



**53. JAHRESTREFFEN DES ARBEITSKREISES
“VIRUSKRANKHEITEN DER PFLANZEN“
15. bis 16. März 2021**

**Programm,
Abstracts Vorträge/Poster und Teilnehmerliste**

Erstellung Tagungsband: Sabine von Tiedemann

DPG-Arbeitskreisleitung: Mark Varrelmann & Björn Krenz

15.03.2021 Programm	
9.00-9.30	Begrüßung und Organisation (Mark Varrelmann und Björn Krenz)
9:30-12:00 Sektion I (Chair: Mark Varrelmann)	
9:30	Übersichtsvortrag: Central role of dsRNA in plant-virus interactions <i>Heinlein M</i>
10:20	Illuminating SBWMV-host interaction – Subcellular localization of CP-RT during infection <i>Nico Sprotte, Claudia Janina Strauch, Sabine Bonse and Annette Niehl</i>
10:40	New approaches to the identification and selection of wheat dwarf virus tolerance in wheat <i>Pfrieme A-K, Habekuss A, Will T</i>
11:00	Five new Mycoviruses isolated from <i>Nectriaceae</i> species correlating with Apple Replant Disease <i>Pielhop T, Popp C, Fricke S, Knierim D, Maiss E</i>
11:20	For the maturation of the coat proteins of <i>Fusarium graminearum</i> virus China 9 (FgC-ch9) host factors are required <i>Heinze C, Lutz T, Petersen J, Yannik C, de Oliveira C</i>
11:40	Movement and replication of cassava brown streak virus in cassava (<i>Manihot esculenta</i> Crantz) <i>Sheat S, Margria P, Winter S</i>
12:00-13:30 Pause oder Get together mit Wonder	
13:30-15:00 Poster-Vorstellung in Reihenfolge 1-12 (Chair: Björn Krenz)	
15:00-16:00 Poster-Session mit Wonder	
16:00-18:15 Sektion II (Chair: Wilhelm Jelkmann)	
16:00	Erfahrungen mit einem von der Fa. Eurofins angebotenen Verfahren zur Entwicklung von Sonden und Primern zum hochempfindlichen qPCR-Nachweis von <i>Tobacco rattle virus</i> RNA1 und RNA2 <i>R. Koenig, I. Hilbrich, C. Hieronymus, K. Lindner</i>
16:20	Auftreten von Virose an Klimabäumen in der Metropolregion Hamburg <i>Bandte M, Günther I, Gaskin T, Wersuhn D, Rehanek M, Fernandez H, von Barga S, Rybak M, Büttner C</i>
16:40	Hochdurchsequenzierung (HTS) für eine schnelle und zuverlässige Identifizierung von Viren in infizierten Pflanzen, zur Überprüfung von gesundem Pflanzgut und zur Qualitätssicherung von virologischem Referenzmaterial <i>Margaria P, Menzel W, Winter S</i>
17:00	Survey on the occurrence of the <i>Grapevine pinot gris virus</i> in German wine-growing regions <i>Noemi Meßmer, Patricia Bohnert, Ralf T. Vögele, René Fuchs</i>
17:20	Zusammenfassung der dreijährigen Untersuchungen zur Verbreitung der Vergilbungsviren bei Zuckerrüben in Europa und Entwicklung spezifischer RT-qPCR Nachweise <i>Wulf Menzel, Mark Varrelmann</i>
17:40	Entwicklung von Verfahren zur Reduzierung virusbedingter Qualitätsmängel bei Züchtung und Vermehrung von Knoblauchpflanzgut <i>Katja R: Richert-Pöggeler, Jennifer Born, Sonja Lange, Nadine Liebig, Christina Maas, Christine Nagel, Dirk Schmalowski, Sabine Schuhmann</i>
18:00	Kurzvortrag für die Praxissektion: Untersuchungen von Proben mit Verdacht auf eine <i>Plantago asiatica mosaic virus</i> Infektion zeigen die Existenz von zwei weiteren Potexviren <i>Wulf Menzel, Dennis Knierim, Paolo Margaria, Stephan Winter</i>

16.03.2021	Programm
9:00-11:30	Sektion III (Chair: Christina Wege)
9:00	Übersichtsvortrag: Investigating geminiviruses: news from the nucleus and beyond <i>Lozano-Durán R, Mengshi Wu, Hua Wei, Huang Tan, Liping Wang, Laura Medina-Puche</i>
9:50	Die <i>Arabidopsis thaliana</i> G3BP-Familie: Freund oder Feind pflanzenviraler Infektionen? <i>Hendrik Reuper, Khalid Amari, Björn Krenz</i>
10:10	Interaction of Aux/IAA proteins in sugar beet with the viral pathogenicity factor p25 of <i>Beet necrotic yellow vein virus</i> <i>Max Muellender, Mark Varrelmann, Sebastian Liebe</i>
10:30	Targeted mutagenesis in plants using <i>Beet curly top virus</i> for efficient delivery of CRISPR/Cas components <i>Eini O, Schumann N, Niessen M, Varrelmann M</i>
10:50	The N-terminus of the coat protein of cucumber vein yellowing virus significantly affects the infection process and transmission <i>Svenja Lindenau, Stephan Winter, Paolo Margaria</i>
11:10	Application of a reverse genetic system for <i>Beet necrotic yellow vein virus</i> to study <i>Rz1</i> resistance breaking in sugar beet <i>Sebastian Liebe, Edgar Maiss, Mark Varrelmann</i>
11:30-12:30	Pause mit Wonder
12:30-14:50	Sektion IV (Chair: Carmen Büttner)
12:30	Phosphorylations of the Abutilon mosaic virus movement protein affect its self-interaction, symptom development, viral DNA accumulation and host range <i>Kleinow T, Happle A, Kober S, Linzmeier L, Rehm TM, Fritze J, Buchholz PCF, Kepp G, Jeske H, Wege C</i>
12:50	Exploration of the small RNA landscape in <i>Petunia hybrida</i> infected with latent viruses and a pospiviroid using high throughput sequencing <i>Chofong G. N., Ralf Horres, Kattja R. Richert-Pöggeler</i>
13:10	Characterization of aspen mosaic-associated virus (AsMaV) as a novel emaravirus causing the mosaic-disease of Eurasian aspen (<i>Populus tremula</i>) <i>von Bargen S, Al Kubrusli R, Gaskin T, Fül S, Hüttner F, Blystad D-R, Karlin D G, Jalkanen R, Büttner C</i>
13:30	A new emaravirus in Common oak (<i>Quercus robur</i> L.) contains a pentamerous RNA genome <i>Marius Rehanek, Susanne von Bargen, Martina Bandte, David G. Karlin, Carmen Büttner</i>
13:50	Genetic diversity of aspen mosaic-associated virus based on RNA3 <i>Nourinejhad Zarqhani S, Iancev S, Al Kubrusli R, Jalkanen R, von Bargen S, Büttner C</i>
14:10	Viral infection in birch and their significance on pollen production and allergenicity <i>Landgraf M, von Bargen S, Luschkova D, Kolek F, Köpke K, Opoku B, Pack K, Ranpal S, Sieverts M, Wörl V, Damialis A, Gilles S, Traidl-Hoffmann C, Büttner C, Jochner-Oette S</i>
14:30	Infection proces of plant viruses on <i>Cucumis sativus</i> and their influence on the fruit texture <i>Anne-Katrin Kersten, Sabrina Scharf, Martina Bandte, Peter Lentzsch, Peter Meurer, Carmen Büttner</i>
14:50-15:20	Verleihung Posterpreis, Planung AK 22 und Farewell (Björn Krenz und Mark Varrelmann)

Übersicht der Poster

Poster Nr. 1

Nachweis der Interaktion von PNYDV M-Rep mit NSP *in planta*

Behnecke M¹, Garnelo Gómez B², Lozano-Duran R², Krenz B¹

Poster Nr. 2

Soil-borne wheat mosaic virus movement protein: investigating the localizations and interactions

Claudia Janina Strauch, Nico Sprotte, Sabine Bonse and Annette Niehl

Poster Nr. 3

Auftreten des aspen mosaic-associated virus (AsMaV) und des Poplar mosaic virus (PopMV) in Pappeln (*Populus* sp.) im nördlichen Europa

Occurrence of aspen mosaic-associated virus (AsMaV) and poplar mosaic virus (PoPMV) in Populus spp. in Northern Europe

Rim Al Kubrusli¹, Risto Jalkanen², Dag-Ragnar Blystad³, Carmen Büttner¹, Susanne von Bargaen¹

Poster Nr. 4

Heterologe Expression des p3 Nukleokapsidproteins des common oak ringspot-associated virus (CORaV)

Heterologous expression of the p3 nucleocapsid protein of the common oak ringspot-associated virus (CORaV)

Kahn-Cleland R, Rehanek M, von Bargaen S, Büttner C

Poster Nr. 5

Complete genome sequence of a German isolate of *Spartina mottle virus* supports its classification as a member of the proposed genus "*Sparmovirus*" within the family *Potyviridae*

Rose H¹, Menzel W², Knierim D², Rabenstein F³, Maiss E¹

Poster Nr. 6

Complete genome sequence and construction of an infectious full-length clone of a potyvirus from African nightshade

Rose H, Griesbach I, Maiss E

Poster Nr. 7

Use of hyperspectral sensing for detection of *Turnip yellows virus* infection in *Nicotiana benthamiana*

Hossain, R¹, Ispizua Yamati, FR¹, Barreto Alcántara, AA¹, Savian, F^{2,3}, Varrelmann, M¹, Mahlein A-K¹, Paulus, S¹

Poster Nr. 8

Investigation of translation initiation of sugar beet infecting poleroviruses

Rollwage L, Hossain R, Varrelmann M

Poster Nr. 9

BioSam - Survey and characterization of JKI's collections of arthropods, viruses, and invasive crop pests concerning climate change

Rabia Ilyas, Katja Richert-Pöggeler, Heiko Ziebell

Poster Nr. 10

Etablierung des JKI als Nationales Referenzlabor - Akkreditierung des „Prüflaboratoriums JKI“ nach DIN EN ISO/IEC 17025

Heiko Ziebell, Florian Bittner

Poster Nr. 11

Erste Ergebnisse zu Viruserkrankungen an Gemeinen Eschen in einer süddeutschen Samenplantage

Kira Köpke¹, Maria Landgraf¹, Susanne von Bargen¹, Anna-Katharina Eisen², Susanne Jochner Oette², Carmen Büttner¹

Poster Nr. 12

Current status of the nanovirus *Pea necrotic yellow dwarf virus* (PNYDV)

Judith N. Seeger¹, Heiko Ziebell², Chistiane Then², Thomas Astor³, Herwart Böhm⁴, Helmut Saucke¹

Poster Nr. 13

The Julius Kühn-Institut becomes a new member of the European Virus Archive

Richert-Pöggeler, KR¹, Niehl A¹, Wilhelm Jelkmann², Heiko Ziebell¹

Poster Nr. 14

First Finding of... Meldepflicht von Schadorganismen an Pflanzen in Deutschland

Wilstermann, A

Sektion I

Übersichtsvortrag: Central role of dsRNA in plant-virus interactions

Heinlein M

Institute of Plant Molecular Biology / Institut de Biologie Moléculaire des Plantes (IBMP), CNRS | University of Strasbourg; 12 rue du Général Zimmer, F-67000 Strasbourg, France

Email: manfred.heinlein@ibmp-cnrs.unistra.fr

Plant viruses rely on macromolecular assembly and transport pathways for replication and for targeting the plasmodesmata (PD) for cell-to-cell movement (Heinlein 2015, 2020; Pitzalis and Heinlein, 2017). Our team investigates these processes in the context of plant defense responses and is also interested to identify mechanisms leading to disease. Viral replication is associated with the production of dsRNA, and the role of viral dsRNA in triggering antiviral RNA silencing is well documented. In a recent study using Turnip mosaic virus TuMV) in oilseed rape (*Brassica napus*), we applied next generation profiling and other techniques to determine the potential role of small RNAs in cells at the spreading virus front. The results have shown that both virus- and host-derived small RNAs participate in the conversation between the host and the invading virus (Pitzalis et al., 2020). In addition to RNA silencing, dsRNA also elicits Pattern-Triggered-Immunity (PTI) (Kørner et al., 2013; Niehl et al., 2016) and our further studies are aimed to identify the dsRNA-triggered signaling pathway and the mode of action through which triggered PTI inhibits viral propagation.

Despite the engagement of RNA silencing and PTI in antiviral plant defense, viruses can induce severe damages on cultivated plants. To understand the mechanism of virus-induced diseases, we investigated Arabidopsis plants infected with *Oilseed rape mosaic virus* (ORMV). Under short day growing conditions, infected plants develop 'symptoms recovery', thus the occurrence of healthy leaves on the otherwise symptomatic plant. Consistent with studies indicating that recovery involves antiviral RNA silencing, we found that recovery depends on the 21-22 nt siRNA-mediated post-transcriptional gene silencing (PTGS) pathway and on components of the transcriptional gene silencing (TGS) pathway known to play a role in non-cell-autonomous silencing signaling. However, interestingly, the virus was not silenced in the recovered tissues but continued to replicate normally. Rather, recovery was correlated with the loss of activity of the viral suppressor of RNA Silencing (VSR). These and other observations led us to conclude that recovery occurs upon achievement of a tolerant state in which VSR activity is controlled and both the virus and its host can exist together without causing disease (Kørner et al., 2018).

