

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz
(Direktor: Prof. Dr. habil. E. Weber)
der
Landwirtschaftlichen Fakultät
(Dekan: Prof. Dr. habil. P. Pickel)
der
Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg



Zur Ökologie des *Wheat dwarf virus* (WDV) in Sachsen-Anhalt

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor agriculturarum (Dr. agr.)

vorgelegt von
Diplomagraringenieur
Silke Mehner

geboren am 25.08.1972
in Freiberg/Sachsen

Gutachter: Prof. Dr. habil. E. Fuchs
Prof. Dr. habil. C. Volkmar
Prof. Dr. habil. T. Kühne

Verteidigung am: 10. Oktober 2005

Halle/Saale 2005

urn:nbn:de:gbv:3-000009527

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000009527>]

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung	1
2	Literaturübersicht zum WDV und seinem Vektor	5
3	Material und Methoden	18
3.1	Herstellung eines Antiserums vom WDV	18
3.1.1	Ausgangsmaterial	18
3.1.2	Reinigungsmethode	18
3.1.3	Immunisierung und Serumgewinnung	20
3.1.4	Fraktionierung und Enzymkopplung	21
3.1.5	Charakterisierung des Antiserums	23
3.2	Methoden zum Nachweis des WDV	23
3.2.1	Nachweis mittels double-antibody-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA)	23
3.2.2	Nachweis mittels polymerase chain reaction (PCR)	25
3.2.2.1	Extraktion von viraler DNA aus Pflanzen	25
3.2.2.2	Extraktion von viraler DNA aus <i>P. alienus</i>	26
3.2.2.3	Durchführung der PCR	27
3.3	Untersuchungen zum Vorkommen des WDV	28
3.3.1	Ausfallgetreide	28
3.3.2	Wintergetreide	30
3.4	Untersuchungen zum Wirtskreis des WDV	31
3.4.1	Prüfung von Grasarten hinsichtlich ihrer Wirtseignung	31
3.4.1.1	Auswahl der Grasarten und Versuchsstandorte	31
3.4.1.2	Durchführung der Versuche	35
3.4.2	Prüfung von verschiedenen Getreidearten aus dem Freiland	36
3.4.2.1	Auswahl der Proben	36
3.4.2.2	Prüfung der Wirtseignung von <i>Zea mays</i> L. im Freiland	37

3.5	Untersuchungen zur Interaktion zwischen dem WDV und der Zikade <i>P. alienus</i>	40
3.5.1	Untersuchungen zur Übertragung des WDV durch <i>P. alienus</i> unter Laborbedingungen	40
3.5.1.1	Ermittlung der Effektivität der Übertragung des WDV durch die einzelnen Entwicklungsstadien von <i>P. alienus</i> sowie die Ermittlung der Persistenz des WDV im Vektor	40
3.5.1.2	Untersuchungen zur Akquisitionszeit und zur Zirkulationszeit	41
3.5.2	Ermittlung des Anteils virusübertragender und virustragender <i>P. alienus</i> an der Gesamtpopulation im Freiland	42
4	Ergebnisse	44
4.1	Serumherstellung	44
4.2	Auftreten des WDV in Sachsen-Anhalt	47
4.2.1	Ausfallgetreide	47
4.2.2	Wintergetreide	51
4.3	Untersuchungen zum Wirtskreis des WDV	58
4.3.1	Grasarten	58
4.3.2	Getreidearten	62
4.3.3	<i>Zea mays</i> L.	63
4.4	Untersuchungen zur Interaktion zwischen dem WDV und der Zikade <i>P. alienus</i>	65
4.4.1	Untersuchungen zur Übertragung des WDV durch <i>P. alienus</i> unter Laborbedingungen	65
4.4.1.1	Ermittlung der Effektivität der Übertragung des WDV durch die einzelnen Entwicklungsstadien von <i>P. alienus</i> sowie die Ermittlung der Persistenz des WDV im Vektor	65
4.4.1.1.1	Biologischer Test	65
4.4.1.1.2	PCR	69

4.4.1.2	Akquisitionszeit und Zirkulationszeit	72
4.4.1.2.1	Biologischer Test	72
4.4.1.2.2	PCR	73
4.4.2	Ermittlung des Anteils virusübertragender und virustragender <i>P. alienus</i> an der Gesamtpopulation im Freiland	74
4.4.2.1	Biologischer Test	74
4.4.2.2	PCR	80
5	Diskussion	83
5.1	Serumherstellung	83
5.2	Auftreten des WDV in Sachsen-Anhalt	84
5.3	Wirtskreis des WDV	90
5.4	Interaktion zwischen dem WDV und der Zikade <i>P. alienus</i>	98
5.5	Infektionszyklus des WDV	106
5.6	Sortenwahl und chemischer Pflanzenschutz	110
6	Zusammenfassung und Schlußfolgerungen	114
6.1	Deutsche Fassung	114
6.2	Englische Fassung	118
7	Literaturverzeichnis	122
8	Abbildungsverzeichnis	139
9	Tabellenverzeichnis	140
10	Abkürzungsverzeichnis	143

1 Einleitung und Problemstellung

Äußere Veränderungen an Pflanzen, die nach heutigem Wissen durch Viren hervorgerufen werden, beobachteten die Menschen nicht erst seit der berühmten Rembrandt-Tulpe (ANONYM, 2004), die durch zahlreiche Maler ab dem 17. Jahrhundert verewigt wurde (BARNETT und MAIN, 1999). Schon 752 nach Christi stellte man gelbliche Verfärbungen an *Eupatorium*-Gewächsen fest (DREWS *et al.*, 2004). Die Botanikerin DOROTHY CAULEY erkannte erst 1928, daß blattlausübertragbare Viren Streifungen und geflammte Musterung an Tulpenblüten verursachen (FROST, 2002). 42 Jahre zuvor entdeckte A. MAYER (FENNER, 1999) das Tabakmosaik-Virus (*Tobacco mosaic virus*, TMV), was er irrtümlich noch für ein Bakterium hielt. M. W. BEIJERINCK untersuchte 1898 den Presssaft von infizierten Tabakpflanzen genauer. Er stellte fest, daß dieses infektiöse, filtrierbare Agents kein Mikroorganismus sei, da sich das *Contagium vivum fluidum* nicht auf Nährböden vermehrte, sondern nur im lebenden Gewebe (BEIJERINCK, 1898 zitiert in DREWS *et al.*, 2004). Mit der Entwicklung und Verbesserung wissenschaftlich-technischer Methoden wurden die Viren immer weiter erschlossen. So war man ab Beginn des 20. Jahrhunderts in der Lage, neben der Beschreibung von Symptomen, Überträgern sowie den Wirtskreisen weitere Analysen durchzuführen. Anhand der daraus gewonnenen Kenntnisse über die Struktur, Organisation und Vermehrung wurde der Begriff Virus definiert. Nach VAN REGENMORTEL (1999) versteht man unter einem Virus ein elementares Biosystem. Es besitzt ein Genom und ist befähigt, sich an veränderte Umweltbedingungen anzupassen. Viren können keine Energie aufnehmen oder freisetzen, sie funktionieren nicht aktiv außerhalb einer lebenden Zelle. Ein Virus wird Teil eines lebenden Systems, indem es sein Genom in die Zelle des Wirtes integriert. Die virale Replikation wird nur durch die metabolische Aktivität der Wirtszelle möglich.

Eine Virusinfektion an Pflanzen hat nicht nur optisch eindrucksvolle Auswirkungen (Rembrandt-Tulpe). Viren sind für beträchtliche ökonomische Verluste in der Landwirtschaft weltweit verantwortlich, obwohl die durch pflanzenpathogene Pilze hervorgerufenen Schädigungen weitaus höher einzuschätzen sind (WATERWORTH, 1998).

Verluste, die durch Viren herbeigeführt werden, beziehen sich einerseits auf Ertrags- und Biomassereduzierungen, andererseits auf die Schwächung der befallenen Pflanzen, die somit für andere Einflüsse (biotisch und abiotisch) anfälliger werden. Ferner führt die Senkung des Marktwertes durch Qualitätseinbußen erkrankter Nutzpflanzen zu weiteren

monetären Verlusten (BARNETT und MAIN, 1999). Da dem Anbauer von Kulturpflanzen keine direkten chemischen Bekämpfungsmöglichkeiten zur Verfügung stehen, müssen andere Varianten für die Gesunderhaltung einer Kultur genutzt werden. Dazu zählen alle Maßnahmen zur Einhaltung der Betriebshygiene, inklusive einer Vektorkontrolle, der Produktion von virusfreiem Saat- und Pflanzgut, der Resistenzzüchtung sowie Quarantäneprogramme beim Import und Export pflanzlicher Produkte (WATERWORTH und HADIDI, 1998; FRASER, 1999).

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Virus näher untersucht, welches Erkrankungen am Getreide hervorruft. Der Getreideanbau besitzt in Deutschland einen hohen Stellenwert. Nach STRATMANN (2003) umfaßte er in den letzten Jahren (1998 bis 2002) im Durchschnitt 58,7 % (6 935 745 ha) der Gesamtackerfläche (11 821 721 ha). Im Untersuchungsgebiet Sachsen-Anhalt wurde von 1998 bis 2002 auf durchschnittlich 59,3 % (595 280 ha) der gesamten Ackerfläche (1 003 260 ha) Getreide angebaut (ANONYM, 2003a; c). Dabei stand das Bundesland in den Jahren 2002 und 2003 hinsichtlich des Anbaues von Winterweizen deutschlandweit an vierter Stelle (im Mittel 315 684,5 ha) und nahm bei Wintergerste im Jahr 2002 den fünften (103 300 ha) und im Folgejahr den sechsten Rang (88 700 ha) ein (ANONYM, 2003b; STRATMANN, 2003). Die hohe Konzentration an Getreidebeständen im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt erforderte geradezu umfassende Untersuchungen zum Weizenverzwergungs-Virus (*Wheat dwarf virus*, WDV). Das WDV gehört zu den mehr als 33 in Europa an Getreide vorkommenden Viren (VAN REGENMORTEL *et al.*, 2000). Vermutlich trat das WDV in Deutschland bereits vor seiner Entdeckung durch JOSEF VACKE in der Nähe von Dresden (Dittersbach, Sachsen) im Jahr 1990 auf (HUTH und SCHNEE, 1993; HUTH und LESEMANN, 1994). Die nicht mit dem WDV verwandten, durch Blattläuse übertragbaren Gerstengelbverzwergungs-Viren (*Barley yellow dwarf viruses*, BYDVs) verursachen ähnlich dem WDV bei einer frühen Infektion der Neusaaten von Getreide im Herbst sehr starke Wuchsdepressionen. Vom WDV befallene und stark geschwächte Pflanzen sterben in der Regel im Verlauf des Winters bzw. im Frühjahr ab. Da anhand der Symptome an infizierten Pflanzen in einem Bestand keine Differenzierung zwischen diesen Viren möglich war, erfolgte vermutlich vor der Entdeckung des WDV in Deutschland oftmals die Zuordnung des hervorgerufenen Zwergwuchses fälschlicherweise als eine Infektion mit den BYDVs (HUTH, 1994).

Nach dem Auffinden des WDV in Sachsen, folgten ab 1991 Berichte über weitere Funde aus Sachsen-Anhalt, Bayern, Thüringen, Niedersachsen und Hessen (HUTH, 1994; HUTH

und LESEMANN, 1994). Zum damaligen Zeitpunkt war der Kenntnisstand über das WDV noch relativ gering. Untersuchungen zu diesem Virus an Weizen lagen aus der ehemaligen Tschechoslowakei (VACKE, 1961), aus Schweden (LINDSTEN, 1980) und Frankreich (VACHER *et al.*, 1991) vor. In der Vegetationsperiode 1993 und 1994 wurde das WDV in Sachsen-Anhalt verstärkt an Wintergerste festgestellt (HABEKUß, 2003). Dies war Anlaß, das tatsächliche Vorkommen des WDV im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt zu ermitteln. Des weiteren bestand großes Interesse an der Aufklärung der Zusammenhänge, die zum Auftreten der Weizenverzwergung am Getreide führen und damit in der Ökologie des Virus zu finden sind. Bezüglich der Beurteilung der Pathogenität eines Virus bilden Kenntnisse zur Ökologie eine notwendige Voraussetzung, um gezielte Gegenmaßnahmen im Sinne des integrierten Pflanzenschutzes einleiten zu können. Viren unterliegen als obligate Zellparasiten über ihren Wirt und Vektor den jeweiligen Umweltbedingungen eines bestimmten Lebensraumes (STARKE und HLINAK, 1974). Hinsichtlich der Ökologie, also den Wechselwirkungen und -beziehungen der Organismen untereinander und zu ihrer unbelebten Umwelt (SCHUBERT, 1991), sind bei einem vektorübertragbaren Virus, wie dem WDV, vorrangig Fragen zum Virusreservoir, den Wechselwirkungen zwischen dem Virus und dem Vektor sowie den Wechselwirkungen zwischen der Umwelt und dem Komplex Virus-Wirtspflanze-Vektor aufzuklären. Das WDV wird von der Zwergzikade *Psammotettix alienus* Dahlbom, 1851 übertragen. Diese Zikade tritt sowohl in Getreidebeständen als auch an verschiedenen Gräsern auf unterschiedlichen Standorten auf. Fragen zur Biologie und zu den Wechselwirkungen zwischen Umwelt und dem Vektor *P. alienus* wurden in Kooperation mit dem Zoologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg bearbeitet und von MANURUNG (2002) in einer Dissertation niedergelegt.

Anhand der gewonnenen Erkenntnisse wurde der Versuch unternommen, den Infektionszyklus des WDV im Jahresablauf zu beschreiben. Von zentraler Bedeutung war dabei die Suche nach Ansatzpunkten, die das Auftreten des WDV beeinflussen. Zur Klärung der aufgeworfenen Fragen wurden folgende Schwerpunkte bearbeitet:

- Herstellung eines Antiserums vom WDV zur Virusdiagnose
- Erhebungen zum Auftreten des WDV in Wintergetreide im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

-
- Untersuchungen zum Wirtskreis und Stammspektrum des WDV in verschiedenen Wirtsarten

 - Untersuchungen zur Interaktion WDV - *P. alienus* mit folgenden Hauptinhalten:
 - Untersuchungen zur Effektivität der Übertragung des WDV durch die einzelnen Entwicklungsstadien von *P. alienus*

 - Ermittlung der Akquisitions-, Zirkulationszeit und Persistenz als bedeutende Parameter der Virus-Vektor-Interaktion

 - Ermittlung virusübertragender und virustragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation in Beständen von Wintergerste und Triticale am Standort Zscherben, Sachsen-Anhalt

 - Schlußfolgerungen.

2 Literaturübersicht zum WDV und seinem Vektor

Die Beschreibung von Vergilbungen an *Eupatorium chinense* L. in einer japanischen Anthology aus dem 8. Jahrhundert zählt zu den ersten Beobachtungen von Virose. Nach heutigem Wissen wurde diese Erkrankung durch Geminiviren hervorgerufen (BUCK, 1999). Die Erforschung von Viren dieser Familie begann vor etwa 30 Jahren. Allerdings waren sie bereits seit Beginn des 20. Jahrhunderts vorzugsweise in tropischen und subtropischen Ländern als Verursacher von erheblichen Ertragsverlusten, z.B. in der Tomaten-, Zuckerrüben-, Kassaava-, Mais- und Baumwollproduktion bekannt (ADEJARE und COUTTS, 1982; HARRISON, 1985 zitiert in MATZEIT, 1988; DAMSTEEGT und IGWEGBE, 1998; MOFFAT, 1999).

Erste Beobachtungen über eine Verzweigung des Weizens gehen auf den Beginn des 20. Jahrhunderts zurück. Als charakteristisch wurden eine stärkere Bestockung sowie eine Verzweigung und Deformation der Pflanzen beschrieben, was zu einem Absterben vieler Pflanzen führte. TULLGREN (1918) stellte fest, daß in Schweden unter anderem die Zikade *Psammotettix alienus* Dahlbom, 1851 für diese schweren Schäden am Weizen verantwortlich war (LINDSTEN *et al.*, 1970). Seinerzeit ging man davon aus, daß neben *P. alienus* weitere Insekten für die als „Slidsjuka“ (Scheidenkrankheit: Ähren bleiben teilweise in Blattscheiden stecken) bezeichneten Erkrankung beteiligt seien. Obwohl es unterschiedliche Auffassungen über die Ursachen dieser Weizenkrankheit gab, bestand Einigkeit darüber, daß die Schäden besonders in Jahren nach einem trockenen und heißen Sommer auftraten. Die durchschnittlichen Erträge betroffener Bestände betrugen weniger als 8 dt/ha, was insgesamt einen Verlust von über 5 Millionen Schwedischen Kronen zur Folge hatte (LINDSTEN *et al.*, 1970). In den 40er Jahren des letzten Jahrhunderts nahm die „Slidsjuka“ stark ab, bis sie gänzlich verschwand. Im Jahr 1997 trat die Erkrankung plötzlich erneut auf (SANDGREN und LINDBLAD, 1998; LINDSTEN und LINDSTEN, 1999; LINDBLAD, 2000). Inzwischen war die Krankheit durch VACKE (1961) als Weizenverzweigung beschrieben worden. DLABOLA (1961) beobachtete 1960 in der ehemaligen Tschechoslowakei Weizenpflanzen, die in ihrer Entwicklung stark gehemmt waren und stets zusammen mit einem hohen Vorkommen der Zikade *P. alienus* auftraten (mehr als 10 Individuen je m²). Aufgrund dessen führte VACKE während der Vegetationsperiode 1960 die ersten Übertragungsversuche durch und konnte das Weizenverzweigungs-Virus (*Wheat dwarf virus*, WDV) als Ursache der Symptome nachweisen. Die Identifizierung und taxonomische Zuordnung des Virus erfolgte 20 Jahre später (LINDSTEN, 1980).

Ende der 80er Jahre des letzten Jahrhunderts verursachte in Zentralfrankreich eine neue Erkrankung („pieds chétifs“) des Weizens starke Schäden. Sie war ebenfalls mit einem hohen Auftreten der Zikade *P. alienus* verbunden. Die Ertragsverluste wurden auf mehr als 50 % geschätzt (MOREAU *et al.*, 1992). Zuerst gestaltete sich die Ermittlung des Pathogenes schwierig, da außer einem mykoplasmaähnlichen Organismus kein weiterer Erreger diagnostiziert werden konnte (LAPIERRE *et al.*, 1991). In Zusammenarbeit mit einer schwedischen Arbeitsgruppe gelang schließlich der Nachweis des WDV (LINDSTEN und LINDSTEN, 1993). Von diesem Zeitpunkt an wurden das Vorkommen des Vektors und des Virus untersucht (GIUSTINA *et al.*, 1991; ANONYM, 1992). Die Autoren stellten fest, daß das WDV hauptsächlich in Zentralfrankreich und in dessen angrenzenden Gebieten zu finden war, jedoch nicht in den Küstenregionen sowie im Süden des Landes. Der Nachweis des WDV erfolgte schließlich auch in weiteren Ländern, z.B. in der Ukraine (PRIDANCEVA, 1965 zitiert in BISZTRAY und GÁBORJÁNYI, 1989) und Rumänien (RADULESCU und MUNTEANU, 1970 zitiert in VACKE, 1972). Seit den 1980er Jahren wurde WDV in Bulgarien (STEPHANOV und DIMOV, 1981 zitiert in BISZTRAY und GÁBORJÁNYI, 1989), Ungarn (BISZTRAY und GÁBORJÁNYI, 1989; GÁBORJÁNYI *et al.*, 1991) und Italien (CONTI, 1993) diagnostiziert. Später folgten Funde in Tunesien (NAJAR, 2000). Den Erstnachweis für Deutschland erbrachte, wie bereits genannt, VACKE 1990 (HUTH und LESEMANN, 1994). LINDBLAD und WAERN (2002) veranschlagen je nach Zeitpunkt der Infektion bei Winterweizen Ertragsverluste von 35 % bis 90 %. In Parzellenversuchen, wobei 72 Genotypen von Durumweizen einbezogen waren, konnten SZUNICS *et al.* (2000) diese Angaben bestätigen. Mit ansteigender Symptomstärke nahmen die Ertragsverluste zu. Teilweise wurden Einbußen von 97,3 % registriert.

Zum Wirtskreis des WDV zählen ausschließlich Vertreter der *Poaceae*. Von den Getreidearten werden neben *Triticum aestivum* L. emend Fiori et Paol (Weizen), *Hordeum vulgare* L. (Gerste), *Secale cereale* L. (Roggen), *Avena sativa* L. (Hafer) und *x Triticosecale* Wittm. (Triticale) infiziert (LINDSTEN *et al.*, 1970; VACKE, 1972; HUTH, 1994; FUCHS *et al.*, 2001). Aufgrund umfangreicher Übertragungsversuche des WDV auf mehr als 30 Pflanzenarten sowie anhand von Beobachtungen im Freiland veröffentlichte VACKE (1972) eine detaillierte Symptombeschreibung. Danach zeigt Winterweizen unter Laborbedingungen in der Regel 18 bis 25 Tage nach der Infektion die ersten Krankheitsanzeichen. Fröhsaaten von Winterweizen reagieren ca. vier bis sechs Wochen nach der Infektion mit Symptomen. An spät bestelltem Weizen werden diese erst im Frühjahr sichtbar, sofern die Pflanzen in der Lage sind, zu überwintern. Die Inkubationszeit beträgt nach einer Infektion im

Frühjahr und Fröhsommer drei bis vier Wochen. Unter Gewächshausbedingungen zeigt Sommerweizen 10 bis 15 Tage nach der Infektion erste Symptome. Eine Infektion im Freiland wird nach drei Wochen sichtbar.

Die Bezeichnung „Weizenverzweigungs-Virus“ ist von den Hauptmerkmalen der Erkrankung, den Störungen beim Schossen sowie der Ausbildung zahlreicher Triebe abgeleitet. In einem frühen Entwicklungsstadium infizierte Pflanzen wirken buschig und gedrungen (Verzweigung). Das Ausmaß der Schädigung hängt vom Alter der Pflanze zum Zeitpunkt der Infektion ab. Die stärkste Entwicklungsstörung weisen Pflanzen auf, deren Befall bereits im Ein- bis Zweiblattstadium stattfindet. So führt eine frühzeitige Infektion von Wintergetreide im Herbst zu einer starken Schwächung der Pflanze, weshalb diese in der Regel im Verlauf des Winters absterben.

Eine Infektion von Weizenpflanzen im Frühjahr äußert sich in einer Verkürzung der Internodien und zum Teil der Ähren. VACKE (1972) berichtete, daß bei einer Infektion von Sommerweizen (Sorte 'Zlatka') keine starken Störungen beobachtet wurden, wenn der Befall im Zeitraum zwischen Schossbeginn bis Ährenscheiden stattfand. Allerdings kam es zur Ausbildung verkürzter Triebe. Im Detail lassen sich nach einer Infektion mit dem WDV chlorotische Punkte und unklar abgetrennte Streifungen auf den Blättern beobachten. Diese Symptome werden zuerst auf den jüngsten, später ebenso auf den älteren Blättern ausgebildet. Einige der von den genannten Autoren geprüften Sorten von Weizen reagierten entweder mit chlorotischen Punkten oder mit Streifungen. Kleine Risse oder Deformationen an den jüngsten Blättern sind charakteristisch für eine Infektion mit dem WDV. Im weiteren Verlauf vergilben die Blätter von der Blattspitze und vom Blattrand ausgehend. Partiiell kann eine Rotfärbung vorkommen (Abb. 1).

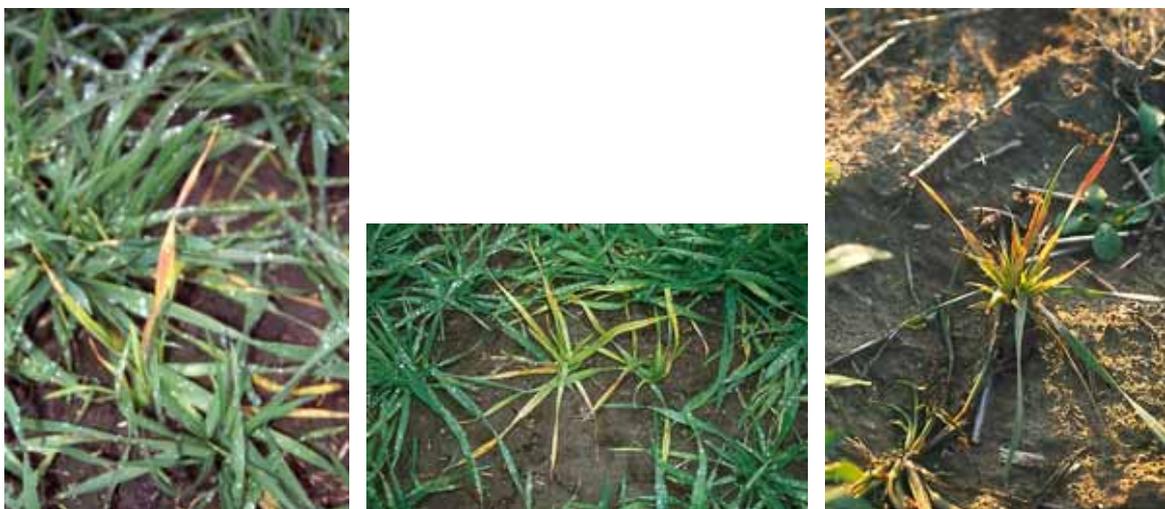


Abb. 1: Mit dem WDV infizierte Pflanzen von Winterweizen

Später entstehen nekrotische Flecke in unterschiedlicher Form und Größe. Spät infizierte Pflanzen bilden gelegentlich noch Ähren aus, wobei kleinere Ährchen auftreten. Bei einer frühen Infektion kommt es nur partiell zur Ausbildung von Ähren. Häufig bleiben diese ganz oder teilweise in den Blattscheiden stecken. Werden noch Körner entwickelt, sind diese von minderwertiger Qualität. Sie sind vertrocknet, geschrumpft und teilweise nicht keimfähig. Ferner ist das Wurzelsystem der Pflanzen nach einer Infektion mit dem WDV betroffen. So ist die Ausbildung von Nebenwurzeln im Vergleich zu gesunden Pflanzen verringert. Die Wurzeln sind kürzer und dünner, wobei die stärkste Schädigung nach einer frühen Infektion hervorgerufen wird (TOMENIUS und OXELFELT, 1981). Die Symptome an Wintergerste entsprechen im Detail denen an Weizen, allerdings fehlen Rotfärbungen (VACKE, 1972) (Abb. 2). So wurden Ende Mai/Anfang Juni befallene Pflanzen beobachtet, die eine starke Bestockung aufwiesen und teilweise bereits abgestorben waren (HUTH und LESEMANN, 1994). Sommergerste reagiert mit einer geringeren Verzweigung und Vergilbung der Blattspitzen (VACKE, 1972). Ebenso ist ein latenter Infektionsverlauf bekannt (LINDSTEN und LINDSTEN, 1999). Auch an Winterroggen sind ähnliche Symptome zu finden, jedoch häufig verbunden mit einer intensiveren Anthocyanbildung in den Blättern und Halmen. An Sommerroggen beobachtete VACKE (1972) nur eine geringe Entwicklungsdepression, wenige Blattflecke sowie keine Störungen der generativen Anlagen. Hafer reagiert nach einem WDV-Befall mit einer geringen Entwicklungshemmung, Vergilbung und leichter Rötterfärbung (Abb. 3a). HUTH (1994) stellte an infizierten Pflanzen von *x Triticosecale* Wittm. (Triticale) keine höhere Bestockung im Vergleich zu gesunden Kontrollpflanzen fest. Die ährentragenden Halme waren um die Hälfte verkürzt. Des Weiteren trat gelegentlich eine Rotfärbung der Blattspitzen auf (Abb. 3b) (MEHNER *et al.*, 2003).

Neben den Getreidearten zählen verschiedene Wild- und Kulturgräser zum Wirtskreis des WDV. Dabei sind diejenigen in ihrer Bedeutung höher einzuschätzen, die unter natürlichen Bedingungen mit dem WDV befallen werden und somit ein Virusreservoir darstellen. Zu den spontan infizierten Gräsern zählen *Bromus secalinus* L., *Lolium multiflorum* Lam. (VACKE, 1972), *Avena fatua* L., *B. inermis* Leyss., *B. tectorum* L., *Hordeum murinum* L., *L. perenne* L., *L. temulentum* L. (VACKE, 1981 zitiert in VACKE und CIBULKA, 1999), *L. remotum* Schrk., *Lagurus ovatus* L. (LINDSTEN, 1991 zitiert in BRUNT *et al.*, 1996) *A. sterilis* L., *A. strigosa* Schreb., *Poa annua* L. (LINDSTEN und VACKE, 1991) und *Apera spica-venti* (L.) P. Beauv. (VACKE und CIBULKA, 1999). An infiziertem *A. spica-venti* beobachteten die Autoren im Vergleich zu nicht befallenen Pflanzen eine

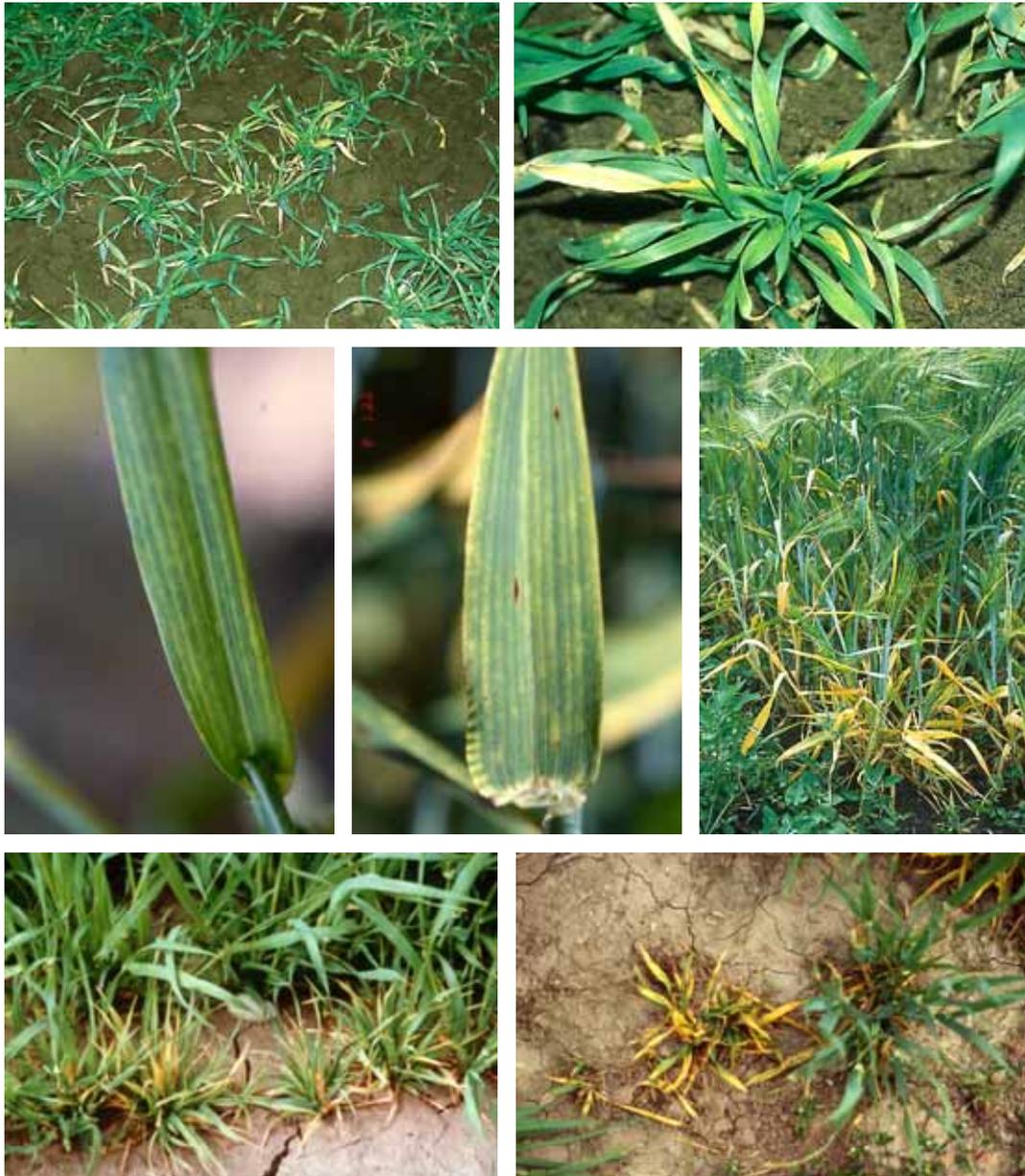


Abb. 2: Symptome einer Infektion mit dem WDV an Wintergerste

Wuchsminderung von ca. 20 %. Weiterhin waren eine starke Bestockung sowie Vergilbungen und chlorotische Punkte zu finden. Eine Übertragung des WDV auf dikotyle Pflanzen verlief stets negativ (VACKE, 1972).



Abb. 3: WDV-Befall von (a) Hafer und (b) Triticale

Unter Laborbedingungen gelang VACKE (1972) die Infektion verschiedener Arten der Gattungen *Aegilops* L., *Avena* L., *Bromus* L., *Hordeum* L., *Lagurus* L., *Lolium* L. und *Triticum* L., wobei die Inokulation im Einblattstadium der Pflanzen erfolgte. Die Intensität der Symptomausprägung differierte zwischen diesen Arten. Im Vergleich zu Hafer zeigte z.B. *Avena fatua* L. stärkere Vergilbungen und eine teilweise Verzweigung der Blütenstände. Innerhalb der Gattung *Lolium* L. waren ebenfalls Unterschiede zu beobachten. So reagierten *L. perenne* L. und *L. multiflorum* Lam. toleranter gegenüber dem WDV, was eine längere Lebensfähigkeit der Pflanzen zur Folge hatte. *L. rigidum* Gaudin und *L. temulentum* L. wurden demgegenüber als sensitiver eingestuft. Die Ausprägung der Symptome an verschiedenen Arten der Gattung *Bromus* L. verlief weniger stark als bei *Lagurus ovatus* L. *Poa annua* L. blieb nach einer Infektion unter Laborbedingungen symptomlos (LINDSTEN und VACKE, 1991). Die Angaben in der Literatur verdeutlichen, daß sich experimentell auch Pflanzenarten infizieren lassen, die vermutlich nicht zum natürlichen Wirkkreis des WDV gehören. Die eigenen Untersuchungen zum Wirkkreis des WDV wurden deshalb unter natürlichen Infektionsbedingungen durchgeführt.

Das WDV kommt in zwei Stämmen, dem Gersten- und dem Weizenstamm, vor. Mittels polyklonaler Antikörper können diese nicht unterschieden werden (VACKE und CIBULKA, 1999; SCHUBERT *et al.*, 2002). Der Nachweis von zwei an Gerste adaptierten Isolaten erfolgte durch LINDSTEN und VACKE (1991). Zwei andere Isolate infizierten Weizen, wobei eines von ihnen in geringem Umfang auf Gerste übertragen werden konnte. VACKE und CIBULKA (1999) berichten jedoch später, daß der Gerstenstamm des WDV nicht auf Weizen und der Weizenstamm des WDV nicht auf Gerste zu übertragen sei. In Frankreich

konnte ebenfalls kein Stamm gefunden werden, der beide Getreidearten infiziert (LINDSTEN und LINDSTEN, 1993). Jedoch schließen die Autoren ein solches Vorkommen nicht aus, da der Probenumfang in den beschriebenen Versuchen relativ gering war. LINDSTEN und LINDSTEN (1999) fanden in Schweden den Weizenstamm ausschließlich an infiziertem Weizen und Roggen. In den getesteten Beständen von Sommergerste und Hafer trat kein Befall auf. Die Autoren gehen aus diesem Grund davon aus, daß der Gerstenstamm des WDV in Schweden nicht vorkommt. Dies bestätigten die Untersuchungen von KVARNHEDEN *et al.* (2002). Das Auftreten des Weizen- und des Gerstenstammes wurde aus Frankreich (LINDSTEN und LINDSTEN, 1993), Italien (CONTI, 1993), Deutschland (HUTH und LESEMANN, 1994), Tunesien (NAJAR, 2000) und Ungarn (SZUNICS *et al.*, 2000) berichtet. Wirtspflanzen beider Stämme sind *A. fatua* L., *A. sativa* L., *A. sterilis* L., *L. ovatus* L. (LINDSTEN und VACKE, 1991) und *A. spica-venti* (L.) P. Beauv. (VACKE und CIBULKA, 1999). Hingegen konnten *A. strigosa* Schreb., *Secale cereale* L. (4/10 Pfl.) und *L. multiflorum* Lam. experimentell nur mit einem Isolat des Weizenstammes infiziert werden (LINDSTEN und VACKE, 1991). Über das Vorkommen der Stämme des WDV im Mitteldeutschen Trockengebiet lagen vor Beginn der eigenen Untersuchungen keine Erkenntnisse vor.

Sequenzanalysen bestätigten die Existenz des WDV in zwei Stämmen. MACDOWELL *et al.* (1985) und MATZEIT (1988) sequenzierten ein 2749 bp großes schwedisches Isolat (WDV-S), welches bereits 1969 (KVARNHEDEN *et al.*, 2002) von Weizen isoliert wurde. Zwei weitere weizenadaptierte Isolate kamen aus der heutigen Tschechischen Republik (WDV-C: WOOLSTON *et al.*, 1988) sowie aus Frankreich (WDV-F: BENDAHMANE *et al.*, 1995). Beide Isolate stimmten in ihrer Genomgröße von 2750 bp überein. KOCH (1990) analysierte einen Stamm (WDV-ER, 2734 bp), der in Tschechien von infizierter Wintergerste isoliert wurde. Ein ungarisches Gerstenisolat (WDV-Bar[Hu]) stand KVARNHEDEN *et al.* (2002) für eine Sequenzanalyse zur Verfügung. Diese Autoren verglichen die bereits veröffentlichten Sequenzen mit denen eines neuen schwedischen Weizenisolates (WDV-[Enk1], 2750 bp). Die Weizenisolate wiesen untereinander Sequenzhomologien von 98,3 % bis 98,9 % auf (WOOLSTON *et al.*, 1988; BENDAHMANE *et al.*, 1995; KVARNHEDEN *et al.* 2002). Der Austausch von Basen in den kodierenden Regionen führte nicht zu Substitutionen in der Aminosäuresequenz. Somit wirkten sie sich nicht auf die potentiellen Genprodukte aus (KVARNHEDEN *et al.*, 2002). Zwischen dem WDV-S und dem gerstenadaptierten WDV-ER bestand eine Homologie von 83 % (KOCH, 1990). KVARNHEDEN *et al.* (2002) bestätigten eine Diversität von 16 % für das ungarische Gersten- und die bereits

bekanntes Weizenisolate. Bei einer Gegenüberstellung der Sequenzen der beiden Gerstenisolate WDV-Bar[Hu] und WDV-ER wurde nur ein Teilstück des Genoms verglichen. Die Heterologie betrug 2,0 %. Das deutet darauf hin, dass die Variabilität innerhalb der Gerstenisolate ebenso hoch ist wie die zwischen den Weizenisolaten.

LAZAROWITZ (1988) und WILLMENT *et al.* (2002) stellten ähnliche Verhältnisse für das MSV (*Maize streak virus*, *Mastrevirus*) fest. Während zwischen Isolaten mit gleichem Wirtskreis eine Homologie von 97,6 bis 97,7 % bestand, betrug diese für Isolate mit unterschiedlichen Wirtskreisen 79,0 bis 89,0 %.

Das WDV kann nur mit Hilfe der Zwergzikade *P. alienus* Pflanzen infizieren (VACKE, 1961). Dabei liegt eine zirkulative, nicht propagative Übertragungsweise vor. Kurze Akquisition- und Abgabesaugzeiten von wenigen Minuten sowie eine Persistenz im Vektor über einen Zeitraum von mehreren Tagen bis Wochen sprechen dafür, dass es sich um ein semipersistentes Virus handelt. Nach VACKE (1962) gelten alle Entwicklungsstadien von *P. alienus* als Überträger des WDV. Der Autor führte die ersten Versuche zur Übertragung des Virus durch. Er konnte eine Persistenz des Virus im Vektor von einem bis zu 80 Tagen nachweisen. Als Wirtspflanze diente Winterweizen. Bisher war nicht bekannt, ob diese Beobachtungen auch für den Gerstenstamm zutreffen. Aufgrund dessen erfolgten die eigenen Übertragungsversuche mit einem Isolat von Wintergerste.

P. alienus ist eine holarktische Art und gewöhnlich in Getreide- und Grasflächen anzutreffen (SCHIEMENZ *et al.*, 1996). Sie bevorzugt neben xero- auch meso- und hygrophile Biotop (GUGLIELMINO und VIRLA, 1997). Nach SCHIEMENZ *et al.* (1996) bildet *P. alienus* in Nordeuropa zwei Generationen pro Jahr aus. In Südeuropa wurden bis zu drei Generationen beobachtet (GUGLIELMINO und VIRLA, 1997). *P. alienus* wird in der Literatur ebenfalls als Vektor des *Winter wheat Russian mosaic virus* (*Nucleorhabdovirus*) aufgeführt (BRUNT *et al.*, 1996). Daneben detektierte LUNDSGAARD (1997) unter Verwendung der Elektronenmikroskopie filovirusähnliche Partikel in *P. alienus*. Aktuelle Untersuchungen von BOCK *et al.* (2004) bestätigten das Vorkommen eines neuen Virus (*Taastrup virus*) in der Zikade.

Nach GUGLIELMINO und VIRLA (1997) durchlaufen die flügellosen Larven von *P. alienus* bis zum Schlupf der adulten Tiere fünf Entwicklungsstadien (L1 bis L5) (Abb. 4). Die Larvalentwicklung dauert an Wintergerste bei 20 °C ca. 31 Tage, Schwankungen treten in Abhängigkeit von der Temperatur, der Wirtspflanzenart oder Geschlecht der Zikade auf (MANURUNG *et al.*, 2001).



Abb. 4: Entwicklungsstadien von *P. alienus* (a) L1, (b) L2, (c) L3, (d) L4, (e) L5 und (f) Imago

Die Larven bewegen sich in den Beständen ausschließlich springend, wobei die älteren Tiere beweglicher sind als die der ersten beiden Stadien. Die Zikade überwintert in Form von Dormanzeiern (SCHIEMENZ *et al.*, 1996). Die embryonale Entwicklung umfaßt sieben Stadien und beansprucht bei 20 °C eine Dauer von durchschnittlich 18 Tagen (MANURUNG *et al.*, 2001). Im Mitteldeutschen Trockengebiet legen die Weibchen die Eier ab Juni/Juli an Getreide und Gräsern ab. Dabei werden diese über die Legeröhre tief im Mesophyll der Pflanzen platziert. GUGLIELMINO und VIRLA (1997) beobachteten in den ältesten Blättern von Hafer im Drei- bis Vierblattstadium die höchste Anzahl von Eiern. Für die Termination (Aufheben der Dormanz) sind niedrige Temperaturen im Winter notwendig. Je nach Temperaturverlauf schlüpfen die ersten Larven Anfang Mai wobei eine Proterandrie (Männchen schlüpfen früher als die Weibchen) zu beobachten ist (MANURUNG, 2002). Der Autor stellte weiterhin fest, daß die ersten Imagines auftreten, sobald die Temperatursumme aller Tage über 9 °C, gemessen vom 01.01. eines Jahres an, 154 °C erreicht. Die erste Generation der Zikaden beginnt ab Juni/Juli mit der Eiablage. Die Zikaden

der zweiten Generation schlüpfen ca. 20 Tage danach und legen bereits Anfang/Mitte August die ersten Eier ab. Der beginnende Kurztag Mitte/Ende August induziert die Bildung von Dormanzeiern. Ihr Anteil von allen abgelegten Eiern umfaßt Ende August 2 % bis 20 %. Ab Mitte September werden 100 % Dormanzeier abgelegt. Anhand seiner Ergebnisse konnte MANURUNG (2002) belegen, daß bei optimalen Frühjahrsbedingungen (zeitiges Erreichen der Temperatursumme von 154 °C) die Entwicklung der Larven bereits ab Ende April beginnt. Verbunden mit einem warmen und trockenen Sommer sind die Imagines der zweiten Generation dann in der Lage, Eier abzulegen, aus denen noch vor Beginn des Kurztages Larven schlüpfen. So besteht auch im Mitteldeutschen Trockengebiet die Möglichkeit der Ausbildung einer dritten Generation. Das Absterben der Zikaden im Herbst wird durch Frost ausgelöst, wobei ein bis zwei Tage mit Temperaturen von weniger als -5 °C ausreichen.

Hinsichtlich der Beeinflußung der Population von *P. alienus* durch Gegenspieler ist der Kenntnisstand unzureichend. In Freilandversuchen von MANURUNG (2002) konnten nur sehr selten Parasitierungen festgestellt werden. GUGLIELMINO und VIRLA (1997) berichten aus Italien über das Vorkommen von *Gonatopus clavipes* Thunberg und *G. lunatus* Klug (Hymenoptera: *Dryinidae* [Zikadenwespen]) sowie von Vertretern der *Pipunculidae* (Diptera: Augenfliegen) als Parasiten der Larven und Imagines, wobei *G. clavipes* häufiger auftrat. PILLON (1993) fand vorwiegend an der ersten Generation von *P. alienus* (Mai bis Juli) *Gonatopus sepoides* Westwood, deren Larven sich am Abdomen der Zikade festsetzen. *Alloneura nigritula* Zetterstedt (*Pipunculidae*) trat hauptsächlich von Oktober bis November an *P. alienus* auf.

Der Partikelbau der *Geminiviridae* stellt ein besonders charakteristisches Merkmal dieser Viren dar. Sie bestehen aus zwei unvollständigen Ikosaedern mit jeweils elf Untereinheiten (insgesamt 22 pentamere Kapsomere) (BUCK, 1999; ZHANG *et al.*, 2001). Die Morphologie des zweigeteilten Kapsides (Doppelpartikeln) führte zur Namensgebung der Geminiviren (geminus [lateinisch] = Zwilling) (MATZEIT, 1988), welche von GOODMAN (1977) und HARRISSON *et al.* (1977) erstmals als eigenständige Gruppe etabliert wurden. Neben den Nanoviren (Familie *Nanoviridae*) sind sie die einzigen phytopathogenen Vertreter mit einem Genom aus zirkulärer Einzelstrang-DNA (ss-DNA) (DREWS *et al.*, 2004). Aufgrund verschiedener Genomorganisation innerhalb der Geminiviren sowie unterschiedlicher Wirtskreise und Vektoren erfolgte in den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts die Einteilung in die Gattungen *Mastre-*, *Curto-*, *Topocu-*, und *Begomovirus* (RYBICKI, 1994; PADIDAM *et al.*, 1995; VAN REGENMORTEL *et al.*, 2000; FAUQUET und MAYO, 2001).

Die *Mastreviruses* besitzen ein monopartites Genom und werden von Zwergzikaden (*Cicadellidae*) hauptsächlich auf monokotyle Pflanzen übertragen. Eine Ausnahme bilden die zwei *Mastreviruses* *Bean yellow dwarf virus* und *Tobacco yellow dwarf virus*, deren Wirte zu den dikotylen Pflanzen zählen (GUTIERREZ, 1999). Die Gattung *Curtovirus* vereint ebenfalls Viren mit einem monopartiten Genom. Die Übertragung erfolgt durch Zwergzikaden auf dikotyle Pflanzen. Ein einziges Virus ist der Gattung *Topocovirus* zugeordnet. Das monopartite Virus wird durch Buckelzikaden (*Membracidae*) auf dikotyle Pflanzen transmittiert. Die *Begomoviruses* umfassen alle Geminiviren, die durch *Bemisia tabaci* Genn. (*Aleyrodidae*) auf dikotyle Pflanzen übertragen werden. Diese Viren besitzen im Gegensatz zu den anderen Gattungen ein bipartites Genom. Es besteht in der Regel aus einer DNA-A- und DNA-B-Komponente. Einige der *Begomoviruses* weisen letztere jedoch nicht auf (FAUQUET *et al.*, 2000).

Das monopartite Genom der zikadenübertragbaren Geminiviren erreicht eine Größe von 2,5 bis 3,0 kb. Die bipartiten Vertreter bestehen aus zwei ss-DNA Molekülen von jeweils ca. 2,7 kb (BENDAHMANE *et al.*, 1995).

Das WDV wird der Gattung *Mastrevirus* zugeordnet (LINDSTEN *et al.*, 1980). Nach FAUQUET *et al.* (2000) zählen derzeit 15 Arten zu dieser Gattung. Die WDV-Partikeln sind 30 nm lang, der Durchmesser beträgt 18 nm (BRUNT *et al.*, 1996). In infizierten Pflanzen können mittels Elektronenmikroskopie veränderte Zellkerne sowohl in den Phloem- als auch in den Parenchymzellen der Wurzeln und Blättern detektiert werden (TOMENIUS und OXELFELT, 1981). Die Viruspartikeln, die sich in den modifizierten Zellkernen anreichern, füllen gruppen- oder reihenförmig angeordnet fast das gesamte Nukleoplasma aus, was ebenso für weitere Vertreter der Gattung zutrifft (PINNER *et al.*, 1993). Pflanzen mit bereits vertrockneten Blättern weisen in den Knotenbereichen von Halmen relativ hohe Partikelkonzentrationen auf (HUTH und LESEMANN, 1994).

Das zirkuläre Genom des WDV besteht aus einem viralen-(+)- und einem komplementären(-)-Strang. Beide Stränge werden von einer großen (LIR) und einer kleinen (SIR) intergenischen, nicht kodierenden Region getrennt. Auf dem viralen-(+)-Strang befinden sich zwei offene Leseraster (ORF's). Ein ORF (V1) ist für das Transportprotein (10,1 kDa) kodiert, der andere ORF (V2) für das Hüllprotein (29,4 kDa). Die Proteine, die auf dem komplementären(-)-Strang kodieren (C1: RepA [17,3 kDa] und C2 [30,2 kDa]) sind bei der Replikation involviert. Darüber hinaus besitzen sie eine Regulationsfunktion in der Transkription und bei zellulären Prozessen (GUTIERREZ, 2000a; b; 2004). In verschiedenen Weizenisolaten wurde ferner ein fünfter ORF (14,6 kDa) auf dem komplementären(-)-

Strang detektiert, dessen Funktion bisher nicht bekannt ist. Die Autoren gehen jedoch davon aus, dass diese Region für kein potentiell Gen kodiert (MACDOWELL *et al.*, 1985; WOOLSTON *et al.*, 1988; BENDAHDANE *et al.*, 1995; KVARNHEDEN *et al.*, 2002). Bemerkenswert erscheint, daß in gerstenadaptierten Isolaten des WDV kein derartiger zusätzlicher ORF gefunden wurde (KOCH, 1990; SCHUBERT *et al.*, 2002).

