

S. Steinmüller · M. Bandte · C. Büttner

## Untersuchungen zum Erreger der Ringfleckigkeit an Stieleichen (*Quercus robur*)

Eingegangen: 15 November 2003 / Angenommen: 18 November 2003 / Online veröffentlicht: 10 Februar 2004  
© Springer-Verlag 2004

**Zusammenfassung** Mit einer visuellen Bonitur konnte das Vorkommen von Eichen mit virusverdächtigen chlorotischen Ringflecken an den Blättern in einem Forstbereich Berlins, dem Spandauer Forst, gezeigt werden. An Blattproben bonitierter Eichen wurden Untersuchungen zur Virusreinigung und zum Virusnachweis vorgenommen. Eine visuelle elektronenoptische Darstellung sowie eine mechanische Übertragung des Erregers der chlorotischen Ringfleckigkeit an Eichen auf ausgewählte krautige Indikatorpflanzen gelang nicht.

Mit Hilfe spezifischer Primer zum Nachweis des Erregers der Ringfleckigkeit an Ebereschen konnte gezeigt werden, dass der Erreger der Ringfleckigkeit an Eichen mit diesem nicht identisch ist. Aus dem Blattmaterial erkrankter Eichen konnten DNA-Fragmente von ca. 150 bzw. 550 bp amplifiziert werden. Das aus dem Blattmaterial kranker Ebereschen amplifizierte DNA-Fragment hat eine Größe von 224 bp. Die beiden aus erkranktem Eichenblattmaterial amplifizierten Fragmente sind vermutlich auf eine unspezifische Anlagerung der Primer zurückzuführen.

Weitere Untersuchungen an erkrankten Eichen hinsichtlich der Isolierung und Übertragung des Erregers sowie einer Isolierung und Sequenzierung der viralen Nukleinsäure sollten folgen.

**Schlüsselwörter** *Quercus robur* · Chlorotische Ringfleckigkeit · Nachweismethoden · Erregerisolierung · Erregerübertragung · Indikatorpflanzen

### Investigations into the pathogen of chlorotic ring spots on oak trees (*Quercus robur*)

**Abstract** Oak trees showing leaves with chlorotic ring spots have been observed in an area of Berlin (Spandau Forest). Leaves from infested trees were used for investigations on virus purification and mechanical transmission. Electron microscopic visualisation of the virus particles was unsuccessful, as was their mechanical transmission to herbaceous indicator plants. The use of specific primers to detect ring spot disease on mountain ash showed that both ring spot disease forms do not stem from the same causal agent. Whilst the amplified DNA fragment of mountain ash consists of 224 bp, those of diseased oak trees had lengths of 150 bp and 550 bp. These two fragments amplified in diseased oak leaf tissue probably result from an unspecific reaction of the primers with the cDNA. Further investigations are considered necessary.

**Keywords** *Quercus robur* · Chlorotic ring spot disease · Methods of proof · Virus isolation · Virus transmission · Indicator plants

An Eichen in Schleswig-Holstein konnten in den letzten Jahren virusverdächtige chlorotische Ringflecken an den Blättern beobachtet werden. Solche Ringflecken waren vorher bereits aus den USA bekannt und wurden in den 1970er Jahren von Nienhaus (1975) an Eichen im Rheinischen Schiefergebirge beschrieben. Die Symptome ließen sich durch Pfropfung auf junge Eichensämlinge übertragen, ein Zusammenhang mit bekannten Gehölzvirose war nicht nachweisbar. Viruserkrankungen können eine vorzeitige Seneszenz der Gehölze sowie eine veränderte Prädisposition der Bäume zur Folge haben, was im Zusammenhang mit den allgemein zu beobachtenden Eichenschäden große Bedeutung hat.

Bei Untersuchungen in Schleswig-Holstein wurde eine auffällige Häufung erkrankter Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.) mit virusverdächtigen Symptomen, wie z. B.

---

S. Steinmüller · M. Bandte · C. Büttner  
Fachgebiet Phytomedizin,  
Humboldt-Universität Berlin,

S. Steinmüller (✉)  
Fachgebiet Phytomedizin,  
Humboldt-Universität Berlin,  
Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin  
E-Mail: silke.steinmoeller@web.de

chlorotischer Ringfleckung in der Nähe erkrankter Eichen gefunden (Führling 1994). Daraus ergab sich die Frage, ob es sich bei den chlorotischen Ringflecken an Eichen und Ebereschen um den gleichen Erreger handeln könnte.

