

# Jahrbuch der Baumpflege

Das aktuelle Nachschlüsselwerk  
für die Baumpflege

1999

Themenschwerpunkte:

- Nachbarrecht – Gehölzwertermittlung
- Baumkrankheiten – Baumkontrolle
- Jungbäume: Standort – Pflanzung – Pflege
- Wiss. Posterausstellung – Kurzberichte

Adressen von  
Verbänden, Forschungseinrichtungen,  
Sachverständigen und Baumpflegefir-  
men aus  
Deutschland, Österreich und der Schweiz

Produkte und Dienstleistungen

Herausgeber:  
Dr. Dirk Brunsicker  
Für den Verleger

## 4.7 Anwendung von Nachweisverfahren zur Diagnose von Viren in Laubgehölzen

*Priv. Doz. Dr. Carmen Büttner und Dr. Martina Führling, Institut für Forstbotanik und Baumphysiologie der Universität Freiburg, Am Flughafen 17, 79085 Freiburg*

### Zusammenfassung

Die zur Diagnose von Viruserkrankungen an Forstgehölzen einzusetzenden Nachweismethoden werden kurz beschrieben und ihre Anwendbarkeit für die Routinediagnose bzw. für spezielle Fragestellungen erläutert. Die Auswahl des zu untersuchenden Pflanzenmaterials erfolgt anhand der Symptomatologie. Gewebe mit virusverdächtigen Symptomen wie charakteristischen Farbveränderungen, Verformungen oder Absterbeerscheinungen wird elektronenmikroskopisch, serologisch oder molekularbiologisch auf eine Virusinfektion geprüft und/oder die Erreger aus dem Gewebe auf geeignete Test-/Indikatorpflanzen übertragen. Eine universell anwendbares Nachweisverfahren kann nicht vorgegeben werden, sondern es ist abhängig vom jeweiligen Virus und der zu untersuchenden Baumart.

### Zur Verbreitung der Viren in Laubgehölzen

Die bisherigen Untersuchungen an virusinfizierten Laubbäumen sowie die zahlreichen Bonituren und Beobachtungen an erkrankten Bäumen bestätigen, daß Viren in Laubgehölzen weit verbreitet sind (FÜHRUNG UND BÜTTNER, 1997) und daß Viren die Vitalität und die Widerstandskraft der Bäume stark herabsetzen können (BÜTTNER, 1993; NIENHAUS und CASTELLO, 1989; NIENHAUS et al., 1990). Eine Virusinfektion muß keine ausgeprägten Krankheitssymptome verursachen. Sie kann jedoch die Prädisposition des Baumes verändern und eine vorzeitige Seneszenz bewirken. Im Zuge des sich verschlechternden Gesundheitszustandes der Bäume im öffentlichen Grün und im Forst kommt der Vitalität und damit der Widerstandskraft gegenüber anthropogenen Einflüssen (insbesondere

Luftverunreinigungen), Witterungseinflüssen und biologischen Krankheitserregern eine immer größer werdende Bedeutung zu. Durch parasitierende Viren wird die Syntheseleistung der infizierten Bäume bedeutend reduziert. Zur Regeneration benötigt der Baum eine erhöhte Synthesekapazität. Diese verstärkt notwendige Syntheseleistung des erkrankten Baumes muß unter normalen Bedingungen keine Konsequenzen haben; kommen jedoch weitere Stressoren hinzu, reicht die Regenerationskapazität eines infizierten, geschwächten Baumes nicht mehr aus, um diese Belastung zu kompensieren. Es kommt zu sichtbaren Schäden und Degenerationserscheinungen.

