following features

- a) unbalancedness
- b) regional neighbourhood and similarity
- c) heterogeneous standard errors**
- d) non-additive data behavior





# The method comprises the following features

- a) unbalancedness
- b) regional neighbourhood and similarity
- c) heterogeneous standard errors
- d) non-additive data behavior**



# Statistical features of the H-G-method

- a) unbalanced data
- b) regional neighbourhood and similarity
- c) heterogeneous standard errors
  - **two-stage analysis**
  - **multi-environmental mixed model**
- d) non-additive data behavior
  - **Box-Cox transformation**



# Two-stage analysis (weighting of trials)

**Stage 1:** Compute adjusted means and standard errors (s.e.) per trial

**Stage 2:** Fit mixed model across series, fixing error variance at  $(\text{s.e.})^2$  from Stage 1:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{e} \quad \text{with} \quad \mathbf{e} \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{R}),$$

where  $\mathbf{R}$  is diagonal with diagonal elements equal to  $(\text{s.e.})^2$



# Box-Cox transformation of data

$$z = \begin{cases} (y^\phi - 1)/\phi & \text{for } \phi \neq 0 \\ \log(y) & \text{for } \phi = 0 \end{cases}$$

where  $\phi$  is a transformation parameter.

$\phi = 1$ : Do not transform  $\Rightarrow$  Additive effects

$\phi = 0$ : Log-transform  $\Rightarrow$  Multiplicative effects

$$\text{Log}(a*b) = \log(a) + \log(b)$$



# The multi-environment mixed model

$$V + L \bullet Y \bullet T : V \bullet L + V \bullet Y + V \bullet L \bullet Y + V \bullet L \bullet Y \bullet T ,$$

where

V = variety

L = location

Y = year

T = trial (may be several per L × Y combination)

Effect L • Y • T fixed

⇒ no recovery of inter-trial information



# Extension to sub-divided target region

Replace L by

$$R/L = R + R \bullet L \quad ,$$

where

R = region

L = location, nested within region





# Variety effect, nested in regions

Variety effect, nested in regions: V•R

Effects for variety correlated between regions:

$$\text{var} \begin{pmatrix} V \bullet R1 \\ V \bullet R2 \\ V \bullet R3 \\ V \bullet R4 \end{pmatrix} = \Sigma_g$$

Different structures for  $\Sigma_g$ , e.g. compound symmetry, factor-analytic, heterogeneous



# Compute adjusted means for V\*R

(1) Compute adjusted means for V•R

⇒  $y_{ir}$  for variety  $i$  regions  $r = 1, 2, \dots$

(2) Combine across regions as weighted mean

Yield estimate:  $E_i = w_{i1} \times y_{i1} + w_{i2} \times y_{i2} + \dots$



# Compute adjusted means for $V \cdot R$

**Objective:** Minimize

“Error” = “Estimate – true value ( $V \cdot R$ )”

⇒ Mean squared error (MSE)

**Two variants:**

(1)  $\sum_i(w_{ir}) = 1$

(2) No constraint on  $w_{ir}$  (⇒ BLUP)



