

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

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

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

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

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

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

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

106 - Nabhan, S.¹⁾; Felgentreu, D.²⁾; Wydra, K.³⁾

¹⁾ Leibniz Universität Hannover; ²⁾ Julius Kühn-Institut; ³⁾ Georg-August-Universität Göttingen

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

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

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

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

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

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

107 - Gehring, I.¹⁾; Wensing, A.²⁾; Geider, K.³⁾

¹⁾ Heidelberger Institut für Pflanzenwissenschaften; ²⁾ Jacobs University Bremen; ³⁾ Julius Kühn-Institut

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

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

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

108 - Kubel, M.¹⁾; Gehring, I.²⁾; Geider, K.³⁾

¹⁾ Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin; ²⁾ Heidelberger Institut für Pflanzenwissenschaften;

³⁾ Julius Kühn-Institut

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

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

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

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

Julius Kühn-Institut

Molekulare Analyse von *Erwinia amylovora* Phagen

Molecular analysis of *Erwinia amylovora* phages

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

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

Georg-August-Universität Göttingen

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

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