
Diagnose- und Nachweisverfahren

123 - Etablierung eines molekularen on-site Testverfahrens zur Diagnose von Phytoplasmen an Reben und Obstkulturen

Development of an on-site molecular diagnostic tool for phytoplasmas in grapevine and other specialty crops

Holger Linck¹, Sven Keil², Frank Brändle², Annette Reineke¹

¹Hochschule Geisenheim

²IDENTXX GmbH

Phytoplasmen (*Candidatus Phytoplasma*) sind zellwandlose phytopathogene Bakterien, die als obligate Parasiten im Phloem ihrer Wirtspflanzen leben, über 700 Pflanzenarten befallen können und zu erheblichen Ernteverlusten führen können. In Reben (*Vitis vinifera*) sind Phytoplasmen für die Schwarzholzkrankheit (Bois noir) und die Goldgelbe Vergilbung (Flavescence dorée) verantwortlich. In den ökonomisch wichtigen Kernobstarten Apfel (*Malus domestica*) verursachen Phytoplasmen die Apfelfriebsucht, und in Birne (*Pyrus*) führen sie zum Birnenverfall. Übertragen werden sie von phloemsaugenden Vektorinsekten, die häufig wärmeliebend sind und sich daher im Rahmen der Klimaerwärmung weiter verbreiten. Managementstrategien für diese Phytoplasmosen stützten sich im Moment allein auf einer Eindämmung der Verbreitung durch Bekämpfung der Vektorinsekten und der Verwendung von befallsfreiem Pflanzgut. Die Identifikation befallsfreier Pflanzen anhand möglicher Phytoplasmen-Symptome wird allerdings durch eine lange Inkubationszeit infizierter Pflanzen erschwert. Daher ist die Verfügbarkeit eines einfachen und schnellen molekularen on-site Nachweises, der von Vermehrungsbetrieben, Beratern oder Pflanzenschutzdiensten direkt vor Ort durchgeführt und ausgewertet werden kann, ein wichtiges Mittel, um die Verbreitung von Phytoplasmen einzudämmen. Ein solcher Nachweis auf Basis eines LAMP-Assays bzw. TaqMan-Assays wird daher im Projekt PhytoDiag in einer Zusammenarbeit der Hochschule Geisenheim und der Firma IDENTXX aus Stuttgart entwickelt.

124 - Application of next-generation sequencing for simultaneous detection of viruses, viroids and phytoplasmas in grapevine and fruit trees

Viren, Viroide und Phytoplasmen in Reben und Obstbäumen - Detektion von Mehrfachinfektionen mittels Hochdurchsatzsequenzierung

Kerstin Zikeli¹, Constanze Berwarth¹, Dennis Knierim², Christoph Hoffmann¹, Michael Maixner¹, Stephan Winter², Wilhelm Jelkmann¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

²Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen & Zellkulturen GmbH

Next-generation sequencing (NGS) technologies are applied to a greater extent for detection of plant pathogens in the last years (Loconsole et al., 2012). Thus NGS is used for diagnostics of viral and virus-associated diseases of grapevines and fruit trees (Abbà et al., 2014, Rott et al., 2017).

Viral, viroidal and phytoplasma diseases cause severe crop losses in viticulture and orchards (Basso et al., 2017). Bois noir (a grapevine yellows disease associated with the phytoplasma species '*Candidatus Phytoplasma solani*'), European stone fruit yellows ('*Candidatus Phytoplasma prunorum*'), apple proliferation ('*Candidatus Phytoplasma mali*')

and pear decline ('*Candidatus Phytoplasma pyri*') belong to the most prevalent and economically important phytoplasma diseases of grapevine respectively of fruit trees in Europe (Seemüller & Schneider, 2004). The emergent symptoms of Grapevine enation disease (GED) have been reported in Germany in 2006. However, the etiology of GED, causing formation of enations on the underside of basal leaves and growth depression of infected plants, still remains unknown (Martelli, 2014). No correlation of RT-PCR detected virus species and occurrence of disease has been found so far.

Therefore NGS (Illumina MiSeq platform) was applied in this study for detection of viral and phytoplasmic infections in grapevine and fruit tree samples. Symptomatic or asymptomatic samples were analyzed and subjected to a NGS pipeline starting from total RNA extract for generating an untargeted metagenome dataset. Thus untargeted and unknown pathogens may be identified and a parallel detection of a huge variety of pathogens (viruses, viroids and phytoplasmas) using a single technology is feasible. Raw NGS data were analyzed using the bioinformatic software Geneious. This NGS approach enables the detection of low titer infections in tissues. Phytoplasmas (negatively tested by normal PCR assay) were detected in bois noir and pear decline samples. Beside viruses and phytoplasmas detected by PCR, further viruses and viroids were found to be present. In this study, NGS technology was applied for the parallel detection of phytoplasmas, viruses and viroids in a single grapevine or fruit tree sample.