Charakteristisch ist das Vorhandensein eines Introns (nicht kodierende Region, die jedoch auf der Vorläufer-mRNA transkribiert ist) auf dem komplementären (-)-Strang (SCHALK *et al.*, 1989). Durch Spleißen (Herausschneiden von Nukleotiden aus der mRNA) des Introns besteht für das WDV die Möglichkeit, das C1:C2 Fusionsprotein (Rep-Protein) zu bilden (BOSQUE-PEREZ, 2000). Die intergenischen Regionen besitzen Signale, die für die zwei Phasen der Replikation notwendig sind. In der ersten Phase wird die ss-DNA in ein Doppelstrang-DNA-(ds-DNA)-Intermediat umgewandelt (KAMMANN *et al.*, 1991). Für den Beginn dieser DNA-Synthese ist das WDV (wie auch alle anderen Vertreter der Gattung) auf einen ca. 80 Nukleotide langen Primer angewiesen, der in der SIR angeordnet ist und sich komplementär zu einem Teilstück dieser intergenischen Region verhält (GUTIERREZ, 2000a; b). Innerhalb der LIR besitzen alle Geminiviren eine für sie spezifische Sequenzvariabilität, die in der Lage ist, „Haarschleifenmotive“ zu bilden. Die Sequenz wird durch ein nicht variables, allen Geminiviren zugrunde liegendes Motiv (5' TAATATT ↓ AC 3') separiert. In diesem Bereich befindet sich der Initiationspunkt (↓) für den Beginn der zweiten Phase der Replikation (HEYRAUD *et al.*, 1993; GUTIERREZ, 2004). Sie erfolgt nach dem Prinzip der „rolling-circle-replication“ (PALMER und RYBICKI, 1998; GUTIERREZ, 1999; HANLEY-BOWDOIN *et al.*, 1999). Dabei dient das ds-DNA-Intermediat als Vorlage für die Amplifizierung von viraler ds-DNA und für die Produktion von ss-DNA-Genomen. Die Transkription der DNA erfolgt bidirektional mit Hilfe von wirtseigener RNA-Polymerase. Sie beginnt in der LIR und verläuft jeweils über den (-)- bzw. (+)-Strang hin zur SIR (BOSQUE-PEREZ, 2000).

Die Zellkernlokalisierung der Replikation der Geminiviren erfordert verschiedene Fortbewegungsfunktionen. Einerseits wird der Eintritt viraler DNA in den Zellkern durch das Hüllprotein (V2) unterstützt, welches mit hoher Wahrscheinlichkeit mit wirtseigenen Transportrezeptoren interagiert. Andererseits breitet sich das Virus im Wirt über die Plasmodesmen aus. Zuvor erfolgt der Transport des V2-DNA-Komplexes des WDV aus dem Nukleus hin zur Zellmembran unter Verwendung des Transportproteins (V1), das sich gleichfalls mit wirtseigenen Rezeptoren verbindet. Zur Zeit besteht noch Unklarheit darüber, ob diese Interaktion bereits im Zellkern oder erst außerhalb desselben stattfindet

(GAFNI und EPEL, 2002). Den Durchtritt der Virus-DNA durch die Plasmodesmen in die benachbarte Pflanzenzelle ermöglicht wiederum das Hüllprotein (DREWS *et al.*, 2004).

Alle bisher in der Literatur beschriebenen Arbeiten zum WDV wurden hauptsächlich mit dem Weizenstamm des Virus durchgeführt. Bei Aufnahme der Untersuchungen zu vorliegender Dissertationsschrift fehlten vergleichbare Ergebnisse zum Gerstenstamm des WDV. Aufgrund dessen erfolgten die Experimente ausschließlich mit letztgenanntem Stamm.

3 Material und Methoden

3.1 Herstellung eines Antiserums vom WDV

3.1.1 Ausgangsmaterial

Vor Beginn der Untersuchungen zur Ökologie des WDV wurde ein Antiserum von diesem Virus hergestellt, um eine sichere serologische Diagnose zu gewährleisten (MEHNER, 1998).

Ausgangsmaterial für die Virusreinigung bildete Ausfallwintergerste, die in der Zeit vom 08.05. bis 10.05.1995 in Westdorf bei Aschersleben gesammelt wurde. Weiterhin fand Material aus Badeborn Verwendung, das Dr. A. Habekuß freundlicherweise zur Verfügung stellte¹. Es handelte sich stets um symptomtragende Pflanzen. In vorangegangenen Untersuchungen wurde auf den entsprechenden Feldern ausschließlich WDV als Ursache für die Vergilbungserscheinungen festgestellt. Allerdings ließ sich das Vorkommen einzelner mit BYDVs infizierter Pflanzen nicht völlig ausschließen.

Die entnommenen Pflanzenproben wurden von bereits nekrotisiertem Gewebe befreit, in ca. 3 bis 5 cm lange Stücke geschnitten und bis zur Weiterverarbeitung bei -18°C in Aliquots von jeweils 100 g tiefgefroren bzw. frisch verarbeitet.

3.1.2 Reinigungsmethode

Hochgereinigte Viruspartikeln bilden die Voraussetzung zur Herstellung spezifischer Antikörper, welche eine sichere Detektion auf serologischem oder auf elektronenmikroskopischem Weg ermöglichen.

Die Reinigung des WDV erfolgte in Anlehnung an LINDSTEN *et al.* (1980). Diese Methode war ursprünglich von BROCK *et al.* (1974) für das *Maize streak virus* (MSV), welches ebenfalls zur Gattung der Mastreviren gehört, entwickelt worden. Für die Serumherstellung wurden insgesamt fünf Aufarbeitungen durchgeführt (Tab.1).

¹ Einen herzlichen Dank an Dr. A. Habekuß (Institut für Epidemiologie und Resistenz, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Aschersleben) für die Bereitstellung eines Teiles des Pflanzenmaterials für die Herstellung des Antiserums.

Im nachfolgenden Schema sind die einzelnen Schritte der Reinigungsprozedur wiedergegeben.

Schema der partiellen Reinigung des WDV

Blattmaterial (gefroren bzw. frisch, Kap. 3.1.1) mit vier Volumina (w/v) Extraktionspuffer (0,01 M Phosphatpuffer pH 7,0 [siehe Anhang] mit 0,01 M EDTA versetzt und mittels tropfenweiser Zugabe von 0,1%iger TGA [Thioglykolacid] auf pH 4,0 eingestellt) homogenisieren und durch Gaze filtern, 30 min bei Raumtemperatur auf dem Magnetrührer inkubieren, anschließend 20 min bei 10 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F6-38) zentrifugieren, den Überstand durch handelsübliche Watte filtern, das Sediment verwerfen

↓

120 min bei 4 °C und 35 000 rpm (Centrikon T-1180, Rotor T 647.5) zentrifugieren, den Überstand verwerfen

↓

Sediment mit jeweils 10 ml 0,01 M Phosphatpuffer pH 7,0 überschichten, über Nacht im Kühlschrank aufbewahren und anschließend mittels Glasstab aufrühren

↓

20 min bei 8 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F6-38) zentrifugieren, Überstand durch handelsübliche Watte filtern, Sediment verwerfen

↓

120 min bei 4 °C und 35 000 rpm (Centrikon T-1180, Rotor T 647.5) zentrifugieren, Überstand verwerfen, Sediment mit 2 bis 2,5 ml 0,01 M Phosphatpuffer pH 7,0 aufnehmen

↓

20 min bei 8 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F6-38) zentrifugieren, Überstand durch handelsübliche Watte filtern, Sediment verwerfen

Die partiell gereinigten Viruspräparate wurden vor der Immunisierung des Kaninchens auf eine mögliche Verunreinigung mit Normalproteinen mit Hilfe eines Präzipitintropfenfestes (MÜHLE und WETZEL, 1990) überprüft. Dazu kamen Verdünnungsreihen der Antigene mit physiologischer Kochsalzlösung in den Stufen 1:2 bis 1:1.024 (v/v) zum Einsatz. Die Absorption noch vorhandener Normalproteine erfolgte mit einem Antiserum „*Zea mays*-gesund“ (Tier Nr. 83/Entnahme 11.11.1982) bei Zimmertemperatur für ca. 20 bis 25 min und anschließender niedrigtouriger Zentrifugation. Eine Behandlung mit letztgenanntem

Serum wurde auch dann sicherheitshalber vorgenommen, wenn laut Präzipitintropfentest keine Normalproteine vorlagen.

Tab. 1: Zusammenstellung des für die Reinigung des WDV im Jahr 1995 verwendeten Ausgangsmaterials

Termin der Reinigung	Menge (g)/Materialherkunft
18.05.	150,0/Westdorf (frisch)
06.06.	200,0/Westdorf (gefroren) 37,6/Westdorf (frisch)
13.06.	150,0/Badeborn (gefroren)
20.06.	200,0/Westdorf (gefroren)
26.06.	200,0/Westdorf (gefroren)

3.1.3 Immunisierung und Serumgewinnung

Zur Antikörperproduktion diente ein weibliches Kaninchen (Nr. 291) (*Oryctolagus cuniculus* [L.] f. *domestica*). Um die Immunogenität des Antigenes im Versuchstier zu steigern, wurden die gereinigten Präparate zu gleichen Teilen mit Freund'schem Adjuvant emulgiert. Zur ersten Immunisierung kam Freund'sches Adjuvant complete, zu allen nachfolgenden Freund'sches Adjuvant incomplete zur Anwendung. Die Injektionen wurden jeweils intramuskulär in die Oberschenkelmuskulatur verabreicht. Dadurch konnte ein verzögertes Resorbieren des virushaltigen Materials gewährleistet werden, was eine langanhaltende Antikörperproduktion zur Folge hatte. Insgesamt erfolgten neun Injektionen (Tab. 2), wobei jeweils zwischen 0,50 ml bis 2,57 ml der gereinigten Präparate zum Einsatz kamen.

Nach der sechsten Injektion wurden durch Punktion an der marginalen Ohrvene 20 ml Blut entnommen. In wöchentlichen Abständen folgten sechs weitere Blutentnahmen von jeweils 40 ml. Das Blut wurde in einem Glasröhrchen bei Raumtemperatur zur Gerinnung gebracht und anschließend zur Auskühlung über Nacht im Kühlschrank (4 °C) aufbewahrt.

Durch zweimaliges Zentrifugieren für 20 min bei 6 000 rpm (Eppendorf 5403, swing-out-Rotor 16A4-44) bzw. bei 11 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F6-38) konnten Blutkoagulat und Serum voneinander getrennt werden. Das abgefilterte Serum wurde

danach zwecks Konservierung im Verhältnis 1:10 (v/v) mit einer 0,2%igen (w/v) Natriumazidlösung (NaN_3) versetzt und bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ in verschlossenen Glasröhrchen gelagert.

Tab. 2: Immunisierung des Tieres Nr. 291 mit gereinigten Präparaten des WDV im Jahr 1995

Termin der Immunisierung	Menge des verabreichten gereinigten Präparates (ml)	Verdünnungsendpunkt	
		Virus	Normalproteine
30.05.	2,57	- ¹⁾	0
07.06.	2,00	-	0
09.06.	1,50	-	0
16.06.	1,90	-	0
19.06.	2,00	-	0
21.06.	2,00	-	0
23.06.	0,50	-	0
28.06.	2,00	1 ²⁾	0
30.06.	1,50	1	0

¹⁾ nicht geprüft, da kein Antiserum verfügbar

²⁾ reziproker Wert des maximalen Verdünnungsendpunktes

Zur Bestimmung des Antikörpertiters fand der Präzipitintropfentest Verwendung. Dazu wurde eine Verdünnungsreihe vom Antiserum mit physiologischer Kochsalzlösung (v/v) hergestellt und mit gereinigtem Antigen (WDV) sowie mit einem Extrakt einer gesunden Pflanze (*Z. mays*) geprüft. Auf diese Weise war es möglich, den Verdünnungsendpunkt (= Antikörpertiter) zu ermitteln.

3.1.4 Fraktionierung und Enzymkopplung

Zum Virusnachweis mittels DAS-ELISA werden die Immunglobulinfraktion G (IgG) sowie enzymkonjugierte Antikörper (Konjugat) benötigt (Kap. 3.2.1). Die Konjugation erfolgte nach CLARK und ADAMS (1977) mit alkalischer Phosphatase. In den nachfolgenden Schemata sind die Abtrennung der IgG aus dem Antiserum sowie die Enzymkopplung wiedergegeben (Angaben zu den verwendeten Reagenzien und Puffern siehe Anhang).

Schema der IgG-Fraktionierung

Fällung der Proteine mit gesättigter NH_4SO_4 -Lösung (Antiserum und a. bidest. im Verhältnis 1:1 [v/v], tropfenweise NH_4SO_4 zugeben), 60 min bei Raumtemperatur inkubieren, 15 min bei 2 500 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F6-38) zentrifugieren, Sediment in 1,5 ml PBS/2 (PBS-Puffer halbe Konzentration, siehe Anhang) aufnehmen,

Überstand verwerfen

↓

Dialyse gegen PBS/2 bei 4 °C für mindestens 18 h

↓

Für die Chromatographie 2,5 g DEAE-Cellulose in 100 ml PBS/2 aufschlemmen und absetzen lassen, Puffer vorsichtig abgießen und erneut PBS/2 zugeben, absetzen lassen, solange dekantieren bis der Überstand klar erscheint, in 10 ml Säule füllen, Säule mit 30 ml PBS/2 waschen, anschließend Dialysat vorsichtig auftragen, in Cellulose eindringen lassen und Puffer nachfüllen, auffangen von 30 Fraktionen mit je 1 ml

↓

Konzentration der IgG photometrisch bei einer Wellenlänge von 280 nm bestimmen, alle Fraktionen mit $\text{OD}_{280, 1 \text{ cm}} > 0,2$ vereinigen,

Konzentration mit PBS/2 auf $\text{OD}_{280, 1 \text{ cm}} = 1,4$ (entspricht 1 mg Protein/ml) einstellen

↓

Aliquotieren und bei - 20 °C lagern

Schema der Enzymkopplung von IgG

0,6 ml IgG (1 mg/ml) mit 0,09 ml Alkalischer Phosphatase und 36 μl 1%iger Glutaraldehydlösung versetzen, 4 h bei Raumtemperatur inkubieren

↓

Dialyse gegen PBS/2 bei 4 °C für mindestens 20 h, dabei zweimaliger Wechsel von PBS/2

↓

Zugabe von Humanserumalbumin (5 mg/ml) sowie 0,02 % NaN_3 zum Konjugat

3.1.5 Charakterisierung des Antiserums

Bei der Prüfung des hergestellten Konjugates zum Nachweis des WDV mittels DAS-ELISA (siehe Kap. 3.2.1) wurden zum Vergleich Testreagentien der Fa. Sanovi herangezogen. Als positive Kontrollen dienten mit dem WDV infizierte Wintergerste vom Standort Westdorf sowie infizierter Hafer aus Aschersleben und als negative Kontrollen Mais. Das Homogenisieren aller Pflanzen erfolgte mit Probenpuffer (siehe Kap. 3.2.1) jeweils in den Verhältnissen 1:10, 1:20, 1:40, 1:50, 1:80 und 1:100 (w/v). Für die Durchführung des DAS-ELISA wurden die IgG und das Konjugat jeweils 1:1 000 bzw. 1: 2 000 (v/v) verdünnt. Die Fa. Sanovi empfahl für den Einsatz ihres Testsets eine Standardvariante des DAS-ELISA (CLARK und ADAMS, 1977). Das WDV-Serum 291 wurde außerdem mit einer Simultanvariante eines DAS-ELISA geprüft (siehe Kap.3.2.1). Dabei kam neben den bereits erwähnten positiven und negativen Kontrollen mit den BYDVs infizierte Wintergerste zum Einsatz.

Da zur Herstellung des Antiserums symptomtragende Pflanzen aus dem Freiland herangezogen wurden, war eine mögliche Bildung von Antikörpern der BYDVs nicht auszuschließen. Wie dem Kapitel 4.1 zu entnehmen ist, erfolgte eine Absorption mit BYDVs, um die entsprechenden Antikörper abzutrennen. Dazu wurde ein Volumen WDV-Antiserum mit drei Volumina niedrigtourig zentrifugiertem Homogenat BYDVs-haltiger Maisblätter versetzt (Herstellung des Homogenates wie im Kap. 3.1.2 beschrieben) und über Nacht bei 4 °C inkubiert. Anschließend folgte eine 10minütige Zentrifugation bei 10 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F6-38). Der Überstand wurde 90 min bei 30 000 rpm (Centrikon T-1180, Rotor T 647.5) zentrifugiert, um die absorbierten Antikörper gegen Normalproteine bzw. BYDVs vollständig zu entfernen. Die Lagerung des abgesättigten Antiserums erfolgte bei - 20 °C.

3.2 Methoden zum Nachweis des WDV

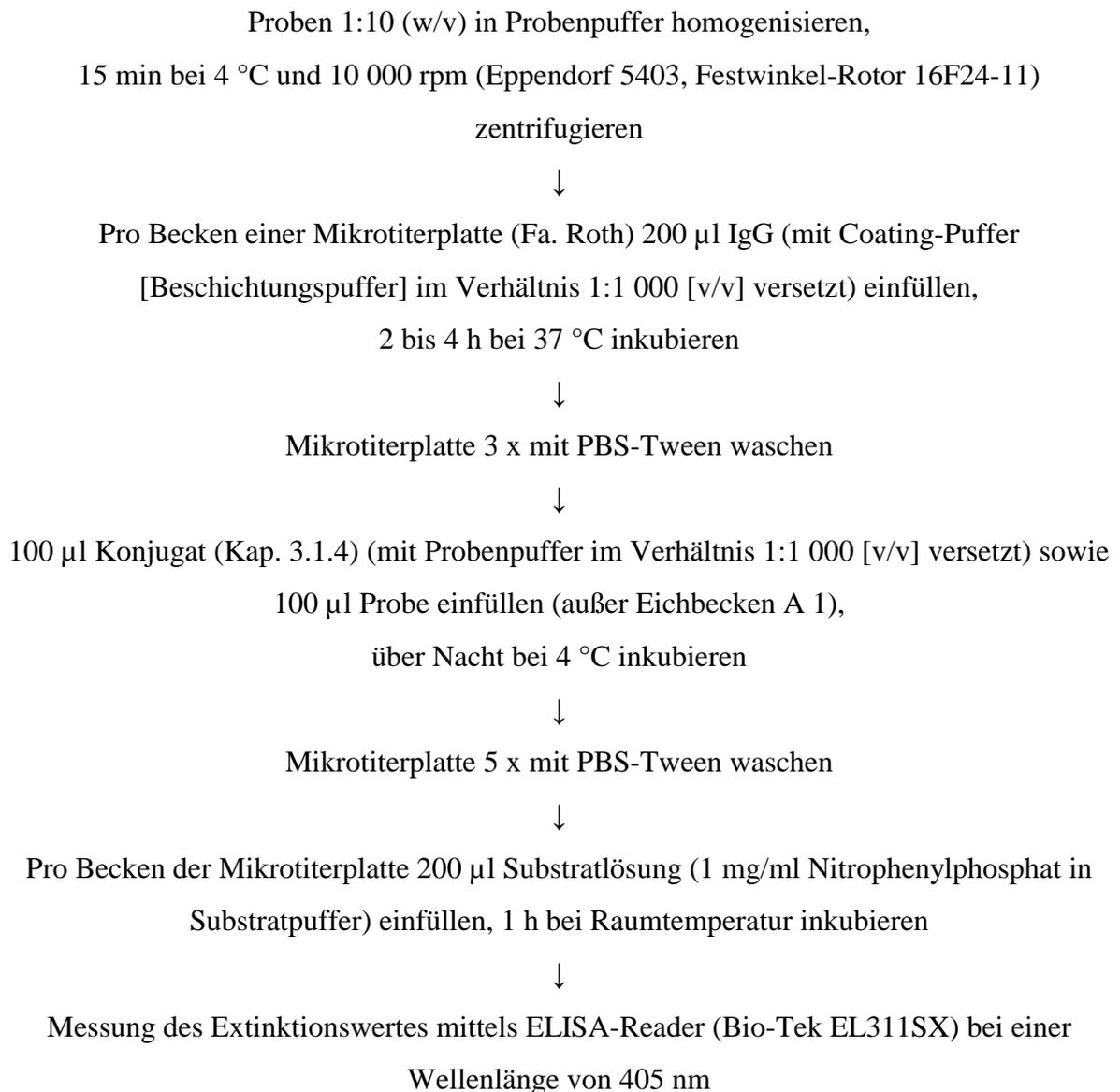
3.2.1 Nachweis mittels double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA)

Eine derzeit häufig verwendete Nachweismethode von Pathogenen in der Phytopathologie bzw. von Antikörpern in der Human- und Veterinärmedizin stellt der enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) dar. Dieser Test zeichnet sich durch eine hohe Nachweispfeindlichkeit und -sicherheit aus. Für die Diagnose von Pflanzenviren entwickelten

CLARK und ADAMS (1977) einen direkten double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA). In vorliegender Arbeit wurde eine weniger zeitintensive Simultanvariante des DAS-ELISA eingesetzt, die auf FLEGG und CLARK (1979) zurückgeht.

Bei genannter Variante werden Konjugat und Antigene (Probe) unmittelbar nacheinander in Mikrotiterplatten eingefüllt und gleichzeitig inkubiert. Die Vorteile dieser Methode liegen einerseits in der Einsparung enzymmarkierter Antikörper und andererseits in der Verringerung des Zeitaufwandes. Im folgenden sind die einzelnen Arbeitsschritte des Testes aufgeführt (verwendete Reagenzien und Puffer, siehe Anhang).

Schema des DAS-ELISA



3.2.2 Nachweis mittels polymerase chain reaction (PCR)

Die Polymerase Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) beruht auf einer Vervielfältigung von DNA-Abschnitten. Auf diese Weise ist es möglich, sehr geringe Konzentrationen als Signale zu verstärken und zu detektieren. In Verbindung mit den Arbeiten zum WDV gelang eine Differenzierung der beiden Virusstämme des WDV sowohl in infizierten Pflanzen als auch im Vektor. Dabei fand die von SAIKI *et al.* (1985) entwickelte Methode Berücksichtigung. Polyklonale Antikörper sind für eine Unterscheidung zwischen den Stämmen des Virus ungeeignet. Monoklonale Antikörper des WDV stehen derzeit nicht zur Verfügung. Insofern war die Etablierung der PCR unbedingt erforderlich.

3.2.2.1 Extraktion viraler DNA aus Pflanzen

Die Extraktion von DNA aus infizierten Pflanzen wurde nach folgendem Schema in Anlehnung an PALMER *et al.* (1998) durchgeführt (verwendete Reagenzien und Puffer, siehe Anhang).

Schema der Extraktion von DNA aus Pflanzen

Ca. 0,5 g infiziertes Pflanzenmaterial (frisch oder gefroren) mit flüssigem Stickstoff in einem sterilen Mörser homogenisieren, 1 - 1,5 ml Extraktionspuffer hinzufügen und in ein

Reaktionsgefäß (2,0 ml, Fa. Eppendorf) überführen

↓

7 min bei 14 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F24-11) zentrifugieren

↓

Überstand abnehmen, mit 500 µl Phenol/Chloroform (Phenol:Chloroform:Isoamylalkohol 25:24:1) versetzen, 30 min schütteln (AVO-AVV, Fa. UniEquip)

↓

5 min bei 13 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F24-11) zentrifugieren

↓

Obere Phase in ein neues Reaktionsgefäß überführen, 500 µl Chloroform dazu geben, kurz schütteln und nochmals für 5 min bei 13 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor

16F24-11) zentrifugieren

↓

Dem Überstand zum Fällen der DNA 1/10 Volumen 3 M NaAc (pH 4,8) und 2 Volumina Ethanol (100%ig) zugeben, für ca. 30 - 60 min bei Zimmertemperatur inkubieren

↓

10 min bei 13 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F24-11) zentrifugieren

↓

Überstand verwerfen und Pellet zweimal mit jeweils 1 000 µl Ethanol (70%ig) waschen

↓

10 min bei 13 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F24-11) zentrifugieren

↓

Pellet trocknen und in 100 µl TE-Puffer pH 8,0 aufnehmen

3.2.2.2 Extraktion viraler DNA aus *P. alienus*

Um das WDV in *P. alienus* nachzuweisen, mußte die DNA der Zikade extrahiert werden. Damit wurde gleichzeitig die Virus-DNA isoliert. In Anlehnung an Prof. H. Jeske (mündl. Mitteilung 1999)¹ umfaßte die Durchführung der Extraktion der DNA folgende Arbeitsschritte (verwendete Reagenzien und Puffer, siehe Anhang).

Schema der Extraktion von DNA aus Zikaden

Eine Zikade in ein Reaktionsgefäß (1,5 ml, Fa. Eppendorf) überführen, Zugabe von 140 µl Tris-CaCl₂-Puffer, 10 µl SDS-Lösung (10 %) und 20 µl (0,7 U/Probe) Proteinase K, homogenisieren der Zikade im Reaktionsgefäß mit einem Pistill (Fa. Eppendorf)

↓

Inkubation der Proben für 2 Stunden bei einer für die Proteinase K optimalen Temperatur von 65 °C

↓

Zugabe von 200 µl Phenol/Chloroform (Phenol:Chloroform:Isoamylalkohol 25:24:1), 2 min bei 13 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F24-11) zentrifugieren

↓

Überstand abnehmen und mit 1/10 Volumen 3 M NaAc (pH 4,8) und 2 Volumina Ethanol (100%ig) fällen, dabei Proben bei Raumtemperatur ca. 2 Stunden inkubieren

↓

¹ Herrn Prof. H. Jeske und seinen Mitarbeitern (Institut für Biologie, Universität Stuttgart) sei an dieser Stelle für die Einarbeitung in die Durchführung der PCR für den Nachweis des WDV gedankt.

10 min bei 14 000 rpm (Eppendorf 5403, Festwinkel-Rotor 16F24-11) zentrifugieren,

Überstand verwerfen

↓

Pellet trocknen und anschließend in 20 µl TE-Puffer (pH 8,0) aufnehmen

3.2.2.3 Durchführung der PCR

Die Sequenzen der Primer (synthetisiert durch die Fa. Interactiva, Tab. 3) zur Stammdifferenzierung des WDV waren durch Vorarbeiten von COMMANDEUR und HUTH (1999) bekannt. Durch eine Kombination der Primer P1/P3 zum Nachweis des Gerstenstammes bzw. P1/P4 zur Ermittlung des Weizenstammes wurde jeweils ein ca. 780 bp großes Fragment amplifiziert. Nach einigen Modifizierungen (Veränderung der MgCl₂-Konzentration sowie der Annealingtemperatur) gelang es, ein reproduzierbares Verfahren zu etablieren.

Die Prüfung der einzelnen Proben erfolgte mindestens zweimal. Dabei kamen unterschiedliche Mengen in Puffer aufgenommener DNA zum Einsatz. Von pflanzlichen Proben (DNA gelöst in 100 µl TE-Puffer pH 8,0) wurde in der PCR 1 µl verwendet. Neben der Nutzung dieser Lösung erfolgte zuvor das Verdünnen der DNA mit a. bidest. 1:100 bzw. 1:1 000 (v/v). Von der aus Zikaden isolierten DNA wurden 1 bzw. 2 µl (in jeweils 20 µl TE-Puffer pH 8,0 gelöst) herangezogen. Auf die photometrische Bestimmung der Konzentration der DNA bei 260 nm in jeder Probe wurde größtenteils verzichtet, da der gemessene Wert nicht dem Gehalt an viraler DNA entsprach. Vermutlich isoliert man neben dieser auch pflanzliche bzw. tierische DNA.

Tab. 3: Verwendete Primer (P) zur Differenzierung zwischen Gersten- (bs) bzw. Weizenstamm (ws)

Bezeichnung	Sequenz
P 1 forward	5' - GACCGAGGAAATTGGTTACGG - 3' bp
P 3 reverse (bs)	5' - CACATACAACCTTCGAAGTAAA - 3' bp
P 4 reverse (ws)	5' - CACATACAACATCAAACGCCG - 3' bp

Die PCR sowie die im Anschluß durchgeführte elektrophoretische Auswertung untergliederte sich nach den in den folgenden Schemata wiedergegebenen Arbeitsschritten.

Schema der PCR

1 bzw. 2 μl der jeweiligen Probe in ein Reaktionsgefäß (Fa. Eppendorf, 0,5 ml) pipettieren
(Endvolumen 50 μl /Probe),

Zugabe von einem zuvor angefertigten PCR-Mix (siehe Anhang),
als Verdunstungsschutz erfolgt die Überschichtung der Mischung mit 1-2 Tropfen
Paraffinöl

↓

Reaktionsgefäß in einen Thermocycler (Crocodile II, Fa. Appligene) überführen,
Durchführung der PCR nach folgendem Temperaturregime:

32 x: 95 °C/ 5 min 60 °C/2 min 75 °C/1 min, 30 sek

1 x: 75 °C/10 min

↓

Proben bei 4 °C kühlen

Schema der elektrophoretischen Auswertung (verwendete Puffer, siehe Anhang)

Herstellung eines 1,8%igen Agarose-Gels (Agarose NEEO, Fa. Roth; w/v in 1 x TAE-
Puffer mit Zugabe von 5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ Ethidiumbromidlösung [0,1%ig] w/v)

↓

Auftragen des PCR-Produktes bzw. eines Markers (DNA molecular weight marker XIV,
Fa. Roche) nach Zugaben von 1/6 Volumen Loading-Puffer

↓

Elektrophorese bei 70 V für 1 Stunde mit 1 x TAE als Laufpuffer

↓

Auswertung der aufgetrennten DNA-Fragmente im UV-Licht (Transilluminator, 365 nm,
Fa. Appligene), Dokumentation mittels Polaroid DS 34

3.3 Untersuchungen zum Vorkommen des WDV

3.3.1 Ausfallgetreide

Seit 1995 wurden Untersuchungen zum Vorkommen des WDV im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt durchgeführt. Um zu Beginn der jährlichen Erhebungen Standorte

zu ermitteln, an denen das WDV verstärkt auftrat, erfolgte im Sommer und Herbst die Beprobung einer unterschiedlichen Anzahl von Schlägen mit Ausfallgetreide (Tab. 4). Diese Untersuchungen sollten weiterhin Hinweise zum Infektionspotential für die Neuansaaten liefern.

Tab. 4: Zusammenstellung der in den Jahren 1995 bis 2001 geprüften Schläge mit Ausfallgetreide

Jahr	Fruchtart	Anzahl der geprüften Schläge	Anzahl der geprüften Einzelpflanzen
1995	Wintergerste	38	1 555
	Winterweizen	2	58
1996	Wintergerste	13	857
	Winterweizen	2	70
1997	Wintergerste	14	1 032
1998	Wintergerste	19	1 139
1999	Wintergerste	16	952
	Sommergerste	4	214
	Winterweizen	1	50
	Winterroggen	1	16
2000	Wintergerste	20	1 000
	Winterweizen	7	350
	Triticale	1	50
	Hafer	1	50
2001	Wintergerste	13	650
	Sommergerste	2	100
	Winterweizen	5	244

Im Durchschnitt wurden pro Schlag 50 symptomtragende Einzelpflanzen entnommen. Da sich in den meisten Jahren zum Zeitpunkt der Beprobung im Ausfallwinterweizen sowie in -winterroggen und -triticale noch keine Symptome zeigten, dienten an diesen Standorten jeweils 50 Einzelpflanzen ohne besondere Auffälligkeiten als Testmaterial. Anschließend erfolgte die Prüfung aller Proben mittels DAS-ELISA auf einen Befall durch WDV und/oder BYDVs. Die zusätzliche Testung auf eine Infektion mit den BYDVs war einerseits unerlässlich, da anhand der Symptome im Bestand keine Unterscheidung dieser Viren möglich ist. Andererseits war von Interesse, ob bzw. welches Wechselverhältnis zwischen WDV und den BYDVs besteht.

Die serologische Testung erfolgte entweder unmittelbar nach der Entnahme der Proben oder zu einem späteren Zeitpunkt. Dazu wurden die Pflanzen bei -20 °C gelagert. Für die Testung aller Proben mittels DAS-ELISA kam ausschließlich das nach Kap. 3.1 hergestellte Antiserum zur Anwendung. Die Antikörper zum Nachweis der BYDVs stellte gleichfalls das Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Arbeitsgruppe Virologie, der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg zur Verfügung. Diese Antikörper (Kaninchen Nr. 301) waren in der Lage, BYDV-PAV und BYDV-MAV zu erkennen. Beide Viren werden deshalb im folgenden als BYDVs zusammengefaßt.

3.3.2 Wintergetreide

Nach den Ergebnissen der jährlichen Untersuchungen von Ausfallgetreide wurde die Auswahl der zu überprüfenden Wintergetreideflächen vorgenommen. Bevorzugt kamen Standorte zur Untersuchung, die einem hohen Infektionsdruck mit WDV ausgesetzt waren. In Tabelle 5 sind die Anzahl der untersuchten Bestände pro Vegetationsperiode, die geprüften Getreidearten sowie die jeweiligen Prüftermine aufgelistet. In den meisten Jahren wurden im Verlauf der Vegetationsperiode drei Erhebungen durchgeführt.

Tab. 5: Anzahl der in den Jahren 1995 bis 2002 geprüften Bestände von Wintergetreide

Vegetationsperiode	Fruchtart	Anzahl der geprüften Bestände		
		Herbst	Frühjahr	Frühsommer
1995/1996	Wintergerste	10	10	nicht getestet
1996/1997	Wintergerste	4	nicht getestet	nicht getestet
1997/1998	Wintergerste	8	nicht getestet	nicht getestet
1998/1999	Wintergerste	10	10	8
	Winterweizen	2	nicht getestet	nicht getestet
1999/2000	Wintergerste	12	12	4
2000/2001	Wintergerste	11	11	11
	Winterweizen	5	5	3*)
	Triticale	4	4	0*)
2001/2002	Wintergerste	6	6	6
	Winterweizen	5	5	5
	Triticale	1	1	1

*) Fehlende Bestände waren zum Untersuchungstermin bereits geerntet.

Die erste Beprobung fand im Herbst (Oktober bis Anfang Dezember) statt, die zweite im Frühjahr (März/April), also noch vor dem Schlupf der ersten Larven von *P. alienus*. Damit gelang es, alle im Spätherbst bis kurz vor Eintreten der Fröste stattgefundenen Infektionen zu erfassen.

Mit der dritten Beprobung der Bestände im Juni sollten die im Frühjahr gesetzten Infektionen festgestellt werden. Die Entnahme der Pflanzen verlief jährlich nach dem gleichen Schema: an vier Seiten des Bestandes (ab 1998 zusätzlich in der Mitte des Feldes) wurden 50, ab 1998 30 fortlaufende Einzelpflanzen entnommen und mittels DAS-ELISA auf Befall mit WDV und BYDVs geprüft.

3.4 Untersuchungen zum Wirtskreis des WDV

3.4.1 Prüfung von Grasarten hinsichtlich ihrer Wirtseignung

3.4.1.1 Auswahl der Grasarten und Versuchsstandorte

Um zu klären, ob neben den in der Literatur beschriebenen Gräsern weitere Wild- und Kulturarten vom WDV befallen werden können, erfolgte eine Prüfung unter Feldbedingungen. In die dreijährigen Versuche (1999 bis 2001) waren die bereits bekannten Wirtsarten sowie weitere Vertreter ihrer Gattungen einbezogen. Darüber hinaus wurden im Mitteldeutschen Trockengebiet häufig vorkommende, vorwiegend ausdauernde Arten ausgewählt (KLAPP und OPITZ VON BOBERFELD, 1990; ENCKE *et al.*, 1994; BENKERT *et al.*, 1996). In Tabelle 6 sind die insgesamt 57 getesteten Spezies aufgelistet.

Zur Prüfung verschiedener Grasarten auf ihre Anfälligkeit für das WDV wurden Ausfall- bzw. Wintergetreideflächen verwendet, die aufgrund vorausgegangener Untersuchungen einen besonders starken Befall mit diesem Virus aufwiesen. Auf diese Weise konnte für die Testpflanzen ein hoher Infektionsdruck garantiert werden. In Tabelle 7 sind die an den Versuchsstandorten ermittelten Befallsraten mit dem WDV bzw. BYDVs aufgeführt. Als Ausgangsmaterial dienten je 50 fortlaufende Einzelpflanzen an fünf Punkten der jeweiligen Flächen.

Tab. 6: Zusammenstellung der in die Wirkkreisuntersuchungen in den Jahren 1999 bis 2001 einbezogenen Wild- und Kulturgräser

Pflanzenart	Lebensdauer	Eingepflanzt in einen WDV-infizierten Bestand von			
		Wintergerste			Winterweizen
		Elsdorf 1999	Zscherben 2000	Spickendorf 2001	Spickendorf 2001
<i>Agrostis gigantea</i> Roth	p		X		
<i>Alopecurus pratensis</i> L.	p		X		
<i>Apera spica-venti</i> (L.) P. Beauv.	sa			X	X
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P. Beauv. ex J. S. et K. B. Presl	p	X			
<i>Avena fatua</i> L.	sa	X		X	X
<i>A. hybrida</i> Peterm.	sa			X	X
<i>A. sterilis</i> L.	sa	X	X	X	X
<i>A. sterilis</i> ssp. <i>ludoviciana</i> Dur.	sa		X		
<i>Brachypodium pinnatum</i> (L.) P. Beauv.	p		X		
<i>B. arvensis</i> L.	sa/wa	X	X	X	X
<i>B. commutatus</i> Schrad.	sa/wa	X	X		
<i>B. erectus</i> Huds.	p	X	X		
<i>B. hordeaceus</i> L.	sa/wa	X	X	X	X
<i>B. inermis</i> Leyss.	p	X	X	X	X
<i>B. japonicus</i> Thunb. ex Murray	b	X	X		
<i>B. ramosus</i> Huds.	p		X		
<i>B. secalinus</i> L.	sa/wa	X	X	X	X
<i>B. sterilis</i> L.	sa/wa	X	X	X	X
<i>B. tectorum</i> L.	wa	X	X	X	X
<i>Calamagrostis arundinacea</i> (L.) Roth	p		X		

Fortsetzung Tab. 6

Pflanzenart	Lebensdauer	Eingepflanzt in einen WDV-infizierten Bestand von			
		Wintergerste			Winterweizen
		Elsdorf 1999	Zscherben 2000	Spickendorf 2001	Spickendorf 2001
<i>C. epigejos</i> (L.) Roth	p		X		
<i>Dactylis glomerata</i> L.	p	X			
<i>D. polygama</i> Horvatovszky	p	X			
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) P. Beauv.	p		X	X	X
<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	sa		X	X	X
<i>Elymus caninus</i> L.	p		X		
<i>E. intermedia</i> (Host) Nevski	p	X	X		
<i>Elytrigia juncea</i> (L.) Nevski	p		X		
<i>E. repens</i> (L.) Desv.	p	X	X		
<i>Festuca pratensis</i> Huds.	p	X	X	X	X
<i>F. rubra</i> L.	p		X		
<i>Holcus mollis</i> L.	p		X		X
<i>Hordelymus europaeus</i> (L.) C. O. Harz	p		X		
<i>Hordeum murinum</i> L.	sa		X	X	X
<i>Koeleria pyramidata</i> (Lamk.) P. Beauv.	p		X		
<i>Lagurus ovatus</i> L.	wa/b	X	X	X	X
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	b	X	X	X	X
<i>L. perenne</i> L.	p	X	X	X	X
<i>L. remotum</i> Schrk.	sa	X	X	X	X
<i>L. temulentum</i> L.	sa	X	X	X	X
<i>Melica altissima</i> L.	p	X			
<i>Nardus stricta</i> L.	p		X		
<i>Panicum miliaceum</i> L.	sa			X	X

Fortsetzung Tab. 6

Pflanzenart	Lebensdauer	Eingepflanzt in einen WDV-infizierten Bestand von			
		Wintergerste			Winterweizen
		Elsdorf 1999	Zscherben 2000	Spickendorf 2001	Spickendorf 2001
<i>Phalaris arundinacea</i> L.	p	X		X	X
<i>Phleum phleoides</i> (L.) Karsten	p		X		
<i>P. pratense</i> L.	p	X			
<i>Poa angustifolia</i> L.	p	X	X		
<i>P. annua</i> L.	wa/b	X	X	X	X
<i>P. badensis</i> Haenke ex Willd.	p	X			
<i>P. chaixii</i> Vill.	p	X			
<i>P. compressa</i> L.	p	X			
<i>P. nemoralis</i> L.	p	X	X		
<i>P. pratensis</i> L.	p	X	X		
<i>P. trivialis</i> L.	p	X			
<i>Setaria italica</i> (L.) P. Beauv.	sa			X	X
<i>S. pumila</i> (Poir.) Roem. et Schult.	sa		X	X	X
<i>Trisetum flavescens</i> (L.) P. Beauv.	p		X		

sa sommerannuell p perennierend

wa winterannuell b bienn

X Spezies war im entsprechenden Versuchsjahr am genannten Standort in Untersuchung einbezogen

Tab. 7: Auftreten (%) von WDV und BYDVs in den für die Untersuchungen zum Wirtskreis des WDV ausgewählten Versuchsflächen

Jahr	Standort	Wintergerste		Winterweizen	
		WDV	BYDVs	WDV	BYDVs
1999 (Ausfallwintergerste) ²⁾	Elsdorf	37,0	16,0	- ¹⁾	-
2000	Zscherben	16,0	1,0	-	-
2001	Spickendorf	32,7	9,3	8,5	1,5

¹⁾ nicht untersucht

²⁾ Ermittlung der Befallsrate durch Entnahme von 50 fortlaufenden Einzelpflanzen an vier Punkten eines Infektionsstreifens von nicht beseitigter Ausfallwintergerste, welche den Versuch umrandete

3.4.1.2 Durchführung der Versuche

Das Saatgut der ausgewählten Grasarten stammte vom Botanischen Garten der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Jeweils im Februar/März erfolgte die Aussaat im Gewächshaus. Als Substrat diente ein Gemisch aus Komposterde, Sand und Torf (im Verhältnis 10:1:2), das vor dem Befüllen kleiner Torf-Töpfe (Jiffy-Strips, 4 x 4 x 5 cm, Fa. Meyer) durch Dämpfen sterilisiert wurde. Die Gräser wuchsen bei 22 °C Tag- und Nachttemperatur sowie unter Langtagsbedingungen (18 h Licht bzw. Zusatzbeleuchtung/6 h Dunkelheit) auf.

Die Auspflanzung der jungen Gräser erfolgte im Frühjahr (März/Mai). Dazu wurden am Standort Elsdorf im Jahr 1999 in nicht beseitigter Ausfallwintergerste zwei Versuchspartellen gefräst und an jedem Standort jeweils fünf Einzelpflanzen jeder Grasart in einer Reihe eingepflanzt. In gleicher Weise gestaltete sich der Versuch im Jahr 2000, wobei ein Wintergerstenbestand als Versuchsfläche Berücksichtigung fand. Im Jahr 2001 wurden jeweils zehn Einzelpflanzen pro Grasart in einen Wintergersten- und in einen Winterweizenbestand eingepflanzt, nachdem die Versuchspartellen von Hand von den Getreidepflanzen befreit worden waren. Der Winterweizen befand sich in unmittelbarer Nachbarschaft der Wintergerste.

Außer im Jahr 1999 wurden zusätzlich im Gewächshaus angezogene Pflanzen von Wintergerste ('Theresa'), Sommergerste ('Pasadena'), Winterweizen ('Alcedo') und Sommerweizen ('Lavett') eingepflanzt. Die Pflege der Versuche erfolgte auf mechanischem Weg. In Zeiten starker Trockenheit mußten die Pflanzen zusätzlich bewässert werden.

Kurz vor der Getreideernte wurden sämtliche Einzelpflanzen der Gräser entnommen und unter Verwendung eines DAS-ELISA auf einen Befall mit dem WDV und den BYDVs geprüft. Alle mit dem WDV infizierten Einzelpflanzen unterlagen anschließend einer weiteren Testung mittels PCR, um die Stammzugehörigkeit (bs, ws) zu ermitteln. In Tabelle 8 sind alle Parameter der Versuche von 1999 bis 2001 zusammengefaßt.

Tab. 8: Parameter der Feldversuche zur Bestimmung des Wirkkreises des WDV in den Jahren 1999 bis 2001

Parameter	1999	2000	2001
Standort	Elsdorf	Zscherben	Spickendorf
Getreideart	Ausfallwintergerste	Wintergerste	Wintergerste Winterweizen
Anzahl der Einzelpflanzen/Grasart	fünf Pflanzen in zwei Wiederholungen	fünf Pflanzen in zwei Wiederholungen	jeweils zehn Pflanzen pro Bestand
Aussaart	09.02.	17.03.	23.03.
Auspflanzung	25.03.	05.05.	17.05.
Reihenabstand	20 cm	20 cm	20 cm
Pflanzabstand in der Reihe	15 cm	15 cm	15 cm
Entnahme der Einzelpflanzen	13.07.	23.06. bis 03.07.	10.07. bis 30.07.

3.4.2 Prüfung von verschiedenen Getreidearten aus dem Freiland

3.4.2.1 Auswahl der Proben

Neben den oben beschriebenen experimentellen Untersuchungen zum Wirkkreis wurden an zahlreichen weiteren Standorten in Sachsen-Anhalt Pflanzen der verschiedenen Getreidearten entnommen und unter Verwendung eines DAS-ELISA auf WDV getestet. Alle mit dem WDV infizierten Pflanzen unterlagen zusätzlich einer Untersuchung mittels PCR, um das Vorkommen der Stämme (bs, ws) zu erfassen. Aufgrund der Annahme, dass in Gerste nur der Gerstenstamm zu finden sein soll, erfolgte zu Beginn der Arbeiten die Prüfung von *Hordeum vulgare* L. ausschließlich auf bs. Jedoch wurde später die Testung auf ws erweitert. In Tabelle 9 ist eine Auflistung des verwendeten Pflanzenmaterials wiedergegeben.

Tab. 9: Anzahl der geprüften Standorte bzw. Einzelpflanzen verschiedener Getreidearten hinsichtlich des Vorkommens des bs bzw. des ws

Getreideart	Anzahl geprüfter		Prüfung auf		
	Standorte	Einzelpflanzen	bs	ws	bs und ws
<i>Avena sativa</i> L.	2	57	*)	-	57
<i>Hordeum vulgare</i> L.	33	466	326	51	89
<i>Secale cereale</i> L.	1	1	-	-	1
x <i>Triticosecale</i> Wittm.	10	53	-	-	53
<i>Triticum aestivum</i> L. emend Fiori et Paol	7	74	-	-	74

*) nicht getestet

3.4.2.2 Prüfung der Wirtseignung von *Zea mays* L. im Freiland

Im Rahmen von Prüfungen verschiedener Genotypen von *Z. mays* hinsichtlich ihrer Anfälligkeit für verschiedene Maisviren stellte Dr. M. Grüntzig (Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Arbeitsgruppe Virologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg)¹ 1997 den Befall einer Inzuchtlinie von Mais mit dem WDV fest. Hierbei handelte es sich um die aus der Schweiz stammende Linie FAP 1360A². Basierend auf diesen Resultaten wurden in den Jahren 1998 sowie 2000 ausgewählte Kreuzungen mit dieser Linie erneut getestet. Im Jahr 2000 fanden nur solche Inzuchtlinien Berücksichtigung, bei denen die Linie FAP 1360A als Mutter des Kreuzungsproduktes diente. Außerdem kamen einige handelsübliche Maissorten hinzu. Tabelle 10 enthält alle in den genannten Untersuchungsjahren geprüften Linien und Sorten. Die verschiedenen Inzuchtlinien wurden vom Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim zur Verfügung gestellt³.

Als Versuchsstandort wurden wiederum stark mit dem WDV befallene Flächen von Ausfallwintergerste (Zickeritz, Merseburg) bzw. Wintergerste (Elsdorf, Zscherben) genutzt (Tab. 11). Das Anlegen der Versuchspartellen erfolgte in den einzelnen Jahren bezüglich

¹ An dieser Stelle einen herzlichen Dank an Frau Dr. M. Grüntzig für die Bereitstellung der Daten der Versuche des Jahres 1997.

² Die Inzuchtlinie wurde von M. MENZI, FAP Zürich-Reckenholz, Schweiz entwickelt.

³ Für die Bereitstellung des Saatgutes der Inzuchtlinien einen herzlichen Dank an Dr. D. Klein (Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim).

Tab. 10: Zusammenstellung der in die Wirtskreisuntersuchungen einbezogenen Genotypen von *Z. mays* in den Jahren 1997, 1998 und 2000

Genotyp	Anzahl der getesteten Einzelpflanzen			
	1997		1998	2000
	Zickeritz	Merseburg	Elsdorf	Zscherben
D 21	89	65	*)	-
D 32	82	58	-	-
D 408	71	45	-	-
FAP 1360A	91	93	88	24
Pa 405	83	45	-	-
Pa 405 x FAP 1360A	-	-	97	-
FAP 1360A x Pa 405	-	-	83	-
FAP 1360A x D 06	-	-	-	23
FAP 1360A x D 30	-	-	-	20
D 21 x FAP 1360A	-	-	87	-
FAP 1360A x D 21	-	-	87	-
D 32 x FAP 1360A	-	-	84	-
FAP 1360A x D 32	-	-	97	-
FAP 1360A x D 61	-	-	-	24
FAP 1360A x D 63	-	-	-	28
FAP 1360A x D 67	-	-	-	24
RZ05/D-FAP x FAP 1360A	-	-	93	-
FAP 1360A x RZ05/D-FAP	-	-	91	-
‘Helga’	101	93	87	-
‘Betuflor’	102	100	95	-
‘Bermasil’	106	91	-	-
‘Bezemara’	104	100	-	-

*) nicht geprüft

des Untersuchungsumfanges (Anzahl der Einzelpflanzen und Wiederholungen) nicht einheitlich. Der Reihenabstand betrug 75 cm, der Abstand in der Reihe 25 cm. Sicherheits- halber wurden jeweils zwei Körner pro Saatstelle ausgelegt.

