

Radom-RT-PCR, Klonieren und Sequenzierung weiter charakterisiert. Phylogenetische Analysen erfolgten mit MEGA4 über die Alignmentberechnung mit ClustalW und Erstellung der Stammbäume mit dem Neighbor-Joining-Algorithmus.

Aus verschiedenen gärtnerisch genutzten symptomlos erscheinenden Kulturpflanzen konnten in 15 von 20 untersuchten Arten bzw. Sorten dsRNAs gefunden werden. Die Anzahl der Fragmente betrug zwischen 1 und 8, wobei häufig Doppelbanden ähnlicher Größe zu erkennen waren. Die Länge der dsRNAs variierte von 0.5 - 14 kbp, wobei der Großteil bei ca. 1.5 kbp - 3.5 kbp lag. Die Ausbeute an dsRNA differierte stark zwischen einzelnen Fragmenten und den Arten im Bereich von typischen 50 ng bis weit über 1 mg je 10 g Pflanzenfrischgewicht.

Nach Klonierung und Sequenzanalysen konnten einige bekannte aber auch bislang unbekannt Viren hauptsächlich aus der Familie Partitiviridae und aus dem Genus *Endornavirus* nachgewiesen werden. Der überwiegende Teil der gefundenen dsRNA-Fragmente konnte den kryptischen Viren (Partitiviridae) zugeordnet werden, wobei häufig Mischinfektionen gefunden wurden. Kryptische Viren in Pflanzen besitzen ein bipartites doppelsträngiges RNA-Genom, welches in isometrische Partikel verpackt ist. Diese Viren nehmen aufgrund ihrer Apathogenität und der limitierten Übertragbarkeit eine Sonderstellung ein. Viren in Pflanzen verursachen zumeist Symptome am Wirt, lassen sich durch Vektoren oder mechanisch von Pflanze zu Pflanze übertragen und sind fähig sich im Wirt durch Zell zu Zell Transport auszubreiten. Kryptische Viren besitzen hingegen nur eine hohe Samenübertragbarkeit und werden ausschließlich durch Zellteilung in der Pflanze verteilt. In der Literatur gibt es bisher nur wenige Daten über kryptische Viren in Pflanzen. Die Ergebnisse zur Systematik stammen zumeist aus den 80er Jahren. Durch die Anwendung neuer Methoden sollen die früheren Untersuchungen bestätigt bzw. weiter fortgeführt werden. Weiterführende phylogenetische Betrachtungen der kryptischen Viren ergaben eine starke Sequenz-Diversität. Über die Stammbaum-erstellung konnten mehrere Gruppen herausgestellt werden. Die Sequenzähnlichkeiten innerhalb dieser Cluster waren insbesondere in den nicht kodierenden Bereichen sehr ausgeprägt. Weitere Sequenzeigenschaften wie die dsRNA-Fragmentgröße und die Abwesenheit bzw. das Vorhandensein und auch die Länge einer Polyadenylierung unterstützen die Aufteilung. Weiterhin zeigten einige dsRNA-Fragmente mehr Ähnlichkeiten zu obligaten Viren in filamentösen Pilzen, die ebenfalls der Familie Partitiviridae angehören, als zu anderen pflanzlichen kryptischen Viren auf.

Die gewonnenen Informationen können zur Verbesserung der Systematik der Virusfamilie Partitiviridae genutzt werden, insbesondere für das dazugehörige Genus Betacryptovirus, für das bisher keine Sequenzen zur Verfügung stehen. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse eine starke evolutionäre Beziehung von kryptischen Viren aus Pflanzen zu den Partitiviren aus Pilzen auf. Diese besitzen sehr ähnliche Eigenschaften und wurden in vielen pflanzenpathogenen Pilzen gefunden. Weiterführende Untersuchungen könnten Hinweise auf einen gemeinsamen Ursprung bzw. eine horizontalen Übertragung kryptischer Viren erbringen.