# Integration in the software-concept of PIAF



## PIAFStat:

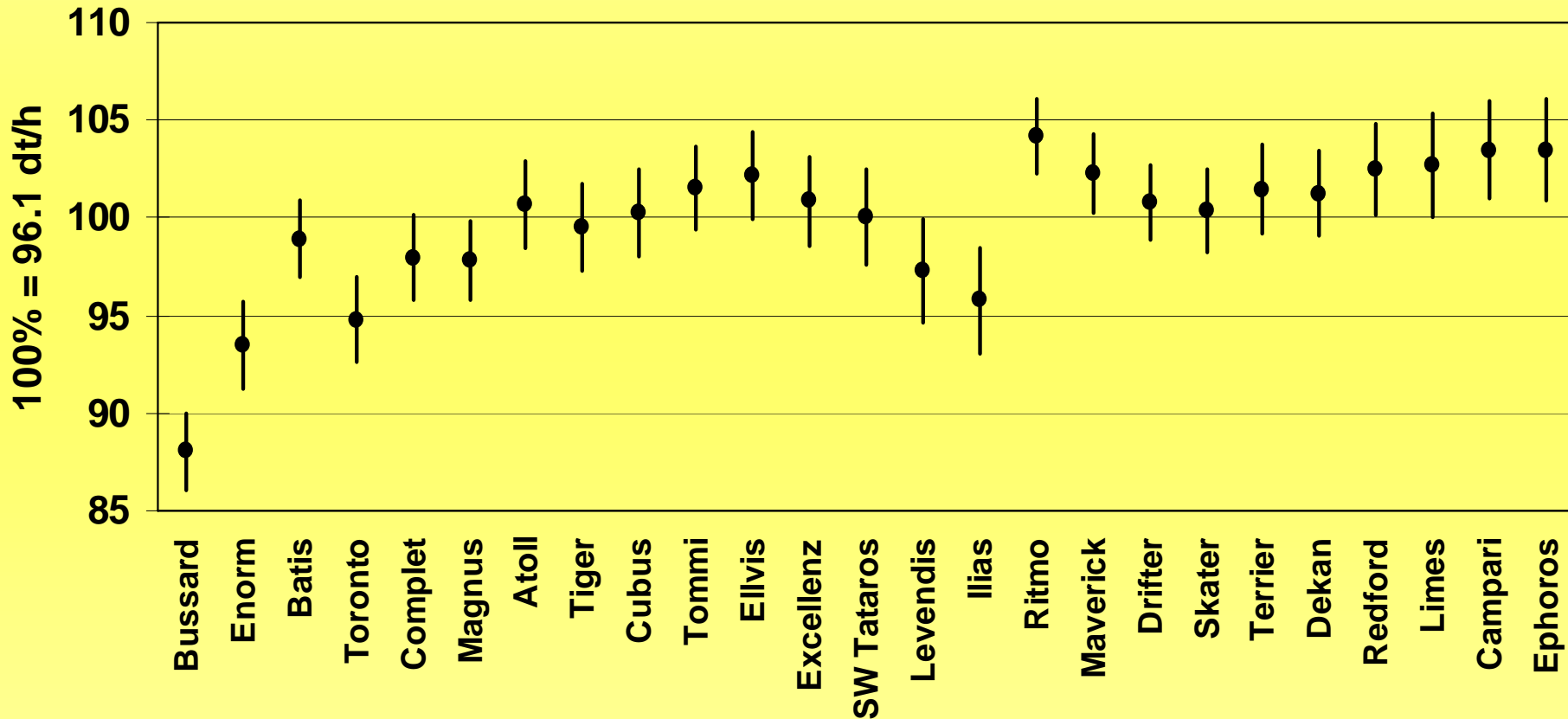
controls the statistical analysis;

connects PIAF and SAS by the procedure library of analysis algorithms

| Sort | Name | Label  | Autor                            |
|------|------|--|----------------------------------|
| 9999 | MW   | Hohenheim-Güzlzower Serienauswertung - Bestimmung der Mittelwerte  | Michel / Zenk / Möhring / Piepho |
| 9999 | PHI  | Hohenheim-Güzlzower Serienauswertg. - optimale Datentransformation | Michel / Zenk / Möhring / Piepho |
| 9999 | VK   | Hohenheim-Güzlzower Serienauswertung - Varianzkomponenten          | Michel / Zenk / Möhring / Piepho |