In a more applied study, we joined efforts to develop dsRNAs as defense activators for plant protection. Consistent with the central role of dsRNA in triggering antiviral defense we could demonstrate a protective, anti-viral effect of virus-homologous dsRNA applied to the surface of leaves. Moreover, in collaboration with a research team at the University in Helsinki, we established a dsRNA-producing platform in bacteria, which can be scaled up in fermenters and uses RNA-dependent-RNA polymerases to produce high quality, fully duplexed, dsRNA (Niehl et al., 2018). As a unique feature, this system produces dsRNAs that are several kb in length. Application of such dsRNAs leads to a large pool of siRNAs in the inoculated cells, thus minimizing the risk of resistance. Moreover, the dsRNAs can be designed to target several pests simultaneously. Further studies may lead to the development and application of dsRNAs as novel, environmentally safe RNAi pesticides in crops.

LITERATURE

- Heinlein M (2020) "Movement of Viruses in Plants" in: Encyclopedia of Virology, fourth edition (Dennis Bamford, Mark Zuckerman, eds.); in press
- Pitzalis N, Amari K, Graindorge S, Pflieger D, Donaire L, Wassenegger M, Llave C, Heinlein M (2020) Turnip mosaic virus in oilseed rape activates networks of sRNA-mediated interactions between viral and host genomes. *Commun. Biol.* 3, 702
- Pitzalis N, Heinlein M (2017) The roles of membranes and associated cytoskeleton in plant virus replication and cell-to-cell movement. *J. Exp. Bot.* 69, 117-132
- Heinlein M (2015) Plant virus replication and movement. *Virology* 479-480, 657-671
- Kørner CJ, Pitzalis N, Peña EJ, Erhardt M, Vazquez F, Heinlein M (2018) Crosstalk between PTGS and TGS pathways in natural antiviral immunity and disease recovery. *Nature Plants* 4, 157-164
- Niehl A, Soininen M, Poranen MM, Heinlein M (2018) Synthetic biology approach for plant protection using dsRNA. *Plant Biotechnol. J.* 16, 1679-1687
- Kørner CJ, Klausner D, Niehl A, Domínguez-Ferreras A, Chinchilla D, Boller T, Heinlein M, Hann D (2013): The immunity regulator BAK1 contributes to resistance against diverse RNA viruses. *Mol. Plant Microbe Interact.* 26, 1271-1280

Illuminating SBWMV-host interaction – Subcellular localization of CP-RT during infection

Nico Sprotte, Claudia Janina Strauch, Sabine Bonse and Annette Niehl

Julius Kühn-Institut, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Messeweg 11-12, D-38104 Braunschweig, Germany

Email: nico.sprotte@julius-kuehn.de

Soil-borne cereal viruses cause substantial crop losses and therefore represent an extensive threat for agriculture in Europe, Asia and America. The Furovirus Soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV) infects several crop species like wheat, rye or barley and is transmitted by a soil-borne plasmodiophorid, called *Polymyxa graminis*. Resistance against Furovirus infection is barely described; in wheat, the *Sbm1* and *Sbm2* genes code for a translocation resistance, which restricts the infection to the plant roots. The infection of the roots or the translocation of the virus into upper plant tissues depends on the viral movement protein (MP) and coat protein–readthrough (CP-RT) protein. We modified a SBWMV cDNA clone to express fluorescent CP-RT fusion proteins (CP-RT:FP) to illuminate their subcellular localization and uncover their function during virus infection.

The subcellular localization of the CP-RT:FP was compared with fluorescent marker proteins expressed in *Nicotiana benthamiana* mutants as well as wildtype plants, which were transiently transformed by *Agrobacterium*-infiltration prior to virus infection. Fluorescent infection sites were studied by confocal laser scanning microscopy. First results indicate, that the CP-RT:FP colocalizes with the endoplasmic reticulum.

Further knowledge about the viral proteins could provide new ideas for the development of resistance strategies against soil-borne viruses.

New approaches to the identification and selection of wheat dwarf virus tolerance in wheat

Pfrieme A-K, Habekuss A, Will T

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Erwin-Baur-Straße 27, D-06484 Quedlinburg, Germany

Email: anne-kathrin.pfrieme@julius-kuehn.de

Wheat dwarf virus (WDV) is an important pathogen in wheat and other cereals in many European countries, e.g. Hungary, Spain and Germany. WDV is transmitted by the leafhopper *Psammotettix alienus*. Symptoms of a WDV infection on wheat include chlorosis, dwarfing and streaking along with high yield loss. Due to climate change, the incidence of insect-transmitted viruses will become more important worldwide due to the extended survival time of the vector as well as its increasing spreading area. The absence of approved insecticides against *Psammotettix alienus* renders growing of WDV resistant varieties, the only effective way to control WDV.

The assessment of resistant lines is based on inoculation with virus bearing leafhoppers and subsequent phenotyping in gaze houses. For a successful screening of resistant plant genotypes, it is important to ensure an even inoculation of plants. Abiotic conditions, especially temperature, have a crucial influence on the success of the inoculation. In previous approaches, the inoculation of plants took place under semi-field conditions in gauze houses. Considerable fluctuations in the infection rates were observed and spontaneous infections could occur after warm winters. Furthermore, the stock of cicadas living in captivity had to be rebuilt after each infection, which delayed the screening process. As a part of an actual project on marker-based selection for WDV tolerance in wheat, we have addressed this problem and developed an improved approach. In this methodology, plants are inoculated in small greenhouses and are subsequently planted out in the gaze houses. This gives the leafhoppers optimal environmental conditions for WDV transmission and WDV infection can develop under natural environmental conditions. In addition, the virus bearing leafhoppers can be removed from the plants after infection, so that a sustainable use of the animals is possible.

Five new Mycoviruses isolated from Nectriaceae species correlating with Apple Replant Disease

Pielhop T¹, Popp C¹, Fricke S¹, Knierim D², Maiss E¹

¹Leibniz University Hannover, Institute of Horticultural Production Systems, Sect. Phytomedicine, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover; ²Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig

Email: pielhop@ipp.uni-hannover.de

Mycoviruses are known since 1962 [1]. They occur in most of the fungal taxa [2]. About 70 % have a dsRNA genome, approximately 30 % a (+)ssRNA genome and they are clustered into 14 families [2,3]. Next generation sequencing led to a fast increase in publications about mycoviruses in recent years, but their interactions with fungi are often unclear. Even if most infections with mycoviruses remain asymptomatic, there are some species, which have either a hypo- or a hypervirulent effect on their fungal hosts [4,5]. Such changes in host virulence make mycoviruses on the one hand side interesting for virulence studies of their hosts and on the other hand as biocontrol-agents of phytopathogenic fungi [6].

In this study, several Nectriaceae species were isolated from apple roots suffering from apple replant disease (ARD). The fungi were screened with dsRNA extraction for putative viral infections. With Illumina sequencing, followed by RNA end determinations, complete sequences of five new mycoviruses were determined. These viruses were classified into four families by phylogenetic analyses. One is assigned to the proposed family Alternaviridae. Furthermore, new members of the

families Quadri-, Chryso-, and Mitoviridae were found. The fifth virus was not assigned to a family and clustered with unassigned dsRNA mycoviruses. To investigate whether a mycovirus has an impact on the virulence of the phytopathogenic host fungus, a curing protocol with cycloheximide was established. With the cured fungi, the mycoviral impact on ARD etiology can be tested in future.

LITERATURE

- [1] Hollings, M. (1962): Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom. In: Nature 4858 (196) 962-965
- [2] Ghabrial, S.A.; Castón, J.R.; Jiang, D.; Nibert, M.L.; Suzuki, N. (2015): 50-plus years of fungal viruses. In: Virology 479-480 (2015) 356-368
- [3] King, A.M.; Adams, M.J.; Lefkowitz, E.J. (2011): Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses: Elsevier
- [4] Craven, M. G.; Pawlyk, D. M.; Choi, G. H.; Nuss, D. L. (1993): Papain-Like protease p29 as a symptom determinant encoded by a hypovirulence-associated virus of the chestnut blight fungus. In: Journal of Virology 67 (11): 6513-6521
- [5] Özkan, S.; Coutts, R. H. A. (2015): *Aspergillus fumigatus* mycovirus causes mild hypervirulent effect on pathogenicity when tested on *Galleria mellonella*. In: Fungal Genetics and Biology 76 (2015) 20-26
- [6] Pearson, M.N.; Beever, R.E.; Boine, B.; Arthur, K. (2009). Mycoviruses of filamentous fungi and their relevance to plant pathology. In: Molecular Plant Pathology 10: 115-128

For the maturation of the coat proteins of *Fusarium graminearum* virus China 9 (FgC-ch9) host factors are required

Heinze C, Lutz T, Petersen J, Yannik C, de Oliveira C

University of Hamburg, Institute of Plant Science and Microbiology, Molecular Plant Pathology, Ohnhorststr. 18, D-22609 Hamburg, Germany

Email: cornelia.heinze@uni-hamburg.de

Yet, very little is known about the replication of the hypovirulence inducing mycovirus *Fusarium graminearum* virus China 9 (FgV-ch9), which belongs to the genus Chrysovirus within the family of Chrysoviridae (Darissa et al., 2011). Even though it has a strong potential for the use as biocontrol agent, much research needs to be done regarding its application, host range, pathogenicity and replication before it can be implemented into the control of the *Fusarium* Head Blight disease. The two viral structural proteins P2 and P3, encoded on segment 2 and 3, respectively, are putative capsid proteins. Both proteins mature by the removal of their C-termini. For the investigation of the maturation, we developed an assay, which works with enriched full-length wild type proteins obtained by a simplified protocol for polysome extraction as well as with heterologous expressed proteins, which allows site directed mutagenesis for putative cleavage sites. The assay, referred to as the in vitro capsid cleavage assay, confirmed unequivocally that the processing of P2 and P3 is a process performed by factors encoded by *F. graminearum*. While we detected both proteins to be in their complete length when incubated in an extract of *E. coli*, we observed after the incubation in cell extracts of other fungi, plants and an insect the cleavage of both proteins. This led us to conclude that all these organisms possess host factors with similar proteolytic activities to cleave P2 and P3 and maturation is therefor not species specific.

LITERATURE

Darissa O; Willingmann P; Schäfer W; Adam G (2011) A novel double-stranded RNA mycovirus from *Fusarium graminearum*: nucleic acid sequence and genomic structure. *Archives of Virology* 156: 647-658

Movement and replication of cassava brown streak virus in cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

Sheat S, Margria P, Winter S

Leibniz-Institute DSMZ, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

Email: samar.sheat@dsmz.de

Cassava brown streak disease caused by the Ugandan cassava brown streak virus and cassava brown streak virus (U/ CBSV) is the most devastating cassava disease in East and Central Africa. We followed CBSV plant invasion and virus movement in susceptible cassava. We confirmed that the virus was translocated rapidly to the roots (first sink tissue), where it replicates before further movement to above-ground tissues occurs (second sink tissue). No resistance in African cassava varieties was found; however, resistant plants were identified in the South American cassava germplasm in two groups. In the first one, the highly resistant cassava virus infection didn't establish, while in another group, the virus was restricted to the root. We studied virus movement and invasion in the resistant cassava grafted on virus-infected rootstock using RNAscope® in situ hybridization technique. In the highly resistant cassava, only traces of CBSV were found in the external phloem in the stem, while in the cassava that restricts the virus to the root, CBSV was found in the external and internal phloem. This was in contrast to susceptible cassava, where the virus was present in different cell types combined with high replication levels. Using a marker for the phloem cells, we showed that the resistance mechanism against CBSV manifested by preventing the virus from unloading in sink tissues (leaves and tubers) and restricting the virus to the phloem cells (companion cells) only.

Virus distribution in mixed infections between the related viruses U/ CBSV was followed in susceptible cassava plants. Our results showed superinfection exclusion at the tissue level in the mixed infection.

This study revealed that the phloem presents a critical barrier to virus invasion and replication and plays a crucial role in determining resistance in cassava against U/ CBSV from one side while it points to exclusion between the two viruses in the mixed infection at the tissue levels.