098 - Leinhos, G.¹⁾; Müller, J.²⁾; Radtke, P.²⁾; Jehle, J.³⁾; Krauthausen, H.-J.²⁾

¹⁾ Landesbetrieb Landwirtschaft Hessen, Gartenbauzentrum Geisenheim c/o DLR-Rheinpfalz; ²⁾ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz; ³⁾ Julius Kühn-Institut

***Iris Yellow Spot Virus* an Bund- und Speisezwiebeln – Verbreitung/Auftreten im Pfälzer Anbaugebiet und Isolatcharakterisierung**

Iris Yellow Spot Virus in onion crops – Distribution in the Palatinate and molecular characterization of isolates

Das durch den Virusvektor *Thrips tabaci* übertragene *Iris yellow spot virus* (IYSV, Gattung *Tospovirus*, Familie Bunyaviridae) trat erstmals im Sommer 2007 im Pfälzer Zwiebelanbaugebiet auf. In 9 von 25 Beobachtungsflächen wurden die länglich-ovalen, weißen bis strohfarbenen nekrotischen Läsionen am Laub von Bund- und Speisezwiebeln beobachtet und mittels DAS-ELISA als Symptome des *Iris yellow spot virus* (IYSV) bestimmt. Ab 2008 erfolgte der Nachweis auch über RT-PCR.

Die in der Literatur beschriebenen Primer erbrachten nur in wenigen Fällen positive RT-PCR-Nachweise, trotz eindeutiger Symptomatik und ELISA-Befunde. Mit selbst entwickelten Primern (z. B. JJ 1/2, 627bp) konnten positive Befunde auch molekular identifiziert werden. Die sequenzierten PCR-Produkte zeigten eine bis zu 99%ige Identität auf Nukleinsäure-Ebene mit bekannten IYSV-Stämmen aus Datenbanken. Eine phylogenetische Analyse der IYSV-Isolate aus dem Rheintal ergab, dass diese untereinander sehr nah verwandt waren und sich von anderen geographischen Herkünften unterschieden. Nur zwei Proben fielen aus diesem Cluster heraus und waren näher mit niederländischen Isolatn verwandt. Bei 96 vergleichend untersuchten Proben stimmten 93mal PCR-Befund und ELISA-Befund überein. Die Symptomatik war demgegenüber in vielen Fällen weniger eindeutig.

In Zusammenarbeit mit der regionalen Beratung (BOLAP GmbH, Speyer) wurde ein Monitoring initiiert, in dem bei den routinemäßigen Feldkontrollen von Trocken- und Bundzwiebelschlägen neben dem Auftreten von IYSV-Symptomen auch das Entwicklungsstadium der Kultur sowie die Befallsstärke durch *Thrips* sp. festgehalten wurde. 2008 wurden nur in zwei von insgesamt 50 Beobachtungsschlägen IYSV-Symptome gefunden und insgesamt war auch das *Thrips*-Vorkommen gering. Dagegen trat IYSV-Befall 2009 ab Ende Juni in abreifenden Sommertrockenzwiebelschlägen und in den zeitlich darauf folgenden Bundzwiebelbeständen des Spätherbstes wieder wesentlich häufiger und stärker auf. In elf von 31 Sommertrockenzwiebelschlägen und in fünf von 49 Bundzwiebelschlägen wurde IYSV Befall gefunden. In den Bundzwiebeln wurden Befallshäufigkeiten bis zu 50 % festgestellt. Auch 2010 sind bereits wieder erste Befallsherde bekannt geworden. An Porree wurde bisher kein Befall gefunden.

Es ist davon auszugehen, dass IYSV nicht mehr nur sporadisch auftritt, sondern nunmehr in der Anbauregion etabliert ist. Da die Bekämpfung des Virusvektors *Thrips tabaci* schon seit langem schwierig und unzureichend ist, muss mit einer weiteren Verbreitung des Virus gerechnet werden. Dies könnte insbesondere im Bundzwiebelanbau zu erheblichen Qualitätseinbußen führen; im Speisewiebelanbau sind Ertragsreduktionen aufgrund kleinerer Sortierungen zu befürchten. Aufgrund der großen ökonomischen Bedeutung der *Allium*-Kulturen im Rheintal sind dringend Bekämpfungskonzepte zu entwickeln und zu erproben.

