

### **239 - Entwicklung eines neuen Differentialsortimentes für die Pathotypbestimmung des Erregers *Synchytrium endobioticum***

*Development of a new differential set for the identification of pathotypes of *Synchytrium endobioticum**

**Yvonne Schleusner, Kerstin Flath, Jaroslaw Przetakiewicz<sup>2</sup>, Kurt Heugens<sup>3</sup>, Lidia Dimitrova<sup>4</sup>, Arunas Beniusis, Gerald van Leeuwen**

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland

<sup>2</sup>IHAR – Plant Breeding and Acclimatization Institute (Poland)

<sup>3</sup>PPS-BG (Bulgaria)

<sup>4</sup>ILVO – Institute for Agricultural and Fisheries Research (Belgium)

VATZUM – State Plant Service under the Ministry of Agriculture (Lithuania), HLB (Netherlands)

Der Quarantäneschadorganismus *Synchytrium endobioticum* verursacht an der Kartoffel krebssartige Gewebewucherungen und zählt im Kartoffelanbau nach wie vor zu den bedeutsamen pilzlichen Schaderregern. Weltweit konnten 39 Pathotypen dieses Erregers nachgewiesen werden, von denen die Pathotypen 1, 2, 6, 8 und 18 in Europa von Bedeutung sind. Die Pathotypidentifikation bei neu auftretenden Befallsherden erfolgt anhand des im EPPO-Standard PM 7/28 (1) aufgeführten Differentialsortiments (OEPP/EPPO, 2004), das überarbeitet werden soll, da einige der Differentialsorten nicht mehr verfügbar sind bzw. keine eindeutige Unterscheidung der Krebspathotypen zulassen. Im Rahmen eines EU-weiten Ringtestes, an dem neben dem JKI je ein Labor aus Polen, den Niederlanden, Belgien und Bulgarien mitwirkten, wurden neue Kartoffelsorten mit bekannter Resistenz gegenüber Pathotyp 1 auf deren Reaktion gegenüber den Pathotypen 6, 8 und 18 geprüft. Ziel war es, validierte Ergebnisse zu erhalten.

Die Untersuchungen wurden nach der ebenfalls im EPPO-Standard PM 7/28 (1) aufgeführten Glynne-Lemmerzahl-Methode durchgeführt. Sie umfassten die Sorten Deodara und Producent als anfällige Kontrollen, Logo und Talent (als Ersatz für die Kartoffelsorte Miriam), Transit (als Ersatz für Karolin) und Gawin (Ersatz für Delcora).

Anhand der erzielten Ergebnisse ließen sich nur zwei Sorten identifizieren, die als Ersatz für eine überalterte Differentialsorte geeignet sind. Dazu gehören die Sorte Gawin als Ersatz für Delcora und die Sorte Talent als Ersatz für Miriam. Für eine vollständige Überarbeitung des Differentialsortimentes sind weitere Untersuchungen notwendig.

Literatur

OEPP/EPPO, 2004: PM 7/28 (1) – Diagnostic protocols for regulated pests. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin **34**, 155-157.

### **240 - Risikoanalyse zu *Puccinia psidii***

*Pest risk analysis for *Puccinia psidii**

**Gritta Schrader, Silke Steinmüller**

Julius Kühn-Institut, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit

Im Jahr 2012 wurde in Baden-Württemberg das Auftreten des Rostpilzes *Puccinia psidii* beobachtet. Dieser Pilz ist bisher weder in Deutschland noch in anderen Mitgliedsstaaten aufgetreten und nicht in den Anhängen der Richtlinie 2000/29/EG (Anonym 2000) gelistet. Entsprechend den Vorgaben der Pflanzenbeschauverordnung wurde durch das Julius Kühn-Institut eine Express-Risikoanalyse zur Einschätzung des Risikos für Deutschland und die anderen Mitgliedsstaaten der Europäischen Union bei einer Etablierung bzw. Verschleppung des Pilzes erarbeitet. *Puccinia psidii* kommt in weiten Teilen Süd- und Mittelamerikas vor, zudem wird sein Auftreten in einigen Staaten der USA sowie in Japan und Australien beschrieben (Clark, 2011). Der Wirtspflanzenkreis von *Puccinia psidii* umfasst voraussichtlich die ganze Familie der Myrtaceae, zu der unter anderem die Myrte (*Myrtus communis*) aber auch Eukalyptus (*Eucalyptus* spp.) gehören. Die Symptome eines

