

**48. JAHRESTREFFEN DES ARBEITSKREISES
“VIRUSKRANKHEITEN DER PFLANZEN“
07. und 08. März 2016**

**Gottfried Wilhelm Leibniz Universität
Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme
Abt. Phytomedizin, Hannover**

Programm, Teilnehmerliste und Abstracts

Vorträge & Posterpräsentationen:

Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover
Hörsaal Kirchenkanzlei / Gebäude 4107

Sponsoren der Tagung

Herzlichen Dank für ihre Unterstützung!

LOEWE[®]  Plant Diagnostics



Montag, 07. März 2016	
11:30 – 12:00	Anreise und Registrierung zur Tagung
12:00 – 12:15	Begrüßung und organisatorische Bekanntmachungen <i>Tatjana Kleinow, Mark Varrelmann, Edgar Maiß & Team</i>
12:15 – 13:55	Sektion I: Moderation <i>Holger Jeske</i>
12:15 – 12:55	Moderne Verfahren in der pflanzenvirologischen Diagnostik - zwischen Entwicklungslabor und Routinepraxis <i>Winter, Stephan</i>
12:55 – 13:15	Thermographische Detektion von Virose bei <i>Petunia</i> Hybriden <i>Weißbrodt, Sandra; Hamacher, Joachim; Steiner, Ulrike; Oerke, Erich-Christian & Dehne, Heinz-Wilhelm</i>
13:15 – 13:35	Anreicherung viraler RNA mittels Immunocapture für das Deep Sequencing <i>Knierim, Dennis; Varrelmann, Mark; Menzel, Wulf & Winter, Stephan</i>
13:35 – 13:55	Nachweis von unterschiedlich großen internen Poly(A)-Sequenzen („IPAT’s) in Isolaten einer neuen Tobacco rattle virus RNA2-Spezies in Kartoffeln <i>Lindner, Kerstin; Ziebell, Heiko; Hilbrich, Inga & Koenig, Renate</i>
13:55 – 15:00	KAFFEE-/TEEPAUSE mit Präsentation der Poster im Vestibül
15:00 – 16:40	Sektion II: Moderation <i>Wulf Menzel</i>
15:00 – 15:20	Agro-mediated infection of apple seedlings with full-length cDNA clones of ACLSV by vacuum infiltration <i>Zhang, Lei & Jelkmann, Wilhelm</i>
15:20 – 15:40	Viral spread and diversity in anthropocene <i>Richert-Pöggeler, Katja R. & Lockhart, Ben</i>
15:40 – 16:00	Red clover vein mosaic virus: ein neues Virus für Neuseeland, aber bereits weit verbreitet in Leguminosen <i>Fletcher, John; Tang, Joe; Blouin, Arnaud; Ward, Lisa; Mac Diarmid, Robin & Ziebell, Heiko</i>
16:00 – 16:20	An avirulent isolate of <i>Rhizoctonia solani</i> AG2-2-IV – a case study to explore the diversity of viromes of filamentous fungi <i>Bartholomäus, Anika & Varrelmann, Mark</i>
16:20 – 16:40	A novel virus response gene determines fungal fitness in the cereal pathogen <i>Fusarium graminearum</i> <i>Heinze, Cornelia; Bormann, Jörg; Mentges, Michael; Brockmann, Anke; Alder, Arne; Blum, Christine; Glöckner, Annemarie & Schäfer, Wilhelm</i>
16:40 – 17:00	Kurze Pause (20 min.)
17:00 – 18:30	Sektion III Berichte & Besprechungspunkte aus der Praxis: Moderation <i>Carmen Büttner</i>
17:00 – 17:15	Für die Praxis: 12-jährige Erfahrung beim Praxiseinsatzes der Multiplex-PCR zum Nachweis von 4 Apfelviren <i>Zahn, Volker</i>
17:15 – 17:30	Bodenübertragbarkeit und jahreszeitlicher Verlauf der Nachweisgrenzen einiger Apfelviren <i>Schröder, Manfred</i>
17:30 – 17:45	Aktuelle virologische Fragestellungen bei Obst und Gemüse in Rheinland-Pfalz <i>Krauthausen, Hermann-Josef; Müller, Jürgen & Wetzels, Thierry</i>
17:45 – 18:00	Virusbefall in Spargelanbau-Regionen Deutschlands, Europas und Nordamerikas <i>Krämer, Reiner; Lantos, Edit; Aldenhoff, Ludger & Nothnagel, Thomas</i>
18:00 – 18:15	Das Saugverhalten der Grünen Pfirsichblattlaus ein Schlüssel zur Klärung der Frage Virus- oder Vektorresistenz im Spargel <i>Lantos, Edit; Krämer, Reiner; Nothnagel, Thomas & Schliephake, Edgar</i>
18:15 – 18:30	Highlights aus der Virusdiagnose 2015 <i>Ziebell, Heiko</i>
ab 19:00	Abendveranstaltung inkl. Abendessen (Zentrale Gewächshausanlage) u.a. Besichtigung des Gewächshauses; Gespräche & Diskussionen (Koordinierungstreffen)

Dienstag, 08. März 2016	
08:20 – 10:20	Sektion IV: Moderation <i>Heinrich-Josef Vetten</i>
08:20 – 09:00	Die Bedeutung der triple R connection aus Replikation, Rekombination und Reparatur für die Epidemiologie und Resistenzzüchtung bei Geminiviren <i>Richter, Kathrin S.; Götz, Monika; Winter, Stephan & Jeske, Holger</i>
09:00 – 09:20	Exploitation of genetic resources: the search for the monogenic natural resistance to the cassava mosaic disease <i>Kuon, Joel-E.; Gruissem, Wilhelm & Vanderschuren, Hervé</i>
09:20 – 09:40	Differenzielle Expression und zelluläre Verteilung von zwei AC4-Varianten des African cassava mosaic virus in Hefe <i>Hipp, Katharina; Rau, Peter; Pfannstiel, Jens & Jeske, Holger</i>
09:40 – 10:00	Impact of Geminivirus infection on microtubules in eukaryotic cells <i>Krapp, Susanna; Schuy, Christian & Krenz, Björn</i>
10:00 – 10:20	Gene Expression Profiling of <i>Nicotiana benthamiana</i> in interaction with a Geminivirus and a Potyvirus <i>Pahlavan, Pirasteh; Koerbler, Marianne; Bonse, Sabine; Butgereitt, Anja; Bicknäse Vera; Stein, Beate & Winter, Stephan</i>
10:20 – 11:00	KAFFEE-/TEEPAUSE und Präsentation der Poster im Vestibül (40 min)
11:00 – 13:00	Sektion V: Moderation <i>Susanne von Barga</i>
11:00 – 11:20	The nuclear shuttle protein of the nanovirus Pea necrotic yellow dwarf virus forms a complex with the stress granule component G3BP <i>Krenz, Björn & Greiner, Eva</i>
11:20 – 12:00	Factors controlling virus-vector-host plant interactions: The model system <i>Frankliniella occidentalis</i> and Tomato spotted wilt virus. <i>Ogada, Pamela Akoth & Poehling, Hans Michael</i>
12:00 – 12:20	Mechanical transmission of Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd) from tomato to tomato at different growth and leaf maturity stages and cytopathological changes of infected leaves <i>Vo, Thi Thu; Hamacher, Joachim & Dehne, Wilhelm</i>
12:20 – 12:40	Viability of Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV) and Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) reassortants and co infection exclusion in <i>Nicotiana benthamiana</i> <i>Dach, Marlene; Mohammad, Hamza; Varrelmann, Mark & Maiß, Edgar</i>
12:40 – 13:00	Herstellung eines cDNA Vollängenklons für das Strawberry Polerovirus 1 <i>Bäumlisberger, Max; Berwarth, Constanze & Jelkmann, Wilhelm</i>
Ab 13:00	Allgemeines und Abschlussdiskussion <i>Tatjana Kleinow & Mark Varrelmann</i>
anschließend	Tagungsende Möglichkeit zum Mittagessen in der Kantine vor Ort & zur Besichtigung der Orchideenhäuser in den Herrenhäuser Gärten*

* Bitte beachten Sie, dass für Teilnehmer/innen ein Eintrittspreis für die Gärten von 3,50 € zu übernehmen ist. Die Führung selbst ist aber kostenlos.

Übersicht Posterpräsentationen

1

TMV in neuem Licht: vom Virusklassiker zum Biosensor

Koch, Claudia; Eiben, Sabine; Wabbel, Kathrin; Eber, Fabian J.; Jeske, Holger; Altintoprak, Klara; Spatz, Joachim; Bittner, Alexander M.; Walheim, Stefan; Schimmel, Thomas; Seidenstücker, Axel; Plettl, Alfred; Marti, Othmar; Schneider, Jörg J.; Bill, Joachim; Atanasova, Petia; Shukla, Sourabh; Steinmetz, Nicole F.; Azucena, Carlos; Geiger, Fania C.; Gliemann, Hartmut & Wege, Christina

2

Herstellung eines Vollängenklons des Cucumber mosaic virus Isolats DSMZ PV-0184 und symptomlose Infektion von *Nicotiana benthamiana*

Trebing, Sarah; Bald-Blume, Niklas & Maiß, Edgar

3

Lokalisation des EMARaV p4-Proteins in planta mittels Agrobakterium-vermittelter Transformation

Roßbach, Jenny; von Barga, Susanne; Mühlbach, Hans-Peter & Büttner, Carmen

4

Vergleichende Sequenzanalyse verschiedener Celery mosaic virus Isolate mit einem neuen Isolat aus Quedlinburg

Rose, Hanna; Vetten, Heinrich-Josef & Maiß, Edgar

5

Molekulare Charakterisierung und Konstruktion eines infektiösen Vollängenklons eines aus *Melissa officinalis* isolierten Potyvirus mit dem vorläufigen Namen Melissa mosaic virus (MeMoV)

Din Muhammad, Muhammad Salim; Maiß, Edgar; Rabenstein, Frank, Menzel, Wulf & Rose, Hanna

6

Different approaches for diagnosis of virus and virus-like diseases of apple using next generation sequencing

Jakovljevic, Vladimir; Blake, Jonathon; Benes, Vladimir; Otten-Hernandez, Patricia; Berwarth, Constanze & Jelkmann, Wilhelm

7

Development of virus-induced gene silencing (VIGS) based on the Beet necrotic yellow vein virus and Beet soil-borne mosaic virus

Mohammad, Hamza; Dach, Marlene; Maiß, Edgar & Varrelmann, Mark

8

Geminiviral replication initiation protein complexes

Paul, Martin; Jeske, Holger & Hipp, Katharina

9

Detektion des Elm mottle virus (EMoV) und eines putativen Carlavirus in *Ulmus* sp.

Jurke, Isabelle; von Barga, Susanne; Eisold, Anne-Mareen; Rumbou, Artemis; Rott, Markus & Büttner, Carmen

10

Infektiöse Vollängenklone von drei Cucumber mosaic virus Isolaten mit schweren Symptomen auf *Nicotiana benthamiana*

Bald-Blume, Niklas; Trebing, Sarah & Maiß, Edgar

11

Erstnachweis des Raspberry ringspot virus (RpRSV) in Rosen mit Mosaik und chlorotischen Adernbänderungen

Demiral, Rana; von Barga, Susanne & Büttner, Carmen

12

Untersuchungen zum Nachweis des Calibrachoa mottle virus (CbMV) mit *antibody mimics* aus Phagenbibliotheken

Klinkenbuß, Dominik; Dübel, Stefan; Hust, Michael; Maiß, Edgar

13

Charakterisierung eines unbekanntes Tobamovirus aus *Piper*

Menzel, Wulf; Winter, Stephan; Westerman, Anja & Heldens, Jos

14

Nachweis eines neuen Potyvirus: Night shade veinal mottle virus (NSVMV) aus *Solanum nigrum* und *Nicotiana benthamiana*

Schimmel, Jessica; Büttner, Carmen; Meyhöfer, Rainer & Maiß, Edgar

15

Self-assembly of hematite (Fe_2O_3) binding tomato bushy stunt viruses (TBSV)

Hofherr, Linda; Rink, Veronika 1; Braun, Mario; Boonrod, KaJohn; Müller-Renno, Christine; Krczal, Gabi & Ziegler, Christiane

16

Detection of plant viruses in declining urban birch trees in Berlin

Landgraf, Maria; Gehlsen, Johannes; Rumbou, Artemis; Bandte, Martina; von Barga, Susanne; Schreiner, Martin; Jäckel, Barbara & Büttner, Carmen

Teilnehmer Liste

Baden	Christian	KWS Saat AG	Grimsehlstr. 31 37555 Einbeck Deutschland
Bald-Blume	Niklas	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Bandte	Martina	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Bartholomäus	Anika	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
Berwarth	Constanze	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau	Schwabenheimer Str. 101 69221 Dossenheim Deutschland
Bicknäse	Vera	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Blum	Christine	Universität Hamburg Biozentrum Klein Flottbek	Ohnhorststr. 18 22609 Hamburg Deutschland
Budruss	Gabriele	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Butgereitt	Anja	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Büttner	Carmen	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Cernusko	Robert	Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern (LALLF M-V)	Graf-Lippe-Str. 1 18059 Rostock Deutschland
Cutler	Joseph	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Dach	Marlene	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
Demiral	Rana	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Dieckmann	Heike Luisa	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Freye-Minks	Caroline	LOEWE® Biochemica GmbH	Mühlweg 2a 82054 Sauerlach Deutschland