099 - Lindner, K.¹⁾; Kellermann, A.²⁾

¹⁾ Julius Kühn-Institut; ²⁾ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Das PVY Stammspektrum und die wirtschaftliche Relevanz im Pflanz- und Speisekartoffelbereich am Beispiel Bayerns

Strain specification of PVY and its economic importance for ware and seed potatoes in Bavaria

Das *Potato virus Y* (PVY) ist das ökonomisch bedeutsamste Kartoffelvirus weltweit. Um PVY in eine Pflanzenschutz-strategie einzubeziehen, ist ein detailliertes Wissen zu Symptomen und Schadensumfang der Stammgruppen und Stämme des Krankheitserregers unerlässlich.

Im Laufe der letzten ca. 30 Jahre haben sich zwei neue Stämme des PVY, PVYNTN und PVYNW, herausgebildet, die zunehmend an Umfang und Bedeutung gewonnen haben. Beide Stämme sind vermutlich im Ergebnis von Rekombinationen der Stämme O und N entstanden und erweisen sich als infektionseffizienter als die „klassischen“ Stämme. Zudem ist insbesondere NTN in der Lage, Knollennekrosen zu verursachen, was zu deutlichen Qualitätseinbußen bei Kartoffelspeiseware führen kann. Beide Rekombinanten verursachen zudem Symptome an Kartoffelblättern, die sich von denen der O und N Stämme unterscheiden können. Im Rahmen der Pflanzkartoffelerzeugung erfolgen Feldselektionen infizierter Pflanzen ausschließlich und Bewertungen von Augenstecklingspflanzen (Ernteware) teilweise auf der Basis visueller Bonituren. Ziele der Arbeiten zum Thema sind deshalb, die durch PVY verursachten Symptome neu zu beschreiben und diese Schadbilder in einer Datenbank zu veröffentlichen sowie Verschiebungen im Stammspektrum und veränderte Virulenzen deutlich zu machen. Aus den gewonnenen Ergebnissen in Bayern können deutschlandweite Beratungsaussagen insbesondere für die Kartoffelvermehrungsbetriebe und das Anerkennungsverfahren abgeleitet werden. Zudem bilden die dargestellten Ergebnisse die Grundlage für ein gezieltes Vorgehen in der Resistenzzüchtung.

Im Rahmen der Bewertung atypischer PVY Blattsymptome aus dem Versuchsjahr 2009 wurden 96 gefriergetrocknete Proben von hoch PVY infizierten Kartoffelpflanzen, die als Infektionsmaterial für die LfL Verwendung finden, untersucht. Weiterhin sind 43 Blattproben aus der Feldinspektion und 137 Blattproben aus dem Nachkontrollanbau (beide Proben gefriergetrocknet) sowie 52 gefriergetrocknete und 14 frische Blattproben aus dem Augenstecklingstest (Beschaffenheitsprüfung) analysiert worden. Zudem wurden 184 symptomtragende Kartoffelknollen auf PVY getestet. Für die Zuordnung der symptomverursachenden PVY Isolate zu den PVY Stammgruppen kam der DAS ELISA mit PVYO (ADGEN-1052) und TAS ELISA mit PVYN (JKI 3C8/5B12) spezifischen monoklonalen Antikörpern zur Anwendung. Die Charakterisierung der PVY Stämme erfolgte mit der Multiplex PCR nach Lorenzen et al., 2006.

In dem untersuchten Blattmaterial konnten 111 PVYNTN Infektionen und 201 PVYNW Infektionen, von denen 11 als Mischinfektionen auftraten, sowie 2 PVYN und 2 PVYO Infektionen nachgewiesen werden. Für 37 Proben war keine PVY Infektion zu bestätigen. Das Infektionsmaterial der LfL wies zu 100 % PVYNW auf. In den weiteren Blattproben traten die Vertreter des PVYNTN Stammes und die des PVYNW Stammes nahezu paritätisch auf. Die „klassischen“ PVY Isolate PVYO und PVYN wurden jeweils nur zweimal diagnostiziert. Bezüglich des PVY Stammvorkommens deuten sich Sortenpräferenzen an. Die 184 Kartoffelknollen wiesen 159 PVYNTN Infektionen auf, in elf Fällen wurde PVYNW nachgewiesen, neun Infektionen davon traten in Mischinfektion mit PVYNTN auf. Für zwei Knollen mit Ringnekrosesymptomen war ausschließlich PVYNW nachzuweisen. Für 23 Knollen konnte kein PVY Befall diagnostiziert werden. Die Knolleneinsendungen bestanden aus 85 Knollen der Sorte