Sektion II

Erfahrungen mit einem von der Fa. Eurofins angebotenen Verfahren zur Entwicklung von Sonden und Primern zum hochempfindlichen qPCR-Nachweis von Tobacco rattle virus RNA1 und RNA2

R. Koenig, I. Hilbrich, C. Hieronymus, K. Lindner

Julius-Kühn Institut, Messeweg 11, 38104 Braunschweig

Das durch Trichodoriden übertragene Tobacco rattle virus (TRV) hat einen sehr weiten Wirtspflanzenkreis, der sowohl monokotyle als auch dikotyle Pflanzen umfasst. Zu besonders gravierenden Schäden kommt es vor allem in Kartoffeln und verschiedenen Zierpflanzenkulturen. Da eine direkte Bekämpfung der zur Übertragung notwendigen Nematoden nicht möglich ist, bietet der Anbau von virus-resistenten Sorten die einzige Möglichkeit zur Vermeidung von gravierenden Ertragsausfällen. Voraussetzung für die Züchtung von resistenten Sorten ist die Verfügbarkeit von hochempfindlichen Nachweisverfahren für das Virus, wozu sich vor allem die verschiedenen Varianten der qPCR anbieten. Mumford et al. (*Phytopathology* 90, 448-453, 2000) haben zum breit-spezifischen

Nachweis der RNA1 unterschiedlicher TRV-Stämme ein qPCR-Verfahren entwickelt, das einen Bereich im hoch-konservierten movement protein Gen erkennt. Für den Nachweis der TRV RNA2, auf der sich das Hüllproteingen sowie die für die Nematoden-Übertragung notwendigen Gene befinden, stand bisher noch kein qPCR-Verfahren zur Verfügung. Zur Entwicklung eines solchen Verfahrens, haben wir ein von der Fa. Eurofins angebotenes Primer- und Sonden-design-Verfahren (<https://eurofinsgenomics.eu/de/ecom/tools/qpcr-assay-design>) benutzt. Die TRV RNA2s besitzen einen viel höheren Grad an Heterogenität als die TRV RNA1s. Die einzige hochkonservierte Region in den TRV RNA2s, die sich für einen breit-spezifischen Nachweis der RNA2s anbietet, befindet sich an deren 5'-Ende in einem Sequenzbereich von ca. 140 Nukleotiden. In diesem Bereich wurden von dem Eurofins-System eine Sonde und eine Reihe von Primern vorgeschlagen, mit deren Hilfe wir TRV-Infektionen mit der gleichen Empfindlichkeit nachweisen konnten wie mit dem von Mumford et al. für die TRV RNA1 entwickeltem System. Im Gemisch angewandt ergaben die beiden Systeme niedrigere ct-Werte als bei getrennter Anwendung, d.h. die Nachweisempfindlichkeit für das Virus konnte gesteigert werden. Zur Zeit prüfen wir, ob sich mit den beiden Nachweisverfahren für die TRV RNAs1 und 2 auch Infektionen nachweisen lassen, in denen die RNA2 verloren gegangen ist. Derartige Infektionen sollen nach einem Bericht im 9th ICTV Report zu verstärkten Nekrosen in Kartoffeln führen. Nach den sehr positiven Erfahrungen, die wir mit dem von Eurofins vorgeschlagenem System zur Auswahl von Primern und Sonden für die TRV RNA 2 gemacht hatten, haben wir auch den von Mumford et al. (2000) verwendeten Sequenz-Bereich auf der TRV RNA1 in dieses System eingeben. Die überraschende Antwort war, dass für diese Region auf der TRV RNA1 kein geeignetes Primerpaar ‚designed‘ werden kann, was unseren sehr positiven Erfahrungen mit dem Mumford-System widerspricht!!

Auftreten von Virose an Klimabäumen in der Metropolregion Hamburg

Bandte M¹, Günther I¹, Gaskin T¹, Wersuhn D¹, Rehanek M¹, Fernandez H¹, von Barga S¹, Rybak M², Büttner C¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, ADTI, FG Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin, Germany; ²Freie und Hansestadt Hamburg, Behörde für Wirtschaft und Innovation, Pflanzenschutzdienst, Brennerhof 123, D-22113 Hamburg, Germany

Email: martina.bandte@agrar.hu-berlin.de

Es wurden Erhebungen zum Auftreten virusverdächtiger Symptome und Virustestungen an Klimabäumen (Straßen- und Baumschulquartiere) in der Metropolregion Hamburg durchgeführt. In die Untersuchungen wurden herkömmliche sowie neue Stadtbaum-Arten innerhalb der Gattungen Acer, Amelanchier, Fraxinus, Liquidambar, Malus, Prunus, Quercus, und Ulmus einbezogen. Dazu wurden in den Jahren 2018 bis 2020 an mehr als 40 Standorten umfangreiche visuelle Bonituren durchgeführt und Blattproben von Einzelbäumen sowie Mischproben von Standorten entnommen und einer Laboruntersuchung zugeführt.

Straßenbäume der Gattungen Acer und Ulmus ließen bei keiner der visuellen Bonituren virusverdächtige Symptome erkennen. Solche Symptome wurden hingegen an Straßenbäumen der Gattung Amelanchier, Betula und Fraxinus festgestellt. So zeigten beispielsweise Blumeneschen (*F. ornus*) und Gemeinen Esche (*F. excelsior*) auffällige Blattdeformationen bis hin zur Fadenblättrigkeit. Das Eberescheringfleckenvirus (European mountain ash ringspot-associated emaravirus, EMARaV) konnte sporadisch in erkrankten Kupfer-Felsenbirnen (*A. lamarckii*) mit charakteristischen chlorotischen Ringflecken an den Blättern detektiert werden. Erkrankte Birken (*B. pendula*) von zwei Probenahmestandorten waren mit dem Birkenblattrollvirus (birch leafroll-associated virus, BLRaV) infiziert und wiesen neben chlorotischen Adernbänderungen, Blattrollen und Kronenverkahlung auf.

Darüber hinaus wurden vier Eichen (*Q. robur*) mit chlorotischen Ringflecken von Standorten innerhalb eines Naturschutzgebietes in Hamburg positiv auf das Ringfleckenvirus der Eiche (common oak ringspot associated virus, CORaV) getestet.

In einer Baumschule wurden darüber hinaus für Stadtstandorte vorgesehene Bäume und Sträucher bonitiert. Nur etwa ein Prozent der Bäume ließen virusverdächtige Symptome erkennen. Jeweils ein Baum von mehr als 500 Amelanchier, zehn *Betula* und 46 *Prunus* sowie zwei von 57 *Acer* wiesen virusverdächtige Symptome auf. Etwa 5 % der 233 *Fraxinus* zeigte Blattdeformationen und Chlorosen; die Infektion mit einem neuartigen Virus konnte in den entnommenen Stichproben mittels RT-PCR bestätigt werden. Bäume der Gattungen *Liquidambar*, *Malus* und *Prunus* wurden ausschließlich in Baumschulquartieren bonitiert; die knapp 200 Bäumen zeigten sich hier unauffällig ebenso wie die etwa 300 bonitierten *Quercus*.

Hochdurchsequenzierung (HTS) für eine schnelle und zuverlässige Identifizierung von Viren in infizierten Pflanzen, zur Überprüfung von gesundem Pflanzgut und zur Qualitätssicherung von virologischem Referenzmaterial

Margaria P, Menzel W, Winter S

Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

Email: paolo.margaria@dsmz.de

Zentrales Thema aller Aktivitäten der Abteilung Pflanzenviren am Leibniz-Institut DSMZ ist die Gewährleistung und Förderung der Pflanzengesundheit. Eine wirksame Prävention und Kontrolle von Krankheiten basiert auf einer schnellen und präzisen Identifizierung von Krankheitserregern, der anschließenden Bereitstellung/Entwicklung geeigneter Diagnosemethoden zum Nachweis von infizierten Pflanzen und der Verhinderung der weiteren Verbreitung der Erreger. HTS ist unabhängig von a priori Kenntnissen über Organismen und ermöglicht damit eine globale Analyse aller Viren (Virom) bzw. aller Sequenzen von möglichen Krankheitserregers. Die Verfügbarkeit einer hauseigenen modernen Sequenzierungsinfrastruktur in Kombination mit einer bioinformatisch/ virologischen Auswertung der gewonnenen Daten ist für die Abteilung Pflanzenviren zu einem fundamentalen Bestandteil der Arbeit geworden mit der sehr schnell neuartige Viruskrankheiten entdeckt werden können und eine epidemische Verbreitung früh unterbrochen werden kann. Der HTS workflow wird auch intensiv für die Virus-Indexierung genutzt im Rahmen der Transitquarantäne genutzt, um mögliche Virusinfektionen auszuschließen und die Virusfreiheit der Pflanzen im Austausch von Züchtungsmaterialien zu gewährleisten. Wir nutzen HTS um die genetische Variabilität von Viren zu untersuchen und die Zusammensetzung von Viruspopulationen in Umweltproben zu bestimmen. Außerdem wird die bioinformatische Pipeline zu der zuverlässigen Authentifizierung und Reinheitskontrolle der Virussammlung und der Integration von biologischen und genomischen Daten eingesetzt, wodurch ein viel schnellerer und globalerer Überblick im Vergleich zu klassischen biologischen, molekularen und elektronenmikroskopischen Verfahren ermöglicht wird.

Survey on the occurrence of the *Grapevine pinot gris virus* in German wine-growing regions

Noemi Meßmer¹, Patricia Bohnert¹, Ralf T. Vögele², René Fuchs¹

¹State Institute of Viticulture and Enology Freiburg, Merzhauser Str. 119, 79100 Freiburg; ²Universität Hohenheim, Institute of Phytopathology, Otto-Sander-Str. 5, 70599 Stuttgart

Email: noemi.messmer@wbi.bwl.de

Corresponding author Email: Rene.Fuchs@wbi.bwl.de

The Grapevine Pinot gris virus (GPGV) is a newly emerged grapevine pathogen that was identified for the first time in Italian vineyards in 2012. Since then, the occurrence of the Trichovirus was reported in most European wine-growing countries as well as in Australia, Brazil, China and the United States. GPGV is associated with symptoms like chlorotic mottling on leaves, leaf deformation, short internodes, zick-zack growth of the shoot and decreased grape size. Despite its broad distribution and economically impact on concerned winegrowers around the world, only little information about the virus and specifically its epidemiology are available, yet. As infected plants have been found to remain in a latent state, questions about what triggers the symptoms have been growing. Moreover, the viral vector is still unrevealed. The State Institute of Viticulture and Oenology (WBI) in Freiburg compiles the current situation of GPGV in Germany and works on basic questions about the epidemiology of the virus. In 2019 and 2020, an initial survey was conducted to determine the spread of the virus in 7 of the 13 wine-growing regions in Germany. The results show that 13% of the plant material examined was infected with GPGV.

Zusammenfassung der dreijährigen Untersuchungen zur Verbreitung der Vergilbungsviren bei Zuckerrüben in Europa und Entwicklung spezifischer RT-qPCR Nachweise

Wulf Menzel¹, Mark Varrelmann²

¹Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Abteilung Pflanzenviren, Inhoffenstraße 7 B, 38124 Braunschweig; ²Institut für Zuckerrübenforschung, Holtenser Landstrasse 77, 37079 Göttingen

Aufgrund des erwarteten und letztlich 2019 erfolgten Verbots der systemischen Neonicotinoid-Insektizide in der Saatgutbeizung bei Zuckerrüben, wurde ein Projekt zur Untersuchung des Auftretens der durch Blattläuse übertragenen Vergilbungsviren in Europa initiiert. Durch die sehr effiziente Bekämpfung der Vektoren in den letzten Jahrzehnten lagen keine neueren Informationen über das Auftreten der Viren vor. Die Kenntnis über die relevanten Spezies und ihre genetische Diversität ist jedoch eine unabdingbare Voraussetzung für eine zielgerichtete Resistenzzüchtung zur langfristigen Ertragssicherung bei der Zuckerrübe. In der dreijährigen Erhebungen wurden insgesamt über 6000 Zuckerrübenblattproben aus 10 europäischen Ländern und den USA mittels ELISA getestet. Dabei wurden neben dem Closterovirus *Beet yellows virus* die beiden Poleroviren *Beet chlorosis virus* (BChV) und *Beet mild yellowing virus* (BMV) als die am häufigsten vorkommenden Arten identifiziert. Das Beet mosaic virus (BtMV) wurde demgegenüber in allen drei Jahren nur selten nachgewiesen. Zusätzlich wurden ca. 500 Unkrautproben untersucht. Dabei wurden zwar vereinzelt bisher unbekannte Viren gefunden, die möglichen Überdauerungswirte der Vergilbungsviren jedoch nicht identifiziert. Im Vergleich zu früheren Erhebungen scheint sich insbesondere das BYV weiter nach Norden ausgebreitet zu haben. Da von sämtlichen Vergilbungsviren nur wenige vollständige Genomsequenzen in der Genbank verfügbar sind, wurden ausgewählte Proben mittels Illumina Hochdurchsatz-Sequenzierung der Gesamt-RNA weiter analysiert. Die so gewonnenen Ergebnisse geben einen aktuellen Überblick über die Variabilität dieser Viren in Europa.

Bei der Untersuchung auf die Poleroviren wurde mangels verfügbarer spezifischer Tests ein TAS-ELISA verwendet, der sowohl mit BMVY und BChV als auch mit den anderen verwandten Arten *Beet western yellows virus* (BWYV) und dem Brassicaceae infizierenden *Turnip yellows virus* (TuYV) reagiert. Die Spezies wurden anschließend durch Sequenzierung von RT-PCR-Produkten identifiziert, die aus einer generischen Polerovirus-RT-PCR stammen (Hossain et al. 2020). Für eine vereinfachte Routinediagnostik wurde eine universelle TaqMan RT-qPCR entwickelt, die sowohl die oben genannten *Beta* sp. und *Brassicaceae*-infizierenden Poleroviren als auch die kürzlich in Asien identifizierte putative neue Rüben infizierende Spezies *Beet leaf yellowing virus* (Yoshida & Tamada 2019) detektiert. Darüber hinaus konnten zwei differenzielle RT-qPCR-basierte Methoden für die in Europa weit verbreiteten Poleroviren BChV und BMVY etabliert werden, die eine direkte Identifizierung ermöglichen.

