
Sektion 29 - Diagnose- und Nachweisverfahren I

29-1 - Richert-Pöggeler, K.; Maaß, C.; Zimmermann, E.; Wennmann, J.; Hommes, M.; Rabenstein, F.; Brielmaier-Liebetanz, U.

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Schädlingen und Pathogenen an Kulturpflanzen

Scanning electron microscopy of pathogens and crop plants

2010 wurde der "Mikroskop-Park" des Instituts für Epidemiologie und Pathogendiagnostik des Julius Kühn-Instituts in Braunschweig um ein Rasterelektronenmikroskop erweitert. Der schnelle Nachweis und die direkte Analyse von Schaderregern, d. h. wässrige, nicht-leitende, biologische Proben, ist durch die im Gerät wählbaren Druckverhältnisse und daraus resultierenden ESEM (environmental scanning electron microscopy) - Untersuchungsmodi gegeben. Zusätzlich ist die konventionelle Mikroskopie im Hochvakuum von getrockneten und Gold-beschichteten, leitenden Proben möglich. Diese Untersuchungsmethode bietet die höchste Auflösung der vorhandenen Merkmale und erlaubt ihre detaillierte Beschreibung. Die erhaltenen Informationen geben Aufschluss über Morphologie, vorhandene Entwicklungsstadien sowie Verteilung auf und Interaktion mit der Wirtspflanze. Diese Daten sind relevant für Taxonomie und können auch für die Entwicklung von Bekämpfungstrategien eingesetzt werden.

29-2 - Schmidt, K.; Mahlein, A.-K.; Oerke, E.-C.

Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Diagnose von Blattkrankheiten anhand hyperspektraler Signaturen und neuer Analysemethoden

Diagnosis of leaf pathogens with hyperspectral signatures and new analysis methods

Spektrale Signaturen sind das Ergebnis der vom gemessenen Objekt reflektierten Strahlung und zeigen ein charakteristisches Muster, was sich aus der Reflexionsintensität in Abhängigkeit von der Wellenlänge zusammensetzt und welches mit Art und Zustand des Objekts variiert. Das allgemeine Problem besteht darin, eine Verknüpfung oder Klassifikation zwischen dem rein technischen Messergebnis und dem gemessenen Objekt zu erstellen. Bei biologischen Systemen wie Pflanzen bzw. Pflanzen mit Krankheitssymptomen resultiert die spektrale Signatur in diversen und höchst komplexen Trajektorien, die die zeitabhängig variablen physiologischen und biochemischen Konditionen charakterisieren. Bei der Analyse hyperspektraler Signaturen wird es als Vorteil angesehen, die gesamte Information eines Sensors zu verwenden. Zur Auswertung der hochkomplexen Spektren wird ein alternativer Transformationsalgorithmus auf der Basis additiv gekoppelter Weibullfunktionen vorgestellt. Dieses Modell ist auf alle Wellenlängen im sichtbaren, Nahinfrarot- und kurzwelligen Infrarotbereich anwendbar. Das Modell lässt sich an beliebige Trajektorien mit sehr hoher Genauigkeit anpassen und reduziert die komplexe Sensorinformation auf einige wenige sekundäre Parameter. Der resultierende Parametervektor charakterisiert den Objekt- oder Pflanzenzustand und ist statistisch auswertbar.

Am Beispiel des zeitlichen Verlaufs von Blattkrankheiten der Zuckerrübe durch *Cercospora beticola*, *Erysiphe betae* und *Uromyces betae* und nicht befallener Kontrollpflanzen wurden die hyperspektralen Signaturen des Blattes über drei Wochen hinweg dokumentiert. Die Analyse dieser Signaturen erfolgt in einem ersten Schritt über die Anpassung durch das Weibullmodell. Damit werden die komplexen und zeitlich veränderlichen Informationen über die Wellenlängen auf die Modellparameter abstrahiert. In einem zweiten Schritt wird der resultierende Parametervektor, der sowohl den Blattzustand als auch den Status der Krankheit charakterisiert, mit Hilfe einer Diskriminanzanalyse ausgewertet. Dabei wird jeder Vektor über die Diskriminanzfunktionen einer der pathogenspezifischen Klassen zugeordnet. Im frühen Infektionsverlauf – ca. 7 Tage nach Inokulation – ist eine Unterscheidung in gesund und krank möglich, im späteren Verlauf der Krankheiten ist mit diesem Verfahren eine Diagnose des vorliegenden Erregers anhand des hyperspektralen Signals möglich. Das vorgestellte Verfahren verwendet den gesamten spektralen Bereich eines Hyperspektralsensors zur Analyse und beschränkt sich nicht auf einige wenige Wellenlängen. Das Modell ist offen für weitere statistische Analysen und ist universell anwendbar. Das Verfahren wird als eine neue Technik in der Transformation hyperspektraler Signaturen angesehen, unterstützt aber auch bestehende Auswertverfahren.

