

---

## Poster

### Virologie/Bakteriologie/Mykologie

---

#### 141 - Effizienz von Kaliumhypochlorit zur Inaktivierung ausgewählter pilzlicher, bakterieller und viraler Pflanzenkrankheitserreger

*Efficacy of Potassium Hypochlorite (KClO) to inactivate selected plant pathogenic fungi, bacteria and viruses*

**Marlon-Hans Rodríguez<sup>2</sup>, Martina Bandte, Gerhard Fischer<sup>2</sup>, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland  
E-Mail: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

<sup>2</sup>National University of Colombia, Faculty of Agronomy A.A. 14490, Avenida Carrera 30, No. 45-03, Bogotá, Colombia

Bei Überschussbewässerungen wie eine Anstau-, Matten-, Fließrinnen-, Tropf- oder Überkopfbewässerung bestimmen die Fließrichtung, das Pflanzsubstrat und ggf. die Anstaudauer die Höhe des Risikos eines Eintrags von Pflanzenkrankheitserregern aus der Pflanze/dem Substrat in das Dränwasser. Die Stabilität der jeweiligen Krankheitserreger sowie deren Vermehrungsfähigkeit bedingen dann das Ausmaß der Schäden in der Kultur. Verschiedenste Verfahren wie Langsamsand- und Lavagranulatfilter, UV-Bestrahlung, Erwärmung, Ozonierung, der Zusatz nicht-ionische Tenside und Chloren (Hong et al., 2014) wurden bisher auf ihre Eignung zur Minimierung der Ausbreitung von Pflanzenpathogenen in rezirkulierenden Systemen geprüft. Während einige Verfahren pathogenabhängig eine hohe Effizienz bei der Inaktivierung bzw. Eliminierung von Pilzen oder Bakterien aufweisen, vermag kein Verfahren pflanzenpathogene Viren zu ökonomisch und ökologisch vertretbaren Bedingungen zu inaktivieren.

Es soll geprüft werden, mit welcher Effizienz virale, pilzliche und bakterielle Pflanzenkrankheitserreger mit Hilfe einer auf der anodischen Oxidation einer Salzlösung basierender elektrolytischen Reinigung der zirkulierenden Nährlösung inaktiviert oder eliminiert werden können. Insbesondere der Ausbreitung pflanzenpathogener Viren kommt hierbei eine besondere Bedeutung zu, da die Ausbreitung von stabilen Viren in zirkulierenden Nährlösungen außerordentlich schnell erfolgt, die Erreger kurativ nicht bekämpft werden können und damit sehr oft zu hohen Ertragseinbußen bis hin zum Totalverlust der Kulturen führen.

Dazu wurden zunächst acht wirtschaftlich bedeutende Krankheitserreger ausgewählt: **Fusarium oxysporum**, **F. verticillioides**, **Pythium aphanidermatum**, **Botrytis cinerea**, **Verticillium dahliae**, **Rhizoctonia solani**, **Xanthomonas campestris** pv. **campestris**, **Pseudomonas syringae** pv. **syringae** und **Pepino mosaic virus**. Die Effizienz der KClO-Lösung zur Inaktivierung der Pathogene wurde in Anlehnung an den OEPP/EPPPO Standard PP 1/261 (2008) in vitro bzw. an Testpflanzen ermittelt und Dosis-Wirkungs-Beziehungen berechnet. Wie erwartet variiert die zur vollständigen Inaktivierung der Krankheitserreger erforderliche Dosis und Kontaktzeit in Abhängigkeit von der Erregerart und ggf. dessen Entwicklungsstadium. So lassen sich in vitro alle geprüften pilzlichen Erreger mit Ausnahme von **Rhizoctonia solani** mit 6 mg KClO/l bei einer Einwirkzeit von 30 Minuten vollständig inaktivieren; das Bakterium **X. campestris** ist schon bei einer 5-minütigen Inkubation in 1 mg KClO/l nicht mehr vermehrungsfähig.

#### Literatur

OEPP/EPPPO, 2008: Desinfektion in der Pflanzenproduktion. EPPPO-Bulletin **38**, 311-315. doi: 10.1111/j.1365-2338.2008.01235.

Hong, C., GW. Moorman, W. Wohanka, C. Büttner, 2014: Biology, detection and management of plant pathogens in irrigation water. APS Press, ISBN 978-0-89054-426-6, 448 Seiten.

## **142 - Eignung von elektrolytisch generiertem Kaliumhypochlorit zur Inaktivierung von Pflanzenviren in rezirkulierenden Nährlösungen im Gewächshausanbau von Tomaten**

*Ability of electrolysed produced Potassium Hypochlorite (KClO) to inactivate plant viruses in recirculating nutrient solutions in greenhouse production of tomatos*

**Janine Paulke, Martina Bandte, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland  
E-Mail: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Verschiedenste Methoden wurden bisher auf ihre Eignung zur Minimierung der Ausbreitung von Pflanzenpathogenen in rezirkulierenden Wassersystemen geprüft. Zu diesen gehören die Langsamsand-/Lavagranulatfiltration, UV-Bestrahlung, Erwärmung, Ozonierung, der Zusatz nicht-ionischer Tenside und das Chloren. Während einige Methoden pathogenabhängig eine hohe Effizienz bei der Inaktivierung bzw. Eliminierung von Pilzen oder Bakterien aufweisen, vermag bisher keine Methode pflanzenpathogene Viren zu ökonomisch und ökologisch vertretbaren Bedingungen zu inaktivieren.

In einer ersten Praxisstudien testen wir die Eignung der sensor dosierten Zugabe einer mittels anodischer Oxidation erzeugten Desinfektionslösung zur Inaktivierung von *Pepino mosaic virus* (PepMV) in rezirkulierender Nährlösung. Dazu wurden jeweils 13 Tomatenpflanzen in zwei Rinnen über einen 400 l Vorratsbehälter mit einer rezirkulierenden Nährlösung im NFT-Verfahren (NFT: Nutrient Film Technik) versorgt. In den Rinnen werden jeweils fünf gesunde und acht mit dem jeweiligen Krankheitserreger infizierte Pflanzen positioniert. Ein Kontakt zwischen gesunden und infizierten Pflanzen wurde über eine Wurzelsperre (Gaze) und den Pflanzenabstand unterbunden. Die einmal wöchentlich injizierte Desinfektionslösung stellte einen Gehalt an freiem Chlor von 0,5 mg/l Nährlösung für ein definiertes Zeitintervall sicher. Der Nachweis der viralen Krankheitserreger in Nährlösung sowie den Tomatenpflanzen (*Lycopersicon esculentum* cv. Hoffmanns Rentita) erfolgte regelmäßig mit Hilfe eines Enzym-linked-immunosorbent assay (ELISA). Darüber hinaus wurde der Einfluss des Verfahrens auf das Pflanzenwachstum mit der Bestimmung der oberirdischen Biomasse und des Fruchtertrag beschrieben und bewertet.

Bereits vier Wochen nach Einstellen der Pflanzen in die Fließrinnen, erfolgte mit der unbehandelten rezirkulierenden Nährlösung eine Übertragung des PepMV auf zuvor nicht PepMV-infizierte Tomaten. Die Anzahl der neu infizierten Pflanzen erhöhte sich mit der Kulturdauer. In mit der behandelten Nährlösung versorgten Tomatenpflanzen konnte eine solche Übertragung nicht festgestellt werden, wohl aber eine Schädigung der Pflanzen, die sich in einer reduzierten Biomasse und einem verminderten Fruchtertrag zeigt. Derzeitig wird die optimale Dosierung der KClO-Lösung empirisch ermittelt. Sie soll die Verbreitung der viralen Krankheitserreger mit der Nährlösung verhindern oder zumindest verzögern und dabei einen der in unbehandelter Nährlösung kultivierten Tomatenpflanzen vergleichbaren Fruchtertrag liefern.

## 143 - Ultrafiltration und Ultrazentrifugation zur Konzentrierung von Pflanzenviren in Nährlösung

*Ultrafiltration and ultracentrifugation as tools to concentrate plant viruses in nutrient solution*

**Janina Vincenz, Martina Bandte, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland  
E-Mail: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Die Eignung der Ultrafiltration und Ultrazentrifugation zur Konzentrierung von Pflanzenviren in Nährlösung mit dem Ziel der Unterschreitung der Nachweisgrenze serologischer Testverfahren wird am Beispiel ausgewählter Pflanzenviren vorgestellt und diskutiert. Pflanzenpathogene Viren wurden bereits in Oberflächenwasser wie Bächen, Flüssen, Teichen, Seen sowie rezirkulierenden Nährlösungen nachgewiesen. Über Wurzeln oder abgestorbene Pflanzenteile gelangen Viren in das Wasser und können in Abhängigkeit ihrer Stabilität lange infektiös bleiben. Eine erfolgreiche Infektion über das Wasser ist neben der Stabilität der Viren, auch von dem Virustiter und der Kultivierungsdauer der Pflanzen abhängig. Im Gegensatz zu infiziertem Pflanzenmaterial weisen Wasserproben nur eine sehr geringe Viruskonzentration auf. Zum Nachweis der Viren aus Wasser müssen diese vor Anwendung serologischer oder molekularbiologischer Nachweisverfahren zunächst aufkonzentriert werden. Eine solche Konzentrierung kann beispielsweise durch Ultrafiltration und Ultrazentrifugation erfolgen.

Die untersuchten Nährlösungen stammen aus in Hydrokultur bzw. im NFT (Nutrient Film Technic) kultivierten Tomaten. Die Kulturgefäße bzw. Fließrinnen wurden jeweils abwechselnd mit virusinfizierten und nichtvirusinfizierten Pflanzen bestückt; ein direkter Pflanzenkontakt wurde durch den Pflanzenabstand und Wurzelsperren ausgeschlossen. Es wurden zwei bedeutende Pflanzenviren einbezogen, die sich in ihren morphologischen und physikalischen Eigenschaften unterscheiden: das *Cucumber mosaic virus* (CMV) und *Pepino mosaic virus* (PepMV).