Aus Eichen mit chlorotischen Ringflecken konnten dsRNA-Fragmente mit einer Länge von mehr als 3,4 kbp isoliert werden (Büttner et al. 1996), in erkrankten Ebereschen wurden dsRNA-Banden mit mehr als 3,9 kbp nachgewiesen (Führling 1994, Benthack 2001). Mit neuentwickelten Primern gelang im Anschluss an eine Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) und Gelelektrophorese eine Abgrenzung kranker Ebereschen mit Symptomen zu symptomlosen Ebereschen (Benthack 2001). Durch den Einsatz dieser Primer sollte geklärt werden, ob die Erreger der chlorotischen Ringflecken an Eichen und Ebereschen identisch sind. Da die chlorotischen Ringflecken bisher nur in Schleswig-Holstein und im Rheinischen Schiefergebirge beschrieben wurden, sollte eine Bonitur Aufklärung über eine eventuelle Verbreitung des Erregers im Berliner Raum geben.

## Material und Methode

In den Jahren 2000 und 2001 wurde während der Vegetationsperiode anhand der Beschreibungen von Büttner und Frühling (1993) eine visuelle Untersuchung an *Quercus robur* und *Q. robur* ssp. *petraea* sowie deren Hybriden auf chlorotische Ringflecken mit vermutlich virösem Ursprung in einem Berliner Forstbereich, dem Spandauer Forst, durchgeführt.

An Eichenblattmaterial mit den charakteristischen Symptomen wurden verschiedene Methoden zur Virusreinigung geprüft. Die Methoden wurden nach Hentsch (1998) durchgeführt. Dabei wurde das Blattmaterial zur Extraktion störender Pflanzeninhaltsstoffe einer Vorklärung mit  $\beta$ -Mercaptoethanol, Bentonisuspensionen, Chloroform bzw. einer PEG-Fällung unterzogen. Die Virusreinigung erfolgte durch differentielle Zentrifugation. Die Anzahl der Zentrifugationen, die Zeiten sowie die pH-Werte der verwendeten Puffer wurden jeweils variiert. Die Überprüfung der Reinigung erfolgte visuell über das Transmissionselektronenmikroskop (TEM). Kohlebedampfte Grids wurden im Verfahren des Negativ-Staining auf den gereinigten Suspensionen inkubiert und im TEM untersucht.

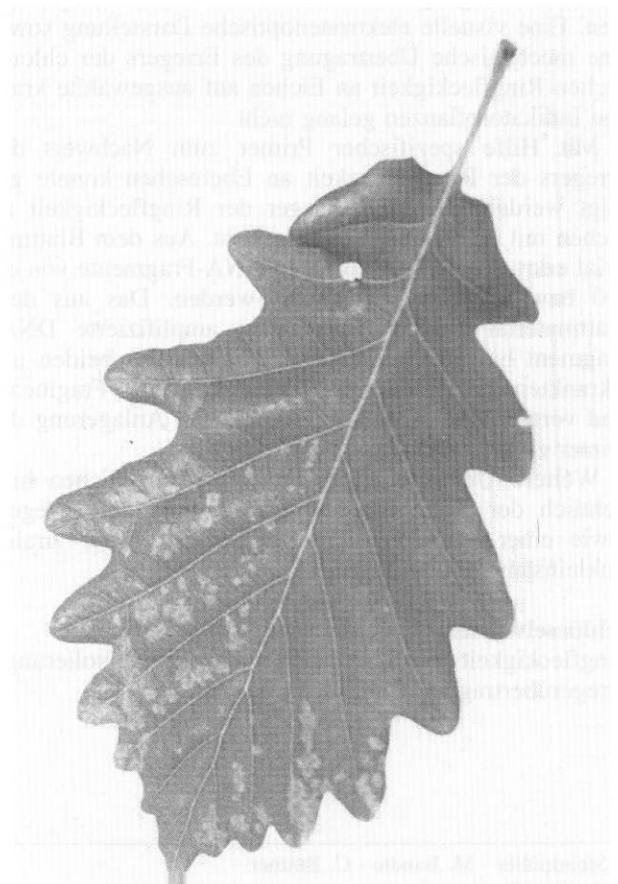
Im Biotest wurden die gereinigten Suspensionen auf krautige Indikatorpflanzen (*Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Datura stramonium*, *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana tabacum* var. *Samsun*, *Cucumis sativus* und *Lycopersicon esculentum*) übertragen. Die Übertragung erfolgte durch mechanische Inokulation, als Schleifmittel wurde Cellite eingesetzt, als Puffer diente 0,1 M Phosphatpuffer.