LITERATURE

Hossain R, Menzel W, Lachmann C, Varrelmann M. 2020. Plant Pathology DOI: 10.1111/ppa.13306

Yoshida N, Tamada T. 2019. Plant Pathology 68:1045-1058

Entwicklung von Verfahren zur Reduzierung virusbedingter Qualitätsmängel bei Züchtung und Vermehrung von Knoblauchpflanzgut

Katja R. Richert-Pöggeler¹, Jennifer Born², Sonja Lange³, Nadine Liebig², Christina Maas¹, Christine Nagel³, Dirk Schmalowski¹, Sabine Schuhmann¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig;

²Bioland e.V.; ³Kultursaat e.V.

Email: katja.richert-poeggeler@julius-kuehn.de

Die Nachfrage nach regional angebautem Knoblauch ist in den letzten Jahren aufgrund der zunehmenden Bedeutung von Regionalität stark angestiegen. Knoblauch aus ökologischer Vermehrung wird dabei fast ausschließlich aus Spanien, Frankreich und Argentinien importiert. Eine zunehmende Bedeutung im ökologischen wie im konventionellen Knoblauchanbau haben dabei die Virusinfektionen des Pflanzgutes. Das vom BMEL/BLE geförderte Projekt ermittelte den Virusstatus und die Ertragsstabilität der für den ökologischen Anbau interessanten Knoblauchsorten und Herkünfte sowie einen möglichen Einfluss des Virusbefalls auf den Knollenertrag. Bereits im Ausgangspflanzgut konnten Mischinfektionen bestehend aus Poty-, Alexi- und Carlaviren sowohl bei meristemnahen, als auch bei regionalen bzw. kontinentalen Sorten und Herkünften festgestellt werden. Das besondere Augenmerk galt in den folgenden Anbaujahren dem Nachweis der als ertragsbeeinflussend geltenden Potyviren, die seit Dezember 2019 als regulierte Nicht-Quarantäne Schaderreger eingestuft sind. Die Auswertungen lassen erkennen, dass viele der angebauten Sorten und Herkünfte kaum Unterschiede im Befall mit Potyviren aufweisen, doch große Schwankungen hinsichtlich Ertragsstabilität während der drei im Witterungsverlauf sehr unterschiedlichen Anbauperioden zeigen. Es ist zu vermuten, dass mehrere Faktoren wie z.B. Sorte/Herkunft, Pilzbefall, Blattverfärbungen, Witterung, Standort sowie Schädlingsbefall den Ertrag beeinflussen können und Qualitätsmängel nicht allein durch einen Potyvirusbefall zu erklären sind. Ein Flyer zum Knoblauchanbau, ist unter <https://www.julius-kuehn.de/faltblaetter-und-broschueren/> zu erhalten.

Kurzvortrag für die Praxissektion: Untersuchungen von Proben mit Verdacht auf eine *Plantago asiatica mosaic virus* Infektion zeigen die Existenz von zwei weiteren Potexviren

Wulf Menzel, Dennis Knierim, Paolo Margaria, Stephan Winter

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

Email: ulf.menzel@dsmz.de

Das *Plantago asiatica mosaic virus* (PIAMV, Gattung *Potexvirus*) wurde erstmals 1976 im Osten Russlands in asiatischem Breitwegerich *P. asiatica* beschrieben. Insgesamt sind ca. 30 Viren in Wegerich-Arten nachgewiesen worden, darunter mit dem *Plantain virus X* (PIVX) auch ein weiteres Potexvirus. Das PIAMV hat in den letzten 10 Jahren durch sein häufiges Auftreten in kultivierten Lilien große Aufmerksamkeit erlangt, wo es erhebliche Schäden in der kommerziellen Schnittblumenproduktion verursacht. Seine mittlerweile weltweite Verbreitung ist wahrscheinlich auf den Handel mit infizierten Lilien-Zwiebeln zurückzuführen. In jüngster Zeit wurde in blaublütigen Sorten der verbreiteten Beet- und Balkonpflanzen der Gattung *Sutera* eine auffällige Blütenfarbbrechung beobachtet. Umfassende serologische Untersuchungen zeigten lediglich eine sehr schwache, nicht immer reproduzierbare Reaktion mit einem PIAMV Antiserum. Die Sequenzierung eines PCR-Produkts (generische Potexvirus-Primer) deuteten auf ein stark abweichendes Isolat des PIAMV in der *Sutera*-Probe hin. Darüber hinaus wurden Breitwegerich (*Plantago major*) Pflanzen mit starken Mosaiksymptomen auf einer Weide in Norditalien entdeckt. Auch hier konnte die vermutete Infektion mit dem PIAMV nicht bestätigt werden. In beiden Proben wurden mittels Illumina-Hochdurchsatzsequenzierung zwei unabhängigen Potexviren identifiziert, deren Genome lediglich 53 % Sequenzidentität aufweisen. Weiter Viren wurden nicht gefunden. Das Isolat aus *Sutera*, für das der Name *Sutera flower mottle virus* (SFMV, DSMZ PV-1303) vorgeschlagen wird, zeigt mit 64% die höchste Sequenzähnlichkeit zum PIAMV, was die sehr schwache serologische Kreuzreaktion erklären könnte. Das aus Breitwegerich stammende Isolat ist am nächsten mit dem *Tamus red mosaic virus* verwandt (61 % nt Identität), und erste Sequenzanalysen deuten darauf hin, dass es zu den wenigen Ausnahmen unter den Potexviren gehört, die für kein TGB3-Protein kodieren. Für dieses Isolat wird der Namen *Plantago yellow mosaic virus* vorgeschlagen (PIYMV, DSMZ PV-1206). Da das SFMV in weißblütigen *Sutera* Sorten latent vorzukommen scheint, und Produktionsbetriebe häufig ein breites Arten-Spektrum kultivieren, ist durch die leichte mechanische Übertragbarkeit der Potexviren eine Verbreitung auch in anderen Zierpflanzenarten möglich.

Sektion III

Übersichtsvortrag: Investigating geminiviruses: news from the nucleus and beyond

Lozano-Durán R^{1, 2}, Mengshi Wu², Hua Wei², Huang Tan², Liping Wang², Laura Medina-Puche²

¹Department of Plant Biochemistry, Centre for Plant Molecular Biology (ZMBP), Eberhard Karls University, D-72076 Tübingen, Germany; ²Shanghai Center for Plant Stress Biology, CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201602, China.

Email: rosa.lozano-duran@uni.tuebingen.de

Geminiviruses have circular single-stranded (ss) DNA genomes that are replicated in the nucleus of the infected plant cell through double-stranded (ds) DNA intermediates by the plant DNA replication machinery; the viral genome forms minichromosomes, which are subjected to epigenetic

modifications. Using Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) as a model, we are studying how these viruses replicate their DNA, how the infected plant detects and defends against the viral invasion through epigenetic regulation of the viral genome and hormone-based defences, and how virus-encoded proteins can suppress plant anti-viral responses. Here, I will give a brief overview of our recent results on these different aspects of the plant-geminivirus interaction, and discuss open questions and future directions.

Die *Arabidopsis thaliana* G3BP-Familie: Freund oder Feind pflanzenviraler Infektionen?

Hendrik Reuper¹, Khalid Amari^{1,2}, Björn Krenz¹

¹NWG VirusInteract, Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig; ²Julius Kühn-Institut, Institut für die Sicherheit biotechnologischer Verfahren bei Pflanzen, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

Email: hendrik.reuper@dsmz.de; Corresponding Author Email: bjoern.krenz@dsmz.de

Im *Arabidopsis thaliana* Genom kodieren viele verschiedene Gene für Proteine, die an der Bildung von Stress-Granula (SG) beteiligt sind. SG sind cytoplasmatische, membranlose (Quasi-)Organellen, die hochdynamisch auf verschiedene Arten von Stress reagieren können und so an der zellulären Stressantwort beteiligt sind. Sie bilden sich als Reaktion auf eine gestörte Initiation der Translation und enthalten diverse mRNAs und eine Vielzahl verschiedener Proteine. Ein Schlüsselenzym ist das Ras-GAP SH3 domain binding protein (G3BP). In humanen und tierischen Organismen ist bereits mehr über das Zusammenspiel von G3BP und verschiedenen Viren bekannt. So ist die Bildung von SG und die erfolgreiche Replikation verschiedener RNA-Viren abhängig von G3BP. Um einen besseren Einblick in das Verhältnis von Pflanzenviren, SG und der G3BP-Familie zu erhalten, wurden die sieben G3BPs aus *Arabidopsis thaliana* genauer untersucht. Phylogenetische Analysen und gewebespezifische Expressionsanalysen der Proteinfamilie wurden durchgeführt. Zudem wurden die intrazelluläre Lokalisation sowie die Interaktionen der einzelnen AtG3BP-Proteine, sowohl innerhalb der Familie als auch mit weiteren SG-Markerproteinen, untersucht. Mittels laser-dissection microscopy (LDM) wurde die Regulation der AtG3BP-Expression in frühen Infektionsereignissen mit dem Turnip mosaic Virus (TuMV) analysiert. Hierzu wurden junge Arabidopsis-Blätter mit einem RFP exprimierenden TuMV-Isolat inokuliert, die Blattstellen nach zwei Tagen auf RFP-Signal überprüft und infizierte Stellen mit dem LDM ausgeschnitten und durch RNA Sequenzierung und qRT-PCR untersucht. Zusätzlich wurde die Interaktion von zwei AtG3BPs mit dem P1-Protein von zwei TuMV Isolaten analysiert. Die Ergebnisse zeigen deutliche differentielle AtG3BP-Expression abhängig vom analysierten Pflanzengewebe, Hinweise zur Homo- und Hetero-Dimerisierung oder -oligomerisierung, sowie eine generelle Induktion durch Virusinfektion. Diese Studien sollen unsere bisherigen Erkenntnisse zur Rolle von Stress-Granula und insbesondere der AtG3BP-Familie im Zusammenhang mit pflanzenviralen Infektionen zusammenfassen.

Interaction of Aux/IAA proteins in sugar beet with the viral pathogenicity factor p25 of BNYVV

Max Muellender¹, Mark Varrelmann¹, Sebastian Liebe¹

¹Institute of Sugar Beet Research, Department Phytopathology, Holtenser Landstr. 77, D-37077 Göttingen

E-mail: muellender@ifz-goettingen.de

Rhizomania is caused by *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV). The most characteristic symptom of this disease is the massive development of lateral roots in sugar beet. Auxin as the major plant hormone controls an array of developmental processes including this development. The key regulators auxin response genes, including genes involved in lateral root formation, are Aux/IAA proteins.

In this study 13 different sugar beet Aux/IAA proteins were tested for interaction with the pathogenicity factor of BNYVV (p25) using YTH and confirmed by bimolecular fluorescence complementation (BiFC) as well as co-immunoprecipitation (Co-IP). Two Aux/IAA were found to interact with p25, namely BvIAA2 and BvIAA6. Domain mapping of p25 and both Aux/IAs revealed that the full-length proteins are required for interaction. Finally, *BvIAA2* and *BvIAA6* were cloned into a viral expression vector and overexpressed in sugar beet and tobacco plants to examine the effects on these plants. Both plants showed a typical auxin insensitivity with stunting and dwarfism, reduction of flowers and most important the undersoil parts of the plant were short and stunted with fewer lateral roots.

Besides BvIAA28 we could identify two new AUX/IAA proteins from sugar beet that interact specifically with the main BNYVV pathogenicity factor p25. These findings are the main basis for further investigation of this host-pathogen interaction e.g. hints for different genes which might be up- or down-regulated during the BNYVV infection.

Targeted mutagenesis in plants using *Beet curly top virus* for efficient delivery of CRISPR/Cas components

Eini O¹, Schumann N², Niessen M², Varrelmann M¹

Institute for Sugar beet Research; Dept. of Phytopathology; Holtenser Landstr. 77; 37079 Göttingen, Germany;
²KWS Saat SE & Co. KGaA, Grimsehlstr. 31, 37574 Einbeck, Germany

Email: Eini@ifz-goettingen.de

Genome editing using CRISPR/Cas is rapidly being developed for gene targeting in eukaryotes including plants. However, gene targeting by homology-directed DNA recombination (HDR) is a rather rare event compared to the dominant DNA repair by non-homologous end-joining. Another bottleneck is the ineffective delivery of CRISPR/Cas components into plant cells. To overcome these constraints, we produced a geminiviral replicon from *Beet curly top virus* with a wide host range and a high DNA accumulation capacity for efficient delivery of CRISPR/Cas components into plant cells. Initially, a BCTV replicon was prepared after removing the virion sense genes from an infectious full-length clone for agrobacterium mediated infection. This replicon expressed a green fluorescent protein (GFP) marker gene at a dramatically high level compared to T-DNA binary vector. In transient assay, the BCTV replicon produced a higher rate of mutagenesis and HDR in GFP transgene in *Nicotiana benthamiana* through efficient delivery of CRISPR/Cas components compared to the cognate T-DNA control. This was through a range of complete or partial HDR for conversion of GFP into YFP after exchange of a single amino acid (Thr224Try) in the target gene. In addition, the induced mutagenesis and HDR in the target gene were heritable. Therefore, BCTV replicon provides a new tool for efficient delivery of CRISPR/Cas components that could be used in a wide range of dicotyledonous plants. The established GFP to YFP system and the produced GFP mutant line also enable further optimization and understanding of HDR in plants via CRISPR/Cas system using geminiviral replicons.

