

von *R. solani* ist eine der Hauptursachen für die Entwicklung der Wurzelfäule an Zuckerrüben. *R. solani* ist ein bodenbürtiges Pathogen und die Quantifizierung des *R. solani*-Inokulumpotentials eines Bodens ist schwierig. Bis heute existiert noch kein Monitoringsystem das routinemäßig für die Messung von *R. solani*-Bodenkonzentrationen eingesetzt wird. Um den Einfluss von verschiedenen ackerbaulichen Maßnahmen auf das *R. solani*-Inokulumpotential zu untersuchen, wurde innerhalb dieses Forschungsprojektes ein spezifischer molekularbiologischer Assay zur Erregerquantifizierung im Boden entwickelt. Der Assay basiert auf der Kombination eines Köderverfahrens mit Quinoa (*Chenopodium quinoa*) Samen und der anschließenden Quantifizierung von *R. solani* AG2-2 mittels Real-Time PCR (qPCR) (Quinoa-qPCR-Assay). Entnommene Feldbodenproben werden zuerst gesiebt und anschließend in 300 g-Teilproben portioniert. Anschließend werden Quinoa-Samen auf dem zu analysierenden Boden ausgelegt um dort das aktiv wachsende Myzel von *R. solani* zu ködern. Die Inkubationszeit beträgt 5 Tage, danach wird DNA aus den Quinoa Samen extrahiert um im Anschluss mittels qPCR *R. solani* AG2-2 zu quantifizieren. Um die Anzahl an Sklerotien im Boden mit dem Quinoa-qPCR-Assay abzuschätzen, wurde eine Standardkurve mit bekannten *R. solani* Mengen erstellt. Zur Inokulation wurden *R. solani*-infizierte Mohnsamen, die in Größe und Form vergleichbar mit typischen Sklerotien von *R. solani* sind, verwendet. Wobei ein mit *R. solani* bewachsener Mohnsamen einem Sklerotium bzw. einer Infektionseinheit (IE) entspricht. Der Quinoa-qPCR-Assay war sehr sensitiv (1 IE in 1 kg Erde) und schnell (7 Tage). Eine Mischprobe von 300 g Erde war für eine Standard-Bodenbeprobung am kosten- und zeiteffektivsten. Je nach Ausstattung können bis zu 100 Bodenproben gleichzeitig analysiert werden. Erste Ergebnisse werden vorgestellt.

Literatur

BUDGE, G. E., M. W. SHAW, A. COLYER, S. PIETRAVALLE, N. BOONHAM, 2004: Molecular tools to investigate *Rhizoctonia solani* distribution in soil. *Plant Pathol.*, **58**, 1071–1080.

24-4 - Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) in der Virusdiagnose

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for virus diagnosis

Heiko Ziebell

Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) kann zur isothermalen Amplifikation von Nukleinsäuren genutzt werden. Gegenüber herkömmlichen PCR-Methoden weist LAMP einige Vorteile auf: Die Amplifikation bei konstanter Temperatur kann so z. B. auch in Wasserbädern oder Inkubatoren durchgeführt werden. Die besonderen Eigenschaften der genutzten Primer sowie der Polymerase erlauben eine schnellere Amplifikation der Zielregion im Vergleich zur (RT)-PCR, so dass positive Ergebnisse bereits nach 15 Minuten erzielt werden können; ein Extraschritt für die reverse Transkription von RNA entfällt. Zur Auswertung stehen verschiedene Methoden (Gelelektrophorese, Trübungsreaktionen, Farbumschlag, Fluoreszenzmessung) zur Verfügung. Zur Diagnose von Pflanzenviren mit RNA- oder DNA-Genom wurden verschiedene LAMP-Protokolle erfolgreich entwickelt.