

**PROGRAMM DES 44. JAHRESTREFFENS DES DPG-ARBEITSKREISES
"VIRUSKRANKHEITEN DER PFLANZEN"
AM 08. MÄRZ + 09. MÄRZ 2012**

Großer Sitzungssaal des Julius Kühn Instituts (JKI), Erwin-Baur-Straße 27

Donnerstag, 08. März 2012	
13:00 – 13:20	Anreise und Tagungsanmeldung im Vorraum des Großen Sitzungssaals des Julius Kühn Instituts (JKI), Erwin-Baur-Str. 27, Quedlinburg
13:20 – 13:30	Frank Rabenstein & Tatjana Kleinow: Begrüßung u. organisatorische Bekanntmachungen
13:30 – 15:10	Sektion I: Moderation Thomas Kühne
13:30 – 14:10	Einführungsvortrag Highlights zur Biologie und Molekularbiologie von Potyviren <i>Maiß, Edgar</i>
14:10 – 14:30	Auftreten von resistenzüberwindenden Isolaten des Beet necrotic yellow vein virus in Zuckerrüben in Nordeuropa und die Identifizierung einer neuen Zusammensetzung des viralen Pathogenitätsfaktors P25 <i>Bornemann, Kathrin, Hanse, Bram, Varrelmann, Mark, Stevens, Mark</i>
14:30 – 14:50	Analyse der Variabilität der pathogenitätsbestimmenden P25-Tetrad des Beet necrotic yellow vein virus mittels deep sequencing <i>Bornemann, Kathrin, Hanse, Bram, Varrelmann, Mark, Stevens, Mark</i>
14:50 – 15:10	Beeinflusst die Interaktion des Beet necrotic yellow vein virus P25 mit einem Auxin responsiven Transkriptionsrepressor die Symptomausprägung der Rizomania <i>Thiel, Heike, Varrelmann, Mark</i>
15:10 – 15:50	KAFFEE-/TEEPAUSE und erste Präsentation der Poster im Vestibül
15:50 – 17:10	Sektion II: Rubrik "Aus der Praxis, für die Praxis" Moderation Frank Rabenstein
15:50 – 16:10	Analysen des Virusbefalls bei Spargel in Anbaubetrieben und Versuchsanlagen Sachsen-Anhalts <i>Krämer, Reiner, Nothnagel, Thomas, Schreyer, Lutz, Rabenstein, Frank</i>
16:10 – 16. 20	Vorkommen und Nachweis bodenbürtiger Viren an Roggen und Weizen im Bundesland Schleswig-Holstein <i>Golecki, Bettina, Wunderlich, Monika, Opitz, Sigrid</i>
16:20 – 16:30	Breitadrigkeit und Ringnekrosen an Salat – Forschungsbedarf für die Praxis? <i>Vetten, H.J., Ziebell, Heiko</i>
16:30 – 16:40	Identifizierung und Verbreitung von IYSV an <i>Allium</i>-Kulturen in Südwest-Deutschland <i>Krauthausen, Hermann-Josef</i>
16:40– 16:50	Erfahrungen mit der Vorbereitung der Laborakkreditierung nach ISO 17025 für Obstvirosen (PDV, PNRSV, PPV) <i>Krauthausen, Hermann-Josef</i>
16:50 – 17:00	Erprobung des Virus Counters (InDevR) mit Pflanzenviren <i>Menzel, Wulf</i>
17:10 – 18:20	KAFFEE-/TEEPAUSE mit Imbiss und Präsentation der Poster im Vestibül
18:20 – 19:00	Allgemeines
ab 19:00	Abendessen und Gemütliches Beisammensein im Brauhaus Lüdde

Freitag, 09. März 2012	
09:00 – 10:20	Sektion IV: Moderation Edgar Maiß
09:00 – 09:40	Einführungsvortrag Das Gerstengelbmosaik in Deutschland - 35 Jahre nach dem Erstnachweis <i>Kühne, Thomas, Rabenstein, Frank</i>
09:40 – 10:00	Die Kombination eines neuen Umbravirus, einer neuen Satelliten RNA und des Potato leaf roll virus verursacht die tobacco bushy top Krankheit in Äthiopien <i>Abraham, Adane D., Menzel, Wulf, Bekele, Berhanu, Winter, Stephan</i>
10:00 – 10:20	Untersuchungen zum Virusnachweis von drei latenten Apfelviren über das Jahr und die Sequenzvariabilität von Apple stem pitting virus <i>Arntjen, Anja, Jelkmann, Wilhelm</i>
10:20 – 11:20	KAFFEE-/TEEPAUSE und Präsentation der Poster im Vestibül
11:20 – 12:00	Sektion V: Moderation Christina Wege
11:20 – 11:40	Genomveränderungen des Tobacco rattle virus in einer Hosta-Hybride und anderen systemisch infizierten Pflanzen: Reassortierungen, Rekombinationen und Deletionen von nicht mehr benötigten Genomabschnitten <i>Koenig, Renate, Lesemann, D.-E.</i>
11:40 – 12:00	Self-interaction of Abutilon mosaic virus replication initiator protein (rep) in plant cell nuclei <i>Krenz, Björn, Neugart, Felix, Kleinow, Tatjana, Jeske, Holger</i>
12:00 – 12:20	Allgemeines und Abschlussdiskussion Frank Rabenstein & Tatjana Kleinow
anschließend	Tagungsende

Posterpräsentationen

1

Interaction studies of the Cherry leaf roll virus (CLRV)-encoded movement and coat protein

Dierker, Luise¹, von Barga, Susanne¹, Büttner, Carmen¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin

2

Infection and recovery rates between a mild and a virulent isolate of arabis mosaic nepovirus in *Nicotiana benthamiana*

Dupuis, Laurence¹, Dunoyer, Patrice², Bassler, Alexandra¹, Keller, Mario², Hell, Rüdiger³, Wetzel, Thierry¹

¹RLP Agrosience, AIPlant Institute for Plant Research, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstrasse, Germany

²CNRS-IBMP, 12 rue du General Zimmer, 67084 Strasbourg Cedex, France

³Heidelberg Institute for Plant Science, Im Neuenheimer Feld 360, 69120 Heidelberg, Germany

3

Molekulare und serologische Charakterisierung eines Bromovirus aus Impatiens und Identifizierung als Isolat des *Bacopa chlorosis virus*

Menzel, Wulf¹, Hamacher, Joachim², Weissbrodt, Sandra², Winter, Stephan¹

¹Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig

²Department of Phytomedicine, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Nußallee 9, 53115 Bonn

4

Biologische Differenzierung bodenbürtiger Viren an Zuckerrübe

Kastirr, Ute¹, Fomitcheva, Viktoria¹, Schechert, Axel², Holtschulte, Bernd³, Uphoff, Hubert⁴

¹Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathodiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

²Strube Research GmbH & Co. KG, Hauptstraße 1, 38387 Söllingen

³KWS SAAT AG, Grimsehlstr. 31, 37555 Einbeck

⁴Syngenta Seeds GmbH, Scheuermühl Straße 1, 93098 Mintraching

5

Entwicklung diagnostischer Verfahren für die molekularbiologische und serologische Analyse des Pathogenspektrums bodenbürtiger Zuckerrübenviren und deren Vektoren

Fomitcheva, Viktoria¹, Kastirr, Ute¹, Schechert, Axel², Holtschulte, Bernd³, Uphoff, Hubert⁴

¹Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathodiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

²Strube Research GmbH & Co. KG, Hauptstraße 1, 38387 Söllingen

³KWS SAAT AG, Grimsehlstr. 31, 37555 Einbeck

⁴Syngenta Seeds GmbH, Scheuermühl Straße 1, 93098 Mintraching

6

Untersuchungen zum Pathogenspektrum des Rizomania-Komplexes in deutschen Zuckerrübenanbaugebieten

Fomitcheva, Viktoria¹, Kastirr, Ute¹, Schechert, Axel², Holtschulte, Bernd³, Uphoff, Hubert⁴

¹Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathodiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

²Strube Research GmbH & Co. KG, Hauptstraße 1, 38387 Söllingen

³KWS SAAT AG, Grimsehlstr. 31, 37555 Einbeck

⁴Syngenta Seeds GmbH, Scheuermühl Straße 1, 93098 Mintraching

7

Monitoring der Verzweigungsviren BYDV und WDV in Getreidepflanzen und ihren Vektoren

Gund, Nadine A., Eisenbraun, Daniel, Zellner, Michael, Benker, Ullrich, Weigand, Stephan, Seigner, Luitgardis

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, IPS 2c, Virologie, Lange Point 10, 85354 Freising, Deutschland

8

Nachweis von Resistenz gegen bodenbürtige Viren im Roggen

Kastirr, Ute¹, Bauer, Eva², Schmiedchen, Brigitta³, Pitsch, Christof³, Korzun, Viktor³, Wilde, Peer³

¹Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

²Technische Universität München, Center of Life and Food Sciences Weihenstephan, Plant Breeding, Emil-Ramann-Straße 4, D-85354 Freising

³KWS LOCHOW GMBH, Ferdinand-von-Lochow-Straße 5, D-29303 Bergen

9

Molekulare und serologische Charakterisierung von Dasheen mosaic virus Isolaten aus Aronstabgewächsen, Taro und Amorphophallus

Marion Liebrecht¹, Makeskumar Tangaraju², Stephan Winter¹

¹Leibniz-Institut DSMZ, Plant Virus Department, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland

²Central Tuber and Root Crops Institute, CTCRI, Trivandrum, Indien

10

Synergistic interactions in cucumber plants caused by mixed infections of Cucumber vein yellowing virus (*Ipomovirus*) and Zucchini yellow mosaic virus (*Potyvirus*)

Hamed, Khalid¹, Menzel, Wulf², Winter, Stephan³

¹Agricultural Research Corporation, Hudeiba Research Station, P.O. Box 31, Edd-Amer, Sudan

²Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig, Germany

11

Molekulare Charakterisierung von potentiellen dsRNA Viren aus Trifolium spec. - Cryptic Virus M ein Amalgam aus Totiviridae und Partitiviridae

Lesker, Till, Maiss, Edgar

LUH, Inst. Pflanzenkrankheiten, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

12

Molekulare Charakterisierung von 4 neuen RNA Viren aus Trüffeln (*Tuber spec.*)

Menzel, Wulf¹, Stielow, Benjamin², Klenk, Hans-Peter³, Winter, Stephan¹

¹Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig

²CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Uppsalaalaan 8, A3 3584 CT Utrecht, The Netherlands

³Leibniz Institute-DSMZ, Department of Microorganisms, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig

13

Complete sequence of a cryptic virus from hemp (*Cannabis sativa*)

Ziegler, Angelika¹, Matousek, Jaroslav², Steger, Gerhard³, Schubert, Jörg¹

¹JKI Quedlinburg

²Inst. Plant Mol. Biology, Ceske Budejovice, Czech Republic

³Biophysik, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

14

Structural analysis of ACMV capsomeres

Hipp, Katharina, Jeske, Holger

Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abt. Molekularbiologie

15

Markierung des Tabakmosaikvirus mit dem Gen für das Grün-fluoreszierende Protein (GFP)

Rose, Hanna¹, Heinze, Cornelia², Maiss, Edgar¹

¹LUH, Inst. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

²Uni Hamburg, Abt. Phytomedizin, Biozentrum Klein Flottbek, Ohnhorststr. 18, 22609 Hamburg

16

In vivo self-assembly of TMV-like particles in yeast and bacteria after ectopic expression of the coat protein

Kadri, Anan¹, Wege, Christina¹, Jeske, Holger¹

¹Universität Stuttgart, Institute of Biology, Department of Plant Molecular Biology and Plant Virology,

Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart, Germany

17

Tomato bushy stunt viruses (TBSV) in nanotechnology investigated by scanning force and scanning electron microscopy

KJ. Boonrod¹, G. Krczal¹, A. Lüders², C. Müller², Ch. Ziegler²

¹RLP AhgroScience GmbH, AIPlanta - Institute für Pflanzenforschung, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Germany

²University of Kaiserslautern, Department of Physics and Research Center OPTIMAS, 67663 Kaiserslautern, Germany

18

Ein immunologischer Nachweis für Kartoffelvirus X (PVX) mittels Oberflächen-Plasmonenresonanz Nutz, Sabine¹, Rabenstein, Frank¹, Kühne, Thomas¹

¹Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

19

Impact of plant viruses, viroids and bacteria on seed potato production in Benin, West Africa

Kerstin Lindner¹, Daniel Chougourou², Leonard Ahoton³, Katja R. Richert-Pöggeler⁴

¹Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Julius Kühn-Institut, Braunschweig

²Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université Abomey-Calavi Rép. du Bénin

³Faculté des Sciences Agronomiques, Université Abomey-Calavi Rép. du Bénin

⁴Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Julius Kühn-Institut, Braunschweig

Abstracts der Vorträge

Highlights zur Biologie und Molekularbiologie von Potyviren

Maiss, Edgar

LUH, Inst. Pflanzenkrankheiten, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

Im Vortrag werden neuere Ergebnisse zur Biologie und Molekularbiologie des Genus *Potyvirus* zusammengefasst. Vorgestellt wird zunächst die aktuelle Taxonomie der *Potyviridae*. Dabei wird kurz aufgezeigt, welche Genera neu hinzugekommen sind. Anhand der Genomorganisation des Genus *Potyvirus* wird dann die Prozessierung des Polyproteins und die Funktion(en) der bislang identifizierten viralen Proteine im Einzelnen vorgestellt.

Auftreten von resistenzüberwindenden Isolaten des Beet necrotic yellow vein virus in Zuckerrüben in Nordeuropa und die Identifizierung einer neuen Zusammensetzung des viralen Pathogenitätsfaktors P25

Bornemann, Kathrin¹, Hanse, Bram², Varrelmann, Mark¹, Stevens, Mark³

¹Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen

²IRS, Van Konijnenburgweg 24, NL-4611 HL Bergen op Zoom, The Netherlands

³Broom's Barn Research Centre, Department of Applied Crop Science,

Rizomania zählt zu den bedeutendsten Krankheiten im Zuckerrübenanbau und wird durch das *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) verursacht, welches durch den bodenbürtigen Protisten *Polymyxa betae* übertragen wird. Die Krankheit wurde in der Vergangenheit in allen Anbaugebieten durch den Anbau von Zuckerrüben kontrolliert, die ein dominant vererbtes Resistenzgen (*Rz1*) tragen. Diese Hybriden vermindern eine Vermehrung des Virus an der Pfahlwurzel und unterdrücken die Symptomausprägung. BNYVV-Isolate, welche vier RNAs besitzen und die *Rz1*-Resistenz überwinden können, wurden in unterschiedlichen Anbauregionen identifiziert. Verursacht wurde die Resistenzüberwindung vermutlich durch einen erhöhten Selektionsdruck durch die Verwendung nur eines Resistenzgens. Alle bisher beschriebenen resistenzüberwindenden Isolate besitzen ein Valin an der Position 67 der hypervariablen Aminosäuretetrade 67-70 des von der RNA3 codierten Pathogenitätsfaktors P25. BNYVV wurde aus *Rz1*-resistenten Zuckerrübenwurzeln isoliert, die auf Feldern in England, den Niederlanden und Deutschland, auf denen die typischen Rizomania-Symptome in Befallsnestern zu sehen waren, gesammelt wurden. Eine Sequenzierung des Hüllproteins und des P25 zeigte vollständige Homogenität auf Nukleotidebene. Dies ermöglichte eine Zuordnung aller Isolate zum BNYVV A-Typ und zeigte AYPR als P25 Tetradenkomposition. Die Fähigkeit, sich in höheren Konzentrationen in Zuckerrübenjungpflanzen, die das *Rz1*-Gen tragen, anzureichern und nicht in *Rz1+Rz2*-Pflanzen, wurde in Gewächshausversuchen in natürlichen Feldeböden gezeigt. Zusätzlich wurde eine *P.betae*-Population mit dem holländischen Isolat beladen und in einem Resistenztest mit resistenzüberwindenden und gewöhnlichen BNYVV-Isolaten verglichen. Die resistenzüberwindenden Eigenschaften des AYPR-Isolates konnten in *Rz1*-resistenten Zuckerrüben nachgewiesen werden. Hohe Virusgehalte konnten sowohl in den anfälligen und *Rz1*-resistenten Zuckerrüben nachgewiesen werden im Vergleich zu dem bereits bekannten resistenzüberwindenden BNYVV P-Typ, der eine zusätzliche 5. RNA besitzt. Bis heute wurden 26 Felder in England, 44 Felder in den Niederlanden und ein Feld in Deutschland mit der Zusammensetzung AYPR identifiziert. Dies stellt eine neue Bedrohung für die europäische Zuckerproduktion dar. Der Ursprung dieses neuen aggressiven Isolats ist bislang unklar und es kann nur spekuliert werden, ob das Auftreten an verschiedenen Orten das Ergebnis unabhängiger Selektion oder die Verschleppung infizierten Bodens ist.

Analyse der Variabilität der pathogenitätsbestimmenden P25-Tetrade des Beet necrotic yellow vein virus mittels deep sequencing

Bornemann, Kathrin¹, Varrelmann, Mark¹

¹Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen

BNYVV in Zuckerrüben wird durch den Anbau von Genotypen mit *Rz1* Resistenzeigenschaften kontrolliert, welche die Virusreplikation und Ausbreitung reduzieren und eine Symptomtoleranz vermitteln. In unterschiedlichen geografischen Regionen treten nun erneut Rizomania-Symptome verursacht durch Isolate

mit *Rz1*-überwindenden (RÜ) Eigenschaften auf. Die Pathogenität des BNYVV und die Fähigkeit Symptome in Zuckerrüben zu erzeugen, hängt von dem RNA3 kodierten P25 ab. P25 besitzt eine hypervariable Aminosäuretetrade (Pos. 67-70), deren Zusammensetzung die *Rz1* RÜ-Eigenschaften bestimmt. In Isolaten mit einer RNA5 bestimmt wahrscheinlich zusätzlich das P26 die Virusaggressivität. Naheliegend ist, dass P25 Mutationen durch den pflanzlichen Genotyp selektiert werden; der experimentelle Beweis fehlt jedoch. Die Hypothese eines Fitnessverlustes von RÜ-Isolaten führte zur Anlage von BNYVV Ko-Infektionsexperimenten verschiedener Isolate an anfälligen und resistenten Zuckerrüben genotypen. Als Inokulum dienten BNYVV-infizierte Seitenwurzeln. BNYVV A- und B-Typ aus Italien und Deutschland wurden als Referenzisolate normaler Aggressivität eingesetzt. RÜ-Isolate waren ein französischer P-Typ mit einer zusätzlichen RNA5, und zwei A-Typ Isolate aus den USA und NL mit 4 RNAs und einer abweichenden P25 Tetradenzusammensetzung. Die Isolate wurden in Kombination für die Infektion eingesetzt. Fünf Pflanzen jeder Behandlung wurden nach BNYVV Quantifizierung zum „deep sequencing“ eines 450 bp Abschnittes des P25 Gens mittels „Roche GS FLX Titanium series chemistry“ eingesetzt. Von jeder Behandlung wurden zwischen ca. 9.000-16.000 Sequenzen erhalten. Der BNYVV A-Typ zeigte eine weitaus größere Tradenvariabilität als der B-Typ und enthielt zu 11,7% Varianten mit einer RÜ-Tetrade (VCHG). In Ko-Infektion von A und B dominierte der B-Typ. In resistenten Pflanzen akkumulierte die VCHG-Tetrade, führte jedoch nicht zu erhöhten Virusgehalten. RÜ-Isolate mit vier RNAs zeigten nur äußerst geringe Variabilität der Tetrade. In Ko-Infektionen verschiedener Kombinationen von Isolaten unterschiedlicher Aggressivität dominierte in *Rz1* Pflanzen erwartungsgemäß immer die aggressivere P25 Variante, nicht jedoch in anfälligen Pflanzen, wo immer die weniger aggressivere Mutante in höherer Kopienzahl vorlag. Dieser Zusammenhang wurde nicht beobachtet, wenn das RNA5 enthaltene RÜ-Isolat in Kombination mit A- oder B-Typ eingesetzt wurde. Hier wurde keine Konkurrenz verschiedener P25 Varianten beobachtet. Die Beobachtungen unterstützen bisherige Ergebnisse, dass bestimmte Mutationen der P25 Tetrade für *Rz1*-Überwindung verantwortlich sind, die wiederum einen Fitnessverlust in anfälligen Genotypen verursachen. Der beobachtete Fitnessverlust stärkt die Hypothese für eine Selektion der aggressiveren Isolate durch *Rz1*. Dies lässt darauf schließen, dass Isolate unterschiedlicher P25 Varianten untereinander in Konkurrenz stehen. Weiterhin unterstützen die Ergebnisse die Hinweise für die Beteiligung von P26 an erhöhter Aggressivität in RNA5 Isolaten. Der BNYVV B-Typ scheint einen Selektionsvorteil gegenüber dem A-Typ zu besitzen. Die Vermutung, dass sich alle RÜ-Isolate mit vier RNA-Komponenten aus dem A-Typ entwickelt haben, wird durch die Ergebnisse ebenfalls bestätigt.

