

Tymoviren *Nemesia ring necrosis virus* (NeRNV) und *Scrophularia mottle virus* auch das Tospovirus *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) auf. Das INSV war das häufigste Virus in Zuchtmaterial der Gattung *Diascia*. Die genannten Viren konnten isoliert und auf Testpflanzen vermehrt werden. In Ultradünnschnitten INSV- infizierter *Nicotiana benthamiana* - Pflanzen waren im Zytoplasma charakteristische tospovirus-ähnliche Partikel zu beobachten. Gegen die Tobamoviren sowie gegen ein Isolat des NeRNV wurden polyklonale Antiseren in Kaninchen zur Komplettierung der Serumbank des JKI hergestellt. In Nemesien mit NeRNV waren die für Tymoviren charakteristischen Veränderungen an den Chloroplasten in Ultradünnschnitten zu beobachten. Zusätzlich waren zahlreiche vesikuläre Strukturen und virus-ähnliche Partikeln festzustellen, die mit zytoplasmatisch dichten, amorphen Massen assoziiert waren. Das *Cucumovirus Cucumber mosaic virus* war sehr häufig in Zuchtklonen der Kapmagerite *Osteospermum ecklonis* enthalten. Darüber hinaus konnte aus einer Probe der Kapstachelbeere *Physalis peruviana*, die aus dem Botanischen Garten der Freien Universität in Berlin-Dahlem stammte, das *Potyvirus Colombian datura virus* nachgewiesen und isoliert werden. Die Isolate beider Viren, die erstmalig für Deutschland nachgewiesen wurden, zeigten einen sehr breiten Wirtspflanzenkreis mit extrem starken Symptomen, die häufig zum Absterben der Testpflanzen führten. In Ultradünnschnitten CMV infizierter Kapmagerite waren zahlreiche Viruspartikel sichtbar, die kristalline Aggregate bildeten. Weitere Viren, die bisher nicht identifiziert werden konnten, waren in *Aubrieta*-, *Phlox*- und *Sedum*-Arten elektronenmikroskopisch nachweisbar. Die positive Reaktion mit einem Gruppen-spezifischen Antiserum weist auf das Vorkommen von Potyviren in diesen Arten hin. Tests mit einem Antiserum gegen *Angelonia flower break virus* (*Angelonia flower mottle virus*) verliefen bei Angelonien negativ.

077-Kleespies, R.; Leclercq, A.

Julius Kühn Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz

Genetische und elektronenmikroskopische Charakterisierung von *Rickettsiella tipulae*, eines intrazellulären bakteriellen Pathogens der Wiesenschnake, *Tipula paludosa*

Rickettsiella tipulae ist ein intrazelluläres bakterielles Pathogen der Wiesenschnake, *Tipula paludosa* (Diptera: Tipulidae), das üblicherweise als eigene Art innerhalb der Gattung *Rickettsiella* aufgefasst wird. Letztere war ursprünglich der alpha-proteobakteriellen Ordnung *Rickettsiales* zugeordnet, wurde jedoch in den vergangenen Jahren aufgrund der Sequenzierung des 16S rRNA-Gens einer weiteren Art, *Rickettsiella grylli*, der nur entfernt verwandten Gammaproteobakterienordnung *Legionellales* zugewiesen. Die hier vorgestellten elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Wiesenschnaken ergeben die für Befall mit *Rickettsiella* typischen histo- und zytologischen Befunde. Eine zusätzliche phylogenetische Analyse auf der Grundlage PCR-amplifizierter, nahezu vollständiger 16S rDNA-Sequenzen (siehe Abbildungen) stützt die taxonomische Klassifizierung von *Rickettsiella tipulae* in die Ordnung *Legionellales*. Keine Rechtfertigung erfährt hingegen die Annahme, der *Rickettsiella*-Pathotyp *tipulae* bilde dort eine eigene Spezies. Vielmehr ist auf der Grundlage der 16S rDNA-Analyse von einer großen phylogenetischen Nähe zum besser untersuchten Maikäferpathogen *Rickettsiella melolonthae* und damit von einer Zugehörigkeit zur Art *Rickettsiella popilliae* auszugehen. Eine abschließende Beurteilung des Sachverhalts macht jedoch die Einbeziehung weiterer genetischer Marker erforderlich.

078-Braje, I.¹⁾; Albrecht, A.²⁾; Laun, N.¹⁾; Krauthausen, H.-J.¹⁾; Rabenstein, F.²⁾

¹⁾ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz

²⁾ Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

***Acidovorax valerianellae* als Erreger bakterieller Blattflecken an Feldsalat**

Acidovorax valerianellae as the causative agent of bacterial black spots on corn-salad

Seit 1999 treten in Deutschland vermehrt schwarze Blattflecken an Feldsalat auf, die vorrangig auf einen Befall mit dem Bakterium *Acidovorax valerianellae* (Av) zurückzuführen sind. Die Symptome sind vor allem nach feuchten Witterungsperioden an Keimblättern und älteren Blättern sichtbar und können eine Vermarktung beeinträchtigen oder unmöglich machen. Als Übertragungswege sind der Boden und eine Saatgutkontamination belegt. Eine Überdauerung im Boden war nach Inokulation eines Feldbestands für mehrere Monate mit Fangpflanzen nachweisbar. Zur Lösung der offenen epidemiologischen Fragen werden serologische und molekularbiologische Diagnosemethoden entwickelt. Während im Agglutinationstest mit polyklonalen Antiseren (PAS) keine Differenzierung von *Acidovorax*-Herkünften möglich war, zeigten erste Ergebnisse mit ELISA-Varianten und Western blots (WBs), dass eine Differenzierung auf der Basis von