Zunächst vereinzelte Infektionsquellen im Forst, im öffentlichen Grün oder in Baumschulen stellen langfristig ein sich weit ausbreitendes Infektionspotential dar. Um so wichtiger ist, daß im Hinblick auf die lange Kultivierung der Laubgehölze im Forst und im öffentlichen Grün gesunde Pflanzenbestände angelegt werden. Erst eine Selektion mit geeigneten Testverfahren auf virusfreies bzw. virusgetestetes Pflanzenmaterial in Baumschulen kann die Voraussetzung für langfristig gesunde Pflanzenbestände schaffen. Entsprechende Tests auf Virusinfektionen sind im Obstbau längst selbstverständlich und sind inzwischen für gravierende Schäden hervorrufoende Viren in vielen Laubbaumarten des öffentlichen Grüns anzuraten. Einer Kontrolle dieser Krankheitserreger gebührt daher eine besondere Beachtung. Zuverlässige Diagnoseverfahren, wie im vorliegenden Artikel vorgestellt, sind hierfür die Voraussetzung. Die angesprochenen Tests können von beispielsweise einigen Pflanzenschutzämtern leicht durchgeführt werden und kommen dann in Frage, wenn Verdacht auf eine Virusinfektion besteht. In dem Fall sind mehrere Stichproben an Standorten mit virusverdächtigen Pflanzen zu entnehmen und zur Untersuchung einzusenden.

## Zu den verschiedenen Diagnoseverfahren

Die Diagnose von Viren in Laubgehölzen ist sehr schwierig und ist nicht mit den herkömmlichen Nachweisverfahren für Viren in garten- und ackerbaulichen Kulturen (krautige Pflanzen und Gräser) vergleichbar. Phenolische Inhaltsstoffe im Pflanzenmaterial stören sowohl die Virusisolierung als auch die Übertragung auf krautige Indikatorpflanzen. Wie bei allen Gehölzen ist die Viruskonzentration in Laubbäumen sehr gering und zudem die Virusverteilung im Baum in zusätzlicher Abhängigkeit von der Jahreszeit sehr heterogen.

Ein Nachweis der Viruspartikeln mit Hilfe der Elektronenmikroskopie ist deshalb sehr zufallsbedingt. Unter Anwendung serologischer Nachweisverfahren können nur bestimmte Viren gezielt mit entsprechenden Antisera erfaßt werden. Auch molekularbiologische Methoden wie die Hybridisierung und die Polymerase Kettenreaktion (PCR) können nur gezielt für den Nachweis ausgewählter Viren eingesetzt werden. Universell geeignete Nachweisverfahren für Viren in Laubgehölzen gibt es nicht, aber die im Einzelfall auszuwählenden Möglichkeiten für eine diagnostische Vorgehensweise bei der Bestimmung von Viren in Laubgehölzen sollen im folgenden vorgestellt werden.

Anhand der **Symptomatologie** wird zur Bestimmung der Viruserkrankungen im ersten Schritt eine visuelle Bonitur der Bäume oder Sämlinge vorgenommen, die das Erkennen und Differenzieren von Viruserkrankungen voraussetzt. Die Beschreibung der äußeren Symptome erfolgt dabei nach den für die Symptomatologie üblichen Kriterien der Farb- und Formveränderungen sowie der Absterbeerscheinungen (NIENHAUS, 1985).

Danach umfassen die **Farbveränderungen** Chlorosen durch Chlorophylldefekte oder Chloroplastendegeneration. Rotverfärbungen entstehen durch eine Anthozyanreicherung oder durch Chlorophyllabbau. Oxidierte Phenole sind durch Melaninbildung verantwortlich für Braunfärbungen. Die Verfärbungen können partiell oder großflächig ausgebildet sein.

Die **Verformungen** umfassen Abweichungen in der Form der Organe sowie im Habitus des Gesamtbaumes. Blätter sind auffällig verformt bei Epinastie, Blattrollen und -kräuseln durch unregelmäßige Entwicklung der Blattspreite. Die Schmal- und Kleinblättrigkeit entsteht durch Störung der Blattentwicklung, Fraßschäden sowie der Krebs-, Tumor- und Gallenbildung. Der Habitus des Baumes ist sichtbar verändert, wenn die Schädigung im Kronen- oder Stammbereich weit fortgeschritten ist.