Beeinflusst die Interaktion des Beet necrotic yellow vein virus P25 mit einem Auxin responsiven Transkriptionsrepressor die Symptomausprägung der Rizomania?

Thiel, Heike¹, Varrelmann, Mark¹

¹Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen

Zuckerrüben reagieren auf eine BNYVV Infektion mit erhöhten Auxingehalten, dessen Wirkung eine mögliche Ursache für die vermehrte Seitenwurzelbildung sein könnte. Der RNA3 kodierte Pathogenitätsfaktor P25 des BNYVV ist für die Symptomausprägung, Ertragseinbußen sowie Translokalisierung des Virus im Wurzelsystem verantwortlich; die genaue zelluläre Funktion des Proteins ist jedoch ungeklärt. In einem „Yeast-two hybrid“ (YTH) Screening wurde ein Auxin responsiver Transkriptionsrepressor (Bv-IAA) als Interaktionspartner des P25 des BNYVV identifiziert und für eine funktionelle Charakterisierung ausgewählt. Zunächst wurde die Bv-IAA-P25 Interaktion *in planta* mittels "Bimolecular fluorescence complementation" und *in vivo* mittels "GST-pull down" bestätigt. Bv-IAA konnte erfolgreich aus zwei BNYVV resistenten und einem anfälligen Genotypen mittels RT-PCR gewonnen und die Interaktion mit P25 bestätigt werden. Im Rahmen von Agrobacterium vermittelter Expression, basierend auf N- bzw. C-terminal fluoreszenzmarkierten Fusionsproteinen, wurden der Bv-IAA Kandidat alleine und in Ko-Expression mit P25 auf subzelluläre Lokalisation in *N. benthamiana* Epidermiszellen überprüft. Bei alleiniger Agroexpression lokalisiert Bv-IAA erwartungsgemäß ausschließlich im Zellkern. P25 wurde sowohl im Cytoplasma, wie auch im Zellkern detektiert. Bei Ko-Expression beider Gene fand eine Re-Lokalisierung des Bv-IAA aus dem Nukleus ins Cytoplasma statt. Da kein Polymorphismus zwischen Allelen in BNYVV resistenten und anfälligen Genotypen für Bv-IAA identifiziert wurde, wird vermutet, dass es sich bei der Wechselwirkung nicht um eine Resistenzinteraktion handelt. Zusätzlich wurde eine Mutante des P25 mit einem Defekt im Kernlokalisierungssignal für die Ko-Lokalisation mit Bv-IAA eingesetzt. Die P25-Mutante konnte aufgrund des Defekts nicht mehr in den Zellkern diffundieren und somit fand die Re-Lokalisierung des Bv-IAA nicht mehr statt. mRNA „Northern“ Expressionsanalysen in Abhängigkeit der BNYVV Infektion zeigten, dass *Bv-iaa* Transkripte in Wurzelgewebe in infizierten Pflanzen (unabhängig vom Genotyp) vermehrt auftreten, d.h. die *Bv-iaa* Expression ist resistenzunabhängig aber virusinduzierbar. Die spezifischen

Funktionen von Auxin responsiven Genen, neben ihrer allgemeinen Beteiligung an Wachstum und Zelldifferenzierung in Pflanzen, sind bisher ebenfalls ungeklärt. Derzeit werden Studien zur Messung der Auxingehalte in Abhängigkeit des Genotyps und der BNYVV Infektion vorgenommen. Schlussendlich wird angenommen, dass die Interaktion des P25 mit Bv-IAA Teil der viralen Aggressivität ist und über diese die vermehrte Seitenwurzelbildung und in Folge der Rizomania typische Wurzelbart induziert wird.

Das Gerstengelbmosaik in Deutschland - 35 Jahre nach dem Erstnachweis

Kühne, Thomas¹, Rabenstein, Frank¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

Es wird ein zusammenfassender Überblick über die Erforschung der Gelbmosaikvirose der Wintergerste in Deutschland gegeben, ausgehend vom Erstnachweis der beiden hierfür verantwortlichen Pathogene *Barley yellow mosaic virus* (BaYMV) und *Barley mild mosaic virus* (BaMMV) Ende der 1970er Jahre bis zu den aktuellen Forschungsaktivitäten und den erreichten Stand in der Resistenzzüchtung.

Die Kombination eines neuen Umbravirus, einer neuen Satelliten RNA und des Potato leaf roll virus verursacht die tobacco bushy top Krankheit in Äthiopien

Abraham, Adane D.¹, Menzel, Wulf², Bekele, Berhanu¹, Winter, Stephan²

¹Ethiopian Institute of Agricultural Research, P.O.Box 2003, Addis Ababa, Ethiopia

²Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig, Germany

In den letzten Jahren trat im Tabakanbau in Äthiopien eine neue, vermutlich auf Viren zurückzuführende Krankheit auf, die durch starke Stauchung und Blattrollen zu erheblichen Ertragsverlusten führt. Die Symptome ähneln denen der in vielen Ländern Afrikas und Asiens als 'tobacco bushy top disease' beschriebenen Krankheit. In China wurden kürzlich ein Umbravirus (Tobacco bushy top virus, TBTV), ein Polerovirus (Tobacco vein distorting virus, TVDV) und eine Satelliten RNA identifiziert, die als Viruskomplex vermutlich die Krankheit verursachen. Hierbei fungiert das Polerovirus als Helfervirus für die Übertragung durch Aphiden. Nachdem Versuche mit spezifischen Primern die beiden Viren TBTV und TVDV in den Proben aus Äthiopien nachzuweisen scheiterten konnten über dsRNA Extraktion und random RT-PCR die vollständigen Genome eines bisher unbekanntes Umbravirus und einer neuen Satelliten RNA ermittelt werden. Das von uns als Ethiopian tobacco bushy top virus (ETBTV) bezeichnete Umbravirus zeigt mit 70,6% die höchste Nukleotidsequenzidentität zum Groundnut rosette virus, gefolgt von 59,3% zum TBTV Isolat aus China. Die 521 Nukleotide grosse Satelliten RNA zeigt keine signifikanten Sequenzähnlichkeiten zu Genbankeinträgen und es konnten keine vermeintlichen ORFs identifiziert werden. Darüber hinaus konnte als einziges Polerovirus das Potato leaf roll virus (PLRV) in allen Äthiopischen Proben nachgewiesen werden. Mit der Blattlausart *Myzus persicae* 'nicotianae' konnte eine Übertragung des Viruskomplexes und die Funktion des PLRV als Helfervirus für das Umbravirus und die Satelliten RNA gezeigt werden. Eine in der Genbank verfügbare Teilsequenz eines Umbravirus Isolates aus einer 'tobacco bushy top' Probe aus Zimbabwe zeigt 94,5% Sequenzidentität zum ETBTV und gehört somit vermutlich zur gleichen Virusspezies. Die Ergebnisse zeigen, dass die 'tobacco bushy top' Krankheit in Afrika durch einen anderen Viruskomplex hervorgerufen wird als in China.

Untersuchungen zum Virusnachweis von drei latenten Apfelviren über das Jahr und die Sequenzvariabilität von Apple stem pitting virus

Anja Arntjen¹, Wilhelm Jelkmann¹

¹Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau Schwabenheimer Str. 101 69221 Dossenheim

Im kommerziellen Apfelanbau entstehen durch latente Infektionen mit RNA Viren Ertragseinbußen um bis zu 60%. *Apple stem pitting virus* (ASPV), *Apple stem grooving virus* (ASGV) und *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) gehören zu den weit verbreitetsten latenten Apfelviren. Sie zeichnen sich durch eine hohe Variabilität und damit verbunden einem großen Symptom- und Wirtsspektrum aus. Die Sequenzen von zwei ASPV-Isolaten wurden ermittelt und mit dem ASPV Isolat PA 66 verglichen. Es ergibt sich eine Sequenzidentität

zwischen den verschiedenen Isolaten von 74 – 80%. Des Weiteren wurde das Hüllprotein der drei Isolate mit Sequenzen aus dem Internet verglichen und daraus ein Stammbaum erstellt. Für das ASPV Isolat PB 66 wurde über ein Jahr die Virusnachweisbarkeit in drei Geweben von 4 verschiedenen Apfelsorten mittels PCR ermittelt, dabei konnte festgestellt werden, dass man PB 66 zu jeder Jahreszeit im Gewebe nachweisen kann. In einem weiteren Versuch wurden 68 Apfelbäume mit Einfach-, Zweifach- und Dreifachinfektionen mit den Isolaten ASPV PB 66, ASPV Bologna, ACLSV Uhl, ACLSV P203 und ASGV Gambach durch Okulation infiziert und in den drei darauffolgenden Jahren mittels PCR auf diese Apfelviren getestet.

