

2006, De Vos 2007). Somit werden zunehmend Untersuchungen über den Einfluss der Pflanzen auf das Nahrungsverhalten der Aphiden und die Akquisition bzw. Transmission von pflanzenpathogenen Viren durchgeführt. Da eine Virusinfektion der Pflanze die Attraktivität für Aphiden verändern kann (Castle et al. 1998, Mowry and Ophus 2006, Alvarez et al. 2007, Srinivasan and Alvarez 2007), müssen solche Experimente unter standardisierten Bedingungen für die Pflanzen durchgeführt werden. Weiterhin wird ein sehr sensitives quantitatives Nachweisverfahren für die Viren in den Vektoren benötigt, um die Menge von der Aphide aufgenommener Viren zu ermitteln.

Am Beispiel des *Potato leafroll virus* (PLRV) (Genus Polerovirus; Familie Luteoviridae) wird die Entwicklung einer neuen quantitativen Nachweismethode dargestellt. PLRV wird persistent und besonders effektiv von *Myzus persicae* übertragen, wobei sich das Virus im Vektor nicht vermehrt (zirkulativ). Daher ist es als Indikator für eine veränderte Nahrungsaufnahme der Aphiden besonders geeignet. Zudem stellt es neben dem *Potato virus Y* (PVY) eines der bedeutendsten Viren im Kartoffelanbau dar. In den letzten Jahren sind mehrere quantitative PCR (qPCR)-Verfahren für den Nachweis von PLRV in Kartoffelpflanzen oder -knollen entwickelt worden (Agindotan et al. 2007, Mortimer-Jones 2009). Die entwickelten Assays sind allerdings nur bedingt für den Nachweis in Aphiden geeignet, da Primer und Sonden häufig unspezifisch im Aphidengenom binden. Weil es sich bei PLRV um ein RNA-Virus handelt, müssen zudem spezielle Extraktionsverfahren entwickelt werden, die sich auf Grund des hohen Fettanteils in Aphiden von den RNA-Extraktionsverfahren bei Pflanzen unterscheiden können. Extraktionsverfahren, die als spezielle Kits erhältlich sind oder nur die Hämolymphe der Aphiden umfassen (Liu et al. 2005), sind sehr kostenintensiv und häufig für die Bearbeitung einer hohen Probenzahl ungeeignet. Andere, bereits entwickelte Extraktionsverfahren (Singh et al. 1995 und 1996) weisen häufig eine sehr geringe RNA-Ausbeute auf, die außerdem oft von schlechter Qualität und daher für die RT-qPCR nicht geeignet ist. Auf der Basis einer Immunocapture-RT-qPCR wurde ein kostengünstiges, spezifisches Assay für den quantitativen Nachweis von PLRV in Vektoren entwickelt, das einen hohen Probendurchsatz ermöglicht. Indem die Viruspartikel direkt mit Hilfe von Antikörpern an das Reaktionsgefäß gebunden werden, sind die anschließende reverse Transkription und qPCR sehr spezifisch. Da die Bindung des Antigens an die Antikörper ein dynamischer Prozess ist, wurde mit Antikörperüberschuss gearbeitet, um eine möglichst hohe Zahl an Viruspartikeln zu binden. Zudem wurden für die Herstellung der Standards zum Vergleich nicht nur RNA-Transkripte, sondern auch gereinigte PLRV-Partikel verwendet. Hinsichtlich der Virusreinigung wurde außerdem eine Kostenreduzierung geprüft, indem zur Freisetzung der Partikel aus dem Phloem eine Enzymmischung eingesetzt wurde, die auch industriell bei der Herstellung von Frucht- und Gemüsesäften Verwendung findet. Auf diesem Weg kann eine Reinigung von PLRV aus Pflanzengewebe preisgünstig und mit einer hohen Ausbeute durchgeführt werden. Die entwickelte Nachweismethode ist wesentlich sensitiver als der gewöhnlich eingesetzte ELISA.

