

50-5 - Thiel, H.; Varrelmann, M.  
Institut für Zuckerrübenforschung

### **Physikalische Interaktion zwischen dem Pathogenitätsfaktor P25 des *Beet necrotic yellow vein virus* und einem F-box Protein aus Zuckerrübe, welches an der Auslösung einer hypersensitiven Reaktion beteiligt ist**

Die viröse Wurzelbärtigkeit, die bei Zuckerrübe durch BNYVV verursacht und durch *P. betae* übertragen wird, ist durch Anbau teilresistenter Genotypen kontrollierbar. Das Virus, welches sich von infizierten Haarwurzeln in die Hauptwurzel ausbreitet, wird durch diese Genotypen in Replikation und Transport gehindert.

BNYVV besteht aus vier bzw. fünf RNA Segmenten und kodiert auf RNA3 das Genprodukt P25, welches für Ertragsminderung, Translokation des Virus im Wurzelsystem und Symptomausprägung verantwortlich ist. Um die weitgehend unbekannt Funktionen von P25 charakterisieren zu können, wurde erstmals mittels „yeast-two hybrid“ eine BNYVV infizierte Rz2 resistente Zuckerrüben cDNA Bibliothek auf Proteininteraktion mit P25 getestet. Die verbliebenen 35 cDNA Kandidaten wurden mittels Datenbankanalysen überprüft.

Interessant zeigte sich ein F-box Protein, welches an der Induktion einer Zelltodreaktion nach transients Agroexpression in *N. benthamiana* beteiligt ist. F-box Proteine sind an der Proteindegradation als Komplexproteine der E3 Ligase identifiziert worden und binden durch bestimmte Proteindomänen Zielproteine, die am 26S Proteasom abgebaut werden. Nach Herstellung von Vollängen-Klonen aus resistenten und anfälligen Zuckerrübenlinien konnte die Interaktion mit P25 *in vitro*, wie auch die Zelltodinduktion in Tabak durch Expressionsnachweis von PR-Proteinen bestätigt werden. Final soll die F-box Expression im infizierten und gesunden Blatt- und Wurzelgewebe mittels Northern Blot überprüft und eine Beteiligung des F-box Proteins am BNYVV Resistenzmechanismus gezeigt werden.

50-6 - Bornemann, K.; Varrelmann, M.  
Institut für Zuckerrübenforschung

### **Beladung von *Polymyxa betae* mit verschiedenen Isolaten des *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) und Analyse der resistenzüberwindenden Eigenschaften**

Die viröse Wurzelbärtigkeit der Zuckerrübe wird durch BNYVV ausgelöst, welches durch *Polymyxa betae* übertragen wird. Die Virustypen A und B besitzen vier RNAs, wobei die Typen P und J eine zusätzliche fünfte RNA besitzen, welche im P-Typ für eine höhere Aggressivität verantwortlich gemacht wird. Trotz der Verwendung von Genotypen mit dem Resistenzgen Rz1 kommt es an mehreren Standorten in den USA und Spanien seit einigen Jahren zu Resistenzüberwindungen. Als Ursache hierfür wird der steigende Selektionsdruck auf den Pathogenitätsfaktor P25 angesehen. Durch den Anbau von Rz1-toleranten Sorten kommt es möglicherweise zu einer erhöhten Mutationshäufigkeit auf einem bestimmten Abschnitt auf dem P25-Gen. Es ist unklar, ob *P. betae* an der Resistenzüberwindung beteiligt ist.

In Gewächshausversuchen sollte gezeigt werden, ob die Pathogenität von unterschiedlichen BNYVV-Isolaten von der Vektorpopulation beeinflusst wird. Dazu wurde erstmals eine BNYVV-Beladung eines *P. betae*-haltigen Bodens mit verschiedenen resistenzüberwindenden BNYVV-Isolaten durchgeführt. Als Inokulum diente hierzu ein *C. quinoa* Presssaft. Anschließend wurden die Bodenproben mit gleicher Vektorpopulation, jedoch unterschiedlichen BNYVV-Isolaten, für einen Resistenztest mit anfälligen, Rz1- sowie Rz1+Rz2-Hybriden eingesetzt. Eine Beladung von *P. betae* konnte nachgewiesen werden. Die im Feld und in Gewächshausversuchen beobachteten Rz1-resistenzüberwindenden Eigenschaften eines französischen P-Typ Isolates und eines A-Typ Isolates aus Imperial Valley (USA) konnten mit dieser Methode reproduziert werden.

50-7 - Fischer, M.  
Julius Kühn-Institut

### ***Fomitiporia mediterranea* (Basidiomycetes) als Weißfäule-Erreger an Esca-erkrankten Reben: Sporulation und Wirtsbesiedelung im Freiland**

Von den mittelmeerischen Anbaugebieten ausgehend, hat die Esca-Krankheit vor etwa zehn Jahren auch die zentraleuropäischen Weinbau-Regionen erreicht. Der jährlich sichtbare Befall kann hier inzwischen bis zu 5 % und mehr der Stöcke betreffen, mit über die Jahre zunehmender Tendenz. Verursacht wird die Krankheit von verschiedenen Pilzen, die wohl in einer Sukzession aufeinanderfolgen. Die mitosporischen Pilze *Phaeoconiella chlamydospora* und/oder *Phaeoacremonium aleophilum* würden demnach bereits in Pflanzgut zu finden sein. Die

durch den Basidiomyceten *Fomitiporia mediterranea* (Fmed) verursachten Symptome kommen dagegen erst in Ertragsanlagen, ab einem Alter von etwa 5 Jahren, sichtbar vor. Der Anteil der von Fmed befallenen Rebstöcke kann in älteren Anlagen 100 % erreichen; dieser innere Befall korreliert demnach nicht mit der sichtbaren Symptomatik.

