
Sektion 35

Virologie / Bakteriologie / Mykologie / Molekulare Phytomedizin I

35-3 - Ist eine Bekämpfung von Obstphytoplasmen mit Endophyten möglich?

Can fruit tree phytoplasmas be controlled by endophytes?

Wolfgang Jarausch, Michelle Fritz

AIPlanta-IPR, RLP AgroScience, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstraße,
wolfgang.jarausch@agrosience.rlp.de

Die Erreger bedeutender Obstkrankheiten sind Phytoplasmen: '*Candidatus Phytoplasma mali*' verursacht die Apfeltriebsucht (AT), '*Candidatus Phytoplasma prunorum*' die Europäische Steinobstvergilbung (European stone fruit yellows, ESFY) und '*Candidatus Phytoplasma pyri*' den Birnenverfall. Eine direkte Bekämpfung der Phloem-limitierten Phytoplasmen ist zurzeit nicht möglich. Eine Kontrolle der Insektenüberträger soll die weitere Ausbreitung der Krankheiten verhindern. Genetisch resistente Unterlagen von Apfel und Birne befinden sich noch im Entwicklungsstadium, können aber keine Infektion der anfälligen Sorte verhindern. Umweltverträgliche Strategien, die eine direkte Bekämpfung der Phytoplasmen im Baum ermöglichen, wären deshalb wünschenswert. In diesem Kontext wurde der Einsatz von Endophyten untersucht, die potentiell eine direkte oder indirekte Wirkung auf die Phytoplasmen haben. Hierzu wurden bakterielle Endophyten aus ESFY-befallenen Aprikosen und Pfirsichen, welche sich von der Krankheit wieder erholt hatten (recovery), isoliert. Die kultivierten Spezies wurden mittels 16S rDNA Sequenzanalyse identifiziert. Die phytoplasma-inhibierende Wirkung von ausgewählten Kandidaten-Spezies wurde durch Inokulation von Phytoplasma-infizierten *in vitro* Kulturen von *Malus* und *Prunus* untersucht. Der Phytoplasma-Titer wurde mittels quantitativer PCR bestimmt. Verschiedene Wachstumsparameter wurden gemessen und statistisch ausgewertet. Es konnten vier Gruppen von Endophyten gefunden werden: solche, die *in vitro* Pflanzen nicht besiedeln konnten; solche, die phytotoxisch wirkten; solche, die die Pflanzen besiedeln konnten aber keinen Effekt auf die Phytoplasmen hatten und schließlich Spezies, die zu einer signifikanten Reduktion des Phytoplasma-Titers führten. Weitere Untersuchungen müssen nun zeigen, ob die selektierten Endophyten *ex vitro* Pflanzen bzw. Bäume von *Malus* und *Prunus* dauerhaft besiedeln und weiterhin ihre phytoplasma-hemmende Wirkung entfalten können.

35-4 - Charakterisierung eines *Nucleorhabdovirus* aus *Physostegia*

Characterization of a nucleorhabdovirus from Physostegia

Wulf Menzel¹, Dennis Knierim¹, Katja Richert-Pöggeler², Stephan Winter¹

¹Leibniz-Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH,
wulf.menzel@dsmz.de

²Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

Im Juli 2014 wurde eine *Physostegia* (Fam. Lamiaceae) mit starken Chlorosen und Blattscheckung sowie Verformungen der Blätter aus Österreich erhalten.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten Ribonukleoproteinkomplexe sowie von einer Membran umhüllte, Glykoprotein tragende Viruspartikel, die auf eine Infektion mit Rhabdoviren hindeuteten. Mittels eines gesamt-RNA-Templates in einem Next Generation Sequenzier-Ansatz konnte ein Rhabdovirus identifiziert werden. Eine Contig-Sequenz von 13.193 Basen aus insgesamt 40.376 Reads zeigt die höchsten Sequenzidentitäten mit 70,7 % zu einem *Eggplant mottle dwarf virus* (EMDV) Isolat (Genbank-Nr. KJ082087), gefolgt von 53 % zu einem *Potato yellowing virus* Isolat (Genbank-Nr. EU183122). Die nt-Identitätswerte zwischen anerkannten Nucleorhabdoviren reichen von 38,4% bis 58,6%. Aufgrund der Tatsache, dass kein Sequenzidentitäts-Schwellenwert für die Abgrenzung verschiedener Spezies innerhalb der Gattung *Nucleorhabdovirus* definiert wurden, bleibt es fraglich, ob es sich bei dem in *Physostegia* gefundenen Isolat um eine abweichendes EMDV Isolat handelt oder ob es zu einer eigenständigen, bisher nicht beschriebenen Art gehört. Das charakterisierte Isolat zeigte keine serologische Reaktion mit einem gegen ein EMDV Isolat aus Aubergine gewonnenen Antiserum (DSMZ AS-0136). Aufgrund der auf dem ursprünglichen Wirt beobachteten Symptome wurde das Isolat *Physostegia chlorotic mottle virus* (PhCMoV) genannt und ist in der DSMZ Pflanzenvirus Sammlung unter der Nummer PV-1182 verfügbar.

35-5 - Funktionsfähigkeit von Reassortanten von *Beet soil-borne mosaic virus* (BSBMV) und *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) sowie „co-infection exclusion“ in *Nicotiana benthamiana*

Viability of Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV) and Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) reassortants and co-infection exclusion in Nicotiana benthamiana

Marlene Laufer¹, Hamza Mohammad², Mark Varrelmann¹, Edgar Maiss²

¹Institute of Sugar Beet Research, Dept. of Phytopathology, Göttingen, dach@ifz-goettingen.de

²Leibniz University Hannover, Institute of Horticultural Production Systems, Dept. Phytomedicine, Plant Virology

Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV) and *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) belong to the genus *Benyvirus* in the family *Benyviridae*. They possess a similar genome organisation with 4-5 ssRNA genome components, high sequence homology and a similar host range. Both species cause diseases in *Beta vulgaris* with variable symptom expression and tissue affinity. In the US, both viruses occur in mixed infection, but information about interaction between both species is limited. In order to understand the interaction with the hosts and between virus species, co-infection and reassortants experiments were performed.

Infectious cDNA clones of BSBMV and BNYVV (A-type) were used for reassortants experiments in *N. benthamiana* and *Beta macrocarpa*. RNA₁₊₂ reassortants were viable and displayed systemic movement in *N. benthamiana* but symptoms occurred delayed and were less pronounced. The RNA₃ components of both species were transreplicated, mediated long-distance movement in *B. macrocarpa* and were exchangeable between species. Both virus clones were fluorescently labeled (GFP, mRFP) by replacement of the coat protein-readthrough open reading frame. The distribution in single- and mixed infections of *N. benthamiana* were studied by confocal laser scanning microscopy.

Differentially labeled isolates of the same species as well as the two virus species were spatially separated and displayed co-infection exclusion in the host tissue. Separation of one species from an RNA₁₊₂ reassortant showed that a specific genome component combination was not required for this effect. In contrast, mixture of both benyvirus species with either *Tobacco rattle virus* or *Potato virus X* displayed co-infection of the same cell.

Generation of deletion mutants need to be performed to decipher the molecular basis for this effect.

35-6 - Die Virussituation an Leguminosen im Jahr 2016

Heiko Ziebell

Julius Kühn Institute, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Germany,
heiko.ziebell@julius-kuehn.de

Leguminosen können durch zahlreiche Viren befallen werden, die teilweise auch samenübertragbar sind. In den letzten Jahren konnten speziell in Sachsen und Sachsen-Anhalt Befallsherde an Gemüseerbsen nachgewiesen werden, unter anderem hervorgerufen durch Nanoviren. Wirtschaftlich spielten diese bislang eine eher untergeordnete Rolle.