Literature

- Abbà S., Galetto L., Carle P., Carrère S., Delledonne M., Foissac X., et al., 2014: RNA-Seq profile of flavescence dorée phytoplasma in grapevine. *BMC Genomics* 15 (1), 1088.
- Basso, M. F., Fajardo, T. V. M., & Saldarelli, P., 2017: Grapevine virus diseases: economic impact and current advances in viral prospection and management. *Revista Brasileira de Fruticultura* 39 (1), e-411. Epub April 27, 2017.
- Loconsole, G., Giampetruzzi, A., Roberto, R., Saponari, M., Palmisano, F., Chiumenti, M., Morelli, M., Minafra, A., Savino, V. & Saldarelli, P., 2012: Next generation sequencing and metagenomic analysis advances plant virus diagnosis and discovery. *J. Plant Pathol.* 94 (4), 48.
- Martelli, G. P., 2014: Directory of virus and virus-like diseases of the grapevine and their agents. *J. Plant Pathol.* 96 (suppl. 1), 1-136.
- Rott, M., Xiang, Y., Boyes, I., Belton, M., Saeed, H., Kesanakurti, P., Hayes, S., Lawrence, T., Birch, C., Bhagwat, B. and Rast, H., 2017: Application of Next Generation Sequencing for Diagnostic Testing of Tree Fruit Viruses and Viroids. *Plant Disease* 101 (8), 1489-1499.
- Seemüller, E., Schneider, B., 2004: '*Candidatus Phytoplasma mali*', '*Candidatus Phytoplasma pyri*', and '*Candidatus Phytoplasma prunorum*', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *Int J Syst Evol Micr* 54 (Pt 4), 1217-1226.

125 - Vorkommen der Ulmenvergilbung in einheimischen Ulmenarten in Deutschland

Occurrence of Elm Yellows Phytoplasma in native Elm Species in Germany

Bernd Schneider, Marlies Karaus, Heidrun Mattauch, Michael Kube

Thünen-Institut, Institut für Forstgenetik

Die Ulmenvergilbung wird durch das vektorübertragene Bakterium *Candidatus Phytoplasma ulmi* verursacht. Diese Phytoplasmose wurde bereits in mehreren europäischen Ländern beschrieben. Die Krankheit äußert sich durch die Bildung von Hexenbesen, Triebstauche, Vergilbung der Blätter sowie Phloemnekrosen. In Brandenburg sind bis zu 50 % der untersuchten Flatterulmen mit dem Quarantäneschadorganismus infiziert. Während das Pathogen in nordamerikanischen Ulmen starke Symptome verursacht und zu erheblichen Verlusten in den Populationen führt, sind in den brandenburgischen Ulmen phytoplasmasassoziierte Symptome selten.

4 6 1

Julius-Kühn-Archiv

61. Deutsche Pflanzenschutztagung

Herausforderung Pflanzenschutz –
Wege in die Zukunft

11. - 14. September 2018
Universität Hohenheim

- Kurzfassungen der Vorträge und Poster -



Julius Kühn-Institut
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

4 6 1

Julius-Kühn-Archiv

61. Deutsche Pflanzenschutztagung

Herausforderung Pflanzenschutz –
Wege in die Zukunft

11. - 14. September 2018
Universität Hohenheim

- Kurzfassungen der Vorträge und Poster -



Programmkomitee der 61. Deutschen Pflanzenschutztagung:

- **Präs. und Prof. Dr. Georg F. Backhaus** (Vorsitzender)
Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
- **Prof. Dr. Carmen Büttner**
Humboldt-Universität zu Berlin
- **Friedel Cramer**
Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
- **Prof. Dr. Holger B. Deising**
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- **Dr. Michael Glas**
Pflanzenschutzdienst Baden-Württemberg, Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg
- **Prof. Dr. Johannes Hallmann**
Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft
- **Prof. Dr. Bernward Märländer**
Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften
- **Dr. Jens Marr**
Industrieverband Agrar e. V.
- **Prof. Dr. Frank Ordon**
Gesellschaft für Pflanzenzüchtung
- **Dr. Karola Schorn**
Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
- **Prof. Dr. Ralf Thomas Vögele**
Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin

Geschäftsstelle:

- **Cordula Gattermann, Pamela Lemke, Ann-Christin Madaus,
Dr. Holger Beer, Christine Sander**
Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Foto Titelseite:

Arno Littmann, JKI

Deutsche Pflanzenschutztagung
Messeweg 11/12
38104 Braunschweig
Tel.: 0531 299-3202 und -3201
Fax: 0531 299-3001
E-Mail: info@pflanzenschutztagung.de
www.pflanzenschutztagung.de

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation
In der Deutschen Nationalbibliografie: detaillierte bibliografische
Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

ISSN 1868-9892

ISBN 978-3-95547-061-6

DOI 10.5073/jka.2018.461.000



Alle Beiträge im Julius-Kühn-Archiv sind unter einer
Creative Commons - Namensnennung - Weitergabe unter gleichen Bedingungen -
4.0 Lizenz veröffentlicht.

Printed in Germany by Arno Brynda GmbH, Berlin.