Genomveränderungen des Tobacco rattle virus in einer Hosta-Hybride und anderen systemisch infizierten Pflanzen: Reassortierungen, Rekombinationen und Deletionen von nicht mehr benötigten Genomabschnitten

Koenig, Renate, Lesemann, D.-E.

JKI, Institut EP, Messeweg 11, 38104 Braunschweig. Deutschland

In einer Hosta-Hybride, die starke Mosaik-Symptome zeigte, wurde ein rekombinantes Tobacco rattle virus (TRV) identifiziert. Seine RNA 1 (TRV-Ho-1) zeigt mehr als 99% Sequenz-Identität mit einer kürzlich von uns in *Alströmeria* charakterisierten TRV RNA 1 (TRV-AI-1). Von den übrigen bisher beschriebenen TRV RNA 1 Molekülen unterscheiden sich TRV-Ho-1 und TRV-AI-1 in ca. 7 - 9% ihrer Nukleotide. Trotz ihrer großen Ähnlichkeit sind TRV-Ho-1 und TRV-AI-1 in *Hosta* und *Alströmeria* mit sehr unterschiedlichen TRV RNA 2 Molekülen assoziiert. In *Hosta* wurden zwei TRV RNA 2 Spezies festgestellt: TRV-Ho-2a und TRV-Ho-2b. Die ganzlängige TRV-Ho-2a zeigt 99% Sequenz-Identität mit der in England aus einem Nematoden isolierten TRV TpO1 RNA 2, aber nur 52% Sequenz-Identität mit der in *Alströmeria* identifizierte ganzlängigen TRV-AI-2a. TRV-Ho-2a und TRV TpO1 RNA 2 besitzen ein zusätzliches Gen für ein 9K Protein, das in TRV-AI-2a und den meisten anderen bisher beschriebenen TRV RNA 2 Molekülen fehlt. Sowohl bei TRV-Ho-2a als auch bei TRV-AI-2a ist das in allen TRV RNA 2 Molekülen vorhandene RNA 1-verwandte 3' Ende deutlich verschieden von dem der unterstützenden TRV-Ho-1 bzw. TRV-AI-1. TRV-Ho-2b ist eine Deletions/Rekombinations-Mutante, in der ein großer Teil der RNA-2-spezifischen Sequenz stromabwärts vom Hüllprotein-Gen verloren gegangen ist. Wahrscheinlich sind diese Sequenzbereiche, die für die Nematoden-Übertragbarkeit des TRV notwendig sind, eliminiert worden, weil sie in der systemischen infizierten, perennierenden Hosta nicht mehr benötigt werden. Ähnlich wie bei den kürzeren Formen der TRV-AI RNA 2, hat TRV-Ho-2b durch Rekombination ein neues und längeres RNA 1-verwandtes 3' Ende erhalten, das von der in Hosta vorhandenen TRV-Ho-1 stammt und auch einen Teil von deren kodierenden Sequenz enthält. Eine Genbank-Abfrage ergab, dass TRV-Ho-2a und TRV-AI-2a sich in anderen Wirten (Kartoffeln, Tulpen) auch mit anderen TRV RNA 1 Molekülen assoziieren und mit ihnen Deletions/Rekombinations Mutanten liefern können. Die mögliche Bedeutung dieser Beobachtungen für das TRV wird diskutiert.

Self-interaction of Abutilon mosaic virus replication initiator protein (rep) in plant cell nuclei

Krenz, Björn¹, Neugart, Felix², Kleinow, Tatjana¹, Jeske, Holger¹

¹Universität Stuttgart, Institute of Biology, Dpt. of Molecular Biology and Plant Virology, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart, Germany

²Universität Stuttgart, Institute of Cell Biology, Allmandring 30, D-70550 Stuttgart, Germany

Geminiviruses replicate their circular single-stranded DNA genome in nuclei of infected plant cells. Their replication initiator proteins (Rep) possess interaction domains for homo- and hetero-oligomerization as shown previously by in vitro studies and yeast two hybrid assays. Here, homo-oligomerization and cellular localization of the Abutilon mosaic virus (AbMV) Rep was analyzed with bimolecular fluorescence complementation (BiFC) in epidermal tissues of *Nicotiana benthamiana*. BiFC revealed that Rep oligomers accumulated within the nucleoplasm, but were excluded from nucleoli as indicated by a nucleoli/cajal body marker. A similar subcellular distribution was observed for Rep fused to full-length cyan fluorescent protein. To examine whether tagged Reps were functionally active, *N. benthamiana* plants transgenic for a dimeric AbMV DNA B were inoculated with the BiFC expression constructs and nucleic acids were analysed by rolling circle amplification / restriction fragment length polymorphism as well as Southern blot hybridization. The results confirmed that the modified AbMV Rep was able to transreplicate DNA B.

Abstracts der Vorträge „Aus der Praxis, für die Praxis“

Analysen des Virusbefalls bei Spargel in Anbaubetrieben und Versuchsanlagen Sachsen-Anhalts

Krämer, Reiner¹, Nothnagel, Thomas¹, Schreyer, Lutz², Rabenstein, Frank³, Schliephake, Edgar⁴

¹06484 Quedlinburg, JKI Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und Obst

²06484 Quedlinburg, Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau (LLFG), Sachsen-Anhalt

³06484 Quedlinburg, JKI Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

⁴06484 Quedlinburg, JKI Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz

Spargel (*Asparagus officinalis* L.) kann als langjährig zu erntende Dauerkultur von unterschiedlichen Viren befallen werden. Mit dem Virusbefall in Zusammenhang gebracht werden Stangenverbräunungen ('Berostung'), eine erhöhte Anfälligkeit gegen *Fusarium* spp. sowie Wachstumsdepressionen und frühzeitiges Absterben ('*Asparagus decline*'). Für eine Erhebung des Virusbefalls in Spargelkulturen Sachsen-Anhalts wurden in den Jahren 2009 und 2010 Spargelstangen aus Anbaubetrieben untersucht. Zur Beurteilung des Befallsstatus und der Virusepidemiologie wurden Proben aus neu angelegten Spargelversuchsanlagen des JKI Quedlinburg und der LLFG Dittfurt analysiert. Dabei wurden aus den Anbaubetrieben Spargelstangenproben kommerzieller Sorten entnommen, aus den Versuchsanlagen aber die Phyllokladien von Kultursorten und Wildformen beprobt und auf folgende Viren im ELISA getestet: Asparagus virus 1 (AV-1), Asparagus virus 2 (AV-2), Cucumber mosaic virus (CMV), Arabis mosaic virus (ArMV) sowie das Tobacco streak virus (TSV). Aus insgesamt 14 Anbaubetrieben Sachsen-Anhalts wurden 429 Spargelstangen auf Virusbefall getestet. In 398 (92,8 %) Stangen konnte das AV-1, in 137 (31,9 %) das AV-2 und in 363 (84,6 %) das CMV nachgewiesen werden. Das ArMV war in 15 (3,5 %) Stangen nachweisbar, das TSV hingegen in keiner Probe. Der Befall mit AV-1 lag in 12 Betrieben zwischen 90 und 100% und nur in zwei unter 80 %. Beim CMV lag der Befall in 11 Betrieben zwischen 80 und 100 % und in drei darunter. Im Gegensatz zum AV-1 und CMV kommt das AV-2 bisher nicht in allen Anbaubetrieben vor. Das AV-2 trat ausschließlich in Mischinfektionen mit dem AV-1 und/oder CMV auf. Ein Zweifachbefall (AV-1, CMV) konnte in 208 (48,5 %) Stangen und ein Dreifachbefall (AV-1, AV-2, CMV) in 114 (26,6 %) Stangen nachgewiesen werden. Bezüglich der Anfälligkeit gegen das AV-1, das AV-2 sowie das CMV konnten keine Sortenunterschiede festgestellt werden. In den 2008 angelegten Spargelversuchsanlagen konnten das AV-1, das AV-2, das CMV sowie vereinzelt auch das TSV nachgewiesen werden. Das ArMV war nicht detektierbar. Die Infektionsraten für das AV-2 lagen an beiden Standorten vergleichbar zwischen 1,3 und 18,8 %. Die für das CMV ähnlich zwischen 3,8 und 13,8 %. Überraschend hoch war hingegen der Befall mit dem AV-1. Schon im zweiten Standjahr 2009 war das AV-1 bereits in 73,8 % (Quedlinburg) bzw. in 92,5 % aller Proben (Dittfurt) nachweisbar. Nach einem weiteren Standjahr (2010) stiegen die Infektionsraten der Kultursorten an beiden Standorten auf nahezu 100 %. Anfälligkeitsunterschiede gegen das AV-1 zeichneten sich ausschließlich zwischen den Kultursorten und einer Wildform ab. Die potentielle Nutzung dieser Wildform als Resistenzquelle wäre die Grundlage für neue züchtungsmethodische Ansätze zur Verbesserung der AV-1 Resistenz. Mit der Entwicklung einer Resistenzprüfmethode gegen das AV-1 wurde begonnen. Durch mechanische Inokulationsmethoden sowie durch Aphidenübertragung wurden bislang Infektionsraten bis zu 40 % erreicht. Langfristiges Ziel ist es, die Resistenz gegen das AV-1 im Kulturspargel zu etablieren.

