

Es gab eine sehr gute Übereinstimmung der Ergebnisse zwischen allen genutzten Methoden. Vorteil des PCR-Verfahrens ist neben seiner hohen Spezifität auch seine hohe Sensitivität.

Mit Hilfe dieses Verfahrens wurde u.a. das aktuelle Stammspektrum des PVY in Deutschland, Neuseeland und Polen analysiert.

106 – Rabenstein, F.¹⁾; Schubert, J.¹⁾; Ehrig, F.¹⁾; Habekuß, A.¹⁾; Krauthausen, H.-J.²⁾; Müller, J.²⁾

¹⁾ Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ), Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik (IRP)

²⁾ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinland-Pfalz, Abteilung Phytomedizin – Gartenbau

Identifizierung und Differenzierung von Viren an Spargel

Identification and differentiation of viruses in asparagus

Eine erste Analyse des Auftretens von Viren an Spargelpflanzen aus Rheinland-Pfalz (Rheinessen und Pfalz) und aus Sachsen-Anhalt (Raum Aschersleben) ergab einen z. T. sehr hohen Befall der untersuchten Spargelbestände. Für die Untersuchungen zur Verbreitung kam ein polyklonales Antiserum im Standard-DAS-ELISA zum Einsatz, das gegen ein Isolat des Asparagus virus 1 (AV-1) aus der Virusbank des IER Aschersleben hergestellt worden war. Da der Test nicht mit gesunden Spargelpflanzen (z.B. Sorte 'Ravel') reagierte, andererseits in einzelnen Spargelanlagen alle geprüften Pflanzen positiv getestet wurden, kann von einer vollständig Durchseuchung dieser Anlagen ausgegangen werden. Von verschiedenen Standorten wurden mehrere Isolate gewonnen. Untersuchungen zum Wirkkreis ergaben, dass mindestens zwei Linien isoliert werden konnten, die sich hinsichtlich ihrer Reaktion auf *Nicotiana benthamiana* (systemische Infektion) und *Chenopodium quinoa* (Bildung von Lokalläsionen) unterscheiden. Untersuchungen mit elektronenmikroskopischen, serologischen und molekularen Methoden ergaben, dass sich zwei ähnliche Viren mit fadenförmiger, flexibler Morphologie identifizieren lassen, die beide mit Potyvirus-gruppenspezifischen Antikörpern und PCR-Primern reagieren und auch vom polyklonalen AV-1 Antiserum im Western blot erfasst werden. Erste Sequenzierungsdaten zeigten für beide Isolate Unterschiede, die besonders am N-Terminus des Hüllproteins ausgeprägt sind. Darüber hinaus konnte ein weiteres, bisher nicht identifiziertes, flexibles Virus isoliert werden, das eine systemische Infektion in *Ch. murale* verursacht, jedoch nicht mit Antiserum gegen AV-1 aus der Kollektion des IRP reagierte. In mehreren Proben waren isometrische Viren vorhanden, die als Stämme des Cucumber mosaic virus (CMV) identifiziert wurden. Mit spezifischen monoklonalen Antikörpern und anhand von Wirkkreisuntersuchungen ließen sich diese Isolate weiter differenzieren. Untersuchungen zum Vorkommen des Asparagus virus 2 (Genus Ilarvirus), ein Virus mit ebenfalls isometrischer Morphologie, ergaben in den geprüften deutschen Spargelbeständen bisher keinen Nachweis. Die unerwartet starke Verbreitung von Viren in den untersuchten Spargelbeständen erfordert die Entwicklung spezifischer Diagnosemethoden, um eine differenzierte Überwachung (Monitoring) der verschiedenen Viren zu ermöglichen und darauf aufbauend für ausgewählte Spargelsorten zukünftig möglichst virusfreies bzw. virusgetestetes Pflanzenmaterial zur Verfügung stellen zu können. Darüber hinaus ist für die gezielte Entwicklung von Resistenzprüfmethoden unter Einbeziehung von Sorten und Genbankmaterial eine genaue Charakterisierung der Viren eine wesentliche Vorbedingung. Hierfür ist es erforderlich, neben den biologischen, morphologischen und serologischen Eigenschaften der in Deutschland vorkommenden Spargelviren, deren Genomstruktur zu ermitteln.

107 – Knierim, D.; Blawid, R.; Maiss, E.

Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz

Optimierung der artifiziellen Inokulation von *Nicotiana benthamiana* mit Vollängenklonen des Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV-AIT)

Optimisation of artificial inoculation of *Nicotiana benthamiana* with a full-length clone of TYLCTHV-AIT

Die artifizielle Inokulation von Pflanzen mit Vollängenklonen von Geminiviren stellt einen wichtigen Schritt zur Überprüfung der Infektiosität und damit der Erfüllung der Kochschen Postulate dar. Vollängenklone von Geminiviren sind für die Erforschung der molekularen und biologischen Eigenschaften dieser Pathogene nahezu unverzichtbar. Für die Inokulation von Pflanzen mit Vollängen-