

leucine-rich repeat (CC-NBS-LRR) Proteinen gehört. Mit Hilfe eines transienten Expressionssystem in *Nicotiana benthamiana* konnten wir bereits zeigen, dass das Transportprotein TGB1 von BNYVV das Avirulenzgen von *Rz2* darstellt. In Koexpression mit *Rz2* entwickelte sich eine Hypersensitivitätsreaktion (HR) mit anschließendem Zelltod. Diese HR-Reaktion trat auch auf, wenn das TGB1 Protein des nahe verwandten *Beet soil-borne mosaic virus* (BSBMV) in Koexpression mit *Rz2* inkuliert wurde.

Neben den Benyviren besitzen auch Pomoviren aus der Familie der *Virgaviridae* TGB1 Proteine, und Vertreter wie das *Beet virus Q* (BVQ) und *Beet soil-borne virus* (BSBV) besiedeln Zuckerrüben häufig in Mischinfektion mit BNYVV. Bisher wurde jedoch nicht geprüft ob diese beiden Viren auch von *Rz2* erkannt werden. Obwohl die Sequenzhomologie zu BNYVV/BSBMV sehr gering ist, lösten auch die TGB1 Proteine von BVQ und BSBV eine HR im transienten Expressionssystem aus. Darüberhinaus konnte ebenfalls für das TGB1 Protein des *Potato mop-top virus* HR-Induktion nachgewiesen werden, welches ebenso zu den Pomoviren gehört, aber Zuckerrübe nicht Teil des Wirtskreises ist. Somit konnte erstmalig nachgewiesen werden, dass *Rz2* und damit ein antivales R-Protein in der Lage ist, TGB1 Proteine von Pflanzenviren aus unterschiedlichen Familien zu erkennen. Die TGB1 Proteine von BNYVV, BSBMV, BSBV, BVQ und PMTV weisen lediglich in den Domänen der NTPase/Helikase Sequenzhomologie auf, weshalb hier eine spezierübergreifende Erkennung durch *Rz2* möglich erscheint und daher weiter geprüft werden soll.

Neben dem transienten Expressionssystem wurden auch transgene *N. benthamiana* Pflanzen erzeugt, die *Rz2* konstitutiv exprimierten. Es wurden zwei T₃-Linien (I und II) selektiert, die sich in ihrem Resistenzphänotyp unterschieden. Hierbei zeigte Linie I eine Hypersensitivitätsreaktion, die die initiale Infektion mit BNYVV nicht verhindern konnte. Die Linie II hingegen wies eine extreme Resistenz auf, wodurch selbst die initiale Infektion unterblieb. Die Expressionsanalyse von *Rz2* zeigte eine stärkere Expression in der Linie II mit extremer Resistenz. Mit dem transgenen Ansatz konnte gezeigt werden, dass die Signalwege, die zu einer *Rz2* vermittelten HR führen hoch konserviert sind.

15-4 - Aktuelle Studien zur Sensitivität von *Phakopsora pachyrhizi* Einzelsporisolen gegenüber Demethylierungs-Inhibitoren (DMIs)

Current studies on the sensitivity of Phakopsora pachyrhizi single spore isolates to demethylation-inhibitors (DMIs)

Sarah Stilgenbauer¹, Gerd Stammler¹, Ulrike Steiner²

¹BASF SE, Agricultural Research Station, 67117 Limburgerhof, Germany

²Institute of Crop Science and Resource Conservation (INRES – Phytomedicine), University of Bonn, 53113 Bonn, Germany

Since Asian soybean rust (ASR), caused by the biotrophic basidiomycete *Phakopsora pachyrhizi*, was first reported in South America in 2001, the disease has become a major economic threat to soybean growers. In the first years after appearing in Brazil, ASR was responsible for grain losses of more than four million tonnes and in some areas without control measures yield losses up to 90 % were reported. As a result, the use of fungicides from different classes of active ingredients has increased and the number of listed fungicides in Brazil has risen from 5 to 117 over the period 2002-2015 (Godoy et al., 2016). In this period, demethylation-inhibitors (DMIs) and quinone outside inhibitors (QoIs) were most commonly used. In recent years the succinate dehydrogenase inhibitors (SDHIs) have additionally reached a large market in ASR-control. Continual selection pressure of QoIs and SDHIs has led to an adaptation of the *P. pachyrhizi* population in the field. In addition, a continuous shift of the population towards a reduced sensitivity for DMIs has been observed. The target gene of the DMIs, which belongs to the class of sterol biosynthesis inhibitors (SBIs), is *CYP51*.

