

***Acidovorax valerianellae* sp. nov. als Erreger von Blattflecken an Feldsalat [*Valerianella locusta* (L.) Laterr.] - Untersuchungen zur Biologie und Entwicklung praxisrelevanter Nachweismethoden**

K. Thiele, K. Smalla, F. Rabenstein

Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

katja.thiele@jki.bund.de

Projektziele

Seit 1999 treten in Deutschland vermehrt schwarze Blattflecken an Feldsalat [*Valerianella locusta* (L.) Laterr.] auf, die auf einen Befall durch das Bakterium *Acidovorax valerianellae* (Av) zurückzuführen sind und im Erwerbsanbau hohe Verluste verursachen. Zur Lösung der offenen epidemiologischen Fragen werden innerhalb dieses Projektes serologische und molekularbiologische Diagnosemethoden entwickelt. Der Erreger soll hinsichtlich seiner Übertragungswege und Wachstumsbedingungen untersucht werden. Weiterhin soll mit der molekularbiologischen Charakterisierung des Erregers begonnen werden.

Diagnostik

Zunächst wurden monoklonale Antikörper gegen das Typisolat des Erregers (16619, DSMZ Braunschweig) erzeugt, selektiert und mit bereits verfügbaren polyklonalen Kaninchenserum hinsichtlich Spezifität und Sensitivität verglichen. Die ausgewählten Hybridom-Klone produzieren hochspezifische anti-Av-Antikörper in hoher Konzentration. Mittels TAS-ELISA (triple antibody sandwich) kann der Erreger in infiziertem Pflanzenmaterial sowie in Saatgut sicher nachgewiesen werden. Erstmals konnten mittels Immunogold-Labeling und Transmissions-Elektronenmikroskopie Av-Zellen in symptom-

tragenden Feldsalatblättern dargestellt werden. Die Bakterienzellen wurden in sehr hoher Dichte im Interzellularraum in den Randregionen der Läsionen gefunden, jedoch nicht in symptomfreien Blattregionen.

Alle bisher eingesetzten PCR-Primer erwiesen sich als sehr unspezifisch und für den sicheren Nachweis von Av als ungeeignet. Da für *A. valerianellae* nur wenige Sequenzinformationen vorliegen, wurden einige durch BOX-PCR generierte Amplifikate kloniert und sequenziert. Die dabei gewonnenen Sequenzdaten ermöglichen die Etablierung einer für Av spezifischen PCR. Alle vorhandenen Isolate konnten damit nachgewiesen werden, die Übertragbarkeit der Methode auf Saatgut und Boden wird gegenwärtig getestet.

Infektionsquellen

Hinweise auf die Übertragbarkeit des Erregers durch Boden und Saatgut konnten bestätigt werden. Infiziertes Feldsalat-Blattmaterial wurde im Herbst 2009 (in Schifferstadt) und März 2010 (in Quedlinburg) mit Erde gemischt und in eingesenkte Container im Freiland ausgebracht. Im Abstand von 4 Wochen wurden Erdproben entnommen und darauf Feldsalat ausgesät. Über einen Zeitraum von drei Monaten traten Av-Symptome an den Fangpflanzen auf und konnten serologisch diagnostiziert werden. Bei dem leicht