



# Mitteilungen

aus der Biologischen Bundesanstalt  
für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem

**55. Deutsche Pflanzenschutztagung  
in Göttingen 25. - 28. September 2006**

# 400

Herausgegeben von der  
Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft  
Berlin und Braunschweig

2006

Während des laufenden Projektes konnten die Voraussetzungen für die Quantifizierung beider Pathogene mittels Real-time PCR geschaffen werden:

Es wurden für jedes Pathogen spezifische Primerpaare entwickelt, die auf eine ITS-Region (internal transcribed spacers) bei *O. yallundae* und *O. aciformis* zurückgehen, welche bei Poupard et al. (1993) veröffentlicht wurde. Die Stabilität, Sensitivität und Spezifität des Assays wurde überprüft. Sowohl für *O. yallundae* als auch für *O. aciformis* kann eine Nachweisgrenze bei  $10^{-13}$  g pilzlicher DNA festgelegt werden. Es bestehen bis zu dieser Nachweisgrenze keine Kreuzreaktionen mit anderen wichtigen Erregern von Pilzkrankheiten im Weizen wie z.B. *Rhizoctonia cerealis*, *Microdochium nivale* var. *nivale*, *Drechslera sorokiniana* und *Fusarium graminearum*.

Die eindeutige Bonitur der Befallsstärke von Pflanzen, die mit dieser PCR-basierten Methode erreicht wird, stellt die Voraussetzung für die angestrebte Entwicklung molekularer Marker für verschiedene Resistenzgene gegen die Halmbruchkrankheit dar.

Literatur

Crous PW, Groenewald JZ, Gams W (2003) Eyespot of cereals revisited: ITS phylogeny reveals new species relationships. *Phytopathology* 85: 918–927

Poupard P, Simonet P, Cavelier N, Bardin R (1993) Molecular characterisation of *Pseudocercospora herpotrichoides* isolates by amplification of ribosomal DNA internal transcribed spacers. *Plant Pathology* 42: 873–881

Walsh K, Korimbocus J, Boonham N, Jennings P, Hims M (2005) Using Real-time PCR to Discriminate and Quantify the Closely Related Wheat Pathogens *Oculimacula yallundae* and *Oculimacula aciformis*. *Journal of Phytopathology* 153: 715–721

## **095 – Eisold, A.-M.; Schadock, I.; Barga, S. von; Goßmann, M.; Büttner, C.**

Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin

### **Nachweis von Fumonisin-Biosynthese-Genen in *Fusarium* spp.-Isolaten verschiedener Wirtspflanzenherkünfte**

Detection of fumonisin-genes in isolates of various *Fusarium* spp. originating from different host plants

Die Gattung *Fusarium* umfasst Arten, die sowohl wirtschaftlich bedeutsame Krankheitserreger an Kulturpflanzen sind, zudem aber auch noch als potentielle Mycotoxinbildner, v.a. des als kanzerogen eingestuften Toxins Fumonisin B<sub>1</sub>, gelten. Als pathogenrelevante *Fusarium*-Arten wurden in vorliegenden Untersuchungen *F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. redolens* und *F. subglutinans* verwendet. Die Isolate stammen aus vorangegangenen pilzparasitären Wirtspflanzen-untersuchungen und wurden aus ober- und unterirdischen Pflanzenteilen von Spargel, Mais, Raps, Rübe, Kartoffel, Miscanthus, Erbse, Lupine und Sorghum isoliert. Für die molekularen Untersuchungen wurden die Pilzisolat aus Erdkulturen der Stammsammlung des Fachgebietes auf künstlichem Nährsubstrat reaktiviert. Nach DNA-Isolierung aus Reinkulturen wurden Isolate oben angegebener *Fusarium* spp. mit Hilfe der PCR auf die Nachweisbarkeit der *fum1*- und *fum8*-Gene untersucht. Die Gene kodieren für zwei initiale Enzyme der Fumonisin-Biosynthese, der Polyketid-Synthase und einer Aminoacyl-transferase. *Fum*-Gen-spezifische Amplifikate wurden nachfolgend mit geeigneten Restriktionsenzymen einer RFLP-Analyse unterzogen.

In dreizehn *F. proliferatum*-Isolaten aus Spargel und zwei Pilzproben aus Mais war sowohl *fum1* als auch *fum8* nachweisbar. Ebenso konnten beide Gene in je einem Isolat von *F. redolens* aus Erbse, *F. subglutinans* aus Miscanthus bzw. *F. verticillioides* aus Mais amplifiziert werden. Außerdem war entweder das Polyketid-Synthase- oder das Aminoacyl-Transferase-Gen in *F. oxysporum*-Proben (aus Spargel, Raps Lupine und Miscanthus) sowie in anderen Isolaten der vorher genannten *Fusarium*-Arten, die aus weiteren Wirtspflanzen wie beispielsweise Kartoffel, Rübe und Sorghum stammten, durch die Gen-spezifische PCR zu detektieren. Der Nachweis von *fum1* bzw. *fum8* in den untersuchten *Fusarium*-Species unterstützt die Vermutung, dass diese Isolate zur Fumonisinbildung fähig sind. Die Analyse der *fum1* und *fum8*-Genfragmente von *F. proliferatum*-Isolaten aus unterschiedlichen Wirtspflanzen mit verschiedenen Restriktionsendonukleasen, lies jedoch keine wirtspflanzenabhängige Heterogenität der untersuchten Abschnitte der Fumonisin-Biosynthesegene erkennen. Lediglich ein *F. proliferatum*-Isolat aus Mais zeigte ein verändertes Restriktionsmuster des *fum1*-Fragmentes durch eine fehlende RsaI-Schnittstelle im Exon2.

Ziel weiterführender Untersuchungen ist der in vivo Nachweis der *fum1* – und *fum8* –Gene an erkrankten Kulturpflanzen.