Vorkommen und Nachweis bodenbürtiger Viren an Roggen und Weizen im Bundesland Schleswig-Holstein

Golecki, Bettina¹, Wunderlich, Monika¹, Opitz, Sigrid²

¹Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Standort Kiel, Westring 383, 24118 Kiel

²Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, Standort Heide, Waldschlösschenstraße 47, 25746 Heide

Kurzvortrag für die Rubrik "Aus der Praxis, für die Praxis" über das Vorkommen und den Nachweis bodenbürtiger Viren an Roggen und Weizen auf verschiedenen Standorten im Bundesland Schleswig-Holstein. Vorkommen und Nachweis bodenbürtiger Viren insbesondere auf leichteren Standorten in verschiedenen Regionen Schleswig-Holsteins ELISA- und RT-PCR-Verfahren wurden für den Nachweis im Labor verwendet. Ein Nachweis bodenbürtiger Viren gelang insbesondere auf leichteren Standorten in verschiedenen Regionen Schleswig-Holsteins.

Erprobung des Virus Counters (InDevR) mit Pflanzenviren

Menzel, Wulf¹

¹Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig

Der von der Firma InDevR für die Quantifizierung von Viren angebotene Virus Counter wurde auf die Einsetzbarkeit für Pflanzenviren getestet. Dabei wurden verschiedene Verdünnungen von Reinigungen der Viren Bean yellow mosaic virus (Potyvirus), Tobacco mosaic virus (Tobamovirus) und Tomato yellow leaf curl virus (Begomovirus) eingesetzt. Die Ergebnisse waren nicht schlüssig, vermutlich weil die Mindestanforderungen an Genomgröße und/oder Partikelgröße nicht erfüllt wurden.

Abstracts der Poster

Interaction studies of the Cherry leaf roll virus (CLRV)-encoded movement and coat protein

Dierker, Luise¹, von Barga, Susanne¹, Büttner, Carmen¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin

Cherry leaf roll virus (CLRV) is a worldwide distributed *Nepovirus* (family *Secoviridae*) that infects a wide range of herbaceous and woody plants. The virus is transmitted by seed and pollen. Systemic infection of a host plant including reproductive organs by the virus is achieved by cell to cell movement via plasmodesmata and long-distance transport through the vascular system. Members of the family *Secoviridae* are transported as virions, thus requiring the coat protein (CP). Further, the viral movement protein (MP) inducing tubular structures by multimerization within plasmodesmata is necessary for passage of virus particles to adjacent cells. In case of CLRV, virus-like particles (VLPs) have been observed within tubules in anther cells and in pollen grains of virus-infected birch and walnut (Massalski and Cooper, 1984). However, the underlying interactions of CLRV-CP and MP involved in cell to cell movement and gametophyte infection are not understood at the molecular level. The yeast two-hybrid system (YTHS) was applied to investigate dimerization of the CLRV-movement protein (385 aa, 42 kDa) and its interaction with the viral coat protein (512 aa, 54 kDa). Additionally, the YTHS was used to examine specific binding of the CLRV-encoded proteins to a plant protein (At-4/1) facilitating intra- and intercellular trafficking (Paape, et al., 2006), which has been shown to interact with the tubuli-forming MP (NSm) of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV).

Massalski, PR, Cooper, JI, 1984. *Plant Pathology* 33, 255-262

Paape, M, Solovyev, AG, Erokhina, TN, Minina, EA, Schepetilnikov, AV, Lesemann, D-E, Schiemann, J, Morozov, SY, Kellmann, J-W, 2006. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19, 874-883

Infection and recovery rates between a mild and a virulent isolate of arabis mosaic nepovirus in *Nicotiana benthamiana*

Dupuis, Laurence¹, Dunoyer, Patrice², Bassler, Alexandra¹, Keller, Mario², Hell, Rüdiger³, Wetzler, Thierry¹

¹RLP Agrosience, AIPlanta Institute for Plant Research, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstrasse, Germany

²CNRS-IBMP, 12 rue du General Zimmer, 67084 Strasbourg Cedex, France

³Heidelberg Institute for Plant Science, Im Neuenheimer Feld 360, 69120 Heidelberg, Germany

Arabis mosaic virus is a member of the nepovirus genus, family *Secoviridae*. Nepoviruses have been shown to induce in infected plants a phenomenon called "recovery", which is characterised by an initial symptomatic infection followed by symptom attenuation or elimination in the newly emerging leaves. These upper leaves are resistant to a secondary infection with the same virus. A mild isolate (NW) and a virulent isolate (Lv) of ArMV were mechanically inoculated onto *Nicotiana benthamiana*, and their respective rates of infection and recovery monitored. While ArMV-NW systemically infected *N. benthamiana* without inducing symptoms,

ArMV-Lv induced the formation of a mosaic/mottling on the first emerging leaves, the following ones being symptomless. The monitoring of the concentrations of the viral genomic RNAs and viral-derived siRNAs for both isolates during time course experiments showed two different rates of establishment of infection, while the recovery took place at a similar time for both isolates. For ArMV-Lv, the times with the highest concentrations of genomic RNAs coincided with the times when symptoms were present on the plants. For both isolates, viral genomic RNAs were still detectable in recovered leaves, but at very low concentrations. After the recovery was established, the upper leaves were resistant to a secondary infection with the same virus, the viral genomic RNAs remaining at a low concentration in the plants.

Molekulare und serologische Charakterisierung eines Bromovirus aus *Impatiens* und Identifizierung als Isolat des *Bacopa chlorosis virus*

Menzel, Wulf¹, Hamacher, Joachim², Weissbrodt, Sandra², Winter, Stephan¹

¹Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig

²Department of Phytomedicine, Institute of Crop Science and Resource Conservation, Nußallee 9, 53115 Bonn

Im Jahr 2006 traten an *Impatiens walleriana* und *I. hawkeri* Sorten starke Chlorosen an älteren Blättern und rot-violette Randfärbungen jüngerer Blätter in einem Gartenbaubetrieb in Rheinland Pfalz auf. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten isometrische Partikel (30 nm) die denen von Bromoviren ähnelten. Das Virus konnte erfolgreich mechanisch auf eine Vielzahl von bedeutenden Zierpflanzen übertragen werden (*Impatiens*, *Bacopa*, Petunien, *Verbenen*, *Rudbeckien*), auf denen es zur Ausbildung von Chlorosen und/oder chlorotischen Linienmustern führte. Die vollständige Sequenz der RNA 3 des vermeintlichen Bromovirus wurde ermittelt. Diese zeigte eine Sequenzidentität von 98% zu einer in der Genbank verfügbaren Teilsequenz eines bisher nur in den USA an *Bacopa* beschriebenen Ilarvirus, dem *Bacopa chlorosis virus* (BaCV), wodurch es als ein Isolat des BaCV identifiziert werden konnte. Zur Herstellung eines polyklonalen Antiserums wurde nach erfolglosen Reinigungsversuchen das Hüllprotein des BaCV in *E. coli* exprimiert. Die aus einem immunisierten Kaninchen gewonnenen IgGs können erfolgreich im DAS-ELISA zum Nachweis des BaCV eingesetzt werden, erwies sich für immunelektronenmikroskopische Untersuchungen jedoch als unbrauchbar. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die erkannten Epitope nicht auf der Oberfläche der intakten Virionen zugänglich sind. Die Antikörper zeigten im DAS-ELISA keine Kreuzreaktionen mit einem breiten Spektrum anderer Bromoviren. Aufgrund der erstmals ermittelten Hüllproteinsequenz eines BaCV Isolates kann das Virus den Subgroup 1 Ilarviren zugeordnet werden. Dies ist der erste Nachweis des BaCV in Europa und ausserhalb der USA. Das natürliche Auftreten in *I. walleriana* und *I. hawkeri* Sorten sowie der ermittelte Zierpflanzenwirtskreis zeigen, welche potenzielle Gefahr das Virus für den Zierpflanzenbau darstellt.

Biologische Differenzierung bodenbürtiger Viren an Zuckerrübe

Kastirr, Ute¹, Fomitcheva, Vktoria¹, Schechert, Axel², Holtschulte, Bernd³, Uphoff, Hubert⁴

¹Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathodiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

²Strube Research GmbH & Co. KG, Hauptstraße 1, 38387 Söllingen

³KWS SAAT AG, Grimsehlstr. 31, 37555 Einbeck

⁴Syngenta Seeds GmbH, Scheuermühl Straße 1, 93098 Mintraching

In Deutschland sind etwa zwei Drittel der Zuckerrübenanbauflächen mit bodenbürtigen Viren kontaminiert. Besonders verbreitet sind das Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), das Beet soil-borne virus (BSBV) und das Beet virus Q (BVQ). Diese Viren werden durch den Bodenpilz *Polymyxa betae* Kesk. übertragen und treten häufig vergemeinschaftet auf. Die Virusisolation erfolgt durch mechanische Übertragung von Faserwurzelmazeraten, die bei Zuckerrübe Virusgemische enthalten können, auf unterschiedliche Indikatorpflanzen. Die Virusreinigung und die Charakterisierung von Wechselwirkungen zwischen den Krankheitserregern erfordert deren separate Isolation und Vermehrung. Deshalb wurde eine Isolationsmethode für die Trennung der Pathogene über Indikatorpflanzen entwickelt. Dieses Protokoll schließt die Virusisolation zu verschiedenen Zeiten der Krankheitsausbreitung aus dem Hypokotyl und aus Wurzeln der Fangpflanzen ein. Nach der Virusgewinnung aus der Wirtspflanze erfolgt eine Übertragung der Isolate auf *Chenopodium quinoa*. Auf dieser Indikatorpflanze wird das BVQ durch seine systemische Ausbreitung in nachwachsende Blätter separiert, während die anderen Viren auf den inokulierten Blättern

lokal bleiben. Auf *Ch. rubrum* lassen sich das BNYVV und Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV) durch ihren Transport in nachwachsende Blätter von weiteren bodenbürtigen Viren trennen. Außerdem wurde die Abhängigkeit der Symptomentwicklung von der Temperatur geprüft. Die etablierte Isolationsmethode ermöglicht eine Trennung einzelner bodenbürtiger Zuckerrübenviren aus Infektionsgemischen.