Die Konzentration der Viruspartikeln erfolgte aus den Nährlösungen mit Hilfe einer Tangentialflussfiltration (TFF). Das Retentat der TFF wurde entweder direkt einem DAS-ELISA zum Nachweis von CMV und PepMV unterzogen, oder vor der serologischen Testung zunächst noch einer Ultrazentrifugation unterzogen.

Die Übertragung der Erreger über die Hydrokultur durch die gemeinsame Kultivierung gesunder und infizierter Pflanzen konnte dargestellt werden. Der Nachweis erfolgte dabei sowohl in Wurzel- als auch Blattmaterial. Nach der Tangentialflussfiltration konnte sowohl CMV als auch PepMV in den ultrazentrifugierten Retentaten der aus den Hydrokulturgefäßen sowie den Nährstofftanks der NFT-Kultur entnommenen Proben nachgewiesen werden. In den nicht-ultrazentrifugierten Retentate der Nährlösungsproben war kein sicherer reproduzierbarer Nachweis der jeweiligen Viren möglich. Die Tangentialflussfiltrationen stellt somit ein geeignetes Verfahren zur ersten Konzentrierung von Pflanzenviren aus Nährlösung da und bietet sich insbesondere an, wenn kein Durchflussrotor für eine Ultrazentrifuge zur Verfügung steht.

## **144 - Reinigung doppelsträngiger RNA in Verbindung mit Hochdurchsatzsequenzierung als Werkzeug zum Nachweis von RNA Viren in Pflanzen**

*The combination of double-stranded RNA isolation and deep sequencing as an unspecific diagnostic tool to assess the presence of RNA viruses in plants*

**Till Lesker, Paul Rentz, Edgar Maiss**

Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Abt. Phytomedizin, Herrenhäuser Straße 2, 30419 Hannover, Deutschland

Die meisten Pflanzen infizierenden Viren besitzen einzelsträngige RNA-Genome und bilden während der Replikation doppelsträngige RNA (dsRNA). Diese dsRNA kommt normalerweise nicht in Pflanzenzellen vor und kann daher als ein erstes Indiz für eine Infektion mit Viren dienen. DsRNA kann in Lösungen mit einem 16%igen Ethanolgehalt an Cellulose gebunden und so selektiv gereinigt werden. Dieses bietet eine einfache Möglichkeit für ein RNA-Viren-Screening in Pflanzen, ohne Vorkenntnisse über das Virus zu besitzen.

Es ist jedoch zeit- und arbeitsintensiv mittels RT-PCR, Klonierung und Sequenzierung die einzelnen Viren zu bestimmen. Hochdurchsatzsequenzierung kann hier helfen, diese Schwierigkeiten zu umgehen. Darüber hinaus ermöglicht das Verfahren die Erfassung auch äußerst geringer Menge vorliegender Viren selbst in Mischinfektionen. Der Anteil von Virus-RNA kann jedoch im Vergleich zu Pflanzen-RNA in der Probe sehr gering sein. Für ein effizientes Virus-Screening einer Pflanze muss daher eine Konzentration der Virus RNA erfolgen, bevor es als Ausgangsmaterial für die unspezifische Hochdurchsatzsequenzierung genutzt werden kann.

In einer Studie kombinierten wir gereinigte dsRNA Proben aus kontrolliert kultivierten Kleearten und Dill für eine Hochdurchsatzsequenzierung. Die Analyse der Daten ergab neben den bereits bekannten Viren eine Vielzahl bislang unbekannter viraler Sequenzen, die mutmaßlich von latenten und/oder kryptischen Viren stammen. Die Möglichkeiten, Effizienz aber auch die Grenzen der Hochdurchsatzsequenzierung zur Identifikation bekannter und neuer Viren werden diskutiert. Hierbei wird auch der Vergleich zu anderen Studien gezogen, welche andere Ansätze wie small interfering RNAs, Gesamt-RNA aus Pflanzen oder „Subtraktion-Libraries“ für ein Virus-Screening verwenden.

### Literatur

- Adams, I. P., R. H. Glover, W. A. Monger, R. Mumford, E. Jackeviciene, M. Navalinskiene, M. Samuitiene and N. Boonham (2009). "Next-generation sequencing and metagenomic analysis: a universal diagnostic tool in plant virology." *Mol Plant Pathol* **10**(4): 537-545.
- Coetzee, B., M. J. Freeborough, H. J. Maree, J. M. Celton, D. J. Rees and J. T. Burger (2010). "Deep sequencing analysis of viruses infecting grapevines: Virome of a vineyard." *Virology* **400**(2): 157-163.
- Donaire, L., Y. Wang, D. Gonzalez-Ibeas, K. F. Mayer, M. A. Aranda and C. Llave (2009). "Deep-sequencing of plant viral small RNAs reveals effective and widespread targeting of viral genomes." *Virology* **392**(2): 203-214.
- Kreuze, J. F., A. Perez, M. Untiveros, D. Quispe, S. Fuentes, I. Barker and R. Simon (2009). "Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: a generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses." *Virology* **388**(1): 1-7.
- Roossinck, M. J., P. Saha, G. B. Wiley, J. Quan, J. D. White, H. Lai, F. Chavarría, G. Shen and B. A. Roe (2010). "Ecogenomics: using massively parallel pyrosequencing to understand virus ecology." *Mol Ecol* **19**: 81-88.

## 145 - Impact of silica supplementation on virus infected cucumber cultures

*Rolle der Kieselsäureapplikation Virus infizierter Gurkenkulturen*

**Sabine Holz, Grzegorz Bartoszewski<sup>2</sup>, Michael Kube, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

<sup>2</sup>Warsaw University of Life Sciences Department of Plant Genetics Breeding and Biotechnology

Silicon (Si) is omnipresent in soil and for plants accessible as soluble silicic acid [Si(OH)<sub>4</sub>] (Epstein 1999). Plants take up silicic acid via the root system. It is transported to shoots and leaves coupled to the transpiration stream and finally deposited in cell walls (Currie and Perry 2007). Beneficial effects for plants are higher yield, mechanical strengthening, mitigation of abiotic and biotic stresses (Ma et al. 2001). Si is discussed to play an important and active role in plant disease resistance in general (Fawe et al. 2001). Biotic stresses comprise for instance fungi, bacteria or insects. Silicic acid pretreated cucumber plants show improved defense, if infected with a fungus through deposited Si in the cell wall acting as a mechanical barrier against penetration. However, a potentially protective role of Si with regard to plant viruses is still not clarified.

This study aims to understand the impact of Si treatment on the plant transcriptome and on virus infections in particular. In an initial experiment, we examined the transcriptome of micropropagated *Cucumis sativus* line B10 plants (Burza and Malepszy 1995) treated with Si and a non-treated control group. Transcriptome data were generated from enriched total mRNA templates by Illumina's RNA-Seq approach from the *in vitro* derived templates. Differential expression analysis provided upregulated candidate genes, which may promote virus replication. Therefore, we examined the impact of Si in cucumber infected experimentally by Cucumber mosaic virus (CMV). This virus is known to infect more than 1,200 plant species causing diseases on crops, woody and ornamental plants worldwide. RealTime RT-PCR is applied in subsequent experiments on selected genes for the analysis of the expression of plant genes but also virus replication. Ongoing analyses will examine the role of silicic acid on CMV infection in cucumber under greenhouse conditions.

### References

- BURZA, W. AND S. MALEPSZY, 1995: Direct Plant-Regeneration from Leaf Explants in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Is Free of Stable Genetic-Variation. *Plant Breeding* **114**(4): 341-345.
- CURRIE, H. A. AND C. C. PERRY, 2007: Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies. *Ann Bot* **100**(7): 1383-1389.
- EPSTEIN, E., 1999: Silicon. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **50**: 641-664.
- FAWE A, J. G. MENZIES, M. CHERIF and R. R. BÉLANGER: Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: *Silicon in Agriculture*. L. E. DATNOFF, G. H. SNYDER and G. H. KORNDÖRFER, Elsevier, Amsterdam, p. 159-170.
- Ma J. F., Y. Miyake and E. Takahashi: Silicon as a beneficial element for crop plants. In: *Silicon in Agriculture*. L. E. DATNOFF, G. H. SNYDER and G. H. KORNDÖRFER, Elsevier, Amsterdam, p. 17-36.

## 146 - Untersuchungen zum Auftreten des *Arabis mosaic virus* in Birken aus Rovaniemi (Finnland) mit Virus-spezifischen Symptomen

*Investigations on the occurrence of *Arabis mosaic virus* in birches from Rovaniemi (Finland) with virus-specific symptoms*

**Richard Pauwels, Markus Rott, Susanne von Bargaen, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Pflanzenpathogene Viren treten weltweit an Gehölzen auf (Büttner et al., 2013). Beispielsweise wird seit 2002 ein starkes Auftreten von Birken (*Betula spp.*) mit virusspezifischen Symptomen wie

Chlorosen, Blattrollen und Nekrosen in Fennoskandinavien beobachtet, welche mit dem *Cherry leaf roll virus* (CLRV) assoziiert werden konnten (Jalkanen et al., 2007). In Schweden konnte *Arabis mosaic virus* (ArMV) an Holunder nachgewiesen werden. ArMV wurde bereits in deutschen Birken des Straßenbegleitgrüns bestätigt, in Finnland war ArMV an Birken bisher nicht nachzuweisen (Bandte et al., 2009).