Gaskin	Thomas	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Golla	David Sami	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Götz	Monika	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Heinze	Cornelia	Universität Hamburg Biozentrum Klein Flottbek	Ohnhorststr. 18 22609 Hamburg Deutschland
Hilgert	Sandra	Staatl. Betriebsgesellschaft f. Umwelt u. Landwirtschaft, Phytopathologie	Waldheimerstr.219 01683 Nossen Deutschland
Hipp	Katharina	Universität Stuttgart, Institut f. Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Paffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Imbusch	Friederike	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
Jakovljevic	Vladimir	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau	Schwabenheimer Str. 101 69221 Dossenheim Deutschland
Jelkmann	Wilhelm	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau	Schwabenheimer Str. 101 69221 Dossenheim Deutschland
Jeske	Holger	Universität Stuttgart, Institut f. Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Paffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Junge	Renate	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Jurke	Isabelle	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Kleinow	Tatjana	Universität Stuttgart, Institut f. Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Paffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Klinke	Andrea	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Klinkenbuß	Dominik	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Knierim	Dennis	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Knüfer	Jessica	Strube Research GmbH & Co.KG	Neue Straße 11 38838 Schlanstedt Deutschland

Koenig	Renate	c/o Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Epidemiologie & Pathogendiagnostik	Messeweg 11-12 38126 Braunschweig Deutschland
Koleczek	Yvonne	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Pflanzengenetik Pflanzenbiotechnologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Krämer	Reiner	Julius Kühn Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen	Erwin-Baur Str. 27 06484 Quedlinburg Deutschland
Krapp	Susanna	Universität Erlangen-Nürnberg Dep. Biologie Lehrstuhl Biochemie	Stadtstr. 5 91058 Erlangen Deutschland
Krauthausen	Hermann- Josef	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz	Breitenweg 71 67435 Neustadt an der Weinstrasse Deutschland
Krczal	Gabi	RLP AgroScience GmbH AlPlanta, Institut für Pflanzenforschung	Breitenweg 71 67435 Neustadt an der Weinstraße Deutschland
Krenz	Björn	Universität Erlangen-Nürnberg Dep. Biologie Lehrstuhl Biochemie	Stadtstr. 5 91058 Erlangen Deutschland
Kühne	Thomas	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Epidemiologie & Pathogendiagnostik	Messeweg 11-12 38126 Braunschweig Deutschland
Kuon	Joel	ETH Zurich Department of Biology Plant Biotechnology	LFW E14 Universitaetsstrasse 2 8092 Zürich Schweiz
Landgraf	Maria	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Langer	Juliane	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Lantos	Edit	Julius Kühn Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen	Erwin-Baur Str. 27 06484 Quedlinburg Deutschland
Liebe	Sebastian	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
Liebrecht	Marion	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft	Lange Point 10 85354 Freising Deutschland
Liedl	Peter	Selecta Klemm GmbH & Co. KG	Hanfäcker 10 70378 Stuttgart Deutschland
Lüscher	Marcel	Bioreba	Christoph Merian Ring 7 4153 Reinach Schweiz

Maiß	Edgar	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Menzel	Wulf	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Mohammad	Hamza	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Neuhaber	Janek	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Nothnagel	Thomas	Julius Kühn Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen	Erwin-Baur Str. 27 06484 Quedlinburg Deutschland
Ogada	Pamella Akoth	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Entomologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Pahlavan	Pirasteh	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Paul	Martin	Universität Stuttgart, Institut f. Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Paffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Ponath	Jessica	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Popp	Carolin	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Rabenstein	Frank	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Epidemiologie & Pathogendiagnostik	Messeweg 11-12 38126 Braunschweig Deutschland
Ravindran	Beena M.	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Richert- Pöggeler	Katja	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Epidemiologie & Pathogendiagnostik	Messeweg 11-12 38126 Braunschweig Deutschland
Riedel	Marko	Landesamt für Ländliche Entwicklung, Landwirtschaft und Flurneuordnung (LELF), Phytopathologische Diagnostik	Steinplatz 1 15806 Zossen Deutschland
Rodriguez	Marlon Hans	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Rose	Hanna	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland

Roßbach	Jenny	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Rott	Markus	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Rumbou	Artemis	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Schimmel	Jessica	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Bodenkunde	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Schiwek	Simon	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Schröder	Manfred	Landwirtschaftliches Technologiezentrum (LTZ) Augustenberg Baden-Württemberg	Neßlerstr. 25 76227 Karlsruhe Deutschland
Schumann	Nadine	KWS Saat AG	Grimsehlstr. 31 37555 Einbeck Deutschland
Schütze	Katia	KWS Saat AG	Grimsehlstr. 31 37555 Einbeck Deutschland
Seigner	Luitgardis	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft	Lange Point 10 85354 Freising Deutschland
Stolz	Dijana	Bioreba	Christoph Merian Ring 7 4153 Reinach Schweiz
Stummer		Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland
Trebing	Sarah	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Strasse 2 30419 Hannover Deutschland
Trümper	Betrice	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Varrelmann	Mark	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
Vetten	Heinrich- Josef	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Epidemiologie & Pathogendiagnostik	Messeweg 11-12 38126 Braunschweig Deutschland
Vo	Thi Thu	Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn Institut f. Nutzpflanzenwissenschaften & Ressourchenschutz (INRES), Phytomedizin	Meckenheimer Allee 166a 53115 Bonn Deutschland
von Bargaen	Susanne	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55/57 14195 Berlin Deutschland

Wege	Christina	Universität Stuttgart, Institut f. Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Paffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Weißbrodt	Sandra	Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn Institut f. Nutzpflanzenwissenschaften & Ressourchenschutz (INRES), Phytomedizin	Auf dem Bühl 19 51674 Wiehl Deutschland
Winter	Stephan	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Zahn	Volker	Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen	Wunstorfer Landstr. 9 30453 Hannover Deutschland
Zhang	Lei	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau	Schwabenheimer Str. 101 69221 Dossenheim Deutschland
Ziebell	Heiko	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Epidemiologie & Pathogendiagnostik	Messeweg 11-12 38126 Braunschweig Deutschland

Abstracts der Vorträge

Einführungsvortrag

Moderne Verfahren in der pflanzenvirologischen Diagnostik - zwischen Entwicklungslabor und Routinepraxis

*Winter, Stephan*¹

¹Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: stephan.winter@dsmz.de

Zum Nachweis von Pflanzenviren werden weitgehend ELISA und PCR genutzt und sind in der Routinepraxis etabliert. Die Vorteile der Verfahren sind der leichte Zugang zur Technik und der relativ geringe Aufwand für die Durchführung der Tests, Flexibilität und Skalierbarkeit sowie Wiederhol- und Reproduzierbarkeit. Verschiedene Varianten der Verfahren, B-FAST ELISA und Luminex bead assay oder multiplex PCR werden für spezifische Anwendungen genutzt, um Testergebnisse in kürzerer Zeit zu erzielen oder unterschiedliche Viren parallel in einer Testreaktion nachzuweisen. Lateral flow assays und LAMP (loop-mediated isothermal amplification) finden Anwendung als „on-site“ Tests, sollen den schnellen und unkomplizierten Virusnachweis direkt im Feld erbringen. In Einzelfällen sind solche Tests erprobt jedoch bleibt deren Weiterentwicklung als Routinetest meist im Entwicklungslabor stecken. qPCR Verfahren ermöglichen die Hochdurchsatzprüfung, die Testung von sehr vielen Pflanzenproben durch Zusammenfassen von Einzel/Stichproben, die nach vorbestimmten Prüfschemen genommen werden. NGS Verfahren versprechen einen noch tieferen Einblick in den Virusstatus von Pflanzen und die Möglichkeit eine noch größere Zahl von Proben ohne viruspezifische Reagenzien zu testen.

Virusdiagnose ist jedoch mehr als die Durchführung serologischer oder molekularer Nachweistests, die i.d. Regel nur die technische Bestätigung von Virushypothesen sind. Viel entscheidender als Skalierbarkeit, Sensitivität oder Spezifität der Tests sind jedoch die Zahl und Art der Stichproben, die Aufbereitung des Pflanzenmaterials und letztlich die Interpretation der Testergebnisse. Die Nachweismethoden sind nur ein Teil des Systems, deren Wahl nicht von der Aktualität der Methode, sondern von der zugrundeliegenden diagnostischen Fragestellung bestimmt wird.

Thermographische Detektion von Virose bei *Petunia* Hybriden

*Weißbrodt, Sandra*¹; *Hamacher, Joachim*¹; *Steiner, Ulrike*¹; *Oerke, Erich-Christian*¹ & *Dehne, Heinz-Wilhelm*¹

¹Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz (INRES), Phytomedizin, Meckenheimer Allee 166a, 53115 Bonn, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: sandra.weissbrodt@uni-bonn.de

Zierpflanzen werden wie kaum eine andere gärtnerische Kultur von Pflanzenviren beeinträchtigt. Einerseits führen schon kleinere optische Mängel zur Unverkäuflichkeit, andererseits besteht durch die vielfach übliche Vermehrung in außereuropäischen Ländern ein erhebliches Risiko des Imports diverser Pflanzenpathogene. Diese Besonderheiten erfordern eine effektive und frühzeitige Erkennung erkrankter Pflanzen, um phytosanitäre Maßnahmen zu erleichtern und Verluste zu vermeiden.

Bildgebende Thermographie im langwelligen infraroten Spektralbereich wurde auf die Eignung für die präsymptomatische Erkennung von Pflanzenvirose an *Petunia* Hybriden und für die Darstellung der Virusausbreitung in infizierten Pflanzen untersucht.

Zunächst wurden optimierte Messbedingungen entwickelt. Anschließend wurden *Petunia* Multiflora Hybride mit zwei verschiedenen Isolaten von TSWV inokuliert, die eine lokal begrenzte Infektion

verursachen, und mit CMV, PVY sowie TMV, die sich systemisch ausbreiten. Die Blatttemperatur der Pflanzen wurde während des Infektionsverlaufs mit einer Wärmebildkamera gemessen. Die Thermogramme wurden mit einer für diesen Zweck selbst entwickelten Software hinsichtlich der Gesamttemperatur der Pflanzen und virusspezifischer Temperaturmuster ausgewertet.

Die Versuche ergaben bei systemisch befallenen Pflanzen vor dem Auftreten eindeutiger sichtbarer Symptome signifikante Temperaturerhöhungen im Vergleich zu nicht inokulierten Pflanzen. Bei den untersuchten Modellsystemen zeigten sich damit erste, vielversprechende Ansätze für den Einsatz bildgebender Thermographie zur Detektion von Pflanzenvirosen.

Anreicherung viraler RNA mittels Immunocapture für das Deep Sequencing

Knierim, Dennis¹; Varrelmann, Mark²; Menzel, Wulf¹ & Winter, Stephan¹

¹Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenviren, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, Deutschland

²Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Holtenser Landstraße 77, 37079 Göttingen, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: dennis.knierim@dsmz.de

Für das Deep Sequencing von Viren empfiehlt sich das Anreichern der viralen RNA/DNA, damit ein möglichst großer Anteil der zu erwartenden Reads auf die Viren entfällt. Dadurch kann die Gesamtanzahl der Reads reduziert werden und es erleichtert die spätere bioinformatische Auswertung. Für das Tiefsequenzieren von unbekanntem RNA Viren eignet sich als Ausgangsmaterial gesamt RNA. Als Anreicherungsmethode der viralen RNA wird empfohlen, die ribosomale RNA mittels spezieller Kits zu entfernen. Dadurch liegt die Anzahl der Reads die auf das Virus entfallen nach eigenen Erfahrungen, je nach Virus und Pflanzenmaterial, bei bis zu 5%. Ist für das zu bestimmende Virus ein Antikörper vorhanden ist es möglich eine Library für das Tiefsequenzieren mittels Immunocapture herzustellen. Dadurch konnte die Anzahl der Reads die auf das Virus entfallen auf bis zu 20% erhöht werden. Dies ist aber stark abhängig vom Pflanzenmaterial und Antikörper. Ein entscheidender Nachteil dieser Methode ist, dass die Möglichkeit weitere in der Probe nicht erwartete Viren zu entdecken entfällt.

Nachweis von unterschiedlich großen internen Poly(A)-Sequenzen (IPAT's) in Isolaten einer neuen Tobacco rattle virus RNA2-Spezies in Kartoffeln

Lindner, Kerstin¹; Ziebell, Heiko²; Hilbrich, Inga¹ & Koenig, Renate²

¹Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11, 38104 Braunschweig, Deutschland

²Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogen Diagnostik, Messeweg 11, 38104 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: renate.koenig@jki.bund.de

Bei Untersuchungen zur Charakterisierung von Tobacco rattle virus (TRV)-Stämmen aus verschiedenen Kartoffelanbaugebieten in Deutschland wurden mit Hilfe von PCR-Techniken die Gesamtnukleotid-Sequenzen der RNA2 und ein 3' terminaler Bereich der RNA1 für zwei nahe verwandte TRV-Herkünfte bestimmt. Die Virusherkunft CeW-F stammte aus Wurzeln von Feld-Kartoffeln in einem norddeutschen Anbau-Gebiet und CeW-GH aus den Wurzeln von Kartoffelpflanzen, die im Gewächshaus in Erde aus dem gleichen Feld angezogen wurden. Wie bei allen bekannten TRV-Isolaten bestanden die RNA2-Moleküle aus einem 5' RNA2-spezifischen und einem 3' RNA1-verwandten Teil. Der RNA2-spezifische Teil der beiden Isolate war fast 100% identisch und enthielt vier offene Leseraster (ORFs) in einer ähnlichen Anordnung wie sie für das zuerst in England und später auch in Deutschland gefundene TpO1-Isolat beschrieben wurden. Während die

im ORF1 enkodierten Hüllproteine der CeW-Isolate 97% Aminosäure-Sequenzidentität mit dem TpO1-Hüllprotein zeigten, wurden für die im ORF4 enkodierten Proteine keine Identitäten gefunden. Der RNA1-ähnliche Teil war bei der CeWF RNA2 mit 669 Nukleotiden etwas länger als bei der CeWGH RNA2 (547 Nukleotide) und bei beiden RNA2-Molekülen 100% identisch mit dem entsprechenden CeW-RNA1 Teil. Interessant war, dass sich zwischen den RNA2-spezifischen und den RNA1-verwandten Teilen der RNA2 beim CeWF eine unterschiedlich lange, aus ca. 20 bis 30 Adenin (A)-Resten bestehende interne Poly(A)-kette („IPAT“) findet. Beim CeWGH befindet sich zwischen den beiden Molekülteilen eine Kette von konstant sieben (A)-Resten. Für das TRV ist dies der erste Bericht über das Vorkommen eines „IPATs“ in der viralen RNA. Für einige andere Viren (Hordeiviren, Bromoviren, einige wenige Tobamoviren) wurden derartige „IPATs“ schon früher beschrieben. Wenn sie künstlich deletiert wurden, kam es in der sich anfangs nur schlecht vermehrenden Nachkommenschaft allmählich wieder zu einer Regeneration der IPATs, was auf ihre Wichtigkeit hindeutet.