29-3 - Ali, A.; Wolf, P. F. J.; Verreet, J.-A.

Christian-Albrechts-Universität Kiel

Schnelltest und Quantifizierung von *Cercospora beticola* im Boden mittels PCR und ELISA

Rapid detection and quantification of Cercospora beticola in soil using PCR and ELISA assays

Die *Cercospora*-Blattfleckenkrankheit (CLS) gilt als die häufigste und destruktivste Blattkrankheit im Zuckerrübenanbau weltweit. Ziel dieser Arbeit war es, effektive Methoden zum qualitativen und quantitativen Nachweis von *C. beticola* im Boden zu entwickeln, da es einerseits zu klären galt, inwieweit die Überdauerungsfähigkeit *Cercospora*-spezifischen pilzlichen Stromas als Ausgangsinokulum für den frühen Befall mit Beginn des Reihenschlusses von Bedeutung ist, andererseits der frühzeitige Nachweis des Erregers als bodenbürtiges Ausgangsinokulum einen wichtigen Faktor für die Vorhersage dieser Krankheit darstellen kann. Es wurden zwei diagnostische Methoden, die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) sowie ELISA-Technik, erfolgreich für den qualitativen und quantitativen Nachweis von *C. beticola* im Boden entwickelt und angewendet. Die Identifizierung von *C. beticola*-spezifischen Sequenzen erfolgte mit Hilfe der NCBI-GenBank-Website, auf der drei Sequenzen identifiziert wurden. Eine 469-bp rDNA-Sequenz, eine 967-bp Cytochrom b (cytb) mRNA-Sequenz und ein 1195-bp-Aktin Gen. Drei Primer-Sets wurden basierend auf diesen Sequenzen mit Hilfe des Internetprogramms Primer 3 entwickelt: ITS3/ITS4, Cyt-F/Cyt-R und Cb-actinF1/Cb-actinR2. Ein primärer Spezifitätstest für diese drei Primer-Paare wurde mit drei *C. beticola*-Isolaten durchgeführt. Die drei Primer-Paare amplifizierten jeweils ein Fragment aus den *C. beticola*-Isolaten mit verschiedenen Fragmentgrößen: 798 bp für Cb-actinF1/Cb-actinR2, 243 bp für Cyt-F/Cyt-R und 223 bp für ITS3/ITS4. Die drei Primer-Sets wurden dann auf ihre Spezifität untersucht und mit 28 anderen pilzlichen Krankheitserregern kreuzgetestet. Die beiden Primer-Paare ITS3/ITS4 und Cb-actinF1/Cb-actinR2 waren sehr spezifisch, da sie nur ein einziges Fragment der *C. beticola*-Isolate amplifizierten, nicht aber von den anderen 28 getesteten pilzlichen Pathogenen. Das Primer-Paar Cyt-F/Cyt-R zeigte ebenfalls eine hohe Spezifität, jedoch wurde auch bei *F. oxysporum f. sp. vasinfectum* ein PCR-Produkt amplifiziert. Die beiden Primer-Sets ITS3/ITS4 und Cb-actinF1/Cb-actinR2 wurden dann auf ihre Spezifität mit 25 *C. beticola*-Isolaten aus Deutschland, Ägypten und den USA getestet. Die zwei entwickelten Primer-Sets amplifizierten jeweils ein deutliches Amplifikat aus allen *C. beticola*-Isolaten. Lediglich ein Isolat (Isolat C2) zeigte unter Verwendung des Primer-Sets Cb-actinF1/Cb-actinR2 eine schwache Bande. Für den Sensitivitätstest der zwei entwickelten Primer-Paare wurden drei verschiedene Zyklenzahlen für die konventionelle PCR verwendet: 28, 35 und 40 Zyklen. Das Primer-Paar ITS3/ITS4 zeigte eine hohe Empfindlichkeit der Detektion, da lediglich 0,5 pg genomischer DNA von *C. beticola* detektiert werden konnte, während mit dem Primer-Paar Cb-actinF1/Cb-actinR2 minimal 10 pg genomischer DNA mit der konventionellen PCR nachgewiesen wurden.