ArMV gehört zu Gattung der Nepoviren und hat ein bipartites Genom; es besteht aus zwei positiv orientierten, einzelsträngigen RNAs. Der Wirtskreis umfasst eine Vielzahl krautiger und holziger Pflanzen, darunter Birke, Schwarzer Holunder und Esche (Büttner et al., 2013). Übertragen wird das Virus mechanisch, vegetativ, über Samen und vektorieell durch Nematoden der Gattung *Xiphinema*. Nach ersten Ergebnissen einer dsRNA-Isolation war nicht auszuschließen, dass ArMV auch in finnischen Birken in Form einer Mischinfektion mit CLRV vorkommt. Aufgrund des ökologischen und ökonomischen Wertes von Birken in Finnland vor dem Hintergrund der epidemieartigen Verbreitung von Virus-verdächtigen Symptomen an ihnen seit 2002, gilt es die Symptome einem oder mehreren Viren eindeutig zuzuordnen.

Es wurden 10 Birken (9 *Betula pubescens*, 1 *Betula pendula*) des Straßenbegleitgrüns in zwei aufeinanderfolgenden Jahren (August 2012 und 2013) ausgewählt. Zum einen wurde eine Reverse Transkription Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR) mit ArMV-spezifischen Primern für beide RNAs (Wetzel et al., 2004 und Bertolini et al., 2001) durchgeführt. Weiterhin wurden die Proben serologisch mittels Double Antibody Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) getestet. Unabhängig vom gewählten Verfahren konnte in keiner der 20 untersuchten Proben eine Infektion mit ArMV bestätigt werden.

#### Literatur

- BANDTE, M., VON BARGEN, S., ARNDT, N., GRUBITS, E., JALKANEN, R., BÜTTNER, C.: Bedeutende Viren an Birke - Fallbeispiele aus Deutschland, Finnland und den USA. In: *Jahrbuch der Baumpflege 2009*. DUJESIEFKEN, D., Braunschweig, *Haymarket Media*, 215-221.
- BERTOLINI, E., OLMOS, A., MARTÍNEZ, M. C., GORRIS, M. T., CAMBRA, M., 2001: Single-step multiplex RT-PCR for simultaneous and colourimetric detection of six RNA viruses in olive trees. *Journal of Virological Methods* **96**, 33-41.
- BÜTTNER, C., VON BARGEN, S., BANDTE, M., MÜHLBACH, H.: Forest Diseases Caused by Viruses. In: *Infectious Forest Diseases*. Gonthier, P., Nicolotti, G., Wallingford (UK), Boston (MA), *CABI*, 50-75.
- JALKANEN, R., BÜTTNER, C., VON BARGEN, S., 2007: *Cherry leaf roll virus* abundant on *Betula pubescens* in Finland. *Silva Fennica* **41** (4), 755-762.
- WETZEL, T., BECK, A., WEGENER, U., KRZCAL, G., 2004: Complete nucleotide sequence of the RNA 1 of a grapevine isolate of *Arabis mosaic virus*. *Archives of Virology* **149**, 989-995.

## 147 - *Cherry leaf roll virus* in *Betula* spp. in Finland: what do we know about its population diversity?

*Cherry leaf roll virus* in Birken-Arten in Finnland: Was wissen wir über die Populationsdiversität?

**A. Rumbou, S. von Bargaen, M. Rott, R. Jalkanen<sup>2</sup>, C. Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

<sup>2</sup>The Finnish Forest Research Institute Metla, Northern Research Unit, Eteläranta 55, 96300 Rovaniemi, Finland

*Cherry leaf roll virus* (CLRV) is a nepovirus, classified to subgroup C within the newly established family *Secoviridae*. CLRV has been reported worldwide revealing its wide natural host range which comprises at least 24 genera of broad-leaved trees and shrubs as well as a variety of herbaceous plants. The complete nucleotide sequence of both genomic (+)ss RNAs of a rhubarb isolate of CLRV was recently determined (von BARGEN et al., 2009). Characterization of diverse CLRV isolates from birch (*Betula* spp.) has been of high interest as the virus is consistently detected in trees exhibiting strong symptoms (leaf discoloration and deformation as well as tree decline) in Finnish forests. Samples from 14 *Betula pubescens* trees growing in the urban parks of Rovaniemi, Finland were investigated for the presence of CLRV variants. PCR fragments from three different genetic

regions (untranslated (UTR), coat protein (CP) and RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) regions) were cloned and sequenced. In each region five to six genotypes were identified. Based on their abundance the genotypes were clustered in three groups: a. one predominant genotype that was present in the majority of the trees, b. a few genotypes common among 3-4 trees and c. rare genotypes detected only once. Concerning the within tree virus variability, a mixture of CLRV variants was found in each individual birch. This outcome is in accordance with the quasispecies evolution theory and elevated mutation rates in RNA viruses. The phylogenetic analysis showed that CLRV variants from the Finnish birches are highly variable belonging to 4 out of the 5 phylogenetic groups defined to date from a different hosts worldwide (REBENSTORF *et al.*, 2006). CLRV genetic diversity among trees was up to 16% for the UTR region - which is the diversity found universally among CLRV strains from all hosts -, and it was even higher in the CP and RdRp regions, reaching 23%. Summarizing, high genotypic and genetic diversity was found in CLRV population from *B. pubescens* from a relatively restricted area in Finland. Still, the CLRV variability is expected to be higher than identified in the analyzed samples, considering strong bottlenecks occurring during cell-to-cell movement and systemic colonization of tissues.

Literatur

REBENSTORF K., CANDRESSE T., DULUCQ M.J., BÜTTNER C. & OBERMEIER C., 2006. Host species-dependent population structure of a pollen-borne plant virus, *Cherry leaf roll virus*. *Journal of Virology*, **80**, p. 2453–2462.  
 von BARGEN S., LANGER J., ROBEL J., RUMBOU A. & BÜTTNER C., 2012. Complete nucleotide sequence of Cherry leaf roll virus (CLRV), a subgroup C nepovirus. *Virus Research* **163** (2) p. 678-83.

## 148 - Viruserkrankungen im Weinbau

### *Viroses in viticulture*

**Henriette Gruber, Patricia Bohnert, Christiane Rieger<sup>2</sup>**

Staatliches Weinbauinstitut Freiburg

<sup>2</sup>Universität Freiburg

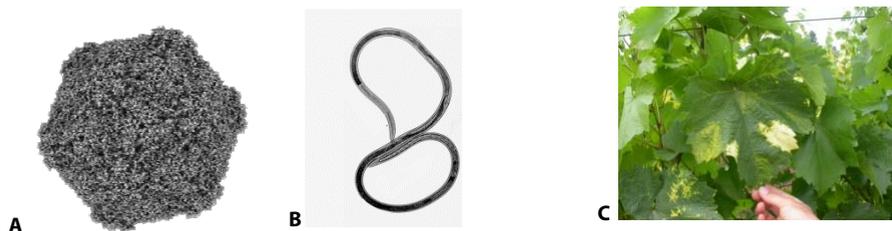
Im Weinbau sind Viruserkrankungen schwer zu identifizieren und momentan nicht behandelbar. Es ist daher unbekannt, wie stark verbreitet Virose tatsächlich sind.

In Europa unterliegen nur Anlagen zur Vermehrung von Rebenpflanzgut einer Kontrolle auf Viruserkrankungen. Die Daten der amtlichen Virustestung (2009-2013) wurden ausgewertet und ermöglichen einen Einblick in Häufigkeit und Verbreitung von Viren in Weinreben.

**Tab. 1** Ergebnisse der amtlichen Virustestung (2009-2013)

Getestete Stöcke insgesamt	Mischproben insgesamt	Virus-positive Mischproben
62.829	8967	371

In älteren Vermehrungsanlagen dominieren die leafroll associated viruses. Aber je jünger die Anlagen, desto höher der Anteil der Nepoviren (nematode transmitted polyhedral viruses). Dazu gehört auch das *Grapevine fanleaf virus*, welches die Reisigkrankheit verursacht und in Deutschland auch durch bodenlebende biotrophe Nematoden (*Xiphinema index*) übertragen wird. Dadurch etabliert sich ein Kreislauf von Infektion und Reinfektion und die Reisigkrankheit bleibt eine permanente Bedrohung im Weinbau.



**Abb. 1 Die Reisigkrankheit:** A - Grapevine Fanleaf Virus (GLFV), B - Xiphinema index, C -Symptome an *Vitis vinifera* ssp. *vinifera*

Daher stehen neue nachhaltige Bekämpfungsstrategien im Fokus der aktuellen Forschung. Besonders der frühe Krankheitsverlauf wird untersucht. Es wurde geprüft, ob eine Virusinfektion eine pflanzliche Abwehrantwort auslöst, ähnlich der bei anderen Krankheitserregern.

#### Literatur

- SHELLENBERGER, P., SAUTER, C., LORBER, B., BRON, P., TRAPANI, S., BERGDOLL, M., MRMONIER, A., SCHMITT-KEICHINGER, C., LEMAIRE, O., DEMANGEAT, G., RITZENTHALER, C., 2011: Structural insights into viral determinants of nematode mediated grapevine fanleaf virus transmission. *PLoS Pathog.* **7** (5).
- GUTHA, L. R., CASASSA, L. F., HABERTSON, J. F., NAIDU, R. A., 2010: Modulation of flavonoid biosynthetic pathway genes and anthocyanins due to virus infection in grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *BMC Plant Biology* **10** (187).