Agro-mediated infection of apple seedlings with full-length cDNA clones of ACLSV by vacuum infiltration

Zhang, Lei¹ & Jelkmann, Wilhelm¹

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

Kontakt-E-Mail-Adresse: Lei.Zhang@jki.bund.de

Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV) is latent on most apple varieties. The virus belongs to the genus *Trichovirus* within the family *Betaflexiviridae*. It has a flexible filamentous virion containing a positive single-strand RNA genome. In the present work an infectious cDNA clone of ACLSV:binary vector was generated using In-Fusion[®] HD Cloning Kit. The infection efficiency of the clone was tested on woody plants of apple seedlings (1 month old) by agro-mediated vacuum infiltration. Different experimental conditions were evaluated, including atmospheric pressure and processing time, buffers for agrobacteria solutions and wounded or unwounded cotyledons of seedlings. Newly grown leaves (third and fourth true leaves) were tested by PCR 7 weeks after infection. Out of 23 infiltrated seedlings, 5 survived the inoculation process. Four out of the 5 seedlings were PCR-positive. The existence of ACLSV virions was confirmed by transmission electron microscopy.

Viral spread and diversity in anthropocene

Richert-Pöggeler, Katja R.¹ & Lockhart, Ben²

¹Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11, 38104 Braunschweig, Deutschland

²University of Minnesota, Plant Pathology, St. Paul, United States

Kontakt-E-Mail-Adresse: katja.richert-poeggeler@jki.bund.de

The term “anthropocene” coined by Paul J. Crutzen in 2002 (Geology of mankind: the anthropocene, Nature 415, 23) is referring to our current epoch and illustrates the manifold influences by human existence and actions on geology and evolution.

Ornamentals are plants solely produced to please the eye of the beholder. The EU Commission stated 2014 an increase in flower production and cultivation of ornamental plants. The collected data reveals that in the EU one of the world's highest densities of flower production per hectare exists that comprises 10% of total world area and 44% of world flower and pot-plant production. It is predicted that the market for ornamentals in the EU will further expand and grow to 37 billion Euros in 2016 (Swedish Chamber of Commerce, 2011).

Global production and trade pathways as well as the consumer's growing demand for new species and cultivars and their availability in shorter periods of time open gateways for viruses. The dynamics in trade are accompanied by strong overall growth affecting virus spread and diversity. The mass production of naturally cloned material displaying a uniform phenotype has an inherently high risk for multiplying and spreading viruses and/or viroids unwillingly, especially in case of asymptomatic (latent) infection. Synergy of electron microscopy and molecular biology tools were used to resolve these diagnostic challenges. 20 plant families were included in the analysis. Special attention was paid to *Carlaviruses* which often are accompanied by an asymptomatic phenotype and *Tobamoviruses* which are easily mechanically transmitted. For both virus genera a high diversity was observed in the family of *Solanaceae*.

Red clover vein mosaic virus: ein neues Virus für Neuseeland, aber bereits weit verbreitet in Leguminosen

*Fletcher, John*¹; *Tang, Joe*²; *Blouin, Arnauld*³; *Ward, Lisa*⁴; *Mac Diarmid, Robin*⁵ & *Ziebell, Heiko*⁶

¹The New Zealand Institute for Plant & Food Research Ltd, 120 Mt Albert Road Sandringham, Auckland 1025, New Zealand

²Plant Health and Environment Laboratory, Ministry for Primary Industries, Auckland 1140, New Zealand

³The New Zealand Institute for Plant & Food Research Ltd, Auckland 1142, New Zealand

⁴Plant Health and Environment Laboratory, Ministry for Primary Industries, Auckland 1140, New Zealand

⁵The New Zealand Institute for Plant & Food Research Ltd, 120 Mt Albert Road Sandringham, Auckland 1025, New Zealand

⁶Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11, 38104 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: heiko.ziebell@jki.bund.de

Red clover vein mosaic virus (RCVMV) kann an Leguminosen einen hohen ökonomischen Schaden hervorrufen. Während einer Routineuntersuchung an Leguminosen auf der Südinsel Neuseelands wurde RCVMV erstmals in einer Mischinfektion mit alfalfa mosaic virus und white clover vein mosaic virus an Weißklee gefunden. Die Vollständigensequenz des neuseeländischen Isolates RCVMV-NZ wurde bestimmt; sie wies 96 % Nukleotidsequenzidentität mit einem Kichererbsenisolat aus dem Staat Washington (USA) auf. Weitergehende Untersuchungen an Erbsen, Ackerbohnen und Grünlandleguminosen zeigten, dass RCVMV-NZ auf der Südinsel Neuseelands weit verbreitet ist. Das Isolat verursacht keine oder nur milde Symptome an experimentellen und natürlichen Wirtspflanzen. Dieses mag erklären, weshalb bisher RCVMV in Neuseeland noch nicht entdeckt wurde.

An avirulent isolate of *Rhizoctonia solani* AG2-2-IV – a case study to explore the diversity of viromes of filamentous fungi

*Bartholomäus, Anika*¹ & *Varrelmann, Mark*¹

¹Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Holtenser Landstraße 77, 37079 Göttingen, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: Bartholomaeus@ifz-goettingen.de

Rhizoctonia solani is an important plant pathogen and the host of many different mycovirus species, as indicated by the frequent detection of dsRNA elements in natural populations of *Rhizoctonia* (1). To date, eight different mycoviruses have been characterized in *Rhizoctonia* and some of them are reported to modulate its virulence. DsRNA extraction of the avirulent isolate NLDC17 (AG2-2-IV) showed a diverse pattern, indicating a multiple infection with mycoviruses. Deep sequencing analysis of the dsRNA extract revealed that this isolate is highly infected with mycoviruses, harbouring at least 16 different viral species. Based on sequence alignment of the conserved RDRP domain, this viruses

most likely belong to families of the *Narnaviridae*, *Endornaviridae*, *Partitiviridae* and *Megabirnaviridae* as well as to the order *Tymovirales*. Furthermore, viruses were identified displaying similarities to so far unassigned species like *Sclerotinia sclerotiorum* RNA virus L, *Rhizoctonia solani* dsRNA virus 1 or *Rhizoctonia fumigata* mycovirus. Until now there is no report of a fungal isolate harboring a comparable number of different mycoviruses, which makes it a good study case to explore the diversity of fungal viromes.

References

1) Zanzinger, D. H., Bandy, B. P., & Tavantzis, S. M. (1984). High frequency of finding double-stranded RNA in naturally occurring isolates of *Rhizoctonia solani*. *Journal of General Virology*, 65(9), 1601-1605.

A novel virus response gene determines fungal fitness in the cereal pathogen *Fusarium graminearum*

Heinze, Cornelia¹; Bormann, Jörg¹; Mentges, Michael¹; Brockmann, Anke¹; Alder, Arne¹; Blum, Christine¹; Glöckner, Annemarie¹ & Schäfer, Wilhelm¹

¹Universität Hamburg, Biozentrum Klein-Flottbek, Molekulare Phytopathologie, Ohnhorststr. 18, 22609 Hamburg, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: cornelia.heinze@uni-hamburg.de

Virus replication in fungi, in general, either remains symptomless or results in an impaired fungal physiology. The underlying molecular cues are unknown. The mycovirus FgV-ch9 infects *Fusarium graminearum*, a devastating fungal pathogen of cereals with a world-wide distribution. Due to virus infection all aspects of the fungal life cycle are impaired: sexual and asexual propagation, vegetative growth, and virulence. Heterologous expression of a single FgV-ch9 structural protein in the fungus phenocopies virus infection. We identified a potentially mRNA-binding protein as the central facilitator of fungal response to virus infection and named it fungal immune response gene 1 (fir1). Its transcription level is strongly reduced in the presence of virus or the viral structural protein and deletion of the gene causes phenotypes identical to virus infection. Constitutive overexpression overrules the devastating effects of a virus infection leading to a symptomless replication of virus. We conclude that this virus-fungus interaction follows a gene-for-gene interaction: fir1 expression is downregulated in response to virus infection and, thereby, impairs all aspects of the fungal life cycle. This is the first description of a fungal immune response which counteracts virus propagation in the field.

Einführungsvortrag

Die Bedeutung der *triple R connection* aus Replikation, Rekombination und Reparatur für die Epidemiologie und Resistenzzüchtung bei Geminiviren

Richter, Kathrin S.¹; Götz, Monika²; Winter, Stephan² & Jeske, Holger¹

¹Universität Stuttgart, Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Deutschland

²Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: holger.jeske@bio.uni-stuttgart.de

Während früher die Prozesse von Replikation, Rekombination und Reparatur eher getrennt betrachtet wurden, zeigen die letzten Jahre, dass sie innig miteinander verknüpft sind (Friedberg *et al.*, 2006). Sowohl bei der Zellteilung als auch bei der DNA-Vermehrung in differenzierten Zellen kooperieren eine Vielzahl von Proteinen, die von einem fein regulierten Netzwerk von Genen kodiert werden. Geminiviren müssen auf diese zellulären Faktoren zurückgreifen, da sie nicht über eine

eigene Polymerase verfügen. Darüber hinaus geschieht das in differenzierten Zellen, meist dem Phloem (Geleitzellen, Parenchymzellen), wo eine DNA-Synthese wie bei der Zellteilung erst aktiviert werden müsste. Geminiviren können eine solche DNA-Synthese mit Hilfe ihres *Replication-Initiator Proteins* (Rep) durch dessen Bindung an das pflanzliche *Retinoblastoma* (RB) Protein anregen. Wenn jedoch die einzelsträngige geminivirale DNA durch den Insektenvektor *Bemisia tabaci* in Phloemzellen injiziert wird, wird noch kein Rep exprimiert und andere Wirts-DNA-Polymerase sind notwendig, um den Doppelstrang herzustellen, der zur Rep-Expression nötig ist. Besonders unter diesen Bedingungen, können Reparaturenzyme wie die Translasiationspolymerasen (TLS) helfen, von denen drei (pol η , κ , ζ) die wichtigsten sind und im Phloem konstitutiv exprimiert sind. Da ihre Funktionen redundant sind, konnten *Arabidopsis thaliana* Linien mit T-DNA Insertionen in deren Genen, noch vollständig durch Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV) infiziert werden. Die Hochdurchsatz-Sequenzierung (Circomics) der viralen Nachkommen zeigte aber einen deutlichen Effekt in Abwesenheit von pol η , ζ in Doppelmутanten, der sich in einer reduzierten Substitutionsrate in der DNA A ausdrückte (Richter *et al.*, 2016). Insgesamt wurde 21 T-DNA Insertionslinien mit Defekten in Komponenten des RRR Netzwerkes untersucht (Richter, 2015), von denen nur zwei interessante Unterschiede ergaben: Ku80 als Schlüsselkomponente des klassischen *Non-homologous Endjoining* behinderte die geminivirale Vermehrung (Richter and Jeske, 2015), während RAD51D, eine unter vielen Faktoren der Homologen Rekombination sie begünstigte (Richter, 2015). In beiden Fällen zeigte die Circomics Analyse einen Einfluss auf die Entstehung von Defektiven DNAs und von Inversionen, die mit der viralen Vermehrung interferieren können. Auf dieser Grundlage wird die Komplexität der *triple R connection* diskutiert, zum einen um die Vielfalt von Rekombinanten und die hohe Mutationsrate von 10^{-4} - 10^{-3} in Feldbeobachtungen zu erklären, zum anderen um das Resistenz-brechende Potential von Geminiviren zu erörtern.

Literatur

Richter, K. S., Götz, M., Winter, S., and Jeske, H. (2016). The contribution of translesion synthesis polymerases on geminiviral replication. *Virology* 488, 137–148.

Richter, K. S. (2015). Geminivirale Infektion in Interaktion mit DNA-Reparatur und -Schadenstoleranz. Dissertation. Universität Stuttgart.

Richter, K. S., and Jeske, H. (2015). KU80, a key factor for non-homologous end-joining, retards geminivirus multiplication. *J. Gen. Virol.* 96(9), 2913-2918.

Friedberg, E. C., Walker, G. C., and Siede, W. (2006). "DNA repair and mutagenesis." ASM Press, Washington.