Für den Nachweis von *C. beticola* Antigenen wurden spezifische monoklonale Antikörper (mAk) unter Verwendung der Methode von Köhler und Milstein (1975) im Institut für Biochemie, Universität Kiel, hergestellt. Achtzehn Klone wurden auf ihre Spezifität mittels ELISA gegen *C. beticola* und einige andere Pilzarten (*Chaetomium* spp., *Fusarium acufiformis*, *F. sporotrichioides*, *Pythophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*) getestet. Alle Antikörper-Klone zeigten lediglich positive Ergebnisse mit *C. beticola*, während die Ergebnisse mit den anderen getesteten Pilzspezies negativ waren, was auf die Spezifität dieser Antikörper für *C. beticola* hinweist.

Nach der Entwicklung und Erprobung der Nachweismethoden unter kontrollierten Bedingungen mit bekannten Inokulum-Mengen, wurden diese Methoden für Bodenproben von verschiedenen Schlägen und Standorten angewendet. Die Bodenproben wurden aus zwei Regionen in Deutschland, Bayern und Niedersachsen, sowie einer Region in Montana (USA) entnommen. Auf den beprobten Feldern wurden verschiedene Bodenbearbeitungsverfahren und Fruchtfolgen durchgeführt. Die Probenahme erfolgte aus drei verschiedenen Bodenschichten: 0 - 5 cm, 5 - 15 cm und 15 - 30 cm.

C. beticola konnte anhand beider entwickelter Verfahren selbst im 4. Fruchtfolgejahr auch in tieferen Bodenschichten nachgewiesen werden. Die Ergebnisse, die eine Erkenntnislücke im Lebenszyklus des Erregers schließen, werden dargestellt und diskutiert.

29-4 - Gómez, S.; Oerke, E.-C.; Dehne, H.-W.; Steiner, U.

Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Infrared thermography for the detection of downy mildew on roses

Infrarot-Thermografie zur Detektion von Falschem Mehltau an Rosen

Downy mildew caused by *Peronospora sparsa* is one of the most important diseases affecting cut roses under glass in the tropics. In commercial crops disease detection is based on close inspection of plants to identify affected areas in the greenhouse. This method is time consuming, expensive and commonly not suitable for the detection of initial disease symptoms. The potential of thermography for the detection of downy mildew symptom development on roses under controlled conditions was investigated. Detached young leaves and shoots of two susceptible cultivars were used to evaluate the infection process of *P. sparsa* with thermography. After inoculation the development of the pathogen was assessed daily by visual inspections in comparison to noninoculated leaves and shoots and by thermography. In addition, stomatal aperture of the leaves was evaluated during pathogenesis. On leaves, disease symptoms and sporulation of the pathogen on the susceptible cultivars were observed 6 days post inoculation by visual inspection while in thermograms the presence of the pathogen was detected earlier. On shoots disease symptoms were not observed before 10 dpi. Nevertheless at this period of time infrared thermography detected differences in the temperature between inoculated and noninoculated leaflets. A decrease in temperature of infected plant material compared to noninfected was observed on detached leaves and shoots and was preceded by a period of higher temperatures at the inoculation site. The results indicate that leaf temperature associated with *P. sparsa* infection is dynamic over time related to the pathogen development within rose tissues. Thermograms also visualized the spread of the pathogen from a local site of inoculation. Regulation of stomatal opening of rose leaves was affected by the colonization of the pathogen. Open stomata were observed in advanced stages of infection associated with extensive colonization by intercellular mycelium, profuse sporulation through the stomata and presence of brownish tissue.

Results indicate that the use of thermography may be a suitable alternative and additional tool to detect downy mildew infection on roses in early stages and is a step forward to the use this technique under production conditions to establish a successful control of this disease of ornamentals.

29-5 - Weißbrodt, S.; Dehne, H.-W.

Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Thermographische Detektion von Virosen bei *Petunia* Hybriden

Zierpflanzen werden wie kaum eine andere gärtnerische Kultur von Pflanzenviren beeinträchtigt. Einerseits führen schon kleinere optische Makel zur Unverkäuflichkeit. Andererseits besteht durch die vielfach übliche Vermehrung in außereuropäischen Ländern ein erhebliches Risiko der Pathogenverschleppung, daher unterliegen importierte Zierpflanzen strengen phytosanitären Vorschriften. *Petunia* Hybriden sind unter anderem anfällig für Tobamoviren, cmV und PVY, weit verbreitete Pflanzenviren, die einen großen Wirtskreis aufweisen und von erheblicher ökonomischer Bedeutung sind.

Bildgebende Thermographie im infraroten Spektralbereich zwischen 8 und 12 µm Wellenlänge wurde auf ihre Eignung für die Erkennung von Pflanzenvirosen an *Petunia* Hybriden und für die Darstellung der Virusausbreitung während des Infektionsverlaufs untersucht. Zunächst wurde eine optimierte Messumgebung entwickelt, und verschiedene Umweltbedingungen für die Versuchspflanzen wurden evaluiert. Anschließend wurden *Petunia* Multiflora Hybriden mit verschiedenen Pflanzenviren inokuliert. In den Versuchen wurde TSWV als Beispiel für eine lokal begrenzte Infektion verwendet, weiterhin cmV, PVY sowie zwei verschiedenen TMV-Isolate – der Typstamm U1 sowie ein Isolat, das von *Petunia hybrida* Pflanzen stammt. Einen Tag vor Inokulation und bis zu 21 Tage nach der Inokulation wurde die Blattemperatur der Pflanzen während des Infektionsverlaufs mit einer Wärmebildkamera gemessen. Die Thermogramme wurden hinsichtlich der Gesamttemperatur der Pflanzen sowie viruspezifischer Temperaturmuster ausgewertet. Anschließend wurden die Pflanzen mittels ELISA und PCR auf den Befall mit den verwendeten Viren getestet, um die Interpretation der Wärmebilder zu validieren. Während der Messphase wurden einzelne Blätter stichprobenartig auf ihren Virusgehalt untersucht.

Die untersuchten Virosen verursachten mit Ausnahme der nekrotischen Lokalläsionen durch TSWV-Infektionen im Gegensatz zu pilzlichen Pflanzenkrankheiten kein distinktes Muster auf einzelnen Blättern, sondern eher gleichmäßige Veränderungen der kompletten Blattspreiten. Daher war es für die Auswertung der Thermogramme wichtig, einen möglichst guten Kontrast zwischen Pflanze und Hintergrund zu erzielen. Zu diesem Zweck wurden standardisiert temperierte Metallplatten verwendet, von denen sich die Blätter thermographisch gut abgrenzen ließen.

Unter optimierten Versuchsbedingungen sowohl am Pflanzenstandort als auch am Messplatz waren bei virus-infizierten Versuchspflanzen Temperaturänderungen insbesondere an den jüngsten Blättern zu beobachten. Die TSWV-Infektionen wurden im Infrarotbereich erst mit der Nekrotisierung der Lokalläsionen auf den inokulierten Blättern erfassbar. Bei TMV und PVY zeigte sich eine Tendenz zur Temperaturerhöhung an den Triebspitzen der Pflanzen, während cmV eher zu einer Abkühlung im Bereich der apikalen Blätter führte.

Generell waren die Gesamttemperaturen der infizierten Pflanzen wesentlich weniger aussagekräftig als die lokalen Veränderungen an den Orten der stärksten Symptomausprägung. Diese Temperaturverteilung wurde allerdings erst mit dem Auftreten sichtbarer Symptome klar erkennbar. Somit kann die Thermographie als unterstützende Maßnahme in der Virusdiagnostik eingesetzt werden, dürfte aber vor allem für die Grundlagenforschung im Bereich Virus-Wirt-Interaktionen von Interesse sein.