## 149 - Molecular analysis of *Tobacco rattle virus* isolates from potatoes in various parts of Germany

Kerstin Lindner, Renate Koenig<sup>2</sup>

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland

<sup>2</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

Tobacco rattle virus (TRV) is a widely distributed soil-borne pathogen which is transmitted by trichodorida nematodes. The genome of TRV consists of two RNA species. TRV RNA 1 contains the genetic information for two replication associated enzymes, for the movement protein and for a silencing suppressor. TRV RNA 2 contains the coat protein gene and further genes for proteins necessary for the nematode transmission of the virus. TRV is able to infect many different plant species. It may cause considerable economic damage by greatly reducing the quality of various agricultural and horticultural products, especially of potatoes and ornamental plants. Infected potato tubers often develop symptoms of 'corky ringspot' or 'Eisenfleckigkeit' which make them unsellable. Some potato cultivars seem to be more susceptible than others, but there are also indications that in certain areas virus strains may occur which are able to overcome the resistance observed with some potato cultivars in other locations. Thus, Robinson (2004) has described a TRV strain which is able to break the normally observed TRV resistance of the cultivar Bintje. The nucleotide composition of the RNA 1 of this TRV strain (Pp085M) was found to differ considerably from that of the RNA1 molecules of other TRV strains.

In recent years we have analyzed the molecular properties of TRV isolates from potatoes in various parts of Germany. Considerable differences were observed not only in the nt compositions of the RNA 2 molecules, but also in those of the RNA 1 molecules which are assumed to be mainly responsible for the pathogenic effects of the virus in potatoes (Robinson, 2004). Three major groups of TRV RNA 1 molecules were distinguished, but the RNA 1 molecules in each individual virus source showed specific differences to the RNA 1 molecules of all other TRV sources from potatoes. The TRV RNA 1 molecules obtained from infected potatoes in Bavaria and in Hessen were closely

related to the originally described TRV Sym and TRV PpK20 RNA 1 molecules (Genbank accession numbers X06172 and AF314165). In central and northern Germany, however, we observed TRV RNA 1 variants which were more closely related to those which we had recently identified in two ornamental plants, i.e. in *Alstroemeria* and *Hosta* (Koenig et al., 2012 and 2013). These latter types of RNA 1 molecules have recently also been detected in potatoes (Yin et al., 2014). A third group of RNA 1 molecules in Northern Germany was found to be more closely related to those of some strains found in The Netherlands and North America. The RNA 1 of the resistance-breaking TRV type PpO85M described by Robinson (2004) has so far not been found in Germany. Investigations on the pathogenic effects of different TRV strains for various potato cultivars are now in progress.

#### References

- KOENIG, R., LESEMANN, D.E., PFEILSTETTER, E., WINTER, S., PLEIJ, C.W., 2011. Deletions and recombinations with the RNA1 3' ends of different tobamoviruses have created a multitude of tobacco rattle virus TCM-related RNA2 species in *Alstroemeria* and tulip. *J. Gen. Virol.* 92, 988-996.
- KOENIG, R., LESEMANN, D.E., PLEIJ, C.W., 2012. Tobacco rattle virus genome alterations in the *Hosta* hybrid 'Green Fountain' and other plants: reassortments, recombinations and deletions. *Arch. Virol.* 157, 2005-2008.
- ROBINSON, D.J., 2004. Identification and nucleotide sequence of a *tobacco rattle virus* RNA-1 variant that causes spraing disease in potato cv. Bintje. *J. Phytopathology* **152**, 286-290.
- YIN, Z., PAWEŁKOWICZ, M., MICHALAK, K., CHRZANOWSKA, M., ZIMNOCH-GUZOWSKA, E., 2014. The genomic RNA1 and RNA2 sequences of the tobacco rattle virus isolates found in Polish potato fields. *Virus Res.* 185, 110-113.

## 150 - Detektion und Diversität des *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) in Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.) in Norwegen

*Detection and variability of European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV) in Sorbus aucuparia L. in Norway*

**Theresa Büttner, Jenny Robel, Hans-Peter Mühlbach<sup>2</sup>, Susanne von Bargaen, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin; Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland  
<sup>2</sup> Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek; Ohnhorststr. 18, 22609 Hamburg, Deutschland, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Das *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) ist ein negativ-orientiertes einzelsträngiges RNA Virus, welches 4 Genomsegmente enthält (Mielke und Mühlbach 2007). Das Virus ist in weiten Teilen Europas in Ebereschen (*Sorbus aucuparia*) verbreitet (Robel et al. 2013). In dieser Studie wurden erstmals 31 Blattproben von Ebereschen mit Symptomen wie chlorotischen Ringflecken und Scheckungen von verschiedenen Standorten in Norwegen auf eine EMARaV-Infektion untersucht. Zur Detektion des Virus wurden zwei unabhängige Fragmente innerhalb des kodierenden Bereichs der viralen RNA2 (300 bp) bzw. der 3' nicht-translatierten Region der RNA3 (204 bp) mittels RT-PCR amplifiziert. Das Virus konnte in 9 Bäumen aus Mittelnorwegen nachgewiesen werden. Anhand des Sequenzvergleichs der RNA2 und RNA3 Fragmente wurde zum einen die Infektion der Ebereschen mit EMARaV bestätigt und zum anderen konnte die Variabilität der EMARaV Varianten miteinander verglichen werden. Die Identitäten der Aminosäuresequenzen der RNA2 Fragmente der norwegischen Varianten untereinander und im Vergleich mit EMARaV Sequenzen aus der Datenbank lagen zwischen 96,5-100%. Die RNA3 Fragmente zeigten auf Nukleotidebene Identitäten von 67,2-100% untereinander bzw. zu den bereits veröffentlichten Sequenzen. Es konnte gezeigt werden, dass es 2 Gruppen von Sequenzvarianten innerhalb der norwegischen viralen RNA3 Fragmente gab, die nicht mit der geografischen Distanz korrelierten.

#### Literatur

- MIELKE, N., H.-P. MÜHLBACH, 2007: A novel, multipartite, negative-strand RNA virus is associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.), *J. Gen. Virol.* **88**, 1337-1346.

ROBEL, J., M. BANDTE, H-P. MÜHLBACH, S. VON BARGEN, C. BÜTTNER, 2013: Ein neuartiges Virus in *Sorbus aucuparia* L.: Nachweis und Verbreitung des European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV). In: Jahrbuch der Baumpflege. DUJESIEFKEN, D., Braunschweig, Haymarket Media, 47-53 S.

## **151 - Charakterisierung des *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) in Mehlbeerenarten (*Sorbus* spp.)**

*Characterization of the European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV) in whitebeam species (Sorbus spp.)*

**Luisa Dieckmann, Jenny Robel, Susanne von Bargaen, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland

Das *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) ist ein negativ-orientiertes einzelsträngiges RNA-Virus bestehend aus 4 Genomsegmenten der Gattung *Emaravirus* (Benthack et al., 2005; Mühlbach und Mielke, 2011). An den Blättern der Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.) führt eine Infektion mit EMARaV zur Bildung von Scheckungen und/oder chlorotischen Ringflecken und kann die Degeneration der Pflanze bewirken (Mielke und Mühlbach, 2007). Neben der Eberesche als Wirtspflanze konnte EMARaV erstmals in Mehlbeerenarten nachgewiesen werden (Robel et al. 2013). Die RNA1, RNA2, RNA3 sowie die p4-kodierende Region der RNA4 der Virusvariante aus *Sorbus intermedia* wurden mittels PCR amplifiziert und sequenziert. Die Sequenzen wurden mit der publizierten Virusvariante des Typstammes aus *Sorbus aucuparia* verglichen. Die Identität der Nukleotidsequenzen des untersuchten 5370 bp Fragments der RNA1 von EMARaV aus *Sorbus intermedia* beträgt im Vergleich zu *Sorbus aucuparia* (NC013105) 98 %. Die 2335 bp lange RNA2 der beiden Virusvarianten ähnelt sich zu 99 %. Die RNA3 ist 1560 bp lang und gleicht zu 98 % dem Fragment der Vergleichssequenz (DQ831828). Die Identität der Nukleotidsequenzen des p4-Proteins beider EMARaV-Varianten beträgt 100 %. Die Genome von EMARaV aus *Sorbus intermedia* und *Sorbus aucuparia* besitzen zueinander Sequenzidentitäten von mindestens 98 %. Die genetische Variabilität des Virus wird offenbar durch andere Faktoren als die jeweilige Wirtspflanze beeinflusst.

### Literatur

- BENTHACK W., N. MIELKE, C. BÜTTNER, H. P. MÜHLBACH. 2005: Double-stranded RNA pattern and partial sequence data indicate plant virus infection associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). *Arch. Virol.* 150, 37-52.
- MIELKE N, MÜHLBACH HP. 2007: A novel, multipartite, negative-strand RNA virus is associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). *Journal of General Virology* 88: 1337-1346.
- MÜHLBACH HP, MIELKE-EHRET N. 2011: *Emaravirus*. *Virus Taxonomy* 767-770.
- ROBEL J, BÜTTNER T, MÜHLBACH HP, VON BARGEN S, BÜTTNER C. 2013: First detection of European mountain ash ringspot-associated virus in *Sorbus aria* and *Sorbus intermedia*. AAB Conference.

## **152 - Vollständige Genomsequenz eines *Carrot virus S* Isolates aus Meerfenchel aus Spanien**

**W. Menzel, P. Menzel, S. Winter**

Leibniz Institut DSMZ, Abteilung Pflanzenviren, Braunschweig

Aus dem dsRNA Extrakt einer Möhrenprobe aus Bingenheim wurde die Teilsequenz (2,2 kb) eines bisher unbekanntes Carlavirus ermittelt und 2008 publiziert. Alle Versuche, diese Virus in den folgenden Jahren bei der Untersuchung von hunderten Möhrenprobe und Proben anderer Apiaceen aus verschiedenen Regionen Deutschlands wiederzufinden, waren nicht erfolgreich. Von einer zufällig an der Felsküste im Norden von Mallorca gesammelten, stark chlorotischen Meerfenchelprobe (*Crithmum maritimum*, Fam. Apiaceae) konnte ein Virus mechanisch auf *Nicotiana*

hesperis übertragen werden. Das vollständige Genom dieses Virus (8,6 kb) wurde ermittelt und Sequenzvergleiche zeigten, daß es sich um ein Isolat des Carrot virus S handelt. Das Virusisolat aus Spanien konnte auf verschiedene Apiaceen, u. a. Möhre, Fenchel und Sellerie, übertragen werden. Dies ist der zweite dokumentierte Fund dieses Virus überhaupt und der erste Fund außerhalb Deutschlands. Es ist in der Virussammlung der DSMZ unter der Nummer PV-1090 verfügbar.