In den Jahren 1997 und 1998 fand eine randomisierte Anlage der neun bzw. elf Genotypen in jeweils vier Blöcken (pro Block 20 Einzelpflanzen je Linie bzw. Sorte) Verwendung. Aufgrund starker Fraßschäden durch Fasane standen für die Auswertung im Jahr 1997 am Standort Merseburg bei einzelnen Sorten bzw. Linien nur wenige Einzelpflanzen zur Verfügung. Für die Untersuchungen im Jahr 2000 wurde die bereits in Kapitel 3.4.1.2 beschriebene Wintergerstenfläche in Zscherben genutzt. Allerdings konnten an diesem Standort lediglich 25 bis 30 Körner/Genotyp von sechs Kreuzungen mit der Inzuchtlinie FAP 1360A ausgelegt werden. In Tabelle 12 sind alle Versuchsparameter von 1997, 1998 und 2000 zusammengefaßt.

Tab. 11: Auftreten (%) von WDV und BYDVs in den für die Untersuchungen zur Anfälligkeit verschiedener Genotypen von *Z. mays* gegenüber WDV ausgewählten Versuchsflächen

Jahr	Standort	Ausfallwintergerste ¹⁾		Wintergerste	
		WDV	BYDVs	WDV	BYDVs
1997	Merseburg	62,0	12,0	- ²⁾	-
	Zickeritz	58,0	46,0	-	-
1998	Elsdorf ³⁾	-	-	24,0	10,0
2000	Zscherben ⁴⁾	-	-	16,0	1,0

¹⁾ Prüfung von 50 fortlaufenden Einzelpflanzen nicht beseitigter Ausfallwintergerste im April 1997

²⁾ nicht untersucht

³⁾ Entnahme von 50 fortlaufenden Einzelpflanzen von Wintergerste im Bereich des geplanten Versuches

⁴⁾ Schema der Prüfung siehe Kap. 3.4.1.1

Tab. 12: Parameter der Feldversuche zur Prüfung verschiedener Genotypen von *Z. mays* auf einen Befall mit WDV und den BYDVs in den Jahren 1997, 1998 und 2000

Parameter	1997	1997	1998	2000
Standort	Merseburg	Zickeritz	Elsdorf	Zscherben
Versuch in	Ausfallwintergerste	Ausfallwintergerste	Wintergerste	Wintergerste
Anzahl geprüfter Genotypen	9	9	11	6
Anzahl der Einzelpflanzen/Genotyp	20	20	20	25 bis 30
Anzahl der Wiederholungen	4	4	4	0
Aussaat	29.04.	05.05.	23.04.	05.05.
Reihenabstand	75 cm	75 cm	75 cm	in einer Reihe
Abstand innerhalb der Reihe	25 cm	25 cm	25 cm	25 cm
Entnahme der Einzelpflanzen	27.08.	11.08.	15.07.	23.06. bis 03.07.

Die Pflege der Parzellen erfolgte auf mechanischem Wege. Ende Juni/Mitte Juli wurden alle Einzelpflanzen entnommen und mit Hilfe eines DAS-ELISA auf WDV bzw. BYDV's geprüft. Wiederum unterlagen alle WDV-positiven Pflanzen einer anschließenden Testung mittels PCR, um den vorkommenden Stamm zu bestimmen.

3.5 Untersuchungen zur Interaktion zwischen dem WDV und der Zikade *P. alienus*

3.5.1 Untersuchungen zur Übertragung des WDV durch *P. alienus* unter Laborbedingungen

Alle für die Laborversuche eingesetzten *P. alienus* stammten aus einer kontrolliert virusfreien Stammzucht an Wintergerste (MANURUNG, 2002). Weiterhin kamen für den Versuch (Kap. 3.5.1.2) Zikaden aus der Stammzucht von Dr. Habekuß (BAZ Ascherleben) zum Einsatz, die einen Ableger der erstgenannten darstellt. Die Versuche wurden unter Laborbedingungen durchgeführt: 20 °C, 70-95 % relative Luftfeuchte und Langtag (18 h Licht und 6 h Dunkelheit). Das Umsetzen der Einzeltiere erfolgte mit einem Exhaustor. Als Infektionsquelle für das WDV diente ein Isolat von Wintergerste (Gerstestamm) vom Standort Zscherben (Halle, Saalkreis), im folgenden als Isolat „WDV-Zscherben“ bezeichnet. Dieses wird seit Herbst 1999 an Wintergerste 'Theresa' erhalten. Sämtliche für die Experimente genutzten Pflanzen dieser Sorte wurden im Gewächshaus (Kap. 3.4.1.2) in desinfizierten Tontöpfen (Durchmesser 9 cm) und sterilisiertem Substrat angezogen. Zum Infektionszeitpunkt befanden sie sich im Zwei- bis Dreiblattstadium.

3.5.1.1 Ermittlung der Effektivität der Übertragung des WDV durch die einzelnen Entwicklungsstadien von *P. alienus* sowie die Ermittlung der Persistenz des WDV im Vektor

Zur Ermittlung der Effektivität der Übertragung von WDV durch *P. alienus* fanden die fünf Larvenstadien L1 bis L5 sowie die Imagines Berücksichtigung. Die schwierige Gestaltung der Stammzucht erlaubte nicht die gleichzeitige Entnahme einer großen Anzahl von Tieren aller Entwicklungsstadien. Somit erstreckten sich die Testungen über einen Zeitraum von Juni 2000 bis Juli 2002.

Den zu Beginn der Untersuchung virusfreien Zikaden stand zunächst ein Zeitraum von 24 h für die Virusaufnahme zur Verfügung (Isolat „WDV-Zscherben“). Danach wurden sie einzeln auf jeweils eine befallsfreie Wintergerstenpflanze im Zwei- bis Dreiblattstadium gesetzt. Nach der nächsten Häutung erfolgte eine weitere Übertragung auf neue gesunde Gerstenpflanzen. Anschließend wurden sie, wie auch die Imagines, aller fünf Tage auf eine neue Pflanze gesetzt. Durch das Überstülpen einer luftdurchlässigen Plastikhaube sollte das Wegspringen der agilen Zikaden verhindert werden. Der Versuch endete mit dem Absterben der Tiere. Auf diese Weise war es außerdem möglich, Angaben zur Persistenz des Virus im Vektor zu erhalten.

Sämtliche Pflanzen blieben nach dem Umsetzen der Zikaden für vier Wochen im Gewächshaus (Bedingungen Kap. 3.4.1.2). Es folgte die Testung auf WDV unter Verwendung eines DAS-ELISA. Aufgefundene, bereits abgestorbene *P. alienus* wurden in Ethanol (70 %) überführt und später mittels PCR auf WDV geprüft.

3.5.1.2 Untersuchungen zur Akquisitionszeit und zur Zirkulationszeit

Für die Prüfung der Akquisitions- und der Zirkulationszeit kamen ausschließlich Imagines zum Einsatz. Der Zeitraum erstreckte sich aus o.g. Gründen (Kap. 3.5.1.) von August 2001 bis Juni 2002.

Die virusfreien Imagines wurden jeweils einzeln auf eine mit dem Isolat „WDV-Zscherben“ infizierte Wintergerstenpflanze gesetzt. Als Saugzeit diente der Zeitraum, den die Zikade ruhig sitzend an der Pflanze verbrachte, was man einer Nahrungsaufnahme gleichsetzen konnte. Folgende Saugzeiten wurden gewählt: 5, 10, 15, 20 bzw. 40 min. Anschließend erfolgte das Übersetzen der Imagines auf befallsfreie Pflanzen von Wintergerste. Um die Zirkulationszeit des WDV im Vektor zu ermitteln, wurden die Einzeltiere aller 24 h auf neue befallsfreie Wintergerste übertragen. Nach 11 Tagen galt der Versuch als beendet. Die noch lebenden Imagines wurden abgetötet und bis zur Testung mittels PCR in Ethanol (70 %) gelagert. Alle während des Versuches auffindbaren, abgestorbenen Zikaden kamen ebenfalls in Ethanol (70 %). Die Pflanzen standen für vier Wochen im Gewächshaus und wurden dann mittels DAS-ELISA auf einen Befall mit WDV geprüft.

3.5.2 Ermittlung des Anteils virusübertragender und virustragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation im Freiland

Als virusübertragende *P. alienus* sind im folgenden alle Zikaden zusammengefaßt, die in der Lage waren, das WDV auf Getreidepflanzen zu übertragen. Demgegenüber ließ sich in den virustragenden Tieren das WDV mittels PCR zwar nachweisen, aber eine Virusübertragung erfolgte nicht in jedem Fall.

Die Ermittlung des Anteils virusübertragender und virustragender *P. alienus* im Freiland erfolgte in Kooperation mit dem Institut für Zoologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Dr. Manurung Kescherte in den Jahren 2000 bis 2001 im Freiland die Zikaden und führte das erste Übersetzen auf Getreidepflanzen (eine Zikade/Pflanze) im Labor durch.

Die Untersuchungen umfaßten folgende Zeiträume: 09.06. bis 13.12.2000, 28.05. bis 22.11.2001 und 30.05. bis 24.10.2002. Im 16tägigen Rhythmus wurden in der Regel 25 *P. alienus* mittels Kescher (Durchmesser 30 cm) bzw. Biozönometer (offener Gazekäfig mit kreisrunder Fläche von 0,25 m²) gefangen. Der Kescher kam im wachsenden und reifenden Getreide (bis Juni/Juli) zum Einsatz. Die Verwendung des Biozönometers erfolgte von Juli bis November/Dezember. Dabei wurde der Gazekäfig an mehreren beliebigen Stellen im Bestand über die Pflanzen gestülpt und nach dem Aufscheuchen sämtlicher *P. alienus* diese mittels Exhaustor von den Gazewänden abgesammelt.

Alle Untersuchungen fanden am Standort Zscherben statt. Für die Beprobung wurde ein Wintergerstenbestand ausgewählt. Die Fänge begannen Anfang Juni 2000. Nach der Ernte der Wintergerste (Ende Juni, Anfang Juli) konnten die Versuche am gleichen Standort in Ausfallwintergerste fortgesetzt werden, allerdings nur bis Anfang August. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Schlag geschält und zwei Wochen später gepflügt. Für die Fortführung der Versuche mußte deshalb auf einen ca. 1,5 km entfernten Bestand mit Ausfallwintergerste ausgewichen werden, der eine Beprobung bis zum Umbruch Mitte September erlaubte. Von diesem Zeitpunkt an kam eine unmittelbar angrenzende Neuansaat von Wintergerste bis zur Ernte im Juli 2001 zur Untersuchung. Die sich entwickelnde Ausfallwintergerste wurde im August mit einem Totalherbizid vernichtet. Mitte September erfolgte auf dem Feld die Aussaat von Triticale. In diesem Bestand wurde die Beprobung bis zur Ernte im Juli 2002 weitergeführt. In der Ausfall-Triticale konnten trotz eingedrilltem Raps die Fänge bis Oktober vorgenommen werden. Da sich auf diesem Feld jedoch keine *P. alienus* fangen

ließen, wurde auf Ausfallwintergerste am Standort Höhnstedt ausgewichen und diese vom 31.07. bis 13.11.2002 (Umbruch) beprobt.

Alle gefangenen *P. alienus* kamen einzeln unter Laborbedingungen (Kap. 3.5.1) für sieben Tage auf befallsfreie Wintergerstenpflanzen ('Theresa') im Zwei- bis Dreiblattstadium und danach für weitere sieben Tage auf gleichaltrige Winterweizenpflanzen ('Alcedo'). Die Nutzung beider Getreidearten sollte Aufschluß über eine eventuelle Aufnahme beider Stämme des WDV durch *P. alienus* geben. Alle noch lebenden Zikaden wurden nach dem zweiwöchigen Versuchszeitraum abgetötet und wie die auffindbaren, abgestorbenen Tiere in Ethanol (70 %) überführt. Später erfolgte eine Prüfung mittels PCR auf WDV. Die Pflanzen von Wintergerste bzw. Winterweizen wurden nach vier Wochen in einem DAS-ELISA auf einen Befall mit WDV rückgetestet.

4 Ergebnisse

4.1 Serumherstellung

Mittels Präzipitintropfentest erfolgte die Prüfung des Antiserums auf den Gehalt an spezifischen Antikörpern des WDV. In Tabelle 13 sind alle Blutentnahmen des Versuchstieres Nr. 291 sowie die maximalen Verdünnungsendpunkte der Antikörper gegen WDV und Normalproteine aufgeführt. Das mit physiologischer Kochsalzlösung (v/v) verdünnte Antiserum (1:2 bis 1:1024) wurde mit partiell gereinigtem Antigen (WDV) sowie mit einem Extrakt einer gesunden Maispflanze getestet.

Tab. 13: Maximale Titer der Antikörper des WDV bzw. der Normalproteine aller Entnahmen des Tieres Nr. 291

Termin der Blutentnahme (1995)	Maximaler Verdünnungsendpunkt*)	
	WDV	Normalproteine
21.06.	16	0
26.06.	32	0
03.07.	64	0
06.07.	64	0
13.07.	128	0
25.07.	128	0

*) reziproke Werte der maximalen Verdünnungsendpunkte, gemessen im Präzipitintropfentest

Das Antiserum erreichte einen maximalen Antikörpertiter von 1:128, was vergleichbaren Angaben anderer Autoren entspricht (LINDSTEN *et al.*, 1980). Antikörper der Normalproteine waren im Präzipitintropfentest nicht zu ermitteln.

Mit dem Nachweis von spezifischen Antikörpern des WDV konnte die Verwendung des Serums im DAS-ELISA geprüft werden. Aus Tabelle 14 geht der Vergleich zwischen dem WDV-Antiserum 291 und einem solchen aus Frankreich (Fa. Sanovi) hervor. Die relativ hohen Hintergrundreaktionen des Antiserum 291 (Extinktionswerte für die negativen Kontrollen) waren vermutlich auf Mitreaktionen der Normalproteine zurückzuführen. Da die Herstellung des WDV-Serums von Freilandmaterial ausgehend erfolgte, konnte ein möglicher Einfluß der BYDVs nicht 100%ig ausgeschlossen werden. Auf diesen Umstand

wurde bereits verwiesen. Durch Absorption des Antiserums mit einem niedrigtourig zentrifugiertem Homogenat von BYDVs-infiziertem Mais wurden Antikörper von den BYDVs und den Normalproteinen entfernt (siehe auch Tab.16).

Tab. 14 : Vergleich des Antiserum 291¹⁾ (Halle) mit einem solchen von Sanovi (Frankreich) zum Nachweis des WDV mittels DAS-ELISA

Verdünnung des Antigenes	Verdünnung von IgG/Konjugat ²⁾							
	WDV-Antiserum Halle				WDV-Antiserum Frankreich			
	1 000/ 1 000	1 000/ 2 000	2 000/ 1 000	2 000/ 2 000	1 000/ 1 000	1 000/ 2 000	2 000/ 1 000	2 000/ 2 000
1: 20	> 3,000 ³⁾	> 3,000	2,698	1,981	0,314	0,159	0,147	0,073
1: 40	> 3,000	> 3,000	2,902	2,069	0,117	0,150	0,119	0,074
1: 80	> 3,000	> 3,000	> 3,000	1,908	0,240	0,172	0,108	0,066
1:100	> 3,000	> 3,000	2,897	2,205	0,245	0,148	0,092	0,060
Negativ- kontrolle	0,778	0,416	0,256	0,128	0,004	0,004	0,003	0,003

¹⁾ Antiserum nicht abgesättigt

²⁾ reziproker Wert der Verdünnung

³⁾ die Begrenzung der angezeigten Extinktionswerte des verwendeten ELISA-Readers (Bio-Tek EL311SX) betrug 2,999, weshalb sämtliche Werte für eine höhere Extinktion in der Tabelle mit „> 3,000“ dargestellt sind

Für das hergestellte WDV-Antiserum kann eine Verdünnung der Proben bis 1:100 empfohlen werden, wobei die IgG und das Konjugat auf 1:2 000 zu verdünnen sind. Auffallend waren die relativ niedrigen Positivwerte für das WDV-Antiserum Frankreich. Es handelte sich um ein Antiserum vom Weizenstamm, womit sich die geringere Affinität zum Gerstenstamm erklären läßt.

In Tabelle 15 sind die Ergebnisse zum Nachweis des WDV mit einer Simultanvariante des DAS-ELISA unter Verwendung verschiedener Verdünnungen der IgG bzw. des Konjugates wiedergegeben. Als Antigene dienten infizierter Hafer (WDV) und Wintergerste (WDV und BYDVs), als Negativkontrolle gesunder Mais. Die Ergebnisse aller Verdünnungen gestatteten eine Differenzierung zwischen positiven und negativen Proben.

Aus bereits genannten Gründen wurde das Antiserum abgesättigt. Die Prüfung erfolgte unter Einsatz einer Simultanvariante eines DAS-ELISA mit infizierter Wintergerste und Hafer sowie negativen Kontrollen von Wintergerste, Hafer und Mais. Wiederum fand BYDVs-infizierte Wintergerste Verwendung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 dargestellt.

Tab. 15: Prüfung des WDV-Antiserums 291¹⁾ (Halle) mittels einer Simultanvariante eines DAS-ELISA

Probe	Verdünnung von IgG/Konjugat ²⁾			
	1 000/1 000	1 000/2 000	2 000/1 000	2 000/2 000
Hafer (WDV)				
1: 10	1,249	1,262	1,187	0,977
1: 50	0,594	0,621	0,685	0,496
1:100	0,457	0,437	0,612	0,325
Wintergerste (WDV)				
1: 10	1,521	1,191	1,560	0,929
1: 40	1,744	1,576	2,046	1,336
1: 80	1,840	1,675	2,229	1,337
1:100	2,027	1,882	2,171	1,454
Wintergerste (BYDVs)				
1: 10	0,788	0,901	0,725	0,600
1: 40	0,655	0,840	0,679	0,522
1: 80	0,603	0,733	0,524	0,480
1:100	0,557	0,645	0,465	0,439
Mais (gesund)				
1: 10	0,115	0,085	0,087	0,053
1: 50	0,084	0,063	0,108	0,057
1:100	0,085	0,067	0,095	0,056

¹⁾ Antiserum nicht abgesättigt

²⁾ reziproker Wert der Verdünnung

Die besten Resultate wurden mit dem abgesättigten Antiserum erreicht. Der Einsatz der Proben in einer Verdünnung von 1:10 (w/v mit Probenpuffer, Kap. 3.2.1) sowie die Verwendung des IgG/Konjugat in der Verdünnung 1 000/1 000 ermöglichte eine eindeutige Unterscheidung zwischen positiven und negativen Proben und wurde für alle nachfolgenden Untersuchungen genutzt. Eine Mitreaktion des WDV-Antiserum mit BYDVs trat nicht auf. Das Antiserum eignete sich gleichfalls für den Nachweis des WDV mittels tissue print-immunoblotting (TPIB) (MEHNER, 1998).

Tab. 16: Prüfung des abgesättigten WDV-Antiserums 291 mittels einer Simultanvariante eines DAS-ELISA

Probe (1:10)	Extinktionswert bei einer Verdünnung von IgG/Konjugat ¹⁾ von 1 000/1 000						
WDV-infizierte Pflanzen							
Wintergerste	2,117	2,095	2,402	1,200	1,885	1,798	2,383
Hafer	2,015	2,146	> 3,000	>3,000	2,461	> 3,000	> 3,000
Wintergerste (BYDVs)	0,078	0,032	0,051	0,077	0,056	0,029	0,065
befallsfreie Pflanzen							
Wintergerste	0,013	0,004	0,021	0,012	0,009	0,010	0,006
Hafer	0,020	0,019	0,026	0,031	0,029	0,022	0,026
Mais	0,084	0,094	0,096	0,097	0,093	0,095	0,092

¹⁾ reziproker Wert der Verdünnung

4.2 Auftreten des WDV in Sachsen-Anhalt

4.2.1 Ausfallgetreide

Für die Überprüfung von Neuansaatn wurden Standorte mit einem erhöhten Infektionspotential ausgewählt. Dessen Ermittlung resultierte aus den Untersuchungen zum Befall von Ausfallwintergetreide mit dem WDV.

Die Ergebnisse repräsentieren das relative Verhältnis von WDV bzw. BYDVs an symptomtragenden Pflanzen (Ausnahme Winterweizen, -roggen).

Wie aus Abbildung 5 hervorgeht, überwog in Wintergerste im Jahr 1995 der Anteil der mit BYDVs infizierten Pflanzen. In den Jahren 1996 bis 1998 nahm der Anteil des WDV kontinuierlich zu, während das Vorkommen der BYDVs im gleichen Zeitraum nahezu konstant blieb. Im Jahre 1999 fiel der Anteil des WDV auf 18,3 % ab, um im Jahr 2000 auf 61,1 % anzusteigen. Im Herbst 2001 kehrten sich die Verhältnisse um, denn die BYDVs überwogen mit 80,0 %, wovon 36,9 % Doppelinfektionen mit dem WDV darstellten.

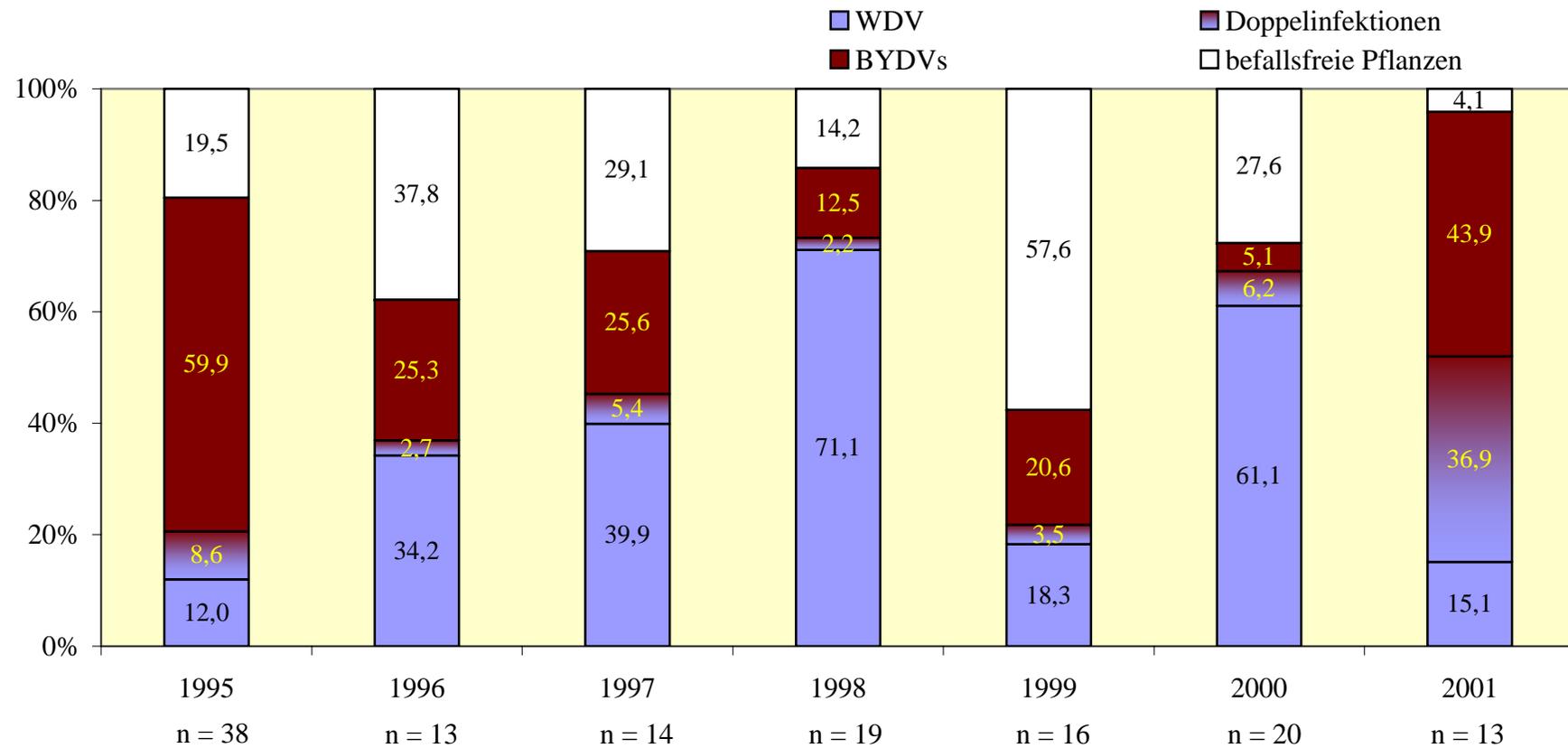


Abb. 5: Befall von Ausfallwintergerste (symptomtragende Pflanzen) mit WDV und BYDVs in den Jahren 1995 bis 2001 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

Ein derartig hoher Prozentsatz an Doppelinfektionen wurde in keinem anderen Untersuchungsjahr erreicht. Der Anteil „befallsfreie Pflanzen“ beinhaltet alle symptomtragenden Pflanzen, in denen serologisch weder WDV noch BYDVs nachgewiesen werden konnten. Die Vergilbungen waren durch andere, nicht erfaßte biotische oder abiotische Ursachen hervorgerufen.

Die Ergebnisse der Überprüfung von Ausfallgetreide weiterer Getreidearten sind in Tabelle 17 wiedergegeben. In den einzelnen Jahren kamen nur wenige Bestände zur Untersuchung. Bei Ausfallwinterweizen, -roggen und -triticale wurden nicht ausschließlich symptomtragende Pflanzen entnommen (Kap. 3.3.1).

Die Ergebnisse verdeutlichen, daß Ausfallwinterweizen in der Regel in geringerem Umfang von Infektionen mit dem WDV und den BYDVs betroffen war. Lediglich im Jahr 2001 wurde ein relativ hoher Befall mit BYDVs nachgewiesen, der dem in Ausfallwintergerste gleichkam. Eine Infektion von Weizen war in den Jahren 2000 und 2001 jedoch nur auf jeweils einem der sieben (2000) bzw. der fünf (2001) geprüften Standorte festzustellen.

Im Gegensatz dazu wiesen Triticale sowie Hafer im Jahr 2000 hohe Befallsraten mit dem WDV und den BYDVs auf, was mit der Situation in Ausfallwintergerste übereinstimmte.

Tab. 17: Auftreten von WDV und BYDVs in Ausfallwinterweizen, -sommergerste, -triticale, -hafer, und -winterroggen in den Jahren 1995 bis 2001 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

Jahr	Getreideart (Standorte [n]/ Einzelpflanzen)	Befall mit				Doppel- infektionen		befallsfreie Pflanzen	
		WDV		BYDVs		absolut	relativ (%)	absolut	relativ (%)
		absolut	relativ (%)	absolut	relativ (%)				
1995	Winterweizen (n = 2/58)	1	1,7	6	10,3	0	0,0	51	87,9
1996	Winterweizen (n = 2/70)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	70	100,0
1999	Winterweizen (n = 1/50)	0	0,0	2	4,0	0	0,0	48	96,0
	Sommergerste (n = 4/214)	7	3,3	54	25,2	0	0,0	153	71,5
	Winterroggen (n = 1/16)	1	6,3	2	12,5	0	0,0	13	81,3
2000	Winterweizen (n = 7/350)	33	9,4	1	0,3	1	0,3	315	90,0
	Triticale (n = 1/50)	20	40,0	16	32,0	9	18,0	5	10,0
	Hafer (n = 1/50)	34	68,0	1	2,0	12	24,0	3	6,0
2001	Winterweizen (n = 5/244)	1	0,4	119	48,8	0	0,0	124	50,8
	Sommergerste (n = 2/100)	4	4,0	81	81,0	9	9,0	6	6,0

4.2.2 Wintergetreide

Das Auftreten von WDV und BYDVs in Wintergetreide in den Jahren 1995 bis 2001 wurde nach einheitlichem Prüfschema (Kap. 3.3.2) ermittelt. Die Ergebnisse der Untersuchungen von Wintergerste im Herbst sind in Abb. 6 zusammengefaßt. Die Resultate der einzelnen Bestände wurden im Anhang (Tab. A-1) aufgelistet. Der Befall im Herbst erscheint deshalb von besonderer Bedeutung, da frühe Infektionen mit dem WDV in der Regel im Verlauf des Winters und Frühjahres zum Absterben der Pflanzen führen, was einen Totalausfall bedeutet.

Die Werte für das Jahr 2002 wurden in der Arbeitsgruppe von Dr. Habekuß¹ erhoben. In der Gesamtschau wird deutlich, daß das Auftreten von WDV und von BYDVs großen Schwankungen unterliegt, jedoch nicht gleichsinnig verläuft. Während in den Jahren 1995 und 1996 in den geprüften Beständen niedrige Befallsraten mit dem WDV ermittelt wurden (0,7 % bzw. 0,2 %), lag diese 1997 bei 22,8 %. Nach einem Rückgang im Folgejahr auf 5,4 %, nahm das WDV bis 2000 kontinuierlich zu. Im Jahr 2001 konnte eine Abnahme des Virus bis unter 5,0 % registriert werden. Nach Untersuchungen in der Arbeitsgruppe von Dr. Habekuß setzte sich dieser Rückgang auch 2002 fort. In den einzelnen Prüfjahren traten Schwankungsbreiten von 0,0 % bis 52,7% auf (Tab. A-1).

Gegenläufig stellt sich der Befall mit den BYDVs dar. Erfahrungsgemäß treten diese Viren in Mitteldeutschland ca. aller fünf Jahre epidemisch auf (FUCHS, mündl. Mitteilung 2000). Nach den eigenen Erfahrungen scheint eine Epidemie dieser Viren in der Regel mit einem Rückgang des WDV einherzugehen. Dies unterstreichen die Ergebnisse der Jahre 1995 bis 2002. Im Jahr 1995 traten die BYDVs mit 49,0 % relativ stark auf, während das WDV lediglich eine Befallsrate von 0,7 % erreichte. In den Folgejahren wurden bei den BYDVs Befallsraten zwischen 0,6 % (1996) und 5,8 % (2000) mit steigender Tendenz registriert. Im Herbst 2001 erwies sich die Wintergerste zu 37,4 % infiziert, das WDV war in 2,8 % aller untersuchten Pflanzen nachzuweisen. Im darauffolgenden Jahr sank die Infektion mit den BYDVs wieder deutlich ab, was die durchschnittliche Befallsrate von 12,5 % belegt. Das WDV erreichte einen Befall von 1,4 %. Pflanzen, die sowohl mit dem WDV als auch mit den BYDVs infiziert waren, traten außer in den Jahren 1995 (0,4 %), 2000 (0,2 %) und

¹ Frau Dr. Habekuß (Institut für Epidemiologie und Resistenz, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Aschersleben) wird für die Bereitstellung der Ergebnisse gedankt.

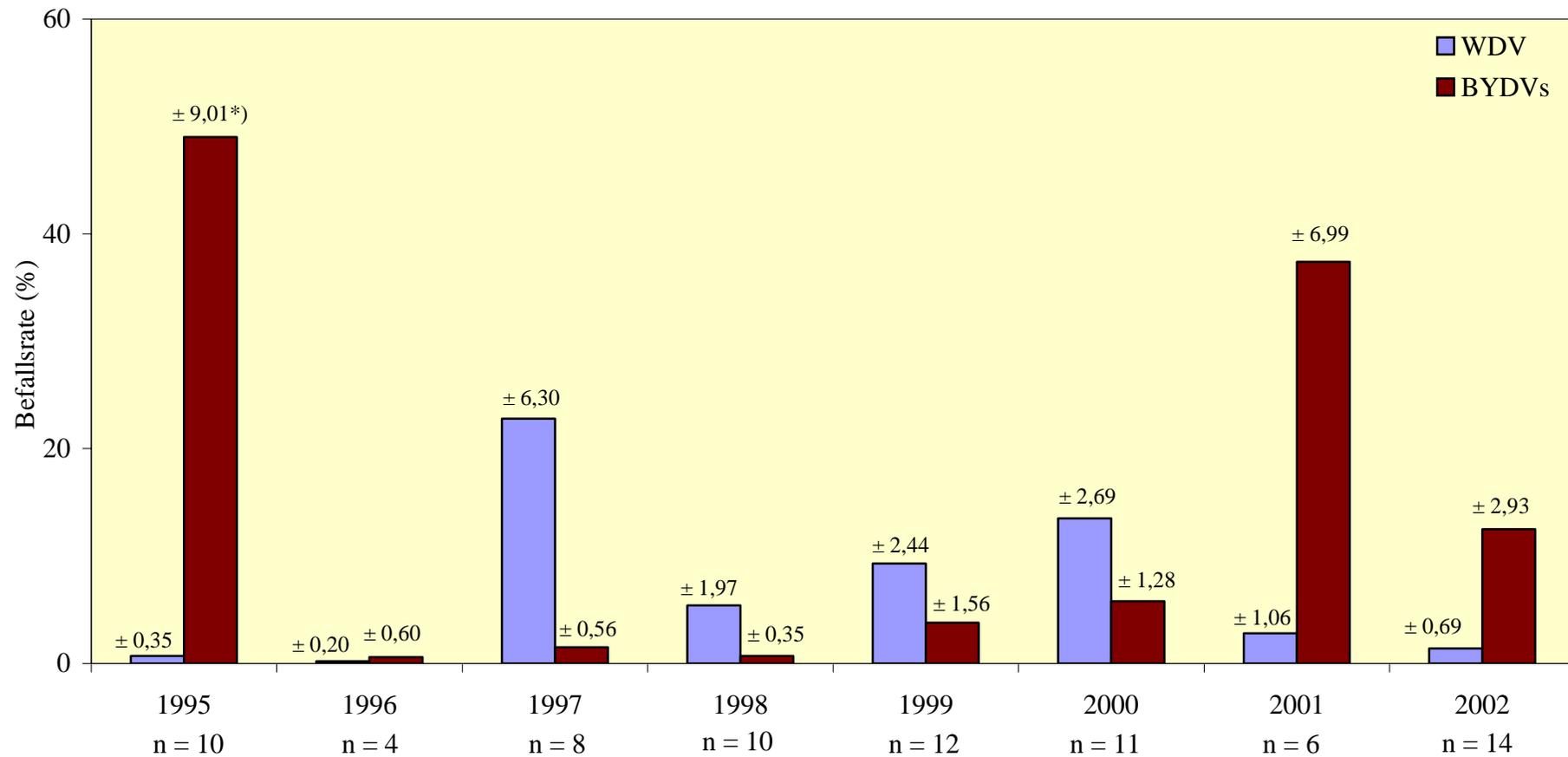


Abb. 6: Relativer Befall (%) von Wintergerste mit dem WDV und den BYDVs im Herbst der Jahre 1995 bis 2002 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

*) Standardfehler des Mittelwertes nach BÄTZ *et al.* (1987)

2001 (0,6 %) nicht auf. Die Schwankungsbreite lag bei den Gerstengelverzweigungsviren in den Prüffahren zwischen 0,0 % und 80,5 % (Tab. A-1).

In Tabelle 18 sind die durchschnittlichen Infektionsraten mit dem WDV und den BYDVs in Wintergerste im Herbst, Frühjahr und Frühsommer aufgelistet. Da aus arbeitstechnischen Gründen teilweise nicht jeder im Herbst geprüfte Bestand auch im Frühjahr bzw. im Frühsommer getestet werden konnte, wurden in die Tabelle nur die Bestände aufgenommen, die wenigstens an zwei Terminen einer Prüfung unterlagen.

Alle Befallszunahmen von WDV und den BYDVs im Frühjahr sind auf Spätinfektionen im Herbst zurückzuführen. Durch kühlere Temperaturen zum Infektionszeitpunkt kommt es nur noch zu einer geringen und verzögerten Virusvermehrung. Bei einer Entnahme der Proben im November können auf diese Weise nicht alle Infektionen mittels ELISA erkannt werden. Besonders hingewiesen sei auf die Ergebnisse der Jahre 1998/1999 und 1999/2000, in denen ein Anstieg der Infektion mit dem WDV vom Herbst bis zum Frühjahr um 15,3 % bzw. 26,6 % zu verzeichnen war.

Nach dem Schlupf der Vektoren im Frühjahr ist die Aufnahme des WDV aus bereits infizierten Pflanzen Voraussetzung, um neue Infektionen setzen zu können. Diese Frühjahrsinfektionen werden durch die Probenentnahme im Frühsommer erkannt. In den Jahren 2000 und 2001 lag der Befall mit dem WDV zu diesem Zeitpunkt bei 17,8 % bzw. 12,7 %. Niedrigere Befallsraten waren in den Jahren 1999 (6,3 %) bzw. 2002 (7,2 %) festzustellen. Betrachtet man die Befallsentwicklung bei den BYDVs, so ergeben sich andere Befunde. Vom Herbst 2000 bis zum Frühjahr 2001 wurde ein sprunghafter Anstieg von 5,8 % auf 30,4 % registriert. Im Frühsommer 2001 lag die Infektionsrate der BYDVs in den geprüften Beständen unter 2,0 %. Offensichtlich baute sich ein hoher Infektionsdruck mit diesen Viren auf, der dann im Herbst, verursacht durch günstige Bedingungen für die Vektoren, zu einer Durchseuchung der Bestände mit 37,4 % führte. Im Frühjahr 2002 betrug der Befall 44,7 %. Auch der im Frühsommer 2002 erkannte Befall, der auf Spätinfektionen im Herbst zurückzuführen war, lag mit 26,1 % bedeutend über dem der Vorjahre. Nochmals sei herausgestellt, daß die Infektionsraten mit dem WDV bei einem hohen Befall mit den BYDVs relativ niedrig waren.

Pflanzen mit Doppelinfektionen von WDV als auch den BYDVs traten in allen Untersuchungs Jahren nur vereinzelt auf (< 0,7 %, Tab. A-1). Eine Ausnahme bildeten die Vegetationsperioden 2000/2001 sowie 2001/2002, wo im Frühjahr 2,1 % bzw. 1,1 % Doppelinfektionen nachgewiesen werden konnten.

Tab. 18: Befall von Wintergerste mit dem WDV und den BYDVs im Herbst, Frühjahr und Frühsommer in den Vegetationsperioden der Jahre 1995/1996 sowie von 1998/1999 bis 2001/2002 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

Vegetationsperiode Anzahl der Standorte (n)	Befall (%) und s_x (%)*) zum Prüftermin im					
	Herbst		Frühjahr		Frühsommer	
	WDV	BYDVs	WDV	BYDVs	WDV	BYDVs
1995/1996 n = 10	0,7 (0,0 – 3,5) ± 0,35	49,0 (3,0 – 80,5) ± 9,01	0,1 (0,0 – 0,8) ± 0,09	23,2 (2,0 – 91,2) ± 8,92	nicht geprüft	
1998/1999 n = 8	6,8 (0,0 – 17,3) ± 2,22	0,9 (0,0 – 3,3) ± 0,41	22,1 (2,0 – 33,3) ± 3,28	3,0 (0,0 – 18,7) ± 2,25	6,3 (0,0 – 16,7) ± 2,55	0,3 (0,0 – 0,2) ± 0,25
1999/2000 n = 4	5,2 (0,7 – 16,0) ± 3,66	0,2 (0,0 – 0,7) ± 0,18	31,8 (10,0 – 41,3) ± 7,34	0,7 (0,7 – 2,0) ± 0,47	17,8 (0,7 – 34,7) ± 7,03	0,3 (0,0 – 1,3) ± 0,33
2000/2001 n = 11	13,5 (0,7 – 32,7) ± 2,69	5,8 (0,0 – 10,0) ± 1,28	9,8 (3,3 – 18,7) ± 1,73	30,4 (0,0 – 69,3) ± 7,45	12,7 (0,0 – 64,7) ± 5,45	1,8 (0,0 – 6,0) ± 0,56
2001/2002 n = 6	2,8 (0,0 – 6,7) ± 1,06	37,4 (14,7 – 54,0) ± 6,99	4,6 (0,0 – 10,7) ± 1,62	44,7 (20,0 – 78,0) ± 10,08	7,2 (0,0 – 20,0) ± 3,47	26,1 (0,0 – 86,0) ± 14,24

*) Standardfehler des Mittelwertes

Um mögliche Ursachen des unterschiedlichen Befalls mit dem WDV bzw. den BYDVs aufzudecken, wurden von der Mehrzahl der in den Vegetationsperioden 1995/1996, 2000/2001 und 2001/2002 geprüften Bestände die Aussattermine sowie die angebauten Sorten erfaßt (Tab. A-3). Die früheste Aussaat erfolgte am 28.08.2000 (Adendorf, 'Theresa'). Dieser Bestand erwies sich im Herbst zu 5,3 % (WDV) bzw. 10,0 % (BYDVs) infiziert. Die spätesten Aussaaten erfolgten am 28.09.2000 (Rumpin, 'Theresa' und 'Sarah') sowie am 29.09.2001 (Höhnstedt/Silo, 'Ludmilla'). Die Infektionsraten des WDV lagen im Herbst bei 9,3 % bzw. 6,7 %, die der BYDVs bei 8,0 % bzw. 14,7 %. Der Bestand mit der höchsten Infektionsrate des WDV im Herbst (22,7 %) wurde am 17.09.2000 gedrillt (Freist, 'Theresa'). Die Wintergerste in Gröbers ('Angora'), welche am 15.09.1995 gedrillt wurde, erreichte den höchsten Befall mit den BYDVs (71,0 %).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß bei Wintergerste keine eindeutige Beziehung zwischen Aussattermin und einem Befall mit dem WDV bzw. den BYDVs vorlag. Alle Aussaaten erfolgten zwischen dem 28.08. und dem 29.09. Der für das Anbauggebiet mittleres und südliches Sachsen-Anhalt übliche Saattermin für Wintergerste befindet sich Mitte September.

Die geringe Anzahl der einbezogenen Sorten erlaubt keine Aussage hinsichtlich einer unterschiedlichen Anfälligkeit. Außerdem unterlagen die Befallsraten der einzelnen Sorten großen Schwankungen. Eine Ausnahme bildete die Sorte 'Theresa', welche von den Landwirten in den Jahren 2000 und 2001 verstärkt angebaut wurde. Diese Sorte erwies sich sowohl bei einer Aussaat im August als Ende September als mit dem WDV befallen.

In den Jahren 1998, 2000 und 2001 wurden neben Wintergerste auch einige Bestände von Winterweizen und Triticale untersucht. Die Ergebnisse sind in zusammengefaßter Form in Tabelle 19 wiedergegeben. Die Resultate aller beprobten Bestände sind in Tabelle A-2 detailliert aufgeführt. Obwohl nur eine geringe Anzahl von Beständen untersucht wurde, ergaben sich die gleichen Tendenzen wie in Wintergerste. Im Herbst des Jahres 1998 erwies sich Winterweizen als befallsfrei. In der Vegetationsperiode 2000/2001 wurde im Herbst eine Befallsrate mit dem WDV von 6,5 % nachgewiesen, die bis zum Frühjahr auf 9,6 % und bis zum Frühsommer auf 11,6 % anstieg. Die Befallsraten von Triticale befanden sich weit unter denen des Winterweizens und erreichten im Herbst 1,7 % bzw. im Frühjahr 0,7 %. In der Vegetationsperiode 2001/2002 lag der Befall mit dem WDV in Winterweizen als auch in Triticale weit unter dem des Vorjahres (WW: Herbst 0,1 %, Frühjahr 0,3 %, Frühsommer 0,0 %; Triticale: Herbst und Frühjahr 0,0 %, Frühsommer 2,7 %).

Tab. 19: Befall von Winterweizen und Triticale mit dem WDV und den BYDVs im Herbst, Frühjahr bzw. im Frühsommer in den Vegetationsperioden der Jahre 1998/1999, 2000/2001 und 2001/2002 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

Vegetationsperiode, Fruchtart, Anzahl der Standorte (n)		Befall (%) und $s_{\bar{x}}$ (%) ¹⁾ zum Prüftermin im					
		Herbst		Frühjahr		Frühsommer	
		WDV	BYDVs	WDV	BYDVs	WDV	BYDVs
1998/1999	Winterweizen n = 2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	nicht geprüft		nicht geprüft	
2000/2001	Winterweizen n = 5	6,5 (0,0 – 10,7) ± 1,84	5,9 (0,0 – 3,3) ± 3,92	9,6 (0,0 – 30,7) ± 5,49	40,1 (0,0 – 66,0) ± 11,38	11,6 ²⁾ (5,4 – 18,7) ± 3,00	9,6 ²⁾ (5,3 – 14,0) ± 1,95
	Triticale n = 4	1,7 (0,7 – 2,7) ± 0,44	6,8 (0,0 – 25,3) ± 6,18	0,7 (0,0 – 1,3) ± 0,38	47,2 (4,0 – 66,7) ± 14,56	nicht geprüft ³⁾	
2001/2002	Winterweizen n = 5	0,1 (0,0 – 0,7) ± 0,14	6,4 (0,0 – 18,0) ± 3,76	0,3 (0,0 – 0,7) ± 0,17	10,5 (0,0 – 40,7) ± 7,73	0,0 ± 0,0	19,3 (0,0 – 89,3) ± 17,5
	Triticale n = 1	0,0	41,3	0,0	78,0	2,7	36,0

¹⁾ Standardfehler des Mittelwertes

²⁾ Zwei der fünf Prüfstandorte waren zum Zeitpunkt der Testung bereits geerntet, deshalb beruht die Berechnung auf n = 3.

³⁾ Die Triticale war zum Zeitpunkt der Testung bereits an allen vier Standorten geerntet.

Wie bereits erwähnt, wurde vom Herbst 2000 bis zum Frühjahr 2001 ein sprunghafter Anstieg des Befalls mit BYDVs in Wintergerste registriert. Diese Zunahme war auch im Winterweizen und in der Triticale zu beobachten. Im Winterweizen wiesen im Herbst 4,4 % aller Pflanzen eine Infektion mit den BYDVs auf. Die Infektionsrate stieg bis zum Frühjahr auf 40,1 % an. Im Frühsommer waren lediglich 9,6 % aller geprüften Pflanzen infiziert.

In Triticale erhöhte sich die Befallsrate vom Herbst 2000 (6,8 %) bis zum Frühjahr auf 47,2 %. Auch in der Vegetationsperiode 2001/2002 wurde ein stärkeres Auftreten der BYDVs verzeichnet. Die entsprechenden Werte betragen im Herbst, Frühjahr bzw. Frühsommer bei Winterweizen 6,4 %, 10,5 % bzw. 19,3 % und bei Triticale bei 41,3 %, 78,0 % bzw. 36,0 %. Maximal 1,0 % aller geprüften Pflanzen waren doppelt infiziert. Eine Ausnahme bildete Winterweizen in der Vegetationsperiode 2000/2001. Im Frühjahr wiesen 5,9 % und im Frühsommer 3,1 % aller untersuchten Pflanzen eine Doppelinfektion auf (Tab. A-2).

In den Vegetationsperioden 2000/2001 und 2001/2002 wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen Aussattermine, Sorte und Virusauftreten zu finden (Tab. A-3). Anders als bei Wintergerste war bei Winterweizen der Einfluß einer Frühsaat auf den Virusbefall deutlich zu erkennen. So blieb 2000/2001 der Bestand Langenbogen II ('Charger'), der Anfang November gedrillt wurde, im Herbst und Frühjahr befallsfrei. Hingegen der benachbarte Bestand Langenbogen I ('Kontrast', Aussaat: 11.09) wies bereits im Herbst einen Befall mit dem WDV (6,7 %) und mit den BYDVs (1,3 %) auf. Bis zum Frühjahr stiegen die Befallsraten auf 9,3 % (WDV) bzw. 54,0 % (BYDVs). In der Vegetationsperiode 2001/2002 blieb die Mehrzahl der geprüften Bestände von Winterweizen, welche ab Mitte Oktober zur Aussaat kamen, frei von Virusinfektionen. Hingegen konnte ein Befall sowohl mit dem WDV als auch mit den BYDVs in jenen Beständen nachgewiesen werden, die Mitte September gedrillt wurden. Dazu gehörte der Standort Lettin ('Cardos'). Die Aussaat erfolgte vom 11. bis 14.09. Die Befallsraten betragen im Herbst beim WDV 0,7 % und bei den BYDVs 18,0 %. Die Infektion mit WDV blieb im Frühjahr konstant, wohingegen die Befallsrate mit den BYDVs auf 40,7 % anstieg. Die Aussaat am Standort Spickendorf ('Bussard') erfolgte am 21.09. Obwohl kein Befall mit dem WDV vorlag, waren bereits im Herbst 12,7 % aller Pflanzen von BYDVs infiziert. Im Frühjahr konnten das WDV mit 0,7 % und die BYDVs mit 9,3 % ermittelt werden.

Die geringe Anzahl der untersuchten Bestände von Triticale erlaubt keine Aussage hinsichtlich des Einflusses von Aussattermin und der Sorte auf den Virusbefall. Die Aussaat-

zeiten aller geprüften Bestände lagen Anfang bis Mitte September. Im Herbst 2000 war nur der Bestand Benkendorf ('Lupus') mit 25,3 % ausnehmend stark mit den BYDVs infiziert. Der Befall mit dem WDV lag bei 1,3 %. Der Ende September gedrillte Bestand in Höhnstedt ('Vitalis') wies lediglich einen geringen Befall mit dem WDV (2,0 %) auf. BYDVs traten nicht auf.

Im Jahr 2001 konnte nur ein Bestand von Triticale untersucht werden (Zscherben, 'Trimarant'). Dieser wurde Mitte September gedrillt. In den geprüften Pflanzen war kein WDV, jedoch ein hoher Befall mit den BYDVs (41,3 %) zu beobachten, was die Situation in allen anderen geprüften Getreidearten widerspiegelt.

4.3 Untersuchungen zum Wirkkreis des WDV

4.3.1 Grasarten

In den dreijährigen Prüfungen von Wild- und Kulturgräsern konnten acht neue Wirtspflanzen des WDV identifiziert werden. Zusätzlich erwies sich eine Pflanze von *Setaria italica* (L.) P. Beauv. (Spickendorf, 2001, im Winterweizenbestand) als mit dem Weizenstamm infiziert. Die Kolbenhirse zählte bisher nicht zu den Wirtsgräsern des WDV. In der Wiederholung blieb diese Grasart befallsfrei. Die Arten *Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv. und *Festuca pratensis* Huds. wurden in zwei bzw. drei Jahren geprüft. Es gelang lediglich in Einzelpflanzen ein Nachweis des WDV unter Verwendung eines DAS-ELISA.

