

## Reben an verschiedenen Standorten sind unterschiedlich anfällig gegen falschen Mehltau und unterscheiden sich in der Expression von Krankheits-Verteidigungs-Genen

Thürig, B. <sup>1</sup>, Slaughter, A. <sup>2</sup>, Marouf, E. <sup>2</sup>, Mauch-Mani, B. <sup>2</sup>, Tamm, L. <sup>1</sup>

*Keywords:* Reben, *Plasmopara viticola*, Induzierte Resistenz, Genexpression

### Abstract

*The influence of site on resistance of grapevine (cv. Chasselas) to Plasmopara viticola was evaluated. Grapevine leaves from three vineyards in the region of Lake Neuchâtel (Switzerland) were tested for their susceptibility to P. viticola in the lab in five successive years (2004-2008), and the expression levels of four selected defense-related genes (Glucanase, Lipoxigenase 9, 9-cis epoxy-carotenoid dioxygenase, Stilbene synthase) were studied in one year. In all five years of examination, differences between sites were substantial, with plants from site HAU being much less susceptible to P. viticola than plants from site AUV. Susceptibility of plants from a third site varied from year to year. Differences in susceptibility were mirrored in the constitutive expression pattern of four defence-related genes, with samples from the HAU site clearly separated from samples of the other two sites in redundancy analysis.*

### Einleitung und Zielsetzung

Schon lange ist bekannt, dass der Standort („Terroir“) die Weinqualität vielfältig beeinflussen kann (Morlat and Bodin, 2006; Seguin, 1986). Dazu beitragen können Pflanzenmaterial, Klima, anthropogene Einflüsse, aber vor allem auch der Boden, der viele relevante Parameter wie Nährstoffgehalt, Wasserhaltekapazität, Bewurzelungstiefe und Bodentemperatur beeinflusst (Downey et al., 2006; Jackson und Lombard, 1993; Morlat und Bodin, 2006). Standort und Boden können aber auch die Pflanzengesundheit beeinflussen. Böden, in welchen Pflanzen keine oder nur wenig Krankheitssymptome entwickeln, sogar wenn Pathogene künstlich zugegeben werden, sind als suppressive Böden bekannt (Weller et al., 2002). Suppressiv Böden sind vor allem im Zusammenhang mit bodenbürtigen Krankheiten bei annuellen Pflanzen beschrieben worden. Gewisse Böden können aber auch die Resistenz von Pflanzen gegenüber luftbürtigen Krankheiten erhöhen (Tamm et al., 2010). Allerdings ist dieses Phänomen kaum bei mehrjährigen Pflanzen untersucht worden (Klopper et al., 1999). In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob sich Reben (Sorte Chasselas), die an verschiedenen Standorten in der gleichen Region wachsen, in ihrer Anfälligkeit gegenüber falschem Mehltau (*Plasmopara viticola*) unterscheiden, und ob sich allenfalls vorhandene Unterschiede in einem veränderten Expressionsmuster von ausgewählten Krankheits-Verteidigungs-Genen widerspiegeln.

<sup>1</sup> Forschungsinstitut für Biologischen Landbau, Ackerstrasse, 5070, Frick, Schweiz, lucius.tamm@fibl.org, www.fibl.org

<sup>2</sup> Universität Neuchâtel, Botanisches Institut, Rue Emile Argand 9, 2009, Neuchâtel, Schweiz

