

128 - Entwicklung von *Rhizoctonia solani* Kühn an Kartoffelschnittlingen

Studies on the development of Rhizoctonia solani Kühn on potato plantlets

Franziska Genzel, Kerstin Lindner², Katja Muders³, Rita Grosch

Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau, Theodor Echtermeyer Weg 1, 14979 Großbeeren, Deutschland, genzel@igzev.de, grosch@igzev.de

²Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland

³Norika GmbH, Nordring- Kartoffelzucht- und Vermehrungs- GmbH Groß Lüsewitz, Parkweg 4, 18190 Sanitz, Deutschland, muders@norika.de

Rhizoctonia solani Kühn ist ein weit verbreiteter bodenbürtiger Erreger, verantwortlich für ökonomisch relevante Ertragsverluste an zahlreichen Kulturen. Das Auftreten des Erregers an der Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.) ist ein Problem in nahezu allen Kartoffelanbaugebieten weltweit. Nach Berichten aus der Praxis haben in den letzten Jahren die durch *R. solani* verursachten Qualitätsverluste im Kartoffelbau an wirtschaftlicher Bedeutung zugenommen. Derzeit verfügbare Bekämpfungsmaßnahmen sind unzureichend wirksam. Daher ist die Verfügbarkeit neuer Bekämpfungsstrategien dringend erforderlich. Der Anbau von Sorten mit Resistenz gegen *R. solani* ist eine wirksame Bekämpfungsmaßnahme. Zur Resistenz gegenüber *R. solani* in marktfähigen Sorten bzw. im Genpool der Züchterhäuser stehen jedoch keine Informationen zur Verfügung, da dieses Merkmal bisher in der Züchtung aufgrund fehlender Testverfahren nicht berücksichtigt wurde. Ziel eines Forschungsvorhabens ist die Entwicklung einer Resistenzprüfmethode, deren Bereitstellung der Züchtung erlaubt, das Resistenzpotential in marktfähigen Sorten bzw. im Genpool der Kartoffel gegenüber *R. solani* zu prüfen. Die Verwendung von in vitro produzierten Kartoffelschnittlingen gewährleistet eine Befallsfreiheit von Pathogenen. Zunächst wurde die Entwicklung von *R. solani* an Schnittlingen unter Gewächshausbedingungen untersucht. Diese wurden mit *R. solani* AG-3 inokuliert und der Erreger zu verschiedenen Zeitpunkten in der Wurzel quantifiziert. Ein signifikanter Einfluss von *R. solani* auf die Spross- und Wurzelrockenmasse sowie die Anzahl und Masse an gebildeten Knollen konnte innerhalb des Versuchszeitraums von 6 Wochen nicht nachgewiesen werden. Für die Quantifizierung des Erregers im Pflanzengewebe wurde zunächst eine qPCR etabliert. Bis 4 Wochen nach der Erregerinokulation war eine signifikante Zunahme von *R. solani* in der Wurzel mittels qPCR zu verzeichnen. Sechs Wochen nach der Inokulation von *R. solani* war im Vergleich zur Gesamtwurzelmasse keine weitere Zunahme der Erregermenge in der Wurzel zu beobachten.

129 - Differenzierung verschiedener *Verticillium*-Arten an Meerrettich mittels molekularbiologischer Methoden

Differentiation of various Verticillium species of horseradish via molecular biological methods

Annette Block, Bernhard Hauser, Anne Heinke, Gisela Westermeier, Birgit Zange

Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, Am Hofgarten 4, 85354 Freising, Deutschland

Ein Befall mit *Verticillium* spp. kann in vielen landwirtschaftlichen und gärtnerischen Kulturen große wirtschaftliche Schäden verursachen. In Meerrettich kommen insbesondere drei verschiedene *Verticillium*-Arten in Betracht, die zu Ertragsausfällen und Qualitätseinbußen bei der Verarbeitung führen. An der HSWT wurde eine Methode entwickelt, die diese drei *Verticillium*-Arten (*V. dahliae*, *V. longisporum* und *V. tricorpus*) unterscheidet.