Exploitation of genetic resources: the search for the monogenic natural resistance to the cassava mosaic disease

Kuon, Joel-E.¹; Gruissem, Wilhelm¹ & Vanderschuren, Hervé¹

¹Institute of Agricultural Sciences, Laboratory of Plant Biotechnology, ETH Zürich, Switzerland

Kontakt-E-Mail-Adresse: kuonj@ethz.ch

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is a perennial woody shrub of the *Euphorbiaceae* family and is a staple crop for more than a billion people in about 105 countries. Cassava is a major staple food for the poorest communities in sub-Saharan Africa and is also an important food security and subsistence crop due to its tolerance to adverse climatic conditions such as low rainfall, temperature change, poor soils and the ease by which it can be propagated through stem cuttings. The cassava production is severely constrained by viral diseases, namely cassava mosaic disease (CMD) and cassava brown streak disease (CBSD) in Sub-Saharan Africa. CMD and CBSD cause important economic losses for the subsistence agriculture as well as the commercial farming. CMD is caused by whitefly-transmitted begomoviruses named cassava mosaic geminiviruses (CMGs). A single CMD resistance gene (R-gene) designated as CMD2 with a dominant effect was discovered in the late 1980s in cassava landraces from Nigeria and other West African countries. Several CMD2 associated

genetic markers were released over the last decade and the recent release of the cassava draft genome as well as dense genetic maps have been key in identifying regions neighbouring the CMD2 locus. With both, the draft genome and dense genetic maps, it is now possible to compile published CMD2 markers in order to pin the CMD2 locus to a single region that spans 1.4 Mbp with 75 predicted open reading frames (ORFs). Analysis of sequence polymorphism and differences in gene regulation upon infection with CMGs represent a strategy to pinpoint the gene(s) associated with CMD2. In addition by top grafting resistant lines on CMD infected cassava rootstocks, it is possible to inoculate CMGs to CMD susceptible and CMD resistant cassava cultivars. This inoculation method will be used for a transcriptome sequencing in susceptible – infected as well as resistant – infected accessions. With both, expression diversity as well as sequence diversity it will be possible to shortlist candidate genes. The most promising candidates will be evaluated with a cassava mosaic virus based gene-silencing vector in order to prove their role in CMD resistance at planta. Those candidate genes will provide new insights regarding geminivirus – plant interaction, virus resistance mechanisms in plants and monogenic virus resistance genes in general.

Keywords: Cassava, natural virus resistance, monogenic resistance, biotechnology, positional cloning, geminivirus, next generation sequencing, allele mining

Differenzielle Expression und zelluläre Verteilung von zwei AC4-Varianten des African cassava mosaic virus in Hefe

Hipp, Katharina¹; Rau, Peter¹; Pfannstiel, Jens² & Jeske, Holger¹

¹Universität Stuttgart, Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Deutschland

²Universität Hohenheim, Serviceeinheit Massenspektrometrie, August-von-Hartmann-Straße 3, 70599 Stuttgart, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: katharina.hipp@bio.uni-stuttgart.de

Geminiviren kodieren für ein kleines (A)C4-Protein, das innerhalb des offenen Leserahmens für das Replikationsinitiatorprotein liegt. Das (A)C4-Protein verschiedener Geminiviren ist an Prozessen wie dem intrazellulären Transport und Silencing beteiligt. Für das African cassava mosaic virus existieren zwei potentielle Startkodons, die für die Translation einer längeren und einer kürzeren AC4-Variante genutzt werden können. Beide Varianten wurden mit dem GFP- oder GST-ORF fusioniert und in der Spaltheife exprimiert. Die längere Variante akkumulierte in Form kleiner Spots im Zytoplasma, während die kürzere Variante an die Plasmamembran lokalisierte. Ein Myristoylierungsmotif, das nur in der kurzen AC4-Variante zugänglich ist, könnte die Lokalisation an die Plasmamembran befördern. Durch Massenspektrometrie der in der Hefe exprimierten kurzen Variante konnte erstmals die Myristoylierung nachgewiesen werden. Die biologische Relevanz des zweiten Startkodons wurde durch die Analyse infektiöser Klone bestätigt. Während eine Mutation des ersten Startkodons keinen Effekt auf die Infektiosität in *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen hatte, war das zweite Startkodon notwendig.

Impact of Geminivirus infection on microtubules in eukaryotic cells

*Krapp, Susanna*¹; *Schuy, Christian*¹ & *Krenz, Björn*¹

¹Universität Erlangen-Nürnberg, Lehrstuhl für Biochemie, Department Biologie, Staudtstr. 5, 91058 Erlangen, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: susanna.krapp@fau.de

Geminiviruses are serious plant pathogens infecting dicotyledonous plants, among them important crop plants. They are characterized by small geminate particles containing single-stranded circular DNA molecules. Geminiviruses replicate in the nucleus, thus viral DNA has to cross the nuclear envelope and the plasmodesmata for systemic spread. Two genes are required for the inter- and intracellular transport: ORF BV1 (syn. BR1) encodes a nuclear shuttle protein (NSP), and ORF BC1 (syn. BL1) the movement protein (MP). Earlier studies have shown that NSP and MP induce characteristic changes in the plant nuclear architecture, e.g. invaginations, necking and budding. Microscope analysis revealed that vesicles are budding from the nucleus and are directed to the cell periphery. Based on these observations, we investigated the potential remodeling character of the geminiviral transport proteins on mammalian nuclei. MP and NSP were expressed fused to YFP in HeLa as well as Cos7 cells to investigate cellular localization. NSP localized to the nucleus, as expected, but the MP::YFP signals appeared as curled threads throughout the cells. Co-staining with cytoskeleton markers for actin filaments, intermediate filaments and microtubules surprisingly showed a re-organization of the microtubule cytoskeleton. We ruled out that the fluorescent tag, YFP, is responsible for this phenomenon or the transfected cell type and could show that MPs from other geminiviruses induce the same phenotype, whereas MPs from non-geminiviruses do not induced abnormal bundled microtubules. In addition, we could show that the c-terminal part of the MP, which resembles the oligomerization domain, is dispensable for the cellular localization. Controversially, MP expression in plant cells had no effect on the microtubule network. Since plant epidermal cells are quiescent cells whereas the mammalian cells are proliferating cells, we additionally co-expressed the Rep protein together with the MP to induce S-phase. This time we could observe the abnormal bundle microtubule phenotype also in plant cells.

Gene Expression Profiling of *Nicotiana benthamiana* in interaction with a Geminivirus and a Potyvirus

*Pahlavan, Pirasteh*¹; *Koerbler, Marianne*¹; *Bonse, Sabine*²; *Butgereitt, Anja*¹; *Bicknäse Vera*¹; *Stein, Beate*¹ & *Winter, Stephan*¹

¹Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenvirologie, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Deutschland

²Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11, 38104 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: pirasteh.pahlavan@dsmz.de

Plant-virus interactions are characterized by changes in host gene expression. Plant gene expression changes can reflect active responses to counteract virus infection which can be either virus specific or, a general response to biological stress.

This research focuses on the question how viruses manipulate their host. The ssRNA virus Cassava brown streak virus (CBSV) and the ssDNA virus African cassava mosaic virus (ACMV), both with distinct plant invasion characters and replication strategies, were studied. A RNA-seq study was conducted monitoring gene expression in the model plant *Nicotiana benthamiana*. At 12dpi, virus content was found similar for both viruses hence this time point was chosen. After normalization and calculating the logarithmic fold change as well as filtering of data (pvalue < 0.05) we identified 30-38% differentially expressed genes (DEG with significantly more differences in plants infected with

CBSV compared to ACMV. Altered transcripts involved in several gene ontology categories; primary metabolite processes, localization, cellular biosynthesis were similar in both disease processes while transferase and catalytic activities differed significantly between the viruses. GO functional annotation analysis showed that energy metabolism, signal transduction, transcription, folding, sorting and degradation mechanisms were influenced similarly. In contrast, replication and repair, terpenoids and polyketide metabolism were more strictly regulated in response to ACMV while infection with CBSV resulted in altered carbohydrate and amino acid metabolism.

This study clarifies transcriptome modification during infection processes by identifying common and specific responses to ACMV and CBSV, and highlights the transcriptional changes in a susceptible virus/host interaction.

The nuclear shuttle protein of the nanovirus Pea necrotic yellow dwarf virus forms a complex with the stress granule component G3BP

*Krenz, Björn*¹ & *Greiner, Eva*¹

¹Universität Erlangen-Nürnberg, Lehrstuhl für Biochemie, Department Biologie, Staudtstr. 5, 91058 Erlangen, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: bjoern.krenz@fau.de

Stress granules (SGs) are structures within cells that can regulate gene expression as a stress response, e.g. upon viral stress. In the mammalian system assembly of SGs is dependent on the human Ras-GAP SH3-domain-binding protein (HsG3BP). The C-terminal domain of the viral nonstructural protein 3 (nsP3) of Semliki Forest virus (SFV) forms a complex with HsG3BP and sequesters it into viral RNA replication complexes in a manner that inhibits the formation of SGs. The binding domain of nsP3 to HsG3BP was mapped down to the last 31 amino acids (aa), which contains the responsible FGDF-interaction motif. It was shown, that a green fluorescent protein (GFP) fused to the 31aa C-terminal end of nsP3 (GFP::31aa_nsP3) is sufficient to bind HsG3BP *in vitro* and *in vivo*, and was also sufficient to inhibit SGs formation. We expressed the same construct in the model plant *Nicotiana benthamiana* (Nb) to identify the uncharacterized plant homologues of G3BP by co-immunoprecipitation followed by mass spectrometry analysis. Besides already confirmed components of plant SGs, e.g. Tudor domain-containing protein 1, we were able to identify three NbG3BP-like proteins. BLAST analysis revealed that these NbG3BP-like proteins share strikingly similarity with *Arabidopsis* genes that have been named nuclear transport factor 2 and RNA recognition motif domain-containing proteins (NTF2-RRM proteins). Expression of NTF2-RRM proteins in fusion with GFP showed a stress granule phenotype after heat stress, as well as co-localization with characterized plant SGs marker protein CCCH tandem zinc finger protein 1 (TZF1). Furthermore, NTF2-RRM proteins interact with ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 24 (UBP24) *in planta*, which is the homologue to the human ubiquitin specific peptidase 10 (USP10). HsUSP10 is known to interact with HsG3BP in the mammalian system. This study identifies *Arabidopsis thaliana* (At) NTF2-RRM proteins as G3BPs, as components of plant SGs and link a functional role of AtG3BPs in SG formation in plants. In addition, the nuclear shuttle protein (NSP) of the Pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV, ssDNA plant virus), which contains a FNGSF-motif, interacts with AtG3BP. In summary, we propose that SGs formation upon viral stress is conserved between the mammalian and plant system and that plant viruses follow a similar strategy to inhibit plant SGs function.

Einführungsvortrag

Factors controlling virus-vector-host plant interactions: The model system *Frankliniella occidentalis* and Tomato spotted wilt virus.

Ogada, Pamella Akoth¹ & Poehling, Hans Michael¹

¹Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: ogada@ipp.uni-hannover.de

The complexity and specificity of Tospovirus-vector-host plant relationship is linked to a range of factors that influence vector's competence to transmit the virus, leading to the observed high variability of transmission efficiency in vector populations. This interaction was ranked second in a recent survey by a group of plant virologist in terms of its economic and research importance. Using a model system; *Frankliniella occidentalis* and Tomato spotted wilt virus (TSWV), we evaluated different relationships in the triangle virus, vector and host plant, presuming that the multiplication and dispersal of TSWV in a crop stand is strongly dependent on mutualistic effects, individual vector genetics and vector gender. We used controlled microcosmos conditions for our experimental set-ups to first unravel this complex biological system, which should be up-scaled later to larger systems. Our main findings are: (a) TSWV triggers an immune response in *F. occidentalis* leading to improved fitness, and at the same time manipulating the vector's behaviour in favour of its multiplication and dispersal. (b) Transmission efficiency is male biased due to their shorter development time, higher survival, and shallower feeding behaviour compared to females. (c) Analysis of individual genetic composition revealed that the trait vector competence is inherited in a haplodiploid manner, with males only able to inherit it maternally. The recessive allele of the trait vector competence was found to be the highest in population. In a further approach using the above mentioned findings, we attempted to quantify the influences of the virus induced vector life processes on the virus propagation dynamics in the field by developing a mathematical model for prediction of disease spread. From a basic view point, these findings are fundamental for a deeper understanding of the evolutionary interaction of virus-vector-host plant, and an essential basis for further molecular genetic studies of the trait vector competence. From an application point of view, the development of vector-based models could further help in elucidating the role of tri-trophic interactions in such complex disease systems, and stimulate the development of efficient control strategies for both the virus and the vector.

Keywords: Vector competence, haplodiploidy, intraspecific variation, inheritance genetics, *Frankliniella occidentalis*, thrips, Tomato spotted wilt virus, Tospovirus.

Mechanical transmission of Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd) from tomato to tomato at different growth and leaf maturity stages and cytopathological changes of infected leaves.

Vo, Thi Thu¹; Hamacher, Joachim¹ & Dehne, Wilhelm¹

¹Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourchenschutz (INRES), Nussallee 9, 53115 Bonn, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: s7tivooo@uni-bonn.de

Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd) has recently been detected to infect many solanaceous ornamental plant species and causes significant damage to tomato crops. In this study, we investigated the effectiveness of mechanical transmission from infected tomato to tomato at different growth (7, 21, 35 and 49 days post germination, p.g.) and leaf maturity stages (youngest and oldest leaves). TCDVd containing sap from infected tomatoes was rubbed onto leaves of healthy tomato seedlings at different developmental stages and as the plants grew older, onto either

youngest or oldest leaves. The results showed that the increase of plant age corresponded with a decrease of symptom expression. When tomatoes were inoculated after 35 days p.g. onto old leaves and 49 days p.g. on both young and old leaves the plants remained asymptomatic although being infected. Furthermore, plant height and shoot fresh weight of all experimental plants were measured after 2 months p.g. The results demonstrated that after inoculation of tomato leaves with TCDVd in early developmental stages, plants were severely affected in growth and biomass production, whereas inoculation of older leaves resulted in symptom retardation. In addition, tomato is a very susceptible host plant for viroids, being like an “indicator plant” with severe symptom development after infection. We investigated if viroids induce cytopathological changes in leaf tissues in symptomatic leaves. Therefore, the ultrastructure of tomato infected with potato spindle viroid (PSTVd), TCDVd as well as mixed infections with potato leafroll virus (PLRV) are investigated in this study.

