

05-2 - Frühe Ereignisse bei der Infektion der Weinrebe (*Vitis vinifera*) mit dem Falschen Mehltau (*Plasmopara viticola*)

Early events in the interaction between grapevine (Vitis vinifera) and Downy Mildew (Plasmopara viticola).

Patrick Merz, Maïke Müller², Günther Buchholz² Andreas Kortekamp, Jochen Bogs³

DLR Rheinpfalz – Abteilung Phytomedizin, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Deutschland,

²RLP AgroScience/AIPlanta-Institute for Plant Research; Neustadt/Weinstrasse, Breitenweg 71

³DLR Rheinpfalz, Studiengang Weinbau und Oenologie, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Deutschland

Falscher Mehltau hervorgerufen durch den im 19. Jhdt. aus den U.S.A. eingeschleppten obligat biotrophen Oomyceten *Plasmopara viticola*, ist einer der bedrohlichsten Rebkrankheiten in Mitteleuropa. Die Krankheit erfordert regelmäßige Applikationen organisch-chemischer Fungizide im konventionellen oder von Kupferpräparaten im ökologischen Weinbau bei den gängigen Rebsorten. So werden 58,2 % aller Fungizide auf weinbaulichen Flächen verwendet, die aber nur 4,9 % der Europäischen Agrarfläche ausmachen (EUROSTAT 2007, Durchschnitt von 5 Jahren 1999-2003). Verschiedene Resistenzquellen gegenüber dem Falschen Mehltau wurden in verschiedenen Amerikanischen und Asiatischen *Vitis*-Wildarten beschrieben und in der Resistenzzüchtung eingesetzt. Die frühen Vorgänge des Infektionsprozesses scheinen entscheidend für die erfolgreiche Etablierung des Pathogens innerhalb des Gewebes der empfindlichen Europäischen Rebe zu sein. Auf der anderen Seite aber auch für der erfolgreiche Abwehr im Falle der toleranten interspezifischen Hybriden und resistenten Wildarten.

Im Rahmen des Kooperationsprojekts "BACCHUS - Grenzüberschreitendes Netzwerk für Forschung und Wissenstransfer für nachhaltigen Weinbau" unterstützt durch das EU-Programm Interreg IV Oberrhein wurden in Zusammenarbeit mit dem DLR Kompetenzzentrum Weinforschung Tests durchgeführt, die sich auf die frühen Infektionsstadien konzentrierten. Dazu wurden das physiologische Verhalten sowohl des Wirtsgewebes als auch des Pathogens in diesen Zeiträumen analysiert. Mittels quantitativer PCR wurde die Expression verschiedener Marker-Gene des Wirtes gemessen. Zur Beobachtung der frühen Infektionsstadien und des Infektionsprozesses zu diesen Zeitpunkten wurden neue Färbemethoden für die Fluoreszenzmikroskopie entwickelt und optimiert.

05-3 - Funktion von Nekrosen- und Ethylen-induzierenden Peptid 1-ähnlichen Proteinen während früher Infektionsstadien des obligat bitrophen Oomyceten *Plasmopara viticola*

Role of necrosis- and ethylene-inducing proteins during early infection stages of the obligate biotrophic oomycete Plasmopara viticola

Stefan Schumacher, René Fuchs, Johannes Fahrentrapp², Ralf T. Vögele³, Hanns-Heinz Kassemeyer

Staatliches Weinbauinstitut Freiburg

²ETH Zürich

³Universität Hohenheim

Nekrosen- und Ethylen-induzierende Peptid 1 (NEP1)-ähnliche Proteine (NLPs) bilden eine große und weitverbreitete Familie von Proteinen in unterschiedlichsten pro- und eukaryotischen Mikroorganismen (Gijzen und Nürnberger, 2006). NLPs induzieren mehrere Mechanismen der Pflanzenabwehr wie z.B. die Aktivierung von MAP-Kinasen, die Produktion von Ethylen, sowie die Induktion einer Zelltodreaktion (Fellbrich et al., 2002). Wenngleich vermutet wird, dass diese Proteine in nekrotrophen und hemibiotrophen Pflanzenpathogenen zur Virulenz und Pathogenität beitragen

(Ottmann et al., 2009), ist ihre Funktion in obligat biotrophen Pathogenen, wie beispielsweise dem Oomyceten *Plasmopara viticola*, dem Erreger des Falschen Mehltaus der Weinrebe, bislang unbekannt.