29-6 - Beyer, M.¹⁾; Pogoda, F.¹⁾; Ronellenfitch, F. K.¹⁾; Hoffmann, L.¹⁾; Udelhoven, T.²⁾

¹⁾ Centre de Recherche Public – Gabriel Lippmann

²⁾ Universität Trier

Schätzung des Deoxynivalenolgehaltes von Weizenproben mit unterschiedlichen Anteilen *Fusarium*-befallener Körner mittels diffuser Reflexionsspektroskopie und der Methode der Partiellen-Kleinsten-Quadrate-Regression

Estimating deoxynivalenol contents of wheat samples containing different levels of Fusarium-damaged kernels by diffuse reflectance spectrometry and partial least square regression

Ährenfusariosen sind Pilze, die Ertragsverluste und Mykotoxinbelastungen im Weizen und anderen Getreiden hervorrufen. Weizenkörner wurden manuell aufgrund ihrer Form und Farbe in befallene und gesunde Körner unterteilt. Anschließend wurden Gruppen mit Anteilen von 0, 20, 40, 60, 80 und 100 % befallener Körner zusammengestellt. Jede Gruppe wurde geteilt und Teil 1 wurde für die Messung der spektrometrischen Reflexion (Wellenlängen zwischen 350 und 2500 nm) benutzt, während die andere Gruppe für die Quantifizierung des Mykotoxins Deoxynivalenol (DON) mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie verwendet wurde.

DON Konzentrationen von Korngruppen, die optisch als unbefallen klassifiziert wurden, waren nicht signifikant verschieden von 0. Eine Schätzung der DON Gehalte aufgrund der Daten der visuellen Bonitur war mit hoher Variabilität und damit hoher Unsicherheit behaftet ($r^2 = 0.49$). Die Verwendung der Spektren und der Methode der Partiellen-Kleinsten-Quadrate-Regression erlaubte eine präzisere Schätzung ($r^2 = 0.84$), besonders bei hohen Befallsstufen. Möglichkeiten und Grenzen eines Schnelltests zur Schätzung von DON Gehalten mittels Reflexionsspektroskopie werden diskutiert.

Literatur

BEYER, M., POGODA, F., RONELLENFITCH, F.K., HOFFMANN, L., UDELHOVEN, T., 2010: Estimating deoxynivalenol contents of wheat samples containing different levels of *Fusarium*-damaged kernels by diffuse reflectance spectrometry and partial least square regression. *International Journal of Food Microbiology* 142: 370-374.

29-7 - Moritz, G.¹⁾; Vetter, K.²⁾; Kumm, S.¹⁾

¹⁾ Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

²⁾ Becit GmbH Wolfen

Modulare Identifikation von Schad-Thysanopteren (Thripse) in Deutschland

Modular identification of pest Thysanoptera (Thrips) in Germany

Die Landwirtschaft steht zu Beginn des 21. Jahrhunderts vor zahlreichen Veränderungen, die massiv durch Effekte des Klimawandels, der Energieversorgungsstrategien sowie der Globalisierung beeinflusst werden. Dazu gehören auch die Schonung der Umwelt und der vorhandenen Ressourcen durch die Reduzierung und Optimierung von Pflanzenschutzmitteln und den zielgerichteten Einsatz von Insektiziden unter einem ständig wachsenden Schaderregerspektrum. Thripse profitieren erheblich von der Globalisierung und hoch adaptive, invasive Arten, wie *Frankliniella occidentalis*, haben es in fast einem viertel Jahrhundert geschafft, eine weltweite Verbreitung zu erreichen, einschließlich der durch sie übertragenen Phytopathogene. Ein hohes Schadpotenzial erreichen vor allem weltweit die zu den zehn gefährlichsten Pflanzenviren zählenden Tospoviren aus der Familie der Bunyaviridae. Vertreter der Tospoviren sind in nahezu 1000 Pflanzenarten in mehr als 80 Pflanzenfamilien nachgewiesen worden – Tendenz steigend (Latham and Jones, 1997). Ihre Übertragung ist immer an das Vorkommen geeigneter Thysanopteren-Arten, insbesondere an deren Erstarvenstadium gebunden. Die Zahl und Abundanz der in Deutschland vorkommenden Tospovirus-Vektoren wird durch die klimatischen Veränderungen

Europas und die weitere Erwärmung insbesondere der gemäßigten Zonen begünstigt. Eine effektivere Kontrolle an den Eintrittspforten der Europäischen Union und ein kontinuierliches Monitoring innerhalb der EU-Staaten wären somit dringend erforderlich.