Viability of Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV) and Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) reassortants and co infection exclusion in *Nicotiana benthamiana*

*Dach, Marlene*¹; *Mohammad, Hamza*²; *Varrelmann, Mark*¹ & *Maiß, Edgar*²

¹Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Holtenser Landstraße 77, 37079 Göttingen, Deutschland

²Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: dach@ifz-goettingen.de

Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV) and *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) both belong to the genus *Benyvirus* in the family *Benyviridae*. They possess a similar genome organisation with 4-5 ssRNA genome components, high sequence homology and a similar host range. Both species cause diseases in *Beta vulgaris* with variable symptom expression and tissue affinity. In the US, both viruses occur in mixed infection, but information about interaction between both species is limited. In order to understand the interaction with the hosts and between virus species, co-infection and reassortants experiments were performed.

Infectious cDNA clones of BSBMV and BNYVV (A-type) were used for reassortants experiments in *N. benthamiana* (*N.b.*) and *Beta macrocarpa* (*B.m.*). RNA1+2 reassortants were viable and displayed systemic movement in *N.b.* but symptoms occurred delayed and were less pronounced. The RNA 3 components of both species were transreplicated, mediated long-distance movement in *B.m.* and were exchangeable between species. Both virus clones were applied for fluorescence labeling (GFP, mRFP) by replacement of the coat protein-readthrough open reading frame. The distribution in single- and mixed infections of *N.b.* were studied by CLSM.

Differentially labeled isolates of the same species as well as the two virus species were spatially separated and displayed co-infection exclusion. Separation of one species from an RNA1+2 reassortant showed that a specific genome component combination was not required for this effect. In contrast, mixture of both benyvirus species with either *Tobacco rattle virus* or *Potato virus X* displayed co-infection of the same cell. Generation of deletion mutants need to be performed to decipher the molecular basis for this effect.

Herstellung eines cDNA Vollängenklons für das Strawberry Polerovirus 1

Bäumlisberger, Max¹; Berwarth, Constanze¹ & Jelkmann, Wilhelm¹

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

Kontakt-E-Mail-Adresse: Wilhelm.Jelkmann@jki.bund.de

Durch RNA-Extraktion, PCR und Sequenzierung konnte das Strawberry Polerovirus 1 in Mischinfektion auf einer Erdbeerpflanze entdeckt werden, die am Julius Kühn Institut in Dossenheim zum Erhalt des Strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) kultiviert wurde. Ein Vergleich mit der aus Kanada stammenden Virussequenz (AB4101) zeigte Übereinstimmung von über 99 %. Über die extrahierte virale RNA konnte ein cDNA Vollängenklon hergestellt werden, welcher anhand verschiedener Testverfahren auf Vollständigkeit der viralen Sequenz überprüft wurde. Mittels Agrobakterium wurden Erdbeer Testpflanzen (*Fragaria vesca* var. *semperflorens*) mit dem SPV1 inokuliert.

Berichte & Besprechungspunkte aus der Praxis

Für die Praxis: 12-jährige Erfahrung beim Praxiseinsatzes der Multiplex-PCR zum Nachweis von 4 Apfelviren

Zahn, Volker¹

¹Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Wunstorfer Landstr. 9, 30453 Hannover, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: volker.zahn@lwk-niedersachsen.de

Bericht über die Einführung und den Einsatz einer neuen Nachweismethode in der Routinetestung und die dabei aufgetretenen Hindernisse bei der Anerkennung der Ergebnisse in Praxisbetrieben. Welche Erkenntnisse können aus diesem Projekt für zukünftige Entwicklungen solcher Nachweismethoden für die Praxis abgeleitet werden und welche Notwendigkeit besteht für weitere Entwicklungen dieser Art

Bodenübertragbarkeit und jahreszeitlicher Verlauf der Nachweisgrenzen einiger Apfelviren

Schröder, Manfred¹

¹Landwirtschaftliches Technologiezentrum (LTZ) Augustenberg Baden-Württemberg, Neßlerstr. 25, 76227 Karlsruhe, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: manfred.schroeder@ltz.bwl.de

Im Rahmen eines BLE-geförderten Forschungsprojektes zur Diagnose von Viruskrankheiten im Rahmen der Anerkennung von Anbaumaterial (Gemeinschaftsprojekt mit dem JKI Dossenheim, FKZ: 2812NA049) wird dazu u.a. folgenden Fragen für die Viren Apple chlorotic leafspot (ACLSV), Apple mosaic (ApMV), Apple stem grooving (ASGV) und Apple stem pitting (ASPV) nachgegangen:

- Gibt es Hinweise für eine Übertragung im Bodenbereich (Wurzel, Bodenlösung) von infizierten auf gesunde Bäume?

- Besteht ein Infektionsrisiko für Nachpflanzungen an Stellen, wo zuvor viruskranke Bäume gestanden haben ?

- Welche Verdünnungsstufen erlauben noch einen sicheren Nachweis im jahreszeitlichen Verlauf?

Zum Virusnachweis wurde die PCR (Menzel 2003) verwendet, als Versuchsbäume dienten junge ‚Bittenfelder Sämling‘, künstlich infiziert als Doppelinfektion mit je zwei Viren und virusfreie Kontrollen (Versuche Bodenübertragbarkeit) sowie Sorten von natürlich infizierten Reiserschnittbäumen (ACLSV, ASGV, ASPV) bzw. künstlich infizierte ‚Bittenfelder Sämling‘ (ApMV) für die Ermittlung der Nachweisgrenzen im jahreszeitlichen Verlauf.

In Topf- und Feldversuchen konnten bisher folgende Ergebnisse erzielt werden:

1. Im Topfversuch mit je einem virusinfizierten und zwei virusfrei gepflanzten Bäumen (mit und ohne Wurzelsperre, je 6 Wiederholungen) wurde erstmals nach ca. zwei Jahren eine Infektion an einem gesund gepflanztem Baum mit ACLSV (Variante ohne Wurzelsperre) sicher nachgewiesen. Zwei weitere Virusnachweise an anderen Bäumen ließen sich in Wiederholungsproben bisher nicht reproduzieren.

2. Im Feldversuch (Reihenpflanzung, ein infizierter und je zwei gesund gepflanzte Nachbarbäume, 10 Wiederholungen) konnte nach einer Standzeit von knapp 18 Monaten in einem Baum ASGV (schwach) und ASPV detektiert werden, in der Folgezeit jedoch nicht mehr. In einer parallelen Reihe mit ausschließlich virusfrei gepflanzten ‚Bittenfelder‘ war nach einer Standzeit von bisher 19 Monaten kein Virus nachweisbar.

3. Nachgepflanzte Bäume (‚Bittenfelder Sämling‘, 3x5 Wiederholungen) ergaben innerhalb einer Standzeit von ca. 18 Monaten keinen Virusnachweis von ACLSV, ASGV und ASPV. ApMV war nicht im Versuch enthalten.

4. In Bodeneluat, die aus einem Topfversuch mit virusinfizierten Bäumen gewonnen wurden, waren keine Viren nachweisbar. Auch ein Infektionsversuch gesunder Bäume über Bodeneluate verlief negativ.

5. Die Verdünnungsgrenzen im PCR-Nachweis schwankten im Verlauf von 15 Monaten bei ACLSV, ApMV und ASPV zwischen 1:10 und 1:100.000, beim ASGV zwischen 1:10 und 1:1.000. Auch zwischen den Wiederholungen gab es teils große Unterschiede. Die höchsten Verdünnungen konnten zumeist in den Monaten Februar bis April erzielt werden, was auf eine höhere Viruskonzentration in dort verwendeten Knospen/Rinden gegenüber den ansonsten verwendeten Blattstielen/Blättern hindeutet.

Aktuelle virologische Fragestellungen bei Obst und Gemüse in Rheinland-Pfalz

Krauthausen, Hermann-Josef¹; Müller, Jürgen¹ & Wetzel, Thierry¹

¹Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institut für Phytomedizin, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstrasse, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: hermann-josef.krauthausen@dlr.rlp.de

Aufgrund jüngeren Scharka-Auftretens in Frankreich wird derzeit im Rheingraben wieder intensiv über die Kontrolle der Scharkakrankheit diskutiert. Vor diesem Hintergrund wird in Rheinland-Pfalz seit 3 Jahren die Rolle von Mirabellen, Mandeln und Schlehen als mögliche Inokulumquellen für PPV untersucht. Bisher konnte bei diesen Untersuchungen kein PPV-Nachweis geführt werden.

Das Iris yellow spot virus (IYSV) wurde im Rheintal erstmals 2007 an Zwiebeln nachgewiesen. Phylogenetische Analysen aus den Jahren 2008 und 2009 zeigten nur eine sehr geringe Variabilität der Isolate aus der Pfalz. Der Befallsdruck an Zwiebeln und Porree ist nach wie vor gering. Isolate aus dem Jahr 2015 zeigen auch weiterhin eine sehr geringe Variabilität.

In den letzten Jahren war der Virusbefall an Zucchini in der Pfalz äußerst gering – vermutlich auch aufgrund des konsequenten Anbaus widerstandsfähiger Sorten. Im Jahr 2015 kam es erstmals wieder zu stärkerem Befall, insbesondere durch WMV und ZYMV. Die Symptomatik von ZYMV unterschied sich deutlich von der bisher bekannten Fadenblättrigkeit und den beuligen Früchten.

Virusbefall in Spargelanbau-Regionen Deutschlands, Europas und Nordamerikas

Krämer, Reiner¹; Lantos, Edit¹; Aldenhoff, Ludger² & Nothnagel, Thomas¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

²Beratungsdienst Spargel und Erdbeeren e.V., Rennbahnstraße 85, 67454 Haßloch, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: reiner.kraemer@jki.bund.de

Spargel (*Asparagus officinalis* L.) wird weltweit angebaut und gehört in Deutschland mit einer Anbaufläche von ca. 25.000 ha zum wichtigsten Gemüse. Die lange Standzeit der Kulturen führt jedoch auch zunehmend zu phytopathologischen Belastungen, insbesondere zum Befall mit Viren.

Zur Analyse des aktuellen Virusbefalls im Spargel wurden Spargelphyllokladien-Proben aus Deutschland und einigen ausgewählten Ländern im Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA) auf das Asparagus virus 1 und 2 (AV-1 und AV-2), das Cucumber mosaic virus (CMV), das Alfalfa mosaic virus (AMV), das Arabis mosaic virus (ArMV) sowie das Tobacco streak virus (TSV) getestet. Die Probennahmen erfolgten Vorort durch die involvierten Betriebe in enger Zusammenarbeit mit Dr. L. Aldenhoff im Jahr 2015. Insgesamt wurden 387 Phyllokladien-Proben aus 14 Anbau-Regionen Deutschlands (9 Bundesländer) sowie aus Anbaugebieten der Niederlande, Österreichs, Kanadas und den USA untersucht.

In Deutschland konnte das AV-1 in nahezu allen Proben unabhängig von der Spargelsorte und dem Standort nachgewiesen werden. Insgesamt waren weniger als 1% der 308 untersuchten Proben AV-1 frei. Im Gegensatz zum Totalbefall mit dem AV-1 war das AV-2 nur in einigen Anbau-Regionen in einzelnen Pflanzen nachweisbar (5,3%). Mit dem CMV waren insgesamt weniger als 1% der Proben befallen. Nicht detektierbar hingegen waren das AMV, ArMV sowie das TSV.

Die Testergebnisse zur Verbreitung relevanter Spargelviren aus den anderen Spargel anbauenden Ländern ergaben ein vergleichbares Bild. So war auch in den Spargelphyllokladien-Proben aus den Niederlanden, aus Österreich, Kanada und den USA das AV-1 das dominierende Virus. Auch hier waren nahezu alle untersuchten Proben im ELISA AV-1 positiv. Demgegenüber war auch in diesen Proben das AV-2 weit weniger nachweisbar. Das AV-2 war nur in Proben aus Kanada (n = 20), hier sogar mit 47% vergleichsweise häufig, und in einer Probe aus den USA nachweisbar. Alle anderen untersuchten Viren konnten nicht nachgewiesen werden.

Aufbauend auf dieser Befalls-Analyse, soll vom bedeutendsten Spargelvirus, dem AV-1, ein repräsentatives Isolate-Spektrum gewonnen und an *Nicotiana benthamiana* pathotypisiert werden.

Am JKI-ZG wurden in den vergangenen Jahren erstmalig mehrere Resistenzquellen gegen ein AV-1 Isolat (Pathotyp 1) in Wildformen des Spargels gefunden.

Diese Resistenzen sollen durch interspezifische Hybridisierung in das Genom des Kulturspargels übertragen werden. Da diese Arbeiten als extrem schwierig und aufwendig gelten, sollen zuvor die Resistenzen bezüglich ihrer Wirksamkeit und Stabilität gegen die unterschiedlichen AV-1 Pathotypen evaluiert werden.

