

im Gewächshaus und der anschließenden Laboruntersuchung beträgt die Untersuchungsdauer ca. 6 bis 7 Wochen. Der Virusnachweis direkt an der Knolle könnte demgegenüber eine Zeitersparnis bedeuten.

Von 2008 bis 2010 wurde das Verfahren ELISA an der Knolle nach Behandlung mit Rindite (Gugerli, 1979) gegenüber dem Standardverfahren hinsichtlich der Nachweissicherheit für PLRV, PVY, PVM und PVS an 47 offiziellen Pflanzkartoffelpartien a 112 Knollen je Probe vergleichend geprüft. Außerdem erfolgten in den Jahren 2010 und 2011 an 7 Proben a 100 Knollen vergleichende Untersuchungen zum Nachweis von PLRV, PVY und PVS zwischen den ELISA-Testverfahren und dem für die schnellere Ergebnisbereitstellung bei Exportproben entwickelten qPCR-Verfahren.

Bei den geprüften ELISA-Methoden konnte das derzeit in Europa bedeutendste Kartoffelvirus PVY aus Knollensaft in Keimnähe häufiger und sicherer nachgewiesen werden als im Blattsaft beim Standardverfahren der Augenstecklingsprüfung. Der Nachweis von PLRV und PVM gelang in beiden ELISA-Testverfahren gleichwertig gut. Durch den Knollentest konnte die Prüfungsdauer um bis zu 14 Tage verkürzt werden.

Das entwickelte qPCR-Verfahren zeigte für PLRV, PVY und PVS trotz deutlich früherem Testtermin und Pooluntersuchung eine sehr hohe Nachweissicherheit. Es lag eine nahezu vollständige Übereinstimmung der Poolergebnisse mit den im ELISA festgestellten Kartoffelviren vor.

Abschließend werden die Anwendungsmöglichkeiten der geprüften Knollenteste in der Beschaffenheitsprüfung im Rahmen der Anerkennung von Pflanzkartoffeln diskutiert.

33-6 - Stammler, G.¹⁾; Miessner, S.¹⁾; Schutte, T.²⁾

¹⁾ BASF SE

²⁾ Citrus Research International, South Africa

Phyllosticta-species on Citrus: Species differentiation and sensitivity to QoI fungicides

Citrus black spot, caused by *Phyllosticta citricarpa*, is responsible for substantial losses in citrus in Africa, Asia, America and Australia, affecting all citrus cultivars. According to recent publications several *Phyllosticta* species are known to occur on citrus, which include *P. citricarpa*, *P. citriasiana*, *P. capitalensis*, *P. citribraziliensis* and *P. citrichinaensis* (1). Only *P. citricarpa* and *P. citriasiana* have been proved to be pathogenic, while others are non-pathogenic endophytes on citrus. *P. citricarpa* is the most important pathogen, while *P. citriasiana* has so far only been found on *Citrus maxima* in Asia (2). *P. capitalensis* is a species which is often isolated from citrus fruits, but represents an endophytic, non-pathogenic species on citrus. The aim of the present study was to identify the risk of the three most important species, *P. citricarpa*, *P. citriasiana* and *P. capitalensis*, to become resistant to QoIs. Strains were isolated from different Citrus hosts and identified by morphological and molecular genetic characteristics (4) followed by a comparison with reference isolates from the CBS, Utrecht. The analyses showed a high intraspecific homogeneity but interspecific differences.

All isolates of *P. citricarpa* and *P. citriasiana* were highly sensitive in microtiter tests to the QoI pyraclostrobin, more sensitive than isolates of *P. capitalensis*. EC₅₀ values of field isolates were in narrow ranges and comparable to the corresponding reference isolates within the three different species, which indicates that an adaptation to QoIs has not yet occurred. Analysis of the target gene of QoIs, the cytochrome *b*, revealed that no isolate had amino acid exchanges at positions which are known to reduce QoI sensitivity (codons 129, 137, 143). Additionally, an intron sequence directly after the codon 143 is present in all isolates of *P. citricarpa*. Based on the experiences with other "intron-pathogens" (e.g. *Pyrenophora teres*, *Monilinia laxa*) the occurrence of the G143A mutation, the mutation with highest impact on QoI sensitivity, is rather unlikely (4). Such an intron could not be found for *P. citriasiana* and *P. capitalensis*, which means that the G143A mutation could be expected after high selection pressure as it has been found in other plant pathogens. As precautionary measurements, resistance management strategies should be followed also for *P. citricarpa* especially by limitation of QoI applications, alternation of fungicides with different modes of action and/or by using efficacious mixing partners. This is even more important in regions and farms in Asia where *P. citriasiana* could be found.

The *Phyllosticta* complex is still under investigation, and recent studies led to several new species descriptions. Our studies showed that the cytochrome *b* gene is a valuable tool for species differentiation and identification. One advantage of this gene is its repetitiveness, since it is part of the mitochondrial DNA (mtDNA). This repetitiveness reduces the detection limit, which is favorable for development of reliable PCR assays. Previous studies have shown that mtDNA is appropriate for species and subspecies identification in various fungal genera (5). In particular the intron sequences associated with the cytochrome *b* gene in *Phyllosticta* provide interesting approaches for identification, differentiation and detection of *Phyllosticta* species. Since identification and differentiation of non-pathogenic and pathogenic *Phyllosticta* species on citrus fruits for EU import is important for a reliable detection of the pathogenic quarantine organisms, the findings of this study can also be helpful in developing efficient diagnostic tools for phytosanitary purposes. Our PCR assay provided an accurate differentia-

tion of *Phyllosticta* species based on PCR product length and a high specificity since no products were observed with other fungal genera. Furthermore the strong PCR signals indicate a high sensitivity and reliability. The method is rapid and simple since results can be obtained with one single reaction.