## Methoden

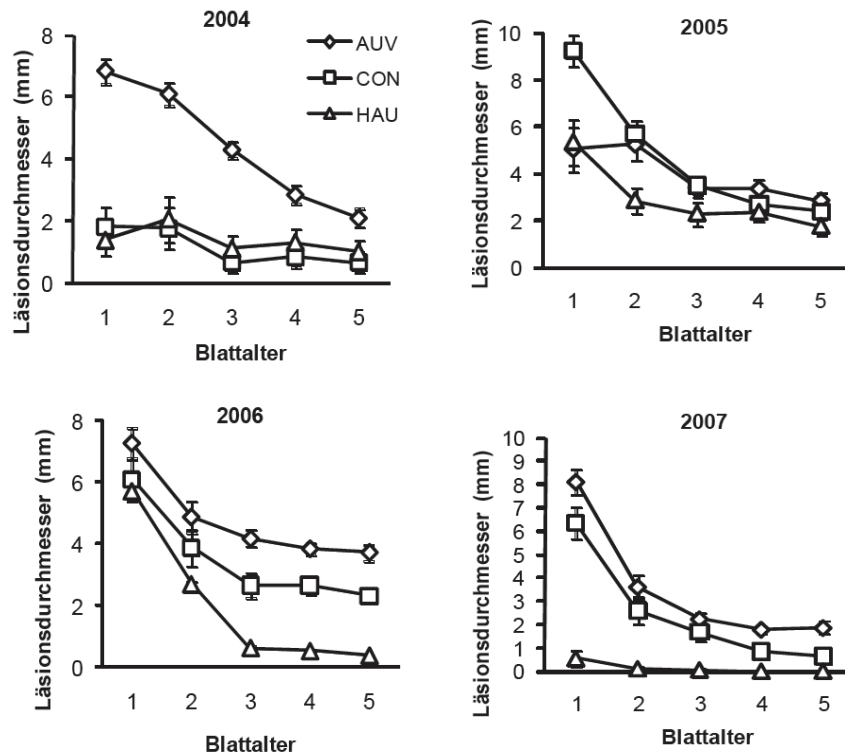
**Reben-*P.viticola* bioassays:** Die Anfälligkeit von Reben (Sorte Chasselas) von drei biologisch bewirtschafteten Rebbergen (AUV, CON, HAU) in der Gegend des Neuenburgersees (Schweiz) wurden von 2004-2007 verglichen. An jedem Standort wurden bei je 20 Pflanzen 5 Blätter standardisierten Alters eines Hauptsprosses geerntet. Die Blätter wurden gründlich gewaschen, dann Blattscheiben gestanzt, welche auf 1% Wasseragar gelegt und mit *P. viticola* Tropfen-inokuliert wurden. Läsionsdurchmesser wurden 7 Tage p.i. gemessen. Für die Analyse der Genexpression wurden Blattscheiben direkt vor der Inokulation gesammelt.

**Genexpression:** Die Expression von Glukanase (*VvGlu*), Lipoxygenase (*VvLox9*), 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (*VvNCED*), Stilben Synthase (*VvSTS*) wurde mittels quantitativer Real-time PCR untersucht. Extrahierte totale RNA wurde mit DNase und Reverser Transkriptase (oligo(dT)primers) behandelt. Die Expression der vier Gene wurde anhand der internen Kontrolle Elongations Faktor 1- $\alpha$  (*VvEF1- $\alpha$* ) normalisiert. Die Daten wurden mittels Redundanzanalyse ausgewertet.

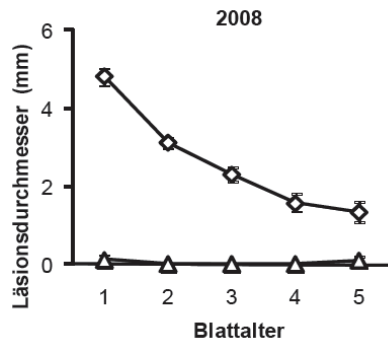
## Ergebnisse und Diskussion

In vier von fünf Jahren waren Blätter von Reben, die am Standort HAU gewachsen waren, viel weniger anfällig als Rebenblätter des Standorts AUV (Abb.1). In einem weiteren Jahr waren die Unterschiede weniger deutlich, aber immer noch signifikant. Die Anfälligkeit der Pflanzen des Standortes CON variierte von Jahr zu Jahr zwischen fast so resistent wie Pflanzen von HAU und ähnlich anfällig wie Pflanzen von AUV. Rebenblätter des Standortes HAU unterschieden sich auch bezüglich Expressionsmustern von Krankheits-Verteidigungs-Genen deutlich von den andern beiden Standorten. In der statistischen Redundanz-Analyse korrelierten hohe Expressionsniveaus von *VvGlu* und *VvLox9* zum Zeitpunkt der Inokulation positiv mit dem Standort HAU und somit mit hoher Resistenz gegen falschen Mehltau. Der Expressionslevel von *VvNCED* korrelierte vor allem mit dem Blattalter, mit erhöhtem Level in älteren Blättern, während *VvSTS* keinen Einfluss auf die Ordination hatte.