In Anlehnung an Benthack (2001) wurde eine RT-PCR mit den Ebereschen-Primern durchgeführt. Die eingesetzten Primer wurden von der Firma MWG-Biotech AG synthetisiert.

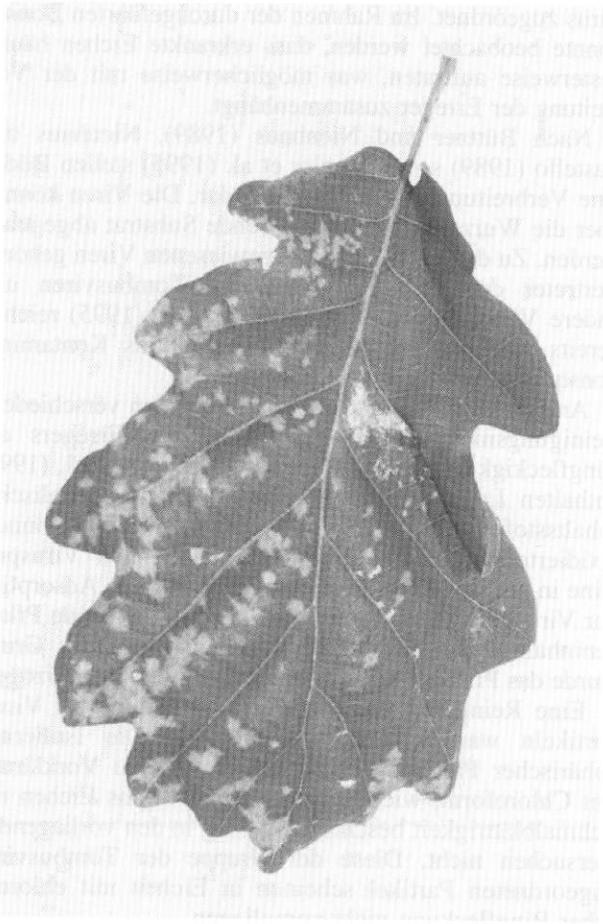
- Sequenzen der synthetisierten Primer
- Eberesche 1 (E1): 5'-CCA ATG ATT CCA GAC ACG-3'
- Eberesche 2 (E2): 5'-CTC AAC TGT GGG GCA TAA TC-3'

Verwendet wurde tiefgefrorenes ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) und frisches Blattmaterial erkrankter Eichen. Als Kontrollpflanzen dienten frisches Blattmaterial erkrankter und gesunder Ebereschen sowie einer Eiche ohne Blattsymptome. Parallel wurde das Blattmaterial zweier Ulmen vom Standort Caputh, welches ebenfalls chlorotische Ringflecken aufwies, getestet.

Zunächst war Gesamt-RNA aus dem Probenmaterial zu isolieren (Benthack 2001). Die isolierte RNA wurde vor ihrem Einsatz in der RT-PCR gelelektrophoretisch in einem 1,5% MOPS-Formaldehyd-Agarose-Gel getrennt und so der Arbeitsschritt der Gesamt-RNA-Isolierung geprüft. Die Gesamt-RNA wird im Verlauf der RT-PCR unter Einsatz der Primer in eine cDNA transkribiert und vervielfältigt. Eine anschließende Agarosegelelektrophorese zeigt die amplifizierten DNA-Fragmente.