**Absterbeerscheinungen** treten partiell im Gewebe oder allgemein an den Pflanzen auf. Während sich Nekrosen und Fäulen als Lokalläsionen, Blattflecken, Trieb-, Ast-, Stamm- und Wurzelnekrosen und -fäulen entwickeln, sind die Dürre – Störung im Wasserhaushalt – und der Verfall als Schadbild des Gesamtbaumes zu erkennen. Der Verfall beschreibt ein langsames oder plötzliches Absterben des Baumes, der durch das Zusammenwirken von Nekrosen, Fäulen, Dürre und mechanische Beschädigung im Wurzel-, Stamm- und Kronenbereich verursacht wird.

Die Bonitur ist ab April mit dem Blattaustrieb vorzunehmen. Erfahrungsgemäß beginnt die Symptomentwicklung durch Viren im Mai/Juni und ist längstens bis Ende Juli/Anfang August zu differenzieren (BÜTTNER, 1993). Eine Maskierung durch weitere Schadbilder anderer biotischer und abiotischer Ursachen behindert dann eine klare Bestimmung. Erschwerend kommt hinzu, daß virusbedingte Symptome verwechselt werden können mit solchen, die nicht virusbedingt sind. In Untersuchungen hierzu hat sich gezeigt, wie vielfältig die Palette virusähnlicher zu wechselnder Schadbilder sein kann (BÜTTNER und FÜHLING, 1993; HARTMANN et al., 1995).

Für die Darstellung, Isolierung, Vermehrung, nähere Charakterisierung und letztendlich für den Nachweis der Pathogenität zur Erfüllung der Koch'schen Postulate ist die **Übertragung der Viren auf Testpflanzen** durchzuführen (NIENHAUS et al., 1990). Sie ist eine einfache und schnelle Methode, wenn sich der Erreger übertragen läßt. So ist es üblich, mechanisch übertragbare Viren auf krautige Pflanzen zu übertragen, um mit den aus diesen Pflanzen leichter zu isolierenden, zu vermehrenden und zu charakterisierenden Viren arbeiten zu können. Die meisten Viren

sind mechanisch übertragbar. Bei den Laubgehölzen – insbesondere den Harthölzern – ist die Virusübertragung aus Blattpreßsaft äußerst schwierig und gelingt nur selten aufgrund der phenolischen Inhaltsstoffe, der unregelmäßigen Verteilung der Viren am Baum (FUCHS und GRÜNTZIG, 1994), der starken Abhängigkeit des Nachweises am Baum von Jahr zu Jahr und von der Jahreszeit.

Im Gegensatz zur Inokulation auf krautige Pflanzen gelingt die Übertragung der Erreger durch **Pfropfung** immer dann, wenn eine Gewebeverwachsung von Reis oder Auge und Unterlage gewährleistet werden kann (FÜHRING und BÜTNER, 1995). Allerdings ist dieses Verfahren sehr langwierig und gibt keine Auskunft, um welches Virus es sich handelt.

Zwei geeignete Pfropftechniken sind die Kopulation mit Rindenschildchenpfropfung und die Okulation, wobei die erstere höhere Anwachsrate garantiert. Bei der Okulation wird dem Reis eine Knospe mit einem Rindenschildchen entnommen und diese in die durch einen T-Schnitt vorbereitete Unterlage eingeführt. Das für dieses Verfahren notwendige Ablösen der Rinde vom Kambium beschränkt die Durchführung dieser Methode auf den Monat August. Bei der Kopulation werden sowohl die Unterlage als auch das Reis mit mindestens zwei Knospen durch einen längseliptischen Schnitt vorbereitet und so aufeinander gefügt, daß die kambialen Teile der Schnittstellen aufeinanderliegen. Die gleichzeitig durchgeführte Rindenschildchenpfropfung erfolgt mit zwei aus dem Reis geschnittenen Holzspänen, die in die Unterlage, aus der Holzstücke äquivalenter Stärke herausgeschnitten wurden, implantiert werden. Diese

Methode kam vorzugsweise bei Vegetationsruhe Ende Januar bis Ende Februar zum Einsatz, konnte jedoch auch im weiteren Vegetationsverlauf Anwendung finden, sofern die gepfropften Sämlinge drei Wochen unter gespannter Luft kultiviert und danach wieder langsam an Freilandbedingungen adaptiert wurden.