Entwicklung diagnostischer Verfahren für die molekularbiologische und serologische Analyse des Pathogenspektrums bodenbürtiger Zuckerrübenviren und deren Vektoren

Fomitcheva, Viktoria¹, Kastirr, Ute¹, Schechert, Axel², Holtschulte, Bernd³, Uphoff, Hubert⁴

¹Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

²Strube Research GmbH & Co. KG, Hauptstraße 1, 38387 Söllingen

³KWS SAAT AG, Grimsehlstr. 31, 37555 Einbeck

⁴Syngenta Seeds GmbH, Scheuermühl Straße 1, 93098 Mintraching

Das Spektrum der an bodenbürtigen Zuckerrübenvirosen beteiligten Pathogene kann sehr komplex sein. Es schließt zum einen Beny-, Pomo- und Necroviren und zum anderen deren pilzliche Vektoren der Gattungen *Polymyxa* und *Ospidium* ein. In Deutschland wurden bisher 3 bodenbürtige Viren (Beet necrotic yellow vein virus -BNYVV, Beet soil borne virus -BSBV, Beet virus Q -BVQ) nachgewiesen, die durch *Polymyxa betae* übertragen werden. Um diesen Erregerkomplex detailliert differenzieren zu können, war die Etablierung spezifischer diagnostischer Methoden erforderlich. Die in Europa bisher nicht nachgewiesenen Viren Beet black scorch virus -BBSV und Beet soil borne mosaic virus -BSBMV wurden in die Testentwicklung einbezogen. Es wurden PCR-gestützte Methoden sowohl zum Einzel- als auch zum Simultannachweis der Viren in Form der kostensparenden Multiplex RT-PCR (Triplex-RT-PCR für BNYVV, BVQ und BSBV und Duplex- RT-PCR für BBSV und BSBMV) erstellt. Ebenso wurden spezifische Primer für den PCR-Nachweis der Vektoren *Polymyxa betae* und *Ospidium brassicae* abgeleitet. Für die serologische Differenzierung wurden fünf hochspezifische polyklonale IgG's gegen rekombinante virale Hüllproteine des BVQ, BSBV und BSBMV gewonnen und deren Eignung im spezifischen Virusnachweis mittels Western Blot festgestellt. Weiterhin wurden fünf virusspezifische synthetische Antikörper (scFv) aus 2 Phagenbibliotheken selektiert. Mit der Entwicklung dieser Testverfahren wurde eine methodische Basis für die diagnostische Differenzierung des Pathogenspektrums bodenbürtiger Virose an Zuckerrübe geschaffen.

Untersuchungen zum Pathogenspektrum des Rizomania-Komplexes in deutschen Zuckerrübenanbaugebieten

Fomitcheva, Viktoria¹, Kastirr, Ute¹, Schechert, Axel², Holtschulte, Bernd³, Uphoff, Hubert⁴

¹Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

²Strube Research GmbH & Co. KG, Hauptstraße 1, 38387 Söllingen

³KWS SAAT AG, Grimsehlstr. 31, 37555 Einbeck

⁴Syngenta Seeds GmbH, Scheuermühl Straße 1, 93098 Mintraching

Die Rizomania oder Wurzelbärtigkeit ist weltweit die wichtigste Viruskrankheit der Zuckerrübe. Für die systematische Erfassung der an der Rizomania beteiligten Pathogene wurde im Zeitraum von 2009 bis 2011 ein Diagnoseverfahren etabliert, welches den Fangpflanzentest und molekularbiologische Nachweismethoden verbindet. Erdproben von 37 Anbaugebieten wurden nach Einsaat von 11 Genotypen mit unterschiedlicher BNYVV-Resistenz (Fangpflanzen) unter Klimakammerbedingungen inkubiert. Einflussfaktoren wie die notwendige Kulturdauer für den Virusnachweis, die Eignung unterschiedlicher Genotypen und die Nachweisreproduzierbarkeit in verschiedenen Erdproben einer Anbaufläche wurden untersucht. Nach 3-wöchiger Inkubationsdauer erfolgte die Analyse von Faserwurzeln der Fangpflanzen mittels Multiplex RT-PCR. Die Untersuchungen zeigten deutliche Unterschiede in der Verteilung des Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), Beet soil-borne virus (BSBV) und Beet virus Q (BVQ) im Virusspektrum und im Befallsgrad gleicher Genotypen in unterschiedlichen Böden. Die Diversität des Pathogenitätsfaktors P25 von BNYVV- B-Typ-Isolaten der diagnostizierten Flächen wurde bestimmt und unterschiedliche Tetraden differenziert. Das etablierte Diagnoseverfahren ermöglicht eine effektive Untersuchung des Virusvorkommens in Bodenproben von Zuckerrübenanbauflächen.

Monitoring der Verzweigungsviren BYDV und WDV in Getreidepflanzen und ihren Vektoren

Gund, Nadine A.¹, Eisenbraun, Daniel¹, Zellner, Michael², Benker, Ullrich³, Weigand, Stephan⁴, Seigner, Luitgardis⁵

¹Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, IPS 2c, Virologie, Lange Point 10, 85354 Freising, Deutschland

BYDV (Barley yellow dwarf virus) und WDV (Wheat dwarf virus) sind weit verbreitete Viren, die Getreidepflanzen befallen und massiv schädigen können. BYDV ist ein einzelsträngiges RNA-Virus, das zu den Luteoviren gehört. Die verschiedenen BYDV-Serotypen werden von bestimmten Blattlausarten übertragen und unterscheiden sich in ihrer Virulenz. WDV gehört zur Familie der Geminiviren und ist ein zirkuläres einzelsträngiges DNA-Virus. WDV umfasst einen Weizen- und einen Gerstenstamm. Beide Stämme werden von der Zwergzikadenart *Psammotettix alienus* (Wandersandzirpe) übertragen. Durch einen früheren Aussaattermin des Wintergetreides in der Praxis und durch den sich vollziehenden Klimawandel gab es in den Jahren 2004 und 2007 starke Schäden durch Verzweigungsviren in Deutschland. Durch ein im Herbst und Frühjahr durchgeführtes Monitoring von Virusvektoren, deren Virusbeladung und Virusinfektionen im Ausfallgetreide sowie in Getreidebeständen soll die jeweils aktuelle Befallsituation in ganz Bayern erkannt und bewertet werden. Die Notwendigkeit von Bekämpfungsmaßnahmen soll aus den gewonnenen Ergebnissen und Erfahrungen abgeleitet werden. Die Untersuchungen der Getreideproben erfolgen über ELISA; für die Differenzierung der BYDV-Stämme werden Serotyp-spezifische Antikörper verwendet. Die Blattlausvektoren werden mit RT-PCR getestet unter Verwendung Luteoviren-spezifischer Primer (Robertson et al. 1991) für den Nachweis von BYDV und stammspezifischer Primer (PAV: Pakdel et al. 2010; MAV: Malmstrom and Shu 2004; RPV: Gund unveröffentlicht) für die Unterscheidung der BYDV-Serotypen. Für den PCR-Nachweis von WDV in Zikaden kommt ein selbst entwickelter Primer zum Einsatz oder Primer, die den Gersten- und Weizenstamm unterscheiden können (Mehner 2005). Die Vektoren werden über Gelbschalen, Kescher, Insektsauger und durch Abpinseln von den Pflanzen gesammelt.

Nachweis von Resistenz gegen bodenbürtige Viren im Roggen

Kastirr, Ute¹, Bauer, Eva², Schmiedchen, Brigitta³, Pitsch, Christof³, Korzun, Viktor³, Wilde, Peer³

¹Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

²Technische Universität München, Center of Life and Food Sciences Weihenstephan, Plant Breeding, Emil-Ramann-Straße 4, D-85354 Freising

³KWS LOCHOW GMBH, Ferdinand-von-Lochow-Straße 5, D-29303 Bergen

Der Roggen besitzt seit langem Bedeutung als Kulturpflanze für die menschliche und tierische Ernährung und seit geraumer Zeit auch als nachwachsender Rohstoff. Der Roggenanbau wird vor allem auf leichten Böden und bei eingeschränkter Fruchtfolge durch folgende bodenbürtige Viren erheblich beeinträchtigt: Furoviren: Soil-borne cereal mosaic virus -SBCMV, Soil-borne wheat mosaic virus -SBWMV, Bymovirus: Wheat spindle streak mosaic virus -WSSMV. In den Befallsgebieten sind Ertragsverluste bis zu 70 % zu verzeichnen. Resistenzen gegen diese Viren sind in den derzeitigen Sorten und im deutschen Zuchtmaterial nicht beobachtet worden. Um entsprechende Virusresistenzen zu finden, erfolgte ein erweitertes Screening unter Einbeziehung von etwa 500 Genbank-Akzessionen der Arten *Secale cereale* L. und *Secale strictum* Presl syn. *S. montanum*. Sie entstammen 48 geografisch verschiedenen Regionen. Die Resistenzprüfung geschah unter kontrollierten Bedingungen (Klimakammer) in infektiöser Erde. 35 vorselektierte Akzessionen und deren Nachkommen, wiesen geringe Virustiter und niedrige Befallsraten auf. Diese Populationen wurden wiederholt in Befallsflächen analysiert. Von fünf einbezogenen Versuchsflächen erwiesen sich zwei mit Mischkontaminationen von SBCMV und WSSMV und jeweils eine Region mit SBCMV-, SBWMV oder WSSMV-Verseuchung. Nach 4-jähriger Individualauslese aus Pärchenkreuzungen konnten Vollgeschwisterfamilien mit erhöhtem Resistenzniveau isoliert werden. Sechs dieser Familien gehen auf eine türkische und eine auf südafrikanische Herkunft zurück. Diese besaßen Resistenz gegen Furo- und Bymoviren. Andere Familien zeigten Resistenz gegen einzelne Viren (WSSMV, SBCMV oder SBWMV). Mit dem Ziel der Nutzung dieser Resistenzdonoren für das Zuchtmaterial wurden zwei resistente Wildformen in Elite-Zuchtmaterial eingekreuzt. Aus diesen Nachkommenschaften konnten drei Populationen mit Resistenz gegen WSSMV und fünf mit Resistenz gegen beide Viren selektiert werden. Darüber hinaus wurden drei weitere Kreuzungspopulationen für eine detailliertere genetische

Charakterisierung erzeugt. Die phänotypische Varianz der Nachkommenschaften F2:3 bis F2:6 wurde mittels semiquantitativem DAS-ELISA an vier Befallsstandorten ermittelt. Dabei wurde die Resistenz gegen bodenbürtige Viren bestätigt. Somit scheint vor allem der anatolische Genpool vielversprechend für das Auffinden neuer Resistenzgene zu sein. Die beobachteten mittleren Heritabilitäten erlauben die züchterische Verbesserung durch Selektion in aktuellem Zuchtmaterial.