LITERATURE

Baltes NJ; Gil-Humanes J; Cermak T; Atkins PA; Voytas DF (2014) DNA Replicons for Plant Genome Engineering. *The Plant Cell* 26:151-163

Vu TV; Sivankalyani V; Kim EJ; Tran MT; Kim J; Sung YW; Doan DTH; Kim JY (2020) Highly efficient homology-directed repair using transient CRISPR/Cpf1-geminiviral replicon in tomato. *Plant Biotechnology Journal* 2020; 18: 2133-2143

The N-terminus of the coat protein of cucumber vein yellowing virus significantly affects the infection process and transmission

Svenja Lindenau, Stephan Winter, Paolo Margaria

Leibniz-Institut DSMZ, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, Germany

Email: svenja.lindenau@dsmz.de

Cucumber vein yellowing virus (CVYV) is a member of the genus *Ipomovirus*, within the family *Potyviridae*, and causes severe production losses in cucumber and other cucurbit crops. The virus is transmitted mechanically and by the whitefly *Bemisia tabaci* in a semi-persistent manner. To get insights into critical protein motifs for plant infection and transmission, an infectious clone of CVYV was modified by site-directed mutagenesis at multiple sites of the genome. Given the multifunctional role of plant virus capsid proteins (CPs) in the infection process, the CP gene was chosen as target. A set of amino acid residues was selected for substitution based on the expected exposure on virion's surface following protein folding prediction. In addition, sequence alignment with the CPs of the distantly related cassava brown streak viruses, which are extremely inefficiently transmitted by the whitefly vector, evidenced the presence of a highly variable N-terminus, and three deletion mutants (CVYV_Del) were generated in this region. Infectivity assays on cucumber revealed that the alanine-substitution mutants were competent for systemic infection and comparable to the wild-type (WT); CVYV_Del1 and CVYV_Del2 were not infectious, and CVYV_Del3 (carrying a deletion in aa position 93-105) retained the ability to infect cucumber, however with a delay in the infection process and increased symptoms severity. Whitefly transmission assays revealed that the infectious mutants could be transmitted, except CVYV_Del3. Reversion of the deletion by generation of two clones with a partially recovered CP (carrying residues in position 93-100 or 101-105) re-established cucumber infection- and transmission competence by *B. tabaci*. The results obtained prove that the 93-105aa region of CVYV CP plays a role in symptoms development and is a determinant for transmission.

Application of a reverse genetic system for *Beet necrotic yellow vein virus* to study *Rz1* resistance breaking in sugar beet

Sebastian Liebe¹, Edgar Maiss², Mark Varrelmann¹

¹Institute for Sugar Beet Research, Department Phytopathology, Holtenser Landstr. 77, D-37077 Göttingen;

²Leibniz University Hannover, Institute of Horticultural Production Systems, Dept. Phytomedicine, Herrenhäuser Str.2, 30419 Hannover

Email: liebe@ifz-goettingen.de

Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) causes Rhizomania disease in sugar beet, which is characterized by the abnormal proliferation of lateral roots leading to a significant decrease in sugar content and massive yield losses. The intensive usage of *Rz1* as resistance gene has provoked the development of *Rz1* resistance breaking strains. Several mutations in the pathogenicity factor P25 at amino acid positions 67-70 (AS67-70) as well as an additional RNA component from the P-type (RNA5) are associated with resistance breaking. However, experimental studies on resistance breaking populations and the associated mutations are missing. In an ongoing project we started to collect BNYVV populations in Europe for biological and molecular characterization. *Rz1* resistance breaking was confirmed by bait plant tests in the greenhouse. The AS67-70 within P25 displayed large variability depending on the population. The presence of an additional RNA5 either from J or P type was also confirmed. Deep sequencing of selected populations revealed the presence of mixed infections with various BNYVV types. Finally, we applied a reverse genetic system to prove the resistance breaking

ability of mutations in sugar beet. Here we could show that the replacement of AS67-70 indeed mediates resistance breaking as well as the presence of an additional RNA5. The results demonstrate the genome plasticity of BNYVV that allows the virus to overcome Rz1 resistance.

Sektion IV

Phosphorylations of the Abutilon mosaic virus movement protein affect its self-interaction, symptom development, viral DNA accumulation and host range

Kleinow T, Haple A, Kober S, Linzmeier L, Rehm TM, Fritze J, Buchholz PCF, Kepp G, Jeske H, Wege C

University of Stuttgart, Institute of Biomaterials and Biomolecular Systems, Stuttgart, Germany

Email: tatjana.kleinow@bio.uni-stuttgart.de

Previous work discovered for the bipartite geminiviruses Abutilon mosaic virus (AbMV), phosphorylation of the movement protein (MP), expressed in bacteria, yeast and *Nicotiana benthamiana* plants. Three phosphorylation sites (T221, S223 and S250) were identified in its C-terminal oligomerization domain, suggesting a regulation of MP by posttranslational modification. To examine the influence of the three sites on the self-interaction in more detail, MP mutants were tested for their interaction in yeast by two-hybrid assays, or by Förster resonance energy transfer techniques *in planta*. Expression constructs with point mutations leading to simultaneous (triple) exchange of T221, S223, and S250 to either uncharged alanine (MP^{AAA}), or phosphorylation charge-mimicking aspartate residues (MP^{DDD}) were compared. MP^{DDD} interfered with MP-MP binding in contrast to MP^{AAA}. The roles of the phosphorylation sites for the viral life cycle were studied further, using plant-infectious AbMV DNA-B variants with the same triple mutants each. When co-inoculated with wild-type DNA-A, both mutants infected *N. benthamiana* plants systemically, but were unable to do so for some other plant species of the families *Solanaceae* or *Malvaceae*. Systemically infected plants developed altered symptoms and viral DNA levels for most virus-plant combinations. The results indicate a regulation of diverse MP functions by posttranslational modifications and underscore their biological relevance for a complex host plant-geminivirus interaction.

Exploration of the small RNA landscape in *Petunia hybrida* infected with latent viruses and a pospiviroid using high throughput sequencing

Gilbert Nchongboh Chofong¹ Ralf Horres², Katja R. Richert-Pöggeler¹

¹Julius Kühn-Institut, Messeweg 11-12, D-38104 Braunschweig, Germany, ²GenXPro GmbH, Frankfurt HRB76425, Frankfurt am Main, Germany

E-mail: gilbert.chofong@julius-kuehn.de

Keywords: Latency, ePVCV, small RNA sequencing, petunia/virus/viroid interference

The words “latent”, “cryptic” or “symptomless” describe viruses that inflict no phenotypic alteration on their host. Moreover, for the genera *Caulimovirus*, *Badnavirus*, *Petuvirus* and *Solendovirus* endogenous sequences are reported. These integrated sequences may change from dormant to infectious under certain environmental conditions and genotypes.

The petuvirus *Petunia vein clearing virus* (PVCV) infects *Petunia* ssp. with complete or portion of its dsDNA integrated into petunia chromosomes. In a natural environmental setting this might be in co-existence with exogenous viruses and viroids. As a rule the plant tends to deploy machinery against

these. In an arms race the infectious entities exploit the host RNAi machinery generating viroid-derived small interfering (vd-si)RNAs, viral suppressor (vsi)RNAs that inhibit expression of host defense genes by mimicking microRNAs. Here, we seek to understand the interaction among a latent carlavirus, pospiviroid, ePVCV and petunia through RNA-omics, microscopy and molecular biology approaches.

Preliminary siRNA sequencing data for the mixed infected *P. hybrida* mapped to five pararetroviruses references related to petunia and to plants with good matches of up to 50-60% for Solanaceae.

In completion of the ongoing analysis, the knowledge will help in contributing to the collection of vsRNAs for better reconstruction of the virome, shed light on the mechanism of vsRNA action on host mRNA, contribute to the understanding of benefits for the host during symbiosis with EPRV, latent virus and viroid (if any) that could have impact on plants. These will be seminal in designing strategies for plant resistance using RNA interference in both horticultural and agricultural crop plants.

Characterization of aspen mosaic-associated virus (AsMaV) as a novel emaravirus causing the mosaic-disease of Eurasian aspen (*Populus tremula*)

von Bargen S¹, Al Kubrusli R¹, Gaskin T², Förl S¹, Hüttner F¹, Blystad D-R³, Karlin D G⁴, Jalkanen R⁵, Büttner C¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institute for Agricultural and Horticultural Sciences, Division Phytomedicine, Lentzeallee 55-57, D-14195 Berlin, Germany; ²Landesamt für Ländliche Entwicklung, Landwirtschaft und Flurneuordnung, Steinplatz 1, D-15806 Zossen, Germany; ³Division of Plant Health and Biotechnology, Norwegian Institute of Bioeconomy Research NIBIO, Ås, Norway; ⁴Independent Scholar, Marseille, France; ⁵Independent Scholar, RJ Consultant, Rovaniemi, France

Email: susanne.von.bargen@agrar.hu-berlin.de

Since emaraviruses have been discovered in 2007 several new species were detected in a range of host plants (Elbeaino et al. 2018, Kubota 2017). The virus identified in Eurasian aspen is closely associated with observed leaf symptoms, such as mottle, yellow blotching, variegation and chloroses along veins. Five genome segments of a novel emaravirus from mosaic-diseased Eurasian aspen (*Populus tremula*) have been completely determined. The monocistronic, segmented ssRNA genome of the virus shows a genome organization typical for emaraviruses encoding the viral RNA-dependent RNA polymerase (RdRP, 268.2 kDa) on RNA1 (7.1 kb), a glycoprotein precursor (GPP, 73.5 kDa) on RNA2 (2.3 kb), the viral nucleocapsid protein (N, 35.6 kDa) on RNA3 (1.6 kb), and a putative movement protein (MP, 41.0 kDa) on RNA4 (1.6 kb). The fifth identified genome segment (RNA5, 1.3 kb) encodes a protein of unknown function (P28, 28.1 kDa). We discovered that it is distantly related to proteins encoded by emaraviruses, such as P4 of *European mountain ash ringspot-associated emaravirus*. All proteins from this group contain a central hydrophobic region with a conserved secondary structure and a hydrophobic amino acid stretch, bordered by two highly conserved positions, thus clearly representing a new group of homologs of emaraviruses. All five viral RNAs were regularly detectable by RT-PCR in mosaic-diseased *P. tremula* in Norway, Finland and Sweden. Observed symptoms and testing of mosaic-diseased Eurasian aspen by virus-specific RT-PCR targeting RNA3 and RNA4 confirmed a wide geographic distribution of the virus in Fennoscandia (von Bargen et al. 2020).

We could demonstrate that the mosaic-disease is graft-transmissible and confirmed that the virus is the causal agent by detection in symptomatic, graft-inoculated seedlings used as rootstocks as well as in the virus-infected scions used for graft-inoculation. Owing to these characteristics, the virus represents a novel species within the genus *Emaravirus* and was tentatively denominated aspen mosaic-associated virus (AsMaV).

LITERATURE

- von Barga S; Al Kubrusli R; Gaskin T; Fühl S; Hüttner F; Blystad D-R; Karlin DG; Jalkanen R; Büttner C (2020). Characterisation of a novel emaravirus identified in mosaic-diseased Eurasian aspen (*Populus tremula*). *Annals of Applied Biology* 176, 210-222
- Elbeaino T; Digiario M; Mielke-Ehret N; Mühlbach H-P; Martelli GP & ICTV Report Consortium (2018). ICTV Virus Taxonomy Profile: Fimoviridae. *Journal of General Virology* 99, 1478–1479
- Kubota K (2017). Emergence of emaraviruses, the eriophyid mite-transmitted viruses in plants, *Virus* 2017, 37-48

Ein neuartiges Emaravirus in der Stieleiche (*Quercus robur* L.) besteht aus einem fünfteiligen RNA-Genom

A new emaravirus in Common oak (*Quercus robur* L.) contains a pentamerous RNA genome

Marius Rehanek¹, Susanne von Barga¹, Martina Bandte¹, David G. Karlin², Carmen Büttner¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin, Deutschland; ²Independent Scholar, Marseille, France

Email: rehanekm@hu-berlin.de

Seit Jahrzehnten werden an Eichen unterschiedlicher Länder Europas und den USA virusverdächtige Symptome beobachtet. Mittels Hochdurchsatzsequenzierung und RT-PCR basierten Methoden konnte in Stieleichen mit chlorotischen Ringflecken und Scheckungen an den Blättern ein neuartiges Emaravirus identifiziert werden (Bandte et al. 2020). Das Virus erhielt den vorläufigen Namen common oak ringspot-associated virus (CORaV) (Rehanek et al. 2021). Die Gattung *Emaravirus* in der Familie *Fimoviridae* (Ordnung *Bunyavirales*) umfasst Pflanzenviren mit ökonomischer und ökologischer Bedeutung. Das Negativstrang-RNA-Genom der Emaraviren ist segmentiert und umfasst einen Kern von vier Genomsegmenten, die für die RNA-abhängige RNA-Polymerase (RNA 1), den Glykoproteinvorläufer (RNA 2), das virale Nukleokapsidprotein (RNA 3) sowie ein Transportprotein (RNA 4) kodieren (Mielke-Ehret und Mühlbach 2012). Neben diesen typischen vier RNA-Segmenten besitzt CORaV eine fünfte RNA. Das darauf kodierte 21 kDa Protein weist Homologien zum P8 Protein des *High Plains wheat mosaic emaravirus* und Proteinen weiterer Emaraviren auf. Mittels RT-PCR basierendem Nachweis lassen sich alle viralen RNAs des neuartigen Eichenvirus spezifisch in Blattmaterial mit chlorotischen Ringflecken detektieren. Die Sequenzinformationen für alle RNAs wurden vervollständigt und die Emaravirus-typischen konservierten 3' und 5'-Termini mittels RACE bestätigt. Die für Emaraviren charakteristische Genomorganisation sowie phylogenetische Analysen begründen eine Zuordnung des neuen Eichenvirus als neue Spezies innerhalb der Gattung *Emaravirus*.