**Abb. 1** Eichenblatt mit deutlich abgegrenzten chlorotischen Ringflecken



**Abb. 2** Eichenblatt mit undeutlich abgegrenzten chlorotischen Ringflecken

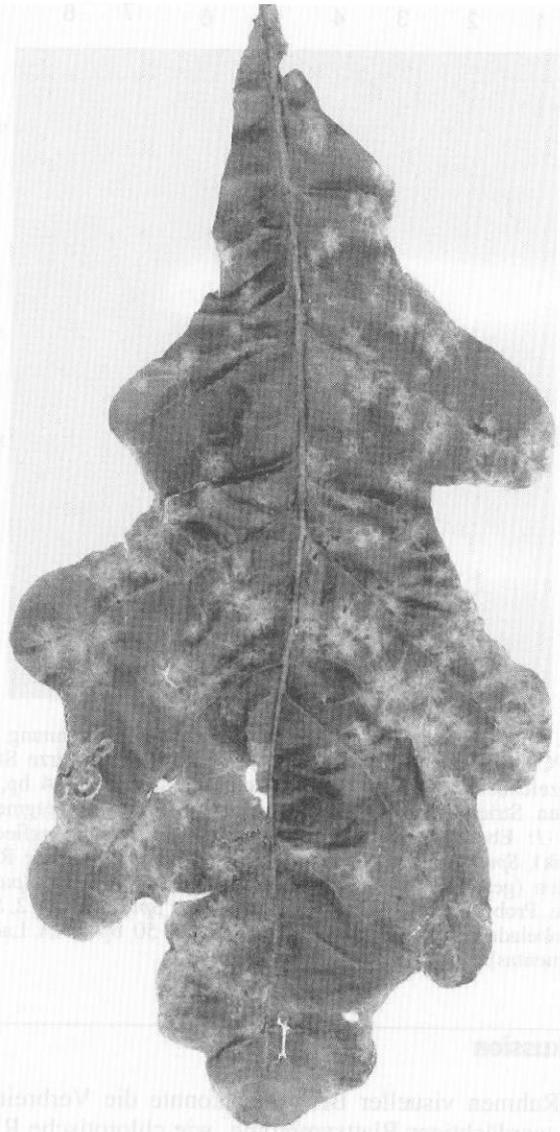
## Ergebnisse

Im Spandauer Forst konnten chlorotische Ringflecken an den Blättern verschiedener Eichen beobachtet werden (Abb. 1, 2). Insgesamt konnten im Spandauer Forst nur an wenigen Eichen chlorotische Ringflecken festgestellt werden

Im Verlauf der Vegetationsperiode wurden die Konturen der chlorotischen Ringflecken unschärfer bzw. begannen zu verlaufen (Abb. 3). Die Farbe veränderte sich von hellem Grün zu Gelb. Bäume in unmittelbarer Nachbarschaft zeigten verschiedene Verlaufsstufen der Symptome. Ab August konnten zunehmend Nekrosen in den Bereichen der chlorotischen Ringflecken beobachtet werden. Da solche Nekrosen auch durch andere Auslöser verursacht werden, war eine eindeutige Zuordnung der Schäden zum Erreger der chlorotischen Ringfleckigkeit an Eichen ab diesem Zeitpunkt nicht immer möglich.

Eine visuelle Darstellung viröser Partikel unter dem Transmissionselektronenmikroskop im Anschluss an die durchgeführten Reinigungen war nicht möglich.

Von insgesamt 104 Inokulationen auf krautige Indikatorpflanzen mit den gereinigten Suspensionen aus dem Blattmaterial erkrankter Eichen, konnte an keiner der

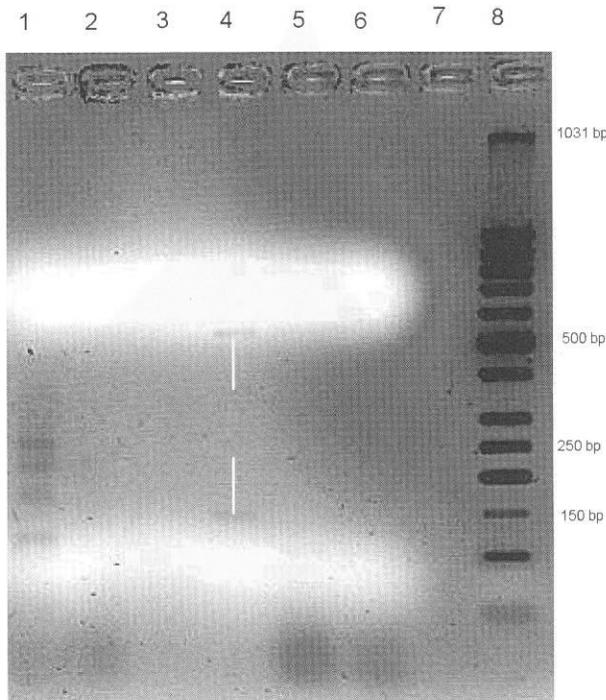


**Abb. 3** Eichenblatt mit sternförmig verlaufenden chlorotischen Ringflecken und punktförmigen Nekrosen am Ende der Vegetationsperiode

inokulierten Pflanzen virusverdächtige Blattsymptome beobachtet werden.