Das Saugverhalten der Grünen Pfirsichblattlaus ein Schlüssel zur Klärung der Frage Virus- oder Vektorresistenz im Spargel

*Lantos, Edit*¹; *Krämer, Reiner*¹; *Nothnagel, Thomas*¹ & *Schliephake, Edgar*²

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

²Julius Kühn-Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: edit.lantos@jki.bund.de

Im europäischem Spargelanbau ist das Asparagus Virus 1 (AV-1) das am häufigsten vorkommende Virus. Das AV-1 wird nicht-persistent durch die Grüne Pfirsichblattlaus (*Myzus persicae* S.) übertragen. Alle bisher untersuchten Sorten des Kulturspargels (*Asparagus officinalis* L.) sind anfällig gegen dieses Virus. Am JKI-ZG wurde in den vergangenen Jahren in einigen Wildformen des Spargels (*Asparagus* spp.) erstmalig Resistenz gegen ein AV-1 Isolat (Pathotyp 1) nachgewiesen.

Zur Klärung der Frage, ob die AV-1 Resistenzen in den Spargelwildformen möglicherweise auf einer Vektorresistenz beruhen, wurde das Saugverhalten von *M. persicae* an Kultur- und Wildspargel verglichen. Dazu wurde die EPG-Technik (electrical penetration graph) genutzt. Folgende Parameter des Blattlaussaugverhaltens wurden über 3 Stunden erfasst und analysiert: Einstichzeit und Nicht-Einstichzeit, Zeit bis zum Ersteinstich und Dauer des Ersteinstichs und die Anzahl der Zelleinstiche.

Anhand dieser Parameter zeigten sich signifikante Unterschiede im Saugverhalten von *M. persicae* zwischen dem Kulturspargel und den Wildformen. Die Anzahl der Zelleinstiche waren in den Wildformen gegenüber dem Kulturspargel geringer. Aber auch bei einer vergleichsweise geringeren Anzahl von Zelleinstichen kann das AV-1, auf Grund der nicht-persistenten Übertragungsweise, auf die Wildformen übertragen werden. Eine Blattlausresistenz der Wildformen kann somit bislang weitgehend ausgeschlossen werden. Ein möglicher Zusammenhang zwischen den Zelleinstichen und der AV-1 Resistenz in den Wildformen wird weiter untersucht.

Highlights aus der Virusdiagnose 2015

*Ziebell, Heiko*¹

¹Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11, 38104 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: heiko.ziebell@jki.bund.de

Präsentiert werden einige Ergebnisse aus den Routineuntersuchungen am JKI aus dem Bereich Gemüse und Leguminosen.

Abstracts der Posterpräsentationen

TMV in neuem Licht: vom Virusklassiker zum Biosensor

Koch, Claudia ¹; Eiben, Sabine ¹; Wabbel, Kathrin ¹; Eber, Fabian J. ¹; Jeske, Holger ¹; Altintoprak, Klara ¹; Spatz, Joachim ²; Bittner, Alexander M. ³; Walheim, Stefan ⁴; Schimmel, Thomas ⁴; Seidenstücker, Axel ⁵; Plettl, Alfred ⁵; Marti, Othmar ⁵; Schneider, Jörg J. ⁶; Bill, Joachim ⁷; Atanasova, Petia ⁷; Shukla, Sourabh ⁸; Steinmetz, Nicole F. ⁸; Azucena, Carlos ⁹; Geiger, Fania C. ²; Gliemann, Hartmut ⁹ & Wege, Christina ¹

¹Universität Stuttgart, Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Deutschland

²Max-Planck-Institut für Intelligente Systeme, Neue Materialien und Biosysteme, Heisenbergstr. 3, 70569 Stuttgart, Deutschland

³CIC NanoGUNE, Self-Assembly Group, Tolosa Hiribidea, 76, 20018 Donostia-San Sebastian, Spanien

⁴Karlsruhe Institute of Technology, Institut für Nanotechnologie, Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen, Deutschland

⁵Universität Ulm, Institut für Experimentelle Physik, Universität Ost N25, 89069 Ulm, Deutschland

⁶Technische Universität Darmstadt, Eduard-Zintl-Institut, Anorganische Chemie I, Petersenstr. 18, 64287 Darmstadt, Deutschland

⁷Universität Stuttgart, Institut für Materialwissenschaft, Heisenbergstraße 3, 70569 Stuttgart, Deutschland

⁸Case Western Reserve University School of Medicine, Department of Biomedical Engineering, 10900 Euclid Ave., Cleveland, OH 44106, U.S.A.

⁹Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: christina.wege@bio.uni-stuttgart.de

Pflanzenviren haben seit mehr als hundert Jahren nicht nur Pflanzenzucht und -produktion, sondern auch Wissenschaft und technische Neuentwicklungen begleitet und zum Teil erheblich befördert. Neuerdings zeichnet sich weltweit ab, dass nanostrukturierte Diagnostiksysteme, 'intelligente' Hybridmaterialien und medizinisch applizierte Nanopartikel wie Impfstoffe in besonderem Maße von Pflanzenvirus-Derivaten profitieren können. Entsprechende für Mensch und Tier sichere "Farming"-Produkte stehen kurz vor der Markteinführung und gelten auch als wirtschaftlich sehr aussichtsreich. In Stuttgart werden daher aus adaptierten Tabakmosaikvirus-(TMV-)Komponenten vielseitig einsetzbare Trägergerüste für bioaktive Moleküle und synthetische Materialien *in vitro* assembliert. Deren Gestalt und Oberflächenchemie sind steuerbar: Stäbchen, Sternkolloide und sogar Nanobumerangs mit multivalenten Proteinoberflächen sind möglich. Diese TMV-basierten 'Funktionsträger' werden für komplexe Detektions- und Katalyse-Aufgaben sowie in Kooperationsprojekten für technische und diagnostische Anwendungen erprobt und mit Enzymen, aktiven Peptiden oder Fängerstrukturen für Analyte, Kontrastmitteln und Farbstoffen ausgerüstet, aber auch für die spezifische Abscheidung von Biomineralien und Metallen eingesetzt. Erfolgversprechende TMV-Hybridkomponenten sollen für komplexe Detektions- und Katalyse-Aufgaben in "Lab-on-a-Chip"-Systemen und "Smart Materials" weiterentwickelt werden, um biologisch optimierte Prinzipien für Hochleistungssysteme in technischen und medizinischen Bereichen nutzen zu können.

Literatur

<http://www.uni-stuttgart.de/bio/bioinst/molbio/abteilung/mitarbeiter/wege/index.html>.

Die Autoren danken der DFG, Baden-Württemberg Stiftung, Universität Stuttgart und der Carl-Zeiss-Stiftung (Projekthaus NanoBioMater; www.nanobiomater.de) für finanzielle Unterstützung.

Herstellung eines Volllängenklons des Cucumber mosaic virus Isolats DSMZ PV-0184 und symptomlose Infektion von *Nicotiana benthamiana*

Trebing, Sarah¹; Bald-Blume, Niklas¹ & Maiß, Edgar¹

¹Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: sarah-trebing@hotmail.de

Das Cucumber mosaic virus (CMV) ist, unter anderem durch seine verursachten großen wirtschaftlichen Schäden an Kulturpflanzen, ein wichtiges Modellvirus für die Forschung. Im Allgemeinen kann CMV das Auftreten von Mosaiksymptomen, Chlorosen, systemischen Nekrosen, Verkrüpplungen, Kümmerwuchs und Blattfehlbildungen verursachen. Dabei sind deutlich unterschiedlich starke Symptomausprägungen zwischen verschiedenen CMV Isolaten zu beobachten. Das von der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) zur Verfügung gestellte CMV-Isolat PV-0184 zeigt auf *Nicotiana benthamiana* keinerlei äußerlich sichtbare Symptome, lässt sich aber mittels RT-PCR nachweisen. Die Isolate PV-0506, -0474 und -0036 hingegen, weisen auch äußerlich sichtbare Symptome, wie Chlorosen, Kümmerwuchs, Mosaiksymptome und Blattfehlbildungen, auf. Vom symptomlosen Isolat PV-0184 wurden die drei genomischen RNAs mittels RT-PCR amplifiziert und durch Gibson Assembly in pCB-Vektoren kloniert. Die Volllängenklone der drei RNAs wurden über Agroinfiltration in *N. benthamiana* transferiert und lösten eine symptomlose Infektion aus, die mittels RT-PCR bestätigt wurde. Mit dem infektiösen Volllängenklon des Isolats PV-0184 und den infektiösen Volllängenklonen der symptomverursachenden Isolate PV-0506, -0474 sowie -0036 sollen Pseudorekombinanten erzeugt werden, um die Determinante(n) für die Symptomausprägung in *N. benthamiana* näher zu bestimmen.

Lokalisation des EMARaV p4-Proteins in *planta* mittels Agrobakterium-vermittelter Transformation

Roßbach, Jenny¹; von Barga, Susanne¹; Mühlbach, Hans-Peter² & Büttner, Carmen¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland

²Universität Hamburg, Biozentrum Klein-Flottbek, Molekulare Phytopathologie, Ohnhorststr. 18, 22609 Hamburg, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: jenny.robel@hu-berlin.de

Das European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV) infiziert natürlich verschiedene *Sorbus*-Spezies und verursacht chlorotische Ringflecken sowie Scheckungen an Blättern (Grimová *et al.*, 2015; Robel *et al.*, 2013). Eine virusbedingte Degeneration der Pflanzen wird vermutet (Benthack *et al.*, 2005). EMARaV besitzt ein negativ-orientiertes, einzelsträngiges RNA-Genom aus vier monocistronischen Segmenten (Mielke and Mühlbach, 2007). Eine Funktionszuweisung für die von RNA1 bis RNA3 kodierten Proteine (p1 bis p3) war mittels Sequenzabgleich möglich. Für das RNA4-kodierte p4-Protein konnte bislang keine Funktion ermittelt werden. Für Pflanzenviren ist die Existenz eines Transport-Proteins essentiell (Seron and Haenni, 1996) und viele besitzen zudem ein Suppressorprotein des posttranskriptionellen Gene Silencings (PTGS). Diese Funktionen werden nicht durch die RNA1-RNA3 kodierten Proteine des EMARaV abgedeckt. Durch Lokalisation eines GFP-markierten p4 in der pflanzlichen Zelle sollen mögliche Hinweise zur Funktion dieses Proteins gesammelt werden. Dazu wurde das p4-Protein von EMARaV sowie das Transport-Protein NSm des Tomato spotted wilt virus (TSWV) in den Vektor pCambia1302 kloniert und Agrobakterien des Stamms C58C1 mit den Konstrukten transformiert. Mittels Anti-gfp Antikörpern konnten beide Konstrukte im Western Blot in Blattproben zu verschiedenen Zeitpunkten (24 h, 48, 72h sowie 6

Tage) nach Agroinfiltration von *Nicotiana benthamiana* Blättern detektiert werden. Erste Ergebnisse zur Lokalisation des p4-Proteins in Epidermiszellen von agroinfiltrierten *N. benthamiana* Blättern mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) werden vorgestellt und diskutiert.

Literatur

Benthack, W., Mielke, N., Büttner, C., Mühlbach, H.P., 2005. Double-stranded RNA pattern and partial sequence data indicate plant virus infection associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). *Archives of Virology* 150, 37-52.

Grimová, L., Marek, M., Konrady, M., Ryšánek, P., 2015. Newly identified host range of European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV) and its distribution in the Czech Republic. *Forest Pathology* 45, 177-189.

Mielke, N., Mühlbach, H.P., 2007. A novel, multipartite, negative-strand RNA virus is associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). *Journal of General Virology* 88, 1337-1346.

Robel, J., Büttner, T., Mühlbach, H.-P., von Barga, S., Büttner, C., 2013. First detection of European mountain ash ringspot-associated virus in *Sorbus aria* and *Sorbus intermedia*, AAB Conference, 25.-27.09.2013, Norwich.

Seron, K., Haenni, A.L., 1996. Vascular movement of plant viruses. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI* 9, 435-442.

Vergleichende Sequenzanalyse verschiedener Celery mosaic virus Isolate mit einem neuen Isolat aus Quedlinburg

Rose, Hanna¹; Vetten, Heinrich-Josef² & Maiß, Edgar¹

¹Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

²Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11, 38104 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: rose@ipp.uni-hannover.de

Celery mosaic virus (CeMV) wurde erstmals 1935 in Kalifornien, USA beschrieben. Infizierte Selleriepflanzen zeigen ein gestauchtes Wachstum und zahlreiche Veränderungen der Blätter wie beispielsweise Mosaik, Adernaufhellungen sowie leichtes Einrollen. Das Virus ist Mitglied des Genus *Potyvirus* der Familie *Potyviridae* und besitzt ein einzelsträngiges (+)-RNA Genom, welches für ein langes Polyprotein kodiert. Dieses Polyprotein wird durch drei viruseigene Proteasen kotranslational in die funktionellen Proteine gespalten. Bis heute ist ein komplett sequenziertes Genom eines kalifornischen Celery mosaic virus Isolates sowie Teilsequenzen der NIb und CP Gene von Viren aus beispielsweise Australien oder den Niederlanden verfügbar. Zur näheren Charakterisierung des Quedlinburger Isolates erfolgte eine Sequenzierung des Hüllproteingens. Die erhaltene Sequenz zeigt in phylogenetischen Analysen Ähnlichkeiten zu den europäischen Isolaten, unterscheidet sich im Vergleich zu einem Isolat aus Aschersleben an einer Position jedoch deutlich. Die Unterschiede werden diskutiert.