Symptome sind teilweise noch in derselben oder dann in der folgenden Vegetationsperiode sichtbar. Die Pfropfung von Forstgehölzen kann nicht als diagnostisches Mittel betrachtet werden. Sie ist zwar bei Forstgehölzen eine geeignete Methode zur Übertragung von Viren, aber sie ist umständlich, erfordert einen hohen Arbeitsaufwand, und die Symptomentwicklung dauert lange. Dennoch zum Nachweis der Pathogenität der Erreger ist die Übertragung unerlässlich. Anders hingegen im Obstbau. Dort dienen empfindliche Sorten für zu testende Viren auch zum Nachweis.

Übertragungsversuche an Rotbuchen (*Fagus sylvatica* L.) wurden erfolgreich mit dem stem slashing durchgeführt, wobei eine zuvor herzustellende Virus-suspension zur Verfügung stehen muß. Diese wurde durch Rindeneinritzung in den Stamm von Gehölzsämlingen gebracht (NIENHAUS et al., 1990; HAMACHER und QUADT, 1994).

Die **Elektronenmikroskopie** eröffnet Möglichkeiten, Viren nativ zu diagnostizieren; sei es in Kunstharz eingebettetes Pflanzenmaterial oder als Adhäsionspräparat. Eine elektronenoptische Darstellung von Kirschenblattrollvirus (CLRV)- und Apfelmosaikvirus (AMV)-Partikeln ist in Abbildung 1 zu erkennen.

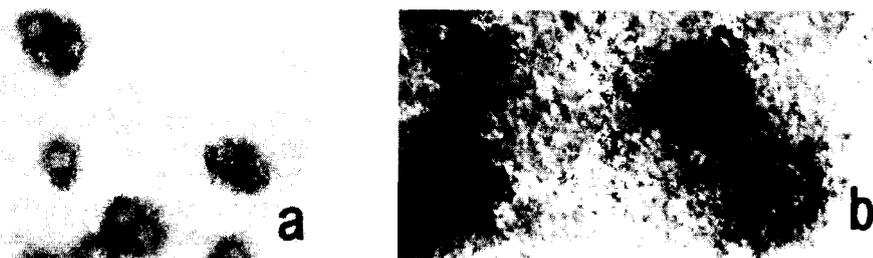


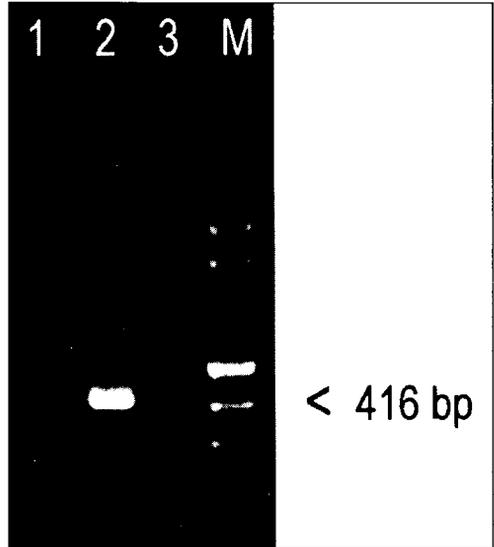
Abbildung 1: Elektronenoptische Darstellung von CLRV-Partikeln (a; 28 nm) und AMV-Partikeln (b; 29 nm) aus Blattpreßsaft infizierter Birken

Bei der Anwendung dieser Technik für Laubgehölze (HAMACHER, 1994) treten zahlreiche Probleme auf. Auch hier können hemmende Inhaltsstoffe und oxidative Prozesse die Nachweisteknik stören sowie die heterogene Verteilung von Viren im Baum und der niedrige Virustiter den Nachweis zufällig bedingen. Ein hoher Zeitaufwand ist erforderlich, diese Hürden mit spezifisch ausgearbeiteten Methoden und zahlreichen Wiederholungen zu überwinden. Für eine Routinetestung bei Gehölzen ist die Elektronenmikroskopie keine zuverlässige Methode. Sie ist geeignet, spezielle Fragestellungen im histologischen und cytologischen Bereich zu klären. Sie kann nicht mit den diagnostischen Möglichkeiten an krautigen Kulturpflanzen verglichen werden. Die verschiedenen Präparationsmöglichkeiten von Pflanzenmaterial aus Laubgehölzen werden anhand entsprechender Beispiele umfassend von HAMACHER (1994) beschrieben.