#### Literatur

- [1] Agindotan et al. (2007) J. Virol. Meth. 142: 1-9.
- [2] Alvarez et al. (2007) Entomol. Exp. Appl. 125: 135-144.
- [3] Beale et al. (2006) Plant Biol. 103: 10509-10513.
- [4] Birkett et al. (2000) PNAS 97: 9329-9334.
- [5] Castle et al. (1998) Ann. Entomol. Soc. Am. 91: 661-667.
- [6] De Vos (2007) BioEssays 29: 871-883.
- [7] Liu et al. (2005) J Virol. Meth. 132: 174-180.
- [8] Mortimer-Jones (2009) J. Virol. Meth. 161: 289-296.
- [9] Mowry and Ophus (2006) J. Insect Sci. 6: 1-8.
- [10] Singh et al. (1995) J. Virol. Meth. 55: 133-143.
- [11] Singh et al. (1996) J. Virol. Meth. 59: 189-196.
- [12] Srinivasan and Alvarez (2007) Environ. Entomol. 35: 546-553.
- [13] Zvereva und Kozlov (2006) Glob. Chang. Biol. 12: 27-41.

35-4 - Moritz, G.<sup>1</sup>; Brandt, S.<sup>1</sup>; Sseruwagi, P.<sup>2</sup>; Myamba, A.<sup>2</sup>; Waiganjo, M.<sup>3</sup>; Subramanian, S.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg; <sup>2</sup> National Crops Resources Research Institute (NACRRI), Uganda;

<sup>3</sup> Kenya Agricultural Research Institute, Kenia; <sup>4</sup> International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Kenia

### Entwicklung eines LucID 3.5-Identifikations- und Informationssystems für Schad-Thripse in Ostafrika

Thripse sind kleine Insekten, die an vielen Kulturpflanzen durch stechend-saugende Pflanzensaftaufnahme und Vektoreigenschaften (Tospoviren) zu enormen Schäden führen. In Afrika sind eine ganze Reihe von Kulturpflanzenarten, wie z. B. Auberginen, Bananen, Baumwolle, Bohnen- und Getreidearten, Kaffee, Kakao, Luzerne, Mais, Reis, Tee, Tomaten und Zitrusfrüchte, diesem Befall ausgesetzt. Im Gegensatz dazu sind lokal

verfügbare Bestimmungshilfen kaum vorhanden. Aufgrund der Technisierung verschiedener Regionen Afrikas ist die Nutzung von Computern und die Einführung von LucID 3.5-Keys äußerst erfolgsversprechend. Schnelle Identifikation und zahlreiche Informationen erlauben neben dem Einsatz für IPM-Programme vor allem auch die Nutzung der Software für die Untersuchung von Dispersionen, Befall, Schadpotenzial und Vektoreigenschaften verschiedener Schadhripse. Ebenso ist bei exakter Diagnose eine gezielte Bekämpfung mit geeigneten Antagonisten (*Metarhizium anisopliae*) möglich, sowie die Diagnose invasiver Arten (*Frankliniella occidentalis*), die Verschiebung von Schaderregerspektren (*Megalurothrips sjostedti*) und eine zuverlässige Pflanzenbeschau von Exportgütern Ostafrikas (z. B. *Scirtothrips dorsalis*) äußerst wichtig. Der LucID-Key „Identification and Information Tools for Pest thrips of East Africa“ enthält neben dem Key mit Informationen zur Biologie, Systematik und biogeographischen Verbreitung der ermittelten Spezies eine Datenbank mit bisher in Afrika beschriebenen Arten. Eine molekulare Diagnostik ist online für alle ontogenetischen Stadien möglich.

35-5 - Golecki, B.; Berger, M.; Stula, E.-M.; Kruse, H.  
Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein

### **Diagnose von *Phytophthora ramorum* und anderen *Phytophthora*-Arten an Gehölzen im Bundesland Schleswig-Holstein**

Diagnosis of *Phytophthora ramorum* and other *Phytophthora* species on ornamental shrubs in the federal state of Schleswig-Holstein