Molekulare Charakterisierung und Konstruktion eines infektiösen Volllängenkons eines aus *Melissa officinalis* isolierten Potyvirus mit dem vorläufigen Namen Melissa mosaic virus (MeMoV)

*Din Muhammad, Muhammad Salim*¹; *Maiß, Edgar*²; *Rabenstein, Frank*³; *Menzel, Wulf*⁴ & *Rose, Hanna*²

¹Universität zu Köln, Biozentrum Köln, Institut für Entwicklungsbiologie, Zülpicher Straße 47 B, 50674 Köln, Deutschland

²Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

³Julius-Kühn-Institut JKI, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

⁴Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenviren, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: rose@ipp.uni-hannover.de

Die *Potyviridae* bildet die größte Familie innerhalb der Pflanzenviren und beinhaltet acht Genera und 190 Spezies. Die Viren weisen eine flexible filamentöse Morphologie mit einer Länge von 700 – 900 nm auf. Die meisten Mitglieder besitzen ein monopartites einzelsträngiges (+)-RNA Genom, welches für ein langes Polyprotein kodiert. Im Falle der Bymoviren liegt das Genom bipartit vor. Bei allen wird das Polyprotein durch viruseigene Proteasen kotranslational in die funktionellen Proteine zerlegt. Aus *Melissa officinalis* Pflanzen, die deutliche Mosaiksymptome an den Blättern zeigten, konnte ein erster Nachweis eines potentiellen *Potyvirus* mit verschiedenen Methoden wie dsRNA-Extraktion, Elektronenmikroskopie und PCR erbracht werden. Eine Sequenzierung des gesamten Genoms bestätigte diese Annahme und phylogenetische Analysen legen nahe, dass es sich um eine neue Spezies des Genus *Potyvirus* mit der vorläufigen Bezeichnung Melissa mosaic virus (MeMoV) handelt. Weiterhin war es möglich einen infektiösen Volllängenkons herzustellen. Dieser verursachte nach *Rhizobium radiobacter* Infiltration in *Nicotiana benthamiana* und *Melissa officinalis* die erwarteten Symptome und konnte mittels PCR und Sequenzierung verifiziert werden.

Different approaches for diagnosis of virus and virus-like diseases of apple using next generation sequencing

*Jakovljevic, Vladimir*¹; *Blake, Jonathon*²; *Benes, Vladimir*²; *Otten-Hernandez, Patricia*³; *Berwarth, Constanze*¹ & *Jelkmann, Wilhelm*¹

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

²EMBL Genomics Core Facility, Meyerhofstr. 1, 69117 Heidelberg, Deutschland

³Fasteris SA, Plan-les-Ouates, Genf, Schweiz

Kontakt-E-Mail-Adresse: jak.vlad@gmail.com

Next generation sequencing (NGS) as a method for diagnostics of known and unknown diseases has been recently gaining importance in phytopathology. Here we present different approaches for analysis of virus and virus-like diseases of apple plants using total RNA, small RNA and double stranded RNA using NGS. Two different bioinformatic workflows for NGS data analysis will be also presented.

Development of virus-induced gene silencing (VIGS) based on the Beet necrotic yellow vein virus and Beet soil-borne mosaic virus

*Mohammad, Hamza*¹; *Dach, Marlene*²; *Maiß, Edgar*¹ & *Varrelmann, Mark*²

¹Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

²Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Holtenser Landstraße 77, 37079 Göttingen, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: hamzamohammad@ipp.uni-hannover.de

Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) and *Beet soil-borne mosaic virus* (BSBMV) are members of the genus *Benyvirus*. They are transmitted by the soil-borne fungus *Polymyxa betae* and possess a similar genome organisation, host range and morphology. BNYVV is the causal agent for Rhizomania disease in sugar beet (*Beta vulgaris*) (Koenig and Lesemann, 2005). BNYVV has been first reported in Italy and up to date in most regions of the world, while BSBMV distribution is limited to the USA. BNYVV has a multipartite RNA genome, which contains four or five plus-sense single stranded RNAs (Tamada, 1999). RNA1 and RNA2 encode housekeeping genes involved in viral RNA replication, assembly and cell-to-cell movement. Proteins from RNA3 are involved in formation of local lesions and in symptom development.

Gibson Assembly was used as one step cloning method to construct cDNA full-length clones of BNYVV under control of the 35S promoter of cauliflower mosaic virus (Maiß *et al.*, unpublished) and of BSBMV (Dach *et al.*, unpublished) for *Agrobacterium*-mediated infection (Gibson *et al.*, 2009). Labelling of the RNA2 cDNA full-length clone was achieved by replacement of the read-through open reading frame by a fluorescent marker gene (mRFP, GFP), which led to systemic infection of the plants and strong fluorescence. This insertion point was assayed for its suitability to use both full-length clones as virus induced gene silencing (VIGS) vectors. For this purpose, fragments (549 bp) of the magnesium chelatase H Subunit (ChIH) gene derived from *Nicotiana benthamiana* or *Beta macrocarpa*, respectively, were cloned as sense or antisense constructs into RNA 2 of BNYVV as well as into RNA2 of BSBMV. Agroinfection of *N. benthamiana* resulted in systemic infection and development of a photobleaching phenotype, indicative for ChIH-VIGS.

References

Gibson, D. G., L. Young, *et al.*, (2009). "Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases." *Nature methods* 6(5): 343-345.

Koenig, R., Lesemann, D.E., 2005. Genus *Benyvirus*. In: Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U., Ball, L.A. (Eds.), *Virus Taxonomy*, Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, London.

Tamada, T., Uchino, H., Kusume, T. & Saito, M. (1999). RNA 3 deletion mutants of beet necrotic yellow vein virus do not cause rhizomania disease in sugar beets. *Phytopathology* 89, 1000–1006.

Geminiviral replication initiation protein complexes

*Paul, Martin*¹; *Jeske, Holger*¹ & *Hipp, Katharina*¹

¹Universität Stuttgart, Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: martin.paul@bio.uni-stuttgart.de

Geminiviruses, small plant viruses with circular single-stranded DNA, infect many different economically important crops such as cotton, bean, sweet potato, tomato, sugar beet and cassava. They possess characteristic and unique twin capsids, that are formed by two incomplete icosahedra. African cassava mosaic virus (ACMV) belongs to the genus *Begomovirus* of the Geminivirus family and has caused severe economic damages in cassava, which is the main starchy food for more than 500 million people worldwide.

The genome of ACMV consists of two components, named DNA A and DNA B. The replication initiation protein (Rep, AC1), which is required for rolling circle replication, is encoded on the complementary strand of DNA A and is the only viral protein indispensable for replication while replication itself relies on host polymerases.

Although the mode of replication initiated by Rep has been described and the required activities have been demonstrated, the exact mechanisms and the potentially different oligomeric states for each functional complex of Rep are still unknown.

In order to determine the conditions, which lead to formation of complexes, we are using purified protein expressed in *Schizosaccharomyces pombe*. The complexes will be identified and characterized by size exclusion chromatography and transmission electron microscopy. Subsequently the structure of the complexes will be resolved by single particle reconstruction using negatively stained as well as vitrified samples.

Detektion des Elm mottle virus (EMoV) und eines putativen Carlavirus in *Ulmus* sp.

*Jurke, Isabelle*¹; *von Bargaen, Susanne*¹; *Eisold, Anne-Mareen*¹; *Rumbou, Artemis*¹; *Rott, Markus*¹ & *Büttner, Carmen*¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: isabelle.jurke@gmail.com

Virusverdächtige Symptome an Ulmen wie Scheckungen, Mosaik, chlorotische Ringflecken und Linienmuster sind seit vielen Jahren bekannt. Es wurden bereits verschiedene Viren mit isometrischer Partikelmorphologie in unterschiedlichen Ulmenarten nachgewiesen, darunter das Elm mottle virus (EMoV, Büttner *et al.*, 2013, 2015; CABI 2015). EMoV ist ein ssRNA(+) Virus aus der Gattung *Ilarvirus* (Familie *Bromoviridae*, Bujarsky *et al.*, 2012) und ließ sich experimentell aus einzelnen Flatterulmen aus der Region Berlin-Brandenburg (*Ulmus laevis* Pall.) auf Biotestpflanzen übertragen. Zudem konnten filamentöse Viruspartikel mit einer Länge von ca. 800 nm in Flatterulmen mit Scheckungen, chlorotischen Ringflecken und Linienmustern nachgewiesen werden, was auf eine Infektion dieser Ulmenart mit einem weiteren Virus hindeutet (Eisold *et al.*, 2014). Aus der Hochdurchsatzsequenzierung von Gesamt-RNA Präparationen aus Blättern einer Flatterulme mit Scheckungen und chlorotischen Ringflecken wurden erste Daten generiert, die eine Beteiligung eines filamentösen Virus aus der Gruppe der *Flexiviridae* (Ordnung *Tymovirales*) an den beobachteten Symptomen belegen (Rumbou *et al.*, 2015). Die erhaltenen Sequenzinformationen ermöglichten erste Untersuchungen zur Verbreitung dieses Virus, bei dem es sich vermutlich um ein neues *Carlavirus* handelt, sowie des EMoV in Ulmenbeständen mittels PCR-basierter Techniken. Erste Ergebnisse zur Verbreitung der Erreger in Ulmenbeständen in Norddeutschland sowie zur Korrelation mit beobachteten Symptomen werden präsentiert und diskutiert.

Literatur

Büttner, C., von Bargaen, S., Eisold, A.M., Bandte, M., Rott, M. (2015): Eine Fallstudie zum Elm mottle virus (EMoV) an Ulme (*Ulmus* sp.). In: Dujesiefken, D. (Ed.), Jahrbuch der Baumpflege, Haymarket Media, Braunschweig, 245-250.

Büttner, C., von Bargaen S., Bandte, M., Mühlbach, H-P. (2013): chapter 3: Forest diseases caused by viruses. In: Infectious forest diseases. Gonthier P., Nicolotti G. (eds), CABI, 50-75.

Bujarski, J., Figlerowicz, M., Gallitelli, D., Roossinck, M.J. and Scott, S.W. 2012: Family *Bromoviridae*. In: Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses (King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens E.B., Lefkowitz, E.J., eds.). Elsevier Academic Press, Amsterdam, 965-976. CABI 2015: Elm mottle virus. CABI datasheet 20843. Invasive Species Compendium. <http://www.cabi.org/isc/datasheet/20843>.

Eisold, A.-M., Rott, M., von Bargaen, S., Bandte, M., Büttner, C., 2014: Ringfleckigkeit an Flatterulme - Untersuchung assoziierter Pathogene. Julius-Kühn Archiv 447, 167.

Rumbou A, von Bargaen S, Büttner C 2015: Virus discovery using NGS in trees from urban/forest ecosystems. 1st conference of the COST action FA1407 DIVAS, 16-18.11. in Ljubljana, Slowenien.

Infektiöse Volllängklone von drei Cucumber mosaic virus Isolaten mit schweren Symptomen auf *Nicotiana benthamiana*

Bald-Blume, Niklas¹; Trebing, Sarah¹ & Maiß, Edgar¹

¹Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: bald@ipp.uni-hannover.de

Die Symptomausprägung von Cucumber mosaic virus (CMV) hängt von der Art und Sorte der Wirtspflanze und dem Virusstamm bzw. -isolat ab. Es kann eine symptomlose Infektion vorliegen oder es können Mosaiksymptome, Chlorosen, Nekrosen, Deformationen der Blätter und Stauchungen der gesamten Pflanze in unterschiedlicher Stärke hervorgerufen werden. Entsprechende Beobachtungen wurden auf *Nicotiana benthamiana* mit verschiedenen CMV-Isolaten der DSMZ gemacht. Das Isolat PV-0184 infizierte Pflanzen ohne sichtbare Symptome zu verursachen. Drei Isolate lösten dagegen schwere Chlorosen (PV-0036), starke Blattdeformationen (PV-0474) und gestauchtes Wachstum (PV0506) aus. Von diesen drei Isolaten wurden jeweils die drei genomischen RNAs mittels RT-PCR amplifiziert und über Gibson Assembly einzeln in pCB-Vektoren eingebaut. Über Agroinfiltration mit den Volllängklonen der drei RNAs konnten Infektionen mit allen drei Isolaten in *N. benthamiana* ausgelöst werden. Folglich wurden infektiöse Volllängklone der drei RNAs aller drei CMV-Isolate kloniert. Des Weiteren zeigten die Volllängklone der Isolate vergleichbare Symptome wie die Ausgangsisolate. Mit den zur Verfügung stehenden Volllängklonen der symptomverursachenden Isolate und dem symptomlosen Isolat soll durch Erzeugung von Pseudorekombinanten die Determinante(n) für die Symptomausprägung in *N. benthamiana* näher eingegrenzt werden.

Erstnachweis des Raspberry ringspot virus (RpRSV) in Rosen mit Mosaik und chlorotischen Adernbänderungen

Demiral, Rana¹; von Bargaen, Susanne² & Büttner, Carmen²

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: phytomedizin@agrار.hu-berlin.de

Auf der Insel Mainau im Bodensee werden seit knapp einem Jahrhundert Rosen (*Rosa hybrida* Schleich.) kultiviert. In den letzten Jahren wurden an Edelrosen virusverdächtige Blatt-Symptome wie Mosaik, Chlorosen und Adernvergilbung beobachtet. Insbesondere die Sorten Escimo, Diamant, Leonardo da Vinci, Chippendale, Kurfürstin Sophie und Alea sind betroffen. Ziel dieser Studie war die Identifikation von Viren an den erkrankten Rosen der Insel Mainau. Dazu wurden im November 2014 Blatt-, Spross- und Wurzelproben entnommen. Es wurden Biotests und Untersuchungen mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) durchgeführt sowie serologische und molekulare Methoden herangezogen, um beteiligte Viren zu identifizieren und genauer zu charakterisieren. Eine Infektion mit Viren, die in Verbindung mit der Rose mosaic disease (RMD) gebracht wurden, konnte durch DAS ELISA ausgeschlossen werden. Nach mechanischer Inokulation von Rosenhomogenaten auf *Chenopodium quinoa* und *Nicotiana benthamiana* entwickelten diese Ringflecken, Blattdeformationen und Degenerationserscheinungen. In Tropfpräparaten aus Symptom-tragenden

Testpflanzen konnten mittels TEM isometrische Partikel mit einem Durchmesser von 28 nm dargestellt werden. Aufgrund der an den Testpflanzen auftretenden Symptome und der unter dem TEM beobachteten Partikelmorphologie wurde eine Infektion der Rosen mit einem *Nepovirus* vermutet. Daraufhin wurden RT-PCRs zum Nachweis von Nepoviren der Subgruppen A und B durchgeführt (Wei & Clover 2008). Die Sequenzanalyse von spezifischen PCR-Produkten aus erkrankten Rosen und infizierten Biotestpflanzen ergab eine Infektion mit dem Raspberry ringspot nepovirus (RpRSV). Eine RpRSV-Infektion der Rosensorten Escimo, Trier 2000, Alea, Kurfürstin Sophie und Leonardo da Vinci konnte durch eine Spezies spezifische RT-PCR (Ochoa-Corona *et al.*, 2005) durch Amplifikation eines Fragments der viralen RNA2 bestätigt werden. Mit dieser Arbeit konnte damit erstmals RpRSV in der Edelrose mit Symptomen wie Mosaik und Adernvergilbung detektiert werden (von Bargaen *et al.*, 2015).