### **153 - Nachweis und vollständige Sequenzierung eines Carla- und eines Potex-virus aus *Epiphyllum spec.***

*Detection and complete sequence of a Carla- and Potexvirus in Epiphyllum spec.*

**Edgar Maiss, Paul Rentz, Annette Hohe<sup>2</sup>, Rosa Herbst<sup>2</sup>**

Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Abteilung Phytomedizin, Herrenhäuser Straße 2, 30419 Hannover, Deutschland

<sup>2</sup>Leibniz Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren / Erfurt e.V., Kühnhäuser Str. 101, 99090 Erfurt, Deutschland

In Kakteen wurden in der Vergangenheit verschiedene Viren, wie z. B. das *Cactus virus X* nachgewiesen. Nur wenig untersucht sind bislang allerdings Blattkakteen der Gattung *Epiphyllum*. Bei diesen Pflanzen treten immer wieder unterschiedliche Blütenfärbungen bzw. Blütenbrechungen auf, die auf Infektionen mit Viren schließen lassen. Ziel der Arbeiten war es, den Virusstatus von *Epiphyllum spec.* zu erfassen und eventuell auftretende Viren zu beschreiben. Aus ca. 50 Blüten- bzw. Blattproben von *Epiphyllum spec.* wurden zunächst dsRNAs gewonnen. Es wurden mehrere dsRNAs mit Größen von ca. 6.5 kb bis über 11 kb gefunden. Nach RT-PCR mit Zufallsprimern und Klonierung der DNA-Fragmente wurden die Sequenzen bestimmt, wobei Ähnlichkeiten zu Viren aus der Familie *Closteroviridae*, bzw. aus den Gattungen Carla- und Potexvirus gefunden wurden. Im weiteren Verlauf wurden die kompletten Sequenzen eines Carla- und eines Potexvirus bestimmt sowie die Häufigkeit des Auftretens in *Epiphyllum spec.* überprüft. Während es sich bei dem Carlavirus um ein neues Virus handelt, konnte das Potexvirus als ein Stamm des *Cactus virus X* identifiziert werden. Das Carlavirus wurde in ca. 80%, das Potexvirus in etwa 40% der untersuchten Pflanzen nachgewiesen. Die Genomorganisation beider Viren sowie ihre phylogenetische Einordnung in die Familie der *Flexiviridae* werden beschrieben und diskutiert.

#### Literatur

- KOENIG, R., PLEIJ, C.W., LOSS, S., BURGERMEISTER, W., AUST, H., SCHIEMANN, J., (2004) Molecular characterisation of potexviruses isolated from three different genera in the family Cactaceae. *Archives of Virology* 149, 903-914. LVAREZ, J. M., R. SRINIVASAN, 2005.
- MILICIC, D., UDJBINAC, Z., (1961) Virus-Eiweißspindel in der Kakteen in Lokalläsionen von *Chenopodium*. *Protoplasma* 53, 584-596.
- MILICIC, D. et al., (1966) Vergleichende serologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Isolaten des Kakteen-X-Virus. *Phytopathol Z*, 55, 211-217.
- WEBER, F., (1953) Viruskrankes *Epiphyllum*. *Plant Systematics and Evolution*, 100, 548-551.

## **154 - Analysis of mixed populations of latent viruses of apple and rubbery wood disease of apple using new generation sequencing**

*Analyse von Mischpopulationen latenter Apfelviren und der Gummiholzkrankheit an Apfel mittels Hochdurchsatzsequenzierung*

**Vladimir Jakovljevic, Patricia Otten<sup>2</sup>, Jonathon Blake<sup>3</sup>, Wilhelm Jelkmann**

Julius Kühn-Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

<sup>2</sup>FASTERIS, SA - Ch. du Pont-du-Centenaire 109, Case postale 28, 1228 Plan-les-Ouates, Switzerland

<sup>3</sup>EMBL Genomics Core Facility, Meyerhofstr. 1, 69117 Heidelberg, Germany

Characterization of many fruit diseases is hampered by the fact that the causative agents or their nucleotide sequences are unknown. Majority of plant viruses belong to the class of RNA viruses which due to their mode of replication (reverse transcription) exist within genetically diverse population, often termed as "quasispecies". Furthermore, many species of plant viruses are found within mixed natural populations making isolation and Sanger sequencing of a single species difficult.

New generation sequencing (NGS) is emerging technology with its use in phytopathology still in early development. Here we show examples how this technology can be used to analyse mixed viral populations of latent viruses of apple, apple rubbery wood (ARW) and flat limb, diseases with unknown ethiology.

- *Apple stem pitting virus (ASPV), apple stem grooving virus (ASGV) and apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)* are single-stranded (+) RNA viruses belonging to the family of Betaflexiviridae. They usually cause latent infections of apple but in some cases they can produce symptoms and significant economic losses, especially when found in mixed infection (Yanase, 1974). We isolated viral double-stranded RNA (dsRNA) from apple samples tested by PCR as positive for mixed infection of ASPV, ASGV and ACLSV. Some of the samples had also symptoms of ARW and/or flat limb disease. Viral dsRNA was sequenced using Illumina HiSeq technology. We show how obtained sequence reads can be used to determine the structure of the viral population and to detect new viruses and viroids of apple.
- ARW disease is known in orchards since decades (Crane *et al.*, 1945) but the causative agent of it is still unknown. Here we performed NGS of total RNA (RNA-seq) and of small RNAs from ARW infected apple and a healthy control using Illumina HiSeq. After subtraction from the control, ARW-specific reads were used to search for potential pathogens using various bioinformatic approaches. Among small RNAs, several micro-RNAs (miRNAs) have been found as candidates responsible for the development of the disease symptoms.

### Literatur

YANASE H. 1974 Studies on apple latent viruses in Japan. Bull. Fruit Tree Res. Stn. Jpn. Ser. C1:47-109.

CRANE MB, 1945 Origin of Viruses. Nature. 155: 115-116.

## **155 - Experiments on transmission of viroids under glass and longevity of viroid RNA in detached leaves under different storage conditions**

**Thi Thu Vo, Heinz-Wilhelm Dehne, Stephan Winter, Joachim Hamacher**

INRES – Phytomedicine, DSMZ - Plant Viruses

The two pospiviroids PSTVd (Potato spindle tuber viroid, EPPV A2 List) and TCDVd (Tomato chlorotic dwarf viroid) cause economically severe diseases on many host plants in the Solanaceae family. Solanaceous ornamental plants were found to be potential sources of infection. This study shows the effectiveness of three ways of mechanical transmission between tomato (*Solanum esculentum*), petunia (*Petunia x hybrida*) and *Brugmansia suaveolens*. The results show both,

TCDVd and PSTVd, can be transmitted successfully from both petunia and tomato to tomato and less well to brugmansia by diluted sap, contaminated gloves and razor blades. Tomato is a very susceptible host for PSTVd and TCDVd, whereas transmissions hardly succeeded on brugmansia. Furthermore, other studies show the stability of ribonucleic acid of PSTVd and TCDVd under different storage conditions, as they were stored asinoculum in fresh leaves in unsealed bags at room temperature and at low temperatures (in a refrigerator at +40C and a deep freezer at -200C). The results show that both viroids could be detected after storage for four months under different conditions by RT-PCR. Viroid-bands could be detected in all samples stored at -200C, whereas less positive samples could be detected at +40C- and room temperature storage. These results indicate that easy mechanical transmission and high nucleic acid stability could contribute to outbreaks of viroid epidemics in practice.

## **156 - Phytoplasmen in Schleswig-Holstein**

*Phytoplasmas in the state of Schleswig-Holstein*

**G. Henkel, C. Willmer, M. Wunderlich<sup>2</sup>, B. Golecki<sup>2</sup>**

Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Fachbereich Pflanzenschutz, Ellerhoop

<sup>2</sup>Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Phytopathologische Diagnostik, Kiel

### **Ziel**

Phytoplasmen werden vermehrt in gartenbaulichen Kulturen detektiert. Ist eine relative Zunahme der infizierten Pflanzen, die lebenslang in der Ertragsleistung geschwächt sind oder absterben, festzustellen?

### **Nachweise**

Der schleswig-holsteinische Pflanzenschutzdienst hat die Erregergruppe seit 1999 mittels molekularer Methoden auf der Agenda. Die im Poster vorgestellten Ergebnisse wurden im Rahmen von Monitorings und Beratungsanfragen erhoben. Beispielhaft werden positive Nachweise mit Fotos aus den Gartenbausparten Obstbau, Gemüsebau und Baumschule vorgestellt. Es wird stichwortartig auf die Symptomatik eingegangen und dokumentiert, welche anderen Pathogene ausgeschlossen wurden.

