

Im Nachauflauf fielen die Unterschiede zwischen ZEPPLIN® und REBELL® deutlich geringer aus, da zu diesem Termin eine dreimalige Anwendung von jeweils 0,83 l/ha ZEPPLIN® mit dem Mischungspartner SPECTRUM® zugelassen werden soll. In dieser Kombination, die auch bei REBELL mit denselben Aufwandmengen zugelassen ist, waren nennenswerte Wirkungsnachteile von ZEPPLIN® gegenüber REBELL® nur bei Ackersenf, Hederich und Kleiner Brennnessel erkennbar.

Durch die Rücknahme der Chloridazon-Aufwandmenge ergaben sich im Vor- wie im Nachauflauf bei ZEPPLIN® Vorteile in der Kulturpflanzenverträglichkeit. Aus der Selektivitätsprüfung mit doppelten Aufwandmengen lässt sich ableiten, dass gleiche Produkt-Aufwandmengen von ZEPPLIN® und REBELL® etwa vergleichbare Symptomausprägungen verursachen bzw. dass bei den Zulassungs-Aufwandmengen ZEPPLIN® nur ein halb so hohes Schädigungspotenzial aufweist wie REBELL®.

Da bei den in Deutschland verbreiteten Nachauflauf-Spritzsystemen in der Regel zwei bis vier Rübenherbizide gemeinsam ausgebracht werden, ist in der Praxis die Leistungsfähigkeit von ZEPPLIN® als Systemkomponente wichtiger als die Wirkung des Produkts alleine. Deshalb wurde ZEPPLIN® als Ersatz von REBELL® in praxisnahen Tankmischungen gemeinsam mit GOLTIX® SC und BETANAL® EXPERT jeweils mit und ohne SPECTRUM® über drei Jahre geprüft. Dabei erwies sich ZEPPLIN® mit 3 x 0,8 l/ha trotz reduzierter Chloridazon-Menge als vollwertiger Ersatz von REBELL®.

Sektion 45 – Molekulare Phytomedizin

45-1 - Körbelin, J.; Adam, G.; Willingmann, P.; Heinze, C.
Biozentrum Klein Flottbek

OHIOV: Ein ungewöhnliches Tobamovirus, welches die auf Nukleinsäuresequenzen basierende Taxonomie in Frage stellt

Das Virusisolat OHIOV aus dem Genus Tobamovirus wurde 1969 als ein *Tobacco mosaic virus* (TMV) beschrieben. Es fiel auf, da es resistenzbrechende Eigenschaften gegenüber Tomatenzuchtlinien besaß. In einer ersten molekularen Charakterisierung stellte sich heraus, dass der Bereich des Hüllproteingens von OHIOV gegenüber dem entsprechenden Bereich beim TMV vulgare in 13 % der Nukleotide differierte. Da die überwiegende Anzahl von Austauschungen in der dritten Position eines kodierenden Triplets liegen, resultiert daraus eine Abweichung von lediglich 5 % in der Aminosäuresequenz. Weitere Sequenzierungen des gesamten Genoms ergaben für alle kodierenden Bereiche eine ähnliche Situation, während die nicht-kodierenden und funktionellen Bereiche hohe Übereinstimmungen mit TMV vulgare aufwiesen. Aufgrund des Wirtsspektrums, der Genomorganisation, der Serologie und der Aminosäure-sequenzen aller kodierten Proteine ist OHIOV ein Isolat des TMV. Wendet man dagegen weitere Kriterien des ICTV an, ist, aufgrund der Nukleinsäureabweichung von mehr als 10 % über das gesamte Genom, die eindeutige Zuordnung des Isolates OHIOV zu TMV nicht möglich. Demnach wäre OHIOV nach diesem Kriterium des ICTV eine neue Tobamovirus Spezies. Diese Betrachtung wird unterstützt, da auch das Sequenzmotiv im Bereich der Polymerase, welches Gibbs et al. (2004) als eindeutiges Kriterium für die Zuordnung zu einer Tobamovirus Spezies vorgeschlagen haben, für das Isolat OHIOV nicht zutrifft. Mögliche Ursachen für die Anhäufung von stillen Mutationen werden diskutiert.