Der **ELISA** ist der gängigste und kostengünstigste serologische Test für die Routinetestung (CLARK und ADAMS, 1977). Er ist in verschiedenen Modifikationen ausgearbeitet worden und wird gezielt für den Nachweis bestimmter Erreger eingesetzt. Sein Verfahren beruht auf dem Nachweis einer spezifischen Antigen/Antikörper-Bindung, an die ein Enzym (alkalische Phosphatase, Urease oder Peroxidase) gekoppelt wird. Dieses Enzym setzt nach einer Substratzugabe in einer Sekundärreaktion ein Chromogen in ein farbiges Endprodukt um, das photometrisch gemessen werden kann. Auch mit diesem Testverfahren ist der Virusnachweis aus Forstgehölzen nicht einfach durchzuführen aufgrund der mehrfach genannten stofflichen Störfaktoren und der Virusverteilung.

Das Nachweisverfahren über die **Polymerase Kettenreaktion (PCR)** ist hochspezifisch und ermöglicht Detektionen weit oberhalb der Nachweisgrenze, wie sie mit dem ELISA-Test erreicht werden können. Die Methode ist aufgrund der benötigten Chemikalien und der aufwendigen Durchführung sehr kostenintensiv.

Die PCR ist eine enzymatische *in-vitro* Vervielfältigung von kurzen DNA-Abschnitten. RNA-Viren können nur dann über die PCR nachgewiesen werden, wenn mittels des Enzyms reverse Transkriptase die RNA in DNA umgeschrieben wird. Zur Durchführung



**Abbildung 2: Nachweis von CLRV in Blattmaterial durch Amplifikation eines 416 bp langen Fragments: 1: gesunde Birke, 2: CLRV-infizierte Birke, 3: aqu. dest, M: DNA-Marker (VIII, Boehringer)**

werden als Starthilfen zwei Oligonukleotide (Primer) benötigt, die zu jeweils einem Strang des DNA-Doppelstrangs komplementär sein müssen (GASSEN et al., 1994). Dies setzt voraus, daß die Sequenzen, an die die Oligonukleotide binden sollen, bekannt sind.

Die bekannten Schwierigkeiten mit dem Pflanzenmaterial aus Forstgehölzen sind auch hier durch entsprechende Aufbereitung des Probenmaterials und Modifikation der Methode zu überwinden. Darüber hinaus bleibt jeweils zu prüfen, ob die erforderlichen Sequenzen bereits zur Verfügung stehen oder ob diese Voraussetzungen erst aufwendig geschaffen werden müssen.

Die Methode der PCR läßt sich mit serologischen Arbeitstechniken kombinieren. Bei der sogenannten immuno-capture (IC)-PCR werden zunächst spezifische Antikörper zur immunologischen Anreicherung des nachzuweisenden Erregers in Anwendung gebracht (NOLASCO et al., 1993). In weiteren Arbeitsschritten können dann die spezifischen Fragmente der infektiösen Nukleinsäure amplifiziert und gelelektrophoretisch

dargestellt werden. Die hochspezifische Methode wurde an Kirschenblattrollvirus (CLRV)- infizierten *Betula* sp. (WERNER et al., 1997a) und Pappelmosaikvirus (PopMV)- infizierten *Populus* sp. (WERNER et al., 1997b) etabliert. Abbildung 2 zeigt den Nachweis von CLRV in Blattmaterial durch die Amplifikation eines spezifischen 416 bp langen Nukleinsäurefragments.