LITERATUR

- Bandte M; Rehanek M; Leder B; von Barga S; Büttner C (2020). Identification of an emaravirus in a Common oak (*Quercus robur* L.) conservation seed orchard in Germany: implications for oak health. *Forests* 11, e1174
- Rehanek M; von Barga S; Bandte M; Karlin DG; Büttner C (2021). A novel emaravirus comprising five RNA segments is associated with ringspot disease in oak. *Arch Virol*.
<https://doi.org/10.1007/s00705-021-04955-w>
- Mielke-Ehret N; Mühlbach HP (2012). Emaravirus: A Novel Genus of Multipartite, Negative Strand RNA Plant Viruses. *Viruses* 4, 1515-1536

Genetic diversity of aspen mosaic-associated virus based on RNA3

Nourinejad Zarghani S¹, Lancev S¹, Al Kubrusli R¹, Jalkanen R², von Barga S¹, Büttner C¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institute for Crop and Horticultural Sciences, Division Phytomedicine, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Germany; ²Independent scholar, Rovaniemi, Finland

Email: nourines@hu-berlin.de

Aspen mosaic-associated virus (AsMaV), observed on *Populus tremula*, is a novel species in the virus genus *Emaravirus* (von Barga et al., 2020). The genome of AsMaV consists of five negative sense single stranded RNA (-ssRNA) molecules (RNA1-RNA5). Merely one open reading frame (ORF) have been reported on each genomic RNAs (ORF1-ORF5) which is the typical genome organization of emaraviruses. The RNA1 (7.1 kb) encodes for the viral RNA-dependent RNA polymerase (RdRP, 268.2 kDa). The ORF2-ORF5 express the glycoprotein precursor (GPP, 73.5 kDa) on RNA2 (2.3 kb), the viral nucleocapsid protein (N, 35.6 kDa) on RNA3 (1.6 kb), a putative movement protein (MP, 41.0 kDa) on RNA4 (1.6 kb) and a protein of unknown function (P28, 28.1 kDa) on RNA5, respectively. The virus is associated with mosaic symptoms on Eurasian aspen (*Populus tremula*) leaves. Since N protein (viral nucleocapsid protein) have been used to evaluate genetic diversity of many -ssRNA viruses including emaraviruses (Roßbach et al. 2015, Walia et al. 2014), the respective genomic segment in AsMaV was used to study genetic variability of the virus in Finland and Sweden. Full-length AsMaV-RNA3 was amplified via RT-PCR with a specific primer pair, the amplicons were subsequently analyzed by RFLP and subjected for Sanger-sequencing. The sequence data showed similar pattern of variants of AsMaV are distributed in both countries. More samples, genomic regions and different analyses are running to have a better view of AsMaV population structure in the investigated area.

LITERATURE

von Barga S, Al Kubrusli R, Gaskin T, Fül S, Hüttner F, Blystad D, Karlin DG, Jalkanen R, Büttner C (2020). Characterisation of a novel Emaravirus identified in mosaic diseased Eurasian aspen (*Populus tremula*). *Annals of Applied Biology* 176,1-3

Roßbach J, Dieckmann HL, Büttner T, Mühlbach H, von Barga S, and Büttner C (2015). Genetic Variability and phylogeny of European mountain ash ringspot-associated virus RNA3 and RNA4. *Forests* 6, 4072-4087

Walia JJ, Willemsen A, Elci E, Caglayan K, Falk BW, Rubio R (2014). Genetic variation and possible mechanisms driving the evolution of worldwide *Fig mosaic virus* isolates. *Phytopathology*, 108-114

Virusinfektionen der Birke und deren Bedeutung für die Pollenproduktion und -allergenität

Viral infection in birch and their significance on pollen production and allergenicity

Landgraf M², von Barga S², Luschkova D³, Kolek F³, Köpke K², Opoku B², Pack K², Ranpal S¹, Sieverts M¹, Wörl V¹, Damialis A³, Gilles S², Traidl-Hoffmann C³, Büttner C², Jochner-Oette S¹

¹Physical Geography/Landscape Ecology and Sustainable Ecosystem Development, KU Eichstätt-Ingolstadt;

²Phytomedicine Division, Humboldt University, Berlin; ³Environmental Medicine, UNIKA-T, Technical University of Munich (TUM)

Email: maria.landgraf@agrar.hu-berlin.de

Many factors have been discussed that may contribute not only to more frequent and severe allergic respiratory diseases but also to new allergen sensitisations and increases in the development of allergic diseases, but numerous abiotic and biotic influences are unknown. Viruses are using pollen as vehicles for transportation and distribution and may contribute to changes in pollen protein expression or protein profile influencing pollen allergenicity.

Allergenic pollen such as birch pollen constitute an important human health issue (Huynen *et al.*, 2003). The prevalence of respiratory allergies has increased to 31 % in Germany (Simoleit *et al.*, 2016). As the study focusses on the most important allergenic tree species in northern, central and eastern Europe: birch (*Betula spp.*; D'Amato *et al.*, 2007) it includes the interplay with the birch viral complex. One important pollen protein is Bet v 1, the major birch pollen allergen which constitutes 12% up to 30% of the total protein content in pollen. Bet v 1: Q3OS (a physiological ligand) complex was suggested to protect pollen DNA from UV-damage. The major allergen in birch pollen, Bet v 1, belongs to the pathogen related protein family (PR10) and it is involved in plant defense and pollen-stigma recognition (Plaza *et al.*, 2016). Consequently, it seems likely that plant viruses might affect pollen allergens.

Within the project, information regarding biotic (phytopathological and viral data) and abiotic factors influencing pollen and allergen production are correlated to data of birch sites of different climate conditions, geographic origins in Europe and data from birch pollen allergic volunteers. The volunteers are tested in a double blind, controlled design in skin prick tests with the corresponding pollen. Besides the investigation of abiotic factors (e.g., air temperature, relative humidity, air pollutants) along different temperature gradients (longitudinal/latitudinal, altitudinal gradients), we focus mainly on viral infections within the biotic factors. The major novelty and main advantage of the study is the analysis of environmental impacts on birch pollen in the natural environment free from genetic differences, for instance in International Phenological Gardens or in a seed plantation. Environmental stressors play a major role in transformation of latent viruses into their active stage. Coincidentally stressful environmental conditions can change pollen characteristics (Beck *et al.*, 2013) as a part of a defense mechanism and / or via reducing the plants physiological performance and some climate change related effects have already been observed (Beggs 2004). Interdisciplinary cooperation is a key driver of this project towards a correlation of information from different subjects.

LITERATURE

- Beck I; Jochner S; Gilles S; McIntyre M; Buters JTM; Schmidt-Weber C; Behrendt H; Ring J; Menzel A; Traidl-Hoffmann C (2013). High environmental ozone levels lead to enhanced allergenicity of birch pollen. PLOS ONE, 8(11), e80147
- Beggs PJ (2004). Impacts of climate change on aeroallergens: past and future. Clinical & Experimental Allergy, 34, 1507-1513
- D'Amato G; Cecchi L; Bonini S; Nunes C; Annesi-Maesano I et al. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. Allergy, 62(9), 976-990
- Huynen M; Menne B; Behrendt H; Bertollini R; Bonini S et al. (2003). Phenology and human health: allergic disorders. Report on a WHO meeting, Rome, Italy, 16-17 January 2003
- Plaza MP; Alcázar P; Galán C (2016). Correlation between airborne *Olea europaea* pollen concentrations and levels of the major allergen Ole e 1 in Córdoba, Spain, 2012-2014. International Journal of Biometeorology, 60, 1841-1847
- Simoleit A; Wachter R; Gauger U; Werchan M; Werchan B et al. (2016). Pollen season of European beech (*Fagus sylvatica* L.) and temperature trends at two German monitoring sites over a more than 30-year period. Aerobiologia, 32(3), 489-497

Infection proces of plant viruses on *Cucumis sativus* and their influence on the fruit texture

Anne-Katrin Kersten^{1,2}, Sabrina Scharf³, Martina Bandte², Peter Lentzsch¹, Peter Meurer³, Carmen Büttner²

¹Leibniz Centre for Agricultural Landscape Research (ZALF), Research Area 1 "Landscape Functioning", Eberswalder Str. 84, D-15374 Müncheberg, Germany; ²Humboldt University of Berlin, Thaeer-Institute of Agricultural and Horticultural Sciences, Division Phytomedicine, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin, Germany; ³Neubrandenburg University of Applied Sciences, Agriculture and Food Sciences, D-17033 Neubrandenburg, Germany

Email: anne-katrin.kersten@zalf.de

The texture is one of the main quality characteristics of pasteurized cucumbers. Pickles that are not firm and crunchy lead to economic losses due to reclamations. The cause of pickle softening has not yet been identified. Several potential causes have been studied, but how far plant viruses do affect the quality of pickles is studied here for the first time. The impact of the economically relevant cucumber viruses *Cucumber green mottle mosaic virus* and *Zucchini yellow mosaic virus* on the firmness and crunchiness of pasteurized cucumbers was investigated. Healthy plants of four different cucumber cultivars were mechanically inoculated with the viruses and cultivated under greenhouse conditions. Both viruses are known to induce various symptoms in cucurbit crops such as deformations, mottling, blistering, mosaic, and color changes on leaves and fruits resulting in yield losses or unmarketable fruits [1; 2]. The infected and non-infected cucumber plants showed differences in plant height, foliage, yield, fruit size and weight. Harvested cucumbers were pasteurized, stored in jars and subjected to texture measurements after 4; 6 and 12 months. A decrease in firmness and crispness was measured in ZYMV infected cucumbers after 4 months and even more after 6 and 12 months of storage. A repetition with less symptomatic pickles showed only weak to no longer measurable differences in the texture quality of the variants. Current light microscopic investigations of thin sections of ZYMV-infected cucumbers revealed swollen parenchyma cells and shortened, thickened epidermal cells in contrast to control and CGMMV-infected pickles. Therefore, this microscopically visible alterations in cell structure doesn't necessarily lead to a measurable, reduced texture quality of pickles, but suggests larger water retention. In summary, we could state that plant viruses can have a considerable influence on the gherkin texture and thus on their firmness and crunchiness after pasteurization. However, a modulated virus-plant interaction with varying degrees of morphological symptoms seems to result in different texture properties.

LITERATURE

- [1] Dombrovsky A; Tran-Nguyen LTT; Jones RAC (2017). Cucumber green mottle mosaic virus: Rapidly Increasing Global Distribution, Etiology, Epidemiology, and Management. *Annual Review of Phytopathology* 55, 231-256
- [2] Desbiez C and Lecoq H (1997). Zucchini yellow mosaic virus. *Plant Pathology* 46, 809-829

Abstracts der Poster

Poster Nr. 1

Nachweis der Interaktion von PNYDV M-Rep mit NSP *in planta*

Behnecke M¹, Garnelo Gómez B², Lozano-Duran R², Krenz B¹

¹Plant Virus Department, Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, 38124 Brunswick, Germany; ²Shanghai Center for Plant Stress Biology, CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201602

Email: Maria.Behnecke@dsmz.de

Pflanzenviren der Familie *Nanoviridae* sind einzelsträngige DNA-Viren (ssDNA) mit einem multipartiten Genom, das aus 6 bis 8 ssDNA-Zirkeln besteht, die jeweils etwa 1 kb groß und einzeln verpackt sind. Die Virusübertragung erfolgt durch Blattläuse in zirkulativer und nicht propagativer Weise. In der Gattung Nanovirus kodieren alle Spezies jeweils für das Master-Replikationsinitiator-Protein (M-Rep, DNA-R), das Capsid-Protein (CP, DNA-S), das Cell-Cycle Link Protein (Clink, DNA-C), das Movement-Protein (M, DNA-M), das Nuclear-Shuttle-Protein (NSP, DNA-N) und Proteine unbekannter Funktion, die als U1, U2 und U4 bezeichnet werden (DNA-U1, -U2 und -U4). Es ist weithin anerkannt, dass insbesondere virale Proteine mehr als eine Funktion erfüllen können. Durch Interaktion mit anderen viralen Proteinen können Komplexe gebildet werden, die dann zusätzliche Funktionen einnehmen.

Alle acht PNYDV-Proteine wurden mit dem BiFC-System auf Interaktionen *in planta* getestet, insgesamt 36 Kombinationen. M-Rep zeigte im BiFC-Ansatz Selbst-Interaktion, ähnlich wie das geminivirale Rep-Protein, aber seine Interaktion mit dem NSP war zuvor nicht erwartet worden und wurde daher weiter untersucht. FRET-FLIM (Förster resonance energy transfer by fluorescence lifetime imaging) bestätigte die Interaktion von M-Rep und NSP *in planta*. Experimente mit Deletionsmutanten von M-Rep bzw. NSP weisen auf eine putative Interaktionsdomäne im N-terminalen Bereich von NSP sowie im zentralen Bereich von M-Rep hin. Damit könnte NSP eine unerwartete und neuartige Funktion in der Regulation des nanoviralen Infektionsverlaufs einnehmen.