Eine schnelle, effektive und exakte Diagnose der Schaderreger, vor allem aber ihrer ontogenetischen Stadien, die oftmals viel zahlreicher und vor allem zeitiger verfügbar sind, ist somit eine logistische und dringliche Forderung des modernen Pflanzenschutzes. Nur die Frage nach dem „Wie?“ ist oftmals schwierig zu beantworten, da weltweit nur noch wenige Experten verfügbar sind und junge Systematiker nicht unbedingt im Fokus der Förderrichtlinien universitärer Einrichtungen bzw. Fördergesellschaften liegen.

Aus diesem Grund entwickeln wir für verschiedene Regionen Informations- und Identifikationstools (USA: Moritz et al., 2009; Australien: Moritz and Mound, 1999; Ost-Afrika: Moritz et al., 2012), die modellartig und nach Modulen gestaffelt, maßgeschneiderte Lösungen anbieten und zugleich weltweit vergleichend eingesetzt werden können. Die wenigen und im Pflanzenschutz nur schwer einsetzbaren Bestimmungshilfen sind oftmals veraltet, da sie vor Jahrzehnten für geographisch begrenzte Regionen erstellt wurden und zudem nur die Identifikation der adulten, meistens nur weiblichen Stadien zulassen. Allerdings kann man mit modernen Bildmontageverfahren (Automontage–Synchrosopy, Cambridge, Leica Montage) ältere Zeichnungen durch optimierte Originalaufnahmen ersetzen und so mit geschultem Personal exakte Identifikationen enorm steigern. Zudem ist es besonders wichtig, Präparate gut vorzubereiten und ausreichend zu mazerieren, um entsprechend wichtige Sklerit-Konstruktionen sowie Borstenkonstellationen deutlich sichtbar machen zu können (Protokolle sind im Modul I: *Visuelle Identifikation* einsehbar). Gelingt dies, so ist es möglich, zahlreiche, adulte, in Kanada-Balsam eingebettete Thripse visuell bestimmen zu können. Dafür kommt ein nutzerfreundlicher Key auf der Basis von *LucID 3.5 Prof.* für fast 150 Arten zum Einsatz, der auf CD-ROM bzw. online verfügbar und mit jedem gängigen Computerbetriebssystem (Windows-, Mac-, Unix-, Sun- und Linux-Plattformen) zu nutzen sein wird. Neben der Artdiagnose wird zudem im Ergebnis ein Datenblatt einsehbar, welches zahlreiche wichtige Informationen zur ermittelten Spezies enthält, wie z. B. eine visuelle Darstellung der diagnostisch wichtigsten Merkmale, eine genaue Beschreibung der Spezies einschließlich der taxonomischen Identität, Synonyme, Gattungszugehörigkeit und Gattungsmerkmale, vergleichende Angaben zu ähnlichen oder verwandten Arten, eine kurze Darstellung der Biologie, Verbreitung, Wirtspflanzen, Vektoreigenschaften, Kontrollstrategien und biogeographische Daten einschließlich einer umfangreichen Bibliographie.

Jedoch ist die Identifikation adulter Männchen und vor allem aller anderen präadulten ontogenetischen Stadien mit dem Modul I nicht möglich. Dies gelingt mit Hilfe einer molekularen Diagnose unter Nutzung einer *ITS-RFLP-Datenbank* (Modul II), die online durch Eingabe der eingesetzten Primerpaare, Restriktionsenzyme und der erhaltenen PCR-Produkte und Fragmentlängen eine Artbestimmung zulässt. Durch ein zwischen Modul I und II eingebautes Interface kann man auch vom Ergebnis der ITS-RFLP-Datenbank auf die entsprechenden Spezies-Datenblätter zugreifen (MORITZ et al., 2004 a, b, MORITZ et al., 2000, MORITZ und MOUND 1999). Möglich wurde die Erstellung des Moduls II durch die Nutzung neuer Protokolle, die einerseits die Gewinnung ausreichender Mengen an nuklearer DNA für die Amplifizierung aus einem einzigen Tier ermöglichen und andererseits dabei die Chitin-Hülle des Tieres so schonen, dass man es als Totalpräparat darstellen, katalogisieren und somit als direkten visuellen Nachweis für die extrahierte DNA verwenden kann. Die Vorteile der molekularen Diagnostik liegen vor allem in der Möglichkeit, bereits prä-adulte Stadien, vom postkatatreptischen Ei-Stadium im Pflanzengewebe, über beide Larven- bis zu den Ruhestadien hin, exakt identifizieren zu können und damit einen erheblichen Zeitgewinn bei der Diagnose eines Tospovirusvektors zu erlangen.