### **Fazit**

Durch die Fokussierung auf Phytoplasmen in den letzten Jahren wurden vermehrt Testreihen durchgeführt. Entsprechend stieg die absolute Anzahl der positiven Nachweise in verschiedenen Kulturen an. Einige Abnehmer fordern entsprechende Nachweise, so dass die Produktionssicherheit in den Betrieben nach lässt und zum Teil pflanzengesundheitliche Einschränkungen die Folge sind. In vielen Gattungen wie zum Beispiel *Carpinus betulus*, *Corylus avellana*, *Quercus rubra*, *Fraxinus pennsylvanica*, *Rosa canina*, *Prunus serrulata* und *Prunus fruticosa* aus verschiedenen Betrieben und Herkünften konnte allerdings kein Befall mit Phytoplasmen bestätigt werden. Nach den vorliegenden Ergebnissen dürfte die relative Anzahl an Phytoplasmosen im gartenbaulichen Bereich konstant sein.

## 157 . Phytoplasmen verändern das Duftstoffbouquet ihres pflanzlichen Lebensraums

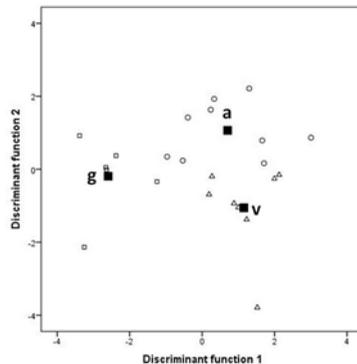
*Plant volatile emission is affected by phytoplasma infection*

**Margit Rid, Kai Lukat, Svenja Hoferer, Jürgen Gross**

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

Die durch Phytoplasmen verursachte Apfeltriebsucht ist jedes Jahr für hohe wirtschaftliche Schäden im europäischen Erwerbsobstbau verantwortlich. Infizierte Apfelbäume zeigen typische Symptome wie den sog. Hexenbesen und kleine ungenießbare Früchte. Die Krankheit wird durch zellwandlose Bakterien (*Candidatus Phytoplasma mali*) verursacht und durch den Sommerapfelblattsauger (*Cacopsylla picta*) übertragen. *C. picta* wird von infizierten Pflanzen durch olfaktorische Signale, wie dem Sesquiterpen  $\beta$ -Caryophyllen, angelockt (Mayer *et al.*, 2008a, b).

Die Duftstoffbouquets von gesunden und infizierten Modellpflanzen (Tabak, *Nicotiana occidentalis*) wurden mittels gekoppelter Thermodesorption-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (TD-GC-MS) auf Unterschiede hin untersucht. Die Duftstoffbouquets unterscheiden sich in Abhängigkeit von ihrem Infektionsstatus (Abb. 1). Die beiden Duftstoffe Benzoessäureethylester und ein noch nicht identifiziertes Sesquiterpen wurden in höheren relativen Mengen im Headspace von mit *Ca. P. mali* infizierten Tabakpflanzen gefunden. Dies bestätigt die Annahme, dass Phytoplasmen in der Lage sind, das Duftstoffspektrum ihrer Wirtspflanze zu manipulieren. Zusätzlich waren quantitative Unterschiede der Emissionsmengen des Sesquiterpens bei zwei unterschiedlich virulenten Stämmen zu verzeichnen. Somit könnte die Virulenz der verschiedenen Stämme auch mit der Duftstoffabgabe in Zusammenhang stehen. Die evolutionsökologische Bedeutung dieser Ergebnisse wird diskutiert.



**Abb. 1** Vergleich der Duftstoffbouquets von Tabakpflanzen in Abhängigkeit von ihrem Infektionsstatus. Darstellung der Diskriminanzanalyse nach erfolgter Hauptkomponentenanalyse. (g = gesund; a&v = Tabakpflanzen, infiziert mit *Ca. Phytoplasma mali* Stämmen unterschiedlicher Virulenz). (Diskriminanzfunktion 1:  $\chi^2=34.074$ ,  $df=14$ ,  $p=0.002$ ; Diskriminanzfunktion 2:  $\chi^2=11,508$ ,  $df=6$ ,  $p=0.074$ )

Literatur

MAYER, C. J., A. VILCINSKAS, J. GROSS, 2008a: Pathogen induced release of plant allomone manipulates vector insect behavior. *Journal of Chemical Ecology*. 34:1518-1522.

MAYER, C. J., A. VILCINSKAS, J. GROSS, 2008b: Phytopathogen lures its insect vector by altering host plant odor. *Journal of Chemical Ecology*. 34:1045-1049.

## 159 - Ist das Wurzelbild ein Sortierungsmerkmal für durch *Candidatus Phytoplasma pyri* verursachten Birnenverfall?

*Is the root file a sorting feature for Pear decline caused by Candidatus Phytoplasma pyri?*

**Georg Henkel, Claudia Willmer, Bernd Kaland, Bettina Golecki<sup>2</sup>**

Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Fachbereich Pflanzenschutz, Ellerhoop, ghenkel@lksh.de

<sup>2</sup>Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Phytopathologische Diagnostik, Kiel, bgolecki@lksh.de

Die Stückzahlen bei Obstgehölz-Unterlagen bewegen sich schnell im zigtausender oder im hunderttausender Bereich. Eine umfassende, aufwendig durchzuführende Testung des zum Verkauf anstehenden Materials ist aus Kapazitätsgründen der Labore, aber auch wegen der hohen, dann anfallenden Kosten nicht möglich. Würde sich bei Birnenunterlagen krankes von gesundem Material visuell unterscheiden, könnte beim Sortieren im Betrieb eine Trennung erfolgen. Dies wäre ein großer Schritt beim Risikomanagement der Phytoplasmosen. Im besten Fall ließe sich an der Wurzel Material erkennen, welches oberirdisch noch keine Symptome ausgebildet hat.

Am 12.5.2010 wurden die Unterlagen Quitte C und Quitte BA 29 visuell ausgewertet und mittels Premix Universal nested Phytoplasma Kit der Firma Loewe untersucht. Unabhängig davon, ob das Wurzelbild viele oder wenige Feinwurzeln aufwies, zeigten alle Pflanzen einen negativen Befund. Bei dem Versuch lag mit großer Wahrscheinlichkeit nur gesundes Pflanzmaterial vor, so dass innerhalb einer gewissen Streuung, keine Unterschiede beim Wurzelwerk auftraten.

Im Januar 2012 wurden für sieben Wochen 160 Blattsauger zu 36, in vier Sarankästen stehenden, Birnensämlingen eingesetzt. Neun Kontrollpflanzen standen im direkt vergleichbaren Sarankasten. Die restlichen 27 Kontrollpflanzen standen unter gleichen Klimabedingungen in einer Gewächshauskabine mit Sarangewebe. Die Auswertung erfolgte im November 2012 auf das Wurzelbild, den Wurzelhalsdurchmesser, das Wurzelgewicht und die Infektion mit Phytoplasmen. Der Parameter Wurzelhalsdurchmesser korrelierte wenig mit dem Wurzelgewicht. So zeigten schwache und damit leichte Pflanzen erstaunlich hohe Wurzelhalsdurchmesser. Das Wurzelgewicht bei Pflanzen mit Psyllidenbesatz lag 46% niedriger als bei der Kontrolle. Das objektive Wiegen offenbarte deutlich größere Unterschiede als die subjektive visuelle Einteilung des Wurzelwerkes in die drei Kategorien „schwach“, „mittel“ und „stark“. Optisch wurden die Pflanzen aus der Gewächshauskabine in ihrer Wurzel bedeutend stärker eingestuft, als nach dem objektiven Wurzelgewicht zu erwarten war.

### Fazit

Ob eine Korrelation zwischen dem Wurzelbild und der Phytoplasmosen vorliegt, kann nicht abschließend beantwortet werden. Denn trotz starkem Infektionsdruck durch Psylliden aus einer infizierten Obstanlage und einer destruktiven Aufarbeitung der Proben konnte kein positiver Pear-decline-Nachweis geführt werden. Unterschiede im Wurzelbild waren durch Anzuchtbedingungen, Saugtätigkeit und die genetische Variabilität des Materials begründet. Auch wenn die Versuchsfrage eine andere war, konnten Aussagen zur Beladung mit Phytoplasmen der überwinterten Generation von *Cacopsylla pyri* und grundsätzliche Aussagen zu den Auswirkungen der Haltungsbedingungen auf Versuchspflanzen herausgearbeitet werden. Zusammenfassend lässt sich nach Wiegen, Messen und visueller Auswertung festhalten, dass die Wuchsbedingungen zwar unter Saranbedingungen, aber außerhalb der Sarankästen erwartungsgemäß deutlich bessere Lebensbedingungen für die Testpflanzen ermöglichten. So zeigte die Variante Sarangewebe Gewächshaus die höchsten durchschnittlichen Werte aller Varianten beim Wurzelhalsdurchmesser und beim Wurzelbild.

