

Unter optimierten Versuchsbedingungen sowohl am Pflanzenstandort als auch am Messplatz waren bei virus-infizierten Versuchspflanzen Temperaturänderungen insbesondere an den jüngsten Blättern zu beobachten. Die TSWV-Infektionen wurden im Infrarotbereich erst mit der Nekrotisierung der Lokalläsionen auf den inokulierten Blättern erfassbar. Bei TMV und PVY zeigte sich eine Tendenz zur Temperaturerhöhung an den Triebspitzen der Pflanzen, während cmV eher zu einer Abkühlung im Bereich der apikalen Blätter führte.

Generell waren die Gesamttemperaturen der infizierten Pflanzen wesentlich weniger aussagekräftig als die lokalen Veränderungen an den Orten der stärksten Symptomausprägung. Diese Temperaturverteilung wurde allerdings erst mit dem Auftreten sichtbarer Symptome klar erkennbar. Somit kann die Thermographie als unterstützende Maßnahme in der Virusdiagnostik eingesetzt werden, dürfte aber vor allem für die Grundlagenforschung im Bereich Virus-Wirt-Interaktionen von Interesse sein.

29-6 - Beyer, M.¹⁾; Pogoda, F.¹⁾; Ronellenfitsch, F. K.¹⁾; Hoffmann, L.¹⁾; Udelhoven, T.²⁾

¹⁾ Centre de Recherche Public – Gabriel Lippmann

²⁾ Universität Trier

Schätzung des Deoxynivalenolgehaltes von Weizenproben mit unterschiedlichen Anteilen *Fusarium*-befallener Körner mittels diffuser Reflexionsspektroskopie und der Methode der Partiellen-Kleinsten-Quadrate-Regression

Estimating deoxynivalenol contents of wheat samples containing different levels of Fusarium-damaged kernels by diffuse reflectance spectrometry and partial least square regression

Ährenfusariosen sind Pilze, die Ertragsverluste und Mykotoxinbelastungen im Weizen und anderen Getreiden hervorrufen. Weizenkörner wurden manuell aufgrund ihrer Form und Farbe in befallene und gesunde Körner unterteilt. Anschließend wurden Gruppen mit Anteilen von 0, 20, 40, 60, 80 und 100 % befallener Körner zusammengestellt. Jede Gruppe wurde geteilt und Teil 1 wurde für die Messung der spektrometrischen Reflexion (Wellenlängen zwischen 350 und 2500 nm) benutzt, während die andere Gruppe für die Quantifizierung des Mykotoxins Deoxynivalenol (DON) mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie verwendet wurde.

DON Konzentrationen von Korngruppen, die optisch als unbefallen klassifiziert wurden, waren nicht signifikant verschieden von 0. Eine Schätzung der DON Gehalte aufgrund der Daten der visuellen Bonitur war mit hoher Variabilität und damit hoher Unsicherheit behaftet ($r^2 = 0.49$). Die Verwendung der Spektren und der Methode der Partiellen-Kleinsten-Quadrate-Regression erlaubte eine präzisere Schätzung ($r^2 = 0.84$), besonders bei hohen Befallsstufen. Möglichkeiten und Grenzen eines Schnelltests zur Schätzung von DON Gehalten mittels Reflexionsspektroskopie werden diskutiert.

Literatur

BEYER, M., POGODA, F., RONELLENFITSCH, F.K., HOFFMANN, L., UDELHOVEN, T., 2010: Estimating deoxynivalenol contents of wheat samples containing different levels of *Fusarium*-damaged kernels by diffuse reflectance spectrometry and partial least square regression. *International Journal of Food Microbiology* 142: 370-374.

29-7 - Moritz, G.¹⁾; Vetter, K.²⁾; Kumm, S.¹⁾

¹⁾ Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

²⁾ Becit GmbH Wolfen

Modulare Identifikation von Schad-Thysanopteren (Thripse) in Deutschland

Modular identification of pest Thysanoptera (Thrips) in Germany

Die Landwirtschaft steht zu Beginn des 21. Jahrhunderts vor zahlreichen Veränderungen, die massiv durch Effekte des Klimawandels, der Energieversorgungsstrategien sowie der Globalisierung beeinflusst werden. Dazu gehören auch die Schonung der Umwelt und der vorhandenen Ressourcen durch die Reduzierung und Optimierung von Pflanzenschutzmitteln und den zielgerichteten Einsatz von Insektiziden unter einem ständig wachsenden Schaderregerspektrum. Thripse profitieren erheblich von der Globalisierung und hoch adaptive, invasive Arten, wie *Frankliniella occidentalis*, haben es in fast einem viertel Jahrhundert geschafft, eine weltweite Verbreitung zu erreichen, einschließlich der durch sie übertragenen Phytopathogene. Ein hohes Schadpotenzial erreichen vor allem weltweit die zu den zehn gefährlichsten Pflanzenviren zählenden Tospoviren aus der Familie der Bunyaviridae. Vertreter der Tospoviren sind in nahezu 1000 Pflanzenarten in mehr als 80 Pflanzenfamilien nachgewiesen worden – Tendenz steigend (Latham and Jones, 1997). Ihre Übertragung ist immer an das Vorkommen geeigneter Thysanopteren-Arten, insbesondere an deren Erstarvenstadium gebunden. Die Zahl und Abundanz der in Deutschland vorkommenden Tospovirus-Vektoren wird durch die klimatischen Veränderungen