Modul III stellt den innovativsten und zugleich neuesten Teil der ID-Systems vor. Es baut auf den Erkenntnissen der ITS-RFLP-Analyse auf und beinhaltet die Entwicklung eines low density Biochiparrays, mit dem eine Parallelidentifizierung von Schaderreger jedes Entwicklungsstadiums einschließlich der durch sie übertragenen Pathogene möglich sein wird. Anhand geeigneter Sonden aus Multialignmentanalysen der gewonnenen ITS-RFLP-Daten wird die Erstellung eines elektrischen Biochips zur Identifikation von Thripsen möglich. Die Eignung der viralen RNA-Nukleotidsequenzen für den Biochip wird parallel getestet.

Das ID-Projekt verfolgt das Ziel wertvolles taxonomisches Expertenwissen im Rahmen von 3 ID-Modulen zu konservieren und für eine schnelle und exakte Bestimmung aller ontogenetischen Stadien der Thripse sowie der durch sie übertragenen Tospoviren nutzbar zu machen.

Literatur:

- LATHAM, L. J., JONES, R. A. C., 1997: Occurrence of tomato spotted wilt tospovirus in native flora, weeds, and horticultural crops. - Aust. J. Agric. Res. 48: 359-369.
- MORITZ G., MOUND, L. A., 1999: AQIS identification guide: Thysanoptera species most likely to be taken on plant material imported into Australia. AQIS Publ. CD ROM, Canberra.
- MORITZ, G., KUMM, S., MOUND, L. A., 2004 a: Tospovirus transmission depends on thrips ontogeny. Virus Research 100 (1): 143-149.
- MORITZ, G., MOUND, L. A., MORRIS, D.C., GOLDARAZENA, A., 2004 b: Pest thrips of the world – an identification and information system using molecular and microscopical methods. CBIT, University of Queensland. CDROM (ISBN 1-86499-718-8).

- MORITZ, G., O'DONNELL, C., PARRELLA, M., 2009: Pest thrips of North America. Centre for Biological Information Technology. The University of Queensland. CD ROM (ISBN 978-86499-940-2).
- MORITZ, G., DELKER, C., PAULSEN, M., MOUND, L. A., BURGERMEISTER, W., 2000: Modern methods in thrips-identification and information (Insecta, Thysanoptera). Bulletin OEPP/EPPO 30: 591-593.
- MORITZ, G., BRANDT, S., TRIAPITSYN, S., SUBRAMANIAN, S., 2012: Identification and information tools for thrips in East Africa. Centre for Biological Information Technology. The University of Queensland. CD ROM (in prep.).

Gefördert durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE)

29-8 - Lück, K.; Döscher, M.

Eurofins and Agrosience Services GmbH

Processing studies for plant product accreditation - experience of a contract laboratory

Verarbeitungstudien im Rahmen der Pflanzenschutzmittelzulassung – Erfahrungen eines Auftragslabors

With the demands of EU, OECD, CEB and EPA guidelines in compliance to GLP and GEP standards becoming ever more stringent, there is now more emphasis than ever on processing studies. When residues are present in raw agricultural commodities it may be necessary to investigate the magnitude of residues in the processed commodities (GLP-studies) and to analyse the efficacy of these products (GEP-studies). In order to achieve these objectives under GLP two different types of processing studies are suggested: balance studies (MB) where all intermediate, waste and end products should be included and follow-up studies (FU) where only those intermediate and end products that are still relevant need to be tested. Both studies can be done in household and/or in industrial preparation to represent the potential usage of products. For example in wheat GLP-studies whole-meal flour, whole-grain-bread, middlings, total bran, flour including toppings and wheat germs have to be produced in order to EU guidelines. GEP studies determine possible effects or influences on the quality by use of plant protection products. At the processing department at Eurofins Agrosience Services GmbH quality analysis of different commodities (e.g. Falling number or Hectoliter weight) and taint tests (e.g. triangle testing) are used. To fulfill these requirements Eurofins Agrosience Services GmbH has developed in house expertise in this area. Investments were made in new personnel and food processing machinery to offer a GLP and GEP compliant processing laboratory following industrial techniques.