Befalls umfassen Läsionen an jungen, wachsenden Blättern, Trieben, Knospen und Früchten (Glen *et al.* 2007), an Eukalyptus treten aber auch kümmerwuchs und starke Verzweigung bis zum Absterben anfälliger Pflanzen auf (Tommerup *et al.* 2003). Seine natürliche Verbreitung erfolgt über mobile Sporen, die mit Wind, Regen und Insekten verbreitet werden. Eine Verschleppung erfolgt vor allem durch Baumschulware, aber auch durch anhaftende Sporen an Fahrzeugen, Personen und Werkzeugen. In Brasilien führte das Auftreten des Pilzes in den 70er Jahren zu Verlusten ganzer Eukalyptus-Plantagen. In Australien wird im Falle einer Verbreitung mit einer Veränderung der Biodiversität gerechnet. In Deutschland haben Pflanzen aus der Familie Myrtaceae nur eine begrenzte Bedeutung als Kübelpflanzen. In südlichen Mitgliedsstaaten (z.B. Spanien, Portugal, Frankreich und Italien) werden jedoch Pflanzen der Gattung Eukalyptus auf ca. 1,5 Mio. ha zur Zellstoffgewinnung angebaut. Für diese Länder besteht eine Gefahr für den Eukalyptusanbau und es kann bei einer Verschleppung mit erheblichen Schäden, vor allem in Baumschulen und Jungpflanzenplantagen, gerechnet werden. Das Julius Kühn-Institut empfiehlt daher die Ergreifung von Maßnahmen zur Bekämpfung und zur Abwehr der Gefahr einer Verschleppung entsprechend §4a der Pflanzenbeschauverordnung, wie die Vernichtung befallener Pflanzen unter Verhinderung der Freisetzung von Sporen. Die Express-Risikoanalyse einschließlich der dem obigen Artikel zugrunde liegenden Literatur ist zu finden unter:

[http://pflanzengesundheit.jki.bund.de/dokumente/upload/76aba\\_puccinia\\_psidii\\_express-pra.pdf](http://pflanzengesundheit.jki.bund.de/dokumente/upload/76aba_puccinia_psidii_express-pra.pdf)

## **241 - Zur effizienten Kontrolle von Zitrusimporten auf Schwarzfleckenkrankheit (CBS) – ein Nachweis mittels Real-time PCR in Deutschland**

*Toward efficient control of citrus imports due to citrus black spot (CBS) disease – detection by means of Real-time PCR in Germany*

**Clovis Douanla-Meli, Jens-Georg Unger**

Julius Kühn-Institut, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit

Die Problematik der Zitruswarzfleckenkrankheit (CBS), Erreger *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Van der Aa, ist handelspolitisch von großer Bedeutung, weil vor einigen Jahren Brasilien und aktuell Südafrika ihre umfangreichen Ausfuhren in die EU wegen wiederholtem Befall stoppen müssten. Aufgrund des Quarantänestatus von CBS werden alle aus Drittländern eingeführten Zitrusendungen einer Kontrolle unterworfen. Hierzu ist EU-weit eine Real-time PCR (Gent-Pelzer *et al.* 2007) anzuwenden, die bereits in vielen Ländern angewendet wird. In Deutschland wurde erst in 2013 dieses Protokoll im JKI Institut für Pflanzengesundheit etabliert.

Benötigte Materialien: CBS-infizierte Zitrusfrüchte bereitgestellt von Pflanzenschutzdiensten der Bundesländer, erworbene Referenzkultur von *P. citricarpa* (CBS-KNAW), weitere CBS-infizierten Proben erhalten durch die Kooperation mit NRC in Wageningen, die Niederlande.

Die Detektionsmethode verwendet eine sequenzspezifische TaqMan Fluoreszenzsonde mit FAM und TAMRA als Reporter bzw. Quencher, und dient alleinig zum qualitativen Nachweis von *P. citricarpa* bis zur Nachweisschwelle (Limit of Detection: LoD). Alle Tests wurden in Singleplex (DNA-Zielregion: ITS) mit PCR-Parametern [95°C 10 min, 40x (95°C 15 sec, 60°C 60 sec)] für die Standardkurve durchgeführt. Die Auswertung gültigen Tests (d.h. NIC u. NAC negativ, PIC u. PACs positiv) erfolgt bei Schwellenwert (Threshold) = 0.04 und Base Line = Automatisch. Daraufhin wurden alle Proben mit  $C_T$ -Wert unter 40 als positiv bewertet.

Die Protokollverifizierung erfolgte nach EPPO Standard PM 7/98 (EPPO, 2010) mit folgenden Leistungskriterien: Sensitivität (Se), Spezifität (Sp), Wiederholbarkeit (Wi) und Reproduzierbarkeit (Re). Ergebnisse dazu sind unten zusammengefasst (Abbildung 1).