45-2 - Langer, J.¹⁾; Rumbou, A.²⁾; Gentkow, J.³⁾; Von Barga, S.¹⁾; Büttner, C.¹⁾

¹⁾ Humboldt-Universität zu Berlin; ²⁾ NAGREV, Griechenland; ³⁾ Leibniz-Institut für Pflanzenbiotechnologie

Die Genomorganisation des *Cherry leaf roll virus*

Genome organisation of *Cherry leaf roll virus*

Das *Cherry leaf roll virus* (CLRV) der Gattung *Nepovirus* (picornaähnliche Virusgruppe) ist weltweit in einer Vielzahl von verschiedenen Wirtspflanzenarten, vornehmlich in Gehölzen, verbreitet. Ausgewählte CLRV-Isolate sollen molekularbiologisch charakterisiert werden, um mögliche genetische Determinanten z. B. für die Wirtsadaptation, die Pathogenität und Ausbreitung des CLRV in der Pflanze zu identifizieren.

Das bipartite, einzelsträngige (+) RNA-Genom konnte erstmals für ein CLRV-Isolat aus Rhabarber vollständig sequenziert werden. Die RNA1 ist 7922 nt und die RNA2 6335 nt lang. Beide RNAs sind polyadenyliert und am 5' Ende an das VPg kovalent gebunden. Erste Sequenzvergleiche mit anderen Nepoviren bestätigen eine typische Genomorganisation beider CLRV-RNAs mit jeweils einem offenen Leserahmen, der durch eine 5' und eine 3' nicht-kodierende Region (NCR) begrenzt ist. Die RNA1 kodiert für einen Protease Cofaktor, das VPg, ein NTP-

bindendes Protein, eine Protease und eine RNA-abhängige RNA-Polymerase. Die RNA2 kodiert für ein Protein, über dessen Funktion bisher nichts bekannt ist, das Transportprotein und ein Hüllprotein. Die CLRV-kodierten Genprodukte werden als Polyprotein translatiert und nachfolgend durch die virale Protease in die funktionellen Einheiten gespalten. Die CLRV-3'NCR ist zwischen 1538 und 1602 Nukleotide lang, hochkonserviert und auf RNA1 und RNA2 eines CLRV-Isolates nahezu identisch. Die 5' NCRs aller untersuchten CLRV-Isolate sind 11 Nukleotide kurz und auf beiden RNAs identisch. Das daran anschließende erste AUG-Kodon liegt im sogenannten Kozak-Sequenzkontext (AAA AUGG) und stellt daher das potentielle Startkodon für die Translationsinitiation da.

Über die 5' terminale Sequenzidentität der RNA1 und RNA2 hinaus weisen auch die kodierenden Genomregionen (offener Leserahmen) für die korrespondierenden Polyproteine 1 und 2 eine 5' proximale Sequenzhomologie über mehr als 600 Nukleotide auf. Die Funktion des putativen homologen Genproduktes der beiden RNAs ist bislang nicht bekannt.

45-3 - Smalla, K.¹⁾; Heuer, H.¹⁾; Wohanka, W.²⁾

¹⁾ Julius Kühn-Institut; ²⁾ Forschungsanstalt Geisenheim

***Pseudomonas savastanoi* – Ursache einer neuen Bakteriose an *Mandevilla sanderi*: Molekulare Charakterisierung und Diagnostik**

Das Gram-negative pflanzenpathogene Bakterium *Pseudomonas savastanoi* gehört zum *Pseudomonas syringae*-Komplex. Basierend auf der Pathogenität und dem Wirtsbereich zählen mehr als 50 Pathovaren zu diesem Komplex, und die Ergebnisse von Multi-Locus-Sequenzierungen haben gezeigt, dass *P. savastanoi*-Isolate zur Genomospezies 2 gehören (Sakar *et al.*, 2006). Die Nutzung molekularbiologischer Techniken und insbesondere der Vergleich vollständig sequenzierter Genome verschiedener Isolate des *P. syringae*-Komplexes haben neue Einblicke in die Diversität von Pathogenitäts- und Virulenzdeterminanten ermöglicht (Rodríguez-Palenzuela *et al.*, 2010).