Mit Ausnahme von 3 Eichenproben (#24, #32 und #130) konnte aus allen Proben RNA isoliert werden.

Das PCR-Fragment der kranken Eberesche ist bei 224 bp zu erwarten. Das Agarosegel (Abb. 4) zeigt jedoch neben dem zu erwartenden Fragment noch weitere Fragmente mit weniger Basenpaaren. Aus erkrankten Eichen konnte nur in einer Probe DNA-Fragmente amplifiziert werden, diese liegen bei 500 bp sowie bei 150 bp. Die amplifizierten Fragmente waren im Gel nur schwach erkennbar.



**Abb. 4** Ausschnitt der gelelektrophoretischen Auftrennung der RT-PCR-Produkte in einem 2%-Agarosegel. Der schwarze Strich kennzeichnet das DNA-Fragment der Eberesche bei 224 bp, die weißen Striche die aus Eichen amplifizierte DNA-Fragmente. *Spur 1:* Eberesche — Kontrolle mit chlorotischen Ringflecken (krank), *Spur 2:* Eberesche — Kontrolle ohne chlorotische Ringflecken (gesund), *Spur 3:* Eiche, Probennr. 2000 # 30, *Spur 4:* Eiche, Probennr. 2001 # 189, *Spur 5:* Ulme 1, *Spur 6:* Ulme 2, *Spur 7:* unbeladen, *Spur 8:* Marker GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder [Fermentas]

## Diskussion

Im Rahmen visueller Bonituren konnte die Verbreitung virusverdächtiger Blattsymptome, wie chlorotische Ringflecken an Blättern von Eichen im Untersuchungsgebiet Spandauer Forst gezeigt werden.

Chlorotische Ringflecken sind ebenso wie ein Mosaik typische Farbveränderungen, die auf eine Virusinfektion hindeuten. Diese Farbveränderungen werden durch eine Schädigung der Chloroplasten in den infizierten Zellen hervorgerufen, die vermutlich durch ein osmotisches Ungleichgewicht und den durch Virusbefall veränderten Proteinstoffwechsel bedingt sind (Quadt 1994).

Die Symptomausprägung an den erkrankten Eichen war sehr ungleichmäßig. So wurden die Symptome teilweise nur an vereinzelt Blättern beobachtet; an anderen Bäumen waren die Ringflecken regelmäßig über den gesamten einsehbaren Kronenbereich verteilt. Eine ungleichmäßige Verteilung von Viren ist typisch für Gehölze (Grüntzig et al. 1994). Quadt (1994) konnte an virusinfizierten Buchen nachweisen, dass die Ausprägung chlorotischer Blattsymptome bei einem Virusbefall nicht von der Viruskonzentration abhängig ist und bereits bei sehr geringem Virustiter auftritt. Variationen in der Symptomausprägung werden spezifischen Interaktionen von Wirtspflanze und

Virus zugeordnet. Im Rahmen der durchgeführten Bonitur konnte beobachtet werden, dass erkrankte Eichen häufig nesterweise auftraten, was möglicherweise mit der Verbreitung der Erreger zusammenhängt.

Nach Büttner und Nienhaus (1989), Nienhaus und Castello (1989) sowie Kegler et al. (1995) stellen Böden eine Verbreitungsquelle für Viren dar. Die Viren können über die Wurzeln an das umgebende Substrat abgegeben werden. Zu den im Boden nachgewiesenen Viren gehören Vertreter der Tobamo- sowie der Tombusviren und andere Virusgruppen. Nach Kegler et al. (1995) reichen bereits wenige virusinfizierte Pflanzen als Kontaminationsquelle für virusfreie Standorte.