Poster Nr. 2

Soil-borne wheat mosaic virus movement protein: investigating the localizations and interactions

Claudia Janina Strauch, Nico Sprotte, Sabine Bonse and Annette Niehl

Julius Kühn-Institut, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Messeweg 11-12, D-38104 Braunschweig, Germany

Email: claudia.strauch@julius-kuehn.de

Soil-borne cereal viruses cause substantial crop losses and therefore represent a serious risk for agriculture in Europe, Asia and America. Soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV) belongs to the genus Furovirus and infects cereals including wheat, barley, or rye. The vector *Polymyxa graminis*, an obligate root parasite, transmits the virus. *P. graminis* forms resting spores in the soil containing the virus. Inside *P. graminis* spores, the virus can remain infectious for many years. Currently, the only known effective resistance locus against Furoviruses codes for a translocation resistance, i.e. the virus titer is significantly reduced in the shoots of resistant plants, while the roots still become infected. In consequence growing resistant cultivars is the only way to avoid crop losses due to SBWMV. The

molecular mechanism, by which SBWMV interacts with its host plant during infection is still undisclosed.

Understanding the interaction between the virus and the host plant will help to find targets for novel resistance strategies to avoid crop losses due to SBWMV. We use fluorescent proteintagged viral proteins to illuminate their interaction with cellular compartments and to isolate plant interaction partners in the model host plant *Nicotiana benthamiana*. We focus on the viral movement protein, a protein known to determine virus movement from the roots to the shoots. A better understanding of the viral factors and associated interaction partners in the plant cell will help to obtain insight into the molecular mechanisms determining virus infection in plants.

Poster Nr. 3

Auftreten des aspen mosaic-associated virus (AsMaV) und des Poplar mosaic virus (PopMV) in Pappeln (*Populus* sp.) im nördlichen Europa

Occurrence of aspen mosaic-associated virus (AsMaV) and poplar mosaic virus (PopMV) in Populus spp. in Northern Europe

Rim Al Kubrusli¹, Risto Jalkanen², Dag-Ragnar Blystad³, Carmen Büttner¹, Susanne von Bargaen¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland; ²Wissenschaftler, Rovaniemi, Finnland; ³Division of Plant Health and Biotechnology, Norwegian Institute of Bioeconomy Research - NIBIO, Ås, Norwegen

Mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung (Illumina RNASeq) konnte in erkrankten Zitterpappeln (*Populus tremula*) mit Mosaiksymptomen auf Blättern ein neuartiges Virus, das aspen mosaic-associated virus (AsMaV, Gattung Emaravirus) identifiziert werden. Kürzlich konnte durch Pfropfung nachgewiesen werden, dass das Virus der kausale Erreger der beobachteten Blattsymptome an Zitterpappeln (Mosaik, Adernvergilbung, Scheckung und chlorotischer Fleckung) ist (von Bargaen et al. 2020). Pappeln sind ökonomisch und ökologisch bedeutende Forstgehölze, die durch weitere Viren infiziert werden. Dazu zählt u.a. auch das Poplar mosaic virus (PopMV, Gattung *Carlavirus*), das häufig in Pappelarten nachgewiesen werden konnte (Büttner et al. 2013). Dieses Virus kann Pappeln auch latent infizieren. Virusinfektionen tragen ggf. zur Schwächung infizierter Bäume bei und erhöhen somit auch die Anfälligkeit für weitere Erkrankungen bzw. Schädlingsbefall.

In einer mehrjährigen Studie wurde die Verbreitung des AsMaV und des PopMV in Zitterpappeln und anderen Pappelarten (*Populus* sp., *P. x euamericana*) untersucht. Dazu wurden von insgesamt 264 Bäumen mit und ohne virusverdächtige Blattsymptome an 44 Standorten in Deutschland, Finnland, Norwegen und Schweden Proben entnommen und mittels virusspezifischer RT-PCR (Werner et al. 1997, von Bargaen et al. 2020) getestet. In Zitterpappeln mit Mosaik, Adernvergilbung, Scheckung, bzw. chlorotischen Blattflecken war ausschließlich das AsMaV detektierbar. PopMV wurde an *Populus* sp. an drei verschiedenen Standorten in Deutschland nachgewiesen, die chlorotische Ringflecken, Linienmuster bzw. Scheckung auf den Blättern bzw. keine Symptome aufwiesen. Zudem werden weitere Ergebnisse zur geographischen Verbreitung beider Viren in den untersuchten Pappeln vorgestellt und die Bedeutung der Befunde aus dieser Studie diskutiert.

LITERATUR

von Bargaen, S., Al Kubrusli, R., Gaskin, T., Furl, S., Hüttner F., Blystad, D.-R., Karlin, D. G., Jalkanen, R., C. Büttner, 2020: Characterisation of a novel emaravirus identified in mosaic-diseased Eurasian aspen (*Populus tremula*). *Annals of Applied Biology*, 176 (3), 1-13.

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

Werner, R., Mühlbach, H.-P., C. Büttner, 1997: Detection of poplar mosaic carlavirus (PopMV) by immunocapture RT-PCR. Chap. 87. In H.-W. Dehne, G. Adam, M. Diekmann, J. Frahm, A. Mauler-Machnik, P. van Halteren (Eds.), *Developments in Plant Pathology, Diagnosis and identification of plant pathogens* (Vol. 11), Dordrecht: Springer, 403-405.

Poster Nr. 4

Heterologe Expression des p3 Nukleokapsidproteins des common oak ringspot-associated virus (CORaV)

Heterologous expression of the p3 nucleocapsid protein of the common oak ringspot-associated virus (CORaV)

Kahn-Cleland R, Rehanek M, von Bargaen S, Büttner C

Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

In der Stieleiche wurde mittels Hochdurchsatzsequenzierung ein neuartiges Emaravirus identifiziert (Bandte et al. 2020). Auf Basis der vorliegenden Sequenzinformationen konnte zunächst ein RT-PCR-basiertes Detektionssystem entwickelt und erste Daten zur geographischen Verteilung des neuen Emaravirus, genannt common oak ringspot-associated virus (CORaV), gesammelt werden (Rehanek et al. 2021)

Ein rein Nukleinsäure-basiertes Nachweisverfahren kann die zuverlässige Diagnose von CORaV limitieren. Weitere Studien zur Klärung epidemiologischer Fragen werden von der Entwicklung eines weiteren, serologischen Testsystems profitieren. Antikörper als Basis empfindlicher und spezifischer serologischer Detektionsmethoden wie beispielweise ELISA, Tissue Print und Lateral Flow spielen hierbei eine wichtige Rolle.

Ziel dieser vorgestellten Arbeit ist es daher, einen Antikörper gegen das RNA 3-kodierte Nukleokapsidprotein des Virus zu generieren, um ein serologisches Testsystem für CORaV etablieren zu können. Die Protein-kodierende Region (ORF) der viralen RNA 3 wurde amplifiziert und in die Expressionsvektoren pGEX-6P-1 und pET-28b kloniert, um C-terminale Fusionsprodukte zu erzeugen. Zur Expression, Isolierung und Reinigung nativer Proteinfractionen wurden verschiedene Methoden überprüft. Erste Daten werden präsentiert.

LITERATUR

Bandte, M., Rehanek, M., Leder, B., von Bargaen, S., Büttner, C. (2020). Identification of an emaravirus in a Common oak (*Quercus robur* L.) conservation seed orchard in Germany: implications for oak health. *Forests* 11, e1174

Rehanek, M., von Bargaen, S., Bandte, M. et al. (2021). A novel emaravirus comprising five RNA segments is associated with ringspot disease in oak. *Arch Virol*.
<https://doi.org/10.1007/s00705-021-04955-w>

Complete genome sequence of a German isolate of *Spartina* mottle virus supports its classification as a member of the proposed genus "*Sparmovirus*" within the family *Potyviridae*

Rose H¹, Menzel W², Knierim D², Rabenstein F³, Maiss E¹

¹Leibniz University Hannover, Institute of Horticultural Production Systems, Sect. Phytomedicine, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover; ²Leibniz Institute DSMZ, German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Inhoffenstraße 7 B, 38124 Braunschweig; ³Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Julius Kühn-Institut, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg
Email: rose@ipp.uni-hannover.de, maiss@ipp.uni-hannover.de

Spartina mottle virus (SpMV), an unassigned member of the family *Potyviridae*, has been known since 1980, when it was first described in England and Wales in symptomatic *Spartina* plants (Jones, 1980). In infected cells, flexuous particles and pinwheel inclusion bodies were found that resemble those of potyvirids. In 2020, the NCBI database contained two partial sequences of a German (Nessmersiel) and an Italian (Assisi) isolate, suggesting that SpMV could be the first member of a new genus, called "*Sparmovirus*", in the family *Potyviridae* (Goetz et al., 2002). Here, we present the first complete genome sequence of the German SpMV isolate (SpMV Ger) being a single-stranded, monopartite, polyadenylated RNA consisting of 9376 nucleotides. The genome organization is similar to that of classical potyviruses and in a phylogenetic tree, SpMV could not be assigned to any of the known genera so far, but showed the closest relationship to rymoviruses and common reed chlorotic stripe virus (CRCSV, unassigned). Sequence comparisons confirmed that a new genus should be established containing SpMV, possibly CRCSV, and three Bermuda grass mosaic virus isolates (considered divergent strains of SpMV (Hosseini et al., 2010)). Just recently, two additional complete genome sequences of *Spartina* mottle virus from *Cynodon* species were described supporting the creation of a new genus within the *Potyviridae* (Thomas et al., 2021).

LITERATURE

- Götz R; Huth W; Lesemann D-E; Maiss E. (2002). Molecular and serological relationships of *Spartina* mottle virus (SpMV) strains from *Spartina* spec. and from *Cynodon dactylon* to other members of the *Potyviridae*. *Archives of Virology* 147, 379-391
- Hosseini A; Koochi Habibi M; Izadpanah K; Mosahebi GH; Rubies-Autonell C; Ratti C (2010). Characterization of a filamentous virus from Bermuda grass and its molecular, serological and biological comparison with *Spartina* mottle virus. *Archives of Virology* 155, 1675-1680
- Jones P (1980). Leaf mottling of *Spartina* species caused by a newly recognised virus, *Spartina* mottle virus. *Annals of Applied Biology* 94, 77-81
- Rose H; Menzel W; Knierim D; Rabenstein F; Maiss E (2020). Complete genome sequence of a German isolate of *Spartina* mottle virus supports its classification as a member of the proposed genus "*Sparmovirus*" within the family *Potyviridae*. *Archives of Virology* 165, 2385-2388
- Thomas JE; Raymond M; Tran NT; Crew KS; Teo AC; Geering, ADW (2021). Complete genome sequences and properties of *Spartina* mottle virus isolates from hybrid Bermuda grass (*Cynodon dactylon* × *Cynodon transvaalensis*). *Plant Pathology*

Complete genome sequence and construction of an infectious full-length clone of a potyvirus from African nightshade

Rose H, Griesbach I, Maiss E

Leibniz University Hannover, Institute of Horticultural Production Systems, Sect. Phytomedicine, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

Email: rose@ipp.uni-hannover.de, maiss@ipp.uni-hannover.de

Within the HORTINLEA project, one focus is the characterisation of the predominant viral diseases in African nightshade plants (*Solanum* spp.), being of high economic importance in Africa. With regard to reduce crop failures and produce pest-free plants, various samples were analysed for the occurrence of plant viruses. One of the samples from Kenya contained a potential potyvirus of which the complete genome sequence showed similarities to chilli veinal mottle virus (ChiVMV) and pepper veinal mottle virus (PVMV). The highest similarity can be observed in comparison to a database sequence of African eggplant mosaic virus (AEMV) (NC_043537) from Tanzania. Here, we present the complete genome sequence of a new Potyvirus, tentatively named nightshade veinal mottle virus (NSVMV) isolated from African nightshade and the construction of an infectious full-length clone using Gibson Assembly (Gibson et al., 2009). The infectivity of the full length-clone was confirmed by agroinfiltration and subsequent RT-PCR detection in *N. benthamiana*, *S. aethiopicum* (African eggplant) and *S. nigrum* (African nightshade). Both, wild type and full-length clone could be transmitted by the green peach aphid *Myzus persicae* from *N. benthamiana* to *N. benthamiana*, *S. aethiopicum* and *S. nigrum*.

Acknowledgements: We thank Prof. Dr. Carmen Büttner and Dr. Juliane Langer for providing the samples containing the virus.

