

Quantitativer Nachweis des *Wheat dwarf virus*

N. Drechsler¹, A. Habekuß², T. Thieme¹, J. Schubert³

¹BTL Bio.Test Labor Sagerheide GmbH, Julius Kühn-Institut, ²Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz,

³Institut für Sicherheit in der Gentechnik bei Pflanzen
nadine.drechsler@jki.bund.de

Die Geminiviren *Wheat dwarf virus* (WDV) und *Barley dwarf virus* (BDV) rufen bei befallenem Getreide u.a. Zwergwuchs und Vergilbung hervor und führen zu Ertragsminderungen bis hin zum Absterben der Pflanze. Beide Viren werden von der Zwergzikade *Psammotettix alienus* Dahlb. persistent aber nicht propagativ übertragen. WDV wurde in Deutschland erstmals Anfang der 90er Jahre nachgewiesen. Für die Zukunft wird eine Zunahme des Befalls prognostiziert, da die Klimaerwärmung zu einer längeren Aktivitätsphase des Vektors im Herbst führt und befallene Pflanzen mildere Winter überdauern und somit als Infektionsquelle im Frühjahr zur Verfügung stehen können.

Erstmalig wurden quantitative Realtime PCR-Verfahren entwickelt, mit denen es möglich ist, WDV und BDV nicht nur sensitiv nachzuweisen, sondern auch die Viruskopienzahl zu ermitteln. Mit Primern in konservierten Regionen des Virusgenoms werden beide Viren nachgewiesen. Es stehen aber auch TaqMan-Sonden für einen differenzierten Nachweis von BDV und WDV zur Verfügung. Die absolute Quantifizierung des Virengehalts erfolgt durch eine Standardverdünnungsreihe aus kloniertem Virus. Die Nachweisgrenze wurde ermittelt und mit der des ELISA-

Verfahrens verglichen. Der Presssaft von stark WDV-infizierten Pflanzen wurde dazu mit dem von nichtinfizierten Pflanzen verdünnt. Mit der Realtime-PCR gelang der Nachweis auch noch in Verdünnungen von 10^{-8} , während der DAS-ELISA die Nachweisgrenze bei 10^{-4} erreicht.

Mit den PCR-Verfahren ist das Virus bereits nach 24 Stunden in der Pflanze nachweisbar. Bei allen Untersuchungen wurden jeweils auch ELISA und eine Symptombonitur durchgeführt. Dabei fiel auf, dass die Kopienzahl bzw. der ELISA-Wert nicht mit der Stärke der Symptomausprägung korrelierte. Es zeigte sich auch, dass der Virusgehalt in den Zikaden nicht darauf schließen lässt, ob die Pflanze krank wird.

An der stark anfälligen Wintergerstensorte 'Rubina' wurde unter GWH-Bedingungen die Verteilung des Virus in der Pflanze in den ersten 4 Wochen nach Infektion untersucht. Das Virus trat ungleichmäßig verteilt auf. In den jüngsten Blättern wurden die höchsten Virengehalte ermittelt.

Des Weiteren wurden Feldproben analysiert, um zu ermitteln, welche Viruskopienzahlen unter natürlichen Infektionsbedingungen vorkommen.