Literature:

1. GLIENKE, C., PEREIRA, O.L., STRINGARI, D., FABRIS, J., KAVA-CORDEIRO, V., GALLI-TERESAWA, L., CUNNINGTON, J., SHIVAS, R.G., GROENEWALD, J.Z., CROUS, P.W., 2011: Endophytic and pathogenic *Phyllosticta* species, with reference to those associated with citrus black spot. *Persoonia* 26: 47-56.
2. WULANDARI, N.F., TO-ANN, C., HYDE, K.D., DUONG, L.M., DE GRUYTER, J., MEFFERT, J.P., GROENEWALD, J.Z., CROUS, P.W., 2009: *Phyllosticta citriasiana* sp. nov., the cause of citrus tan spot of *Citrus maxima* in Asia. *Fungal Div* 34: 23-39.
3. PERES, N.A., HARAKAVA, R., CARROLL, G.C., ADASKAVEG, J.E., TIMER, L.W., 2007: Comparison of molecular procedures for detection and identification of *Guignardia citricarpa* and *G. mangiferae*. *Plant Dis* 91: 525-531.
4. GRASSO, V., PALERMO, S., SIEROTZKI, H., GARIBALDI, A., GISI, U., 2006: Cytochrome *b* gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. *Pest Manag Sci* 62: 465-472.
5. STAMMLER, G., SEEMÜLLER, E., DUNCAN, J.M., 1993: Analysis of RFLPs in nuclear and mitochondrial DNA and the taxonomy of *Phytophthora fragariae*. *Mycol Res* 97: 150-156.

33-7 - Mahlein, A.-K.; Steiner, U.; Dehne, H.-W.; Oerke, E.-C.

Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Erfassung von Wirt-Pathogen-Interaktionen bei Blattkrankheiten der Gerste mittels hyperspektraler Bildanalyse

Assessment of host-parasite interactions of barley and leaf pathogens using hyperspectral imaging

Pflanzenkrankheiten wirken sich auf die optischen Eigenschaften von Pflanzen aus. In Abhängigkeit des Wirt-Pathogen-Systems und der krankheitsspezifischen Symptome werden verschiedene Bereiche des Reflektionsspektrums beeinflusst. Veränderungen der optischen Eigenschaften von Pflanzen während der Pathogenese können mit hochauflösenden hyperspektralen Kameras zerstörungsfrei erfasst werden. Diese innovativen Sensoren haben ein großes Potential, Unterschiede zu gesundem Gewebe bereits zu einem frühen Zeitpunkt der Krankheitsentwicklung zu detektieren.

Am Modell der Gerste (*Hordeum vulgare*) und den pilzlichen Erregern *Pyrenophora teres* (Netzfleckenkrankheit), *Puccinia hordei* (Zwergrost) und *Blumeria graminis hordei* (Echter Mehltau) wurden Untersuchungen zur Auswirkung der Blattkrankheiten auf die Reflektionseigenschaften von Gerstenblättern gemacht. Mit einem Kamerasystem wurden bis 18 Tage nach der Inokulation täglich hyperspektrale Datensätze von Gerstenblättern erfasst und bildanalytisch ausgewertet. Die spektrale Reflektion wurde im sichtbaren, im Nahinfrarot- und im kurzwelligen Infrarot-Bereich von 400 bis 2500 nm gemessen. Anhand verschiedener spektraler Bereiche wurden biochemische und strukturelle Veränderungen während der Pathogenese erfasst und mit mikroskopischen und analytischen Methoden verglichen. Dieses optische Verfahren ermöglicht es, die Entwicklung von Blattkrankheiten zu charakterisieren und sie in praktischen Anwendungen mittels spektraler Informationen zu detektieren und zu identifizieren.

33-8 - Bürling, K.¹⁾; Hunsche, M.²⁾; Noga, G.²⁾

¹⁾ Industrieverband Agrar e.V.

²⁾ Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Erfassung der blau-grün und roten Fluoreszenz an Winterweizen zur Differenzierung zwischen N-Mangel und Pathogeninfektion

Use of blue-green and chlorophyll fluorescence measurements for differentiation between nitrogen deficiency and pathogen infection in winter wheat

Weltweit wird die Pflanzenproduktion unter anderem durch biotische und abiotische Faktoren, wie Pathogenbefall und Nährstoffmangel, gefährdet. Beispielsweise liegt der potenzielle Ertragsverlust bei Weizen durch pilzliche Erreger unter bestimmten Bedingungen bei bis zu 15 %. In den letzten Jahren wurden verschiedene Ansätze zur sensorbasierten Früherkennung von Pflanzenstress verfolgt und z.T. bereits in die Praxis implementiert. Eine frühzeitige, möglichst pre-visuelle, zerstörungsfreie Erkennung einer Stresssituation soll bei der Optimierung der pflanzenbaulichen bzw. Pflanzenschutz-Maßnahmen unterstützen und den ökonomischen Schaden minimieren. Eine Herausforderung stellt in der Anwendung verschiedener Sensortechnologien dabei jedoch immer noch die Differenzierung zwischen zeitgleichem Auftreten verschiedener Stressoren, z. B. eines Pathogenbefalls und einem Stickstoffmangel, dar.