*F. mediterranea* bildet perennierende krustenförmige Fruchtkörper vor allem im Stammkopf-Bereich sichtbar erkrankter Reben; über *Vitis* hinaus wird im Schwerpunkt des Auftretens, dem Mittelmeerraum, eine Reihe anderer Laubgehölze besiedelt. Die der Verbreitung dienenden Basidiosporen werden in Abhängigkeit von der Tagesmitteltemperatur gebildet. An Fruchtkörpern im Freiland befestigte Sporenfallen zeigen demnach eine maximale Sporenfreisetzung bei Durchschnittstemperaturen von  $> 10\text{ °C}$ ; im Frühjahr können Fruchtkörper innerhalb weniger Tage vom inaktiven in einen aktiven Zustand übergehen; begleitet wird dieser Vorgang in der Regel von einer charakteristischen Veränderung des äußeren Erscheinungsbildes. Regen-Ereignisse haben offensichtlich wenig Einfluss auf die Anzahl der freigesetzten Sporen, führen aber zu erhöhten Sporenfängen in Arealen frei von Fruchtkörpern. In der Luft vorhandene Sporen werden anscheinend durch Regen ausgewaschen und führen auf diese Weise zu verstärktem Infektionsdruck.

Die Daten zur Sporulation wurden aus mehrjährigen Versuchen an Standorten im Weinbaugebiet Baden gewonnen und lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Start Sporulation: bei Durchschnittstemperaturen  $> 10\text{ °C}$  (Ende März, April)
- Ende Sporulation: bei Durchschnittstemperaturen  $\sim 5\text{ °C}$  (Ende November, Dezember)
- Dauer Sporulation: recht einheitlich für verschiedene Fruchtkörper, 190 – 250 d
- Sporulation und Regen: wenig erhöht durch/nach Regen
- Sporenverbreitung und Regen: erhöht durch/nach Regen.

Während der Standzeit der jeweiligen Rebe kommt es zu wiederholten Infektionen mit Fmed; die daraus resultierenden verschiedenen Individuen existieren Seite an Seite in der Wirtspflanze und lassen sich durch Paarungstests der isolierten heterokaryotischen Mycelien nachweisen. Im Gegensatz dazu kann ein einzelnes Individuum des Pilzes auch den gesamten Stock besiedeln, entsprechend einer räumlichen Dimension von 1 m und mehr.

Die vom Pilz verursachte Weißfäule wird erst in älteren Reben deutlich, vor allem benachbart zu Schnittwunden, die als bevorzugte Eintrittspforte dienen. Über ein nested-PCR-Verfahren, basierend auf dem Bereich ITS1-5.8S-ITS2 und darauffolgendem Einsatz der spezifischen Primer Fmed1 und Fmed2 [1], lässt sich Fmed in Einzelfällen bereits an Schnittwunden und im dazu benachbarten Holz nachweisen. Ob es sich dabei um bereits etabliertes Mycel und/oder lediglich um eingewehte Sporen handelt, kann nicht entschieden werden – Kultivierungsversuche aus diesem Bereich bleiben regelmäßig ohne Ergebnis.

Fruchtkörper von Fmed finden sich bevorzugt an Totstöcken; unter geeigneten Bedingungen kann die Anzahl von Fruchtkörpern rasch zunehmen, die Entfernung von Totstöcken aus betroffenen Anlagen ist im Sinne einer langfristigen Kontrolle von Fmed jedenfalls sinnvoll.

Literatur

- [1] Fischer, M. 2006. Biodiversity and geographic distribution of basidiomycetes causing esca-associated white rot in grapevine: a worldwide perspective. *Phytopathologia Mediterranea* 45: S30-S42.

50-8 - Mühlbach, H.-P.; Tantau, H.; Schulze, J.; Vogel, S.; Valdez Aguirre, N.; Schultz, D.  
Universität Hamburg

### **Multiple biotic agents associated with dieback disease of *Dalbergia sissoo* Roxb. in Bangladesh**

Dieback of sissoo (*Dalbergia sissoo*) has been recognized since 1993 as a dramatic threat for timber production and forestry on the Indian subcontinent. Abiotic and biotic factors are discussed, but the causal agent(s) have not yet been identified unequivocally.

Our studies are focused on the molecular characterization of putative pathogens in specimen from dieback affected sissoo trees collected at various sites in Bangladesh. *Fusarium oxysporum* and *Lasiodiplodia theobromae*, pathogens of dieback of various tropical trees, were identified via ribosomal ITS sequencing, while *Fusarium solani*, claimed to be one of the major causes of sissoo dieback, was not detected. In search for viral infection, virus-like particles of 60 – 130 nm in diameter were observed by electronmicroscopy. Isolation of dsRNA allowed cloning and sequencing of cDNA fragments with similarity to viral RdRp. Bacteria were isolated by standard techniques of microbiology. Sequences of 16S rDNA and typical bacterial genes (RNAPol, RNaseP, gyrase, oprI, AtpD, gacA) revealed that still unassigned bacteria belonging to genus *Pseudomonas* were associated with sissoo