

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<sup>®</sup> - und GoTaq<sup>®</sup> 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 Heupel<sup>2</sup>, Thomas Brand<sup>3</sup>**

Fakultät für Agrarwissenschaften Fachhochschule Osnabrück

<sup>2</sup>Landwirtschaftskammer NRW, Pflanzenschutzdienst

<sup>3</sup>Landwirtschaftskammer 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

ten bleibt deshalb als einzige vorbeugende Maßnahme die Einschätzung des Bodeninokulums und daraufhin zielgerichtete Flächenauswahl als Ausweg.

Für die Bodenanalyse des Inokulums und Einschätzung des Krankheitsrisikos wurde vor 15 Jahren ein Test entwickelt, der heute in Deutschland und den angrenzenden Ländern breite Anwendung findet.

Der Nachweis der Mikrosklerotien des Erregers *Verticillium dahliae* erfolgt nach einer Nasssiebung und Ausplattierung des Bodens auf einem Pektat-Selektivmedium. Eine strenge Standardisierung der Analyse im Labor ermöglicht eine hohe Nachweissicherheit und Wiederholbarkeit der Ergebnisse. Seit 15 Jahren führen die Labore der Pflanzenschutzdienste Oldenburg und Bonn sowie der Fachhochschule Osnabrück mit diesem Test 800-1000 Bodenuntersuchungen jährlich durch. Regelmäßige Ringversuche gewährleisten dabei die Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Das Verfahren bietet eine ausreichende Wiederholbarkeit der Ergebnisse.

Eine Differenzierung der pilzlichen Erreger *Verticillium dahliae* und *Verticillium longisporum* kann mit diesem Verfahren nicht gewährleistet werden. Für eine Bewertung der Testergebnisse muss deshalb die Fruchtfolge der Praxisschläge bekannt sein

Umfangreiche Feldversuche haben die signifikante Korrelation zwischen dem Ausmaß der Bodenverseuchung und den auftretenden Pflanzenschäden in Erdbeeren oder Ahornpflanzungen belegt. Für Erdbeeren wurde auf diesen Versuchen basierend ein 5-Klassen-System für die Gefährdungseinstufung entwickelt. Dieses Verfahren hat in der praktischen Anwendung große Akzeptanz gefunden und ist eine erfolgreiche Maßnahme des Integrierten Pflanzenschutzes.

### **131 - Selektion resistenter Salatsorten mittels Chlorophyllfluoreszenz-Bildanalyse bei *Bremia lactucae***

*Selection of resistant lettuce cultivars using chlorophyll fluorescence imaging on *Bremia lactucae**

**Elke Bauriegel, Hanna Brabandt, Ute Gärber, Werner B. Herpich**

Die zunehmende räumliche und rassenspezifische Variabilität des *Bremia-lactucae*-Erregers bei Salat erschwert die Züchtung neuer, gegenüber Falschem Mehltau resistenter Sorten erheblich. Im Rahmen eines BLE-Projektes wurde ein System entwickelt, das die Möglichkeit nutzt, resistente Linien von Kopf- und Bataviasalat mittels bildgebender Chlorophyllfluoreszenzanalyse (CFA) gegenüber anfälligen Linien zu bestimmen. Um möglichst praxisnah zu arbeiten, bauen die Untersuchungen mit der CFA auf bestehende visuelle Methoden zur Testung der Anfälligkeit von Kopfsalat- und Batavia-Sorten auf und wurden auf diese abgestimmt. Als einfach und schnell bestimmbarer CFA-Parameter für die Vitalität der Pflanzen wurde die maximale photochemische Effizienz des Photosystems II ( $F_v/F_m$ ) genutzt. In Klimakammern wurden unter kontrollierten Bedingungen Tests an 7 bis 21 Tage alten Keimlingen durchgeführt. Bei Blattscheibentests wurden Blattstücke aus Laubblättern drei Monate alter Pflanzen ausgestanzt, inokuliert und in einer feuchten Kammer bei 15°C und 12 h Belichtung mit der Rasse Bl:18 inkubiert. Die begleitende visuelle Bonitur nahm Befallsgrad und -intensität, Infektionsgrad mit Sekundärpilzen und auftretende Blattschäden routinemäßig auf.

Mit zunehmendem Befallsgrad nahm  $F_v/F_m$  signifikant ab. Es wurde ein Algorithmus entwickelt, der die Ungleichverteilung der Pixelwerte von  $F_v/F_m$  (0-0,84) bei totem bzw. gesundem Gewebe analysiert. Bei zeitig einsetzendem sichtbarem Befall (5 dai; days after inoculation) war es mithilfe der CFA möglich, zwischen dai 4-8 resistente und anfällige Sorten zu unterscheiden. Befall unter 5% der Blattfläche konnte noch nicht erkannt werden. Für die Befallserkennung bei später einsetzendem bzw. niedrigem Befallsdruck bedarf es noch spezieller optimierter Auswertalgorithmen.