Europas und die weitere Erwärmung insbesondere der gemäßigten Zonen begünstigt. Eine effektivere Kontrolle an den Eintrittspforten der Europäischen Union und ein kontinuierliches Monitoring innerhalb der EU-Staaten wären somit dringend erforderlich.

Eine schnelle, effektive und exakte Diagnose der Schaderreger, vor allem aber ihrer ontogenetischen Stadien, die oftmals viel zahlreicher und vor allem zeitiger verfügbar sind, ist somit eine logistische und dringliche Forderung des modernen Pflanzenschutzes. Nur die Frage nach dem „Wie?“ ist oftmals schwierig zu beantworten, da weltweit nur noch wenige Experten verfügbar sind und junge Systematiker nicht unbedingt im Fokus der Förderrichtlinien universitärer Einrichtungen bzw. Fördergesellschaften liegen.

Aus diesem Grund entwickeln wir für verschiedene Regionen Informations- und Identifikationstools (USA: Moritz et al., 2009; Australien: Moritz and Mound, 1999; Ost-Afrika: Moritz et al., 2012), die modellartig und nach Modulen gestaffelt, maßgeschneiderte Lösungen anbieten und zugleich weltweit vergleichend eingesetzt werden können. Die wenigen und im Pflanzenschutz nur schwer einsetzbaren Bestimmungshilfen sind oftmals veraltet, da sie vor Jahrzehnten für geographisch begrenzte Regionen erstellt wurden und zudem nur die Identifikation der adulten, meistens nur weiblichen Stadien zulassen. Allerdings kann man mit modernen Bildmontageverfahren (Automontage–Synchrosopy, Cambridge, Leica Montage) ältere Zeichnungen durch optimierte Originalaufnahmen ersetzen und so mit geschultem Personal exakte Identifikationen enorm steigern. Zudem ist es besonders wichtig, Präparate gut vorzubereiten und ausreichend zu mazerieren, um entsprechend wichtige Sklerit-Konstruktionen sowie Borstenkonstellationen deutlich sichtbar machen zu können (Protokolle sind im Modul I: *Visuelle Identifikation* einsehbar). Gelingt dies, so ist es möglich, zahlreiche, adulte, in Kanada-Balsam eingebettete Thripse visuell bestimmen zu können. Dafür kommt ein nutzerfreundlicher Key auf der Basis von *LucID 3.5 Prof.* für fast 150 Arten zum Einsatz, der auf CD-ROM bzw. online verfügbar und mit jedem gängigen Computerbetriebssystem (Windows-, Mac-, Unix-, Sun- und Linux-Plattformen) zu nutzen sein wird. Neben der Artdiagnose wird zudem im Ergebnis ein Datenblatt einsehbar, welches zahlreiche wichtige Informationen zur ermittelten Spezies enthält, wie z. B. eine visuelle Darstellung der diagnostisch wichtigsten Merkmale, eine genaue Beschreibung der Spezies einschließlich der taxonomischen Identität, Synonyme, Gattungszugehörigkeit und Gattungsmerkmale, vergleichende Angaben zu ähnlichen oder verwandten Arten, eine kurze Darstellung der Biologie, Verbreitung, Wirtspflanzen, Vektoreigenschaften, Kontrollstrategien und biogeographische Daten einschließlich einer umfangreichen Bibliographie.

Jedoch ist die Identifikation adulter Männchen und vor allem aller anderen präadulten ontogenetischen Stadien mit dem Modul I nicht möglich. Dies gelingt mit Hilfe einer molekularen Diagnose unter Nutzung einer *ITS-RFLP-Datenbank* (Modul II), die online durch Eingabe der eingesetzten Primerpaare, Restriktionsenzyme und der erhaltenen PCR-Produkte und Fragmentlängen eine Artbestimmung zulässt. Durch ein zwischen Modul I und II eingebautes Interface kann man auch vom Ergebnis der ITS-RFLP-Datenbank auf die entsprechenden Spezies-Datenblätter zugreifen (MORITZ et al., 2004 a, b, MORITZ et al., 2000, MORITZ und MOUND 1999). Möglich wurde die Erstellung des Moduls II durch die Nutzung neuer Protokolle, die einerseits die Gewinnung ausreichender Mengen an nuklearer DNA für die Amplifizierung aus einem einzigen Tier ermöglichen und andererseits dabei die Chitin-Hülle des Tieres so schonen, dass man es als Totalpräparat darstellen, katalogisieren und somit als direkten visuellen Nachweis für die extrahierte DNA verwenden kann. Die Vorteile der molekularen Diagnostik liegen vor allem in der Möglichkeit, bereits prä-adulte Stadien, vom postkatatreptischen Ei-Stadium im Pflanzengewebe, über beide Larven- bis zu den Ruhestadien hin, exakt identifizieren zu können und damit einen erheblichen Zeitgewinn bei der Diagnose eines Tospovirusvektors zu erlangen.