Sie basiert auf der Kombination drei spezifischer PCR-Systeme (Tab. 1). Das erste ITS-System dient dem Nachweis PCR-fähiger DNA basierend auf dem Primerpaar ITS1+ITS4 [1; 4]. Mit Meerrettich-DNA produziert es Amplikons von ~740bp Länge. Bei ausreichender Menge an *Verticillium*-DNA sind zudem PCR-Produkte von ~570bp sichtbar. Die beiden folgenden PCR-Systeme dienen der

Differenzierung der genannten *Verticillium*-Arten. Das Primerpaar Eppo 19+22 [3], amplifiziert spezifisch *V. dahliae* und *V. tricorpus* mit ~ 550bp. Das dritte PCR-System basiert auf Sequenzbereichen eines pilzlichen Paarungsgens (MAT, mating type gen) und wurde an der HSWT für die spezifische Detektion von *V. longisporum* und *V. tricorpus* entwickelt. Es amplifizieren bei diesen beiden *Verticillium*-Arten PCR-Produkte von ~1100bp Länge, *V. dahliae* wird nicht detektiert. Die PCRs wurden mit der FirePol® - und GoTaq® Hot Start DNA Polymerase (Medibena, Promega) etabliert. Die Methode bietet gegenüber einer Isolierung von Einzelsporen mit nachfolgender Sequenzierung eine einfache und relativ kostengünstige Möglichkeit, die drei *Verticillium*-Arten zu unterscheiden. In folgenden Arbeiten wird sie an der HSWT dazu genutzt, die Pathogenität der verschiedenen Arten in Meerrettich zu beschreiben. Aufgrund der vegetativen Vermehrung hat die Methode darüber hinaus eine wichtige phytosanitäre Bedeutung für den Anbauer, da sie die Auswahl gesunder Fehser ermöglicht.

Tab. 1 Oligonukleotide zum Nachweis von *Verticillium* spp. an Meerrettich

Name	Sequenz (5'-3')	TA	Target	Literatur
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	60°C	Internal transcribed Spacer (rDNA)	[1]+[4]
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC			
Eppo 19	CGGTGACATAATACTGAGAG	62°C	Keine Angabe	[3]
Eppo 22	GACGATGCGGATTGAACGAA			
MAT_Vert4F*	CGACAGCTTGATTGACAGCG	62°C	mating type protein	[2] *HSWT
MATa1r[2]	TTTAGCTCATTGTATTGCTCAA			

[1] WHITE T.J., BRUNS T., LEE S., TAYLOR J. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications. (INNIS MA, GELFAND DH, SNINSKY J.J., WHITE TJ, eds). Academic Press, New York, USA, 315–322.

[2] Inderbitzin P., Davis R. M., Bostock R M., Subbarao K. V. (2001): The Ascomycete *Verticillium longisporum* is a Hybrid and a Plant Pathogen with an Expanded Host Range. PLoS ONE 6 (3), 1–13.

[3] ANONYMUS. *Verticillium albo-atrum* und *V. dahliae* on hop. Bulletin OEPP/EPPO 37:528–535.

[4] FAHLESON J., HU Q., DIXELIUS C. (2004): Phylogenetic analysis of *Verticillium* species based on nuclear and mitochondrial sequences. Arch Microbiol 181, 435–442.

130 - Nachweis von *Verticillium dahliae* in Kulturböden als Basis für die Einschätzung des Krankheitsrisikos - 15 Jahre Bodenanalyse in Deutschland

Detection of Verticillium dahliae in Soil as a Basis for Disease Risk Prediction - 15 Years Soil Analysis in Germany

Christian Neubauer, Monika Heupel², Thomas Brand³

Fakultät für Agrarwissenschaften Fachhochschule Osnabrück

²Landwirtschaftskammer NRW, Pflanzenschutzdienst

³Landwirtschaftskammer Niedersachsen

Die Gefäßwelke ausgelöst durch den pilzlichen Erreger *Verticillium dahliae* verursacht in Deutschland vor allem in der Produktion von Erdbeeren und im Baumschulbereich erhebliche ökonomische Verluste. Aufgrund der langen Lebensdauer der gebildeten Mikrosklerotien und des sehr weiten Wirtspflanzenkreises haben Fruchtfolgemaßnahmen wenig Effekt auf das Inokulum im Boden. Die Anwendung chemischer Bodenentseuchungsmittel ist nicht zulässig. Dem Produzenten