In Tabelle 20 sind alle Einzelpflanzen, die mittels DAS-ELISA positiv auf eine Infektion mit dem WDV reagierten, aufgelistet. Bei den fettgedruckten Arten handelt es sich um neu gefundene Wirtsgräser (Symptomausbildung an *Bromus arvensis* L., Abb. 7). Weiterhin wird das Vorkommen des Gersten- bzw. Weizenstammes dargestellt, wobei der Nachweis mittels PCR erfolgte. Da die Prüfung der Wirtseignung unter natürlichen Bedingungen im Freiland durchgeführt wurde, sind die hohen Schwankungen der Infektionsraten erklärbar. Zum Zeitpunkt der Probenentnahme stand bei Einzelpflanzen bestimmter Arten nur relativ wenig Probenmaterial zu Verfügung. Dies hatte zur Folge, dass nicht alle im DAS-ELISA geprüften Pflanzen auch einer PCR unterzogen werden konnten. Als Beispiel sei *A. sterilis* (1999/Elsdorf) aufgeführt: von neun Pflanzen die im ELISA als mit dem WDV infiziert erkannt wurden, konnten nur zwei mittels PCR geprüft werden. Beide enthielten den Gerstenstamm.

Tab. 20: Nachweis des WDV mittels DAS-ELISA und PCR in Einzelpflanzen verschiedener Arten von Wild- und Kulturgräsern in Beständen von Wintergerste bzw. Winterweizen in den Jahren 1999 (Elsdorf), 2000 (Zscherben) und 2001 (Spickendorf)

Pflanzenart	Anzahl infizierter Einzelpflanzen/Anzahl geprüfter Pflanzen in WDV-infizierten Beständen von							
	Wintergerste						Winterweizen	
	Elsdorf 1999		Zscherben 2000		Spickendorf 2001		Spickendorf 2001	
	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR
<i>Apera spica-venti</i> (L.) P. Beauv.	n.t. ¹⁾	-	n.t.	-	0/10	-	2/9	2/2 1/2 ²⁾
<i>Avena fatua</i> L.	2/9	1/1	n.t.	-	0/10	-	2/10	2/2
<i>A. hybrida</i> Peterm.	n.t.	-	n.t.	-	7/10	7/7	2/10	2/2
<i>A. sterilis</i> L.	9/10	2/2	9/10	4/4	10/10	10/10	6/10	6/6
<i>A. sterilis</i> ssp. <i>ludoviciana</i> Dur.	n.t.	-	10/10	4/4	n.t.	-	n.t.	-
<i>Bromus arvensis</i> L.	0/8	-	6/9	5/6	0/10	-	0/9	-
<i>B. commutatus</i> Schrad.	6/10	4/4	5/8	5/5	n.t.	-	n.t.	-
<i>B. hordeaceus</i> L.	1/10	0/1	2/10	2/2	1/10	0/1	0/10	-
<i>B. inermis</i> Leyss	1/2	1/1	0/10	-	0/10	-	0/10	-
<i>B. japonicus</i> Thunb. ex Murray	0/9	-	4/10	4/4	n.t.	-	n.t.	-
<i>B. secalinus</i> L.	4/9	1/1	7/9	3/3	4/10	2/4	1/10	1/1
<i>B. sterilis</i> L.	0/10	-	2/10	2/2	0/10	-	0/10	-
<i>B. tectorum</i> L.	3/10	1/1	2/10	2/2	0/10	-	0/10	-
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) P. Beauv.³⁾	n.t.	-	2/6	0/2	0/10	-	0/10	-

Fortsetzung Tab. 20

Pflanzenart	Anzahl infizierter Einzelpflanzen/Anzahl geprüfter Pflanzen in WDV-infizierten Beständen von							
	Wintergerste						Winterweizen	
	Elsdorf 1999		Zscherben 2000		Spickendorf 2001		Spickendorf 2001	
	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR
<i>Festuca pratensis</i> Huds. ³⁾	0/10	-	1/10	0/1	0/10	-	0/10	-
<i>Lagurus ovatus</i> L.	0/10	-	3/5	3/3	0/10	-	0/10	-
<i>Lolium remotum</i> Schrk.	0/10	-	4/4	1/1	4/9	3/4	1/10	1/1
<i>L. temulentum</i> L.	0/8	-	5/10	4/4	0/10	-	8/10	2/2
<i>Phalaris arundinacea</i> L.	1/2	1/1	n.t.	-	1/10	1/1	1/9	1/1
<i>Poa annua</i> L.	0/8	-	2/10	1/2	0/10	-	0/10	-
<i>Setaria italica</i> (L.) P. Beauv. ³⁾	n.t.	-	n.t.	-	0/10	-	1/10	1/1
<i>Hordeum vulgare</i> L. 'Theresa'	n.t.	-	1/7	n.t.	0/10	-	3/10	1/3 2/3
<i>H. vulgare</i> L. 'Pasadena'	n.t.	-	n.t.	-	6/10	6/6	2/10	2/2
<i>Triticum aestivum</i> L. emend Fiori et Paol. 'Alcedo'	n.t.	-	1/4	-	0/10	-	5/10	4/5
<i>T. aestivum</i> L. emend Fiori et Paol. 'Lavett'	n.t.	-	n.t.	-	0/10	-	9/10	8/8

¹⁾ Art wurde im entsprechenden Jahr nicht getestet

²⁾ in einer der Pflanzen wurden beide Stämme nachgewiesen

³⁾ neue Wirtsart unter Vorbehalt

Eintrag in Spalte „PCR“:

schwarz

Nachweis des bs

rot

Nachweis des ws

Von besonderem Interesse sind die Resultate der Untersuchungen mittels PCR. Demnach erwiesen sich alle Gräser, die 1999 und 2000 in Flächen mit Wintergerste gepflanzt wurden, als mit dem Gerstenstamm infiziert. Im Jahr 2001 lag zwischen der Wintergerste und dem –winterweizen lediglich ein Feldweg. Auch in diesem Fall enthielten die infizierten Gräser aus dem Bestand mit Wintergerste nur den Gerstenstamm, während in solchen aus dem Winterweizenbestand neben dem Weizen- auch vereinzelt der Gerstenstamm gefunden werden konnte. In jeweils einer Pflanze von *A. spica-venti* und *H. vulgare* ('Theresa') traten Doppelinfektionen mit beiden Stämmen auf. In Ausnahmefällen versagte offensichtlich die PCR, obwohl im ELISA WDV nachgewiesen werden konnte (z.B. *B. secalinus*, *L. remotum*, 2001/Spickendorf).

Als Ursache hierfür könnte die schwierige Extraktion der DNA aus trockenem Pflanzenmaterial genannt werden. Nach den aufgeführten Befunden sind mehrere Grasarten als Wirte beider Stämme zu betrachten. Im einzelnen handelt es sich um die Species *A. spica-venti*, *A. fatua*, *A. hybrida*, *A. sterilis*, *B. secalinus*, *L. remotum*, *L. temulentum*, *P. arundinacea*, und *H. vulgare*.

In Tabelle 20 fehlen die Infektionen mit den BYDVs. Im Jahr 1999 erwies sich lediglich eine einzige Pflanze von *L. ovatus* im ELISA als positiv. Hingegen konnten im Jahr 2001 im Wintergerstenbestand 22,4 % (62/277) und im Winterweizenbestand 15,1 % (42/278) der Gräser als mit den BYDVs infiziert gefunden werden. In Tabelle 21 sind sämtliche Wirtsarten des WDV aufgelistet, in denen gleichfalls eine Infektion mit den BYDVs nachgewiesen wurde. Bemerkenswert erscheint dabei das ausnahmslose Vorkommen der BYDVs in Doppelinfektionen mit dem WDV. Im Versuchsfeld Wintergerste waren 11,9 % aller Gräser mit dem WDV infiziert, im Versuchsfeld Winterweizen sogar 15,5 %. Doppelinfektionen fanden sich am erstgenannten Standort in 5,4 % aller infizierten Pflanzen. Im Winterweizenbestand betrug der entsprechende Wert 4,7 %.



Abb. 7: Mit dem WDV infizierte Pflanzen von *Bromus arvensis* L.

Tab. 21: Befall der Gräser mit dem WDV und den BYDVs in Beständen von Winterweizen und Wintergerste in Spickendorf im Jahr 2001

Pflanzenart	Anzahl infizierter Gräser/Anzahl geprüfter Pflanzen in					
	WDV-infizierte Wintergerste			WDV-infizierter Winterweizen		
	WDV	BYDVs	davon Doppelin- fektionen	WDV	BYDVs	davon Doppelin- fektionen
<i>Apera spica-venti</i> (L.) P. Beauv.	0/10	0/10	0/10	2/9	2/9	2/9
<i>Avena fatua</i> L.	0/10	0/10	0/10	2/10	1/10	1/10
<i>A. hybrida</i> Peterm.	7/10	0/10	0/10	2/10	1/10	1/10
<i>A. sterilis</i> L.	10/10	7/10	7/10	6/10	2/10	2/10
<i>Bromus hordeaceus</i> L.	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
<i>B. secalinus</i> L.	4/10	2/10	2/10	1/10	0/10	0/10
<i>Lolium remotum</i> Schrk.	4/9	2/9	2/9	1/10	0/10	0/10
<i>L. temulentum</i> L.	0/10	0/10	0/10	8/10	1/10	1/10
<i>Phalaris arundinacea</i> L.	1/10	1/10	1/10	1/9	1/9	1/9
<i>Setaria italica</i> (L.) P. Beauv.	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10
<i>Hordeum vulgare</i> L. 'Theresa'	0/10	0/10	0/10	3/10	2/10	2/10
<i>H. vulgare</i> L. 'Pasadena'	6/10	3/10	3/10	2/10	2/10	2/10
<i>Triticum aestivum</i> L. emend Fiori et Paol. 'Alcedo'	0/10	0/10	0/10	5/10	1/10	1/10
<i>T. aestivum</i> L. emend Fiori et Paol. 'Lavett'	0/10	0/10	0/10	9/10	0/10	0/10
insgesamt	33/277 (11,9 %)	15/277 (5,4 %)	15/277 (5,4 %)	43/278 (15,5 %)	13/278 (4,7 %)	13/278 (4,7 %)

4.3.2 Getreidearten

In allen Untersuchungsjahren wurden auch verschiedene Getreidearten auf das Vorkommen der Stämme des WDV getestet. In Tabelle 22 sind die Ergebnisse dargestellt.

Tab. 22: Vorkommen der Stämme (bs, ws) des WDV in verschiedenen Getreidearten

Getreideart	infiziert mit		
	bs	ws	bs und ws
<i>Avena sativa</i> L.	43/ 57*	1/ 57	5/ 57
<i>Hordeum vulgare</i> L.	394/415	0/140	3/140
<i>Secale cereale</i> L.	0/ 1	0/ 1	-
x <i>Triticosecale</i> Wittm.	5/ 53	43/ 53	3/ 53
<i>Triticum aestivum</i> L. emend Fiori et Paol.	1/ 74	67/ 74	3/ 74

*) Anzahl positiver Pflanzen/Anzahl geprüfter Pflanzen

In Wintergerste und Hafer kommt der Gerstenstamm vor, in Winterweizen und Triticale hingegen der Weizenstamm. In Einzelpflanzen aller genannten Arten war mittels PCR auch der jeweils heterologe Stamm nachzuweisen, zum Teil sogar in ein und derselben Pflanze. Inwieweit es sich hierbei um unspezifische Reaktionen gehandelt hat, muß in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Andererseits reagierten einige der im DAS-ELISA positiv auf WDV getesteten Getreidepflanzen weder mit den Primern für den Gersten- noch mit denen für den Weizenstamm. Dies betraf auch die einzelne geprüfte Winterroggenpflanze. Über den in dieser Getreideart vorkommenden Stamm des WDV kann somit keine Aussage getroffen werden.

4.3.3 *Zea mays* L.

In der Literatur gilt Mais als Nichtwirtspflanze des WDV. In mehrjährigen eigenen Untersuchungen konnte dies bestätigt werden. Von den insgesamt vier geprüften Sorten und ca. 3000 Einzelpflanzen unbekannter Sorten aus dem Untersuchungsgebiet, erwiesen sich alle Proben nach den Ergebnissen des DAS-ELISA als befallsfrei. Im Rahmen eines dreijährigen Freilandversuches (Provokationsfeld), wobei fünf Inzuchtlinien einbezogen waren, stellte sich heraus, daß FAP 1360A natürlich infiziert werden kann (Tab. 23).

Die Befallsraten schwankten zwischen 6,8 % (1998, Elsdorf) und 31,2 % (1997, Merseburg). Vom Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim (Prof. Dr. A. Melchinger) standen 13 Kreuzungen der FAP 1360A mit anderen Inzuchtlinien zur Verfügung, die im Jahr 1998 ebenfalls einer natürlichen Infektion mit dem WDV (Provokationsfeld) ausgesetzt wurden.

Tab. 23: Anfälligkeit verschiedener Genotypen von Mais gegenüber dem WDV in Freilandversuchen der Jahre 1997, 1998 sowie 2000

Genotyp	1997		1998	2000
	Zickeritz	Merseburg	Elsdorf	Zscherben
D 21	0/89*)	0/65	-**)	-
D 32	0/82	0/58	-	-
D 408	0/71	0/45	-	-
FAP 1360A	15/91	29/93	6/88	3/24
Pa 405	0/83	0/45	-	-
Pa 405 x FAP 1360A	-	-	0/97	-
FAP 1360A x Pa 405	-	-	0/83	-
FAP 1360A x D 06	-	-	-	3/23
FAP 1360A x D 30	-	-	-	0/20
D 21 x FAP 1360A	-	-	0/87	-
FAP 1360A x D 21	-	-	0/87	-
D 32 x FAP 1360A	-	-	0/84	-
FAP 1360A x D 32	-	-	0/97	-
FAP 1360A x D 61	-	-	-	0/24
FAP 1360A x D 63	-	-	-	0/28
FAP 1360A x D 67	-	-	-	0/24
RZ05/D-FAP x FAP 1360A	-	-	0/93	-
FAP 1360A x RZ05/D-FAP	-	-	4/91	-
‘Helga’	0/101	0/ 93	0/87	-
‘Betuflor’	0/102	0/100	0/95	-
‘Bermasil’	0/106	0/ 91	-	-
‘Bezemara’	0/104	0/100	-	-

*) Anzahl infizierter Pflanzen/Anzahl geprüfter Pflanzen

**) nicht geprüft

Von allen geprüften Hybriden zeigte lediglich FAP 1360A x RZ05/D-FAP einen Befall von 4,4 %. Bei dieser Kreuzung diente die anfällige Linie als Mutter.

Dies war Anlaß, im Jahr 2000 weitere Hybriden, bei denen die FAP 1360A gleichfalls als Mutter eingegangen war, bezüglich ihrer Anfälligkeit gegenüber dem WDV zu untersuchen

(Tab. 23). Wiederum erwies sich lediglich der Hybrid FAP 1360A x D 06 als anfällig, alle anderen blieben befallsfrei.

Nach Etablierung der PCR im Jahr 1998 war es möglich, alle infizierten Einzelpflanzen von Mais hinsichtlich des enthaltenen Stammes des WDV zu überprüfen. Dabei wurde stets der Gerstenstamm nachgewiesen. Es muß jedoch darauf aufmerksam gemacht werden, daß in allen Fällen infizierte Wintergerste als Infektionsquelle diente. Jeweils eine Pflanze aus dem Jahr 1998 bzw. 2000 reagierte weder mit den Primern des Gersten- noch mit denen des Weizenstammes.

4.4 Untersuchungen zur Interaktion zwischen dem WDV und der Zikade *P. alienus*

4.4.1 Untersuchungen zur Übertragung des WDV durch *P. alienus* unter Laborbedingungen

4.4.1.1 Ermittlung der Effektivität der Übertragung des WDV durch die einzelnen Entwicklungsstadien von *P. alienus* sowie die Ermittlung der Persistenz des WDV im Vektor

4.4.1.1.1 Biologischer Test

Zum Verständnis des Auftretens einer Viruserkrankung sind Kenntnisse zu den Interaktionen von Virus und Vektor von großer Bedeutung. Deshalb war es von Interesse, in einem biologischen Test die Effizienz der Übertragung durch die einzelnen Entwicklungsstadien von *P. alienus* zu ermitteln. Die im Versuch eingesetzten Zikaden entstammten einer virusfreien Zucht (Kap. 3.5.1.1). In Tabelle 24 sind die Resultate in zusammengefaßter Form wiedergegeben. Insgesamt war festzustellen, daß alle Entwicklungsstadien in der Lage sind, das WDV aufzunehmen und abzugeben, wenn auch mit einer unterschiedlichen Effektivität. Die jüngeren Entwicklungsstadien (L1 bis L3) stellen im Vergleich zu den älteren Larven (L4 und L5) und den Imagines die effektiveren Vektoren dar. Die höchste Effizienz bezüglich der Virusübertragung wurde mit 58,3 % bei den Larven des L2 ermittelt. Hingegen waren die Larven des L5 nur zu 18,3 % befähigt, das Virus weiterzugeben. Im Hinblick auf den Übertragungsmodus wurden zwischen den Einzelindividuen bemerkenswerte Unterschiede festgestellt, auf die im folgenden näher eingegangen werden soll. Die Ergebnisse aller überprüften Zikaden sind im Anhang (Tab. A-4) aufgelistet.

Tab. 24: Effektivität der Übertragung des WDV durch die Larvenstadien (L1 bis L5) und die Imagines von *P. alienus*

Entwicklungsstadium zum Zeitpunkt der Virusaufnahme	Anzahl der Zikaden	Übertragungsrate	
		absolut	relativ (%)
L1	31	16	51,6
L2	24	14	58,3
L3	29	12	41,4
L4	62	18	29,0
L5	60	11	18,3
Imagines	42	17	40,5
insgesamt	248	88	35,5

Vom Stadium L1 standen 31 Tiere zur Verfügung, von denen insgesamt 16 Zikaden (51,6 %) das WDV übertrugen. Neun der 16 Tiere (56,3 %) gaben einmal, zwei Zikaden (12,5 %) zweimal und fünf *P. alienus* (31,3 %) mehrmals hintereinander das WDV an Wintergerstenpflanzen ab. Zwölf (75,0 %) der 16 virusübertragenden Larven infizierten die Pflanzen innerhalb von fünf Tagen, also noch im L1 kurz nach der Virusaufnahme. Bis zum Absterben als Imagines waren sie dann zu keinen weiteren Übertragungen befähigt, obwohl sie in Einzelfällen > 100 Tage überlebten. Die Zikaden Nr. 17 und 38 häuteten sich bereits während der Virusaufnahme (24 Stunden). Die erste Übertragung erfolgte dann im Stadium L2. Als Beispiel sei die Zikade Nr. 38 genannt. Sie übertrug das WDV fünf Tage nach der Virusaufnahme als L2. Nach einer Unterbrechung setzte zwischen dem 10. und 15. Tag eine erneute Übertragung ein. Das Tier Nr. 21 war hingegen bis 40 Tage nach der Virusaufnahme über alle Larvenstadien hinweg bis zum Imago imstande, das WDV kontinuierlich weiterzugeben.

Zur Ermittlung der Übertragungsrate des L2 wurden 24 Larven eingesetzt. Davon übertrugen 14 Tiere (58,3 %) das WDV. Bezüglich der Häufigkeit der Virusweitergabe waren acht (57,1 %) einmal, zwei (14,3 %) zweimal und vier Tiere (28,6 %) mehrmals zur Übertragung befähigt. Der größerer Teil der Zikaden (10 von 14, 71,4 %) war innerhalb der ersten fünf Tage nach Virusaufnahme in der Lage, die Wintergerste zu infizieren. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich alle Zikaden noch im L2. Eine Ausnahme bildete das Tier Nr. 32, da es sich bereits während der Virusaufnahme zur L3 häutete. Teilweise gaben die Zikaden erst 10 bis 25 Tage nach der Virusaufnahme das WDV erstmals weiter. Als Beispiel sei das Tier Nr. 18 genannt, das 25 Tage nach Aufnahme eine einmalige Übertragung schaffte. Zu diesem Zeitpunkt befand es sich bereits im Imaginalstadium. Die

Zikade Nr. 32 legte nach zweimaliger erfolgreicher Abgabe (fünf bzw. zehn Tage nach Virusaufnahme) eine Pause von fünf Tagen ein, um danach erneut zu infizieren. Ähnlich wie die L1 übertrug die Mehrzahl der Larven des L2 das WDV in den ersten Lebensstagen. Obwohl einzelne Tiere eine hohe Lebenserwartung hatten (Nr. 31: 130 Tage, Nr. 20: 165 Tage), waren sie nicht mehr fähig, Infektionen zu setzen.

Vom Entwicklungsstadium L3 standen insgesamt 29 *P. alienus* zur Verfügung, von denen 12 Tiere (41,4 %) das WDV übertrugen. Während fünf Tiere (41,7 %) einmal, drei (25,0 %) zweimal übertrugen, konnten vier Zikaden (33,3 %) das WDV vier- bis siebenmal an Wintergerste weitergeben. 75,0 % der Zikaden übertrugen das Virus innerhalb der ersten fünf Tage. Von den übrigen drei *P. alienus* waren zwei 15 und eine Zikade erst 25 Tage nach der Virusaufnahme zur Übertragung befähigt. Auch in diesem Larvenstadium erfolgte entweder eine kontinuierliche Virusabgabe (Nr. 3, Nr. 6) oder es waren Pausen von bis zu 25 Tagen (Nr. 8) zwischengeschaltet. Bemerkenswert erscheint auch der Übertragungsmodus der Zikade 19b. Nachdem dieses Tier bis zum 25. Tag nach der Virusaufnahme das WDV kontinuierlich abgab, waren vor den beiden nächsten Übertragungen jeweils fünf Tage zwischengeschaltet. Eine Zikade häutete sich bereits innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Virusaufnahme und übertrug somit das WDV als L4. Einige Zikaden erwiesen sich trotz langer Lebensdauer nicht als Vektoren.

Von den 62 überprüften Tieren des Stadiums L4 übertrugen insgesamt 18 (29,0 %) das WDV. Sieben Zikaden (38,9 %) vermochten es einmal, sechs (33,3 %) zwei-, zwei (11,1 %) drei- und drei (16,7 %) viermal. 50,0 % der erfolgreichen Larven übertrugen das WDV innerhalb der ersten fünf Tage nach Virusaufnahme. Eine Virusabgabe erfolgte auch bei den L4 entweder kontinuierlich (allerdings nur über einen Zeitraum von 20 Tagen) oder mit Unterbrechungen. Bezüglich zwischengeschalteter Pausen verhielten sich die L4 ähnlich wie die anderen Larvenstadien.

Vom Entwicklungsstadium L5 waren insgesamt 60 Tiere in die Übertragungsversuche einbezogen. Die Effektivität erreichte mit 18,3 %, das entspricht elf Tieren, ein relativ niedriges Niveau. Von den genannten elf Tieren lösten neun Tiere (81,8 %) lediglich eine einzige WDV-Infektion aus. Eine Zikade infizierte zweimal (Nr. 55), ein weiteres Tier sogar sechsmal (Nr. 38). Als bemerkenswert hat sich der Übertragungsmodus der Zikade Nr. 25 dargestellt. Erst 65 Tage nach der Virusaufnahme erfolgte eine einmalige Abgabe des WDV.

Von 42 Imagines schafften 17 (40,5 %) eine erfolgreiche Übertragung. Im einzelnen gelang das sieben Zikaden einmal (41,2 %), zwei (11,8 %) zweimal und acht Tieren (47,1 %) mehr als dreimal. Hervorhebenswert erscheint der Übertragungsmodus der Tiere Nr. 1, 3, 6 und 24, die das WDV 19mal, 16mal, 16mal bzw. achtmal abgaben. Damit erwiesen sich die Imagines als die effektivsten Virusvektoren. Innerhalb der ersten fünf Tage gelang acht Tieren (47,1 %) die Virusübertragung. Alle anderen Zikaden waren dazu erst zehn (Nr. 14, 24, 26), 15 (Nr. 12, 25), 20 (Nr. 29), 35 (Nr. 7) bzw. 45 Tage (Nr. 11) nach der Virusaufnahme befähigt.

Zusammenfassend lassen sich zu den Übertragungsversuchen nachfolgende Aussagen treffen: insgesamt standen 248 Zikaden der verschiedenen Entwicklungsstadien von *P. alienus* für den Versuch zur Verfügung. 35,5 % aller Zikaden waren zur Weitergabe des WDV befähigt. Die Mehrzahl der Tiere übertrug das Virus bereits innerhalb der ersten fünf Tage nach der Virusaufnahme. Der Übertragungsmodus der Einzelindividuen gestaltete sich sehr variabel. Neben Tieren die nur einmal oder zweimal übertrugen, gab es solche, die dies kontinuierlich über eine längere Zeit bewältigten. Teilweise war die Übertragung durch mehr oder weniger lange Pausen unterbrochen. Die Persistenz des WDV im Vektor erreichte maximal 100 Tage.

Da die Weibchen für die Produktion der Eier einen höheren Nahrungsbedarf haben als die Männchen, lag die Vermutung nahe, daß sich unter den virusübertragenden Zikaden ein größerer Anteil Weibchen befinden müßte. In Tabelle 25 ist eine diesbezügliche Auswertung der Versuche dazu wiedergegeben.

Tab. 25: Anteil der Männchen bzw. Weibchen im biologischen Test WDV-übertragender *P. alienus*

Entwicklungsstadium	Übertragung des WDV durch		
	Männchen	Weibchen	Geschlecht nicht bestimmbar
L1	5	2	9
L2	2	1	11
L3	*)	-	1
L4	3	8	7
L5	3	2	6
Imagines	4	3	10
insgesamt	17	16	44

*) Es konnten keine Zikaden mehr identifiziert werden, die im biologischen Test positiv reagierten

Die Bestimmung des Geschlechtes der Zikaden erfolgte nur am adulten Tier. Alle Zikaden verblieben bis zu ihrem natürlichen Ableben auf Wintergerste. Da die Imagines aller fünf Tage auf neue gesunde Pflanzen übersetzt wurden, befanden sich abgestorbene Tiere zum Teil bereits im Verwesungsprozeß. Diese sowie die als Larven verendeten Tiere wurden in der Rubrik „Geschlecht nicht bestimmbar“ zusammengefaßt. Insgesamt handelt es sich um 44 Exemplare.

Hinsichtlich der Übertragung des WDV waren zwischen Männchen und Weibchen keine Unterschiede zu finden. Von den insgesamt 33 identifizierten Zikaden erwiesen sich 17 männliche bzw. 16 weibliche zur Virusübertragung befähigt.

4.4.1.1.2 PCR

Alle nach Abschluß des Versuches aufgefundenen Zikaden wurden mittels PCR auf WDV geprüft. Die Ergebnisse dazu sind in Tabelle 26 aufgeführt.

Tab. 26: Vergleich der PCR mit dem biologischen Test zum Nachweis des WDV in den für die Übertragungsversuche eingesetzten Tieren der Entwicklungsstadien L1 bis L5 sowie Imagines von *P. alienus*

Entwicklungs- stadium	Biologischer Test			
	positiv		negativ	
	davon in der PCR		davon in der PCR	
	+	-	+	-
L1	5	3	3	1
L2	4	2	2	1
L3	1	0	5	1
L4	10	2	11	14
L5	5	0	21	6
Imagines	7	0	9	3
insgesamt	32	7	51	26

Insgesamt waren 116 *P. alienus* in den Vergleich des biologischen Testes (Ermittlung der virusübertragenden Tiere) und der PCR (Ermittlung der virustragenden Tiere) einbezogen. Von diesen übertrugen 39 Zikaden (33,6 %) das WDV, 77 Tiere (66,4 %) waren dazu nicht in der Lage. Von den 39 virusübertragenden Zikaden reagierten in der PCR nur 32 (27,6 %) positiv, während sich von den 77 nicht übertragenden Tieren wider Erwarten 51 (44,0 %) in der PCR positiv erwiesen. Hieraus ergibt sich die Tatsache, daß nicht alle Zikaden, die WDV aufnehmen, in der Lage sind, erfolgreich Infektionen zu setzen.

Vergleicht man beide Testmethoden, ergibt sich eine Übereinstimmung von 50,0 %. Der Tabelle 26 ist zu entnehmen, daß sich mittels PCR acht Individuen des Stadiums L1 als positiv erwiesen, wovon lediglich fünf das WDV auf Wintergerste übertrugen. Ähnliche Verhältnisse ergaben sich für das L2. Insgesamt reagierten sechs Zikaden mittels PCR positiv, vier von ihnen wurden als virusübertragend ermittelt. Die entsprechenden Werte für das L3 betragen: virustragend sechs Tiere, davon infizierte eine Zikade Wintergerste. Für das L4 wurden 21 virustragende Zikaden ermittelt, von denen zehn als Vektor fungierten. Im L5 konnte in 26 *P. alienus* das WDV nachgewiesen werden, jedoch nur fünf Zikaden hatten zuvor WDV übertragen. Alle sieben virusübertragenden Imagines reagierten in der PCR positiv. Allerdings gelang auch bei neun Tieren, die keine Infektionen setzten, ein Virusnachweis. Insgesamt sieben Zikaden ohne Beachtung ihres Entwicklungsstadiums reagierten in der PCR negativ trotz vorheriger erfolgreicher WDV-Übertragung auf Wintergerste. In 32 Tieren gelang jedoch der Nachweis mittels PCR. Im Gegensatz dazu stellten sich 51 Tiere verschiedener Entwicklungsstadien als WDV-positiv heraus, obwohl der biologische Test für sie mit negativem Ergebnis verlief. Letztendlich waren 26 Zikaden weder virusübertragend noch virustragend. Aus Tabelle 27 kann die Lebenszeit der 51 überprüften Zikaden entnommen werden.

Tab. 27: Lebensdauer der Individuen von *P. alienus* (L1 bis L5 und Imagines), bei denen trotz erfolgreichem Nachweis des WDV mittels PCR eine Virusübertragung auf Wintergerste ausblieb

Entwicklungsstadium	Lebensdauer (Tage nach Virusaufnahme) von <i>P. alienus</i> (Gesamtanzahl)																		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95
L1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-
L2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
L3	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
L4	1	-	2	2	1	3	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-
L5	2	-	-	4	5	1	2	3	3	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Imagines		3	2	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
insgesamt (Anzahl Zikaden)	6	3	4	7	8	4	2	3	4	-	1	-	5	2	-	1	-	-	1

Danach starben 32 Tiere bereits im Verlauf der ersten 30 Tage nach der Virusaufnahme ab. Die restlichen 19 Zikaden überlebten bis maximal 95 Tage.

In Tabelle 28 wird ein Vergleich zwischen biologischem Test und PCR in Abhängigkeit vom Geschlecht der Zikaden dargestellt (42 Männchen, 48 Weibchen). 14 Männchen (33,3 %) und 14 Weibchen (29,2 %) reagierten sowohl im biologischen Test als auch in der PCR positiv. Zwei männliche und drei weibliche Zikaden infizierten Wintergerste, jedoch der Virusnachweis im Tier blieb aus. Ein Unterschied zwischen den Geschlechtern besteht offensichtlich nicht. Ähnliche Verhältnisse ergaben sich auch bei den Tieren, die sich als nicht virusübertragend herausstellten (16 Männchen bzw. 23 Weibchen).

Tab. 28: Vergleich des biologischen Testes mit einer PCR zum Nachweis des WDV in den für die Übertragungsversuche eingesetzten Tiere von *P. alienus*

Geschlecht/ Entwicklungs- stadium	Biologischer Test			
	positiv		negativ	
	davon in der PCR		davon in der PCR	
	+	-	+	-
Männchen				
L1	1	1	1	1
L2	1	0	0	1
L3	0	0	0	0
L4	7	1	3	6
L5	2	0	9	1
Imagines	3	0	3	1
insgesamt	14	2	16	10
Weibchen				
L1	3	2	1	0
L2	1	1	1	0
L3	0	0	1	1
L4	3	0	6	4
L5	3	0	10	3
Imagines	4	0	4	0
insgesamt	14	3	23	8

4.4.1.2 Akquisitionszeit und Zirkulationszeit

4.4.1.2.1 Biologischer Test

Ein weiterer Schwerpunkt der Untersuchungen der Interaktionen zwischen dem WDV und seinem Vektor betraf die Bestimmung der Akquisitionszeit, die für eine erfolgreiche Übertragung ausreicht. Gleichzeitig sollte die Zirkulationszeit des Virus im Vektor ermittelt werden. Wie im Kap. 3.5.1.2. beschrieben, kamen dabei ausschließlich Imagines zum Einsatz. Die schwierige Gestaltung der Stammzucht von *P. alienus* erlaubte keine einmalige Entnahme von Zikaden in großer Anzahl. Deshalb wurde der Versuch über einen längeren Zeitraum gestaffelt durchgeführt. Die Ergebnisse aller in den Versuch einbezogenen Einzeltiere sind im Anhang (Tab. A-5) aufgelistet. In zusammengefaßter Form sind die Resultate zur Akquisitionszeit in Tabelle 29 und zur Zirkulationszeit in Tabelle 30 dargestellt.

Tab. 29: Ermittlung der Akquisitionszeit des WDV in *P. alienus*

Saugzeit (Minuten)	Anzahl geprüfter <i>P. alienus</i>	Anzahl Zikaden mit erfolgreicher Übertragung
5	24	0
10	22	1
15	23	1
20	21	0
40	23	2

Wider Erwarten übertrugen nur vier Zikaden das WDV auf Wintergerste nach Saugzeiten von 10, 15 bzw. 40 Minuten an infiziertem Ausgangsmaterial. In der Literatur wird eine Akquisitionszeit von fünf Minuten als ausreichend beschrieben (VACKE, 1962).

Tab. 30: Zirkulationszeit des WDV in *P. alienus* bei unterschiedlichen Akquisitionszeiten

Akquisitionszeit (Minuten)	Anzahl Zikaden mit erfolgreicher Übertragung des WDV nach einer Zirkulationszeit von (Stunden)		
	24	48	72
10	1	0	0
15	0	0	1
40	1	0	1

Keine Virusweitergabe erfolgte von den Zikaden, die fünf bzw. 20 Minuten Gelegenheit hatten, das WDV aufzunehmen. Außer der Zikade Nr. 2/40 (Tab. A-5), welche einmalig Virus abgab, waren alle anderen Tiere in der Lage, mehrmals zu übertragen, allerdings mit zwischengeschalteten Unterbrechungen. So übertrug das Tier Nr. 1/10 24 h nach Virusaufnahme erstmalig. Nach einer Pause von einem Tag setzte es die Virusabgabe für drei Tage fort, unterbrach dann für weitere 24 h, um anschließend bis zum 11. Tag das WDV kontinuierlich abzugeben.

Entsprechend Tabelle 30 liegt die Zirkulationszeit zwischen 24 bis 72 Stunden. Hinweise aus der Literatur bestätigen diesen Wert (VACKE, 1962). Allerdings beruhen die eigenen Angaben auf einer sehr geringen Anzahl von Zikaden sowie einer niedrigen Übertragungsrate.

4.4.1.2.2 PCR

Nach Abschluß der Versuche erfolgte wiederum die Prüfung aller Zikaden mittels PCR. Die dabei erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 31 dargestellt, wobei unterschiedliche Akquisitionszeiten Berücksichtigung fanden.

Tab. 31: Nachweis des WDV mittels PCR in den für die Ermittlung der Akquisitions- bzw. Zirkulationszeit eingesetzten *P. alienus*

Saugzeit (Minuten)	Übertragung im biologischen Test			
	positiv		negativ	
	davon in der PCR		davon in der PCR	
	+	-	+	-
5	0	0	16	8
10	1	0	11	10
15	1	0	11	11
20	0	0	10	11
40	2	0	14	7

In allen Zikaden, die in der Lage waren, Wintergerste zu infizieren, wurde das WDV mittels PCR nachgewiesen. Ca. 50,0 % der Tiere nahmen bei den unterschiedlichen Saugzeiten das WDV auf. Bereits nach fünf Minuten Saugzeit konnten 66,7 % der Tiere als virustragend ermittelt werden, wobei der höchste Anteil nach einer Saugzeit von 40 Minuten bei 69,6 % lag. Von den Zikaden, denen 20 Minuten zur Virusaufnahme zur Ver-

fügung standen, hatten nur 47,6 % das WDV aufgenommen. Die relativen Anteile virustragender Zikaden bei zehn- und 15minütiger Saugzeit betrugen 54,5 % bzw. 52,2 %.

4.4.2 Ermittlung des Anteils virusübertragender und virustragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation im Freiland

4.4.2.1 Biologischer Test

Zum besseren Verständnis der Ausbreitung des WDV im Getreidebestand erfolgte die Ermittlung des Anteils virusübertragender bzw. virustragender *P. alienus* in einer Freilandpopulation. Wie im Kap. 3.5.2 beschrieben, wurden dazu in den Jahren 2000 bis 2002 im 16tägigen Rhythmus Zikaden im Freiland gefangen, einzeln sieben Tage lang auf Wintergerste und anschließend die gleiche Zeit auf Winterweizen gesetzt.

Die Abbildungen (8 bis 11) stellen den relativen Anteil der virusübertragenden *P. alienus* an der Gesamtpopulation am Standort Zscherben in den Jahren 2000, 2001 und 2002 bzw. am Standort Höhnstedt im Jahr 2002 dar. Im Anhang (Tab. A-6 und A-7) sind die Ergebnisse in tabellarischer Form aufgelistet.

Von insgesamt im Jahr 2000 gefangenen 279 *P. alienus* übertrugen 104 (37,3 %) den Gerstenstamm und zwei (1,8 %) zusätzlich den Weizenstamm (Abb. 8). Sie hatten offensichtlich beide Virusstämme aufgenommen. Bemerkenswert war in diesem Zusammenhang, daß im Juni 2000 der Anteil der virusübertragenden Zikaden deutlich höher lag (im Durchschnitt 78,4 %) als im Zeitraum Juli bis September, wo lediglich 17,6 % virusübertragende Zikaden ermittelt wurden. In der Neuansaat von Wintergerste (Oktober bis Dezember) stieg der Anteil auf 28,7 %.

Davon abweichende Resultate ergaben sich im Folgejahr auf demselben Schlag (Abb. 9). Von Mai bis Mitte Juni waren hohe Raten (durchschnittlich 54,1 %) virusübertragender Tiere zu beobachten. Anschließend erfolgte ein starker Rückgang. Im Herbst wurden die Untersuchungen auf demselben Feld fortgesetzt. Als Neuansaat stand Triticale, in der lediglich am 22.11. einige wenige virusübertragende Zikaden gefangen wurden (6,7 %).

Von insgesamt 428 im Jahr 2001 gefangenen *P. alienus* übertrugen 82 Tiere (19,2 %) das WDV. Eine Zikade war wiederum in der Lage sowohl Gerste als auch Weizen zu infizieren. Im Jahr 2002 lag der Anteil virusübertragender Zikaden noch niedriger als im Vorjahr (Abb. 10). Von insgesamt 127 gekescherten *P. alienus* war lediglich ein Tier (0,8 %) befähigt, WDV zu übertragen. Diese Zikade wurde am 02.10. an Ausfall-Triticale in bereits gedriltem Winterraps gefangen.

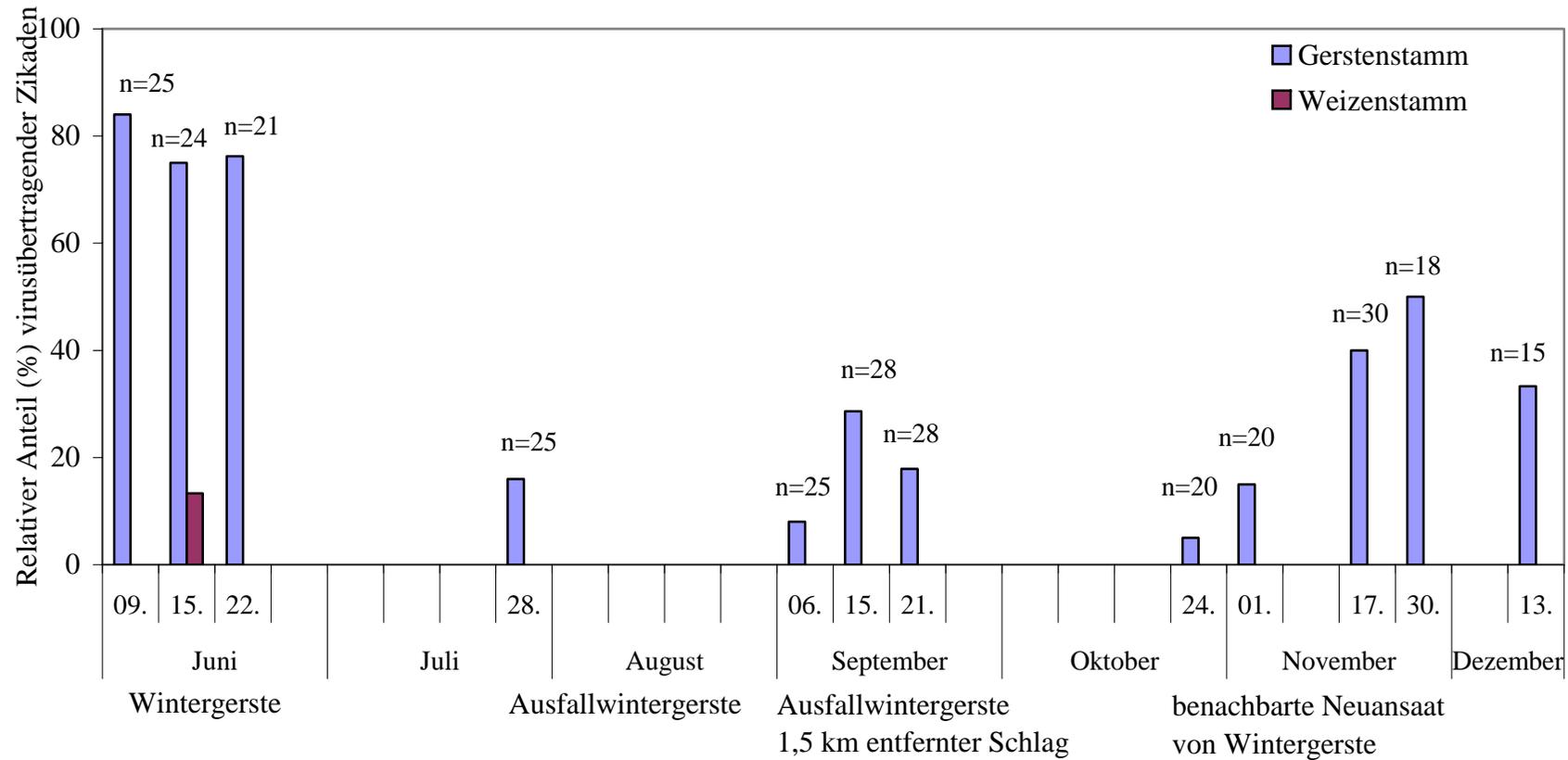


Abb. 8: Relativer Anteil (%) virusübertragender *P. alienus* in Wintergerste in Zscherben im Jahr 2000, ermittelt im biologischen Test

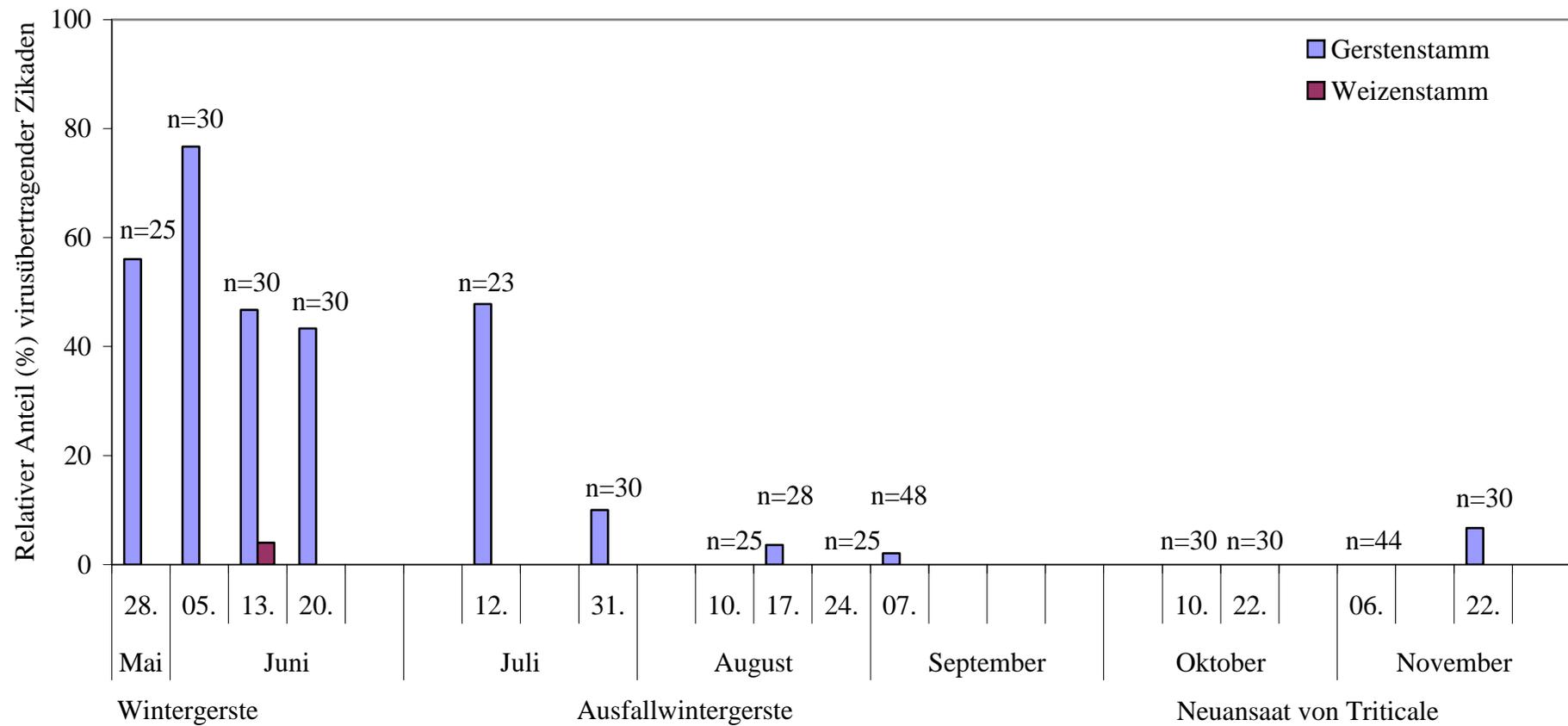


Abb. 9: Relativer Anteil (%) virusübertragender *P. alienus* in Wintergerste und Triticale in Zscherben im Jahr 2001, ermittelt im biologischen Test

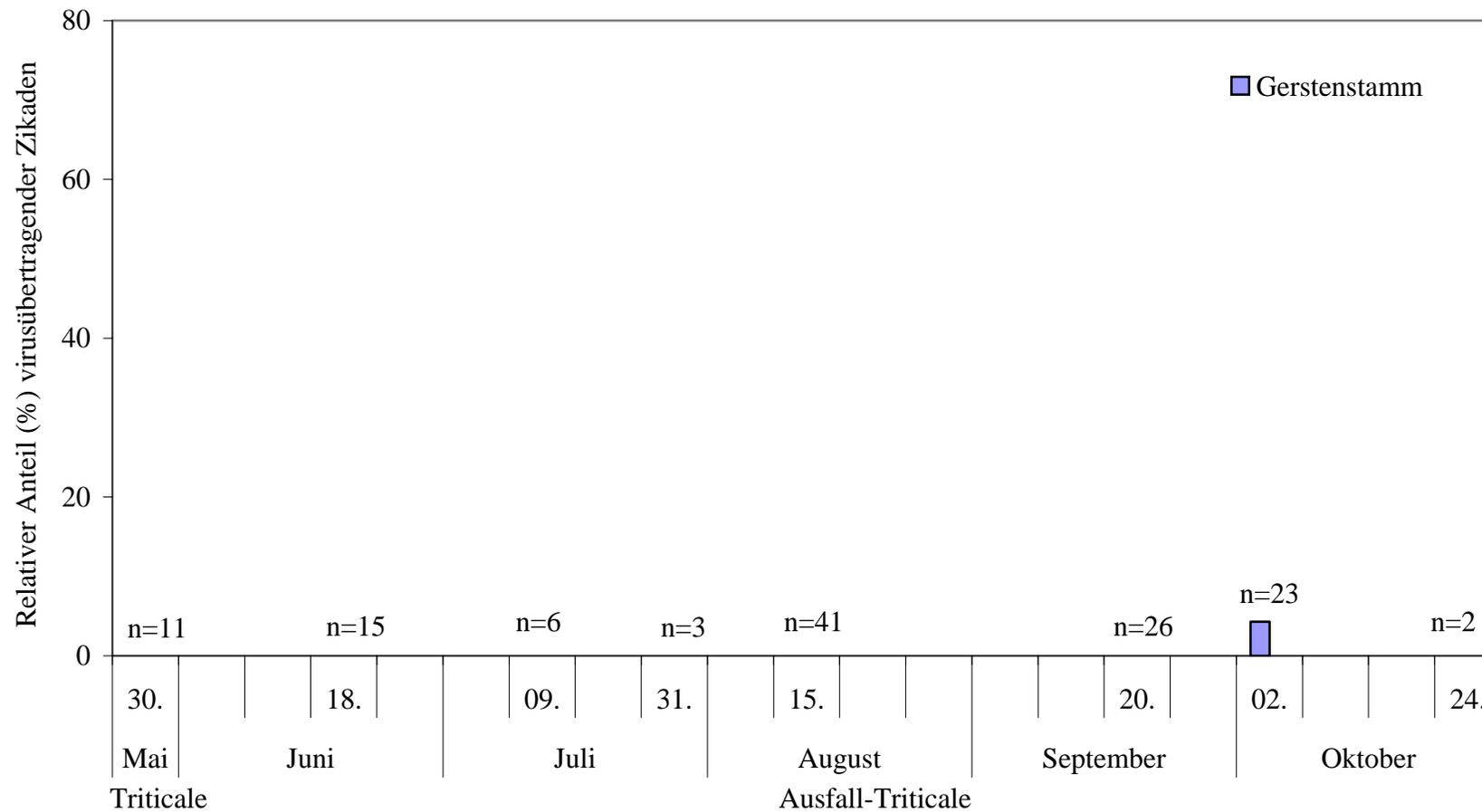


Abb. 10: Relativer Anteil (%) virusübertragender *P. alienus* in Triticale in Zscherben im Jahr 2002, ermittelt im biologischen Test

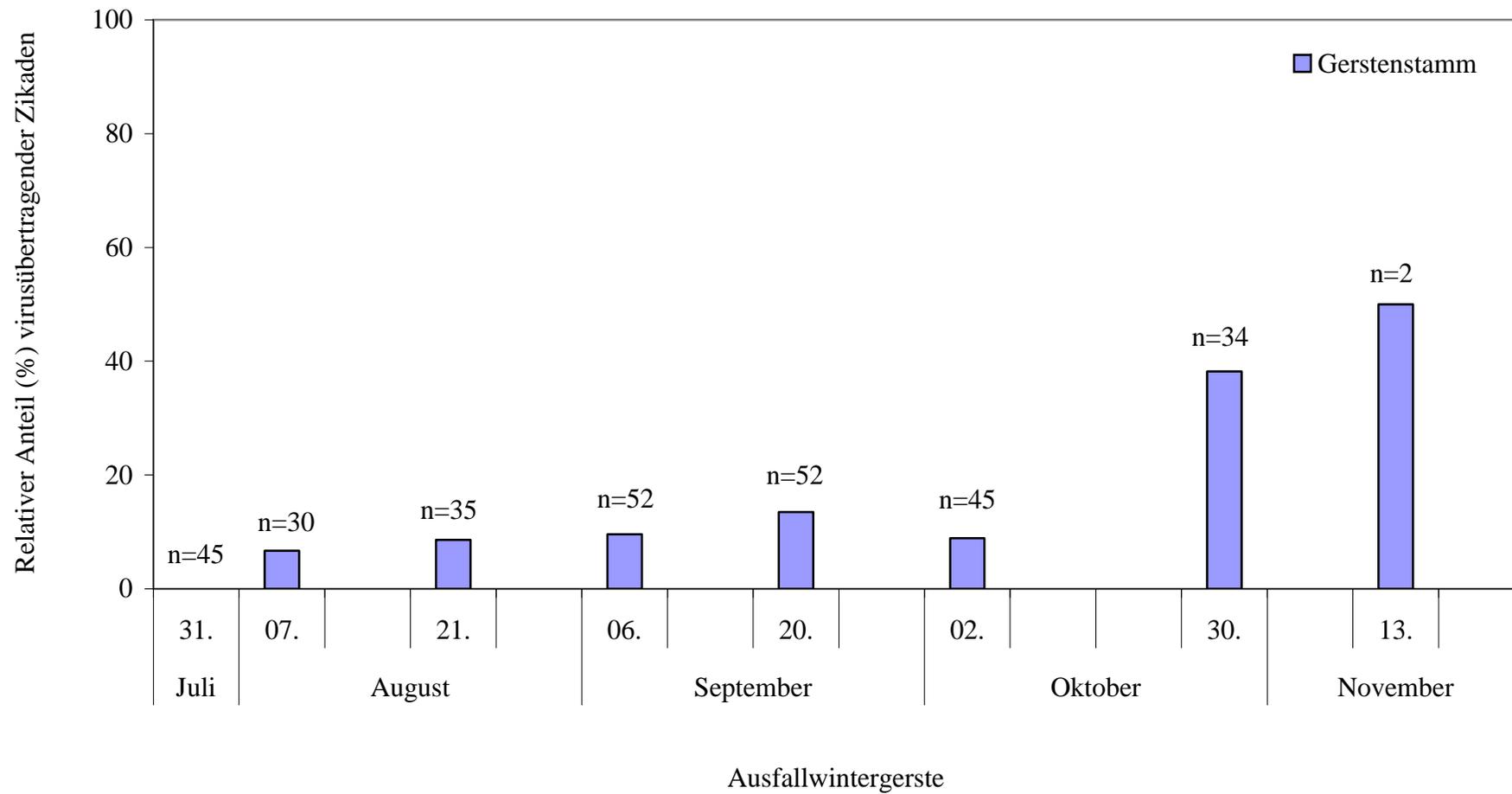


Abb. 11: Relativer Anteil (%) virusübertragender *P. alienus* in Ausfallwintergerste in Höhnstedt ab Juli 2002, ermittelt im biologischen Test

Offen blieb, ob der im Jahr 2000 in der Wintergerste gefundene Anstieg der virusübertragenden Zikaden im Herbst ein Einzelfall war. Deshalb wurde am Standort Höhnstedt ein weiterer Bestand mit Ausfallwintergerste beprobt. Nach vorangegangenen Untersuchungen (Arbeitsgruppe Dr. Habekuß, BAZ Aschersleben) hatte sich dieser Bestand im Frühsommer als mit dem WDV befallen erwiesen. Wie aus der Abbildung 11 zu entnehmen ist, wurde in der Ausfallwintergerste eine geringfügige Zunahme des Anteils virusübertragender Zikaden bis zum Herbst nachgewiesen, wenn auch auf einem weitaus niedrigerem Niveau als im Jahr 2000 am Standort Zscherben. Von den insgesamt 295 gefangenen *P. alienus* übertrugen 35 Tiere (11,9 %) das WDV auf Wintergerste. Keine der Zikaden war in der Lage, Winterweizen zu infizieren.