Literatur

von Bargaen, S., Demiral, R., Büttner, C., 2015: First detection of Raspberry ringspot virus in mosaic diseased hybrid roses in Germany. *New Disease Reports* 32, 18.

Ochoa-Corona, F. M., Lebas, B. S. M., Tang, J., Bootten, T. J., Stewart, F. J., Elliot, D. R., Alexander, B. J. R., (2005): Diagnosis and strain typing of Pepino mosaic virus and Raspberry ringspot virus by RT-PCR and SSCP. *The 15th biennial Australasian plant pathology society conference handbook*, 259 S.

Wei, T. & Clover, G., (2008): Use of the primers with 5' non-complementary sequences in RT-PCR for the detection of nepovirus subgroups A and B. *Journal of Virological Methods* 153, S. 16-21. doi: 10/1016/j.jviromet.2008.020

Untersuchungen zum Nachweis des Calibrachoa mottle virus (CbMV) mit *antibody mimics* aus Phagenbibliotheken

Klinkenbuß, Dominik¹; Dübel, Stefan²; Hust, Michael²; Maiß, Edgar¹

¹Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

²Technische Universität Braunschweig, Institut für Biochemie, Biotechnologie und Bioinformatik, Biotechnologie, Spielmannstraße 7, 38106 Braunschweig, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: klinkenbuss@ipp.uni-hannover.de

Trotz der kontinuierlichen Entwicklung neuerer und scheinbar fortschrittlicherer Methoden und Techniken für die Erkennung und Identifizierung von Pflanzenviren, eignen sich nur wenige dieser Methoden für Routinetests in Laboratorien. Aufgrund einzigartiger Merkmale, wie zum Beispiel die robuste Funktionalität bei einer genauen Reproduzierbarkeit, sind bis heute der *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) und die *real-time polymerase chain reaction* (qPCR) zwei der meist genutzten Diagnosetools. Ein Ziel der hier vorliegenden Studie war die Identifikation von sogenannten „*antibody mimics*“ aus einer Phagenbibliothek gegen das Calibrachoa mottle virus (CbMV).

Nach Untersuchungen an anderen Pflanzenviren mit den kommerziell erhältlichen Phagenbibliotheken Ph.D.TM-12, Ph.D.TM-C7C und den scFv-Bibliotheken Tomlinson I/J, die zu keinen positiven Ergebnissen führten, wurde zusätzlich eine gemischte scFv-Bibliothek aus HAL9/HAL10 verwendet. Es wurde außerdem eine Methode getestet, in der die gesamte Bibliothek gegen gesunden Pflanzensaft präinkubiert und danach gegen infizierten Pflanzensaft gescreent wurde. Es konnten Phagen identifiziert werden, die eine positive Reaktion mit exprimierten Hüllproteinen oder infiziertem Pflanzensaft aufwiesen, die meisten Phagen zeigten jedoch zusätzlich eine Interaktion mit gesundem Pflanzenmaterial. Fünf gegen das CbMV gerichtete Phagen zeigten eine signifikante Reaktion mit infizierten *Nicotiana benthamiana* in ELISAs und führten zu starken Signalen ohne eine unspezifische Reaktion mit gesundem Pflanzenmaterial zu zeigen. Die Ergebnisse weisen darauf hin,

dass auf Phagen basierende „*antibody mimics*“ ein wertvolles ergänzendes Werkzeug für die Verbesserung von Pflanzenvirusnachweisen in ELISAs sein können.

Charakterisierung eines unbekanntes Tobamovirus aus *Piper*

*Menzel, Wulf*¹; *Winter, Stephan*¹; *Westerman, Anja*² & *Heldens, Jos*²

¹Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Pflanzenviren, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, Deutschland

²Iribov SBW, Middenweg 591b, 1704 BH Heerhugowaard, Niederlande

Kontakt-E-Mail-Adresse: wulf.menzel@dsmz.de

Mehrere *Piper* spec. tropischen Ursprungs sind von wirtschaftlicher Bedeutung. Neben den für die landwirtschaftliche Pfeffer Produktion angebauten finden einige als Zierpflanzen Verwendung. Im Frühjahr 2014 wurden mehrere stark chlorotische Pflanzen einer Zierpflanzen *Piper*-Art in den Niederlanden beobachtet. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten das Vorhandensein von stäbchenförmigen Partikeln, die denen von Tobamoviren ähnelten. Nach mechanischer Inokulation konnte dsRNA von ca. 6,5 kbp aus systemisch infizierten *Nicotiana benthamiana* Pflanzen extrahiert werden, was ebenfalls auf ein Tobamovirus schließen ließ. Diese dsRNA diente als Template für eine random RT-PCR Ansatz. Die so ermittelte Sequenz zeigte eine für Tobamoviren typische Genomorganisation mit vier ORFs und deckt nahezu den gesamten kodierenden Bereich von bekannten Tobamoviren ab (es fehlen ca. 140 N-terminale Aminosäuren der Replikase). Die ermittelte Sequenz zeigt die höchste nt-Sequenzidentität mit 67,4% zu einem Isolat des odontoglossum ringspot virus. Auch wenn noch nicht die vollständige Sequenz ermittelt werden konnte, kann dieses Virus auf Basis der molekularen ICTV Spezies Demarkationskriterien (<90% nt-Identität) als Isolat einer neuen Tobamovirus Spezies angesehen werden. Für das Virus wird der Name piper chlorosis virus (PChV) vorgeschlagen und das Isolat ist bei der DSMZ unter der Nummer PV-1126 erhältlich.

Nachweis eines neuen Potyvirus: Night shade veinal mottle virus (NSVMV) aus *Solanum nigrum* und *Nicotiana benthamiana*

*Schimmel, Jessica*¹; *Büttner, Carmen*²; *Meyhöfer, Rainer*³ & *Maiß, Edgar*⁴

¹Leibniz Universität Hannover, Institut für Bodenkunde, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

²Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland

³Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Entomologie, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

⁴Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Phytomedizin, Pflanzenvirologie, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: schimmel@ifbk.uni-hannover.de

Verschiedene Nachtschattengewächse (*Solanum* spp.) haben in Afrika eine große wirtschaftliche Bedeutung. Im Rahmen des Forschungsverbundes Horticultural Innovation and Learning for Improved Nutrition and Livelihood in East Africa (HORTINLEA) befasst sich ein Teilprojekt mit der Diagnose von Virusinfektionen. Ziel ist es, mögliche Viren schnell zu identifizieren und spezifisch nachweisen zu können.

In virusinfiziertem Probenmaterial aus *Solanum nigrum* wurden in ersten Arbeiten Sequenzen gefunden, die Ähnlichkeiten zu Pepper veinal mottle virus (PVMV) und dem Chilli veinal mottle virus (ChiVMV) zeigten. Eine Deep Sequencing Analyse lieferte letztlich eine nahezu vollständige Sequenz,

die nur zu 70-75 % identisch mit dem PVMV und dem ChiVMV ist. Die größten Sequenzunterschiede liegen im P1 und P3 Cistron. Aufgrund der beobachteten Symptome auf *Solanum* spp. und der Sequenzunterschiede zu den beiden oben genannten Viren wurde das neue Virus vorläufig als Night shade vein mottle virus (NSVMV) benannt.

In einem DAS-ELISA sollte überprüft werden, ob spezifische Antiseren für das PVMV bzw. für das ChiVMV ebenfalls zum Nachweis des NSVMV genutzt werden können, da in den Hüllproteinsequenzen aller drei Viren eine erhebliche Übereinstimmung gefunden wurde. Es zeigte sich, dass ein Antiserum gegen das PVMV für das NSVMV zu einem positiven Signal sowohl aus *Solanum* spp. als auch aus *Nicotiana benthamiana* führte, nicht jedoch ein Antiserum gegen das ChiVMV. Um zusätzlich einen Nachweis mittels RT-PCR zu ermöglichen, wurden verschiedene Primerpaare erstellt, die jeweils spezifisch eines der drei Viren nachweisen sollten. Weiterhin wurde ein Primerpaar (CP-Primer) so gewählt, dass ein Nachweis aller drei Viren parallel in einer RT-PCR stattfinden kann. Es zeigte sich, dass die spezifischen Primer für das PVMV und das NSVMV zu einem positiven Nachweis in der PCR führten. Das Primerpaar für das ChiVMV führte zu keinem eindeutig positiven Nachweis. Mit den CP-Primern ist ein Nachweis aller Viren in der RT-PCR möglich.

Self-assembly of hematite (Fe₂O₃) binding tomato bushy stunt viruses (TBSV)

*Hofherr, Linda*¹; *Rink, Veronika*¹; *Braun, Mario*²; *Boonrod, KaJohn*²; *Müller-Renno, Christine*¹; *Krczal, Gabi*² & *Ziegler, Christiane*¹

¹Fachbereich Physik und Forschungszentrum Optimas, TU Kaiserslautern, Erwin Schrödinger Str. 56, 67663 Kaiserslautern, Deutschland

²RLP AgroScience GmbH, AlPlanta - Institut für Pflanzenforschung, Breitenweg 71, 67435 Neustadt, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: gabi.krczal@agrosience.rlp.de

In nanotechnology fabrication technologies based on a top-down approach reach physical and technical limits. Therefore, bottom-up approaches have been of increasing interest, where small building blocks form larger elements through self-assembly. Because of their advantageous properties, plant viruses with simple structures and high potential for self-assembly are suitable for these applications. In former experiments, genetically modified TBSV (with additional histidine and aspartic acid residues) already showed an enhanced self-assembling behavior compared to the wildtype [1]. However, for future applications it is desirable to produce a homogeneous two-dimensional virus monolayer over an area of several micrometers. For this purpose, the surface coverage of a hematite (Fe₂O₃) binding TBSV-type was investigated on silicon, hematite and magnetite in comparison. In addition the influence of a magnetic field during the self-assembling process was investigated. All measurements were done by scanning force microscopy (SFM).

All the investigated surface materials showed a coverage with a highly ordered hexagonally closed virus structure. In addition the surface area covered by genetically modified hematite-binding TBSV particles was much higher than seen for other virus types investigated in former experiments (wildtype, Asp, Arg) [1] and lies in the range of several micrometers.

Interestingly, the application of a magnetic field during the self-assembling process influences the formation of defects within the virus crystals in a positive way. On silicon the defects change from irregularly shaped islands without crystals to point defects in the size range of the virus. On hematite the defects get line shaped with a much better order. On magnetite no clear effect by the magnetic field could be recorded. The reasons for these phenomena will be discussed.

References

[1] "Tomato bushy stunt viruses (TBSV) in nanotechnology investigated by scanning force and scanning electron microscopy", A. Lüders, C. Müller, K. Boonrod, G. Krczal, Ch. Ziegler, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 91 (2012) 154-161

Detection of plant viruses in declining urban birch trees in Berlin

Landgraf, Maria¹; Gehlsen, Johannes¹; Rumbou, Artemis¹; Bandte, Martina¹; von Barga, Susanne¹; Schreiner, Martin²; Jäckel, Barbara² & Büttner, Carmen¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland

²Pflanzenschutzamt Berlin, Mohriner Allee 137, 12347 Berlin, Deutschland

Kontakt-E-Mail-Adresse: landgram@hu-berlin.de

Seit einiger Zeit werden an Birken (*Betula* spp.) im Berliner Bezirk Steglitz-Zehlendorf virusverdächtige Symptome beobachtet. Insbesondere Straßenbäume zeigen auffällige Degenerationen im Wuchs und typische Blattsymptome wie Chlorosen, Nekrosen und andere Form- und Farbveränderungen wie sie z. B. bei *Cherry leaf roll virus* (CLRV), *Arabis mosaic virus* (ArMV) und *Apple mosaic virus* (ApMV) auftreten. Damit verbunden sind ein intensiver Kahlschnitt und ein frühzeitiger Abgang. Straßenbäume sind oft einem extremen abiotischen Stress durch Wasser- und Nährstoffmangel bzw. Autoabgasen ausgesetzt. Viren haben an derartig vorgeschädigten Bäumen beste Voraussetzungen für Infektionen. Virusverdächtiges Blattmaterial wurde im Frühjahr 2015 gesammelt und im Labor mittels molekularbiologischer Methoden (RNA Extraktion, RT-PCR) auf das Vorhandensein von CLRV und anderer Viren untersucht. Die Erfassung von viralen Infektionen und die Kenntnis über die Epidemiologie dieser Viren an den Bäumen können sich positiv auf die Auswahl von Pflanzgut für die Wiederaufpflanzung oder auf die Kultivierungs- und Pflegemaßnahmen auswirken.