spezifischen PAS bzw. monoklonalen Antikörpern (mAK) möglich ist. Die Analyse der Bandenmuster von WBs ermöglichten eine Unterteilung der geprüften Bakterienisolate in insgesamt 6 Gruppen, wobei vergleichende Untersuchungen mit definierten Antiseren und Bakterienarten aus der Stammsammlung der DSMZ ergaben, dass die ursprünglich als Av-Herkünfte bezeichneten Isolate der Gruppe 4 der Art *A. avenae* ssp. *citrulli* (Aac) zugeordnet werden müssen. Auch die Isolate der Gruppe 1 waren eindeutig nicht als Av-Stämme einzuordnen. Vorläufige Ergebnisse von Fettsäureanalysen ergaben, dass diese Gruppe mit der Art *Stenotrophomonas maltophilia* (früher *Xanthomonas maltophilia*) verwandt oder identisch ist. Die Av-Stammgruppen 2 und 3 waren anhand ihres Fettsäureprofils nicht eindeutig differenzierbar. Entsprechende Analysen der Gruppen 5 und 6 stehen noch aus. Auf Grundlage der WB-Analysen wurden 4 Bakteriensolarte ausgewählt, die 2 Av- (Gruppe 2 und 3), ein Aac- (Gruppe 4) und das vorläufig als *S. maltophilia* definierte Isolat (Gruppe 1) umfassten und für die Herstellung von PAS in Kaninchen verwendet. Im DAS-ELISA reagierten die beiden PAS gegen Av mit 11 von 17 überprüften Isolaten, während die Antiseren gegen Aac bzw. *S. maltophilia* ausschließlich Antigene der homologen Arten erfassten. Immunelektronenmikroskopische Untersuchungen mit markierten Goldpartikeln weisen darauf hin, dass sekretierte oder lösliche Antigene einen großen Anteil der Av spezifischen Antigenkomponenten darstellen, die im ELISA reagieren können. Unter den Isolaten die nicht im DAS-ELISA nachgewiesen wurden, ergab das Fettsäureprofil Hinweise auf das Vorkommen von *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*), einer neben *S. maltophilia* häufig aus Wasser und Böden bzw. pflanzlicher Rhizosphäre isolierten Bakterienart. Erste Ergebnisse mit spezifischen mAK eröffnen die Möglichkeit einer weiteren Differenzierung der für Feldsalat pathogenen Bakterienisolate. Mit Hilfe des Antikörpers 6C6 konnte ein TAS-ELISA entwickelt werden, der spezifisch mit Av-haltigen Pflanzenpresssäften reagierte. An der Herstellung und Charakterisierung weiterer mAK wird gearbeitet. Die biologische Charakterisierung von Bakterienisolaten ergab, dass neun von zehn ausgewählten Isolaten charakteristische Blattsymptome verursachten. Bei konstanten Temperaturen (20 / 18 °C) betrug die Inkubationszeit meist 5 bis 6 Tage, im Einzelfall 4 bis 9 Tage. Gegenüber einem Gemisch pathogener Isolate reagierten alle geprüften Sorten mit Ausnahme der Wildart *Valerianella ramosa* als anfällig, wobei zwischen den geprüften gängigen Sorten geringe graduelle Anfälligkeitsunterschiede auftraten.

* Das Forschungsvorhaben AiF-Nr. 15235 BG/1 der Forschungsvereinigung Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) wurde im Programm zur Förderung der "Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)" vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie über die AiF finanziert.

079-Fried, A.¹⁾; Wensing, A.²⁾; Moltmann, E.³⁾; Jelkmann, W.⁴⁾

¹⁾ Amt für Landwirtschaft Bruchsal

²⁾ Jacobs University Bremen, School of Engineering and Science

³⁾ Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg, Außenstelle Stuttgart

⁴⁾ Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

Freilandversuche zur Bekämpfung des Feuerbrands (*Erwinia amylovora*) 2007 und 2008

Field experiments for fire blight control (*Erwinia amylovora*) in 2007 and 2008

Bislang ist es weltweit nicht möglich, die gefährlichen Blüteninfektionen durch *Erwinia amylovora* an Apfelbäumen ohne den Einsatz antibiotikahaltiger Pflanzenschutzmittel zuverlässig und mit vergleichbarer Effizienz zum Antibiotika-Einsatz zu bekämpfen. Da gesamtgesellschaftlich gefordert wird die Verwendung von Antibiotika außerhalb der Humanmedizin so weit wie möglich einzuschränken, um einer Ausbreitung von Antibiotika resistenter Bakterien insbesondere unter Humanpathogenen vorzubeugen, ist die Suche nach alternativen Bekämpfungsmethoden essentiell für eine wirksame Kontrolle des Feuerbrandes.

In Freilandversuchen zur Feuerbrandbekämpfung in der Versuchsanlage Kirschgartshausen (Baden-Württemberg) wurden alternative Präparate gegen *Erwinia amylovora* in der seit elf Jahren bewährten Versuchsanordnung nach der Eppo-Richtlinie PP1/166 (3) im Vergleich zu Streptomycin getestet. Bei dieser Versuchsanordnung wird während der Blüte in jeder Parzelle ein einzelner Baum künstlich, mit definierter Bakteriendichte des Feuerbranderreger, inokuliert.

In 2008 wurden zusätzlich, um den Infektionsdruck auf die sekundär infizierten Bäume zu erhöhen, auch die zwischen den Parzellen aufgestellten Befruchter-Triebe mit *Erwinia amylovora* inokuliert. Von diesen primären Infektionsstellen ausgehend breiten sich die Bakterien bei günstiger Witterung durch blütenbesuchende Insekten sowie durch Wind und aus und infizieren so die Blüten der benachbarten, nicht direkt inokulierten Bäume auf natürlichem Wege. Alle Versuchsglieder, bestehend aus mindestens 40 Bäumen