Modul III stellt den innovativsten und zugleich neuesten Teil der ID-Systems vor. Es baut auf den Erkenntnissen der ITS-RFLP-Analyse auf und beinhaltet die Entwicklung eines low density Biochiparrays, mit dem eine Parallelidentifizierung von Schaderregern jedes Entwicklungsstadiums einschließlich der durch sie übertragenen Pathogene möglich sein wird. Anhand geeigneter Sonden aus Multialignmantanalysen der gewonnenen ITS-RFLP-Daten wird die Erstellung eines elektrischen Biochips zur Identifikation von Thripsen möglich. Die Eignung der viralen RNA-Nukleotidsequenzen für den Biochip wird parallel getestet.

Das ID-Projekt verfolgt das Ziel wertvolles taxonomisches Expertenwissen im Rahmen von 3 ID-Modulen zu konservieren und für eine schnelle und exakte Bestimmung aller ontogenetischen Stadien der Thripse sowie der durch sie übertragenen Tospoviren nutzbar zu machen.

Literatur:

- LATHAM, L. J., JONES, R. A. C., 1997: Occurrence of tomato spotted wilt tospovirus in native flora, weeds, and horticultural crops. - Aust. J. Agric. Res. 48: 359-369.
- MORITZ G., MOUND, L. A., 1999: AQIS identification guide: Thysanoptera species most likely to be taken on plant material imported into Australia. AQIS Publ. CD ROM, Canberra.
- MORITZ, G., KUMM, S., MOUND, L. A., 2004 a: Tospovirus transmission depends on thrips ontogeny. Virus Research 100 (1): 143-149.
- MORITZ, G., MOUND, L. A., MORRIS, D.C., GOLDARAZENA, A., 2004 b: Pest thrips of the world – an identification and information system using molecular and microscopical methods. CBIT, University of Queensland. CDROM (ISBN 1-86499-718-8).

- MORITZ, G., O'DONNELL, C., PARRELLA, M., 2009: Pest thrips of North America. Centre for Biological Information Technology. The University of Queensland. CD ROM (ISBN 978-86499-940-2).
- MORITZ, G., DELKER, C., PAULSEN, M., MOUND, L. A., BURGERMEISTER, W., 2000: Modern methods in thrips-identification and information (Insecta, Thysanoptera). Bulletin OEPP/EPPO 30: 591-593.
- MORITZ, G., BRANDT, S., TRIAPITSYN, S., SUBRAMANIAN, S., 2012: Identification and information tools for thrips in East Africa. Centre for Biological Information Technology. The University of Queensland. CD ROM (in prep.).

Gefördert durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE)

29-8 - Lück, K.; Döscher, M.

Eurofins and Agrosience Services GmbH

Processing studies for plant product accreditation - experience of a contract laboratory

Verarbeitungstudien im Rahmen der Pflanzenschutzmittelzulassung – Erfahrungen eines Auftragslabors

With the demands of EU, OECD, CEB and EPA guidelines in compliance to GLP and GEP standards becoming ever more stringent, there is now more emphasis than ever on processing studies. When residues are present in raw agricultural commodities it may be necessary to investigate the magnitude of residues in the processed commodities (GLP-studies) and to analyse the efficacy of these products (GEP-studies). In order to achieve these objectives under GLP two different types of processing studies are suggested: balance studies (MB) where all intermediate, waste and end products should be included and follow-up studies (FU) where only those intermediate and end products that are still relevant need to be tested. Both studies can be done in household and/or in industrial preparation to represent the potential usage of products. For example in wheat GLP-studies whole-meal flour, whole-grain-bread, middlings, total bran, flour including toppings and wheat germs have to be produced in order to EU guidelines. GEP studies determine possible effects or influences on the quality by use of plant protection products. At the processing department at Eurofins Agrosience Services GmbH quality analysis of different commodities (e.g. Falling number or Hectoliter weight) and taint tests (e.g. triangle testing) are used. To fulfill these requirements Eurofins Agrosience Services GmbH has developed in house expertise in this area. Investments were made in new personnel and food processing machinery to offer a GLP and GEP compliant processing laboratory following industrial techniques.