Insgesamt läßt sich feststellen, daß der Anteil virusübertragender *P. alienus* von 2000 bis 2002 stetig abgenommen hat. Ob sich hieraus eine Beziehung zur Befallsstärke des WDV ableiten läßt, soll anhand der Tabelle 32 für den Standort Zscherben erläutert werden.

Tab. 32: Auftreten des WDV und der BYDVs am Standort Zscherben in den Jahren 1999 bis 2002

Jahr/Getreideart	Befall (%) mit dem WDV und den BYDVs					
	Herbst		Frühjahr		Frühsommer	
	WDV	BYDVs	WDV	BYDVs	WDV	BYDVs
1999/2000 Wintergerste	16,0	0,7	38,9	0,0	15,3	1,3
2000/2001 Wintergerste	14,7	10,0	10,7	39,3	64,7	6,0
2001/2002 Triticale	0,0	41,3	0,0	78,0	2,7	36,0

Im Frühsommer der Jahre 2000 und 2001 wurde in der Wintergerste ein Befall mit dem WDV von 15,3 % (2000) bzw. von 64,7 % (2001) verzeichnet. Der Anteil virusübertragender Zikaden lag, wie bereits erwähnt, 2000 bei 78,4 % und 2001 bei 54,1 %. In Triticale wurde im Frühsommer 2002 ein Befall mit dem WDV von 2,7 % festgestellt. Alle dort gefangenen *P. alienus* erwiesen sich als virusfrei.

Ähnliche Verhältnisse ergaben sich im Herbst 2000. Der Anteil virusübertragender Zikaden betrug 28,7 %, die Infektionsrate der Wintergerste umfaßte 14,7 %. In der Triticale (2001) lag der Anteil virusübertragender Tiere 1,7 %, das heißt, zwei Zikaden von insge-

samt 134. In allen untersuchten Triticale-Pflanzen wurde kein Befall mit dem WDV nachgewiesen. Zusammenfassend ergibt sich, daß in den Jahren 1999 bis 2002 der Befall mit dem WDV kontinuierlich sank, hingegen der Befall mit den BYDVs anstieg, was die Situation im gesamten Untersuchungsgebiet widerspiegelt (Kap. 4.2.2).

4.4.2.2 PCR

Alle im Rahmen der Bestimmung des Anteils virusübertragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation gefangenen Zikaden wurden gleichfalls einer Testung mittels PCR unterzogen, soweit sie nach Abschluß der Versuche noch aufzufinden waren. Damit konnte der Anteil virustragender Tiere festgestellt werden. In den Tabellen 33 und 34 sind die Ergebnisse des biologischen Testes denen der PCR gegenübergestellt.

Tab. 33: Relativer Anteil virusübertragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation in den Jahren 2000 bis 2002, ermittelt im biologischen Test

Jahr	Anzahl gefangener <i>P. alienus</i>	Relativer Anteil (%) virusübertragender Zikaden	
		Wintergerste	Winterweizen
2000	279	37,3	1,4
2001	428	19,2	0,2
2002	125	0,8	0,0

Tab. 34: Relativer Anteil virustragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation in den Jahren 2000 bis 2002, ermittelt mit einer PCR

Jahr	Anzahl getesteter <i>P. alienus</i>	Relativer Anteil (%) virustragender Zikaden	
		Gerstenstamm	Weizenstamm
2000	120	41,7	0,8
2001	258	21,3	0,4

Werden die Resultate beider Methoden verglichen, ergeben sich zufriedenstellende Übereinstimmungen. Im Jahr 2000 übertrugen 37,7 % der Zikaden WDV auf Wintergerste, mittels PCR waren 41,7 % virustragend. Im Jahr 2001 lag der Anteil unter dem des Vorjahres: 19,2 % der Tiere infizierten Wintergerste, 21,3 % der Zikaden wurden als virus-

tragend nachgewiesen. Im Jahr 2002 gaben 0,8 % der Zikaden das WDV an Wintergerste weiter. Auf die Untersuchungen der Tiere mittels PCR mußte aus zeitlichen Gründen verzichtet werden. Ähnliche Ergebnisse konnten bei der Übertragung des Weizenstammes ermittelt werden, allerdings standen hier nur zwei Zikaden für die Auswertung zur Verfügung. Im Jahr 2000 übertrugen 1,4 % der Zikaden das WDV auf Weizen, mittels PCR erfolgte der Nachweis des Weizenstammes bei 0,8 %. Im Folgejahr lag der Anteil der Zikaden, die Winterweizen infizierten, ebenfalls unter dem des Vorjahres (0,2 %). Mittels PCR reagierten 0,4 % positiv. Im Jahr 2002 konnte keine Übertragung des WDV auf Weizen festgestellt werden.

Die Übereinstimmung beider Tests lag im Jahr 2000 bei 65,0 % und 2001 bei 88,8 %. Im Detail zeigt sich (Tab. 35), daß es innerhalb der Zikadenpopulationen aus dem Freiland hinsichtlich der Übertragung große Unterschiede gab (siehe auch Kap. 4.4.1.1.2).

Tab. 35: Vergleich zwischen biologischem Test und einer PCR zum Nachweis des Gerstenstammes des WDV in *P. alienus*

Jahr/ Anzahl (n) getesteter <i>P. alienus</i>	Biologischer Test			
	positiv		negativ	
	davon in der PCR		davon in der PCR	
	+	-	+	-
2000/n = 120	33	25	17	45
2001/n = 258	34	8	21	195

Einige Tiere (2000: 25 Zikaden, 2001: 8 Zikaden) infizierten Wintergerste, jedoch gelang kein Nachweis des WDV mittels PCR. Im Gegensatz dazu gab es Zikaden, die keine Infektionen setzten, jedoch in der PCR positiv reagierten (2000: 17 Tiere, 2001: 21 Tiere). Ein hoher Anteil an Zikaden reagierte im biologischen Test und mittels PCR negativ (2000: 45 und 2001: 195 *P. alienus*). Lediglich 33 (2000) bzw. 34 (2001) Zikaden übertrugen das WDV und konnten mittels PCR als positiv getestet werden.

Bezüglich der Übertragung des WDV auf Winterweizen und dem Nachweis des Weizenstammes wurde folgendes beobachtet: von den im Jahr 2000 gefangenen *P. alienus* übertrugen zwei Zikaden das WDV sowohl auf Wintergerste als auch auf Winterweizen (Fangtermin 15.06.). Diese Tiere reagierten in der PCR nur mit den Primer für den Gerstenstamm. In einer weiteren Zikade (vom 01.11.) wurden mittels PCR beide Stämme nachgewiesen. Sie war jedoch nicht in der Lage, das WDV auf Gerste bzw. Weizen zu übertragen.

Auch im Jahr 2001 konnten in einer Zikade (Fangtermin: 05.06.) beide Stämme bestimmt werden, allerdings waren auch diese Tiere nicht befähigt, Infektionen zu setzen. Am 13.06.2001 wurde eine Zikade gefangen, die das WDV sowohl auf Wintergerste als auch auf Winterweizen übertragen konnte. Leider war es nicht möglich, dieses Tier in der PCR zu prüfen.

5 Diskussion

Ein umfassendes epidemiologisches Wissen ist die Grundvoraussetzung für die Etablierung eines integrierten Bekämpfungsmanagements (JONES, 2004). Dazu gehören bei Erkrankungen, die durch Viren hervorgerufen werden, unter anderem auch Informationen über primäre Infektionsquellen, über die Virusausbreitung in einem Bestand, die Klärung der Überdauerung des Erregers außerhalb der Vegetationszeiten, Kenntnisse zum Wirtsspektrum und Lebenszyklus des Vektors. Hinzu kommt der Einfluß der Umweltbedingungen auf die genannten Faktoren.

Das Ziel der Arbeit bestand in der Erweiterung des Kenntnisstandes zur Ökologie des WDV. Die dabei gewonnenen Ergebnisse bilden eine Möglichkeit, geeignete Ansatzpunkte zur Kontrolle des Virus abzuleiten. Die Untersuchungen konzentrierten sich auf das Mitteldeutsche Trockengebiet in Sachsen-Anhalt.

5.1 Serumherstellung

Eine Voraussetzung für die Durchführung der Versuche bildete die Herstellung eines WDV-Antiserums, welches zur serologischen Diagnose geeignet war. Da die Antigene zur Erzeugung des Antiserums aus Freilandmaterial (Wintergerste) stammten, waren Hintergrundreaktionen mit den BYDVs nicht auszuschließen. Gleiches betraf unerwünschte Reaktionen mit pflanzlichen Normalproteinen. Durch Absorption des WDV-Antiserums mit einem Homogenat von BYDVs-infiziertem Mais ließen sich derartige unspezifische Reaktionen vermeiden und die Nachweissicherheit erhöhen. Vom WDV wurden in der Vergangenheit bereits Antiseren produziert. Allerdings diente in der Regel infizierter Winterweizen als Ausgangsmaterial (LINDSTEN *et al.*, 1980; BISZTRAY und GABORJANYI, 1989). Bei der Prüfung von infiziertem Getreide mit dem schwedischen Antiserum von LINDSTEN *et al.* (1980) reagierten Weizenpflanzen in allen Verdünnungsstufen der Homogenate stärker als Gerstenpflanzen. Daraus hätte sich eine höhere Konzentration von Virusproteinen in Weizen ableiten lassen. VACKE und CIBULKA (2000a) beschrieben jedoch eine höhere Affinität zum Weizen infolge des gewählten Ausgangsmaterials für die Herstellung des Antiserums. Das WDV-Antiserum in vorliegender Arbeit wurde aus Wintergerste hergestellt. Aufgrund dessen ist davon auszugehen, daß die Prüfung von Weizenpflanzen stets niedrigere Extinktionswerte ergeben wird als die Testung von Gerste.

5.2 Auftreten des WDV in Sachsen-Anhalt

Interessante Ergebnisse wurden aufgrund mehrjähriger Untersuchungen zum Auftreten des WDV erzielt. Jährlich erfolgte die Prüfung von Flächen mit Ausfallgetreide sowie eine gezielte Auswahl und serologische Testung von Getreidebeständen.

Die Probenentnahme von Ausfallgetreide war hauptsächlich auf symptomtragende Pflanzen ausgerichtet, weshalb die Resultate das relative Verhältnis von WDV und den BYDVs widerspiegeln. Bis auf wenige Ausnahmen war das WDV in allen Beständen von Ausfallgerste zu finden. Bemerkenswert stellt sich der Verlauf der erfaßten Doppelinfektionen dar, welche im Durchschnitt zu 4,2 % auftraten. Eine Ausnahme wurde im Jahr 2001 registriert, wobei 36,9 % aller beprobten Gerstenpflanzen mit dem WDV und mit den BYDVs befallen waren. Leider wurden in der Literatur keine vergleichbaren Untersuchungen vom Ausfallgetreide beschrieben, weshalb dieser extreme Anstieg der Doppelinfektionen im genannten Jahr schwer einzuordnen ist. POCSAI *et al.* (1998), SZUNICS *et al.* (2000) und LASZLO *et al.* (2003) bezogen in mehrjährigen Freilandversuchen ausschließlich symptomtragende Pflanzen in die serologischen Testungen ein. Die Anteile der dabei nachgewiesenen Doppelinfektionen schwankte von Jahr zu Jahr zwischen Null und 51,5 %. Infolge der Häufigkeit von Mischinfektionen mit ernstzunehmenden Viren im Getreide, darunter WDV und BYDVs, kamen MESTERHAZY *et al.* (2002) zu dem allgemeinen Schluß, daß eine Einschätzung der Bedeutung natürlicher Virusinfektionen nicht auf der Analyse von Einzelviren basieren sollte. Über alle Prüfjahre hinweg betrachtet, bestätigen die eigenen Ergebnisse eine geringe Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Doppelinfektionen im Bestand, was unter natürlichen Bedingungen durch das Auftreten der Vektoren bestimmt wird. In diesem Zusammenhang ist jedoch auch die gegenseitige Beeinflussung der Viren in einer Pflanze von Interesse und sollte in fortführenden Untersuchungen unter Laborbedingungen im Vordergrund stehen.

Nur in geringem Umfang war eine Überprüfung von Beständen mit weiteren Arten von Ausfallgetreide (Winterweizen, -roggen, Sommergerste, Hafer und Triticale) möglich. Diese Flächen waren weniger stark von Infektionen mit dem WDV bzw. BYDVs betroffen. Eine Ursache stellt das frühzeitigere Keimen der Ausfallgerste dar, die somit den Vektoren zuerst als attraktive Nahrungsquelle zur Verfügung steht. Die Ernte von Wintergerste findet je nach Jahreswitterung und Saatzeit etwa von Mitte Juli bis Anfang August statt, wobei regionale Unterschiede auftreten. Der Drusch von Winterweizen folgt in der Regel ca. zwei Wochen später (Ende Juli bis Mitte August). Das Ausfallgetreide läuft in Abhängigkeit von der Witterung in einem Schwankungsbereich von ca. fünf Tagen bis mehr

als zwei Wochen nach dem Stoppelsturz auf. Demzufolge besiedeln die Vektoren (die sich zuvor in Wintergerste, -weizen bzw. den Randflächen aufhielten) zum Zeitpunkt der Ernte des Winterweizens die bereits aufgelaufene Ausfallgerste.

Im Jahr 2001 wurde in Ausfallwinterweizen ein hoher Befall durch BYDVs (48,0 %) erfaßt, was den Ergebnissen in der Ausfallgerste gleichkam. Da es sich jedoch nur um einen von insgesamt fünf geprüften Standorten handelte (siehe auch Triticale und Hafer im Jahr 2000, Tab. 17), lassen sich kaum Schlußfolgerungen ziehen.

Wie aus den dargelegten Ergebnissen hervorgeht, stellt das Ausfallgetreide mit dem alljährlichen und meist erheblichen Vorkommen von WDV und den BYDVs eine ernstzunehmende Infektionsquelle für Neuansaat von Getreide dar (HUTH, 1995; HARTLEB *et al.*, 2001; LINDBLAD und WAERN, 2002). Frühe Infektionen im Herbst führen aufgrund der starken Beeinträchtigung der Pflanzen sowie der Verminderung der Kältetoleranz in der Regel im Verlauf des Winters und Frühjahres zum Absterben (VACKE, 1972; FOHRER *et al.*, 1992; HUTH, 1995). LASZLO *et al.* (2003) berichteten von einer Epidemie mit dem WDV in der Vegetationsperiode 2001/2002 in Ungarn. Infolge der starken Schädigung der Bestände durch das WDV erfolgte ein Umbruch auf 6,2 % der Flächen (13 5000 ha/218 000 ha) mit Wintergerste. An dieser Stelle muß dennoch darauf hingewiesen werden, daß speziell diese Getreideart Fehlstellen im Bestand sehr gut kompensiert (HARTLEB, 2002). Allerdings kann ein hoher Virusbefall in der Regel nicht vollständig ausgeglichen werden.

Die vorliegenden Ergebnisse von Wintergerste verdeutlichen, daß das Verhältnis zwischen WDV und den BYDVs großen Schwankungen unterliegt. Im Jahr 1997 war mit 22,8 % ein hoher Befall mit dem WDV zu verzeichnen. Nach einer Verminderung im Folgejahr auf 5,4 % nahm das WDV bis 2000 kontinuierlich zu. Ab dem Jahr 2001 war wiederum ein Rückgang zu verzeichnen. Untersuchungen von HABEKUB *et al.* (2002) bestätigten ein Überwiegen des WDV im Vergleich zu den BYDVs in den Jahren 1999 und 2000 in weiten Teilen Sachsen-Anhalts. Gegenläufig stellt sich das Auftreten der BYDVs dar. Eine Befallszunahme ist bei warmer und trockener Witterung zu erwarten, da dann über einen langen Zeitraum optimale Bedingungen für die Blattlausentwicklung gegeben sind (HUTH, 1995). Nach eigenen Erfahrungen ist ein verstärktes Auftreten dieser Viren in der Regel mit einem Rückgang des WDV verbunden. Vom Pflanzenschutzdienst des Landes Sachsen-Anhalt durchgeführte Beobachtungen bestätigten im Herbst 2000 eine Infektion der Wintergerste mit den BYDVs von 3,2 % (insgesamt 40 geprüfte Bestände) (HARTLEB *et al.*, 2001). Zu diesem Zeitpunkt erwiesen sich die Blattläuse als nicht bekämpfungswürdig,

denn der Befall lag weit unter den Werten, die im Herbst 1995 registriert wurden. Das regional verstärkte Auftreten der Infektionen mit den BYDVs hielt jedoch im Herbst 2001 infolge eines verstärkten Blattlausauftretens an. Bereits Ende Oktober waren 22,0 % der Prüfflächen des Landespflanzenschutzamtes Sachsen-Anhalt mit Aphiden besiedelt (HARTLEB, 2002).

Die Vermutung, daß sich ein starkes Auftreten beider Viren in einem Bestand ausschließt, wurde durch ALLA *et al.* (2001a) geäußert. Die Autoren wiesen eine Behinderung der Population von *P. alienus* durch Blattläuse der Art *Rhopalosiphum padi* L. nach. Letztgenannte Art wurde in mehrjährigen Fängen (1985 bis 2000, Saugfallen) in Aschersleben (Sachsen-Anhalt) mit 32,7 % am häufigsten beobachtet (HABEKUB *et al.*, 2002). Unter Laborbedingungen stellten ALLA *et al.* (2001b) eine bis jetzt noch nicht analysierte Substanz fest, die *R. padi* abgibt und die eine Senkung der täglichen Eiablage durch die Weibchen hervorruft, die Mortalität der Zikadenlarven erhöht sowie die Entwicklungsdauer der einzelnen Larvenstadien verlängert. Im Gegensatz dazu ergaben weitere Untersuchungen, daß *P. alienus* ebenso befähigt ist, einen negativen Einfluß auf *R. padi* auszuüben (ALLA *et al.*, 2002). Allerdings sind lediglich die Imagines in der Lage, Mevalonolacton abzugeben. Dies bewirkt die Reduktion der Erzeugung von Nachkommen in der Aphidenpopulation.

Da WDV nicht transovarial übertragen wird, müssen die im Frühjahr geschlüpften Larven das Virus erst aus infiziertem Getreide aufnehmen. Dies erfolgt als L1 bzw. L2 an der Pflanze, an der die Larven geschlüpft sind. Die älteren Larven können das WDV an infizierten und benachbarten Pflanzen akquirieren. Anschließend kommt es zu einer Ausbreitung im Bestand. Falls *R. padi* schon früh in die Entwicklung von *P. alienus* eingreift, behindert dies eine Expansion des WDV. Bereits im Herbst führt das Vorkommen der Blattläuse zu einer reduzierten Eiablage durch die Zikaden. In der Regel überwintert *R. padi* holozyklisch wirtswechselnd auf *Prunus padus* L. (Gemeine Traubenkirsche) oder *P. tenella* Batsch. (Zwergmandelstrauch) (DUBNIK, 1991). Nach dem Schlupf aus dem Ei besiedeln die Läuse ca. Mitte Mai die Getreidebestände (HUTH, 1995). Zu diesem Zeitpunkt sind nach MANURUNG (2002) die Larven von *P. alienus* bereits geschlüpft und neben den Junglarven können in Abhängigkeit vom Temperaturverlauf auch bereits L3 und L4 auftreten. Ein Einfluß der Läuse auf die Zikadenpopulation wäre zu diesem Zeitpunkt durch eine Verzögerung der Entwicklung der jüngsten Larven gegeben. Durch auftretende milde Winterwitterung ist *R. padi* jedoch in der Lage, anholozyklisch im Bestand zu überwintern. In solchem Fall muß bereits zwei bis drei Monate früher (ca. ab Februar), noch vor dem Schlupf der ersten Zikadenlarven, mit der Vermehrung der Aphiden gerechnet werden

(HUTH, 1995). Dieser Umstand bewirkt eine Steigerung der Mortalität der Zikadenlarven und eine Verzögerung der Entwicklungsdauer bis zum Imago. Inwieweit sich aus diesen Zusammenhängen eine Möglichkeit zum gezielten Eingriff in die Zikaden- bzw. Aphidenpopulation ergeben könnte, bleibt künftigen Arbeiten vorbehalten. Ebenso sind vergleichende Untersuchungen mit weiteren Aphidenarten (z.B. *Macrosiphum avenae* F. und *Metopolophium dirhodum* Walk.) in Betracht zu ziehen, die in ähnlicher Weise zu einer Einflußnahme auf die Zikadenpopulation befähigt sein könnten.

Die genannten Beziehungen bewirkten ein deutlich geringeres Infektionspotential von WDV im Herbst 2001 im Vergleich zum Vorjahr. Dieser Trend setzte sich 2002 fort. Eine derartige Situation kehrt sich um, sobald es nicht zu einer starken Vermehrung der Blattläuse kommt, was bei kühler und feuchter Witterung gegeben ist.

In allen Untersuchungsjahren wurden in Wintergerste im Frühjahr in der Regel höhere Befallsraten mit dem WDV erfaßt. Diese Zunahmen sind auf Spätinfektionen im Herbst zurückzuführen. Infolge der niedrigen Stoffwechselintensität des Wintergetreides, welche durch vorangegangene Abhärtungsvorgänge initiiert wird (DIEPENBROCK *et al.*, 1999), kommt es bei einem späten Infektionszeitpunkt nur noch zu einer geringen und verzögerten Virusvermehrung (HARTLEB *et al.*, 2001; VACKE und CIBULKA, 2001). Nach MANURUNG (2002) sterben die Zikaden ab, sobald ein bis zwei Tage Temperaturen unter $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ herrschen. Deshalb besteht bis November/Dezember die Gelegenheit zum Setzen von Spätinfektionen. Bei einer Probenentnahme im November können somit nicht alle Infektionen im DAS-ELISA erkannt werden. Aufgrund dessen wurden in den Vegetationsperioden 1998/1999 und 1999/2000 im Frühjahr Befallszunahmen von 15,3 % bzw. 26,6 % registriert. Nachdem die erste Generation von *P. alienus* als Junglarven WDV aufgenommen hat, beginnt das Setzen neuer Infektionen. Diese können jedoch erst im Frühsommer detektiert werden. Außer in den Jahren 2001 und 2002 lagen in diesem Zeitraum die ermittelten Infektionsraten stets niedriger als im Frühjahr. Zeitig im Herbst infizierte Pflanzen sind dann mit hoher Wahrscheinlichkeit bereits abgestorben und somit nicht mehr erfaßbar. Außerdem können, wie bereits geschildert, spätinfizierte Pflanzen infolge verzögerter Virusvermehrung erst bei der Probenentnahme ab Frühjahr erfaßt worden sein. Folglich kann der Anteil der Frühjahrsinfektion nicht mit Sicherheit benannt werden. Im Untersuchungsgebiet bleiben diese Infektionen für die Pflanzenentwicklung in der Regel bedeutungslos. Es bilden sich kaum Symptome aus. LINDBLAD und SIGVALD (2004) bestätigten für Winterweizen eine Altersresistenz für einen WDV-Befall kurz nach Schossginn. Anhand von Gewächshausversuchen stellten die Autoren folgendes fest: eine In-

fektion mit dem WDV zum Zeitpunkt der Entfaltung des ersten Blattes (DC 11, Dezimalcode nach ZADOKS *et al.*, 1974 zitiert in DIEPENBROCK *et al.*, 1999) führt zur Ausbildung starker Symptome. Zum Infektionszeitpunkt DC 30 (Aufrichten der Blattscheide) wurden geringere Viruskonzentrationen festgestellt. Die Ausbildung der Halme und Ähren war teilweise gestört. Infektionen mit dem WDV ab DC 32 (Schossen, zweiter Knoten) blieben symptomlos. Der Virusnachweis erfolgte nur noch in einer geringen Konzentration. Von einer derartigen Altersresistenz ist auch bei Wintergerste auszugehen.

Bemerkenswert erscheint der Infektionsverlauf für die BYDVs. Vom Herbst 2000 zum Frühjahr 2001 wurde ein sprunghafter Anstieg von 5,8 % auf 30,4 % ermittelt. Infolge günstiger Witterungsbedingungen im Herbst kam es zu einer explosionsartigen Blattlausvermehrung und dementsprechend zu starken Infektionen mit diesen Viren bis Ende Dezember. Nach Einschätzungen des Pflanzenschutzdienstes des Landes Sachsen-Anhalt waren weite Teile des Bundeslandes betroffen (HARTLEB *et al.*, 2001). Optimale Bedingungen für die Blattläuse im Sommer 2001 führten dann zu einem hohen Befall der Neuansaat (37,5 %), der bis zum Frühjahr 2002 auf 44,7 % anstieg. Nach HABEKUB *et al.* (2002) konnte man im Frühjahr 2002 bereits von einer Epidemie der BYDVs sprechen.

Anhand der geringen eigenen Datensammlung läßt sich kein gesicherter Einfluß des Aussaattermins auf den Herbstbefall mit dem WDV ableiten. Im Rahmen eines Versuches zur Bekämpfung der Blattlausvektoren der BYDVs ermittelte der Pflanzenschutzdienst des Landes Sachsen-Anhalt bei einer Frühsaat (01.09.2000) von unbehandelter Wintergerste Infektionen mit den BYDVs von 95 % und bei einer Normalsaat (15.09.2000) lediglich 15 % (entsprechende Werte für Winterweizen: 27,5 % und 2,5 %). Demzufolge reduzierten sich die ährentragenden Halme bei Frühsaat von Wintergerste auf 69 % (Winterweizen: auf 89 %) im Vergleich zur Normalsaat. Der Ertrag sank auf 65 %. Der Effekt der Normalsaat übertraf den einer ein- bis zweimaligen Insektizidbehandlung (HARTLEB *et al.*, 2001).

In geringerem Umfang erfolgte im Mitteldeutschen Trockengebiet auch eine Prüfung von Beständen mit Winterweizen und Triticale. Die Befallssituation entsprach den Beobachtungen in Wintergerste. Erwähnenswert sind die Ergebnisse bei Winterweizen (Tab. A-2). Im Herbst 1998 blieben die beiden Prüfflächen befallsfrei. Beobachtungen von HUTH (2000a) verdeutlichen ein mitunter regional unterschiedliches Auftreten des WDV. Er berichtete über ein verstärktes Vorkommen des WDV in Süddeutschland im Weizen in der Vegetationsperiode 1998/1999, woraufhin einige der Bestände dem Umbruch unterlagen. Im Untersuchungsgebiet wurden im Herbst 2000 Befallsraten mit dem WDV und den BYDVs unter 7,0 % ermittelt. Wie bei Wintergerste kam es im Frühjahr 2001 zu einem

sprunghaften Anstieg der BYDVs. Im Folgejahr lagen die Befallsraten wieder niedriger. Abweichend von der Wintergerste konnte beim Winterweizen ein deutlicher Einfluß des Saattermins auf die Befallsraten festgestellt werden (Tab. A-3). Alle zwischen dem 08. und 11.09.2000 gedrillten Bestände wiesen bereits im Herbst sowohl einen Befall mit dem WDV als auch mit den BYDVs auf. Lediglich der Bestand Langenbogen II, der in der Zeit vom 05.-07.11.2000 ausgesät wurde, blieb befallsfrei. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß sich die letztgenannte Fläche in unmittelbarer Nachbarschaft zum Bestand Langenbogen I befand. Vermutlich wirkte sich der Saattermin beider Flächen auch auf die Spätinfektionen im Herbst aus, deren Registrierung erst zur Probenentnahme im Frühjahr erfolgte. Während der Bestand Langenbogen II erneut befallsfrei blieb, zeigte der Bestand Langenbogen I einen Befall mit dem WDV von 9,3 % und mit den BYDVs von 54,0 %. Zum Zeitpunkt der Spätinfektionen wiesen bereits beide Flächen einen geschlossenen Pflanzenbestand auf. Eine mögliche Ursache für den unterschiedlichen Virusbefall stellt der Entwicklungsstand der benachbarten Felder zum Zeitpunkt der Migration der Vektoren dar. Die früh bestellte Fläche ermöglichte eine zeitigere Einwanderung der Vektoren. Teilweise ist der Feldaufgang ortsüblich gedrillter Bestände von Winterweizen mit niedrigen Temperaturen verbunden. Kühle Witterung schränkt die Vektormobilität ein und somit auch die Migration in die Neuansaat. So wurden in Gelbschalen bei weniger als 10 °C keine Zikaden mehr gefangen, was die fehlende Aktivität demonstriert (LINDBLAD und ARENÖ, 2002). Infolgedessen wird im Herbst in Winterweizen kaum eine Virusinfektion ermittelt (HUTH, 2001). Eine späte bzw. eingeschränkte Einwanderung der Zikaden in die Getreidefelder verringert außerdem den Zeitraum der Eiablage. Dies führt im Frühjahr einerseits zu einem verminderten Schlupf von Larven und andererseits zu weniger infizierten Pflanzen im Bestand. FARACK und SCHWABE (2003) bestätigten anhand von Saatzeitversuchen (Aussaat 05.09. bis 10.09. sowie 05.10. bis 10.10., n = 9) in den Jahren 2000 bis 2002 für Thüringen eine Gefährdung von Winterweizen auf früh bestellten Flächen durch die BYDVs. Der Ertrag der Frühsaat war im Jahr 2000 um 11 und 35 % gemindert. Im Folgejahr fiel die Ertragsreduktion mit durchschnittlich 12 % geringer aus. PRASLICKA (1996) wies in dreijährigen Feldversuchen eine Korrelation zwischen der Infektionsrate mit dem WDV und einem Ertragsverlust im Winterweizen in Abhängigkeit vom Saattermin nach. In diesen Versuchen lag der erste Saattermin zwischen dem 20.09. und dem 22.09. und die zweite Aussaat zwischen dem 04.10. und dem 06.10. Beim erstgenannten Aussaatzeitpunkt betrug der Ertrag 45 dt/ha bei einem durchschnittlichen Befall

mit dem WDV von 8,6 %. Die spätere Saat erwies sich zu 4,5 % mit dem Virus infiziert und es konnten 56 dt/ha geerntet werden.

Trotz des alljährlichen Auftretens von WDV bzw. BYDVs in Ausfallgetreide ist eine Prognose des Befalls von Neuansaatn schwierig. Während im Jahr 1995 in Ausfallgerste das Verhältnis des Vorkommens der BYDVs (68,5 %) bzw. des WDV (20,6 %) mit dem Befall in den Neuansaatn (49,0 % bzw. 0,7 %) übereinstimmte, war dies im Jahr 1998 nicht der Fall. Anhand des hohen Auftretens von WDV in Ausfallgerste (73,3 %) wurde eine höhere Infektionsrate in den Neuansaatn, als die mit 5,4 % bestimmte, erwartet. Demnach dürfte die Befallsrate mit dem WDV durch weitere Faktoren beeinflusst werden. Darauf wird beim Erläutern des Infektionszyklus an späterer Stelle eingegangen.

5.3 Wirtskreis des WDV

Ausfallgetreide stellt die Hauptinfektionsquelle des WDV für Neuansaatn dar. Somit kommt ihm eine Schlüsselrolle in der Epidemiologie zu. Infizierte Wild- und Kulturgräser folgen in ihrer Bedeutung an zweiter Stelle (VACKE und CIBULKA, 1999; ARENÖ, 2000). In Wiesen und Weiden sind Virusinfektionen kaum auffällig, jedoch haben sie einen wesentlichen Anteil an der „Alterung“ der Bestände (HUTH, 2000b). Die Wirtsgräser dienen einerseits als Rückzugsgebiet für die Vektoren und andererseits als Überhälter für Viren. Unmittelbar nach der Ernte des Getreides ist *P. alienus* zur Nahrungsaufnahme auf das Vorhandensein von Gräsern angewiesen. Aus ökologischer Sicht ist es deshalb von Interesse, welche Gräser zum Wirtskreis des WDV gehören. In diesem Zusammenhang sind neben den Wirtspflanzen für das WDV auch Gräser von Bedeutung, die der Zikade als Nährpflanze dienen. Dazu zählt z.B. *Elymus repens* (L.) Gould, welche nach MANURUNG (2002) zur Zeit der Ernte von *P. alienus* aufgesucht wird, jedoch kein Wirt des WDV ist (VACKE, 1972; LINDSTEN und LINDSTEN, 1999). Sich daran entwickelnde Larven bleiben somit virusfrei.

Für die Untersuchungen zum Wirtskreis des WDV (Kap. 4.3.1) wurden Freilandversuche angelegt, anhand derer die natürliche Infektion der Pflanzen ermittelt werden konnte. Nach HOHMANN *et al.* (1998) sollten Aussagen über die Bedeutung einer Wirtspflanze nur dann getroffen werden, wenn diese unter den spezifischen territorialen Bedingungen geprüft wurde. Ein experimenteller Nachweis der Anfälligkeit einer Pflanze unter Laborbedingungen bedeutet nicht automatisch eine natürliche Wirtseignung der betreffenden Art.

In den dreijährigen Prüfungen verschiedener Wild- und Kulturgräser war es möglich, den Wirtskreis des WDV um acht Arten zu erweitern. Außerdem können *Setaria italica*,

Deschampsia cespitosa und *Festuca pratensis* hinzugefügt werden, allerdings unter Vorbehalt, denn der Virusnachweis gelang nur in einzelnen Pflanzen. Diese Spezies sollten unbedingt in weiteren Untersuchungen nochmals überprüft werden. Die meisten der 57 getesteten Arten wurden mehrjährig untersucht, wobei pro Art, Jahr und Bestand jeweils zehn Einzelpflanzen einbezogen waren. Aufgrund der relativ geringen Anzahl geprüfter Pflanzen kann nicht ausgeschlossen werden, daß Arten mit niedrigen Infektionsraten übersehen wurden. Nach ROSENKRANZ (1980 zitiert in HOHMANN, 2000) führt mitunter eine zu geringe Probenanzahl zur vermeintlichen Einstufung von Arten als „Nichtwirt“. So ist die nicht erfolgte Infektion mit dem WDV in einigen der bereits bekannten Wirtsarten (*H. murinum*, *L. perenne*, *L. multiflorum*) zu erklären. LINDSTEN und LINDSTEN (1999) zählten bspw. verschiedene Arten der Gattung *Lolium* ssp. zu den wichtigen Zwischenwirten des WDV. Ursprünglich wurde die Eignung dieser Gräser mit dem Weizenstamm nachgewiesen (VACKE, 1972; 1981 zitiert in VACKE und CIBULKA, 1999). Da am Versuchsstandort Spickendorf ein Infektionspotential mit beiden Stämmen des WDV vorlag, wäre bei diesen Arten mit einer Infektion zu rechnen gewesen.

Die erzielten Resultate verdeutlichen große Unterschiede im Grad der Anfälligkeit gegenüber dem WDV. Als stark infiziert erwiesen sich *A. sterilis*, *A. sterilis* ssp. *ludoviciana*, *B. commutatus* und *B. secalinus*. Demgegenüber zeigten die Arten *A. spica-venti*, *B. hordeaceus* und *P. arundinacea* stets niedrige Infektionsraten. Einige Grasarten wurden trotz mehrjähriger Auspflanzung nur in einem der Jahre infiziert (z.B. *B. arvensis*, *B. inermis* und *P. annua*). LINDSTEN und LINDSTEN (1999) rechnen neben *Lolium* ssp. auch *A. fatua* und *P. annua* zu den bevorzugten Wirtspflanzen des WDV. Hingegen nennen VACKE und CIBULKA (1999) *A. spica-venti* als die Art mit der größten Effizienz als Wirt. Sie begründen dies mit dem häufigen Vorkommen dieser Art in Getreidebeständen sowie der hohen Anfälligkeit gegenüber dem Virus. Ferner bevorzugt *P. alienus* *A. spica-venti* zur Eiablage. Auf dieser Pflanzenart können außerdem beide Stämme des WDV überdauern.

Interessante Ergebnisse erbrachte die Untersuchung der infizierten Gräser mittels PCR. Aufgrund des oftmals geringen Probenmaterials stand für die Extraktion der DNA nicht jede infizierte Pflanze zur Verfügung. Erschwerend kam hinzu, daß für die PCR teilweise sehr trockenes Material genutzt werden mußte, da sich die Gräser bei der Ernte teilweise bereits im Absterben befanden. Während ein Nachweis des WDV mittels ELISA in trockenem Pflanzenmaterial noch gelang, versagte die PCR. Als mögliche Ursache dafür wäre die Extraktion der DNA zu nennen.

In allen Jahren, in denen die Versuche in Beständen von Wintergerste stattfanden, beschränkte sich der Nachweis ausschließlich auf den Gerstenstamm. Wie bereits im Kap. 3.4.1.2 erwähnt, befand sich 2001 in Spickendorf in unmittelbarer Nachbarschaft des Gerstenfeldes, lediglich durch einen Feldweg getrennt, ein Bestand von Winterweizen. In den hier ausgepflanzten Gräsern wurde überwiegend der Weizenstamm des WDV gefunden. Lediglich in drei Pflanzen lag der Gerstenstamm vor. In jedem dieser Fälle handelte es sich um *A. spica-venti*, welches von beiden Virusstämmen befallen war. Von drei als Kontrollen eingebrachten Pflanzen von *H. vulgare* erwiesen sich eine mit beiden Stämmen und eine mit dem Weizenstamm infiziert. Bei der dritten Pflanze versagte die PCR. Der gleichzeitige Nachweis beider Stämme in Einzelpflanzen erscheint bemerkenswert. Bereits LINDSTEN und VACKE (1991) beobachteten, daß *P. alienus* gleichzeitig Träger beider Stämme sein kann. Die betreffenden Tiere konnten das WDV jeweils an die entsprechende Wirtspflanze abgeben. Den Nachweis des WDV führten genannte Autoren mittels DAS-ELISA. In den eigenen Versuchen wurde zum Nachweis der Stämme eine PCR eingesetzt. Diese Methode reagierte im Vergleich zum ELISA z.B. beim Nachweis des *Abutilon mosaic virus* (*Geminiviridae: Begomovirus*) ca. 10 000fach sensitiver (WU und HU, 1995). Eine Zikade, die sowohl den Weizen- als auch den Gerstenstamm in sich trägt, ist durchaus befähigt, gleichzeitig beide Stämme abzugeben. In diesem Fall dürfte in den Pflanzen keine Prämunität (cross protection) auftreten. Von einer solchen spricht man, wenn nach einer Infektion einer Pflanze mit einem milden Virusstamm eine zeitlich versetzte Infektion mit einem aggressiveren Stamm des gleichen Virus verhindert wird. Dies setzt jedoch eine systemische Durchdringung des Wirtes mit dem milden Stamm voraus (VALLE *et al.*, 1988; HARR, 2002). In den diskutierten Versuchen konnte nur in sehr geringem Umfang eine Infektion mit beiden Virusstämmen in Einzelpflanzen nachgewiesen werden (siehe Kap. 4.3.1 und 4.3.2). Aufgrund der Prämunität ist davon auszugehen, daß eine gleichzeitige Infektion mit beiden Virusstämmen allein durch diejenigen Zikaden hervorgerufen wird, die Träger beider Stämme sind. Ob es in derartigen Pflanzen immer zur gleichzeitigen Ausbreitung beider Stämme kommt, bleibt ungewiß. Ebenso ist eine Aussage über den Zeitpunkt der Infektion spekulativ. Die Ergebnisse in Spickendorf, wonach in der Wintergerste vorwiegend der Gerstenstamm und im Weizen vorwiegend der Weizenstamm auftrat, lassen nur auf eine geringe Abwanderung der Zikaden aus den Flächen schließen. Somit wird ein Austausch bzw. ein Vermischen der Stämme während der Vegetationsperiode zwischen benachbarten Beständen weitgehend unterbunden. Im Herbst werden von *P. alienus* die Eier u.a. an Getreide abgelegt. Von diesem geht die Be-

siedlung der Bestände aus (MANURUNG, 2002). Die virusfrei schlüpfenden Larven müssen das WDV aus infiziertem Getreide aufnehmen. Außerdem wandern Zikaden von grasbewachsenen Felldrändern in die Getreidebestände ein (ARENÖ, 2000; LINDBLAD und ARENÖ, 2002). Handelt es sich dabei um Migration virustragender Tiere, wäre das Eintragen eines anderen Virusstammes möglich.

Einige Grasarten sind befähigt, sowohl Wirt für den Weizen- als auch für den Gerstenstamm zu sein. Die Bestätigung erfolgte für *A. spica-venti*, *A. fatua* und *A. sterilis* (siehe Kap. 2). Zusätzlich konnte eine natürliche Infektion mit beiden Stämmen für *A. hybrida*, *B. secalinus*, *L. remotum*, *L. temuentum* und *P. arundinaceae* belegt werden.

Zwei der geprüften Arten (*D. cespitosa* und *F. pratensis*), die bisher nicht zum Wirtskreis des WDV zählten, erwiesen sich mittels DAS-ELISA als infiziert. Diese Arten kamen in drei bzw. in zwei Jahren zur Prüfung. Dabei wurden lediglich in einem Jahr jeweils zwei Pflanzen von *D. cespitosa* (2/26) und eine Pflanze von *F. pratensis* (1/40) infiziert. Im Gegensatz zu den bereits erwähnten neuen Wirtsarten versagte bei diesen Pflanzen die PCR, weshalb diese Arten nur unter Vorbehalt zum Wirtskreis des WDV zu zählen sind. Unspezifische Reaktionen im DAS-ELISA können ausgeschlossen werden. In Untersuchungen von Potyviren an *Z. mays* wurden derartige Reaktionen z.B. bei *Agropyron* ssp. festgestellt (FUCHS, mündl. Mitteilung 1999). Eine wiederholte Prüfung, wobei auch Antiseren anderer Viren zum Einsatz kamen, ergaben dabei stets falschpositive Reaktionen aller geprüften Pflanzen.

In umfangreichen Untersuchungen wurden zahlreiche WDV-infizierte Getreidepflanzen verschiedener Arten mittels PCR auf den vorliegenden Stamm geprüft. Auf diese Weise konnte das Vorkommen des Stammspektrums im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt erfaßt werden. In Hafer und Wintergerste wurde vorwiegend der Gerstenstamm ermittelt. Der Weizenstamm trat hauptsächlich in Weizen und Triticale auf. Während lediglich in einer Haferpflanze der Weizenstamm vorlag, erwiesen sich fünf Triticale- und eine Weizenpflanze als mit dem Gerstenstamm infiziert. Auch bei diesen Prüfungen gelang es, bei allen Getreidearten in 14 Einzelpflanzen gleichzeitig beide Stämme aufzufinden. In 35 von 600 Fällen (5,8 %) versagte die PCR. Nach den Literaturangaben gilt Gerste als alleiniger Wirt des Gersten- und Weizen ausschließlich als solcher des Weizenstammes. COMMANDEUR und HUTH (1999) fanden in verschiedenen Arten von Getreide aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands mittels PCR häufiger den Gersten- als den Weizenstamm. Der Gerstenstamm wurde vorrangig in Gerste detektiert, vereinzelt jedoch auch im Weizen. Kleine Veränderungen in der Nukleotidsequenz können signifikant

die Pathogenität der mutierten Viren beeinflussen, denn alle Gene und intergenischen Regionen sind für eine systemische Infektion notwendig. MARTIN und RYBICKI (2002) berichten von verschiedenen Mutationsstudien beim MSV (*Maize streak virus*), dem Namensgeber der Gattung *Mastrevirus* und folglich eng verwandt mit dem WDV. Demnach werden Modifikationen der Pathogenität durch Veränderung in der essentiellen Aminosäuresequenz innerhalb der Genprodukte oder hoch konservierter Nukleotidsequenzen, die in die Replikation oder Transkription involviert sind, hervorgerufen. Ebenso kann ein Umbau der Nukleotidsequenz (verursacht durch Defekte bei der Replikation) auch ohne Veränderungen der Aminosäuresequenz die Pathogenität beeinflussen. Im Rahmen von Untersuchungen zur Lokalisation der Determinanten der Pathogenität des MSV prüften BOULTON *et al.* (1991a; b) verschiedene Isolate. Es erfolgte ein Vergleich der Sequenz eines aggressiven mit der eines weniger aggressiven Isolates (im folgenden als „mildes“ Isolat bezeichnet). Letzteres verursacht weniger stark ausgeprägte Symptome im Vergleich zur erstgenannten Variante. Beide Isolate unterscheiden sich außerdem in ihrem Wirtskreis, besitzen aber eine identische Restriktionsenzymmappe. Sie weisen beide lediglich eine Differenz von drei Nukleotiden auf. Die Autoren wiesen nach, daß der Austausch von zwei Basen ausreicht, um die Pathogenität des milden Isolates auf die des aggressiven anzuheben. Die Substitution einer Base oberhalb der Promotorsequenz des C1 (RepA-Gen) im milden Isolat veränderte den Wirtskreis kaum, obwohl eine Modifikation der Aminosäuresequenz vorlag. Eine weitere Substitution im V1-Gen (Transportprotein) verursachte eine Verstärkung der Symptome in Form einer Verbreiterung der chlorotischen Streifen systemisch infizierter Maispflanzen. Dies wurde in Verbindung mit einer Erhöhung der Konzentration des Virus im Wirtsgewebe diskutiert. Nach DAUBERT (1988 zitiert in BOULTON *et al.* 1991a) korreliert die Symptomausprägung mit der Viruskonzentration. Derartige punktuelle Veränderungen in der Nukleotidsequenz könnten auch beim WDV dazu geführt haben, daß sich der Wirtskreis der beiden Stämme für bestimmte Isolate erweiterte. KVARNHEDEN *et al.* (2002) isolierten neben dem Isolat WDV-[Enk1] (siehe Kap. 2) von derselben Pflanze ein weiteres (WDV-[Enk2]). Anhand phylogenetischer Analysen stellten die Autoren fest, daß beide Isolate von unterschiedlicher Abstammung sind. Nach RAMSELL und KVARNHEDEN (2004) gibt es innerhalb der weizenadaptierten Isolate die Subtypen A und B, wobei Letzterem eine der beiden *Eco* RI Restriktionsstellen fehlt. Einige Weizenpflanzen wiesen eine Infektion mit den zwei Subtypen auf. Insgesamt war der B-Typ weniger häufig zu beobachten. In *P. annua* und *A. spica-venti* dominierte er jedoch. ISNARD *et al.* (1998 zitiert in BOSQUE-PEREZ, 2000) leiteten drei Isolate aus einer

MSV-Population ab, die ursprünglich für Untersuchungen zur Anfälligkeit verschiedener Maissorten gegenüber diesem Virus genutzt wurde. Diese Isolate unterlagen außerdem einer Prüfung mittels Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP) und einer anschließenden Sequenzierung. Die Resultate zeigten, daß es sich bei diesen Isolaten um eine Mischung genetisch verschiedener, jedoch eng verwandter Varianten handelte.