## **160 - Die Bedeutung von $\beta$ -Caryophyllen als Lockstoff für die Apfeltriebsucht übertragende Blattsaugerart *Cacopsylla picta***

*The impact of  $\beta$ -caryophyllene as attractant for the Apple Proliferation transmitting insect *Cacopsylla picta**

**Constanze Mesca, Svenja Hoferer, Jürgen Gross**

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

Apfeltriebsucht ist eine Krankheit, die durch das zellwandlose Bakterium *Candidatus Phytoplasma mali* verursacht wird und zu großen wirtschaftlichen Verlusten führen kann. Die Übertragung erfolgt durch den Sommerapfelblattsauger *Cacopsylla picta* (Hemiptera: Psyllidae). Bisher ist eine direkte Bekämpfung nur über die Bekämpfung des Vektors möglich. Da in Deutschland kein Insektizid gegen Apfelblattsauger zugelassen ist, muss nach alternativen Strategien gesucht werden. Ein neuer Ansatz ist die Entwicklung von Lockstofffallen, mit denen ein Monitoring oder gar Massenfang ermöglicht werden soll. Um ein solches effektives und artspezifisches Fang-System zu etablieren, ist vor allem die Untersuchung der olfaktorischen Orientierung des Vektorinsekts notwendig. In vorhergehenden Studien konnte gezeigt werden, dass mit dem Apfeltriebsucht-Phytoplasma infizierte Apfelbäume verstärkt das Sesquiterpen  $\beta$ -Caryophyllen abgeben. Weiterhin wurde in Feldversuchen und Verhaltensbiotests festgestellt, dass  $\beta$ -Caryophyllen eine attraktive Wirkung auf die Emigranten (Stadium, in welchem die Imagines im Frühjahr in die Apfelanlagen einwandern) von *C. picta* hat. Das in der Lockstofffalle angebotene synthetisch hergestellte  $\beta$ -Caryophyllen steht dabei in Konkurrenz zu dem von den Wirtspflanzen natürlich abgegebenen Duftstoffbouquet einschließlich des  $\beta$ -Caryophyllens. In dem hier vorgestellten Verhaltensbiotest wurde die Attraktivität von mit Apfeltriebsucht infizierten Apfelpflanzen derer des synthetischen  $\beta$ -Caryophyllens gegenübergestellt. Für die Versuche mit *C. picta* kam ein dynamisches Y-Olfaktometer zum Einsatz. Die Apfelbäume wurden mittels Pfropfung mit dem Apfeltriebsucht-Phytoplasma infiziert. Die Blattsauger entschieden sich signifikant mehr für den Testarm mit dem synthetischen  $\beta$ -Caryophyllen als für den Testarm mit dem Duftstoffspektrum ihrer Wirtspflanzen. Dies wurde sowohl für die Weibchen als auch für die Männchen der Emigranten nachgewiesen. In weiteren Olfaktometertests mit anderen für den Obstbau relevanten Blattsaugerarten stellte sich zudem heraus, dass  $\beta$ -Caryophyllen nur für den Sommerapfelblattsauger eine anlockende Wirkung hatte, während andere Arten nicht darauf reagierten oder sogar abgeschreckt wurden. Die Bedeutung für die Entwicklung innovativer Pflanzenschutzmaßnahmen wird diskutiert.

## **161 - Echte Mehltauarten an Beet- und Balkonpflanzen**

*Species of powdery mildews on bedding plants*

**Ulrike Brielmaier-Liebetanz**

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst

Befall mit Echtem Mehltau spielt an einer ganzen Reihe von Pflanzenarten des Beet- und Balkonpflanzenassortiments sowohl in der Produktion als auch beim Endverbraucher eine bedeutende Rolle. Das Merkmal Mehltauresistenz wird zunehmend in die Züchtung einbezogen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass an einigen dieser Pflanzenarten verschiedene Mehltauarten vorkommen können. Die Mehltauart mit der jeweils größten Bedeutung sollte bei der Züchtung auf Resistenz im Vordergrund stehen.

Deshalb wurden Untersuchungen über die Bedeutung einzelner Mehltauarten an Verbena, Petunia, Calibrachoa und Impatiens durchgeführt. Die Mehltauarten wurden in getrennten Versuchsansätzen jeweils an einem breiten Sortenspektrum der genannten Pflanzenarten getestet. Dies ist notwendig, da aus der Praxis Sortenunterschiede bezüglich der Mehltauanfälligkeit be-

kannt sind. Die Versuche wurden im Gewächshaus unter praxisüblichen Kulturbedingungen durchgeführt. Die Infektion mit den verschiedenen Mehltauarten wurde durch gezielte Inokulation herbeigeführt. Je drei mehltaubefallene Spenderpflanzen wurden in einen Bestand auf 10 m<sup>2</sup> Stellfläche gestellt. Der Einsatz eines Ventilators sorgte für eine gleichmäßige Verteilung der Konidien auf der Versuchsfläche.

Nach den bisherigen Versuchsergebnissen kommt an Verbenen der polyphagen Mehltauart *Podospaera xanthii* die größte Bedeutung zu. 27 von 30 untersuchten Sorten entwickelten nach der Inokulation starken Mehltaubefall. *Golovinomyces orontii* befiel deutlich weniger Sorten, und die spezifische Mehltauart *Golovinomyces verbenae* scheint eine völlig untergeordnete Rolle zu spielen. Sie wird rasch von *G. orontii* verdrängt.

An Petunien erwies sich *Euoidium longipes* als hoch virulent. Der überwiegende Anteil der 41 untersuchten Genotypen entwickelte starken Mehltaubefall. *P. xanthii* und *G. orontii* scheinen, abweichend von einem Hinweis in der Literatur, Petunien nicht zu befallen. An Calibrachoa-Hybriden kann *P. xanthii* vorkommen, in Infektionsversuchen wurden aber nur drei von 20 Sorten befallen. Auch *Impatiens x hawkeri* ist eine Wirtspflanze für *P. xanthii*. In Infektionsversuchen wurden einige Sorten befallen, dagegen blieben alle getesteten Sorten von *Impatiens walleriana* nach Inokulation mit *P. xanthii* völlig befallsfrei.

Fazit: Bei der Prüfung von Genotypen auf Mehltauresistenz ist für Hybriden von Verbena, Calibrachoa und Neu-Guinea-Impatiens anzuraten, den Fokus auf *P. xanthii* zu legen, für Petunia-Hybriden auf die Mehltauart *E. longipes*.

## 162 - Echter Mehltau an Petersilie – Untersuchungen zum Wirtspflanzenspektrum

*Powdery Mildew of Parsley – studies on the host range*

**Peggy Marx, Ute Gärber**

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst

Im Petersilienanbau tritt in heißen Sommermonaten verstärkt Echter Mehltau an Petersilie auf, der in Topfkulturen bereits das Hauptproblem ist. Um zukünftig über Bekämpfungsstrategien zu verfügen, wurde am JKI eine Methode erarbeitet, die ein Screenen von Petersilienzuchtmaterial auf Resistenz ermöglicht. Im Rahmen der dafür durchgeführten Untersuchungen zur Biologie/Epidemiologie und zur taxonomischen Zuordnung erfolgten auch umfassende Arbeiten zum Wirtspflanzenspektrum.

Nach Literaturangaben (1) wird beim Echten Mehltau an Petersilie lediglich auf ein breites Wirtspflanzenspektrum verwiesen. Um detaillierte Kenntnisse zu erhalten, wurden 13 Arten der Pflanzenfamilie der Apiaceae auf ihre Anfälligkeit für Echten Mehltau der Blattpetersilie geprüft. Die Prüfung erfolgte an getopften Einzelpflanzen in Gewächshaustests (randomisierte Blockanlagen mit sechs Wiederholungen) unter für den Erreger optimalen Klimabedingungen. Das Saatgut wurde von Hild Samen GmbH und Enza Zaden Deutschland GmbH & Co. KG zur Verfügung gestellt. Die Isolate wurden bundesweit aus Petersilienpraxisbeständen und -versuchsanlagen sowohl aus Gewächshäusern als auch aus dem Freiland entnommen. Untersuchungen zur Morphologie des Erregers zeigten, dass alle Isolate Merkmale aufwiesen, die mit denen von *Erysiphe heraclei* übereinstimmen (2).

Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Klimakammern bis zum 3-Blattstadium. Anschließend wurden die Pflanzen in ein Gewächshaus überführt und standardisiert mit einer Sporensuspension inokuliert.

Nach 21 Tagen wurden makroskopisch sichtbare Befallssymptome wie ein weiß-mehliges Belag erfasst und augenscheinlich befallsfreie Pflanzen bei 50facher Vergrößerung mikroskopisch überprüft. Eine Berechnung des prozentualen Anteils befallener Pflanzen (Befallshäufigkeit) erfolgte

zusammenfassend für alle Pflanzen, an denen sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch bonitierbarer Befall auftrat.

Neun der 13 geprüften Pflanzenarten zeigten Befall mit Echten Mehltau, der unterschiedlich stark ausgeprägt war. Bei Wurzelpetersilie, Dill, Gemüfefenchel, Kerbel und Kümmel wiesen alle Pflanzen einen deutlich sichtbaren, typischen Mehltaubelag auf. An Liebstöckel, Möhre, Knollen- und Stangensellerie traten nur an etwa 60 bis 70 % der Pflanzen Infektionen auf, die teilweise auch nur bei 50facher Vergrößerung mikroskopisch nachweisbar waren. Bei Schnittsellerie, Anis, Koriander und Pastinake waren dagegen alle Pflanzen befallsfrei. Prüfungen mit weiteren Isolaten des Echten Mehltaus der Blattpetersilie führten zu tendentiell vergleichbaren Ergebnissen.

Die Untersuchungen sind Teil eines Kooperationsprojektes mit der Gemeinschaft zur Förderung der Privaten Deutschen Pflanzenzüchtung e.V., dem Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz und dem Julius Kühn-Institut, gefördert im Rahmen des Innovationsprogramms des Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft. Das DLR war insbesondere mit der Bearbeitung des Falschen Mehltaus der Petersilie betraut und hat ein entsprechendes Wirtspflanzenspektrum erarbeitet (Poster 163, G. Leinhos et al.).

#### Literatur

[1] BRAUN, U. 1995: The Powdery mildews (Erysiphales) of Europe. Jena, Stuttgart, New York, *Gustav Fischer Verlag*, 337 S.

[2] MARX, P., U. GÄRBER, 2013: Echter Mehltau an Petersilie – Erarbeitung von Screeningmethoden für die Resistenzzüchtung, IN: Beiträge zur 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau (Hrsg. NEUHOFF, D., C. STUMM, S. ZIEGLER, G. RAHMANN, U. HAMM & U. KÖPKE), 284-285.