In Zusammenarbeit mit dem INRA in Bordeaux (Frankreich) konnten drei Sequenzbereiche innerhalb des *P. viticola* Genoms identifiziert werden, welche für potentielle NLPs kodieren. Mittels bioinformatischer Verfahren wurden erhebliche Unterschiede in den Gensequenzen und den daraus translatierten Aminosäuresequenzen festgestellt. In einem der Gene wurde beispielsweise durch die Deletion einer einzelnen Base eine Leserasterverschiebung verursacht, welche zu einem verkürzten, wahrscheinlich funktionslosen Protein führt. Durch Sequenzierungen von *P. viticola* Isolaten von toleranten und anfälligen Rebsorten, aus verschiedenen Weinbauregionen Deutschlands und Frankreichs, konnte gezeigt werden, dass diese Proteine in einer hoch konservierten Form vorliegen. In phylogenetischen Analysen bilden diese Proteine eine Gruppe mit NLPs anderer biotropher Pathogene, welche sich zu NLPs hemibiotropher Pathogene abgrenzen.

Alle drei Gene zeigen eine starke Induktion der Expression in den ersten 12 Stunden der Infektion, beginnend mit dem Freisetzen der Zoosporen aus den Sporangien. Ausgehend von diesen Ergebnissen lässt sich eine neue, bislang unbekannte Funktion der NLPs biotropher Pathogene zu denen hemibiotropher Pathogene vermuten. Eine Lokalisation der fluoreszenz markierten Proteine auf subzellulärem Level, zeigte keine Unterschiede zur Lokalisation des *Phytophthora infestans* NPP1. Bei transients Expression der NLPs von *P. viticola* in *Nicotiana benthamiana* konnte, im Vergleich zu NPP1, allerdings keine Nekrosen-induzierende Funktion festgestellt werden.

Literatur

Fellbrich, G., Romanski, A., Varet, A., Blume, B., Brunner, F., Engelhardt, S., Felix, G., Kemmerling, B., KRZYMOWSKA, M. and NÜRNBERGER, T., 2002, NPP1, a Phytophthora-associated trigger of plant defense in parsley and Arabidopsis, *Plant J.*, **32**.

GUZEN, M. and NÜRNBERGER, T., 2006, Nep1-like proteins from plant pathogens: Recruitment and diversification of the NPP1 domain across taxa, *Phytochemistry*, **67**.

Ottmann, C., Luberaacki, B., Kufner, I., Koch, W., Brunner, F., Weyand, M., Mattinen, L., Pirhonen, M., Anderluh, G., SEITZ H.U., NÜRNBERGER, T. and OECKING, C., 2009, A common toxin fold mediates microbial attack and plant defense, *PNAS*.

05-4 - Erste Hinweise auf eine multiregionale Anpassung von *Plasmopara viticola* an *Vitis*-Genotypen mit partieller Resistenz gegen das Pathogen

First indication of a multiregional adaptation of Plasmopara viticola to Host partial resistance of grapevine genotypes

Hanns-Heinz Kassemeyer, François Delmotte²

Staatliches Weinbauinstitut Freiburg Abteilung Biologie

²INRA Bordeaux Institute des Science

Im europäischen Weinbau werden zunehmend Rebsorten mit quantitativer Resistenz gegen *Plasmopara viticola* angebaut. Größere Parzellen mit diesen Sorten üben einen Selektionsdruck auf die Pathogenpopulation aus, der zu einer differentiellen Anpassung an resistente Genotypen und zu einer Erosion der quantitativen Resistenz führen kann. Wir untersuchten den Grad der Wirtsanpassung in Flächen mit resistenten Rebsorten im Vergleich zu anfälligen in Deutschland, Ungarn und Frankreich. Zu diesem Zweck wurde die genotypische und phänotypische Variabilität von 17 *P. viticola* Isolaten aus Rebflächen mit anfälligen *Vitis vinifera* Sorten und 35 Isolaten von partiell resistenter Sorten analysiert. Die resistenten Genotypen umfassten die Rebsorte 'Regent' und weitere *Vitis*-Genotypen mit dem *Rpv1* Locus (QTL von *Vitis* mit Resistenzmerkmalen bzw. R-Genen gegen *P. viticola*).

Inokulationsexperimente ergaben bei Isolaten aus Flächen mit der partiell resistenten Sorte 'Regent' eine Adaptation von *P. viticola* an diesen Genotyp. Im Phänotyp zeigte diese Population aggressivere Isolate mit erhöhter Sporulationsintensität auf cv. 'Regent'. Diese Erosion der Resis-