Die im mittleren Niveau hinsichtlich der Aufwendungen liegende **dot-blot Hybridisierung (DBH)**, eine ebenfalls auf dem Nachweis von Nukleinsäurefragmenten basierende Methode, weist eine im Vergleich zum ELISA-Test niedrigere Nachweisgrenze und verglichen mit der PCR eine niedrigere Sensitivität auf. Eine ungefähr 60 %ige Sequenzhomologie zwischen der Erregernukleinsäure und der eingesetzten Hybridisierungssonde reicht bei dieser Methode für einen positiven Befund aus. Bei der PCR hingegen ist eine vollständige Sequenzhomologie der eingesetzten Primer mit Teilen der Erregernukleinsäure notwendig.

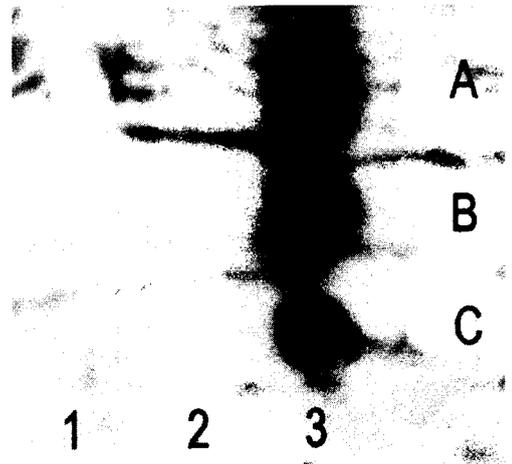
Bei dieser Methode wird ein Nukleinsäureextrakt des zu testenden Pflanzengewebes auf eine Membran aufgetragen. Nach Zugabe einer zum RNA-Erregergenom komplementären, synthetisierten DNA-Sonde hybridisiert diese mit der virösen RNA aus dem Pflanzengewebe. Die Hybridisierungssignale können durch eine Enzymreaktion sichtbar gemacht werden.

Die gegen einen Teil des 30 K Proteins des Tabakmosaikvirus (TMV) gerichtete digoxigenin-markierte Sonde reagierte unter Anwendung der DBH mit Nukleinsäurerohextrakten von erkrankten *Acer pseudoplatanus* (FÜHRING und BÜTTNER, 1998) und *Sorbus aucuparia* (Abb. 3). Inwieweit das symptomverursachende Agens in den erkrankten Ebereschen der Tobamovirusgruppe zugeordnet werden kann, wird geprüft.

Der Nachweis **doppelsträngiger RNA (dsRNA)** ist sehr kosten- und zeitaufwendig und wird normalerweise dann zur Untersuchung von Pflanzenkrankheiten herangezogen, wenn eine Virusethiologie einsträngiger RNA-Viren vermutet wird, aber es bis dahin noch nicht möglich war, diese durch eine elektronenoptische Darstellung der Partikeln zu belegen (VALVERDE et al., 1990).

Einzelsträngige RNA-Viren sind mit 90 % der Viren die größte Gruppe der Pflanzenviren. Bei deren Replika-

tion entstehen intermediäre und replikative Formen. Die replikativen Formen – vollständig durchgepaarte dsRNA mit doppeltem Molekulargewicht des Einzelstrangs – können für diagnostische Zwecke herangezogen werden, sofern sie in gesunden Pflanzen nicht nachgewiesen werden können. Für die Isolierung und den Nachweis der dsRNA sind spezifische Verfahren für das jeweilige Pflanzenmaterial zu erarbeiten. Die Methoden zur Isolierung der dsRNA beruhen auf einer chromatographischen Trennung des aus dem Pflanzengewebe extrahierten Gesamtnukleinsäureextraktes (DODDS et al., 1984). Das Trennprinzip beruht darauf, daß bei einer Ethanolkonzentration von 15–18 % vorwiegend dsRNAs an das Trennmedium (CF-11 Cellulose) gebunden wird. Dann noch kontaminierende andere Nukleinsäurestrukturen können in weiteren Arbeitsschritten enzymatisch abgebaut werden. Der Nachweis der so isolierten dsRNA erfolgt nach gelelektrophoretischer Trennung mit Hilfe unterschiedlicher Färbemethoden, die sich vor allem in ihrer Nachweisgrenze unterscheiden. Ein Arbeitsverfahren zur Darstellung von dsRNA aus *Quercus robur* stellen BÜTTNER et al. (1996) detailliert vor.