Beside the overexpression of the *CYP51* gene, the most common mechanism for the reduced sensitivity to DMIs is the accumulation of point mutations resulting in different haplotypes. Mutations already known to lead to a lower efficacy and increased ED50-values against DMIs

are F120L, Y131F/H, K142R, I145F and I475T. Some of these mutations have already been found in combinations while others occur primarily alone (Schmitz et al., 2014). In order to classify the different haplotypes in their performance, single spore isolates of *P. pachyrhizi* were obtained for the first time. Such isolates with different accumulations of point mutations are the basis for the following research. The single spore isolates were tested in detached leaf tests for their sensitivity to gain a better understanding of how the prior mentioned mutations affect sensitivity to DMIs. Additionally, genetic studies were carried out by cloning and sequencing of the *CYP51* to determine whether the mutations occur in combinations on one strand or separately. The data also indicate that the isolates might be equipped with different types of *CYP51*, enabling the isolates to survive under variable environmental conditions (e.g. with or without DMI selection pressure).

Literatur

- GODOY, C. V., SEIXAS, C. D. S., SOARES, R. M., MARCELINO-GUIMARÃES, F. C., MEYER, M. C., COSTAMILAN, L. M. (2016). ASIAN SOYBEAN RUST IN BRAZIL: PAST, PRESENT, AND FUTURE. PESQUI AGROPECU BRAS, 51(5), 407-421.
- SCHMITZ, H. K., MEDEIROS, C. A., CRAIG, I. R., STAMMLER, G. (2014). SENSITIVITY OF PHAKOPSORA PACHYRHIZI TOWARDS QUINONE-OUTSIDE-INHIBITORS AND DEMETHYLATION-INHIBITORS, AND CORRESPONDING RESISTANCE MECHANISMS. PEST MANAG SCI, 70(3), 378-388.

15-5 - Standardisierte bioinformatische Verfahren in der Auswertung von Genomsequenzierungen des Apfelwickler-Granulovirus erlauben die Identifizierung von homo-, heterogenen und gemischten Isolaten

*Standardized bioinformatic workflows in the analysis of genome sequenced isolates of the *Cydia pomonella granulovirus* allow the deciphering of their genetic compositions*

Jörg T. Wennmann, Jiangbin Fan, Johannes A. Jehle

Julius Kühn-Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz, Heinrichstraße 243, 64287 Darmstadt

Als eines der erfolgreichsten biologischen Präparate zur Bekämpfung des Apfelwicklers, *Cydia pomonella* (L.), wird das Apfelwickler-Granulovirus, *Cydia pomonella granulovirus* (CpGV), im ökologischen und integrierten Kernobstanbau eingesetzt. Der Einsatz im Kernobstanbau wird jedoch beeinflusst durch das Auftreten von resistenten bzw. minderempfindlichen Feldpopulationen des Apfelwicklers gegenüber im Einsatz befindlichen CpGV-Isolaten. Auf der Suche nach neuen Isolaten mit resistenzbrechenden Eigenschaften kommen verstärkt moderne Technologien der Genomsequenzierung zum Einsatz, um die genotypische Zusammensetzung von Isolaten zu entschlüsseln. Insbesondere die Nanopore-Technologie bietet dazu eine schnelle und einfach zu handhabende Methode. Die Auswertung der Daten der Sequenzierung erfolgt dabei mittels standardisierter bioinformatischer Verfahren, welche eine schnelle und zuverlässige Bestimmung der Zusammensetzung von Isolaten ermöglichen. Zur Charakterisierung der Zusammensetzung eines Isolates eignen sich besonders Positionen von Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs), welche verteilt über das ganze CpGV-Genom als spezifische Marker zur Identifizierung herangezogen werden können. Durch die Positionen und Häufigkeiten von isolatspezifischen SNPs in den Sequenzdaten lassen sich bekannte von neuen Isolaten unterscheiden sowie Aussagen über die Homo- sowie Heterogenität eines Isolates treffen. Eine große Herausforderung stellt die Bestimmung von SNP-Spezifitäten über mehrere sequenzierte CpGV-Isolate dar, weil spezifische SNP-Positionen über Isolate mit unterschiedlicher Genomlänge hinweg gültig bleiben müssen. In einem neu entwickelten und standardisierten Verfahren zur Bestimmung von isolatspezifischen Positionen wurde die Analyse zur Identifizierung von homo- und heterogenen Isolaten sowie Mischungen in Verbindung mit der Nanopore-Technologie für das CpGV erprobt.