Die vorliegende Studie (Thuerig *et al.*, 2010) zeigte, dass der Standort die Resistenz von Reben gegenüber falschem Mehltau stark und Praxis-relevant beeinflussen kann. Da die Unterschiede zwischen Standorten mit Veränderungen in der Expression von ausgewählten Krankheits-Verteidigungs-Genen korrelierte, kann vermutet werden, dass induzierte Resistenz, möglicherweise verursacht durch spezifische Boden-Mikroorganismen, zu den beobachteten Unterschieden beiträgt. Die Identifikation solcher Resistenz-induzierender Bodenbakterien könnte zur Entwicklung von pflanzenstärkenden Produkten führen. Abb.1. Anfälligkeit von Reben gewachsen an drei verschiedenen Standorten in der Gegend des Neuenburgersees (CH) gegenüber falschem Mehltau in fünf Untersuchungsjahren. An jedem Standort wurden bei 20 Pflanzen je 5 aufeinander folgende Blattalter beprobt (1 = jüngstes Blatt), die Blätter gewaschen, Blatttrondellen gestanzt und mit *P. viticola* inokuliert. Die Abbildung zeigt Mittelwerte  $\pm$  SE.



**Abb.1. Anfälligkeit von Reben gewachsen an drei verschiedenen Standorten in der Gegend des Neuenburgersees (CH) gegenüber falschem Mehltau in fünf Untersuchungsjahren. An jedem Standort wurden bei 20 Pflanzen je 5 aufeinander folgende Blattalter beprobt (1 = jüngstes Blatt), die Blätter gewaschen, Blatttrondellen gestanzt und mit *P. viticola* inokuliert. Die Abbildung zeigt Mittelwerte  $\pm$  SE.**



**Abb. 2. Genexpressionsniveaus in Rebenblättern vor der Inokulation mit *P. viticola*, dargestellt in einem Ordinationsdiagramm einer Redundanzanalyse. Dreiecke stehen für AUV, Rauten für CON, Kreise für HAU. Vektoren repräsentieren die Gene (ausgezogene Linien) bzw. das Blattalter (gestrichelt).**

## Literatur

- Downey, M. O., Dokoozlian, N. K. & Krstic, M. P. (2006) Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 257-268
- Jackson, D. I. & Lombard, P. B. (1993) Environmental and management practices affecting grape composition and wine Quality - A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 409-430
- Kloepper, J. E., Rodriguez-Ubana, R., Zehnder, G. W., Murphy, J. F., Sikora, E. & Fernandez, C. (1999) Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australasian Plant Pathology*, 28, 21-26
- Morlat, R. & Bodin, F. (2006) Characterization of viticultural terroirs using a simple field model based on soil depth - II. Validation of the grape yield and berry quality in the Anjou vineyard (France). *Plant and Soil*, 281, 55-69
- Seguin, G. (1986) 'Terroirs' and pedology of wine growing. *Experientia*, 42, 861-873
- Tamm, L., Thuerig, B., Bruns, C., Fuchs, J. G., Köpke, U., Laustela, M., Leifert, C., Mahlberg, N., Nietlispach, B., Schmidt, C., Weber, F. & Fliessbach, A. (2010) Soil type, management history, and soil amendments influence the development of soil-borne (*Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*) and air-borne (*Phytophthora infestans*, *Hyaloperonospora parasitica*) diseases. *European Journal of Plant Pathology*, 127, 465-481
- Thuerig, B., Slaughter, A., Marouf, E., Held, M., Mauch-Mani, B. & Tamm, L. (2010) Site-specific field resistance of grapevine to *Plasmopara viticola* correlates to altered gene expression and can not be modulated by the application of organic amendments. *European Journal of Plant Pathology*, online first,
- Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Mcspadden Gardener, B. B. & Thomashow, L. S. (2002) Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 40, 309-348