**Abbildung 3:** DBH mit einer TMV-spezifischen Sonde von Blattmaterial der Eberesche. Spalte 1: aqu. dest., Spalte 2: gesunde Eberesche, Spalte 3: erkrankte Eberesche Zeile A (100 mg Blatt\*), Zeile B (50 mg Blatt\*) Zeile C (25 mg Blatt\*) \* Nukleinsäurerohextrakt aus Blattmaterial

Mit Hilfe des **tissue-blot immunoassay (TBIA)**, einem weiteren serologischen Nachweisverfahren, kann die Verteilung der beispielsweise mit dem ELISA nachgewiesenen Viren oder Nukleinsäurestrukturen in den unterschiedlichen Pflanzenorganen dargestellt werden und ist eher für wissenschaftliche Fragestellungen geeignet. Dazu wird zunächst ein Gewebeabdruck auf eine positiv geladene Nylonmembran hergestellt; mit Hilfe spezifischer Antikörper können dann Virionen oder Nukleinsäuren auf der Membran angefärbt werden. Ein nach KAUFMANN et al. (1992) modifiziertes Verfahren führte unter Verwendung eines Antikörpers mit hoher Spezifität gegen dsRNA (LUKACS, 1994) zum Nachweis von dsRNA in Blattgewebe erkrankter Stieleichen. Die Strukturen treten dabei homogen über die gesamte Blattspreite verteilt auf, in den charakteristischen, durch den Erreger induzierten chlorotischen Ringflecken war der Gehalt stark erhöht (Abb. 4).



**Abbildung 4: TBIA von Eichenblattgewebe unter Verwendung eines Antikörpers gegen dsRNA; links: Gewebeabdruck des Blattes mit chlorotischen Ringflecken; rechts: Gewebeabdruck des gesunden Blattes**

## Literatur

- BÜTTNER, C.; 1993: Viruserkrankungen an Laubgehölzen. Deutsche Baumschule, 45, 552–554.
- BÜTTNER, C., FÜHRLING, M.; 1993: Beobachtungen zu virusbedingten Symptomen an erkrankten Stieleichen (*Quercus robur* L.) – eine Abgrenzung zu ähnlichen, nicht virusbedingten Krankheitsbildern –. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 45, 110–115.
- BÜTTNER, C.; FÜHRLING, M.; WERNER, R.; MÜHLBACH, H.-P.; LUKACS, N.; 1996: Phytopathogene Viren in Laubgehölzen des öffentlichen Grüns und Baumschulen sowie Böden und Gewässern – eine diagnostische Vorgehensweise –. Gesunde Pflanzen 48, 95–103.
- CLARK, N. F., ADAMS, A. N.; 1977: Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34, 475–483.
- DODDS, J. A., MORRIS, T. J., JORDAN, R. L.; 1984: Plant viral double-stranded RNA. Ann. Rev. Phytopathol. 22, 151–168.
- FUCHS, E., GRÜNTZIG, M.; 1994: Verteilungsmuster von Viren in holzigen Wirtspflanzen. Kühn-Arch. 88, 40–53.
- FÜHRLING, M., BÜTTNER, C.; 1995: Transmission experiments of viruses to woody seedlings *Quercus robur* L. and *Sorbus aucuparia* L. by grafting and mechanical inoculation. Eur. J. For. Path.. 25, 129–135.
- FÜHRLING, M., BÜTTNER, C.; 1997: Viruserkrankungen an Laubgehölzen – zu beachten in Baumschulen, im Garten- und Landschaftsbau sowie im Forst –. In: DUESIEFEN, D.; KOCKERBECK, P. (Hrsg.), 1997: Jahrbuch der Baumpflege 1997, Thalacker Medien, Braunschweig, 184–188.
- FÜHRLING, M., BÜTTNER, C.; 1998: Nachweis von Tobamo-Viren in Bergahorn (*Acer pseudoplatanus* L.) mit Scheckung und Blattdeformation. Forstw. Cbl. 117, 92–97.
- GASSEN, H. G., SACHSE, G. E., SCHULTE, A.; 1994: PCR, Grundlagen und Anwendungen der Polymerase-Kettenreaktion. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- HAMACHER, J.; 1994: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Laubbäumen unter verschiedenen Streifeinwirkungen. Dr. Kovac Verlag, Hamburg.