An Blattmaterial kranker Eichen wurden verschiedene Reinigungsmethoden zur Isolierung des Erregers der Ringfleckigkeit durchgeführt. Nach Büttner et al. (1996) enthalten Laubbäume einen hohen Anteil phenolischer Inhaltsstoffe, die eine Virusisolierung stören können. Oxidierte phenolische Verbindungen können Virusproteine in größere Komplexe einbinden. Um die Adsorption der Viruspartikel zu unterbinden, müssen störende Pflanzeninhaltsstoffe eliminiert werden. Aus diesem Grund wurde das Pflanzenmaterial einer Vorklärung unterzogen.

Eine Reinigung und visuelle Darstellung von Viruspartikeln war jedoch nicht möglich. Die Isolierung sphärischer Partikel aus Eichen durch eine Vorklärung mit Chloroform, wie sie Hentsch (1998) aus Eichen mit Schmalblättrigkeit beschreibt, gelang in den vorliegenden Versuchen nicht. Diese der Gruppe der Tombusviren zugeordneten Partikel scheinen in Eichen mit chlorotischer Ringfleckigkeit nicht vorzuliegen.

Grüntzig et al. (1994) schreiben der Art der Probenahme in Zusammenhang mit der möglichen ungleichmäßigen Verteilung von Viren in Gehölzen eine große Bedeutung zu. Sie geben an, dass immer große Proben volumina sowie Mischproben aus unterschiedlichen Kronenbereichen entnommen werden sollten. Nach Nienhaus u. Castello (1989) sowie Bitterlin et al. (1984) können Viren auf bestimmte Gewebebereiche beschränkt sein oder dort in den höchsten Konzentrationen vorliegen. In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich Blattmaterial mit den charakteristischen chlorotischen Ringflecken verwendet. Das systematische Erstellen von Mischproben wurde durch ein geringes Auftreten der Virussymptome sowie die Beschränkung der Blattentnahme auf den unteren Kronenbereich erschwert.

Die mechanischen Inokulationen führten nicht zur Übertragung des Erregers der Ringfleckigkeit der Eiche auf ausgewählte krautige Indikatorpflanzen. Dies bestätigen Untersuchungen von Büttner und Führling (1996), Führling (1994) und Nienhaus (1975). Die Übertragung von Gehölzviren ist häufig schwierig (Nienhaus et al. 1990). Dies wird vor allem dem Vorhandensein von Virusinhibitoren wie Taninen im Pflanzenpresssaft zugeschrieben (Fulton 1966). Auch die Inaktivierung der Partikel durch die Oxidation von Phenolen kann die Übertragung stören oder sogar verhindern.

Die Übertragungsversuche wurden ausschließlich mit gereinigten Virussuspensionen durchgeführt. Innerhalb

der durchgeführten Reinigungen wurden Additive wie  $\beta$ -Mercaptoethanol, magnesiumhaltige Bentonitsuspension sowie Chloroform zur Extraktion des Pflanzenpresssaftes zugefügt. Möglicherweise wurde die Wirkung pflanzlicher Inhibitoren bzw. die Inaktivierung der Erreger durch die Zugabe der gewählten Additive nicht verhindert.

Die verwendeten Pflanzen haben sich als geeignete Wirtspflanzen für viele verschiedene Viren erwiesen (Fulton 1966). Dennoch wäre es möglich, dass die verwendeten Pflanzenarten keine Wirtspflanzen für den untersuchten Erreger darstellen.

Durch die mechanische Inokulation sind im Gegensatz zur Pfropfung zudem nicht alle Viren übertragbar (Büttner et al. 1996). Manche Viren sind auf spezielle Vektoren, wie beispielsweise Blattläuse oder Nematoden, angewiesen. Eine Überprüfung der an Eiche auftretenden Schädlinge oder auch Pilze auf eine Kontamination mit dem Erreger ist bis zur Entwicklung einer sicheren hochsensitiven Nachweismethode nicht möglich.

Durch eine RT-PCR mit spezifischen Primern konnten aus der Blattprobe einer erkrankten Eiche zwei DNA-Fragmente amplifiziert werden. Die RT-PCR ist eine sehr sensitive Methode zum Nachweis von Viren in Gehölzen. Aufgrund ihrer Sensitivität kann sie Probleme, die sich durch eine ungleichmäßige Verteilung von Viren im Gehölz oder einen geringen Virustiter ergeben, überbrücken (Rowhani et al. 1993, Henson u. French 1993).