# Output of PIAFStat-procedure „MW“

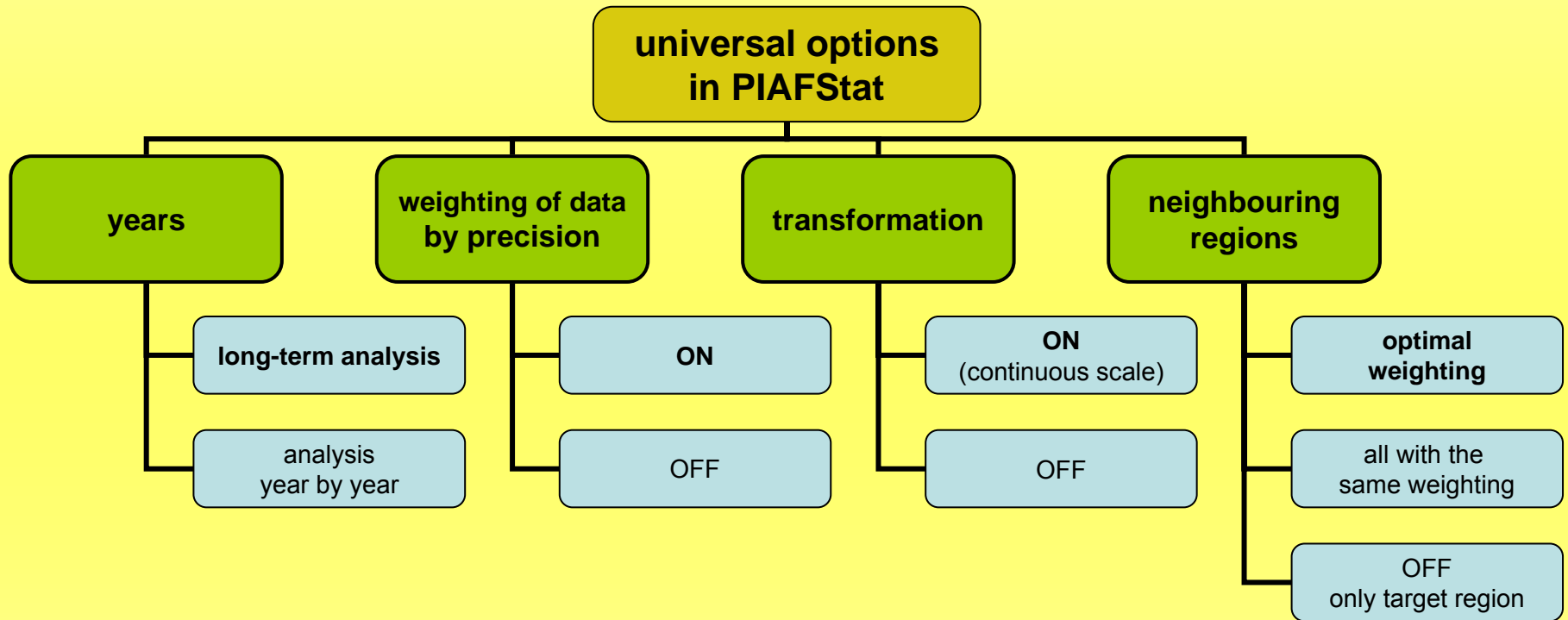
## Estimated means and confidence intervals for paired comparisons



„Means with non-overlapping intervals are significantly different according to a t-test.“  
 Hochberg et al., 1982 and Piepho, 2000



# „Hohenheim-Gülzow-method“ as the basic procedure in the analysis of all our series of trials





# Summary (1)

- Number of trials has been reduced in German variety testing. There is an increased need to optimally exploit all information available from variety trials.
- The Hohenheim-Gülzow-method increases the earliness and precision of regional variety recommendations.
- The database can be enlarged by using unbalanced long-term series, including pre-registration trial systems and trials from neighbouring regions with optimal weighting.
- The method comprises the following features:
  - unbalancedness,
  - regional neighbourhood and similarity,
  - heterogeneous standard errors,
  - non-additive data behaviour.



# Summary (2)

- Key statistical features are:
  - two-stage analysis,
  - Box-Cox transformation of data,
  - multi-environment mixed model,
  - handling of unbalancedness,
  - overlapping regionalization and optimal weighting of neighbouring regions.
- The method has been integrated in the procedure library of PIAFStat as a modul of the PIAF system.
- „Hohenheim–Gülzow-method“ is the basic procedure in the analysis of all series of trials.
- Ministers of Agriculture decided, that this method is going to be standard in the post-registration variety testing in Germany.
- In the federal states of Mecklenburg-Western Pomerania and Bavaria this has already been successfully implemented.