- HAMACHER, J., QUADT, A.; 1994: Isolation of cherry leafroll and brome mosaic viruses from European beech and transmission to beech seedlings. *Plant Disease* 78, 849–853.
- HARTMANN, G., NIENHAUS, F., BUTIN, H.; 1995: Farbatlas Waldschäden. Diagnose von Baumkrankheiten. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart
- KAUFMANN, A.; KOENIG, R.; LESEMANN, D. E.; 1992: Tissue print-immunoblotting reveals an uneven distribution of beet necrotic yellow vein and beet soil-borne viruses in sugarbeets. *Archives of Virology* 126, 329–335.
- LUKACS, N.; 1994: Detection of virus infection in plants and differentiation between coexisting viruses by monoclonal antibodies to double-stranded RNA. *J. Virol. Methods* 47, 255–272.
- NIENHAUS, F.; 1985: Viren, Mykoplasmen und Rickettsien. Parasiten an der Schwelle des Lebendigen. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 264 S.
- NIENHAUS, F., CASTELLO, J. D.; 1989: Viruses in forest trees. *Annu. Rev. Phytopathol.* 27, 165–186.
- NIENHAUS, F., BÜTTNER, C., HAMACHER, J.; 1990: Virus infection of forest trees by mechanical transmission. *J. Phytopathology*, 129, 141–150.
- NOLASCO, G., DE BLAS, C., TORRES, V., PONZ, E.; 1993: A method combining immunocapture and PCR amplification in a microtiter plate for the detection of plant viruses and subviral pathogens. *J. Virol. Meth.* 45, 201–218.
- VALVERDE, R. A.; NAMEETH, S. T.; JORDAN, R. L.; 1990: Analysis of double-stranded RNA for plant virus diagnosis. *Plant Disease* 74, 255–258.
- WERNER, R., MÜHLBACH, H.-P., BÜTTNER, C.; 1997a: Detection of cherry leafroll nepovirus (CLRV) in birch, beech and petunia by immunocapture RT-PCR using a conserved primerpair. *Eur. J. For.Path.* 27, 309–318.
- WERNER, R., MÜHLBACH, H. P., BÜTTNER, C.; 1997b: Detection of poplar mosaic carlavirus by immunocapture-RT-PCR. In: *Diagnosis and identification of plant pathogens* (eds. H.-W. DEHNE, G. ADAM, M. DIEKMANN, J. FRAHM, A. MAULER-MACHINIK, P. VAN HALTEREN), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 403–405.

## Das internationale Standardwerk der Gehölzkunde

Durchgehend farbig illustriertes Nachschlagewerk mit mehr als 4.000 Bäumen und Sträuchern aus über 400 verschiedenen Gattungen, die in gemäßigtem Klima kultiviert werden können. Die Pflanzenportraits werden durch ausführliche Hinweise zum Kauf, durch Sortenlisten zur Gehölzauswahl, durch Pflanz- und Pflegeanleitungen und nicht zuletzt durch Schutzmaßnahmen gegen Krankheiten und Schädlinge ergänzt.

The Hillier – Bäume & Sträucher  
Herausgegeben von John Kelly und John Hillier.  
aus dem Englischen übersetzt von A. Pause.

1. Auflage 1997.

640 Seiten, über 3.000 Farbfotos,  
Großformat mit Schutzumschlag, gebunden.

Bestellnummer 0207 / DM 129,-



THALACKER MEDIEN  
Buchhandlung