Ganz anders stellt sich die Situation im Jahr 2016 dar. Flächendeckend traten in der gesamten Bundesrepublik blattlausübertragene Virose nicht nur an Gemüse- und Körnererbsen auf, sondern vor allem auch an Ackerbohnen. Dabei wurde am häufigsten das pea enation mosaic virus mit einem Anteil von über 90 % in den untersuchten Proben nachgewiesen.

Pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV), erstmals 2009 in Deutschland identifiziert, trat bisher nur sporadisch auf; in anderen Länder (Österreich, Serbien) führte dieses Virus aber bereits zu großen Ernteverlusten. In 2016 kam es nun zu einem massiven Auftreten dieses Virus in Erbse und erstmals auch in *Vicia faba*.

PNYDV zählt zu den Nanoviren. Dabei handelt es sich um multikomponente isometrische DNA Viren. Ursprünglich waren diese nur aus subtropischen und tropischen Regionen bekannt. Die Übertragung findet persistent durch Blattläuse statt, nicht aber durch Saatgut. Die Winterwirte in Mitteleuropa sind bislang noch weitgehend unbekannt, aber perennierende Klee- sowie Wickenarten können infiziert werden. Alarmierend ist, dass befallene Pflanzen ohne Samenansatz bleiben, was zu einem Totalverlust der Kultur führt. Bislang konnten keine resistenten Erbsen- oder Ackerbohnenakzessionen identifiziert werden. Speziell Nanoviren gefährden damit den gesamten Anbau von Erbsen und Ackerbohnen; die Zukunft wird zeigen, ob diese genetisch sehr variablen Erreger auch weitere landwirtschaftlich genutzte Leguminosen befallen können. Es ist zu befürchten, dass weitere Beschränkungen im Einsatz von Insektiziden im Kontext mit steigenden Temperaturen das Auftreten und die Ausbreitung blattlausübertragener Viren über alle Kulturen hinweg begünstigt.

35-7 - Nachweis von Wolbachien beim Fransenflügler *Echinothrips americanus* (Thripidae, Thysanoptera)

Detection of Wolbachia in the thripine Echinothrips americanus (Thripidae, Thysanoptera)

Julia Chuttke, Stephanie Krüger, Gerald Moritz

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftliche Fakultät I, Institut für Biologie,
julia.chuttke@zoologie.uni-halle.de

Viele endosymbiontische Bakterien gehören zu den α -Proteobakterien und bilden eine der wichtigsten pathogenen Gruppen im Tierreich. So sind Wolbachien, in der Lage die Reproduktion ihrer Wirte auf vielfältigste Weise zu manipulieren. Thysanopteren

vermehren sich hauptsächlich durch arrhenotoke Parthenogenese, bei der Männchen aus unbefruchteten (haploiden) und Weibchen aus befruchteten (diploiden) Eiern hervorgehen. Arten mit thelytoker Parthenogenese zeigen oftmals, dass die Ursache des Reproduktionsmodus durch Wolbachien induziert wird (ARAKAKI et al. 2001). Interessant ist, dass *Echinothrips americanus* eine haplo-diploide Reproduktion aufweist und dennoch nachweisbar mit Wolbachien infiziert ist (KUMM & MORITZ 2008). So konnten durch In-situ-Hybridisierung Wolbachien in verschiedenen Geweben lokalisiert werden. Neben den Reproduktionsorganen fanden sich endosymbiontische Bakterien im Mitteldarmepithel, der Thoraxmuskulatur, in neuronalen Strukturen und im Fettkörper. Nach Antibiotika-Behandlung (Tetracyclin, Ciprofloxacin) konnte gezeigt werden, dass in einigen Geweben keine gramnegativen Bakterien mehr detektiert werden.