In der Beziehung zwischen Geminiviren und Wirt sind hinsichtlich der molekularen Mechanismen der Ausbreitung und der damit verbundenen Interaktion mit wirtseigenen Komponenten noch viele Fragen ungeklärt. Ein Wechselspiel zwischen Wirt und Virus setzt nicht nur die Fähigkeit des Virus zur Replikation im Wirt voraus, sondern erfordert auch eine erfolgreiche Ausbreitung des Virus von Zelle zu Zelle. Dies wird infolge einer Phosphorylierung des Transportproteins (V1) durch wirtseigene Kinasen gewährleistet (WAIMANN *et al.*, 2000 zitiert in MARIANO *et al.*, 2004; MAULE *et al.*, 2002). In Studien mit *Begomoviruses* (*Geminiviridae*) und ihren Wirten konnten MARIANO *et al.* (2004) in Tomaten- (*Lycopersicon esculentum* Miller) und Sojapflanzen (*Glycine max* [L.] Merr) die zellulären Interaktionspartner, die den Transport des viralen Genomes aus dem Zellkern ins Zellplasma unterstützen, identifizieren. Dabei wurde sowohl in Tomaten als auch in Soja eine pflanzenartsspezifische Kinase (NIK = NSP-Interaktions Kinase; NSP = nuclear shuttle protein [viruseigenes Protein, was für den Transport aus dem Zellkern verantwortlich ist]) ermittelt. Dieses membranassoziierte Enzym gehört zur LRR-RLK-Familie der Proteine (leucine rich-repeat receptorlike kinase). Die Autoren beobachteten eine hochspezifische Interaktion, wobei es kurzzeitig zur Bildung eines NSP-NIK-Komplexes kommt. Daraufhin wird ein zielorientiertes und aktives Erkennen der Zellkernporen, der Plasmamembran und der Plasmodesmen gewährleistet. Es wird vermutet, daß dieser Komplex als regulatorischer Mechanismus zur Kontrolle der biochemischen Aktivität des viralen Proteins bei der Phosphorylierung des Transportproteins in Aktion tritt. In diesem Fall würde NSP in spezifischer Form die Kinaseaktivität des transmembranen Rezeptors NIK für die Regulation der viralen DNA-Bewegung nutzen. Da die wirtseigene Kinase als Enzym und das virale NSP als Substrat in Beziehung stehen, könnte eine Nichtwirtsbeziehung zwischen dem Weizenstamm des WDV und der Gerste infolge des Nichterkennens des viralen Proteins durch den pflanzlichen Rezeptor hervorgerufen werden. Im Fall der geringfügigen Anzahl von infizierten Einzelpflanzen von Wintergerste und dem Weizenstamm sowie von Winterweizen und dem Gerstenstamm könnten Mutationen einen Sequenzaustausch in der Weise verursachen, daß eine Erkennung stattfand. Anhand der Identifizierung der Stämme mittels PCR ist von einer Replikation und Ausbreitung der Viren in den Pflanze auszu-

gehen. Ein Nachweis der lediglich durch den Vektor eingebrachten geringfügigen Virusmenge erscheint unrealistisch.

Die Nichtwirtsresistenz ist ein Phänomen, das den Pflanzen die Möglichkeit bietet, sich selbst gegen parasitische Mikroorganismen zu schützen. Bereits vor ca. 30 Jahren zeigten Experimente (in vitro), daß diese Resistenz unterdrückt werden kann (HOLUB und COOPER, 2004). *Zea mays* L. zählt nicht zum Wirtskreis des WDV (Kap.2). In aufwendigen Versuchen wurde Mais hinsichtlich seiner Wirtseignung geprüft. Nach den dabei erzielten Ergebnissen ist davon auszugehen, daß alle im Anbau befindlichen Sorten nicht zum Wirtskreis des WDV gehören, denn ca. 3 000 untersuchte Einzelpflanzen verschiedener Sorten von mehreren Standorten erwiesen sich stets als befallsfrei. In mehrjährigen Freilandversuchen stellte sich die Inzuchtlinie FAP 1360A als anfällig gegenüber dem WDV heraus. Die festgestellten Befallsraten lagen zwischen 6,8 % und 31,2 % (Kap. 4.3.3). Einige der Kreuzungsprodukte, bei denen die oben genannte Linie als Mutter zum Einsatz kam, reagierten ebenfalls positiv auf einen Befall mit dem WDV. Der Nachweis von natürlichen Infektionen des Maises mit dem WDV verdeutlicht ferner, daß die Zikade *P. alienus* diese Pflanzenart aufsucht. Auf diese Weise ist eine Inokulation des Virus mit der Speichelabgabe möglich. Hinweise auf einen bisher unbekanntem maisspezifischen Stamm des WDV können aufgrund der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen ausgeschlossen werden. Die dreijährigen Versuche wurden an insgesamt vier verschiedenen Standorten durchgeführt. Dabei zeigten die Linie FAP 1360A bzw. einige ihrer Kreuzungsprodukte stets Anfälligkeit gegenüber dem WDV. Somit ist die Erklärung der Wirtszugehörigkeit innerhalb der Maisinzuchtlinie zu suchen. Zahlreiche Studien belegen, daß einzelne Moleküle bzw. Gene eines Pathogenes für die Auslösung der Abwehr der Pflanze in Nichtwirten verantwortlich sein können (KAMOUN *et. al.*, 1998 und LAUGE *et al.*, 2000 zitiert in HEATH, 2001). Diese pflanzlichen Abwehrmechanismen werden in der Regel durch einzelne Pflanzengene kontrolliert. Die multikomponente Nichtwirtsresistenz wird durch unterschiedliche pflanzliche Resistenzgene charakterisiert, die mit den Produkten verschiedener Avirulenzgene des Pathogenes interagieren (HEATH, 2001). Auch für die Interaktion der Inzuchtlinie FAP 1360 mit dem WDV könnte z.B. ein einzelnes Gen für die Anfälligkeit verantwortlich sein. HEATH (2001) beschrieb ähnliche Zusammenhänge bei *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, einem Pathogen des Weizens. Dieser Erreger ist eng verwandt mit *G. graminis* var. *avenae*, welcher erfolgreich Hafer befällt. Ersterer kann aufgrund eines Defizits an einem „saponine-detoxifying enzyme“ Hafer nicht infizieren. Die enge Verwandtschaft sowohl zwischen den pilzlichen Erregern als auch beiden Getreie-

dearten verdeutlicht, daß eine einzelne Komponente die Anfälligkeiten des Getreides differenzieren kann. Derartige Unterschiede können natürlich ebenso auf pflanzlicher Seite auftreten.

Aufgrund von Ergebnissen, die mittels ELISA erzielt wurden, gab es bereits vor Jahren erste Hinweise auf eine Infektion von Mais mit dem WDV (persönliche Mitteilung K. LINDSTEN zitiert in MATZEIT, 1988). MATZEIT (1988) gelang daraufhin der Nachweis einer Replikation und Enzymaktivität einer Mutante des WDV in Protoplasten einer Zellsuspensionskultur von *Z. mays* ('Black mexican sweet'). Das Virusgenom wurde über einen Zeitraum von zehn Tagen repliziert und der anstelle des Hüllproteins inserierte Marker exprimiert. Im Vergleich zum Transfer des gleichen WDV-Mutanten in *Triticum monococcum* L. trat die Replikation und Expression des Markergenes verzögert auf. Der Autor zog daraus den Schluß, daß sich das WDV in allen Gattungen der *Poaceae* vermehren kann. Allerdings ist die Symptomausprägung auf bestimmte Arten beschränkt, was nach heutigen Erkenntnissen mit der Fähigkeit der Ausbreitung von Zelle zu Zelle zusammenhängt (siehe oben). Das Mais in vitro mit dem WDV kompatibel ist, zeigten zahlreiche Veröffentlichungen. Als Beispiel sei lediglich die Vermehrung von transformierter DNA unter Nutzung des Replikationssystems des WDV in Maiszellen genannt (ZHAO *et al.*, 2003). Weiterhin demonstrierten MUNOZ-MARTIN *et al.* (2003) die Fähigkeit des WDV-RepA, die Virusstrang-(V-Strang)-Expression zu aktivieren, wobei es zuvor zu einer Bindung an Retinoblastoma-Proteine von Maiszellen kam. Das Vorkommen derartiger Proteine wurde bislang nur bei höherentwickelten Tieren angenommen. Erst 1998 gelang GUTIERREZ (zitiert in JAGER und MURRAY, 1999) der Nachweis von homologen Proteinen in Pflanzen. Die Retinoblastoma-Proteine sind Teil des Kontrollzyklus, der die Zellteilung und -differenzierung auslöst (JAGER und MURRAY, 1999). Die Fähigkeit zur Bindung des WDV-RepA an die Retinoblastoma-Proteine ist die Voraussetzung für die Replikation des Virus im Zellkern der Wirtszelle (GUTIERREZ, 2002; 2004).

Sämtliche infizierten Maispflanzen aus den oben genannten Versuchen wurden ebenfalls mittels PCR geprüft. Es zeigte sich durchweg ein Befall mit dem Gerstenstamm. Es sei jedoch darauf verwiesen, daß alle Versuche in Beständen von infizierter Wintergerste durchgeführt wurden. Eine Anfälligkeit gegenüber dem Weizenstamm ist deshalb nicht auszuschließen.

Leider standen für die Freilandversuche sowohl von den geprüften Inzuchtlinien als auch den Kreuzungen nur wenig Saatgut zur Verfügung. Somit ist nicht auszuschließen, daß weitere anfällige Formen auf Grund der geringen Pflanzenanzahl nicht entdeckt wurden.

Fortführende Untersuchungen wären deshalb von großem Interesse, wobei die Interaktion der Inzuchtlinie FAP 1360A und dem WDV im Mittelpunkt stehen sollte, insbesondere die Ermittlung der Determinanten für die Anfälligkeit gegenüber dem Virus.

Grundsätzlich bestätigen die Untersuchungen, daß der Wirtskreis des WDV neben verschiedenen Getreidearten zahlreiche Wild- und Kulturgräser umfaßt. Die Bedeutung dieser Reservoirre wird deutlich, wenn man die Abwanderung eines Großteils von *P. alienus* nach der Getreideernte auf Randflächen berücksichtigt. Den emigrierten Zikaden dienen die Gräser für die Nahrungsaufnahme und damit auch zur Akquisition des WDV. MANURUNG (2002) ermittelte das Populationsmaximum von *P. alienus* im Ausfallgetreide. Offensichtlich kehrt ein Teil der Zikaden von den Randflächen nach dem Auflaufen des Ausfallgetreides in dieses zurück. Da auf derartigen Flächen alljährlich ein mehr oder weniger hoher Befall mit dem WDV wie auch mit den BYDVs festgestellt werden kann, ist davon auszugehen, daß ein Teil der Zikaden bzw. Blattläuse virustragend einwandert.

Im Mitteldeutschen Trockengebiet scheint der Gerstenstamm des WDV zu überwiegen. Beobachtungen in den letzten Jahre zeigten jedoch, daß Veränderungen der Anbaubedingungen, z.B. verstärkte Frühsaat von Winterweizen, schnell zu einer Ausbreitung des Weizenstammes führen kann (HUTH, 1995). Der ausschließliche Anbau von Sommergerste in Schweden ist dafür verantwortlich, daß der Gerstenstamm des WDV in dieser Region nicht auftritt (LINDSTEN und LINDSTEN, 1999; KVARNHEDEN *et al.*, 2002; LINDBLAD und WAERN, 2002).

5.4 Interaktion zwischen dem WDV und der Zikade *P. alienus*

Die Lebensweise des Vektors *P. alienus* beeinflusst in vielfältiger Weise die Ökologie und damit auch die Epidemiologie des WDV in Getreidebeständen. Die in vorliegender Dissertationsschrift durchgeführten Laborversuche zur Interaktion zwischen WDV und *P. alienus* (Kap. 3.5.1) erfolgten in Anlehnung an VACKE (1962). Während er Übertragungsversuche mit dem Weizenstamm des WDV durchführte, kam in den eigenen Untersuchungen ein Isolat des im Mitteldeutschen Trockengebiet dominierenden Gerstenstammes des Virus zum Einsatz. Weiterhin wurde die Effektivität der einzelnen Larvenstadien sowie der Imagines von *P. alienus* hinsichtlich der Fähigkeit zur Aufnahme und zur Übertragung des WDV ermittelt. Hierbei konnten Unterschiede bezüglich der Virusweitergabe zwischen den jüngeren und den älteren Larvenstadien sowie den Imagines festgestellt werden. Grundsätzlich waren alle Entwicklungsstadien zur Übertragung des WDV befähigt.

Tiere, die im zweiten Larvenstadium WDV aufgenommen hatten, wiesen mit 58,3 % die höchste Effektivität auf, gefolgt von denen, die im ersten bzw. im dritten Entwicklungsstadium auf infizierten Pflanzen gesaugt hatten. Erfolgte die Virusaufnahme im Imaginalstadium, waren lediglich 40,5 % der Tiere zu einer Übertragung befähigt. Es folgten Larven des L4 (29,0 %) und die des L5 (18,3 %). Im Freiland ist jedoch davon auszugehen, daß die größere Infektionsgefahr von den Imagines und den älteren Larvenstadien ausgeht, da sie bewegungsaktiver sind und somit in kurzer Zeit zahlreiche Neuinfektionen setzen können. Im Gegensatz dazu halten sich die jüngeren Larven vorwiegend am Halmgrund der Pflanze auf, an der sie geschlüpft sind und verlassen diese nur infolge von Störungen. VACKE (1962) zog aus seinen Untersuchungen mit einem Weizenisolat des WDV ebenfalls den Schluß, daß mit zunehmendem Alter der Zikade die Effektivität der Virusübertragung abnimmt, wobei er lediglich die L1, L3, L5 und Imagines in verschiedenen Alterstufen (Tage nach der letzten Häutung) einbezog. Während den eigenen Versuchen eine Akquisitionszeit von 24 Stunden zugrunde lag, ermittelte VACKE (1962) bei einer solchen von 72 Stunden Übertragungsraten von 97,0 % (L1), 91,0 % (L5) und 88,0 % (L3). Zahlreiche Studien belegen, je länger eine Zikade an einer infizierten Pflanze saugt, um so höher wird die Effizienz der Virusweitergabe (GRILLI und HOLT, 2000; AMMAR und NAULT, 2002). Insgesamt standen 248 Zikaden für die Laborversuche zur Verfügung. Davon waren 35,5 % zur Virusübertragung befähigt. In Untersuchungen mit *Cicadulina mbila* Naude, 1926, einem der Vektoren des MSV, konnte ASANZI *et al.* (1995 zitiert in BOSQUE-PEREZ, 2000 sowie AMMAN und NAULT, 2002) Übertragungsraten im Labor von 40,0 bis 45,0 % feststellen.

Es erhebt sich die Frage, warum 64,5 % der in den Übertragungsversuchen eingesetzten *P. alienus* trotz einer teilweise langen Lebensdauer von bis zu 110 Tagen nicht als Vektor fungierten. Für verschiedene Arten der Gattung *Cicadulina* China wurde von mehreren Autoren die Fähigkeit zur Virusweitergabe als ein genetisch bestimmtes Merkmal definiert. Somit sind in einer Population Überträger von den Nichtüberträgern zu unterscheiden (STOREY, 1931; 1932; ZAGRE, 1983; ASANZI *et al.*, 1995 alle zitiert in BOSQUE-PEREZ, 2000). In diesem Zusammenhang spielt die Permeabilität der Darmwand eine entscheidende Rolle. Durch mechanische Perforation derselben kurz vor bzw. während des Saugens an infiziertem Mais konnte ein Anstieg der Übertragungsraten des MSV erreicht werden.

Bemerkenswert erscheinen die großen Unterschiede im Übertragungsmodus der Einzelindividuen. Die meisten Tiere infizierten gesunde Pflanzen von Wintergerste innerhalb der ersten fünf Tage nach Virusaufnahme. Gelegentlich konnte jedoch eine Übertragung erst

zehn, 15, 20, 35, 45 bzw. 65 Tage nach der Virusaufnahme beobachtet werden. Große Unterschiede traten auch hinsichtlich der Kontinuität der Virusabgabe auf. In allen Entwicklungsstadien konnten einige der Zikaden nur einmal, andere zweimal bzw. mehrmals in Folge übertragen. Daneben wurden Tiere registriert, die nach einer erfolgreichen Übertragung erst nach einer mehr oder weniger langen Pause von fünf bis 25 Tagen dazu befähigt waren. Die effektivsten Imagines übertrugen das WDV acht- bis 19mal. Gepaart mit der hohen Mobilität der Tiere ergibt sich daraus ein hohes Infektionspotential in Getreidebeständen.

Während VACKE (1962) in Einzeltieren eine Persistenz des WDV von 80 Tagen ermittelte, lag dieselbe in den eigenen Versuchen bei 100 Tagen. Von einer Virusvermehrung im Vektor ist nicht auszugehen, allerdings können Geminiviren im Verdauungskanal und den Speicheldrüsen überdauern. Daraus resultiert nach LETT *et al.* (2002) die Fähigkeit, nach einer einmaligen Akquisition von wenigen Stunden, auch nach einem längeren Zeitraum noch Virus zu übertragen. Genannte Autoren beobachteten, daß *C. mbila* nach einer Saugzeit von drei Stunden an infizierten Maispflanzen fünf Wochen lang das MSV abgeben konnten. Im Gegensatz zu Aphiden, bei denen die Hämolymphe u.a. einen Ort der Virusvermehrung darstellt, diente dieselbe in den Zikaden lediglich als Transportmedium mit sehr niedrigen Überdauerungsraten der Viruspartikeln. Die relativ stabilbleibende Konzentration von Viren in den Speicheldrüsen, obwohl keine Virusvermehrung stattfand, erklären die Autoren wie folgt. Beim Saugen einer virustragenden Zikade an einer Pflanze werden zwar Viren aus der Speicheldrüse abgegeben, jedoch durch die mit der Hämolymphe transportierten Partikeln wieder aufgefüllt. Auf diese Weise konnte eine permanente Sättigung der limitierten Speicherkapazität der Speicheldrüse mit Viren nachgewiesen werden. Somit trifft die oftmals beschriebene unlimitierte Speicherfähigkeit von Geminiviren in den Vektoren auf dieses Organ nicht zu. Nach einer einmaligen Akquisition von MSV ließ sich während einer Testphase von 26 Tagen eine Reduzierung der Virusmenge von mehr als 90 % im Verdauungskanal und in der Hämolymphe der Vektoren feststellen (LETT *et al.*, 2002). REYNAUD und PETERSCHMITT (1992 zitiert in AMMAN und NAULT, 2002) ermittelten in *C. mbila* drei Tage nach Virusaufnahme 0,36 ng MSV/Zikade. Bereits 14 Tage nach Virusaufnahme wurden im Durchschnitt nur noch 0,20 ng MSV/Zikade bestimmt, was einer Virusvermehrung im Vektor widerspricht. Da zwischen dem WDV und dem MSV eine große Verwandtschaft besteht, kann dieses Erkenntnis durchaus auf ersteres übertragen werden.

Der Ernährungszustand eines Weibchens nimmt Einfluß auf die Anzahl der abgelegten Eier (DETTNER und PETERS, 1999). Daraus resultiert eine intensive Nahrungsaufnahme, um den hohen Energiebedarf für die Synthese von Vitellogenin (Hämolymphe-Vorstufe des wichtigsten Eiproteins), Fetten und Kohlehydraten für die sich entwickelnden Eier zu decken. Es lag die Vermutung nahe, daß sich der unterschiedliche Nahrungsbedarf der Geschlechter auf die Übertragung des WDV auswirkt. Dies ließ sich aber in den eigenen Versuchen nicht bestätigen. Wie aus Tabelle 25 hervorgeht, waren Männchen und Weibchen zu gleichen Anteilen befähigt zu infizieren. Der gleiche Zusammenhang ergibt sich aus Tabelle A-4, hinsichtlich der Persistenz des Virus im Vektor. Allerdings sei darauf hingewiesen, daß nur relativ wenige Tiere für diese Auswertung zur Verfügung standen, da ein Großteil nach dem Absterben nicht mehr geschlechtsspezifisch zuzuordnen war. Weiterführende Untersuchungen wären deshalb anzuraten.

Alle nach Abschluß des Versuches aufgefundenen Zikaden wurden mittels PCR auf WDV geprüft (Kap. 4.4.1.1.2). Diese Testung hatte den Vergleich zwischen dem biologischen Test (entspricht dem Anteil virusübertragender *P. alienus*) und der PCR (Anteil der virustragenden Zikaden) zum Ziel. Wie bereits erwähnt, sind nicht alle Tiere einer Population in der Lage, als Vektor zu dienen. Einige Zikaden die WDV aufgenommen haben, also virustragend sind, können erfolgreich das WDV weitergeben. Anhand der Untersuchungen bestand die Möglichkeit einer Gegenüberstellung. Für die PCR standen insgesamt 116 *P. alienus* zur Verfügung. Davon waren 33,6 % virustragend und zur Übertragung befähigt. Von den erfolgreichen Vektoren reagierten lediglich 27,6 % in der PCR positiv. Da das WDV in der Zikade nicht repliziert, ist davon auszugehen, daß die negativ reagierenden Tiere das Virus zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits vollständig an Pflanzen abgegeben hatten (LETT *et al.*, 2002). Ähnliche Resultate verdeutlicht auch Tabelle A-4. Die meisten der in der PCR positiv reagierenden Zikaden hatten das WDV bereits ein- bzw. zweimal kurz nach Akquisition als L1, L2 bzw. L4 übertragen. Die Zikaden der ersten beiden Larvenstadien überlebten im Anschluß an die Übertragung noch verhältnismäßig lange (maximal 165 Tage). Geht man davon aus, daß die Zikaden in den ersten Lebenstagen nur eine relativ geringe Virusmenge aufnehmen können, wird die begrenzte Persistenz des Virus in der Mehrzahl der untersuchten *P. alienus* verständlich.

Von den Tieren, die nicht zur Virusweitergabe befähigt waren, reagierten in der PCR 44,0 % (= 51 Zikaden) positiv. Davon erreichten 28 Tiere nur ein Alter von max. 25 Tagen (Tab. 27). Somit ist nicht auszuschließen, daß ein Teil dieser Zikaden zu einem späteren Zeitpunkt zur erfolgreichen Virusweitergabe befähigt gewesen wäre. Neben einer nicht

vorhandenen Permeabilität der Darmwand für Viruspartikeln könnten weitere genetisch bedingte Einschränkungen für den Transport des WDV in der Hämolymphe vorliegen. Für Nichtvektoren des MSV und des *Digitaria streak virus (Mastrevirus)* wiesen LETT *et al.* (2002) die Darmwand als physikalische Barriere für den Weitertransport der Geminiviren nach. Im Anschluß an eine direkte Injektion von Viruspartikeln in die Hämolymphe gelang lediglich einer von drei Zikadenarten eine erfolgreiche Übertragung. Aufgrund dessen gehen die Autoren von weiteren Barrieren aus, die z.B. in der Speicheldrüse liegen könnten oder die Überlebensfähigkeit der Viren in der Hämolymphe betreffen. Bei einigen nicht-effizienten Vektoren aus der Gattung *Cicadulina* China fehlten bspw. spezielle Rezeptorzellen im Darm, mit deren Hilfe das MSV von der Darmwand über die Filterkammern in die Hämolymphe gelangt (AMMAR und NAULT, 2002). Derartige Rezeptorzellen befinden sich auch in der Speicheldrüse. Dies würde erklären, weshalb das Perforieren der Darmwand von nichteffizienten Vektoren als auch von Nichtvektoren in einigen Fällen zu einer erfolgreichen Übertragung führt. Von den 116 überprüften Zikaden waren 22,4 % weder im biologischen Test noch in der PCR positiv. Denkbar wäre, daß ein Teil dieser Tiere in den 24 Stunden keine Nahrung und somit auch keine Viren aufgenommen hatte. LETT *et al.* (2001) gelang bei *C. mibla* mittels EPG (Electrical Penetration Graph) die Beobachtung verschiedener Phasen bei der Nahrungsaufnahme. Im Gegensatz zu Aphiden reichte ein kurzes Anstechen der Nichtphloemzellen von weniger als einer Minute aus, um Geminiviren aufzunehmen. Wie bereits im Kapitel 2 erwähnt, kann auch das WDV in Mesophyllzellen nachgewiesen werden. Nach den derzeitigen Kenntnissen nehmen Nichtvektoren das Virus zwar auf, jedoch durch die fehlende bzw. sehr geringe Permeabilität der Darmwand unterliegen die Partikeln einer schnellen Reduktion (LETT *et al.*, 2002). Zukünftige Untersuchungen sollten klären, ob dies in gleicher Weise auf Nichtvektoren einer Vektorpopulation zutrifft. Auch in diesem Fall wäre ein Nachweis des WDV mittels PCR nicht möglich. Eine Übereinstimmung des biologischen Testes mit der PCR lag zu 50,0 % vor. Ein Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Zikaden trat nicht auf (Tab. 28).

Für die Aufklärung der großen individuellen Unterschiede im Übertragungsmodus von *P. alienus* wären Untersuchungen unter Nutzung eines Transmissionselektronenmikroskopes anzuraten. Auf diese Weise könnte das WDV in der Zikade detektiert bzw. der Weg des Virus durch die Zikade verfolgt und die Ursachen von Übertragungspausen erkannt werden. Vielleicht wäre es sogar möglich anhand der Morphologie effiziente Vektoren von Nichtüberträgern in einer Population zu unterscheiden.

Neben den bereits diskutierten Übertragungsversuchen erfolgte unter Laborbedingungen die Bestimmung der Akquisitions- und Zirkulationszeit des WDV (Kap. 4.4.1.2). Die schwierige Gestaltung der Stammzucht von *P. alienus* erlaubte keine gleichzeitige Entnahme einer großen Anzahl von Imagines. LINDSTEN und LINDSTEN (1999) berichteten ebenfalls von Problemen bei der Zucht von *P. alienus*. Diese bestanden einerseits in der langsamen Vermehrung unter Gewächshausbedingungen und andererseits in der Aufrechterhaltung der Zucht. Erfolgreicher gestaltete sich eine kontinuierliche Vermehrung von *Macrostelus laevis* Ribaut, 1927. Besonders jüngere Larven reagierten in den eigenen Versuchen sensibel auf ein häufiges Umsetzen von Pflanze zu Pflanze. Deshalb wurden Imagines genutzt. Insgesamt kamen 113 Tiere zum Einsatz, wobei lediglich vier Zikaden WDV übertrugen (Tab. 29). Diese hatten 10, 15 bzw. 40 min an den Infektionsquellen gesaugt. Die Zikaden wurden täglich auf virusfreie Wintergerste übergesetzt. Eine Infektion von Pflanzen durch die einzelnen Vektoren fand einmal bzw. mehrmals mit Unterbrechungen statt. Eine Zirkulationszeit von 24 bis 72 Stunden erwies sich als ausreichend. Alle vier Zikaden, die WDV an Wintergerste weitergaben, reagierten in der PCR positiv. Dies verdeutlicht, daß bei einer Akquisitionszeit von 10 bis 40 min eine so große Virusmenge aufgenommen wird, die innerhalb von 11 Tagen (Zeitraum des Versuches) durch die Nahrungsaufnahme nicht vollständig abgegeben wird. Bemerkenswert erscheint die hohe Anzahl (ca. 50,0 %) an positiv in der PCR reagierenden Zikaden, die keine Pflanzen infiziert hatten (Tab. 31). Es kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob es sich bei den betreffenden *P. alienus* um Vektoren oder Nichtvektoren gehandelt hat. In den Versuchen galt als Kriterium für die Nahrungsaufnahme ein ruhiges Sitzen an der Pflanze. Ob tatsächlich auch ein Saugen an der Pflanze stattfand, wird offen bleiben. Versuche mit dem EPG, die Aufschluß über das Saugverhalten geben könnten, waren aus zeitlichen Gründen nicht durchführbar. Die Zikaden für die Übertragungsversuche wurden der Stammzucht von MANURUNG (2002) entnommen, das heißt die Tiere unterlagen unmittelbar vor dem Experiment einem Transport. Inwieweit diese Beunruhigung das Saugverhalten der Zikaden beeinflusst hat, ist nicht zu belegen. Allerdings war auffallend, daß alle *P. alienus* der letzten Versuchsreihe in der Mehrzahl als virustragend reagierten. Diese Zikaden durchlebten zwischen dem Transport und dem Versuchsbeginn eine 24stündige Ruhephase auf virusfreier Wintergerste. Offensichtlich wirkte sich diese positiv auf die Virusaufnahme aus. Jedoch ist keine Aussage darüber möglich, weshalb diese Tiere dennoch keine Wintergerste infizierten. Eine Übertragung zu einem späteren Zeitpunkt (ab dem 11. Tag nach Virusaufnahme) kann nicht ausgeschlossen werden. Für eine erfolgreiche Übertragung nach einer

Zirkulationszeit von 24 bis 72 Stunden waren wenige Minuten Saugzeit ausreichend. Damit würden sich die Ergebnisse von VACKE (1962) bestätigen.

Die Virusausbreitung in Getreidebeständen wird vom Vorkommen aktiver und virustragender *P. alienus* bestimmt (LINDBLAD und SIGVALD, 2004). Untersuchungen zur Populationsdynamik dieser Zikade im Untersuchungsgebiet erfolgten durch MANURUNG (2002). In mehrjährigen gemeinsamen Versuchen wurde der Anteil virustragender und –übertragender Zikaden in der Freilandpopulation bestimmt. Kenntnisse darüber verbessern das Verständnis für die Ausbreitung des WDV in Getreidebeständen. In den Jahren 2000 bis 2002 wurden ab Juni bis zum Frostbeginn im 16tägigen Abstand Zikaden gefangen (Kap. 3.5.2) und unter Laborbedingungen jedes Tier einzeln für eine Woche auf Wintergerste und anschließend auf Winterweizen gesetzt. Die Ergebnisse sind im Kapitel 4.4.2 dargestellt. Bemerkenswert erscheinen die Schwankungen des Anteiles virusübertragender Zikaden an der Gesamtpopulation im Verlauf des Jahres. Dabei trat vor allem in Wintergerste ein hohes Quantum virusübertragender Zikaden in der Regel von Mai bis Juni auf, welches zur Zeit der Ausfallwintergerste sank und wiederum mit Beginn der Neuansaat im Herbst anstieg. In einem relativ geringem Umfang prüften LINDSTEN und LINDSTEN (1993) den Anteil virusübertragender Zikaden in einem Bestand von Winterweizen. Während sich die 30 von ihnen gefangenen Zikaden Mitte September (38. Kalenderwoche) als nicht virusübertragend erwiesen, waren in der 40. Kalenderwoche acht von zehn in der Lage, den Weizenstamm zu übertragen. In späteren Untersuchungen stellten die Autoren fest, daß Ende August in Weizen gefangene Zikaden kein WDV aufgenommen hatten (LINDSTEN und LINDSTEN, 1999).

Offensichtlich führte der Wechsel der Fruchtart in Zscherben (Wintergerste bis zur Vegetationsperiode 2000/2001 und Triticale in den Jahren 2001/2002) vom Herbst 1999 bis Frühsommer 2002 zu einem deutlichen Rückgang des WDV (Tab. 32). Allerdings nahmen in Triticale in der Vegetationsperiode 2001/2002 die BYDVs stark zu. Während im Herbst 2001 ein Befall mit diesen von 41,3 % vorlag, blieb der Nachweis des WDV aus. Zu diesem Zeitpunkt konnten nur wenige virusübertragende Zikaden gefangen werden (Fangtermin 22.11.2001, Abb. 9). Wie bereits diskutiert, beeinträchtigt die Zunahme der BYDVs die Ausbreitung des WDV, was sich im Jahr 2002 fortsetzte. Somit dürfte die Abnahme der WDV-Infektionen weniger mit dem Wechsel der Fruchtart, sondern mit der starken Zunahme der BYDVs im genannten Untersuchungsgebiet zu begründen sein (Kap. 4.2.2). Nach dem gegenwärtigen Kenntnisstand lassen sich die Schwankungen im Anteil virusübertragender Zikaden im Jahresverlauf wie folgt erklären. Die im Frühjahr aus den Eiern

schlüpfenden Larven von *P. alienus* nehmen aus bereits im Herbst infizierten und überlebenden Pflanzen das WDV auf. Mit zunehmender Aktivität der Zikaden beginnt die Ausbreitung im Bestand. Im abreifenden Getreide ist die Aufnahme von Pflanzensaft eingeschränkt, was zu einer Reduktion des Anteiles virusübertragender Tiere führt. Offensichtlich beginnt ein Teil der Zikaden in die Randflächen abzuwandern. Die anderen folgen zum Zeitpunkt der Ernte. Zu diesem Termin konnten in Triticale in Zscherben (2002) nur noch einige wenige Tiere gefangen werden. Die an Wildgräsern in Feldnähe überlebenden Zikaden können auch dort WDV aufnehmen. Nach dem Auflaufen des Ausfallgetreides wandern die Zikaden sofort wieder in die Felder ein. Dies führt zu den ersten Primärinfektionen (= durch migrierte Zikaden gesetzte Infektionen; im Gegensatz dazu entsprechen Sekundärinfektionen denen, die durch im Bestand geschlüpfte Zikaden gesetzt werden [LINDBLAD und WAERN, 2002]). Werden Flächen mit Ausfallgetreide gepflügt oder chemisch abgetötet, wandern überlebende Zikaden ab. Eine nichtwendende Bodenbearbeitung (z.B. Einsatz von Schwergrubbern) bringt möglicherweise ähnliche Effekte, wenn die Pflanzen gründlich eingearbeitet werden. Bei Direktsaat würden die Zikaden nur kurzzeitig gestört und anschließend sofort wieder in die Felder einwandern. In derartigen Beständen käme es zu einem ungehinderten Ansteigen virustragender Zikaden ab Beginn des Auflaufens von Ausfallgetreide bis zum Absterben der Tiere im Spätherbst. Neuansaat werden in der Regel von außen besiedelt. Durch Sekundärinfektionen mit dem WDV steigt auch der Anteil virusübertragender Zikaden im Bestand.

Im gesamten Untersuchungszeitraum wurden nur wenige *P. alienus* gefangen, die befähigt waren, sowohl Wintergerste als auch Winterweizen zu infizieren. Diese Tiere hatten offensichtlich beide Virusstämme aufgenommen. Auf diesen Sachverhalt wurde bereits hingewiesen. Die Ausbreitung des WDV in einem Bestand erfolgt in erster Linie durch Zikaden, die das Virus im Bestand aufnehmen. Die Zuwanderung in die Bestände während des Frühsommers erscheint weitaus niedriger als zum Zeitpunkt der Neuansaat im Herbst, anderenfalls hätten zahlenmäßig mehr gefangene Zikaden aus Zscherben gleichfalls den Winterweizen im Labor infizieren müssen, den sie zuvor aus Gräsern der Randflächen aufgenommen.

Wiederum wurden alle nach den Übertragungsversuchen aufgefundenen Zikaden einer Prüfung mittels PCR unterzogen, was einen Vergleich virusübertragender und –tragender Zikaden in der Freilandpopulation ermöglichte.

Bei genauer Betrachtung der Ergebnisse (Tab. 35) werden einige Probleme sichtbar. Wie in den vorangegangenen Versuchen traten einerseits Zikaden auf, die das WDV übertrugen

und auch in der PCR positiv reagierten. Andererseits gab es Tiere, die vermutlich bereits alle Partikeln abgegeben hatten und folglich die PCR versagen mußte. Außerdem reagierten einige Zikaden in der PCR, obwohl keine Virusübertragung stattfand. Der Anteil dieser *P. alienus*, die als potentielle Überträger anzusehen sind, wäre mittels PCR nicht zu erfassen, da die Untersuchungen im Labor (Kap. 4.4.1.1) bestätigten, daß Einzelindividuen trotz Aufnahme des WDV zeitlebens das Virus nicht an Pflanzen abgeben. Da generell nicht mit Sicherheit gesagt werden kann, ob die gefangenen *P. alienus* im Getreidebestand Kontakt mit einer virusinfizierten Pflanze hatten, müssen alle Argumente spekulativ bleiben. Die Versuche signalisieren lediglich die großen individuellen Unterschiede hinsichtlich der Übertragung des WDV durch *P. alienus*. Die mit der PCR ermittelten virustragenden Tiere entsprechen ungefähr dem Anteil der im biologischen Test ermittelten virusübertragenden. Um eine mögliche Infektionsgefahr durch das WDV prognostizieren zu können, wäre der Einsatz der weniger aufwendigen PCR der Vorzug zu geben. Allerdings eignet sich diese Methode nicht, um den Anteil der Tiere zu bestimmen, die im Bestand tatsächlich Infektionen setzen. In diesem Fall ist der biologische Test in Form von Übertragungsversuchen der PCR vorzuziehen.

5.5 Infektionszyklus des WDV

Abschließend sollen die Wechselwirkungen zwischen Virus-Wirtspflanze-Vektor und der Umwelt zusammenfassend erläutert werden. Dabei wird der Versuch unternommen, aus den bisher vorliegenden Ergebnissen den Infektionszyklus des WDV darzustellen (Abb. 12).

Ausgangspunkt stellt die Populationsdynamik von *P. alienus* dar. Nach MANURUNG (2002) erfolgt der Schlupf der ersten Larven aus den überwinterten Eiern in Abhängigkeit von der Jahreswitterung frühestens ab Ende April. Ungefähr 30 Tage später, nach dem Erreichen der Temperatursumme von 154 °C, erscheinen die ersten Imagines. In den Jahren 1999 bis 2001 war das im Zeitraum Mitte bis Ende Mai der Fall. Die Eiablage dieser Tiere erfolgt nach einer Präovipositionszeit von ca. 10 Tagen frühestens Ende Mai, in der Regel im Juni und Juli, je nachdem, wann die Imagines erschienen. Die weiblichen Zikaden der zweiten Generation sind ab Ende Juli bis Mitte August in der Lage, Eier abzulegen. Aus denen, die im Juli bzw. Anfang August abgelegt werden, können sich, verbunden mit warmer und trockener Witterung, Larven einer dritten Generation entwickeln. Mit beginnendem Kurztag ab Mitte August erfolgt das Ablegen von Dormanzeiern (siehe Kap. 2).

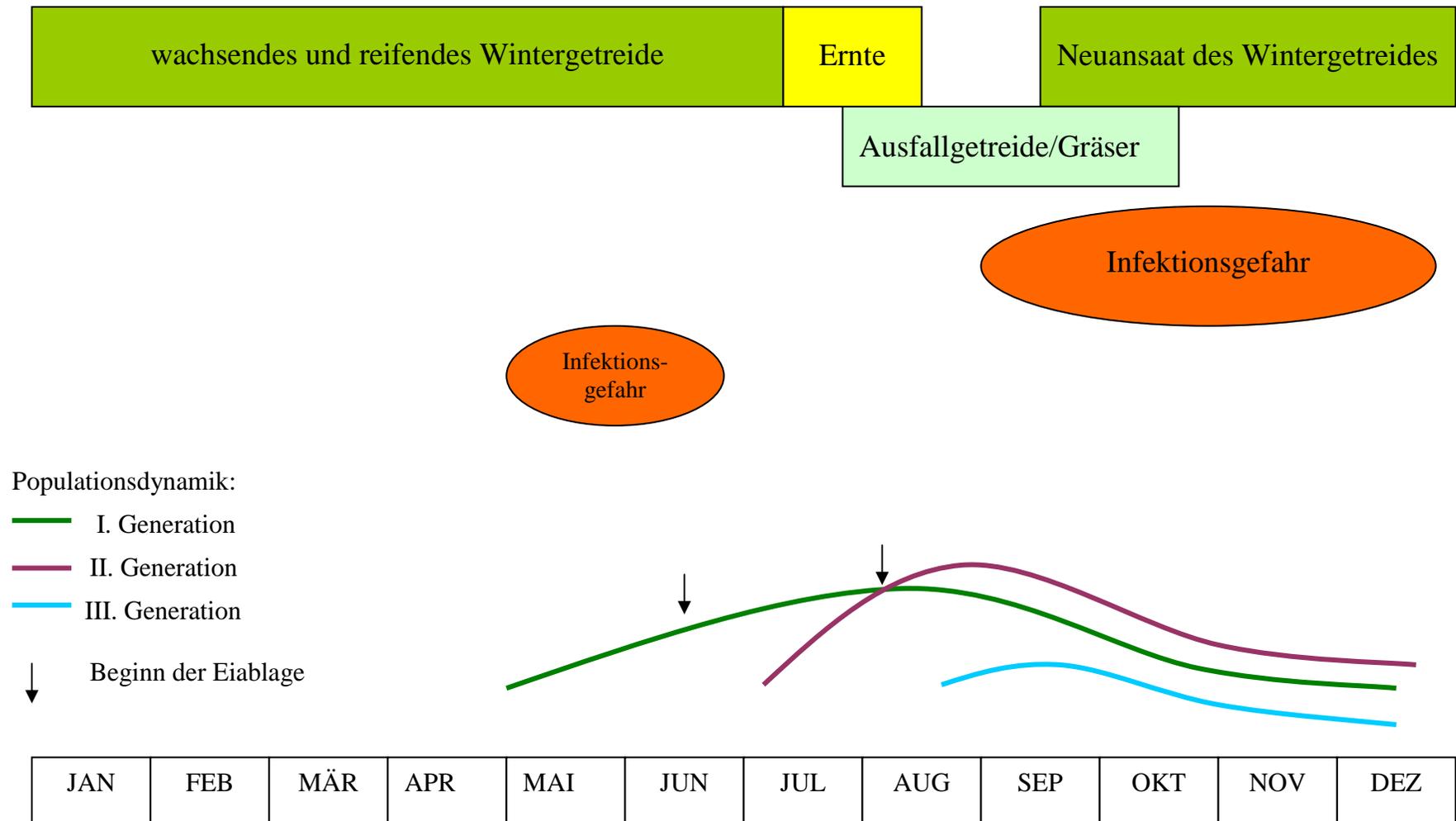


Abb. 12: Schema des Infektionszyklus des WDV

Treten die Imagines der ersten Generation, bedingt durch kühle Temperaturen in den ersten Monaten des Jahres, nicht eher als Ende Mai/Anfang Juni auf, erfolgt das Ablegen der Eier der zweiten Generation Mitte bis Ende August. In diesem Fall kann eine Entwicklung einer dritten Generation ausgeschlossen werden. Die Ablage der Dormanzeier endet mit dem Absterben von *P. alienus* bei Temperaturen unter - 5 °C. Im Jahr 1999 erfolgte dies Mitte November und 2000 erst Mitte Dezember (MANURUNG, 2002). Die Witterung bestimmt also die Anzahl der Generationen im Jahr. Für die Ausbreitung des WDV ist weiterhin der Zeitpunkt der Primärfektionen von entscheidender Bedeutung, was besonders für die Neuansaat im Herbst zutrifft. Im Verlauf des Oktober infizierte Pflanzen sterben in der Regel bis zum Frühjahr ab. In welchem Maße eine Virusausbreitung in den Beständen von Wintergetreide erfolgt, hängt von verschiedenen, nachfolgend aufgeführten Faktoren ab:

- Aussattermin des Getreides,
- Vorhandensein von Wirtsgräsern oder Ausfallgetreide in der Nähe der Getreideflächen
- der Anzahl der Zikaden, die in den Bestand einwandern,
- Anteil der virusübertragenden Zikaden,
- Auftreten von Blattläusen infolge günstiger Witterung, die die Population von *P. alienus* negativ beeinflussen und
- Zeitraum, der zum Setzen von Infektionen zu Verfügung steht und mit dem Absterben der Zikaden im Spätherbst beendet wird.

Eine zweite Infektionsperiode beginnt im Frühjahr mit dem Schlupf der Zikaden. Da das WDV nicht transovarial übertragen wird, müssen die Larven das Virus erst an infizierten Pflanzen aufnehmen. Als Infektionsreservoir dienen im Herbst infizierte Getreidepflanzen, die im Verlauf des Winters noch nicht abgestorben sind bzw. Wildgräser im Getreidebestand oder an den Feldrändern. Die Aktivität der Zikaden im Bestand nimmt mit ihrer weiteren Entwicklung zu. Die ersten Frühjahrsinfektionen werden ab Ende April bzw. Mai gesetzt. In der Regel treten kaum Symptome auf. Virusinfektionen sind ab Ende Mai bzw. Anfang Juni serologisch bzw. in der PCR nachweisbar.

Der Anteil virusübertragender bzw. -tragender Zikaden an der Gesamtpopulation erreicht im Juni seinen höchsten Wert (Kap. 4.4.2). Offensichtlich werden jedoch zu diesem Zeitpunkt abreifende Pflanzen nicht mehr infiziert. Die Zikaden übertragen das WDV alljährlich auf Ausfallgetreide bzw. Wirtsgräser. Diese Pflanzen bilden das Virusreservoir für die Neuansaat.

Zum Zeitpunkt der Ernte wandern die Zikaden auf grasbewachsene Randflächen ab, um nach dem Auflaufen des Ausfallgetreides wieder auf die Felder zurückzukehren. Einwandernde *P. alienus* bringen entweder das WDV von infizierten Gräsern mit oder beladen sich damit auf erkranktem Ausfallgetreide. Im Ausfallgetreide erreicht *P. alienus* den Populationshöhepunkt, da zu dieser Zeit Tiere von maximal drei Generationen nebeneinander vorkommen können.

Die Zeit zwischen Saatbettbereitung und Auflaufen der Neuansaat verbringt *P. alienus* erneut auf den Randflächen bzw. auf benachbarten Ausfallgetreideflächen. Sobald die Neuansaat aufläuft, werden sie von den Zikaden besiedelt, womit sich der Infektionszyklus schließt.

Für die Kontrolle des WDV wäre eine Unterbrechung des Infektionszyklus notwendig. Da Frühjahrsinfektionen kaum zu einer Schädigung des Getreides führen, gilt die Hauptanstrengung der Verringerung von Herbstinfektionen.

Eine große Bedeutung kommt einer gründlichen Beseitigung des Ausfallgetreides zu. Aus phytosanitären Gründen wäre ein Unterpflügen anzuraten, da dabei die Pflanzen und ein Teil der daran lebenden Zikaden in den Boden eingebracht werden. Allerdings ist davon auszugehen, daß Imagines und ältere Larven, die sich aktiv fortbewegen können, in der Lage sind, wegzuspringen. Ein Großteil der jüngeren Larven sowie alle abgelegten Eier werden jedoch vernichtet (MANURUNG, 2002). Auf diese Weise wird die Anzahl der Tiere, die in Neuansaat infizieren können, reduziert. Durch die Vernichtung der Dormanzeier wird die erste Generation des Folgejahres ebenfalls verringert. Wenn aus ökonomischen bzw. arbeitswirtschaftlichen Gründen auf das Pflügen verzichtet wird, sollte auf jeden Fall eine alternative Form der Beseitigung des Ausfallgetreides gewählt werden (z.B. der gründliche Einsatz von Bodenbearbeitungsgeräten wie Schwergrubber oder die Anwendung eines Totalherbizides).

Die Aussaat des Getreides sollte zu dem für den jeweiligen Standort optimalen Aussaattermin erfolgen. Eine frühe Aussaat bedeutet stets ein größeres Risiko sowohl hinsichtlich einer Infektion mit dem WDV als auch mit den BYDVs. Von Ausfallgetreideflächen können virustragende Zikaden und Blattläuse ungehindert einwandern. Der zeitige Aufgang der Neuansaat, verbunden mit optimalen Temperaturen über einen längeren Zeitraum, fördert die Entwicklung der Zikaden und führt zu einer erhöhten und verlängerten Eiablage. Dies wiederum steigert die Anzahl der im Frühjahr schlüpfenden Larven, womit sich die Gefahr von Frühjahrsinfektion erhöht, was besonders bei warmer Witterung und demzufolge frühem Schlupf der ersten Larven zu erwarten ist. Obwohl die Pflanzen zu diesem

Zeitpunkt durch eine Virusinfektion weniger stark geschädigt werden, besteht trotzdem die Gefahr, daß eine Großzahl von Zikaden WDV aus dem Getreide aufnimmt. Diese Tiere tragen spätestens zum Zeitpunkt der Ernte das WDV in die Randflächen ein. Somit wird das WDV-Reservoir weiterhin aufrechterhalten. Eine Vorverlegung des Aussaattermins für Winterweizen, verbunden mit optimalen Witterungsbedingungen für die Virusvektoren, führte im Herbst 2000 erstmals zu stärkeren Infektionen (Kap. 4.2.2 und Tab. A-2). Der optimale Saattermin für Winterweizen für den mittleren und südlichen Teil Sachsen-Anhalts liegt zwischen dem 25.09. und 10.10. (HARTMANN, mündl. Mitteilung 2004). In diesem Zusammenhang sei noch einmal auf die Befallssituation in Langenbogen im Jahr 2000 verwiesen.