## **163 - Falscher Mehltau an Petersilie – Untersuchungen zum Wirtspflanzenspektrum und molekularbiologische Charakterisierung**

*Downy mildew of parsley – studies on the host range and molecular characterization*

**Gabriele Leinhos, Hermann-Josef Krauthausen, Frank Brändle<sup>2</sup>**

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz

<sup>2</sup>Identxx GmbH

In den vergangenen Jahren konnte eine starke Ausbreitung des Falschen Mehltaus an Petersilie durch den Erreger *Plasmopara petroselini* (Syn.: *Plasmopara crustosa*, *Plasmopara umbelliferarum*, *Plasmopara nivea*) im Freilandanbau in allen wichtigen Anbauregionen Deutschlands (1.843 ha in 2011) festgestellt werden.

Deshalb wurden im Rahmen des Innovationsprogramms des BMEL in einem 3-jährigen Verbundprojekt mit der Gemeinschaft zur Förderung der Privaten Deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) und dem JKI am DLR Rheinpfalz zunächst biologische Grunddaten zu *P. petroselini* erarbeitet. Darauf aufbauend folgten umfangreiche Untersuchungen zu möglichen weiteren Wirten unter Gemüsekulturen und Kräutern aus der Familie der *Apiaceae*. Dabei erwies sich das Wirtspflanzenspektrum von den vier in die Prüfung einbezogenen Falschen Mehltau Isolaten von Petersilie bzw. Gemüfefenchel als wesentlich breiter als bisher angenommen. Unter optimalen Infektionsbedingungen konnte Befall an Anis, Dill, Gemüfefenchel, Koriander, Liebstöckel, Pastinake und Wurzelpetersilie nachgewiesen werden. Die Virulenzunterschiede zwischen den vier Isolaten waren gering, nur ein Isolat verursachte keinen oder nur sehr geringen Befall auf Koriander und Liebstöckel. Die weiteren geprüften Arten Kerbel, Kümmel, Möhre sowie Knollen-, Schnitt- und Stangensellerie zeigten keine makroskopischen Symptome (Sporulation oder Nekrosen).

Für die molekularbiologische Charakterisierung anhand von zwei Genregionen standen insgesamt 14 *P. petroselini* Isolate unterschiedlicher regionaler Herkunft zur Verfügung. Hierbei wiesen alle Isolate bei Abgleich mit der Datenbank GenBank® für die COXII – Region belastbare Unterschiede zu *Plasmopara pimpinellae* auf. Zeigten diese ersten phylogenetischen Analysen, dass es sich bei den untersuchten Isolaten um eine klar von anderen bisher beschriebenen *Plasmopara*-Arten abgegrenzte Gruppe handelt, erwiesen sich die analysierten Isolate untereinander nach derzeiti-

gem Stand - bis auf eine Ausnahme – als homogene Gruppe. Bisher sind in GenBank® für *P. petroselini* weder ein Typusexemplar noch Referenzeinträge hinterlegt. Deshalb werden aufgrund der bisherigen Ergebnisse ein Eintrag in der Datenbank sowie eine entsprechende Beschreibung angestrebt.

Vergleichende Untersuchungen zum Wirtsspektrum des Echten Mehltaus der Petersilie an verschiedenen Arten aus der Familie der *Apiaceae* wurden am JKI in Kleinmachnow durchgeführt (Poster 162, P. Marx und U. Gärber).

Literatur

GenBank®: Nucleic Acids Research, 2013 Jan; 41(D1):D36-42.

## **164 - Welkekrankheit an *Euonymus japonica***

*Wilt disease on Euonymus japonica*

**Ulrike Brielmaier-Liebetanz, Roswitha Ulrich<sup>2</sup>, Stefan Wagner, Sabine Werres**

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst

<sup>2</sup>Regierungspräsidium Gießen, Pflanzenschutzdienst Hessen

In einem Gartenbaubetrieb in Hessen traten Welkeerscheinungen an einjährigen *E. japonica* 'Microphyllus' auf. Einzelne Triebe welkten, die Blätter verloren ihren Glanz und nahmen ein fahlgrünes Aussehen an. Die Triebbasis war verbräunt. Aus kranken Pflanzen wurde eine *Calonectria*-Art (Anamorphe: *Cylindrocladium* sp.) isoliert. Das Isolat wird unter der Nummer JKI-2140 geführt. Nach der Sequenzanalyse des  $\beta$ -Tubulin-Gens ergab sich für dieses Isolat 100% Übereinstimmung mit *Calonectria colhounii* CBS 293.79 und mit *Calonectria fujianensis* CMW 27257. Die morphologischen Merkmale des Isolates aus *E. japonica* stimmen aber mit keiner der beiden genannten Arten völlig überein. Auffälligster Unterschied ist die Größe der Makrokonidien der Anamorphe *Cylindrocladium*. Diese sind bei Isolat JKI-2140 mit durchschnittlich 75 x 8  $\mu$ m länger und breiter als für *C. colhounii* und *C. fujianensis* beschrieben. Vermutlich handelt es sich bei dem Isolat aus *E. japonica* um eine neue Art innerhalb des *Calonectria colhounii* - Komplexes. Zur Absicherung dieser Vermutung müssen weitere Gene untersucht werden. Mit dem Isolat JKI-2140 wurden Infektionsversuche durchgeführt. Die Welkesymptome ließen sich reproduzieren und der Erreger wurde reisoliert. Die Koch'schen Postulate sind damit erfüllt und die Pathogenität dieses *Calonectria*-Isolates an *E. japonica* nachgewiesen.

Literatur

BRIELMAIER-LIEBETANZ, U., R. ULRICH, S. WAGNER, S. WERRES, 2014: Welkeerscheinungen an *Euonymus japonica*. Deutsche Baumschule **06/2014**, 36-37.

## **165 - Taxonomische Analyse der mikrobiellen Gemeinschaft von Zuckerrüben unter unterschiedlichen Lagerbedingungen mittels Hochdurchsatz-Amplikonsequenzierung von unterschiedlichen Markergenen**

*Taxonomic analysis of the microbial community in stored sugar beets using high-throughput sequencing of different marker genes*

**Sebastian Liebe, Daniel Wibberg<sup>2</sup>, Anika Winkler<sup>2</sup>, Alfred Pühler<sup>2</sup>, Andreas Schlüter<sup>2</sup>, Mark Varrelmann**

Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Holtenser Landstr. 77, 37077 Göttingen, Deutschland

<sup>2</sup>Centrum für Biotechnologie (CeBiTec), Genomforschung industrieller Mikroorganismen, Universitätstraße 27, 33615 Bielefeld, Deutschland

Zuckerrüben können während der Lagerung von verschiedenen phytopathogenen Mikroorganismen besiedelt werden, die durch Bildung von Lagerfäulen erhebliche Zuckerverluste verursachen. Ziel der Studie war es mittels Hochdurchsatz-Amplikonsequenzierung den Einfluss von unterschiedlichen Faktoren auf die mikrobielle Gemeinschaft gelagerter Zuckerrüben zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurden drei Zuckerrübenotypen an zwei unterschiedlichen Standorten angebaut und nach der Ernte für 12 Wochen bei 8°C und 20°C im Klimacontainer gelagert. Nach der Lagerung wurden die Zuckerrüben auf Lagerfäulen bonitiert. Für die Bestimmung der mikrobiellen Gemeinschaft wurde eine Amplikonsequenzierung für unterschiedliche Organismengruppen durchgeführt.

Die resultierenden Sequenzdaten wurden unter Verwendung der Programme Mothur und RDP-Classifier prozessiert und taxonomisch analysiert. Die unterschiedlichen Lagerungstemperaturen hatten den größten Einfluss auf die mikrobielle Gemeinschaft, gefolgt vom Standortfaktor. Dagegen beeinflussten die unterschiedlichen Zuckerrübenotypen die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft nur geringfügig. In Abhängigkeit von Standort und Lagerungstemperatur konnten erhaltene Sequenzen besonders häufig den Pilzgattungen *Botrytis*, *Fusarium* und *Talaromyces* zugeordnet werden, die wichtige Fäulniserreger beinhalten. Obwohl signifikante Unterschiede im Ausprägungsgrad der Lagerfäule bei unterschiedlichen Genotypen und Standorten festgestellt werden konnten, wies die taxonomische Zusammensetzung der Gemeinschaft nur geringe Unterschiede auf.

## **166 - Molecular characterization of a novel mycovirus found in *Rhizoctonia solani* AG 2-2IIIB**

*Molekulare Charakterisierung eines neuen Mycovirus aus *Rhizoctonia solani* AG 2-2 IIIB*

**Anika Bartholomäus, Mark Varrelmann**

Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Holtenser Landstraße 77, 37.79 Göttingen, Deutschland

Mycoviruses have been found in many plant pathogenic fungi and their presence can be associated with changes in virulence. Most of the mycoviruses have a dsRNA genome and their occurrence has also been reported for different anastomosis groups of *R. solani*. However, detailed information is only available for two of these mycoviruses named *R. solani* virus 717 and dsRNA virus 1, isolated from AG 2 and AG 1IA. In order to identify dsRNA mycoviruses of *R. solani* AG 2-2IIIB, the causal agent of late root and crown rot in sugar beet, different isolates have been screened for the presence dsRNA elements. We found that dsRNA elements are quite abundant in AG2-2 IIIB and that fragment number and size varies between isolates. Sequence determination by random-primed RT-PCR suggests that novel viruses of different viral families like *Endornaviridae* and

*Partitiviridae* are present. Molecular characterization of one novel partitivirus revealed the presence of two segments from about 2,0 and 1,7 kb. The first segment shows high sequence similarity to dsRNA segments of other viruses belonging to the *Partitiviridae*. It consists of one big ORF and shows sequence similarity to *Partitiviridae* RdRps, like *Heterobasidion* partitivirus 5 and 3. The second segment contains one ORF from smaller size that shows some sequence similarities to the coat protein of some cryptic plant viruses. Future work will try to identify biological effects of *R. solani* infection with mycoviruses.