Seit einigen Jahren wurden in Vermehrungs- und Gartenbaubetrieben Blattflecken, absterbende Triebspitzen und krebsartige Verdickungen der Stängel an *Mandevilla sanderi* beobachtet. Isolierte Erreger wurden zunächst mit BIOLOG als *P. savastanoi* identifiziert. Bislang ist *P. savastanoi* nicht als Erreger von Bakteriosen bei *Mandevilla sanderi* beschrieben. Da *P. savastanoi* häufig zu Krankheitssymptomen an Oliven und Oleander führen und Jungpflanzenbetrieben oft in der Nachbarschaft zu Oliven- und Oleanderbeständen liegen, sollte die molekulare Ähnlichkeit zu diesen und weiteren Stämmen aus Liguster und Jasmin überprüft und ein Nachweisverfahren entwickelt werden. Dazu wurde die genomische DNA aus Isolaten von Mandevilla, Oliven, Oleander, Liguster und Jasmin sowie von einem DSMZ-Stamm isoliert. Sowohl die ARDRA (amplified ribosomal DNA restriction analysis)-Muster als auch die BOX-Fingerprints zeigten, dass die Stämme identisch oder zumindest sehr ähnlich waren. Da Pathogenitäts-determinanten bei Isolaten des *P. syringae*-Komplexes zumeist auf Plasmiden lokalisiert sind (Pérez-Martínez *et al.*, 2008), wurde die Plasmid-DNA aus allen Stämmen isoliert und nach Verdau mit Restriktionsenzymen verglichen. Während die Stämme auf der Ebene der BOX-Muster nicht zu unterscheiden waren, konnten nunmehr die Isolate klar differenziert werden. Mit Hilfe von Primern, die an das rep-Gen von Plasmiden anlagern, wurden nur Amplikons von den Isolaten aus *Mandevilla sanderi* erhalten. Dieses PCR System könnte für eine schnelle Diagnostik genutzt werden. Die Southern Blot-Hybridisierungen zeigten jedoch, dass alle untersuchten Isolate mit der rep-Sonde hybridisierten. Die Größe der hybridisierenden Fragmente war in Abhängigkeit von der Wirtspflanze verschieden. Obwohl *P. savastanoi*-Isolate von *Mandevilla sanderi* auch an Oleander Blattflecken und Stängelverdickungen hervorriefen und umgekehrt, waren diese Isolate nach den Plasmid-Restriktionsmustern und Southern Blot-Hybridisierungen nicht identisch. Allerdings kann derzeit nicht ausgeschlossen werden, dass die Stämme mehrere Plasmide enthalten. Eine weitere Charakterisierung der Plasmide ist notwendig, um die durch die Plasmide vermittelte Diversität der Symptome und des Wirtsbereichs abzuklären.

Literatur

- [1] Pérez-Martínez, I., Zhao, Y., Murillo, J., Sundin, G.W., and Ramos, C. (2008) Global genomic analysis of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plasmids. *J Bacteriol* 190: 625-635.
- [2] Rodríguez-Palenzuela, P., Matas, I.M., Murillo, J., López-Solanilla, Bardaji, L., Pérez-Martínez, I., Rodríguez-Mosquera, M.E., Penyalver, R., R., López, M.M., Quesada, J.M., Biehl, B.S., Perna, N.T., Glasner, J.D., Cabot, E.L., Neeno-Eckwall, E., and Ramos, C. (2010) Annotation and overview of the *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* NCPPB 3335 draft genome reveals the virulence gene complement of a tumour-inducing pathogen of woody hosts. *Environ Microbiol* 1604-1620.
- [3] Sakar, S.F., Gordon, J.S., Martin, G.B., and Guttman, D.S. (2006) Comparative genomics of host specific virulence in *Pseudomonas syringae*. *Genet* 174: 1041-1056.