In den letzten Jahren haben sich verschiedene schwedische Virologen mit den Ursachen des Auftretens des WDV auseinandergesetzt. Seit der Entdeckung des Virus zu Beginn des 20. Jahrhunderts wird in Schweden das Auftreten der Erkrankung verfolgt. Fast 50 Jahre nach dem letzten großen Befall waren 1997 erneut starke Verluste (bis 80 %) zu registrieren (LINDBLAD *et al.*, 1999). Somit stellte sich die Frage nach den Ursachen des erneuten und unerwartet starken Auftretens des WDV (LINDBLAD und ARENÖ, 2002). Obwohl im Jahr 1955 zahlreiche *P. alienus* gefangen werden konnten, gab es keine Berichte über WDV-Infektionen (SANDGREN und LINDBLAD, 1998). Anfangs wurde das Auftreten eines neuen Virusstammes vermutet, was sich jedoch nicht bestätigte (KVARNHEDEN *et al.*, 2002). Nachfolgende Untersuchungen erbrachten den Beweis, daß unter anderem Veränderungen in der Bewirtschaftung zur Ausbreitung des WDV führten, z.B. Vorverlegung des Saattermines, zunehmende pfluglose Bestellung, wobei Ausfallgetreide in der keimenden Saat als Virusquelle dient. Dies führte teilweise zu lückigen Beständen, die von Zikaden bevorzugt besiedelt werden. Die Zunahme von Bracheflächen (besonders nach dem Anbau von Getreide) schafft bevorzugte Orte für die Überwinterung des WDV und des Vektors (ARENÖ, 2000; LINDBLAD und WAERN, 2002). Abweichend von der Situation im Mitteldeutschen Trockengebiet oder in Frankreich (FOHRER *et al.*, 1992) werden in Schweden die Primärinfektionen im Herbst als nicht so bedeutend eingeschätzt (LINDBLAD und SIGVALD, 2004). Durch die frühzeitig einsetzenden niedrigen Temperaturen im Herbst ist die Zeitspanne der Aktivität der Zikaden verkürzt.

5.6 Sortenwahl und chemischer Pflanzenschutz

Hinsichtlich des Sortenverhaltens gegenüber einer Infektion mit dem WDV kann anhand der ermittelten Daten in vorliegender Arbeit keine weitgehende Aussage getroffen werden.

In der Literatur sind jedoch Hinweise auf unterschiedliche Reaktionen gegenüber einem Befall mit dem WDV zu finden. Durch VACKE und CIBULKA (2000b) erfolgte eine Prüfung von 40 Sorten von Winterweizen unter Freilandbedingungen. Das Sortiment wurde bezüglich der Anfälligkeit in drei Gruppen unterteilt. Hoch anfällige Sorten der ersten Gruppe, z.B. 'Alana', 'Hana' und 'Ritmo', waren zu keinerlei Ährenausbildung befähigt und unterlagen einer Reduzierung der Pflanzenlänge von 70–90 %. Zu den anfälligen Sorten (Gruppe zwei) zählten diejenigen, deren Längenreduzierung 60–70 % (z.B. 'Alka', 'Blava' und 'Sparta') betrug. Für die Sorten 'Hana' und 'Blava' wies bereits PRASLICKA (1997) ein unterschiedliches Verhalten gegenüber dem WDV nach. Die Vertreter der dritten Gruppe (z.B. 'Ilona', 'Mona', 'Saskia') wurden von den Autoren als moderat anfällig klassifiziert. Diese Sorten waren zur Kornausbildung befähigt. Dabei erfolgte in der Regel die Produktion von sterilen Körnern, was eine Reduzierung des Ertrages von 83–93 % bewirkte. Analysen von Spätinfektionen erbrachten einen Ertragsverlust von 72 % bei Sorten der ersten Gruppe, 35 % bei Pflanzen der zweiten Kategorie und 21 % bei allen moderat anfälligen Vertretern. Anhand der mittels DAS-ELISA erzielten Werte wurde hinsichtlich der Viruskonzentration ein signifikanter Unterschied zwischen den hoch anfälligen und den moderat anfälligen Sorten festgestellt. Die durchschnittlichen Mittelwerte der Extinktion betrugen 1,747 bei den hoch anfälligen Sorten, 1,600 (anfällige Sorten) bzw. 1,392 (moderat anfällige Sorten). Das unterschiedliche Sortenverhalten hinsichtlich der relativen Viruskonzentration deutet quantitative Resistenz an. Jedoch sind auch Pflanzen mit niedrigeren Viruskonzentrationen Infektionsquellen und stellen aus epidemiologischer Sicht eine Gefahr dar (GRÜNTZIG und FUCHS, 2000).

LINDBLAD und WAERN (2002) stellten bei einem Vergleich von vier Winterweizensorten gleichfalls eine unterschiedliche Reaktion gegenüber einer Infektion mit dem WDV fest. Dabei erwies sich die Sorte 'Kosack' gegenüber 'Stava', 'Pagode', 'Ritmo' und 'Tarso' bei einer Sichtbonitur der Symptome im Spätherbst als besonders anfällig. Die serologische Testung des Getreides im Frühsommer erbrachte den höchsten relativen Anteil infizierter Pflanzen bei 'Kosack' und 'Stava' im Vergleich zu 'Tarso' und 'Pagode'.

Neben Weizen prüften VACKE und CIBULKA (2001) ein Sortiment von Wintergerste unter Freilandbedingungen. In den zweijährigen Versuchen betrugen die Infektionsraten stets 97 – 100 %. Anhand von Ergebnissen, die mittels DAS-ELISA erzielt wurden, konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Anfälligkeit der Sorten festgestellt werden. In einer inkompatiblen Wirt-Pathogen-Beziehung werden zwei Arten von Resistenz unterschieden: qualitative (vertikale) und quantitative (horizontale) Resistenz. Erstere entspricht

einer spezifischen Resistenz eines Wirtes gegen ein bestimmtes Pathogen (z.B. spezifische Pilzrasse oder Virusstamm). Aufgrund der bisher bekannten Ergebnisse von Sortenprüfungen auf einen Befall mit dem WDV ist diese Form der Resistenz derzeit nicht zu erwarten. Hingegen lassen die Differenzierungen der pflanzlichen Reaktionen auf die Virusinfektion auf eine quantitative Resistenz schließen. Diese entspricht einer sogenannten generellen Resistenz, die oftmals durch mehrere Gene sowie gegenüber verschiedenen Pathogenen besteht (VAN DER PLANK, 1968). Die Bereitstellung resistenter Sorten bietet eine Chance, die Ausbreitung des WDV einzugrenzen. Dabei offenbaren sich folgende Möglichkeiten. Einerseits kann dieses Ziel durch klassische Pflanzenzüchtung erreicht werden (Schaffung einer Ausgangsvariation, Selektion von Sortenkandidaten, Vermehrung und Erhaltung der neuen Sorte). Für Weizen und Gerste (als Selbstbefruchter) könnte bspw. die Linienzüchtung genutzt werden. Andererseits stehen in der modernen Pflanzenzüchtung biotechnologische Methoden zur Verfügung. Wenn es gelänge, die Resistenzfaktoren in den weniger anfälligen Sorten zu bestimmen, bestünde die Möglichkeit diese Eigenschaften in neuen Sorten z.B. mittels direktem Gentransfer zu etablieren. Speziell bei der Herstellung von transgenen virusresistenten Sorten kann die Prämunition (cross protection) zum Einsatz gelangen. Dabei werden z.B. Hüllproteingene der Viren in die entsprechenden Pflanzen eingebracht, wobei auch Gene nichtverwandtschaftlicher Viren für diesen Effekt sorgen können (KEMPKEN und KEMPKEN, 2004). Dieser Prozeß beruht auf dem sogenannten PTGS (post-transcriptional gene silencing). NAPOLI *et al.* (1990 zitiert in DREWS *et al.*, 2004) erkannten, daß Transgene in transformierten Pflanzen unterdrückt wurden. Eine posttranskribtionale Reduktion führte zur Absenkung des mRNA-Spiegels. Bei pathogeninduzierter Resistenz war mitunter die Expression des Transgenes gar nicht erforderlich. Diese Form der Resistenz ist allerdings hochspezifisch für das verwendete Transgen bzw. für sequenzzhomologe Viren. FAGARD und VAUCHERET (2000 zitiert in DREWS *et al.*, 2004) ermittelten experimentell, daß die Informationen bezüglich des PTGS innerhalb der Pflanze weitertransportiert werden. Dementsprechend muß PTGS induziert werden, die erfolgreiche Induktion verbreitet sich systemisch in der Pflanze und wird erhalten. Bei dieser Form der Herstellung von virusresistenten Sorten ist jedoch eine virale Rekombination mit anderen Viren nicht ausgeschlossen, weshalb dieses System noch nicht sehr verbreitet ist (KEMPKEN und KEMPKEN, 2004).

Anders als für die Bekämpfung der Blattlausvektoren der BYDVs, stehen den Landwirten gegenwärtig kaum zugelassene Insektizide zur Kontrolle der Zikaden zur Verfügung. Nach MOREAU *et al.* (1992), COMPAGNON und MAZOIRE (1993) sowie DEBRAY und GROLLEAU

(1993) kann eine ein- bis zweimalige Behandlung mit Pyrethroiden (z.B. alphamethrin, lambda-cyhalothrin) ab dem Ein- bis Zweiblattstadium zu einer signifikanten Reduzierung des WDV-Befall in Winterweizen führen. LINDBLAD *et al.* (1999) berichteten gleichfalls von einem Effekt in Winterweizen nach einer Spritzung mit Pyrethroiden. Aufgrund der größeren Bedeutung von Sekundärinfektionen erfolgt in Schweden der Einsatz des Pflanzenschutzmittels im Frühjahr. Die Autoren konnten eine Halbierung der Befallsrate im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle feststellen. KEYZER *et al.* (1993) verglichen eine Saatgutbehandlung von Winterweizen mit Imidacloprid (70 g/ha) mit einer zweimaligen Spritzung mit deltamethrin (Pyrethroid, 7,5 g/ha im Ein- bis Zweiblattstadium). In beiden Fällen war ein langanhaltender Effekt zu erkennen. Dies führte zu einer Befallsreduzierung von 65-68 %. In eigenen Untersuchungen, die in Zusammenarbeit mit dem Landespflanzenenschutzamt Sachsen-Anhalt durchgeführt wurden (unveröffentlicht), konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden. Auf drei Großparzellen von früh bestelltem Winterweizen (Aussaat der Sorte 'Bussard' am 11.09.2000, Spickendorf) kamen neben einer unbehandelten Kontrolle eine Saatgutbehandlung mit Imidacloprid sowie eine einmalige Spritzung (04.10.2000) mit „Bulldock“ (Fa. Bayer, beta-cyfluthrin/Pyrethroid) zum Einsatz. Während die Blattläuse durch die Behandlung nahezu vollständig vernichtet und infolgedessen die BYDVs vermindert wurden, war hinsichtlich der Zikaden und des WDV lediglich durch eine Spritzung des Pyrethroids eine reduzierende Wirkung auf die Abundanz zu beobachten, die jedoch nicht zu einer Reduzierung des WDV-Befalls beitrug. Eine generelle Saatgutbehandlung mit Imidacloprid gegen Zikaden, um Primärinfektionen im Herbst einzuschränken, wird von verschiedenen Autoren vorgeschlagen (VACHER *et al.*, 1991; 1992).

Bei der Bekämpfung weiterer Arten von Zikaden anderer Kulturen wurde mit Imidacloprid gute Erfolge erzielt (FOLLETT *et al.*, 2000; WIDIARTA *et al.*, 2001). PU *et al.* (2005) berichteten über die Kontrolle der Zikade *Empoasca vitis* Goethe, 1875, einem ökonomisch bedeutsamen Schädling des Teeanbaues in China durch Anwendung eines parasitischen Pilzes. Eine Kombination dieser Maßnahme mit einer reduzierten Aufwandmenge von Imidacloprid (4,5 g/ha) erhöhte die Wirkung. Bei der Zikade *Sophonia rufofascia* Kuoh und Kuoh wurde dadurch eine Mortalität von > 80 % erreicht.

6 Zusammenfassung und Schlußfolgerungen

6.1 Deutsche Fassung

Das Weizenverzwergungs-Virus (*Wheat dwarf virus*, WDV) wird durch die Zwergzikade *Psammotettix alienus* Dahlbom, 1851 auf Getreide und zahlreiche Gräser übertragen. Im Herbst vom WDV befallene Pflanzen sterben in der Regel im Verlauf des Winters bzw. im Frühjahr ab.

Die vorliegende Arbeit leistet einen Beitrag zum besseren Verständnis der Ökologie dieses Virus im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt in den Jahren 1995 bis 2002. Nachfolgend aufgeführte Schwerpunkte wurden bearbeitet:

- Herstellung eines Antiserums vom WDV zur Virusdiagnose
- Erhebungen zum Auftreten des WDV in Wintergetreide im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt
- Untersuchungen zum Wirtskreis und Stammspektrum des WDV in verschiedenen Wirtsarten
- Aufklärung der Interaktion zwischen dem WDV und der Zikade *P. alienus*, im besonderen Untersuchungen zur Effektivität der Übertragung durch die einzelnen Entwicklungsstadien von *P. alienus* sowie zur Persistenz, Akquisitionszeit und Zirkulationszeit
- Ermittlung virusübertragender und virustragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation in Beständen von Wintergerste und Triticale am Standort Zscherben, Sachsen-Anhalt.

Im einzelnen wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Unter Verwendung WDV-infizierter Wintergerste aus dem Freiland als Ausgangsmaterial für die Reindarstellung gelang die Herstellung eines ELISA-fähigen Antiserums.

Das WDV trat im Untersuchungsgebiet in allen Prüfjahren in Getreidebeständen auf. In Einzelfällen erreichten die Infektionsraten in Wintergerste > 50 %, wobei Ertragsverluste nicht auszuschließen waren. Ein hohes Infektionspotential in Beständen von Ausfallgetreide führt bei einer verfrühten Aussaat des Wintergetreides zu einem verstärkten Befall im Herbst, was besonders beim Anbau von Winterweizen und Triticale zu beobachten ist. In Jahren mit einem epidemiologischen Auftreten der BYDVs (1995, 2001, 2002) kommt

das WDV nur in einem geringen Umfang vor. Umgekehrt geht ein höherer WDV-Befall stark mit niedrigen Infektionsraten der BYDVs einher.

Neben Getreide dienen verschiedene Wild- und Kulturgräser als Wirte des WDV. In Freilandversuchen konnten unter natürlichen Infektionsbedingungen zehn Grasarten als Wirtspflanzen bestätigt werden. Es handelt sich um die Spezies: *Apera spica-venti* (L.) P. Beauv., *Avena fatua* L., *A. sterilis* L., *Bromus inermis* Leyss., *B. secalinus* L., *B. tectorum* L., *Lagurus ovatus* L., *Lolium remotum* Schrk., *L. temulentum* L. und *Poa annua* L. Als neue Wirtspflanzen wurden *A. hybrida* Peterm., *A. sterilis* ssp. *ludoviciana* Dur., *B. arvensis* L., *B. commutatus* Schrad., *B. hordeaceus* L., *B. japonicus* Thunb. ex Murray, *B. sterilis* L., *Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv., *Festuca pratensis* Huds., *Phalaris arundinaceae* L., und *Setaria italica* (L.) P. Beauv. nachgewiesen.

Im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt wurde vorwiegend der Gerstenstamm des WDV beobachtet. Er befällt Wintergerste und Hafer. In Winterweizen und Triticale kam vorwiegend der Weizenstamm vor. In Einzelpflanzen aller genannten Arten erfolgte unter Verwendung einer PCR auch die Detektion des jeweils heterologen Stammes. Von den geprüften Grasarten erwiesen sich *A. spica-venti*, *A. fatua*, *A. hybrida*, *A. sterilis*, *B. secalinus*, *L. remotum*, *L. temulentum* und *P. arundinacea* als Wirt beider Stämme.

Im Anbau befindliche Sorten von Mais zählten bislang nicht zum Wirtskreis des WDV. In mehrjährigen Freilandversuchen mit verschiedenen Genotypen von Mais wurde die Anfälligkeit der Inzuchtlinie FAP 1360A gegenüber dem Gerstenstamm des WDV nachgewiesen. Auch Hybriden, in die die genannte Linie als Mutter einging, zeigten Anfälligkeit.

Erstmals wurden umfangreiche Versuche zur Übertragung des WDV durch seinen Vektor *P. alienus* durchgeführt. Dabei fand ausschließlich der Gerstenstamm des WDV Verwendung. Die Prüfung der Effektivität der Übertragung des Virus durch die einzelnen Entwicklungsstadien von *P. alienus* erbrachte für die Tiere des L2 mit 58,3 % die höchste Effizienz. Demgegenüber waren die Larven des L5 nur zu 18,3 % befähigt, das Virus weiterzugeben. Für alle übrigen Stadien ließen sich nachfolgende Werte bestimmen: L1 - 51,6 %, L3 - 41,4 %, L4 - 29,0 %, Imagines - 40,5 %. Im Hinblick auf den Übertragungsmodus zeigten sich zwischen den Einzelindividuen bemerkenswerte Unterschiede. Insgesamt standen für den Versuch 248 *P. alienus* zur Verfügung. Lediglich 35,5 % übertrugen das Virus auf Wintergerste. Die Persistenz des WDV im Vektor erreichte maximal 100 Tage. Offensichtlich dienen nicht alle Zikaden einer Population als Vektor. So waren

einige Tiere trotz Aufnahme des WDV nicht in der Lage, das Virus auf Wintergerste zu übertragen. Hingegen konnten auch Zikaden beobachtet werden, die mittels PCR negativ reagierten, obwohl sie das WDV erfolgreich übertrugen. Mögliche Ursachen dafür werden diskutiert.

Die Bestimmung der Akquisitions- und Zirkulationszeit des WDV im Vektor erfolgte gleichfalls unter Laborbedingungen. Die ermittelte Akquisitionszeit bei lediglich vier erfolgreich übertragenden Tieren betrug 10, 15 bzw. 20 min. Die Zirkulationszeit schwankte zwischen 24 bis 72 Stunden.

Im Verlauf mehrerer Vegetationsperioden wurde unter Verwendung eines biologischen Testes und der PCR der Anteil virusübertragender und virustragender Zikaden in einer Freilandpopulation ermittelt. Der Anteil virusübertragender Tiere unterlag jährlichen Schwankungen (2000: 37,3 %, 2001: 19,2 %, 2002: 0,8 %). Innerhalb einer Vegetationsperiode konnten gleichfalls Unterschiede in der Übertragung festgestellt werden. Die relativen Anteile der virusübertragenden Zikaden lagen im wachsenden und reifenden Getreide sowie in den auflaufenden Neuansaat über denen im Ausfallgetreide. Mittels PCR wurde hauptsächlich der Gerstenstamm ermittelt. In Einzeltieren gelang es, beide Stämme nachzuweisen. Ein Vergleich zwischen dem biologischen Test (Bestimmung der virusübertragenden Tiere) und der PCR (Ermittlung der virustragenden Tiere) ergab eine relativ große Übereinstimmung (65,0 % bzw. 88,8 %).

Unter Beachtung bereits bekannter und der eigenen Ergebnisse wurde für das Untersuchungsgebiet ein Schema des Infektionszyklus des WDV erstellt.

Aus den Ergebnissen der vorgelegten Arbeit leiten sich nachfolgende Schlußfolgerungen ab:

- Um einer starken Durchseuchung des Wintergetreides mit WDV und den BYDVs im Herbst entgegenzuwirken, kann neben der Einhaltung des ortsüblichen Saattermins eine rechtzeitige und gründliche Beseitigung des Ausfallgetreides empfohlen werden. Eine Bekämpfung des Vektors erscheint mit den gegenwärtig zur Verfügung stehenden Insektiziden wenig aussichtsreich. Demgegenüber stellt die Züchtung resistenter bzw. toleranter Sorten den einzigen gangbaren Weg dar.

- Änderungen in den Anbaubedingungen (z.B. Ausweitung des Getreideanbaus, verstärkte Frühsaat von Winterweizen und Triticale) im Untersuchungsgebiet führten neben der weiteren Etablierung des Gerstenstammes vermutlich auch zu einer Ausbreitung des Weizenstammes des WDV.
- Der Wirkkreis des WDV ist größer als bisher angenommen. Infizierte Wild- und Kulturgräser auf Randflächen stellen ein beachtliches Infektionspotential für Getreide dar.
- Alle derzeit im Anbau befindlichen Sorten von Mais werden nicht vom WDV befallen. Somit führt ein Maisanbau zu keiner Ausbreitung des Virus.
- Die jüngeren Entwicklungsstadien von *P. alienus* (L1 bis L3) besitzen im Experiment bezüglich der Übertragung des WDV eine höhere Effizienz als ältere Tiere. Aufgrund der größeren Aktivität der L4, L5 und der Imagines führen diese Entwicklungsstadien jedoch zu einer stärkeren Ausbreitung des Virus in Freilandbeständen.
- In einer Freilandpopulation von *P. alienus* lagen die relativen Anteile der virusübertragenden Zikaden im wachsenden und reifenden Getreide sowie in den auflaufenden Neuansaat höher als im Ausfallgetreide. Dies unterstreicht die Bedeutung einer rechtzeitigen und gründlichen Beseitigung des Ausfallgetreides sowie der Einhaltung des standortbedingten optimalen Saattermins. Mit dem Ausfallgetreide werden jüngere Larven und abgelegte Dormanzeier vernichtet.

Zukünftige Untersuchungen zum WDV sollten in erster Linie den praxisrelevanten Fragen, wie der Resistenz des Getreides sowie die Entwicklung von Insektiziden zur Bekämpfung des Vektors, gelten.

6.2 Englische Fassung

The *Wheat dwarf virus* (WDV) is transmitted to cereal by the leafhopper *Psammotettix alienus* Dahlbom, 1851. In the most cases the plants infected in autumn die during the winter to spring.

The aim of this study was to increase the knowledge of the ecology and the occurrence of this virus in the middle and the southern parts of Saxony-Anhalt from 1995 to 2002. The following main points were investigated:

- Preparation of an antiserum against WDV for diagnostical analyses
- Investigations of the occurrence of the WDV in winter cereal in the middle and the southern parts of Saxony-Anhalt
- Examination of the host range and the strain spectrum of the WDV in different host species
- Clearing up of the interaction between the WDV and the leafhopper *P. alienus* with mainly investigating of the effectivity of transmission of the WDV by the individual developmental stages of *P. alienus*, as well as persistence, times of acquisition, and circulation
- Detection of virus transmitted and viruliferous *P. alienus* in a population of the leafhoppers in fields of winter barley and triticale in Zscherben, Saxony-Anhalt.

The following results were obtained:

By means of infected outdoor winter barley an antiserum against WDV was prepared.

In all years of investigations the WDV has occurred in fields of cereal. In winter barley in single cases infection rates of > 50 % were reached. In these cases the loss of yield was not to be ruled out. A high potential of infection in stubble regrowth in conjunction with an early sowing date of winter cereal results in a high infestation of the new sown cereal in autumn. This shows especially in winter wheat and triticale. In years with an epidemiological appearance of BYDVs (1995, 2001, 2002) the WDV occurs in lower range. In reverse a higher infestation of WDV is accompanied with lower infection rates of BYDVs.

Beside cereal a lot of wild and culture grasses serve as host of WDV. In outdoor investigations ten species of grasses were confirmed as host under natural condition of infection. These were the species: *Apera spica-venti* (L.) P. Beauv., *Avena fatua* L., *A. sterilis* L., *Bromus inermis* Leyss., *B. secalinus* L., *B. tectorum* L., *Lagurus ovatus* L., *Lolium*

remotum Schrk., *L. temulentum* L., and *Poa annua* L. As new host species were found *A. hybrida* Peterm., *A. sterilis* ssp. *ludoviciana* Dur., *B. arvensis* L., *B. commutatus* Schrad., *B. hordeaceus* L., *B. japonicus* Thunb. ex Murray, *B. sterilis* L., *Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv., *Festuca pratensis* Huds., *Phalaris arundinaceae* L., and *Setaria italica* (L.) P. Beauv.

In the middle and southern parts of Saxony-Anhalt predominantly the barley strain of the WDV was observed. It attacked winter barley and oat. In winter wheat and triticale predominantly the wheat strain occurred. In individual plants of the mentioned species of cereal each heterologic strain by means of PCR also was detected. Of all examined species of grasses *A. spica-venti*, *A. fatua*, *A. hybrida*, *A. sterilis*, *B. secalinus*, *L. remotum*, *L. temulentum*, and *P. arundinacea* were found as host of both strains.

Up to now cultivars in maize culture were not counted to the host range of WDV. In perennial outdoor investigations with different genotypes of maize the susceptibility of the inbreeding line FAP 1360A against the barley strain of WDV was found. Also hybrids were susceptible when the mentioned line was the mother.

For the first time considerable investigations of transmission of the WDV were carried out by means of its vector *P. alienus*. Thereby exclusively the barley strain of WDV was used. The examination of the effectivity of the transmission of the virus by developmental stages of *P. alienus* produced the highest effectivity for the leafhoppers of the L2 with 58.3 %. In contrast, the larvae of the L5 only were able to transmit the virus with 18.3 %. For all the rest of the stages the following results were determined: L1 – 51.6 %, L3 – 41.4 %, L4 – 29.0 %, imagines – 40.5 %. In view of the modus of transmission remarkable differences between the several individuals were shown. Altogether, 248 *P. alienus* were available for the test. Only 35.5 % transmitted the virus on winter barley. The persistence of the virus in the vector came up to 100 days at the most. Apparently not all leafhoppers of a population serve as vectors. So in spite of absorption of the WDV some leafhoppers were not able to transmit the virus on winter barley. Also, some leafhoppers could be observed which reacted negatively by means of PCR although they transmitted the WDV successfully. Possible reasons for this will be discussed.

The determination of the times of acquisition and circulation of the WDV in the vector was also carried out under lab conditions. The established acquisition time by only four leafhoppers, which successfully transmitted, came to 10, 15, and 20 minutes. The time of circulation fluctuated between 24 and 72 hours.

In the course of several vegetation periods the contingents of virus transmitting and viruliferous leafhoppers were determined in an outdoor population by using of PCR. The rate of virus transmitting animals succumbed to annual fluctuations (2000: 37.3 %, 2001: 19.2 %, 2002: 0.8 %). Within one vegetation period differences with the transmission were noticed likewise. The rates of virus transmitting leafhoppers in growing and maturing cereal and in young autumn-sown cereal were higher than in stubble regrowth. By means of PCR basically the barley strain was established. In individual leafhoppers both strains could be verified. A comparison between the biological test (determination of the virus transmitting animals) and the PCR (determination of the viruliferous animals) resulted in a relative high agreement (65.0 % and, respectively, 88.8 %).

Considering the already known and the own results for the area of investigations a scheme of the infection cycle of the WDV was developed.

The following conclusions can be drawn from the results mentioned:

- The timely and efficient clearance of the stubble regrowth can be recommended to work against a high attack of WDV and BYDVs on winter cereal in autumn and the compliance of the sowing data which is customary in a place. The controlling of the vector seems not to be successful with the current available insecticides. In contrast, the breeding of resistant and tolerant cultivars respectively is the only right path.
- Changes in the conditions of growing in the area of investigation (i.e. spreading of cultivation of cereal, more early time sowing of winter wheat and triticale) resulted in the further establishment of the barley strain and probably also in the spreading of the wheat strain of the WDV.

- The host range of the WDV is larger than assumed so far. Infected wild- and culture grasses in the marginal area of the fields are a remarkable infection potential for the cereal.
- All current cultivars of maize culture will not be attacked by the WDV. Consequently, the maize culture do not results in spreading of the virus.
- The younger stages of development of *P. alienus* (L1 till L3) possess a higher efficiency than the older leafhoppers in the experiment concerning the transmission of the WDV. By reason of the higher activity of the L4, L5, and imagines these stages of development, however, cause a stronger spreading of the virus in outdoor areas.
- In an outdoor population of *P. alienus* the relative rates of virus transmitting leafhoppers in growing and matured cereal as well as in young autumn-sown cereal overlie the rates in stubble growth. This points up the importance of a timely and efficient removal of the stubble regrowth as well as the compliance of the locationally conditioned optimal sowing date. Together with the stubble regrowth the younger larvae and the laid eggs of dormancy will be destroyed.

Further investigations concerning the WDV should apply for practice relevant questions like the resistance of the cereal as well as the development of insecticides for controlling of the vector in the first instance.

7 Literaturverzeichnis

- ADEJARE, G. O.; COUTTS, R. H. A. (1982) The isolation and characterisation of a virus from nigerian cassava plants affected by the Cassava mosaic disease, and attempted transmission of the disease. *Phytopathologische Zeitschrift* **103**: 198-210
- ALLA, S.; MOREAU, J. P.; FREROT, B. (2001a) Effects of the aphid *Rhopalosiphum padi* on the leafhopper *Psammotettix alienus* under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **98**: 203-209
- ALLA, S.; MOREAU, J. P.; FREROT, B. (2001b) Evidence of an extractable semiochemical produced by *Rhopalosiphum padi* acting on *Psammotettix alienus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **99**: 107-111
- ALLA, S.; MALOSSE, C.; CASSEL, S.; ROLLIN, P.; FREROT, B. (2002) La mevalonolactone: un composé volatil produit par *Psammotettix alienus* (Dhb). *Comptes Rendus Biologies* **325**: 941-946
- AMMAR, E.-D.; NAULT, L. R. (2002) Virus transmission by leafhoppers, planthoppers and treehoppers (Auchenorrhyncha, Homoptera). *Advances in Botanical Research* **36**: 141-167
- ANONYM (1992) News Knowledges about wheat dwarf virus. *Phytoma – La défense des végétaux* **443**: 17-20
- ANONYM (2003a) Agrarbericht Land-, Ernährungs- und Forstwirtschaft des Landes Sachsen-Anhalt 2003. [http://www.sachsen-anhalt.de/rcs/LSA/398021/agrarbericht 2003.pdf](http://www.sachsen-anhalt.de/rcs/LSA/398021/agrarbericht%202003.pdf)
- ANONYM (2003b) Land- und Forstwirtschaft, Fischerei, Wachstum und Ernte – Feldfrüchte. Statistisches Bundesamt Wiesbaden, Fachserie 3/Reihe 3.2.1, Juli/August 2003, Servicecenter Fachverlage GmbH, Reutlingen, 13 S.

- ANONYM (2003c) Landwirtschaftlich genutzte Fläche nach Kulturarten in Sachsen-Anhalt. Statistisches Landesamt Sachsen-Anhalt, <http://www.stala.sachsen-anhalt.de>
- ANONYM (2004) Tulpen haben viele Gesichter. <http://www.blumenzwiebel.de/lexikon/tulpen.htm>
- ARENÖ, P. (2000) Wheat dwarf virus and *Psammotettix alienus* in grassland vegetation. <http://www.vaxteko.nu/html/sll/slu/vaxtskyddsnotiser/VSN00-1/VSN00-1E.htm>
- BARNETT, O. W.; MAIN, C. E. (1999) Plant Virus Disease – economic Aspects. In: GRANOFT, A.; WEBSTER, R. G. (Hrsg.) Encyclopedia of Virology. Academic Press, USA: 1318-1326
- BÄTZ, G.; DÖRFEL, H.; FUCHS, A.; THOMAS, E. (1987) Einführung in die Methodik des Feldversuchswesens. Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin, 327 S.
- BENDAHMANE, M.; SCHALK, H.-J.; GRONENBORN, B. (1995) Identification and characterization of Wheat dwarf virus from France using a rapid method for geminivirus DNA preparation. *Molecular Plant Pathology* **85** (11): 1449-1455
- BENKERT, D.; FUKAREK, F.; KORSCH, H. (1996) Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen Ostdeutschlands. Gustav Fischer Verlag Jena, 615 S.
- BISZTRAY, G.; GÁBORJÁNYI, R. (1989) Isolation and characterisation of wheat dwarf virus found for the first time in Hungary. *Journal of Plant Diseases and Protection* **96** (5): 449-454
- BOCK, J. O.; LUNDSGAARD, T.; PEDERSEN, P. A.; CHRISTENSEN, L. S. (2004) Identification and partial characterization of Taastrup virus: a newly identified member species of the Mononegavirales. *Virology* **319**: 49-59

- BOULTON, M. I.; KING, D. I.; MARKHAM, P. G.; PINNER, M. S.; DAVIES, J. W. (1991a) Host range and symptoms are determined by specific domains of the Maize Streak Virus genome. *Virology* **181**: 312-318
- BOULTON, M. I.; KING, D. I.; DONSON, J.; DAVIES, J. W. (1991b) Point substitutions in a promoter-like region and the V1 gene affect the host range and symptoms of Maize Streak Virus. *Virology* **183**: 114-121
- BOSQUE-PEREZ, N. A. (2000) Eight decades of *maize streak virus* research. *Virus Research* **71**: 107-121
- BROCK, K. R.; GUTHERIE, E. J.; WOODS, R. D. (1974) Purification of maize streak virus and its relationship to viruses associated with streak diseases of sugar cane and *Panicum maximum*. *Annals of Applied Biology* **77**: 289-296
- BRUNT, A. A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M. J.; GIBBS, A. J.; WATSON, L. (1996) *Viruses of plants: Descriptions and lists from the VIDE database*. University Press, Cambridge: 1484 S.
- BUCK, K. W. (1999) Geminiviruses (Geminiviridae). In: GRANOFT, A.; WEBSTER, R. G. (Hrsg.) *Encyclopedia of Virology*. Academic Press, USA: 597-606
- CLARK, M. F.; ADAMS, A. N. (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* **34**: 475-483
- COMMANDEUR, U.; HUTH, W. (1999) Differentiation of strains of *wheat dwarf virus* in infected wheat and barley plants by means of polymerase chain reaction. *Journal of Plant Diseases and Protection* **106**: 550-552
- COMPAGNON, J. M.; MAZOIRE, B. (1993) Lutte contre les cicadelles vectrice du virus du nanisme du ble (VNB) avec la lambda-cyhalothrine. ANPP Third Int. Conf. on Pests in Agriculture, 7-9 December 1993, Montpellier, France: 435-442

- CONTI, M. (1993) Leafhopper-borne plant viruses in Italy. *Memorie della Societa Entomologica Italiana* **72**: 541-547
- DAMSTEEGT, V. D.; IGWEGBE, E. C. K. (1998) Epidemiology and Control of Maize streak disease. In: HADIDI, A.; KHETARPAL, R. K.; KOGANEZAWA, H. (Hrsg.) *Plant virus disease control*. The American Phytopathological Society (APS Press) St. Paul, Minnesota: 484-494
- DETTNER, K.; PETERS, W. (1999) *Lehrbuch der Entomologie*. Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm, 921 S.
- DEBRAY, P. H.; GROLLEAU, G. (1993) Evaluation de l' alphanemethrine contre la cicadelle *Psammotettix alienus* Dahlb, agent vecteur du virus nanisme du ble. ANPP Third Int. Conf. on Pests in Agriculture, 7-9 December 1993, Montpellier, France: 443
- DIEPENBROCK, W.; FISCHBECK, G.; HEYLAND, K.-U.; KNAUR, N. (1999) *Spezieller Pflanzenbau*. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, 523 S.
- DLABOLA, J. (1961) Zur Schädlichkeit der Zikaden in Getreidefeldern. *Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst (Berlin)* **14**: 120-122
- DREWS, G.; ADAM, G.; HEINZE, C. (2004) *Molekulare Pflanzenvirologie*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 262 S.
- DUBNIK, H. (1991) *Blattläuse Artenbestimmung – Biologie – Bekämpfung*. Verlag Thomas Mann Gelsenkirchen-Buer, 120 S.
- ENCKE, F.; BUCHHEIM, G.; SEYBOLD, S. (1994) *Zander – Handwörterbuch der Pflanzennamen*. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, 812 S.
- FARACK, M.; SCHWABE, I. (2003) Effiziente und umweltverträgliche Winterweizenproduktion unter den Bedingungen hoher Weizenanbaukonzentrationen in Thüringen. <http://www.tll.de/ainfo/pdf/abww0603.pdf>

- FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A. (2001) The 7th ICTV Report. *Archiv of Virology* **146** (1): 189-194
- FAUQUET, C. M.; MAXWELL, D. P.; GRONENBORN, B.; STANLEY, J. (2000) Revised proposal for naming geminiviruses. *Archiv of Virology* **145** (8): 1743-1761
- FENNER, F. (1999) History of Virology. In: GRANOFT, A.; WEBSTER, R. G. (Hrsg.). *Encyclopedia of Virology*. Academic Press, USA: 718-725
- FLEGG, C. L.; CLARK, M. F. (1979) The detection of apple chlorotic leafspot virus by a modified procedure of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Annals of Applied Biology* **91**: 61-65
- FOHRER, F.; LEBRUN, I.; LAPIERRE, H. (1992) Acquisitions recéentes sur le virus du nanisme du blé. *Phytoma – La défense des végétaux* **443**: 18-20
- FOLLETT, P. A.; EMPY-CAMPORA, C.; JONES, V. P. (2000) Imidacloprid as a protectant for endangered plants attacked by *Sophonia rufofascia*. *Proceedings Hawaiian Entomological Society* **34**: 199-201
- FRASER, R. S. S. (1999) Plant resistance to viruses. In: GRANOFT, A.; WEBSTER, R. G. (Hrsg.) *Encyclopedia of Virology*. Academic Press, USA: 1300-1307
- FROST, C. (2002) Wildtulpen. <http://www.frost-burgwedel.de>
- FUCHS, E. (1999) mündliche Mitteilung
- FUCHS, E. (2000) mündliche Mitteilung
- FUCHS, E.; MEHNER, S.; GRÜNTZIG, M. (2001) Strain spectrum of *Wheat dwarf virus* (WDV) in Saxony-Anhalt. 5th Congress of the European Foundation for Plant Pathology. Biodiversity in Plant Pathology. 18-22 September 2000, Taormina-Giardini Naxos, Italy (CD-ROM): 213-215

- GÁBORJÁNYI, R.; SZIRMAI, J.; BECZNER, L.; NAGY, P. D. (1991) Virus Diseases of *Gramineae* in Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* **26** (1-2): 83-86
- GAFNI, Y.; EPEL, B. L. (2002) The role of host and viral proteins in intra- and intercellular trafficking of geminiviruses. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **60**: 231-241
- GIUSTINA, W. D.; LEBRUN, I.; LAPIERRE, H.; LOCHON, S. et le Groupe de travail „Biologie et écologie de *P. alienus*“ (1991) Distribution géographique du vecteur et du virus. *Phytoma – La défense des végétaux* **432**: 30-34
- GOODMANN, R. M. (1977) Single-stranded DNA genome in a whitefly-transmitted plant virus. *Virology* **83**: 171-179
- GRILLI, M. P.; HOLT, J. (2000) Vector feeding period variability in epidemiological models of persistent plant viruses. *Ecological Modelling* **126**: 49-57
- GRÜNTZIG, M.; FUCHS, E. (2000) Vorkommen von Luteoviren des Getreides in *Zea mays* L. *Journal of Plant Diseases and Protection* **107** (5): 528-538
- GUGLIELMINO, A.; VIRLA, E. G. (1997) Postembryonic development and biology of *Psammotettix alienus* (Dahlbom) (Homoptera Cicadellidae) under laboratory conditions. *Bollettino Zoologia agraria Bachicoltura Ser. II*, **29** (1): 65-80
- GUTIERREZ, C. (1999) Geminivirus DNA replication. *Cellular and Molecular Life Science* **56**: 313-329
- GUTIERREZ, C. (2000a) Geminiviruses in the plant cell cycle. *Plant Molecular Biology* **43**: 763-772
- GUTIERREZ, C. (2000b) DNA replication and cell cycle in plants: learning from geminiviruses. *EMBO Journal* **19** (5): 792-799

- GUTIERREZ, C. (2002) Strategies for geminivirus DNA replication and cell cycle interference. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **60**: 219-230
- GUTIERREZ, C.; RAMIREZ-PARRA, E.; CASTELLANO, M. M.; SANZ-BURGOS, A. P.; LUQUE, A.; MISSICH, R. (2004) Geminivirus DNA replication and cell cycle interactions. *Veterinary Microbiology* **98**: 111-119
- HABEKUß, A.; SCHLIEPHAKE, E.; MATTHES, P.; HARTLEB, H.; MEHNER, S.; GRÜNTZIG, M.; FUCHS, E. (2002) Zum Auftreten des Gerstengelbverzweigungsvirus und seiner Vektoren in Sachsen-Anhalt. Bericht über die 53. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs BAL Gumpenstein, 26-28 November 2002: 111-114
- HANLEY-BOWDOIN, L.; SETTLAGE, S. B.; OROZCO, B. M.; NAGAR, S.; ROBERTSON, D. (1999) Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Plant Sciences* **18** (1):71-106
- HARR, U. (2002) Untersuchungen zur Eignung viraler Vollängenklone zur Expression von Nukleinsäuresequenzen mit möglichen antiviralem Potential in Pflanzen. Technische Universität Carolo – Wilhelmina zu Braunschweig, Diss., 179 S.
- HARRISON, B. D.; BARKER, H.; BOCK, K. R.; GUTHRIE, E. J.; MEREDITH, G.; ATKINSON, M. (1977) Plant viruses with circular single-stranded DNA. *Nature* **270**: 760-762
- HARTLEB, H. (2002) Gerstengelbverzweigungsvirus greift um sich. *Bauernzeitung* 18. Woche: 23
- HARTLEB, H.; MATTHES, P.; WOLFF, C. (2001) Achtung! Gelbverzweigung in Wintergerste und Winterweizen. *dlz* **9**: 48-53
- HARTMANN, G. (2004) mündliche Mitteilung

- HEATH, M. C. (2001) Non-host resistance to plant pathogens: nonspecific defense or the result of specific recognition events? *Physiological and Molecular Plant Pathology* **58**: 53-54
- HEYRAUD, F.; MATZEIT, V.; SCHAEFER, S.; SCHELL, J.; GRONENBORN, B. (1993) The conserved nonanucleotide motif of the geminivirus stem-loop sequence promotes replicational release of virus molecules from redundant copies. *Biochimie* **75**: 605-615
- HOHMANN, F. (2000) Beiträge zur Ökologie des *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) und des *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) in Mitteldeutschland. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diss., 151 S.
- HOHMANN, F.; FUCHS, E.; GRÜNTZIG, M. (1998) Untersuchungen zum Wirtskreis des sugarcane mosaic *potyvirus* (SCMV) und des maize dwarf mosaic *potyvirus* (MDMV) in Deutschland. *Archiv Phytopathology und Pflanzenschutz* **31**: 507-518
- HOLUB, E. B.; COOPER, A. (2004) Matrix, reinvention in plants: how genetics is unveiling secrets of non-host disease resistance. *Trends in Plant Science* **9**: 211-214
- HUTH, W. (1994) Weizenverzwergung – bisher übersehen? *Pflanzenschutz-Praxis* **4**: 37-39
- HUTH, W. (1995) Zur Epidemiologie der wichtigsten Getreide befallenden Viren in Mitteleuropa. Bericht über die 46. Arbeitstagung der „Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter“, BAL Gumpenstein, 21. – 23. November 1995: 1-14
- HUTH, W. (2000a) Virus of Gramineae in Germany – a short overview. *Journal of Plant Diseases and Protection* **107** (4): 406-414
- HUTH, W. (2000b) Viren im Getreide. *Getreide* **6** (4): 230-235
- HUTH, W. (2001) Gefahr von Virusbefall bei Weizen-Frühsaat. *Getreide* **7** (4): 180-182

- HUTH, W.; SCHNEE, H. (1993) Verzweigung im Getreide jetzt auch durch Zikaden. *top agrar* **10**: 54-56
- HUTH, W.; LESEMANN, D.-E. (1994) Nachweis des wheat dwarf virus in Deutschland. *Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst* **46** (5): 105-106
- JAGER DE, S. M.; MURRAY, J. A. H. (1999) Retinoblastoma proteins in plants. *Plant Molecular Biology* **41**: 295-299
- JESKE, H. (1999) mündliche Mitteilung
- JONES, R. A. C. (2004) Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. *Virus Research* **100** (1): 5-30
- KAMMANN, M.; SCHALK, H.-J.; MATZEIT, V.; SCHAEFER, S.; SCHELL, J.; GRONENBORN, B. (1991) DNA replication of Wheat dwarf virus, a geminivirus, requires two *cis*-acting signals. *Virology* **184**: 786-790
- KEMPKEN, F.; KEMPKEN, R. (2004) *Gentechnik bei Pflanzen*. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 245 S.
- KEYZER DE, A.; AMBOLET, B.; MABIT, T. (1993) Utilisation d'un traitement de semences a base d'imidaclopride sur cereals pour lutter contre la jaunisse nanisante de l'orge et la maladie des pieds chetifs. ANPP Third Int. Conf. on Pests in Agriculture, 7-9 December 1993, Montpellier, France: 1067-1074
- KLAPP, E.; OPITZ VON BOBERFELD, W. (1990) *Taschenbuch der Gräser*. Verlag Paul Parey Berlin und Hamburg, 282 S.
- KOCH, C. (1990) Die Bestimmung der DNA-Sequenz des Geminivirus WDV-ER Genoms und Versuche zur Übertragung des Virus auf Gerste mit *Agrobacterium tumefaciens*. Universität Köln, Diplomarbeit, 113 S.

