Molekulare Phytomedizin / Diagnose- und Nachweisverfahren

076 - Grund, E.; Darissa, O.; Adam, G.
Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek

Bewertung von FTA Karten zur Sammlung von Nukleinsäureproben von mikrobiellen Pflanzenpathogenen und deren PCR-Nachweis

Evaluation of FTA cards for collecting nucleic acid probes of microbial plant pathogens and their PCR detection

Der PCR- oder RT-PCR-Nachweis mikrobieller Pflanzenpathogene gewinnt zunehmend an Bedeutung, einmal wegen der höheren Nachweisempfindlichkeit und zum anderen wegen der zunehmenden Zahl verfügbarer Sequenzdaten. Dafür ist es allerding auch notwendig, die Beprobung und Extraktion der erforderlichen Nukleinsäure einfach, sicher und zuverlässig zu gestalten. Die Papierkarten von Flinders Technology Associates (FTA cards) stellen eine Möglichkeit dar, beide Vorgänge zu vereinen und somit Nukleinsäureproben von biologischem Material im Feld zu sammeln, sicher zu transportieren, aufzubewahren und einfach für die PCR aufzuarbeiten.

In diesem Beitrag wird vergleichend untersucht, wie sich FTA Karten und andere klassische Extraktionsverfahren zum Nachweis von pflanzenpathogenen Viroiden, Viren, Bakterien und Pilzen mit Hilfe von RT-PCR oder PCR eignen.

077 - Drechsler, N.[1]; Habekuß, A.[2]; Thieme, T.[1]; Schubert, J.[2]
[1] Bio-Test Labor GmbH Sagerheide; [2] Julius Kühn-Institut

Nachweis von BYDV-PAV in Getreideproben

Detection of BYDV-PAV in cereal samples

Das *Barley yellow dwarf virus* (BYDV, Luteoviridae) ist eines der bedeutendsten Getreideviren weltweit. In Deutschland verursacht vor allem der Stamm BYDV-PAV, übertragen von den Aphidenarten *Rhopalosiphum padi* L. und *Sitobion avenae* F., erhebliche Ertragsverluste in Wintergetreide. Den größten Schaden verursachen Infektionen im Herbst, dabei variieren die Befallsraten von Jahr zu Jahr witterungsabhängig stark.

Die Untersuchung von Feldproben mit dem ELISA gibt Auskunft über die Befallslage und den Erfolg von vorbeugenden Insektizidbehandlungen zur Vektorenbekämpfung. Um Aufwand und Kosten der Analysen zu minimieren, wird gefordert, dass mehrere Pflanzenproben eines Feldes für den Virustest zusammengefasst werden. Es wurde ein preisgünstiges RT-Realtime-PCR-Verfahren entwickelt, das den spezifischen Nachweis von BYDV-PAV auch bei geringer Viruskonzentration ermöglicht. Das Verfahren basiert auf dem Fluoreszenzfarbstoff SybrGreen. Parallel dazu wurde aber auch eine spezifische und sensitive TaqManSonde für BYDV-PAV entwickelt. Es wurde untersucht, wie viele Pflanzen zusammengefasst werden können, ohne die Nachweissicherheit zu gefährden. Zum direkten Vergleich zwischen ELISA und PCR wurde Pflanzensaft infizierter und nicht infizierter Pflanzen vermischt und in Verdünnungsreihen analysiert. Mit der PCR konnten PAV-positive Pflanzen auch bei einer 1:1000 Verdünnung sicher nachgewiesen werden, während im ELISA die Nachweissicherheit bereits bei einer 1:100 Verdünnung deutlich nachlässt. Da das Verfahren für die Massentestung adaptiert wurde, kann es für umfangreiche Analysen genutzt werden.

078 - Menzel, W.; Winter, S.
Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)

Untersuchungen zur Samen- und Blattlausübertragbarkeit des *Potato spindle tuber viroid*

Investigations on seed- and aphid-transmissibility of *Potato spindle tuber viroid*

Das *Potato spindle tuber viroid* (Pospiviroid, PSTVd, EPPO A2 Liste) wurde in den letzten Jahren vermehrt in verschiedenen Zierpflanzen und auch Tomate nachgewiesen, wobei die Herkunft oft ungeklärt blieb. Angaben in der Literatur zu möglichen Übertragungswegen sind teils widersprüchlich. In Versuchen mit selbst erzeugtem Saatgut von infizierten Tomatenpflanzen konnte eine Samenübertragbarkeit von 6 bis 16 % festgestellt werden, wohingegen der Nachweis des PSTVd bei Testung von Einzelsamen mittels real-time RT-PCR immer positiv war.