Literatur

- ARAKAKI, N., MIYOSHI T., NODA, H., 2001: Wolbachia-mediated parthenogenesis in the predatory thrips *Frankliniopsis vespiformis* (Thysanoptera: Insecta). *Proc. R. Soc. Lond. B.* 268 (1471), 1011-1016.
- KUMM, S., MORITZ, G., 2008: First detection of Wolbachia in arrhenotokous populations of thrips species (Thysanoptera: Thripidae and Phlaeothripidae) and its role in reproduction. *Environ. Entomol.* 37 (6), 1422-1428.

35-8 - *Ascochyta* Arten an Sojabohnen in Österreich

Ascochyta species on soybean in Austria

Marielies Mayr¹, Astrid Plenk², Gerhard Bedlan²

¹Universität für Bodenkultur, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzenschutz, Gregor-Mendel-Straße 33, 1180 Wien, Österreich, marielies@gmx.at

²AGES GmbH, Institut für Nachhaltige Pflanzenproduktion, Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien

Die Sojabohnenproduktion in Österreich verzeichnete in den letzten Jahren hohe Wachstumsraten. Damit sind diese Pflanzen und auch deren Pathogene in den Mittelpunkt des Interesses der Forschung gerückt. So wurde beispielsweise 2014 der Pilz *Ascochyta sojina* als ein neues Pathogen an Sojabohne entdeckt (BEDLAN, 2014).

Aufbauend auf der Entdeckung dieses Pathogens beschäftigt sich diese Arbeit mit der Biologie von *A. sojina*. Die Schwerpunkte sind Wachstumsgeschwindigkeit, Infektionsweg, Saatgutübertragbarkeit, Sortenanfälligkeit und die Verbreitung von *A. sojina*.

Durch Auflegen von Sojabohnen aus stark befallenen Hülsen auf Agar konnte erstmals nachgewiesen werden, dass *A. sojina* saatgutübertragbar ist. Mikroskopische Untersuchungen zeigten, dass der Erreger über die Stomata in die Sojabohnenpflanzen eindringt.

Die Versuche bei 5, 10, 15, 20, 25 und 30 °C zur Wachstumsgeschwindigkeit dieses Erregers zeigten, dass der Pilz unter 5 °C und ab 30 °C sein Wachstum einstellt, obwohl er lebensfähig bleibt. Die optimale Wachstumstemperatur liegt bei 25 °C.

Zur Untersuchung der Anfälligkeit von Sojabohnen gegenüber *A. sojina* wurden insgesamt 85 Sojasorten auf ihre Anfälligkeit getestet. Für diese Versuche wurden eine geeignete Jungpflanzenanzuchtmethod und ein angepasstes Auswertungsschema zur Prüfung von in vitro Versuchsreihen zusammengestellt. Als Testmatrix wurden die Keimblätter verwendet. Diese wurden mit einer 1×10^6 Konidiensuspension mittels Sprühmethode inokuliert und in Petrischalen, die mit feuchtem Filterpapier ausgelegt waren bei Raumtemperatur (23 °C) inkubiert. Die Auswertung erfolgte nach einer Woche. Die meisten Sorten wiesen eine Widerstandsfähigkeit von 60% gegenüber *A. sojina* auf. Nachdem sich Charakterblätter als anfällig bei gleichzeitiger Widerstandsfähigkeit der Keimblätter erwiesen, liegt keine vertikale Resistenz vor.

In einem 2015 durchgeführten Monitoring von Pilzkrankheiten an der Sojabohne scheint *A. sojina* als der zweithäufigste Pilz in den untersuchten Sojaanbaugebieten in Österreich (HISSEK, 2016) auf.

Literatur

Bedlan, G., 2014: *Ascochyta sojina* sp. nov., a new pathogen on *Glycine max* (L.) Merr. *Journal für Kulturpflanzen*, 66 (9), S. 319-321.

Hissek, K. (2016): persönliche Mitteilung