- KVARNHEDEN, A.; LINDBLAD, M.; LINDSTEN, K.; VALKONEN, J. P. T. (2002) Genetic diversity of *Wheat dwarf virus*. *Archiv of Virology* **147**: 205-216
- LAPIERRE, H.; COUSIN, M.-TH.; GIUSTINA, W. D.; MOREAU, J.-P.; KHOGALI, M.; ROUX, J.; GELIE, B.; OLLIER, E. (1991) Agent pathogène et vecteur. *Phytoma – La défense des végétaux* **432**: 26-28
- LASZLO, S.; GYULA, V.; OTTO, V.; LASZLO, L.; ZOLTAN, B.; EMIL, P. (2003) Viral diseases of cereals in 2002. *Novenytermeles* **52** (1): 33-39
- LAZAROWITZ, S. G. (1988) Infectivity and complete nucleotide sequence of the genome of a South African isolate of maize streak virus. *Nucleic Acid Research* **16** (1): 229-249
- LETT, J.-M.; GRANIER, M.; GRONDIN, M.; TURPIN, P.; MOLINARO, F.; CHIROLEU, F.; PETERSCHMITT, M.; REYNAUD, B. (2001) Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **101**: 93-109
- LETT, J.-M.; GRANIER, M.; HIPPOLYTE, I.; GRONDIN, M.; ROYER, M.; BLANC, S.; REYNAUD, B.; PETERSCHMITT, M. (2002) Spatial and temporal distribution of gemini-viruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative polymerase chain reaction. *Phytopathology* **92** (1): 65-74
- LINDBLAD, M. (2000) What happened to the wheat dwarf disease? *Vaxtskyddsnotiser* **64** (1): 11-13
- LINDBLAD, M.; ARENÖ, P. (2002) Temporal and spatial population dynamics of *Psammotettix alienus*, a vector of wheat dwarf virus. *International Journal of Pest Management* **48** (3): 233-238
- LINDBLAD, M.; WAERN, P. (2002) Correlation of wheat dwarf virus incidence to winter wheat cultivation practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **92**: 115-122

- LINDBLAD, M.; SIGVALD, R. (2004) Temporal spread of wheat dwarf virus and mature plant resistance in winter wheat. *Crop protection* **23**: 229-234
- LINDBLAD, M.; SANDGREN, M.; SIGVALD, R. (1999) Epidemiology and control of wheat dwarf virus. 7th International Plant Virus Epidemiology Symposium, Aguadulce (Almeria), Spain, 11-16 April 1999: 114
- LINDSTEN, K. (1980) Wheat dwarf – an old disease caused by a unique and earlier unknown virus. *Växtskyddsnotiser* **44**: 54-59
- LINDSTEN, K.; LINDSTEN, B. (1993) Occurrence and transmission of wheat dwarf virus (WDV) in France. A.N.P.P. Third Int. Conf. on Pests in Agriculture, 7-9 December 1993, Montpellier, France: 481-487
- LINDSTEN, K.; LINDSTEN, B. (1999) Wheat dwarf – an old disease with new outbreaks in Sweden. *Journal of Plant Diseases and Protection* **106** (3): 325-332
- LINDSTEN, K.; VACKE, J.; GERHARDSON, B. (1970) A preliminary report on three cereal virus diseases new to Sweden spread by *Macrostelus*- and *Psammotettix* leafhoppers. *Swed. Stat. Växtskyddsanst. Med.* **14** (128): 281-297
- LINDSTEN, K.; LINDSTEN, B.; ABDELMOETI, M.; JUNTTI, N. (1980) Purification and some properties of wheat dwarf virus. In: Proc. 3rd Conf. Virus Diseases of Gramineae in Europe, Rothamsted Experimental Station, 27-30 May 1980: 27-31
- LUNDSGAARD, T. (1997) Filovirus-like particles detected in the leafhopper *Psammotettix alienus*. *Virus Research* **48**: 35-40
- MACDOWELL, S. W.; MACDONALD, H.; HAMILTON, W. D. O.; COUTTS, R. H. A.; BUCK, K. W. (1985) The nucleotide sequence of cloned wheat dwarf virus DNA. *EMBO* **4** (9): 2173-2180

- MANURUNG, B. (2002) Untersuchungen zur Biologie und Ökologie der Zwergzikade *Psammotettix alienus* Dahlb. (Auchenorrhyncha) und zu ihrer Bedeutung als Vektor des *Wheat dwarf virus* (Weizenverzwergungs-Virus, WDV). Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diss., 112 S.
- MANURUNG, B.; WITSACK, W.; FUCHS, E.; MEHNER, S. (2001) Zur Embryonal- und Larvenentwicklung der Zikade *Psammotettix alienus* (Dahlbom, 1851) (Hemiptera, Auchenorrhyncha). Beiträge zur Zikadenkunde **4**: 49-58
- MARIANO, A. C.; ANDRADE, M. O.; SANTOS, A. A.; CAROLINO, S. M. B.; OLIVEIRA, M. L.; BARACAT, M. C.; BROMMONSHENKEL, S. H.; FONTES, E. P. B. (2004) Identification of a novel receptor-like protein kinase that interacts with a geminivirus nuclear shuttle protein. *Virology* **318**: 24-31
- MARTIN, D. P.; RYBICKI, E. P. (2002) Investigation of Maize streak virus pathogenicity determinants using chimaeric genomes. *Virology* **300**: 180-188
- MATZEIT, V. (1988) Wheat dwarf virus – Ein Geminivirus monokotyledoner Pflanzen. Universität zu Köln, Diss., 139 S.
- MAULE, A.; LEH, V.; LEDERER, C. (2002) The dialogue between viruses and hosts in compatible interactions. *Current Opinion in Plant Biology* **5**: 1-6
- MEHNER, S. (1998) Zum Auftreten des wheat dwarf virus (WDV) und des barley yellow dwarf virus (BYDV) in Ausfallgetreide bzw. in Wintergerste im südlichen und mittleren Teil Sachsen-Anhalts in den Jahren 1995 und 1996. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diplomarbeit, 62 S.
- MEHNER, S.; MANURUNG, B.; GRÜNTZIG, M.; HABEKUß, A.; WITSACK, W.; FUCHS, E. (2003) Investigations into the ecology of the *Wheat dwarf virus* (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection* **110** (4): 313-323

- MESTERHAZY, A.; GABORJANYI, R.; PAPP, M.; PETER, F. (2002) Multiple virus infection of wheat in South Hungary. *Cereal Research Communications* **30** (3-4): 329-334
- MOFFAT, A. (1999) Geminiviruses emerge as serious crop threat. *Science* **286**: 1835
- MOREAU, J.-P.; LAPIERRE, H.; NAVARRO, D.; DEBRAY, P.; FOHRER, F.; LEBRUN, I. (1992) Distinction des effets du nanisme et de la jaunisse sur le blé. *Phytoma – La défense des végétaux* **443**: 21-25
- MÜHLE, E.; WETZEL, T. (1990) *Praktikum der Phytomedizin*. 4. Auflage. Verlag Harri Deutsch, Thun, Frankfurt/Main, 275 S.
- MUNOZ-MARTIN, A.; COLLIN, S.; HERREROS, E.; MULLINEAUX, P. M.; FERNANDEZ-LOBATO, M.; FENOLL, C. (2003) Regulation of MSV and WDV virion-sense promoters by WDV nonstructural proteins: a role for their retinoblastoma protein-binding motifs. *Virology* **306**: 313-323
- NAJAR, A. (2000) First record of Barley yellow striate mosaic virus, Barley stripe mosaic virus, and Wheat dwarf virus infecting cereal crops in Tunisia. *Plant Disease* **84**: 1045
- PADIDAM, M.; BEACHY, R. N.; FAUQUET, C. M. (1995) Classification and identification of geminiviruses using sequence comparisons. *Journal of General Virology* **76**: 249-263
- PALMER, K. E.; RYBICKI, E. P. (1998) The molecular biology of mastreviruses. *Advances in Virus Research* **50**: 183-234
- PALMER, K. E.; SCHNIPPENKOETTER, W. H.; RYBICKI, E. P. (1998) Geminivirus Isolation and DNA Extraktion. In: FOSTER, G. D.; TAYLOR, S. C. (Hrsg.) *Methods in Molecular Biology*, Vol. 81: *Plant Virology Protocols: Virus Isolation to Transgenic Resistance*. Humana Press, New Jersey: 41-52

- PILLON, O. (1993) Importance en Champagne de deux parasitoïdes de la cicadelle vectrice du nanisme du ble. ANPP – 3rd International Conference on Pests in Agriculture, 7-9 December 1993, Montpellier, France: 385-392
- PINNER, M. S.; MEDINA, V.; PLASKITT, K. A.; MARKHAM, P. G. (1993) Viral inclusions in monocotyledons infected by maize streak virus and related geminiviruses. *Plant Pathology* **42**: 75-87
- VAN DER PLANK, J.E. (1968) *Disease Resistance in Plants*. Academic Press, New York
- POCSAI, E.; FONAD, P.; MURANYI, I.; PAPP, M.; SZUNICS, L. (1998) Incidence rates of barley yellow dwarf *luteovirus* and wheat dwarf *geminivirus* in cereals showing leaf yellowing and dwarfing symptoms. VIIIth Conference on Virus Diseases of Gramineae in Europe, 25-28 May 1998, Goslar, Germany: abstracts
- PRASLICKA, J. (1996) Effect of some factors on the infection of winter wheat by wheat dwarf virus (WDV). *Ochrane Rostlin* **32** (3): 181-186
- PRASLICKA, J. (1997) Influence of occurrence of *Psammotettix alienus* on the degree of attack of winter wheat with wheat dwarf virus (WDV). *Rostlinna Vyroba* **43** (2): 81-85
- PU, X.-Y.; FENG, M.-G. ; SHI, C.-H. (2005) Impact of three application methods on the field efficacy of a *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticide against the false-eye leafhopper, *Empoasca vitis* (Homoptera: Cicadellidae) in the tea canopy. *Crop Protection* **24** (2): 167-175
- RAMSELL, J. N. E.; KVARNHEDEN, A. (2004) Molecular variability of *Wheat dwarf virus* isolates from wild grasses. http://www.mcb.uct.ac.za/Gemini2004_files/prog/Ramsell_Abs.doc
- VAN REGENMORTEL, M. H. V. (1999) Virus Species. In: GRANOFT, A.; WEBSTER, R. G. (Hrsg.) *Encyclopedia of Virology*. Academic Press, USA: 1937-1943

- VAN REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E. B.; ESTES, M. K.; LEMON, S. M.; MANILOFF, J.; MAYO, M. A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. B. (2000) *Virus Taxonomy*, VIIth report of the ICTV. Academic Press, San Diego, 1167 S.
- RYBICKI, E. P. (1994) A phylogenetic and evolutionary justification for three genera of geminiviridae. *Archiv of Virology* **139**: 49-77
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- SANDGREN, M.; LINDBLAD, M. (1998) Field studies of Wheat dwarf virus. 7th International Congress of Plant Pathology, Edinburgh, UK, 9-16 August 1998, <http://www.bspp.org.uk/icpp98/1.13/2.html>
- SCHALK, H.-J.; MATZEIT, V.; SCHILLER, B.; SCHELL, J.; GRONENBORN, B. (1989) Wheat dwarf virus, a geminivirus of graminaceous plants needs splicing for replication. *EMBO Journal* **8** (2): 359-364
- SCHIEMENZ, H.; EMMRICH, R.; WITSACK, W. (1996) Beiträge zur Insektenfauna Ostdeutschlands: Homoptera – Auchenorrhyncha (Cicadina) (Insecta) Teil IV: Unterfamilie Deltocephalinae. *Faunistische Anhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* **20** (10): 153-258
- SCHUBERT, J.; HABEKUß, A. (2002) Investigation of differences between wheat and barley forms of *Wheat dwarf virus* and their spread on host plants. 6th Conference of European Foundation for Plant Pathology, 8-14 September 2002, Prague, Czech Republic: 10
- SCHUBERT, R. (1991) *Lehrbuch der Ökologie*. Gustav Fischer Verlag Jena, 657 S.
- STARKE, G.; HLINAK, P. (1974) *Grundriß der allgemeinen Virologie*. Gustav Fischer Verlag Jena, 423 S.

- STRATMANN, R. (2003) ZMP – Marktbilanz Getreide Ölsaaten Futtermittel. Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle GmbH Bonn, 236 S.
- SZUNICS, L.; POCSAI, E.; SZUNICS, L. U.; VIDA, G. (2000) Viral diseases on cereals in Central Hungary. *Acta Agronomica Hungarica* **48** (3): 237-250
- TOMENIUS, K., OXELFELT, P. (1981) Preliminary observations of viruslike particles in nuclei cells of wheat infected with the wheat dwarf disease. *Phytopathologische Zeitschrift* **101**: 163-167
- VACHER, C.; FELIX, I.; BONNAND, E. (1991) Lutte contre *Psammotettix alienus*, Cicadelle vectrice de la maladie des „pieds chétifs“ (essais 1990/91). *Perspectives Agricoles* **162**: 86-89
- VACHER, C.; FELIX, I.; LARCHER, J. M.; LOCHON, S.; PILLON, M.; STOOP, P. (1992) Lutte contre le nanisme de blé: le point apres deux annees d' experimentation. *Perspectives Agricoles* **173**: 89-97
- VACKE, J. (1961) Wheat dwarf virus disease. *Biologia Plantarum (Praha)* **3**: 228-233
- VACKE, J. (1962) Some new findings on Wheat dwarf virus. Proc. 5th Conf. Czechoslovak Plant Virologists, 24-27 May 1962, Prag (CSSR): 331-334
- VACKE, J. (1972) Host plants range and symptoms of Wheat dwarf virus. *Vědeckě Práce* **17**: 151-162
- VACKE, J.; CIBULKA, R. (1999) Silky Bent Grass (*Apera spica-venti* [L.] Beauv.) – a New Host and Reservoir of Wheat Dwarf Virus. *Plant Protection Science* **35** (2): 47-50
- VACKE, J.; CIBULKA, R. (2000a) Comparison of DAS-ELISA and enzyme amplified ELISA for detection of *Wheat dwarf virus* in host plants and leafhopper vectors. *Plant Protection Science* **36** (2): 41-45

- VACKE, J.; CIBULKA, R. (2000b) Response of selected winter wheat varieties to *Wheat dwarf virus* infection at an early growth stage. *Czech Journal Genetical Plant Breeding* **36**: 1-4
- VACKE, J.; CIBULKA, R. (2001) Reaction of registered winter barley varieties to *Wheat dwarf virus* infection. *Czech Journal Genetical Plant Breeding* **37**: 50-52
- VALLE, R. P. C.; SKRZECZKOWSKI, J.; MORCH, M.-D.; JOSHI, R. L.; GARGOURI, R.; DRUGEON, G.; BOYER, J.-C.; CHAPEVILLE, F.; HAENNI, A.-L. (1988) Plant Viruses and new perspectives in cross-protection. *Biochimie* **70**: 695-703
- WATHERWORTH, H. E.; HADIDI, A. (1998) Economic losses due to plant viruses. In: HADIDI, A., KHETARPAL, R. K., KOGANEZAWA, H. (Hrsg.) *Plant virus disease control*. The American Phytopathological Society (APS Press) St. Paul, Minnesota: 1-13
- WIDIARTA, I. N.; MATSUMURA, M.; SUZUKI, Y.; NAKASUJI, F. (2001) Effects of sublethal doses of imidacloprid on the fecundity of green leafhoppers, *Nephotettix* spp. (Hemiptera: Cicadellidae) and their natural enemies. *Applied Entomological Zoology* **36** (4): 501-507
- WILLMENT, J. A.; MARTIN, D. P.; VAN DER WALT, E.; RYBICKI, E. P. (2002) Biological and genomic sequence characterization of Maize streak virus isolates from wheat. *Phytopathology* **92**: 81-86
- WOOLSTON, C. J.; BARKER, R.; GUNN, H.; BOULTON, M.; MULLINEAUX, P. M. (1988) Agroinfection and nucleotide sequence of cloned wheat dwarf virus DNA. *Plant Molecular Biology* **11**: 35-43
- WU, Z. C.; HU, J. S. (1995) Comparison of ELISA, DOT-BLOT, and PCR assays for detection of whitefly-transmitted geminivirus. *International Journal of Tropical Plant Diseases* **13**: 205-211

ZHANG, W.; OLSON, N. H.; BAKER, T. S.; FAULKNER, L.; AGBANDJE-MCKENNA, M.; BOULTON, M. I.; DAVIES, J. W.; MCKENNA, R. (2001) Structure of the Maize streak virus geminate particle. *Virology* **279**: 471-477

ZHAO, X.; COATS, I.; FU, P.; GORDON-KAMM, B.; LYZNIK, L. A. (2003) T-DNA recombination and replication in maize cells. *Plant Journal* **33**: 149-159

8 **Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1	Mit dem WDV infizierte Pflanzen von Winterweizen	7
Abb. 2	Symptome einer Infektion mit dem WDV an Wintergerste	9
Abb. 3	WDV-Befall von (a) Hafer und (b) Triticale	10
Abb. 4	Entwicklungsstadien von <i>P. alienus</i> (a) L1, (b) L2, (c) L3, (d) L4, (e) L5 und (f) Imago	13
Abb. 5	Befall von Ausfallwintergerste (symptomtragende Pflanzen) mit WDV und BYDVs in den Jahren 1995 bis 2001 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt	48
Abb. 6	Relativer Befall (%) von Wintergerste mit dem WDV und den BYDVs im Herbst der Jahre 1995 bis 2002 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt	52
Abb. 7	Mit dem WDV infizierte Pflanzen von <i>Bromus arvensis</i> L.	61
Abb. 8	Relativer Anteil (%) virusübertragender <i>P. alienus</i> in Wintergerste in Zscherben im Jahr 2000, ermittelt im biologischen Test.....	75
Abb. 9	Relativer Anteil (%) virusübertragender <i>P. alienus</i> in Wintergerste und Triticale in Zscherben im Jahr 2001, ermittelt im biologischen Test	76
Abb. 10	Relativer Anteil (%) virusübertragender <i>P. alienus</i> in Triticale in Zscherben im Jahr 2002, ermittelt im biologischen Test	77
Abb. 11	Relativer Anteil (%) virusübertragender <i>P. alienus</i> in Ausfallwintergerste in Höhnstedt ab Juli 2002, ermittelt im biologischen Test	78
Abb. 12	Schema des Infektionszyklus des WDV	107

9 Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Zusammenstellung des für die Reinigung des WDV im Jahr 1995 verwendeten Ausgangsmaterials	20
Tab. 2	Immunisierung des Tieres Nr. 291 mit gereinigten Präparaten des WDV im Jahr 1995	21
Tab. 3	Verwendete Primer (P) zur Differenzierung zwischen Gersten- (bs) bzw. Weizenstamm (ws)	27
Tab. 4	Zusammenstellung der in den Jahren 1995 bis 2001 geprüften Schläge mit Ausfallgetreide	29
Tab. 5	Anzahl der in den Jahren 1995 bis 2002 geprüften Bestände von Wintergetreide	30
Tab. 6	Zusammenstellung der in die Wirkkreisuntersuchungen in den Jahren 1999 bis 2001 einbezogenen Wild- und Kulturgräser	32
Tab. 7	Auftreten (%) von WDV und BYDVs in den für die Untersuchungen zum Wirkkreis des WDV ausgewählten Versuchsflächen	35
Tab. 8	Parameter der Feldversuche zur Bestimmung des Wirkkreises des WDV in den Jahren 1999 bis 2001	36
Tab. 9	Anzahl der geprüften Standorte bzw. Einzelpflanzen verschiedener Getreidearten hinsichtlich des Vorkommens des bs bzw. des ws	37
Tab. 10	Zusammenstellung der in die Wirkkreisuntersuchungen einbezogenen Genotypen von <i>Z. mays</i> in den Jahren 1997, 1998 und 2000	38
Tab. 11	Auftreten (%) von WDV und BYDVs in den für die Untersuchungen zur Anfälligkeit verschiedener Genotypen von <i>Z. mays</i> gegenüber WDV ausgewählten Versuchsflächen	39
Tab. 12	Parameter der Feldversuche zur Prüfung verschiedener Genotypen von <i>Z. mays</i> auf einen Befall mit WDV und den BYDVs in den Jahren 1997, 1998 und 2000	39
Tab. 13	Maximale Titer der Antikörper des WDV bzw. der Normalproteine aller Entnahmen des Tieres Nr. 291	44
Tab. 14	Vergleich des Antiserum 291 ¹⁾ (Halle) mit einem solchen von Sanovi (Frankreich) zum Nachweis des WDV mittels DAS-ELISA	45

Tab. 15	Prüfung des WDV-Antiserums 291 ¹⁾ (Halle) mittels einer Simultanvariante eines DAS-ELISA	46
Tab. 16	Prüfung des abgesättigten WDV-Antiserums 291 mittels einer Simultanvariante eines DAS-ELISA	47
Tab. 17	Auftreten von WDV und BYDVs in Ausfallwinterweizen, -sommergerste, -triticale, -hafer, und -winterroggen in den Jahren 1995 bis 2001 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt	50
Tab. 18	Befall von Wintergerste mit dem WDV und den BYDVs im Herbst, Frühjahr und Frühsommer in den Vegetationsperioden der Jahre 1995/1996 sowie von 1998/1999 bis 2001/2002 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt	54
Tab. 19	Befall von Winterweizen und Triticale mit dem WDV und den BYDVs im Herbst, Frühjahr bzw. im Frühsommer in den Vegetationsperioden der Jahre 1998/1999, 2000/2001 und 2001/2002 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt	56
Tab. 20	Nachweis des WDV mittels DAS-ELISA und PCR in Einzelpflanzen verschiedener Arten von Wild- und Kulturgräsern in Beständen von Wintergerste bzw. Winterweizen in den Jahren 1999 (Elsdorf), 2000 (Zscherben) und 2001 (Spickendorf)	59
Tab. 21	Befall der Gräser mit dem WDV und den BYDVs in Beständen von Winterweizen und Wintergerste in Spickendorf im Jahr 2001	62
Tab. 22	Vorkommen der Stämme (bs, ws) des WDV in verschiedenen Getreidearten	63
Tab. 23	Anfälligkeit verschiedener Genotypen von Mais gegenüber dem WDV in Freilandversuchen der Jahre 1997, 1998 sowie 2000	64
Tab. 24	Effektivität der Übertragung des WDV durch die Larvenstadien (L1 bis L5) und die Imagines von <i>P. alienus</i>	66
Tab. 25	Anteil der Männchen bzw. Weibchen im biologischen Test WDV-übertragender <i>P. alienus</i>	68
Tab. 26	Vergleich der PCR mit dem biologischen Test zum Nachweis des WDV in den für die Übertragungsversuche eingesetzten Tieren der Entwicklungsstadien L1 bis L5 sowie Imagines von <i>P. alienus</i>	69

Tab. 27	Lebensdauer der Individuen von <i>P. alienus</i> (L1 bis L5 und Imagines), bei denen trotz erfolgreichem Nachweis des WDV mittels PCR eine Virusübertragung auf Wintergerste ausblieb	70
Tab. 28	Vergleich des biologischen Testes mit einer PCR zum Nachweis des WDV in den für die Übertragungsversuche eingesetzten Tiere von <i>P. alienus</i>	71
Tab. 29	Ermittlung der Akquisitionszeit des WDV in <i>P. alienus</i>	72
Tab. 30	Zirkulationszeit des WDV in <i>P. alienus</i> bei unterschiedlichen Akquisitionszeiten	72
Tab. 31	Nachweis des WDV mittels PCR in den für die Ermittlung der Akquisitions- bzw. Zirkulationszeit eingesetzten <i>P. alienus</i>	73
Tab. 32	Auftreten des WDV und der BYDVs am Standort Zscherben in den Jahren 1999 bis 2002	79
Tab. 33	Relativer Anteil virusübertragender <i>P. alienus</i> an der Gesamtpopulation in den Jahren 2000 bis 2002, ermittelt im biologischen Test	80
Tab. 34	Relativer Anteil virustragender <i>P. alienus</i> an der Gesamtpopulation in den Jahren 2000 bis 2002, ermittelt mit einer PCR	80
Tab. 35	Vergleich zwischen biologischem Test und einer PCR zum Nachweis des Gerstenstammes des WDV in <i>P. alienus</i>	81

10 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
a. bidest.	aqua bidestillata
bp	base pairs (Basenpaare)
bs	barley strain, Gerstenstamm des WDV
BSA	bovine serum albumine (Rinderserumalbumin)
BYD-MAV	<i>Barley yellow dwarf-Sitobion avenae virus</i> (<i>S. avenae</i> [veraltet: <i>Macrosiphum avenae</i>] ist der Vektor des Virus)
BYD-PAV	<i>Barley yellow dwarf-Rhopalosiphum padi virus</i> (<i>R. padi</i> ist der Vektor des Virus)
BYDVs	<i>Barley yellow dwarf viruses</i> (Gerstengelbverzweigungs-Viren)
°C	Grad Celsius
DAS-ELISA	double-antibody sandwich ELISA
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EPG	Electrical Penetration Graph
et al.	et alii (und andere)
Fa.	Firma
g	Gramm
h	Stunde(n)
IgG	Immunglobuline, Gamma-Fraktion
Kap.	Kapitel
kb	Kilobase (1000 Basenpaare DNA)
kDa	Kilo-Dalton, atomare Maßeinheit
L1	Larvenstadium 1
L2	Larvenstadium 2
L3	Larvenstadium 3
L4	Larvenstadium 4
L5	Larvenstadium 5
LIR	large intergenic region (große intergenische Region)
LRR-RLK	Leucine Rich-Repeat Receptorlike Kinase

mM	Millimolar
M	molar
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mRNA	messenger (Boten)-RNA
MSV	<i>Maize streak virus</i> (Maisstreifen-Virus)
mündl.	mündlich(e)
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar
n	Stoffmenge in mol
NIK	NSP-Interaktions Kinase
nm	Nanometer
NSP	nuclear shuttle protein (Zellkerntransportprotein)
ORF	open reading frame (offener Leseraster)
PBS	phosphate buffered saline (phosphatgepufferte Kochsalzlösung)
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase Kettenreaktion)
Pfl.	Pflanze(n)
Pkt.	Punkt
PVP	polyvinylpyrrolidone
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
sek	Sekunde
SIR	small intergenic region (kleine intergenische Region)
ss-DNA	single-stranded-DNA (Einzelstrang-DNA)
Tab.	Tabelle
TAE	Tris-acetate EDTA buffer (Tris-acetat-EDTA-Puffer)
TGS	Thioglykolsäure
TMV	<i>Tobacco mosaic virus</i> (Tabakmosaik-Virus)
U	Einheit/internationale Einheit
UV	Ultraviolett
v/v	volume to volume (Volumenprozent)

Wdh.	Wiederholung
WDV	<i>Wheat dwarf virus</i> (Weizenverzwergungs-Virus)
ws	wheat strain, Weizenstamm des WDV
w/v	weight to volume (Gewichtsprozent)
WW	Winterweizen

Anhang

Verwendete Reagenzien und Puffer

1 Herstellung des WDV-Antiserum

Phosphatpuffer pH 7,0 (0,01 M)	Na ₂ HPO ₄ x2 H ₂ O	1,086 g
	KH ₂ PO ₄	0,480 g

auf 1 Liter mit a. bidest. auffüllen

2 Fraktionierung und Enzymkopplung

PBS/2: (halbkonzentrierter PBS-Puffer)	NaCl	4,0 g
	KH ₂ HPO ₄	0,1 g
	Na ₂ HPO ₄ x2 H ₂ O	0,72 g
	KCL	0,1 g
	NaN ₃	0,2 g

auf 1 Liter mit a. bidest. auffüllen

Diethylaminoethyl (DEAE)-Cellulose, 0,6 - 0,8 meq/g - Fa. Roanal, Budapest

Alkalische Phosphatase - Fa. Roche

Glutaraldehyd - Fa. Sigma

Humanserumalbumin - Fa. Sigma

3 DAS-ELISA

Coating-Puffer:	NaHCO ₃	147 mg
	Na ₂ CO ₃	80 mg
	a. bidest.	50 ml

PBS-Tween:	NaCl	8,0 g
	KH ₂ HPO ₄	0,2 g
	Na ₂ HPO ₄ x2 H ₂ O	1,44 g
	KCL	0,2 g
	NaN ₃	0,2 g
	Tween 20	0,5 ml

auf 1 Liter mit a. bidest. auffüllen

Probenpuffer: PBS-Tween + 2 % PVP + 0,2 % BSA (Fraktion V, Fa. Roth)

Substratpuffer:	Diethanolamin	97	ml
	NaN ₃	200	mg
	a. bidest.	800	ml

mit 1 n HCL auf pH 9,8 einstellen

4 PCR

Die Herstellung aller benötigten Stammlösungen erfolgte nach SAMBROOK et al. (1989).

Extraktionspuffer	0,1 M Tris-HCl pH 7,0 0,1 M NaCl 0,1 M EDTA pH 7,0		
	autoclavieren und anschließend 1 % SDS (w/v) hinzufügen		
1 x TE-Puffer pH 8,0	10 mM Tris-HCl pH 8,0 1 mM EDTA pH 8,0		
Tris-CaCl ₂	Tris (pH 8,0) CaCl ₂	50,0 mM 1,0 mM	
Proteinase K (Fa. Sigma)	1,0 mg/ml in 4 mM CaCl ₂		
PCR-Mix (Fa. Q BIOgene)	10x-Puffer (Tris-HCl 10 mM, KCl 50mM, BSA 0,2 mg/ml, TritonX100 0,1 %) dNTPs 0,2 mM je Primer 0,05 µM MgCl ₂ 4,5 mM (Ansatz mit P1/P3) und 3 mM (Ansatz mit P1/P4) 1 U Taq-Polymerase		
1x TAE-Puffer	Tris-Acetat EDTA	0,04 M 0,001 M	
6 x Loading-Puffer	Glycerin Bromphenolblau Xylencyanol FF in 1 x TAE-Puffer	30 % 0,25 % 0,25 %	

Tab. A-1: Befall der Bestände von Wintergerste mit dem WDV bzw. den BYDVs im Herbst, Frühjahr und Frühsommer der Jahre 1995 bis 2002
im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

Jahr/geprüfte Einzel- Pflanzen pro Schlag (n)/ Standorte	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.
1995/1996 n = 200 (Herbst) n = 250 (Frühjahr)									
Gröbers	0/ 0,0	142/71,0	0/0,0	0/ 0,0	48/19,2	0/0,0	*)	-	-
Merseburg I	0/ 0,0	72/36,0	0/0,0	0/ 0,0	145/58,0	0/0,0	-	-	-
Merseburg II	0/ 0,0	155/77,5	0/0,0	0/ 0,0	228/91,2	0/0,0	-	-	-
Salzmünde	7/ 3,5	161/80,5	6/3,0	2/ 0,8	78/31,2	0/0,0	-	-	-
Rumpin	0/ 0,0	150/75,0	0/0,0	1/ 0,4	26/10,4	0/0,0	-	-	-
Könnern	2/ 1,0	6/ 3,0	0/0,0	0/ 0,0	12/ 4,8	0/0,0	-	-	-
Rodleben	3/ 1,5	53/26,5	1/0,5	0/ 0,0	11/ 4,4	0/0,0	-	-	-
Eutzsch	0/ 0,0	22/11,0	0/0,0	0/ 0,0	5/ 2,0	0/0,0	-	-	-
Höhnstedt	1/ 0,5	100/50,0	0/0,0	0/ 0,0	74/29,6	0/0,0	-	-	-
Freyburg	1/ 0,5	119/59,5	0/0,0	0/ 0,0	43/17,2	0/0,0	-	-	-
insgesamt	14/ 0,7	980/49,0	7/0,4	3/ 0,1	580/23,2	0/0,0	-	-	-

Fortsetzung Tab. A-1

Jahr/geprüfte Einzel- Pflanzen pro Schlag (n)/ Standorte	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.
1996/1997 n = 125									
Kloschwitz	1/ 0,8	3/ 2,4	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Merseburg I	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Merseburg II	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Zickeritz	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
insgesamt	1/ 0,2	3/ 0,6	0/0,0	-	-	-	-	-	-
1997/1998									
Höhnstedt n = 50	1/ 2,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Köllme n = 50	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Langenbogen I n = 50	1/ 2,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Langenbogen II n = 50	2/ 4,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Morl n = 100	2/ 2,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Nelben n = 100	15/15,0	4/ 4,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tab. A-1

Jahr/geprüfte Einzel- Pflanzen pro Schlag (n)/ Standorte	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.
Neehausen n = 100	3/ 3,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
Friedeburg n = 300	158/52,7	8/ 2,7	0/0,0	-	-	-	-	-	-
insgesamt	182/22,8	12/ 1,5	0/0,0	-	-	-	-	-	-
1998/1999 n = 150									
Adendorf (Berg)	6/ 4,0	5/ 3,3	0/0,0	15/10,0	28/18,7	1/0,7	23/15,3	3/ 0,2	1/0,7
Adendorf (Ort)	9/ 6,0	1/ 0,7	0/0,0	24/16,0	0/ 0,0	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0
Freist (Berg)	26/17,3	0/ 0,0	0/0,0	50/33,3	2/ 1,3	0/0,0	25/16,7	0/ 0,0	0/0,0
Freist (links)	15/10,0	3/ 2,0	0/0,0	49/32,7	0/ 0,0	0/0,0	12/ 8,0	0/ 0,0	0/0,0
Freist (rechts)	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	31/21,3	1/ 0,7	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0
Hedersleben	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	3/ 2,0	3/ 2,0	0/0,0	-	-	-
Höhnstedt	5/ 3,3	1/ 0,7	0/0,0	25/16,7	1/ 0,7	0/0,0	15/10,0	0/ 0,0	0/0,0
Nauendorf	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	7/ 4,7	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-
Wüllknitz	20/13,3	0/ 0,0	0/0,0	49/32,7	1/ 0,7	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0
Zickeritz	0/ 0,0	1/ 0,7	0/0,0	22/14,7	3/ 2,0	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0
insgesamt	81/ 5,4	11/ 0,7	0/0,0	275/18,3	39/ 2,6	1/0,1	75/ 6,3	3/ 0,3	1/0,1

Fortsetzung Tab. A-1

Jahr/geprüfte Einzel- Pflanzen pro Schlag (n)/ Standorte	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.
1999/2000 n = 150									
Etzdorf	26/17,3	0/ 0,0	0/0,0	31/20,7	6/ 4,0	2/1,3	-	-	-
Freist/Beesenstedt	16/10,7	4/ 2,7	0/0,0	19/12,7	15/10,0	0/0,0	-	-	-
Freist/Tal	1/ 0,7	0/ 0,0	0/0,0	15/10,0	3/ 2,0	0/0,0	1/ 0,7	0/ 0,0	0/0,0
Friedeburg/Adendorf	23/15,3	13/ 8,7	0/0,0	67/44,7	3/ 2,0	0/0,0	-	-	-
Friedeburg/links	29/19,3	14/ 9,3	0/0,0	22/14,7	1/ 0,7	0/0,0	-	-	-
Friedeburg/rechts	34/22,7	5/ 3,3	0/0,0	25/16,7	7/ 4,7	1/0,7	-	-	-
Höhnstedt	5/ 3,3	6/ 4,0	0/0,0	45/30,0	4/ 2,7	1/0,7	-	-	-
Micheln I	5/ 3,3	0/ 0,0	0/0,0	56/37,3	0/ 0,0	0/0,0	31/20,7	0/ 0,0	0/0,0
Micheln II	1/ 0,7	0/ 0,0	0/0,0	62/41,3	1/ 0,7	0/0,0	52/34,7	0/ 0,0	0/0,0
Schafstedt	1/ 0,7	26/17,3	0/0,0	17/11,3	12/ 8,0	0/0,0	-	-	-
Zillewitz	2/ 1,3	0/ 0,0	0/0,0	46/30,7	1/ 0,7	0/0,0	-	-	-
Zscherben	24/16,0	1/ 0,7	0/0,0	58/38,9	0/ 0,0	0/0,0	23/15,3	2/ 1,3	1/0,7
insgesamt	167/ 9,3	69/ 3,8	0/0,0	463/25,7	53/ 2,9	4/0,2	107/17,8	2/ 0,3	1/0,2

Fortsetzung Tab. A-1

Jahr/geprüfte Einzel- Pflanzen pro Schlag (n)/ Standorte	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDV's	Doinfek.	WDV	BYDV's	Doinfek.	WDV	BYDV's	Doinfek.
2000/2001 n = 150									
Adendorf	8/ 5,3	15/10,0	0/0,0	8/ 5,3	16/10,7	1/0,7	10/ 6,7	3/ 2,0	0/0,0
Freist	34/22,7	13/ 8,7	0/0,0	8/ 5,3	99/66,0	14/0,7	13/ 8,7	3/ 2,0	0/0,0
Friedeburger Hütte	30/20,0	3/ 2,0	1/0,7	24/16,0	0/ 0,0	0/0,0	27/18,0	0/ 0,0	0/0,0
Höhnstedt	21/14,0	2/ 1,3	0/0,0	27/18,0	9/ 6,0	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0
Höhnstedt/Zappendorf	16/10,7	0/ 0,0	0/0,0	7/ 4,7	40/26,7	0/0,0	12/ 8,0	2/ 1,3	1/0,7
Rumpin	14/ 9,3	12/ 8,0	1/0,7	9/ 6,0	34/22,7	2/1,3	2/ 1,3	4/ 2,7	0/0,0
Spickendorf	49/32,7	14/ 9,3	1/0,7	28/18,7	60/40,0	8/5,3	19/12,7	6/ 4,0	0/0,0
Wils	1/ 0,7	0/ 0,0	0/0,0	20/13,3	4/ 2,7	0/0,0	2/ 1,3	0/ 0,0	0/0,0
Zappendorf	12/ 8,0	15/10,0	0/0,0	5/ 3,3	104/69,3	6/4,0	17/11,3	2/ 1,3	0/0,0
Zaschwitz	15/10,0	7/ 4,7	0/0,0	10/ 6,7	76/50,7	3/2,0	10/ 6,7	1/ 0,7	0/0,0
Zscherben	22/14,7	15/10,0	0/0,0	16/10,7	59/39,3	1/0,7	97/64,7	9/ 6,0	5/2,7
insgesamt	222/13,5	96/ 5,8	3/0,2	162/ 9,8	501/30,4	35/2,1	209/12,7	30/ 1,8	5/0,3

Fortsetzung Tab. A-1

Jahr/geprüfte Einzel- Pflanzen pro Schlag (n)/ Standorte	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.
2001/2002 n = 150									
Höhnstedt	5/ 3,3	59/39,6	1/0,7	11/ 7,3	101/67,3	5/3,3	19/12,7	77/51,3	4/2,7
Höhnstedt/Silo	10/ 6,7	22/14,7	1/0,7	16/10,7	42/28,0	2/1,3	30/20,0	12/ 8,0	0/0,0
Spickendorf	2/ 1,3	27/18,0	1/0,7	2/ 1,3	34/22,7	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0
Teutschenthal	1/ 0,7	81/54,0	0/0,0	0/ 0,0	117/78,0	0/0,0	0/ 0,0	129/86,0	0/0,0
Teutschenthal/B 80	7/ 4,7	77/51,3	2/1,3	7/ 4,7	78/52,0	1/0,7	16/10,7	12/ 8,0	0/0,0
Treplitz	0/ 0,0	71/47,3	0/0,0	5/ 3,3	30/20,0	2/1,3	0/ 0,0	5/ 3,3	0/0,0
insgesamt	25/ 2,8	337/37,4	5/0,6	41/ 4,6	402/44,7	10/1,1	65/ 7,2	235/26,1	4/0,4
Herbst 2002 n = 150									
Beesenstedt	1/ 2,0	2/ 1,3		-	-	-	-	-	-
Fienstedt	0/ 0,0	24/16,0		-	-	-	-	-	-
Friedeburg	0/ 0,0	7/ 4,7		-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tab. A-1

Jahr/geprüfte Einzel- Pflanzen pro Schlag (n)/ Standorte	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.
Höhnstedt	0/ 0,0	21/14,0		-	-	-	-	-	-
Lettin	0/ 0,0	19/12,7		-	-	-	-	-	-
Lettin/Schiepzig	3/ 2,0	38/25,3		-	-	-	-	-	-
Peterdorf	0/ 0,0	17/11,3		-	-	-	-	-	-
Pfeiffenhausen	3/ 2,0	8/ 5,3		-	-	-	-	-	-
Räther I	0/ 0,0	0/ 0,0		-	-	-	-	-	-
Räther II	0/ 0,0	9/ 6,0		-	-	-	-	-	-
Rumpin	0/ 0,0	6/ 4,0		-	-	-	-	-	-
Spickendorf	0/ 0,0	56/37,3		-	-	-	-	-	-
Zappendorf	13/ 8,7	13/ 8,7		-	-	-	-	-	-
Zaschwitz	8/ 5,3	42/28,0		-	-	-	-	-	-
insgesamt	30/ 1,4	262/12,5		-	-	-	-	-	-

*) nicht geprüft bzw. keine weiteren Informationen
Doinfek. - Doppelinfektionen

Tab. A-2: Befall von Winterweizen und Triticale mit dem WDV bzw. den BYDVs im Herbst, Frühjahr und Frühsommer in den Vegetationsperioden der Jahre 1998/1999, 2000/2001 und 2001/2002 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

Jahr/Fruchtart/ Standorte ¹⁾	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.
1998/1999 Winterweizen									
Freist	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	- ²⁾	-	-	-	-	-
Höhnstedt	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
insgesamt	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	-	-	-	-	-	-
2000/2001 Winterweizen									
Bennstedt	16/10,7	32/21,3	0/0,0	46/30,7	99/66,0	28/18,7	16/10,6	8/ 5,3	2/1,3
Langenbogen I	10/ 6,7	2/ 1,3	0/0,0	14/ 9,3	81/54,0	10/ 6,7	28/18,7	21/14,0	5/3,3
Langenbogen II	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	-	-	-
Spickendorf	9/ 6,0	5/ 3,3	0/0,0	4/ 2,7	49/32,7	2/ 1,3	-	-	-
Zappendorf	14/ 9,3	5/ 3,3	0/0,0	8/ 5,3	72/48,0	4/ 2,7	8/ 5,4	14/ 9,4	7/4,7
insgesamt	49/ 6,5	44/ 5,9	0/0,0	72/ 9,6	301/40,1	44/ 5,9	52/11,6	43/ 9,6	14/3,1

Fortsetzung Tab. A-2

Jahr/Fruchtart/ Standorte ¹⁾	Infizierte Pflanzen absolut/relativ (%)								
	Herbst			Frühjahr			Frühsommer		
	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.	WDV	BYDVs	Doinfek.
Triticale									
Benkendorf	2/ 1,3	38/25,3	0/0,0	2/ 1,3	84/56,0	0/ 0,0	-	-	-
Höhnstedt	3/ 2,0	0/ 0,0	0/0,0	0/ 0,0	6/ 4,0	0/ 0,0	-	-	-
Köllme	4/ 2,7	3/ 2,0	0/0,0	2/ 1,3	100/66,7	0/ 0,0	-	-	-
Zappendorf	1/ 0,7	0/ 0,0	0/0,0	0/ 0,0	93/62,0	0/ 0,0	-	-	-
insgesamt	10/ 1,7	41/ 6,8	0/0,0	4/ 0,7	283/47,2	0/ 0,0	-	-	-
2001/2002 Winterweizen									
Höhnstedt	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	1/ 0,7	0/0,0
Friedeburg	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/ 0,0	0/0,0
Lettin	1/ 0,7	27/18,0	0/0,0	1/ 0,7	61/40,7	1/ 0,7	0/ 0,0	134/89,3	0/0,0
Spickendorf	0/ 0,0	19/12,7	0/0,0	1/ 0,7	14/ 9,3	0/ 0,0	0/ 0,0	4/ 2,7	0/0,0
Zabenstedt	0/ 0,0	2/ 1,3	0/0,0	0/ 0,0	4/ 2,7	0/ 0,0	0/ 0,0	6/ 4,0	0/0,0
insgesamt	1/ 0,1	48/ 6,4	0/0,0	2/ 0,3	79/10,5	1/ 0,1	0/ 0,0	145/19,3	0/0,0
Triticale									
Zscherben	0/ 0,0	62/41,3	0/0,0	0/ 0,0	117/78,0	0/ 0,0	4/ 2,7	54/36,0	3/1,0

¹⁾ pro Standort wurden 150 Einzelpflanzen geprüft

²⁾ nicht geprüft bzw. keine weiteren Informationen

Doinfek. - Doppelinfektionen

Tab. A-3: Aussaattermine und Sorten ausgewählter Bestände von Wintergerste, Winterweizen und Triticale der Jahre 1995/1996, 2000/2001 und 2001/2002 im mittleren und südlichen Teil von Sachsen-Anhalt

Vegetationsperiode/Fruchtart/ Standort	Aussaattermin	Sorte
1995/1996		
Wintergerste		
Gröbers	15.09.	‘Angora’
Merseburg I	26.09.	‘Catania’
Salzmünde	15.09.	‘Krimhild’
Könnern	13.09.	‘Masto’
Eutzsch	19.-23.09.	‘Grete’
2000/2001		
Wintergerste		
Adendorf	28.08.	‘Theresa’
Freist	17.09.	‘Theresa’
Friedeburger Hütte	21.09.	‘Carola’, ‘Theresa’
Höhnstedt	15.-21.09.	‘Theresa’
Höhnstedt/Zappendorf	25.09.	‘Cleopatra’
Rumpin	28.09.	‘Sarah’, ‘Theresa’
Wils	21.09.	‘Bahamas’, ‘Lomerit’, ‘Ludmilla’, ‘Theresa’
Zappendorf	20.-24.09.	‘Catania’, ‘Regina’
Zaschwitz	24.09.-27.09.	‘Cornelia’
Winterweizen		
Bennstedt	10.-11.09.	‘Kontrast’
Langenbogen I	11.09.	‘Kontrast’
Langenbogen II	05.-07.11.	‘Charger’
Spickendorf	11.09.	‘Bussard’
Zappendorf	08.-10.09.	‘Kontrast’
Triticale		
Benkendorf	06.09.	‘Lupus’
Höhnstedt	27.09.	‘Vitalis’
Köllme	06.09.	‘Lupus’
Zappendorf	08.09.	‘Lupus’

Fortsetzung Tab. A-3

Vegetationsperiode/Fruchtart/ Standort	Aussaattermin	Sorte
2001/2002		
Wintergerste		
Höhnstedt	19.09.	'Lomerit'
Höhnstedt/Silo	29.09.	'Ludmilla'
Spickendorf	23.09.	'Candesse'
Teutschenthal	25.09.	'Ludmilla'
Teutschenthal/B 80	18.09.	'Theresa'
Trepitz	25.09.	'Duet'
Winterweizen		
Höhnstedt	03.11.	'Alidos'
Friedeburg	11.-13.10.	'Ludwig'
Lettin	11.-14.09.	'Cardos'
Spickendorf	21.09.	'Bussard'
Zabenstedt	10.10.	'Tarso'
Triticale		
Zscherben	15.09.	'Trimaran'

Fortsetzung Tab. A-5

Tiernr./ Akquisitions- zeit	Übersetzen der Zikaden aller 24 h nach Virusaufnahme										
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
6/10	0	0	0	tot							
8/10	0	0	0	0	0	0	0	tot			
9/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/10	0	tot									
11/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	tot
14/10	0	0	0	tot							
15/10	0	0	tot								
16/10	0	0	0	0	0	0	0	0	tot		
17/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18/10	0	0	0	tot							
19/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20/10	0	0	0	0	0	0	0	tot			
21/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	tot
23/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/15	0	tot									
2/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/15	0	0	X	X	X	0	0	X	0	X	X
5/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6/15	0	tot									
7/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/15	0	0	0	0	tot						
11/15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12/15	0	0	0	0	0	0	tot				
13/15	0	0	0	0	0	tot					

Fortsetzung Tab. A-5

Tiernr./ Akquisitions- zeit	Übersetzen der Zikaden aller 24 h nach Virusaufnahme										
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
21/20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/40	X	X	0	X	X	0	0	X	0	X	0
2/40	0	0	X	0	0	0	0	0	0	0	0
3/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/40	0	tot									
6/40	0	0	0	tot							
7/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8/40	0	0	0	tot							
9/40	0	0	0	0	0	tot					
10/40	0	0	tot								
11/40	0	0	0	0	0	tot					
12/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	tot	
13/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14/40	0	0	0	0	0	0	0	0	tot		
15/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16/40	0	tot									
17/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19/40	0	0	tot								
20/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22/40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23/40	0	0	0	tot							

grün positiv mittels PCR
X Übertragung des WDV auf Wintergerste
0 keine Übertragung

Tab. A-6: Relativer Anteil (%) virusübertragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation in den Jahren 2000 bis 2002 am Standort Zscherben

Jahr/ Fang- termin	Anteil virusübertragender <i>P. alienus</i> auf					
	Wintergerste			Winterweizen		
	Anzahl geprü- fter <i>P. alienus</i> *	absolut	relativ (%)	Anzahl geprü- fter <i>P. alienus</i> *	absolut	relativ (%)
2000						
09.06.	25	21	84,0	15	0	0,0
15.06.	24	18	75,0	15	2	13,3
22.06.	21	16	76,2	19	0	0,0
28.07.	25	4	16,0	7	0	0,0
06.09.	25	2	8,0	19	0	0,0
15.09.	28	8	28,6	22	0	0,0
21.09.	28	5	17,9	21	0	0,0
24.10.	20	1	5,0	9	0	0,0
01.11.	20	3	15,0	2	0	0,0
17.11.	30	12	40,0	20	0	0,0
30.11.	18	9	50,0	17	0	0,0
13.12.	15	5	33,0	4	0	0,0
Σ	279	104	37,3	170	2	1,8
2001						
28.05.	25	14	56,0	19	0	0,0
05.06.	30	23	76,7	26	0	0,0
13.06.	30	14	46,7	25	1	4,0
20.06.	30	13	43,3	17	0	0,0
12.07.	23	11	47,8	21	0	0,0
31.07.	30	3	10,0	24	0	0,0
10.08.	25	0	0,0	20	0	0,0
17.08.	28	1	3,6	20	0	0,0
24.08.	25	0	0,0	14	0	0,0
07.09.	48	1	2,1	46	0	0,0
10.10.	30	0	0,0	18	0	0,0
22.10.	30	0	0,0	16	0	0,0
06.11.	44	0	0,0	7	0	0,0
22.11.	30	2	6,7	8	0	0,0
Σ	428	82	19,2	281	1	0,4
2002						
30.05.	11	0	0,0	11	0	0,0
18.06.	15	0	0,0	9	0	0,0
09.07.	6	0	0,0	6	0	0,0
31.07.	3	0	0,0	3	0	0,0

Fortsetzung Tab. A-6

Jahr/ Fang- Termin	Anteil virusübertragender <i>P. alienus</i> auf					
	Wintergerste			Winterweizen		
	Anzahl geprü- fter <i>P. alienus</i> *	absolut	relativ (%)	Anzahl geprü- fter <i>P. alienus</i> *	absolut	relativ (%)
15.08.	41	0	0,0	38	0	0,0
20.09.	26	0	0,0	25	0	0,0
02.10.	23	1	4,3	22	0	0,0
24.10.	2	0	0,0	2	0	0,0
Σ	127	1	0,8	116	0	0,0

*) Auf Winterweizen wurden weniger *P. alienus* geprüft, da innerhalb der ersten Versuchs-woche oftmals einige der Zikaden verstarben.

Tab. A-7: Relativer Anteil (%) virusübertragender *P. alienus* an der Gesamtpopulation in Hönstedt im Jahr 2002

Fang- termin	Anteil virusübertragender <i>P. alienus</i> auf					
	Wintergerste			Winterweizen		
	Anzahl geprü- fter <i>P. alienus</i> *)	absolut	relativ (%)	Anzahl geprü- fter <i>P. alienus</i> *)	absolut	relativ (%)
31.07.	45	0	0,0	40	0	0,0
07.08.	30	2	6,7	29	0	0,0
21.08.	35	3	8,6	31	0	0,0
06.09.	52	5	9,6	50	0	0,0
20.09.	52	7	13,5	51	0	0,0
02.10.	45	4	8,9	37	0	0,0
30.10.	34	13	38,2	28	0	0,0
13.11.	2	1	50,0	1	0	0,0
Σ	295	35	11,9	267	0	0,0

*) Auf Winterweizen wurden weniger *P. alienus* geprüft, da innerhalb der ersten Versuchs-woche oftmals einige der Zikaden verstarben.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß ich vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt und keiner anderen Einrichtung zur Beurteilung vorgelegt habe.

Jena, den 10. Juni 2005

Lebenslauf

Name: Mehner
Vorname: Dagmar Silke
Geburt: 25.08.1972 in Freiberg
Familienstand: ledig
Kinder: Hannes Christian Mehner
Staatsangehörigkeit: deutsch
Wohnsitz: Käthe-Kollwitz-Str. 7
07743 Jena
Schulbildung: 1979-1989 Polytechnische Oberschule Chemnitz
Berufsbildung: 1989-1992 Ausbildung zum Facharbeiter für Pflanzenproduktion mit
Abitur, Berufsschule „Albrecht Daniel Thaer“ Chemnitz/
Stadtgut Chemnitz
Studium: 1992-1998 Studium der Agrarwissenschaften an der Martin-Luther-
Universität Halle-Wittenberg
Studienschwerpunkt: Pflanzenwissenschaften
29. April 1998 Diplom, Abschluß Diplom-Agraringe-
nieur
Wiss. Tätigkeit: 1998-2003 Doktorand am Institut für Pflanzenzüchtung und Pflan-
zenschutz, Arbeitsgruppe Virologie (Leitung Prof. Dr.
habil. E. Fuchs) der Martin-Luther-Universität Halle-
Wittenberg
1998-2000 Stipendium nach dem Graduiertenförderungs-
gesetz des Landes Sachsen-Anhalt
2000-2003 wissenschaftliche Mitarbeiterin im Rahmen
eines Drittmittelprojektes
Berufliche Tätigkeit: 2004-2005 Volontariat im Lektorat Zeitschriften des Wissenschafts-
verlages Elsevier GmbH/Urban & Fischer, Niederlassung Jena
seit September 2005 Publishing Editor in obengenanntem Verlag

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. habil. E. Fuchs für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung der Mittel sowie die allzeit gewährte und umfassende Unterstützung, verbunden mit anregenden Diskussionen und seinem steten Interesse an der Arbeit.

Mein Dank gilt ferner Frau Dr. habil. M. Grüntzig für ihre vielfältigen Anregungen und ihre verlässliche Hilfsbereitschaft, insbesondere bei den zahlreichen Freilandversuchen sowie bei der kritischen Durchsicht der vorliegenden Dissertationsschrift.

Herrn Dr. B. Manurung und Herrn Dr. W. Witsack danke ich recht herzlich für die konstruktive und freundschaftliche Zusammenarbeit bei der Durchführung der gemeinsamen Versuche.

Ebenso gilt mein Dank allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, Doktoranden, Diplomanten und Praktikanten der ehemaligen Arbeitsgruppe Virologie für das angenehme Arbeitsklima sowie für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung. Dabei möchte ich meinen besonderen Dank Frau D. Schmidt für ihre Einsatzbereitschaft und ihr Interesse aussprechen. Sie unterstützte mich im Rahmen der Anfertigung ihrer Diplomarbeit maßgeblich.

Weiterhin sei nochmals all denen herzlich gedankt, die schon in den Fußnoten an den entsprechenden Stellen der Dissertationsschrift Erwähnung fanden.

Den Mitarbeitern der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Aschersleben möchte ich gleichfalls danken. Bei meinen Besuchen wurde ich jederzeit sehr freundlich aufgenommen und erhielt in Gesprächen und auch durch praktische Arbeiten Anregungen für die Bearbeitung des Themas.

Christian und Hannes danke ich für ihre außerordentliche Geduld mit mir sowie für ihre Unterstützung und Motivation. Ebenso danke ich meinen Freunden für ihren Zuspruch.