Ein Einsatz der PCR im Zusammenhang mit dem Erreger der Ringfleckigkeit an Eichen wurde erst durch die von Benthack (2001) entwickelten Primer möglich. Sequenzierungen des Virusgenoms an Ebereschen zeigten teilweise Übereinstimmungen mit Vertretern der Bunyaviridae, zu der auch die Tospovirengruppe zählt. Die Ringfleckigkeit ist an Ebereschen weit verbreitet und ist mit ihrer Symptomausprägung der Ringfleckigkeit der Eiche sehr ähnlich. Zudem treten diese beiden vergesellschaftet auf (Benthack 2001; Führling u. Büttner 1998).

Die Testung des erkrankten Eichenblattmaterials mit den spezifischen Primern der Ringfleckigkeit der Eberesche ergab, dass die Erkrankung nicht von demselben Erreger hervorgerufen wird. Aus den erkrankten Eichen konnten Fragmente von 150 bp bzw. ca. 550 bp amplifiziert werden und nicht das für die Erkrankung in Ebereschen spezifische 224 bp große Fragment. Entgegen den Untersuchungen von Benthack (2001) konnten aus Blattmaterial erkrankter Ebereschen weitere Fragmente amplifiziert werden. Benthack (2001) stellte bei der Erprobung klonierter Primer eine zweite Bindungsstelle des als E 2 bezeichneten Primers auf dem Genom des Erregers der Ringfleckigkeit an Ebereschen fest. Die Anlagerung des Primers erfolgte trotz einer Übereinstimmung von nur 80% der Basensequenzen. In einer RT-PCR wurden DNA-Fragmente mit einer Länge von 538 bp amplifiziert. Diese konnten eindeutig mit der Erkrankung der Ebereschen in Verbindung gebracht werden.

Möglicherweise liegen im Genom des Erregers der Ringfleckigkeit an Eichen Basensequenzen vor, die zu einer unspezifischen Anlagerung der Primer geführt haben.

Der Verlauf der PCR wird genau wie die reverse Transkription von verschiedenen Faktoren beeinflusst, wie beispielsweise der Annealing-Temperatur oder der Salzkonzentration der Lösung (Henson u. French 1993). Die im Versuch verwendeten Zeiten, Temperaturen und Konzentrationen wurden von den Versuchen an Ebereschen (Benthack 2001) übernommen und für Eichen nicht optimiert.

Der Verlauf einer PCR sowie der reversen Transkription kann durch pflanzliche Inhaltsstoffe inhibiert werden. (Rowhani et al. 1993). Dabei handelt es sich vor allem um Phenole, eine Störung durch einzelne Polysaccharide ist ebenfalls möglich (Demeke u. Adams 1992). Spezielle Reinigungsmethoden zur Extraktion störender Pflanzeninhaltsstoffe im Eichenblattmaterial im Vorfeld der PCR wurden nicht geprüft. Das Ergebnis des MOPS-Formaldehyd-Agarose-Gels zur Überprüfung der Gesamt-RNA-Isolierung zeigt, dass bereits nur eine sehr geringe Menge an RNA-Fragmenten aus den kranken Eichen isoliert werden konnte. Eichen beinhalten nach Nienhaus (1987) einen sehr hohen Anteil phenolischer Inhaltsstoffe. Die Extraktion viraler RNA aus Pflanzengewebe mit hohem Phenol- oder Polysaccharidgehalt ist oftmals problematisch.

Die verwendete Methode eignete sich nicht zur Isolierung größerer Mengen von Gesamt-RNA aus dem Blattmaterial kranker Eichen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit begründen den Bedarf an weiterführenden Untersuchungen zum Erreger der Ringfleckigkeit an Eichen. Neben der Isolierung virusverdächtiger Partikel aus erkrankten Eichen und der Übertragung dieser Partikel auf krautige Indikatorpflanzen bzw. auf junge Eichensämlinge ist auch eine Modifikation der Rahmenbedingungen der RT-PCR wichtig. Verschiedene Methoden zur RNA-Isolierung aus dem Blattmaterial kranker Eichen sollten erprobt werden, die für Gehölze mit hohem Anteil an phenolischen Inhaltsstoffen geeignet sind. Versuche zur Isolierung größerer Mengen dsRNA aus Blattmaterial kranker Eichen könnten den Einsatz der DOP-PCR mit anschließender Klonierung zur Sequenzierung der Nukleinsäure ermöglichen. Auf dieser Basis kann die Entwicklung eines sicheren hochspezifischen Nachweisverfahrens für den Erreger der Ringfleckigkeit an Eichen erfolgen, welches die Klärung offener Fragen zur Verteilung des Erregers in den Bäumen sowie im Boden, Gewässern und Vektoren ermöglicht und hilft, Aufschluss über seine Verbreitung zu erhalten.