Molekulare und serologische Charakterisierung von Dasheen mosaic virus Isolaten aus Aronstabgewächsen, Taro und Amorphophallus

Marion Liebrecht¹, Makesh Kumar Tangaraju², Stephan Winter¹

¹Leibniz-Institut DSMZ, Plant Virus Department, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland

²Central Tuber and Root Crops Institute, CTCRI, Trivandrum, Indien

Taro (*Colocasia esculenta*) und Amorphophallus sind tropische Kulturpflanzen, die besonders in Indien und den pazifischen Inseln bedeutende Grundlage für die Ernährung sind. Die essbaren Knollen sind vor allem reich an Kohlehydraten und werden für die Zubereitung von traditionellen Gerichten und für medizinische Präparate genutzt. Die Pflanzenarten werden vegetativ durch Knollen vermehrt und wo immer auch der Anbau der Pflanzen stattfindet sind deutliche Symptome von Viruskrankheiten zu finden. Das Potyvirus Dasheen mosaic virus (DMV) kommt in jedem Anbauggebiet vor. Deutliche Symptome in Taro (Aderchlorosen) und weniger eindeutige Symptome in Amorphophallus (Mosaik, Blattkräuselung, Fiederblättrigkeit, Zwergwuchs) lassen auf Isolatdiversität bzw. multiple Virusinfektionen schließen. Im Rahmen des EU Projekts INEA wurden Proben von Taro und Amorphophallus aus Indien und Fiji gesammelt und virologisch untersucht. Potyvirussequenzen wurden mit gruppenspezifischer RT-PCR (Chen et al. 2001a) amplifiziert und in der Sequenzanalyse der 1.7kb Fragmente als DMV Isolate identifiziert. Alle DMV Sequenzen zeigten eine sehr deutliche Diversität, die besonders auffallend in den Amino-terminalen Regionen des Hüllproteins zwischen DMV-Taro (DMV-T) und DMV-Amorphophallus (DMV-A) waren. Das vollständige Genom eines DMV-A Isolats (10038 nt ssRNA) wurde rekonstruiert, welches zu 84% identisch mit dem DMV Isolat aus *Zantedeschia aethiopica* ist (Chen et al., 2001b). Antiseren gegen rekombinantes Hüllprotein und gegen DMV-A Viruspräparate wurden hergestellt, die im ELISA Test sehr deutliche Spezifitätsunterschiede zeigten. DMV-T und DMV-A sind sehr diverse Isolate des DMV. DMV-A Infektionen in Amorphophallus sind häufig auch Mischinfektionen verschiedener Isolate, die zu erheblichen Unterschieden in der Symptomausprägung führen. Dagegen sind Infektionsverläufe von DMV-T in Taro eher mild, Symptome sind auch nur in wenigen Blättern zu finden und infizierte Pflanzen erholen sich (fast) ausnahmslos von den Symptomen.

Chen, J. Chen, J. Adams MJ. (2001a). A universal PCR primer to detect members of the Potyviridae and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. Arch. Virol. 146:757-766

Chen, J., Chen, J., Chen, J. and Adams, M.J. (2001b). Molecular characterisation of an isolate of Dasheen mosaic virus from *Zantedeschia aethiopica* in China and comparisons in the genus Potyvirus. Arch. Virol. 146(9):1821-1829

Synergistic interactions in cucumber plants caused by mixed infections of Cucumber vein yellowing virus (*Ipomovirus*) and Zucchini yellow mosaic virus (*Potyvirus*)

Hamed, Khalid¹, Menzel, Wulf², Winter, Stephan³

¹Agricultural Research Corporation, Hudeiba Research Station, P.O. Box 31, Edd-Amer, Sudan

²Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig, Germany

³Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig

In Sudan cucurbits are severely affected by several viruses inducing yellowing and mosaic diseases which limit productivity and reduce quality. A survey conducted in 2009/2010 showed that Cucumber vein yellowing virus (CVYV, *Ipomovirus*) and Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV, *Potyvirus*) were the predominant cucurbit viruses in Sudan. In addition, two criniviruses, Cucurbit chlorotic yellows virus and Cucurbit yellow stunt disorder virus have been found for the first time. Mixed infections of two or more viruses in cucurbits are common under field conditions. Different interactions among viruses are possible, such as synergism, suppression and

combinations of antagonistic and synergistic interactions. Synergistic interactions between viruses might result in more severe symptoms and higher yield losses. Cucumber plants susceptible to CVYV and ZYMV were grown under greenhouse conditions at 25°C and mechanically inoculated with Sudanese isolates of CVYV and ZYMV. Co-infections were done by pre-inoculating plants with CVYV two days before inoculation with ZYMV. Different treatments (single infections of CVYV or ZYMV, CVYV and ZYMV, mock inoculation) were arranged in a randomized complete block design with 3 plants of each treatment and 3 replications. The experiment was performed twice; in spring and summer 2011. Virus accumulation in systemically infected plants was determined by ELISA at 15 dpi, plant height and total fresh weight were determined 6 weeks pi. Cucumber plants singly infected with either CVYV or ZYMV showed a significant reduction of growth and total fresh weight was reduced by about 35% compared to mock inoculated plants. Mixed infections with CVYV and ZYMV resulted in a strong synergistic response reducing plant height and fresh weight by about 75%. The accumulation of ZYMV (DAS-ELISA) and CVYV (TAS-ELISA) was significantly higher in mixed infections. This increase of virus concentration was more pronounced for ZYMV than for CVYV.

Molekulare Charakterisierung von potentiellen dsRNA Viren aus *Trifolium spec.* - Cryptic Virus M ein Amalgam aus *Totiviridae* und *Partitiviridae*

Lesker, Till¹, Maiss, Edgar¹

¹LUH, Inst. Pflanzenkrankheiten, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

Die Analyse von doppelständiger RNA ist eine geeignete Methode um einen potentiellen Virusbefall von Pflanzen nachzuweisen. Neben den klassischen RNA-Viren, welche dsRNA für die Replikation ihres Genoms nutzen, findet man über ein DsRNA-Screening auch dsRNA-Viren welche in Pflanzen weit verbreitet sind ohne ein nachweisbaren Einfluss auf die Pflanze zu haben. Für diese Viren wurden bisher keine Vektoren gefunden und sie scheinen sich ausschließlich über Zellteilung und Pollen/Samen zu verbreiten. Beschriebene Genera sind *Endornavirus* (~15 kbp, Größenklasse L) und *Alpha-/Betacryptovirus* (~2 kbp, Größenklasse S). Bei unseren dsRNA-Analysen wurden weitere Fragmente in einer Größe von ~3,5 kbp (Größenklasse M) beobachtet. Es folgte eine molekulare Charakterisierung dieser Fragmente aus dem Weißklee. Sequenzanalysen zeigten zwei Leserahmen und Motive einer viralen RdRp auf. Größte Ähnlichkeiten zeigten sich zu den bisher nicht eingeordneten Viren wie dem *Vicia Cryptic Virus M* und *Southern Tomato Virus*, welche einen *Totivirus* ähnlichen Genomaufbau mit ribosomalen Frameshift besitzen, jedoch eher eine Verwandtschaft zu den bipartiten Alphacryptoviren aufzeigen.

Molekulare Charakterisierung von 4 neuen RNA Viren aus Trüffeln (*Tuber spec.*)

Menzel, Wulf¹, Stielow, Benjamin², Klenk, Hans-Peter³, Winter, Stephan¹

¹Leibniz Institute-DSMZ, Plant Virus Department, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig

²CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Uppsalalaan 8, A3 3584 CT Utrecht, The Netherlands

³Leibniz Institute-DSMZ, Department of Microorganisms, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig

Eine Vielzahl von Viren mit RNA Genom unterschiedlichster Gattungen und Familien wurde bisher in Pilzen und Oomyceten beschrieben. Dabei wurde aber die umfassende und wichtige Gruppe der Mycorrhizapilze weitestgehend außer Acht gelassen. Zu den Ectomycorrhizen, denen insbesondere in forstlichen Ökosystemen eine große Bedeutung zukommt, gehören auch die als Speisepilze bekannten Schwarzen Sommertrüffel (*Tuber aestivum*) und der Ausgehöhlte Trüffel (*Tuber excavatum*). Im Rahmen einer Arbeit über Ectomycorrhizen wurde dsRNA aus 3 Fruchtkörper der Spezies *T. aestivum*, die in Birken- oder Eichenmischwäldern in Ungarn gesammelt wurden, und einem Fruchtkörper der Spezies *T. excavatum*, aus einem Birkenmischwald in Deutschland, dsRNA isoliert. Die Fruchtkörper wiesen keine Symptome auf, sie wurden zufällig ausgewählt. Die 3 Extrakte aus *T. aestivum* wiesen jeweils eine, verschieden große dsRNA auf, das Extrakt aus *T. excavatum* enthielt zwei unterschiedliche dsRNAs. Die 3 dsRNAs aus *T. aestivum* und eine der dsRNAs aus *T. excavatum* wurden vollständig sequenziert. Sequenzvergleiche mit Genbankeinträgen ergaben, dass es sich um Isolate von bisher unbekannte Virusspezies der Gattungen *Totivirus*, *Endornavirus* und *Mitovirus* (je 1 aus jeder Pilzspezies) handelt. Die ermittelte Teilsequenz der zweiten dsRNA aus *T. excavatum* zeigte, dass es sich vermutlich um ein weiteres neues Endornavirus handelt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung von zufällig ausgewählten, symptomlosen Fruchtkörpern zeigen, dass es vermutlich eine noch nicht zu überblickende Vielfalt an bisher unbekanntem Mycoviren gibt. Über die Bedeutung und den Einfluss der identifizierten Viren auf die Ectomycorrhizen und ihre Symbiose mit den Gehölzen mit denen sie assoziiert sind ist nichts bekannt.