Im Referat 'Phytopathologische Diagnostik' des amtlichen Pflanzenschutzdienstes der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein werden seit 2002 eine Vielzahl an Gehölzen auf *Phytophthora ramorum* und andere *Phytophthora*-Arten untersucht. In den Jahren 2002 bis 2009 wurden einerseits umfangreiche Kenntnisse zur Nachweisbarkeit von *Phytophthora ramorum* und/oder anderen *Phytophthora*-Arten in unterschiedlichen Regionen der Pflanze erarbeitet. Andererseits wurde die Nachweissicherheit von *Phytophthora ramorum* bei der Anwendung unterschiedlicher Testmethoden überprüft. Für die vergleichenden Untersuchungen wurden Sprossabschnitte bzw. komplette Pflanzen (einschließlich Substrat) mit Verdachtssymptomen aus Betrieben und dem öffentlichen Grün herangezogen, die im Rahmen der jährlichen Pflanzengesundheitsinspektionen entnommen wurden. Im Zeitraum 2002 bis 2005 wurden alle auffälligen Pflanzen bzw. Pflanzenteile mittels Platten- und Kødertest untersucht. In den Jahren 2006 bis 2009 wurde zusätzlich die PCR eingeführt, um zu überprüfen, ob dieses Verfahren als schneller Screeningtest zukünftig für die Routinediagnostik eingesetzt werden kann. Die Ergebnisse aller Diagnosen aus den Jahren 2002 bis 2009 werden hinsichtlich der oben genannten Aspekte vorgestellt, bewertet und diskutiert.

35-6 - Weinert, N.<sup>1)</sup>; Piceno, Y.<sup>2)</sup>; Ding, G.-C.<sup>1)</sup>; Heuer, H.<sup>1)</sup>; Berg, G.<sup>3)</sup>; Schloter, M.<sup>4)</sup>; Andersen, G.<sup>2)</sup>; Smalla, K.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Julius Kühn-Institut; <sup>2)</sup> Lawrence Berkeley National Laboratory, USA; <sup>3)</sup> Technische Universität Graz; <sup>4)</sup> Helmholtz Zentrum München

### **PhyloChip-Analysen erlauben neue Einblicke in die bakterielle Diversität in der Rhizosphäre und in Effekte von Standort und Sorten**

Der von der Pflanze beeinflusste Boden wird als Rhizosphäre bezeichnet. Insbesondere die Wurzelexsudate führen zu einer Anreicherung bestimmter Bakterien und Pilzpopulationen in diesem Habitat, die ihrerseits für die Pflanzengesundheit, aber auch für die Verfügbarkeit von Nährstoffen für die Pflanze bedeutsam sind (Berg und Smalla, 2009). Traditionell genutzte Kultivierungsverfahren erfassen aber nur einen kleinen Teil der bakteriellen Diversität, da die meisten Bakterien im Boden nur schwer oder nicht zu kultivieren sind. Daher war das Wissen über die Diversität von Bakterien und Pilzen in der Rhizosphäre und im Boden lange sehr begrenzt.

Durch die Nutzung kultivierungsunabhängiger DNA-Techniken konnten in den letzten 15 Jahren neue Einblicke in die Diversität von Bakterien, Archeen und Pilzen im Boden gewonnen werden. Mit Hilfe der PCR werden 16S rRNA-Genfragmente (Bakterien, Archeen) bzw. 18S/ITS (Pilze) aus der Boden- bzw. Rhizosphären-DNA amplifiziert. Mit molekularen Fingerprinting-Techniken wie der denaturierenden Gradientengelelektrophorese (DGGE) konnten wir zeigen, dass die Zusammensetzung der Bakterien und Pilze in der Rhizosphäre sehr stark vom Standort, von der Pflanzenart und vom Pflanzenentwicklungsstadium abhängt (Smalla et al., 2001; Heuer et al., 2002; Costa et al., 2006, 2007). Die Analyse der Rhizosphäre von sieben Kartoffelgenotypen, die an zwei Standorten (Roggenstein und Oberviehhausen) in randomisierten Blockanlagen angebaut wurden, mit Hilfe der DGGE zeigte, dass der Einfluss der Sorten im Vergleich zum Einfluss des Standorts gering ist (Weinert et al., 2009). Hier berichten wir über die Nutzung sogenannter PhyloChips zur Untersuchung der bakteriellen Diversität in der Rhizosphäre von drei Kartoffelsorten ('Désirée', 'Baltica', 'Sibu') zum Entwicklungsstadium EC 60. Aus der