## Literatur

- Benthack W (2001) Klonierung und partielle Charakterisierung des unbekanntes Erregers der Ringfleckigkeit der Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.) anhand doppelsträngiger RNA. Dissertation, Universität Hamburg
- Bitterlin MW, Gonsalves D, Cummins JN (1984) Irregular distribution of tomato ringspot virus in apple trees. *Plant Disease* 68: 567–571
- Büttner C, Nienhaus F (1989) Virus contamination of soils in forest ecosystems of the Federal Republic of Germany. *Eur J For Path* 19: 47–53

- Büttner C, Führling M (1993) Beobachtungen zu virusbedingten Symptomen an erkrankten Stieleichen (*Quercus robur* L.) — eine Abgrenzung zu ähnlichen, nicht virusbedingten Krankheitsbildern. *Nachrichtenbl Dtsch Pflanzenschutz* 45 : 110–115
- Büttner C, Führling M (1996) Studies on virus infection of diseased *Quercus Robur* (L.) from forest stands in Northern Germany. *Ann Sci For* 53: 383–388
- Büttner C, Führling M, Werner R, Mühlbach HP, Lucacs N (1996) Phytopathogene Viren in Laubbäumen des öffentlichen Grüns und Baumschulen sowie in Böden und Gewässern — eine diagnostische Vorgehensweise. *Gesunde Pflanzen* 48 (3): 95–103
- Demeke T, Adams RP (1992) The effects of plant polysaccharides and buffer additives on PCR. *Biotechniques* 12 (3): 332–334
- Führling M, Büttner C (1998) Studien zum Auftreten der Ringfleckigkeit und Scheckung der Blätter von Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.). *Forstw Cbl* 117: 372–338
- Grüntzig M, Fuchs E, Pfeilstetter E, Al Kai B, Otto F (1994) Untersuchungen zur Verteilung mechanisch übertragbarer Viren in Bäumen des Kern- und Steinobstes. *Arch Phytopath Pflanzenschutz* 29: 217–248
- Führling M (1994) Virologische Studien an erkrankten Stieleichen (*Quercus robur* L.) und Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.) in Norddeutschland sowie Untersuchungen von stoffwechselphysiologischen Veränderungen durch abiotische Stressoren an ausgewählten virusinfizierten Forstgehölzen. Dissertation, Universität Hamburg
- Fulton RW (1966) Mechanical transmission of viruses of woody plants. *Ann Rev Phytopathol* 4: 79–102
- Henson JM, French R (1993) The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. *Ann Rev Phytopathol* 31: 81–109
- Hentsch TI (1998) Untersuchungen zum Auftreten und zur Diagnose von Viren in Forstbaumschulen. Dissertation, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg
- Kegler H, Fuchs E, Spaar D, Kegler J (1995) Viren im Boden und im Grundwasser (Übersichtsbeitrag). *Arch Phytopath Pflanzensch* 29:349–371
- Nienhaus F (1975) Viren und virusverdächtige Erkrankungen in Eichen (*Quercus robur* und *Quercus sessiliflora*). *Z Pflanzenkr Pflanzensch* 85: 739–749
- Nienhaus, F (1987) Viren und primitive Prokaryonten in Eichen. *Österr Forstzeitung* 98 (3) 64–65.
- Nienhaus F, Castello JD (1989) Viruses in forest trees. *Ann Rev Phytopathol* 27:165–86
- Nienhaus F, Büttner C, Hamacher J (1990) Virus infection of forest trees by mechanical transmission. *J Phytopathol* 129: 141–150
- Quadt A (1994) Untersuchungen an Laubbäumen unter Stresseinfluss durch Viren und abiotische Faktoren. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
- Rowhani A, Chay C, Falk DA, Falk BW (1993) Development of a polymerase chain reaction technique for the detection of grapevine fanleaf virus in grapevine tissue. *Phytopathology* 83 (79) 749–753