Cannabis Cryptic Virus – ein neues kryptisches Virus aus Hanf (*Cannabis sativa*)

Ziegler, Angelika¹, Matousek, Jaroslav², Steger, Gerhard³, Schubert, Jörg¹

¹JKI Quedlinburg

²Inst. Plant Mol. Biology, Ceske Budejovice, Czech Republic

³Biophysik, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Hanf (*Cannabis sativa*) wurde als Vermehrungswirt für das Hop latent virus, ein Carlavirus, getestet. Bei der Analyse der Viruspräparate im Elektronenmikroskop wurden außer den erwarteten filamentösen Partikeln regelmäßig auch sphärische Partikeln mit einem Durchmesser von rund 34 nm gefunden. Aus Hanfblattmaterial wurde doppelsträngige RNA isoliert. RNA1 und 2 des Cannabis cryptic virus wurden vollständig sequenziert. Die größte Sequenzübereinstimmung wurde mit dem *Primula malacoides* virus 1, einem potentiellen Partitivirus, gefunden.

Structural analysis of ACMV capsomeres

Hipp, Katharina¹, Jeske, Holger¹

¹Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abt. Molekularbiologie

Geminiviruses are small viruses infecting plants and causing losses of economically important crop plants. Geminiviruses are distributed all over the world and possess a characteristic twinned particle structure that is unique among viruses. The virus particle is composed of two incomplete T = 1 icosahedra that are joined at the position of the missing capsomeres. African cassava mosaic virus (ACMV) is the most prevalent pathogen infecting cassava in Africa. ACMV particles were purified from infected *N. benthamiana* plants by differential and density gradient centrifugation. Capsomeres as substructures of the virus particle have been identified after pH treatment of purified particles by electron microscopy of negatively stained and rotary shadowed specimens. Some of the negatively stained capsomeres showed a pentameric outline. Chemical cross-linking with glutaraldehyde as well as size-exclusion chromatography confirmed the presence of pentameric capsomeres. To further analyse the capsomeres, fractions of the density gradient that contain mostly capsomeres and only few twinned virus particles have been selected. Samples were negatively stained with uranyl acetate and analysed by electron microscopy. Images were recorded under low dose conditions with a 2k x 2k CCD camera. The capsomeres are now analysed by single particle image processing using the EMAN2 software package to obtain the fine structures of the ACMV capsomeres.

Markierung des Tabakmosaikvirus mit dem Gen für das Grün-fluoreszierende Protein (GFP)

Rose, Hanna¹, Heinze, Cornelia², Maiss, Edgar¹

¹LUH, Inst. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

²Uni Hamburg, Abt. Phytomedizin, Biozentrum Klein Flottbek, Ohnhorststr. 18, 22609 Hamburg

Das der Gattung *Tobamovirus* zugeordnete Tabakmosaikvirus (TMV) besitzt ein einzelsträngiges (+) RNA-Genom. Um Sequenzbereiche zu determinieren, die einen Einfluss auf den Lang- und Kurzstreckentransport des Virus haben, sollte eine Markierung mit dem Gen für das grün-fluoreszierende Protein (GFP) bei gleichbleibender Fähigkeit zur systemischen Ausbreitung in *Nicotiana benthamiana* erfolgen. Dadurch eröffnet sich die Möglichkeit, generierte Mutanten oder Chimären auf Grund eines eventuell abweichenden Ausbreitungsverhaltens vom Wildtyp zu unterscheiden. Die Expression der Virusproteine von *Tobamoviren* erfolgt über die Bildung und anschließende Translation subgenomischer RNAs. Für die Markierung mit GFP wurde dafür ein Mechanismus genutzt, bei dem das Reporterprotein während der Translation der subgenomischen RNAs des TMV „abgespalten“ wird, wodurch es anschließend getrennt vom Virus vorliegt. Der Einbau des *gfp* erfolgte mittels gerichteter Klonierung, bei der kompatible Restriktionsschnittstellen verwendet wurden. Die Infektion der *Nicotiana benthamiana* Pflanzen wurde durch die Infiltration mit Agrobakterien in Blätter erreicht. Nach kurzer Zeit wiesen die Pflanzen typische systemische Symptome einer TMV-Infektion auf, wie mosaikartige Aufhellung der jüngeren Blätter sowie deren Einrollen. Die erfolgreiche Expression des GFP in den Blättern konnte durch UV-Detektion festgestellt werden. Somit konnte ein System hergestellt werden, mit dem die Möglichkeit zur Untersuchung der Ausbreitung und Verteilung des TMV in

verschiedenen Wirtspflanzen gegeben ist.

In vivo self-assembly of TMV-like particles in yeast and bacteria after ectopic expression of the coat protein

Kadri, Anan¹, Wege, Christina¹, Jeske, Holger¹

¹Universität Stuttgart, Institute of Biology, Department of Plant Molecular Biology and Plant Virology, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart, Germany

Native *Tobacco mosaic virus* (TMV) is a rigid rod composed of about 2130 identical coat protein (CP) monomers helically arranged around the 6.3 kb right-handed helix of single-stranded (ss) RNA. TMV rods are approximately 300 nm long with an outer diameter of 18 nm and an inner hollow channel of 4 nm. The capped RNA is wound into a helix of 8 nm diameter and is entirely embedded in the protein shell, which is composed of CP units with a molecular mass of 17.5 kDa each. Since TMV particles expose several distinct surfaces suitable for functionalization with organic molecules, they have been exploited as promising biotemplates for nanoscale materials. Additionally, due to their physical and chemical stability, they are attractive tools for the production of one-dimensional inorganic nanostructures, and therefore it is desirable to tailor the TMV rods in length and composition. Eukaryotic expression systems like yeast may facilitate the proper folding of proteins as shown for gene product from other plant viruses. In order to scrutinize this idea further, we compared virus-like particles from fission yeast and bacteria, which assembled *in vivo* during ectopic expression, and describe herewith a superior expression system in *S. pombe* to produce tailored biotemplates, if the OAS is concurrently co-expressed. This approach may provide a new avenue to deliver versatile composite materials for a diversity of nanotechnological applications.

Tomato bushy stunt viruses (TBSV) in nanotechnology investigated by scanning force and scanning electron microscopy

KJ. Boonrod¹, G. Krczal¹, A. Lüders², C. Müller², Ch. Ziegler²

¹RLP AhgroScience GmbH, AIPlanta - Institute für Pflanzenforschung, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Germany

²University of Kaiserslautern, Department of Physics and Research Center OPTIMAS, 67663 Kaiserslautern, Germany

Spherical plant viruses like the tomato bushy stunt virus (TBSV) allow for multiple application in nanotechnology due to their shape. We created different types of viruses by extending the TBSC coat protein (CP) at carboxylic termini with two differently charged amino acids by point mutation. The obtained CPs carried six aspartic acid (negative charge) and four histamine (positive charge) residues. The ability of TBSV to form self assembled monolayers with large ordered areas on native and chemically modified mica will be presented. The structural differences between layers formed by the wild type and by the genetically modified types will be presented.

Ein immunologischer Nachweis für Kartoffelvirus X (PVX) mittels Oberflächen-Plasmonenresonanz

Nutz, Sabine¹, Rabenstein, Frank¹, Kühne, Thomas¹

¹Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

Bei der Oberflächenplasmonenresonanz wird die Bindung eines Analyten an eine Fängersubstanz spektrometrisch erfasst. Dieses Prinzip kann man sich auch für den Nachweis der Bindung zwischen einem Antikörper und dem homologen Antigen zunutze machen. Dazu wurden auf einem goldbeschichteten Chip Antikörper mittels Protein A immobilisiert. Wird eine Lösung darüber gespült, die das homologe Antigen beinhaltet, wird dieses vom Antikörper gebunden. Die dadurch verursachte Zunahme der Schichtdicke auf dem Chip kann mittels Oberflächenplasmonenresonanz detektiert werden. Dadurch ist ein schnellerer Nachweis des Antigens möglich, da lange Inkubationszeiten entfallen und keine Markierung des Antikörpers mehr notwendig ist. Es wird hier die Optimierung einer immunologischen Nachweismethode für PVX in Pflanzensaft mittels Oberflächenplasmonenresonanz vorgestellt.

Impact of plant viruses, viroids and bacteria on seed potato production in Benin, West Africa

Kerstin Lindner¹, Daniel Chougourou², Leonard Ahoton³, Katja R. Richert-Pöggeler⁴

¹Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Julius Kühn-Institut, Braunschweig

²Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université Abomey-Calavi Rép. du Bénin

³Faculté des Sciences Agronomiques, Université Abomey-Calavi Rép. du Bénin

⁴Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Julius Kühn-Institut, Braunschweig

Benin is one of the poorest countries in the world. One option to minimize hunger and poverty is to increase potato production. The potato yield amounts to about 15 t/ha. To increase the potato yield, the irrigation system has to be improved and pests have to be controlled. Therefore, potatoes produced in Benin were analyzed for pathogens. The performed preliminary monitoring for selected quarantine pests as indicated by EPPO showed that bacterial infection with *R. solanacearum* was present in one region. All tested crops were found to be free of the selected quarantine viruses and viroid. The investigated plant material was moderately infected by common potato viruses that are not listed in the quarantine lists of EPPO. Further research is needed to estimate the role of the irrigation system as potential source for bacterial infections such as *R. solanacearum* or the *Pectobacterium* spp. complex.