LITERATURE

Gibson DG; Young L; Chuang R-Y; Venter JC; Hutchison CA III; Smith, HO (2009). Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases. *Nature Methods* 6 (5), 343-345

Use of hyperspectral sensing for detection of Turnip yellows virus infection in *Nicotiana benthamiana*

Hossain, R¹, Ispizua Yamati, FR¹, Barreto Alcántara, AA¹, Savian, F^{2,3}, Varrelmann, M¹, Mahlein A-K¹, Paulus, S¹

¹Institute of Sugar Beet Research, Holtenser Landstraße 77, D-37079 Goettingen; ²CREA - Council for Agricultural Research and Economics, Research Centre for Agriculture and Environment, I-40128 Bologna, Italy; ³Department of Agricultural Food, Environmental and Animal Sciences, University of Udine, Via delle Scienze 206, Udine, Italy

Email: Hossain@ifz-goettingen.de

Turnip yellows virus (TuYV), a polerovirus from the family *Luteoviridae*, is solely transmitted by aphids, mainly by *Myzus persicae*. It causes considerable yield losses among important herbaceous crop plants and is widely spread in oilseed rape cultivation (Stevens et al., 2008). TuYV is phloem limited and displays unequal distribution in different plant tissue over time. Visual symptoms are variable and do not show relation to virus content. Thus, setting up a quantitative assay by protein-based or molecular detection is not straightforward. Emerging approaches in digital plant phenotyping using optical

sensors have been shown to detect plant diseases or reactions of plants to biotic stress (Kuska and Mahlein 2018). Resulting data can be analyzed using machine learning methods to generate models based on spectral features for disease detection and classification.

A TuYV infectious cDNA full-length clone, that produces reddening of leaf margins in old oilseed rape plants and that is able to be transmitted by *M. persicae*, was used for agrobacterium-mediated infiltration of the experimental host *Nicotiana benthamiana* in a greenhouse bioassay under controlled conditions. In *N. benthamiana*, the recombinant TuYV results in formation of weak yellowing symptoms. Spectral sensing of single leaves of different developmental stages of the plant was performed at 35 dpi using a non-imaging spectrometer and a leaf clip (380-2450nm). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed on leaf material taken from the exact same leaf position where the spectral measurement had been performed to detect and categorize virus contents. The measured spectrum was interpreted using a support vector machine model (SVM) to classify the data into groups of different virus content (“very low”, “low”, “medium”, “high”) compared to the non-infiltrated control plants according to the ELISA results. It was possible to predict the virus content in *N. benthamiana* leaves with accuracies between 77-100%. Furthermore the relevant wavelengths were identified and selected to differentiate between non-infiltrated controls and the different virus content groups which can serve as a basis for the characterization of metabolic/cytochemical changes after virus infection.

Thus, this approach enables a non-invasive detection and classification of virus contents in the different levels of the plant apparatus, which represent different leaf development stages, and future monitoring of virus spread within a plant circumventing intense laboratory work.

LITERATUR

Stevens, M; McGrann, G; Clark, B; Authority, H (2008). *Turnip yellows virus (syn Beet western yellows virus): an emerging threat to European oilseed rape production*. HGCA.

Kuska, M. T., & Mahlein, A. K. (2018). Aiming at decision making in plant disease protection and phenotyping by the use of optical sensors. *European Journal of Plant Pathology*, 152(4), 987-992.

Poster Nr. 8

Investigation of translation initiation of sugar beet infecting poleroviruses

Rollwage L, Hossain R, Varrelmann M

Institute for Sugar Beet Research, Holtenser Landstraße 77, D-37077 Göttingen, Germany

Email: Rollwage@ifz-goettingen.de; Corresponding Author Email: Varrelmann@ifz-goettingen.de

Virus yellows (VY) disease in sugarbeet is an increasing problem for European sugar beet growers and can be caused by a complex of different aphid transmitted viruses, namely *Beet yellows virus* (BYV, *Closterovirus*), *Beet mosaic virus* (BtMV, *Potyvirus*), *Beet mild yellowing virus* (BMV) and *Beet chlorosis virus* (BChV) (both *Polerovirus*). Due to the ban of seed-treated neonicotinoids in 2019, VY re-emerges in Europe. Especially mainly *Myzus persicae* persistently transmitted members of the genus *Polerovirus* appear to play an increasing role. All poleroviruses carry a viral genome-linked protein (VPg) (Stevens et al. 2005), which was shown to function as mRNA cap-analogue for translation initiation. In various studies the VPg of potyviruses was shown to interact with different eukaryotic initiation factors (eIFs)

of their respective host plants (Truniger & Aranda, 2009). Disturbing the VPg-eIF interaction results in complete recessive resistance to infection. Initial studies in *Arabidopsis thaliana* support that this concept might be used for polerovirus control as well. However, closely related virus species can depend on different eIFs (Reinbold et al., 2013). In addition, the same virus can depend on different eIFs in different hosts (Jiang & Laliberté, 2011), making it impossible to transfer previous findings to sugar beet. Using a LexA-based yeast two hybrid (YTH) assay, all predicted sugar beet eIFs were screened for interaction with BMV & BChV as well as BtMV VPgs *in vivo*. Preliminary results suggest that the VPgs of both BMV, BChV and BtMV interact with sugar beet Bv-eIF(iso)4E as well as Bv-eIF4E-like. However Bv-eIF4E could not be tested due to autoactivation in yeast. The following experimental strategy to confirm these interactions and produce resistance in sugar beet will be presented including Gal4-based YTH, Co-Immunoprecipitation, Bimolecular fluorescence complementation and the generation of sugar beet eIF-knock-out mutants.

LITERATUR

- Jiang, J. & Laliberté, J.-F. (2011). The genome-linked protein VPg of plant viruses-a protein with many partners. *Current opinion in virology*, 1 (5), 347–354.
- Reinbold, C., Lacombe, S., Ziegler-Graff, V., Scheidecker, D., Wiss, L., Beuve, M., Caranta, C. & Brault, V., 2013. Closely related poleroviruses depend on distinct translation initiation factors to infect *Arabidopsis thaliana*. *Molecular plant-microbe interactions*, 26 (2), 257-265.
- Truniger, V. & Aranda, M. A. (2009). Recessive resistance to plant viruses. *Advances in virus research*, 75, 119–159.
- Stevens, M., Freeman, B., Liu, H.-Y., Herrbach, E. & Lemaire, O. (2005). Beet poleroviruses. Close friends or distant relatives? *Molecular plant pathology*, 6 (1), 1–9.

Poster Nr. 9

BioSam - Survey and characterization of JKI's collections of arthropods, viruses, and invasive crop pests concerning climate change

Rabia Ilyas, Katja Richert-Pöggeler, Heiko Ziebell

Julius Kühn-Institut, Messeweg 11-12, D-38104 Braunschweig, Germany

Email: rabia.ilyas@julius-kuehn.de; Corresponding Author Email: heiko.ziebell@julius-kuehn.de

Plant production and biodiversity are facing a constant challenge by new and invasive organisms and viruses. Additionally, climate change is accelerating such changes. In response, strategies for pathogen control using conventional and biological farming need to be environmentally safe and biologically friendly. Therefore, the various levels of symbiosis between plants and pathogens are needed to be studied comprehensively. This will enable us to identify both parasitic as well as beneficial interactions for their impact on sustainable yet high quality plant production and biodiversity. We plan to develop and optimize methods of detection, characterization, and documentation in a uniform workflow (LIMS). The virology group maintains two relevant collections: one comprehensive antibody collection with polyclonal and monoclonal antibodies, which are used for diagnosis and characterization of plant viruses, and a collection of plant viruses. Within the framework of the LIMS system, the features of antisera are composed in "Serothek" while features of plant virus isolates are summarized in the "Virothek" (1500 isolates). The virothek data is constantly

extended with respect to taxonomic, biological (host range, symptoms), morphological (electron microscopy), serological (homologous and heterologous antibody reactions), and molecular (sequencing data) properties. Our collection is a valuable resource for both diagnostic purposes and evolutionary studies of the historic and current virus isolates. Aim of this project is the complementation of missing data as many of these historic collections have only limited information available. The results obtained in this project are important for both prevention (quarantine) as well as for efficient identification of both symptomatic and asymptomatic pathogens. Special attention will be paid to potential beneficial symbiosis of organisms and viruses with their plant host.

Poster Nr. 10

Etablierung des JKI als Nationales Referenzlabor - Akkreditierung des „Prüflaboratoriums JKI“ nach DIN EN ISO/IEC 17025

Heiko Ziebell, Florian Bittner

Messeweg 11-12, D-38104 Braunschweig, Germany

Email: heiko.ziebell@julius-kuehn.de

Mit der „Verordnung zur Zuweisung der Funktion eines nationalen Referenzlaboratoriums für Schadorganismen der Pflanzen (Pflanzenschadorganismenreferenzlaborzuweisungsverordnung)“ vom 10. April 2019 wurde dem Julius Kühn-Institut die Funktion eines Nationalen Referenzlabores zugewiesen. Die Struktur, Aufgaben und Funktionen des „Prüflaboratoriums JKI“ sowie die Einbindung in das Europäische Referenzlabor werden vorgestellt.

Poster Nr. 11

Erste Ergebnisse zu Viruserkrankungen an Gemeinen Eschen in einer süddeutschen Samenplantage

Kira Köpke¹, Maria Landgraf¹, Susanne von Barga¹, Anna-Katharina Eisen², Susanne Jochner Oette², Carmen Büttner¹

¹Fachgebiet Phytomedizin, Humboldt-Universität zu Berlin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin; ²Physische Geographie / Landschaftsökologie und nachhaltige Ökosystementwicklung, Katholische Universität Eichstätt-Ingolstadt, Ostenstraße 26, D-85072 Eichstätt

Email: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Viruserkrankungen nehmen in der Pflanzengesundheit auch bei Bäumen eine besondere Stellung als prädisponierende Faktoren ein (Büttner et al, 2013). Im Sommer 2019 wurde eine erste Erhebung zum Auftreten von virusverdächtigen Symptomen in der Samenplantage (*F. excelsior*, Gemeine Esche) im Landkreis Emmendingen durchgeführt. Im Rahmen der Untersuchungen soll zudem geprüft werden, ob es Hinweise gibt, die auf einen Zusammenhang zwischen einer Virusinfektion und dem Eschentriebsterben hindeuten. In der Anlage wurde der Bestand von 84 von ehemals 231 gepflanzten Eschen untersucht.

Nach Ende der Blattentwicklung wurde zudem mit einem Handmessgerät (Force-A Dualex Scientific+™, Frankreich) der Chlorophyll-, Flavonol- und Anthrocyangehalt sowie der Nitrogen Balanced Index bestimmt und die Baum- und Kronenhöhe sowie der Stammumfang und das Geschlecht aufgenommen. Der visuellen Bonitur der Bäume folgte die Probenname von 52 ausgewählten Blatt-

und Astabschnitten. Gängige Virussympptome an Eschen, wie die Deformation der Blätter bis hin zu Fadenblättrigkeit, konnte an einem Baum festgestellt werden, chlorotische Ringflecken und Linienmuster an keinem Baum. Entsprechend wurden 19 Proben nach beobachteten Symptomen in fünf Probenpools gruppiert, die Gesamt RNA extrahiert und die ribosomale RNA abgereichert. Nach der cDNA Synthese wurde diese mittels Illumina NovaSeq 6000 sequenziert. Die Hochdurchsatz-Sequenzdatensätze wurden auf Pflanzenvirus-Signale ausgewertet. Basierend auf dieser bioinformatischen Auswertung wurden die Proben auf potenziell Pflanzenvirus-assoziierte Sequenzen mittels RT-PCR systematisch untersucht.

Erste Ergebnisse zur Virusdetektion werden vorgestellt und bewertet.

LITERATUR

Büttner C, Barga S von, Bandte M, Mühlbach H-P (2013). Forest Diseases Caused by Viruses. In: Gonthier, P, Nicolotti, G (ed): Infectious Forest Diseases. CABI, Oxfordshire (UK), pp. 50–75.

Poster Nr. 12

Current status of the nanovirus *Pea necrotic yellow dwarf virus* (PNYDV)

*Judith N. Seeger*¹, *Heiko Ziebell*², *Chistiane Then*², *Thomas Astor*³, *Herwart Böhm*⁴, *Helmut Saucke*¹

¹Universität Kassel, Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz, Nordbahnhofstr. 1a, 37213 Witzenhausen; ²Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Braunschweig; ³Universität Kassel, Fachgebiet Grünlandwissenschaft und Nachwachsende Rohstoffe, Witzenhausen; ⁴Thünen-Institut, Institut für Ökologischen Landbau, Trenthorst

Pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV) is a nanovirus affecting various grain legume crops and is transmitted persistently by aphids. It has been discovered in 2009 (Grigoras et al. 2010) and had first largescale outbreaks in 2016, particularly throughout Germany and Austria. PNYDV causes patches with stunted, chlorotic plants, scattered over the field (Ziebell 2017). A drone-based remote sensing method combined with plant samples, was tested to quantify symptomology and associated yield losses.

In 2019 an on-farm field experiment with faba bean (*Vicia faba* L.) employing the standard variety 'Fuego' and the probably less sensitive variety 'GL-Sunrise' in alternating strips, 3m wide and 50m in length has been performed. Multispectral drone images were taken in regular time intervals. Yield parameters were collected by assessing ¼ m² mature plant samples of the core and edge of the foci as well as an adjacent non-symptomatic reference from selected infection foci. These sample areas were assigned to the reflection values using GPS data on the georeferenced drone images.

In both varieties, grain yield and raw protein content decreased from the reference over the edge towards the core. The three sampled symptom categories were well distinguishable from each other by remote sensing methods. First results concerning significant correlations between yield parameters and several vegetation indices are presented.

LITERATURE

Grigoras I; Gronenborn B; Vetten HJ (2010): First report of a nanovirus disease of pea in Germany. *Plant Disease* 94, 642.

Ziebell H (2017). Die Virusepidemie an Leguminosen 2016 – eine Folge des Klimawandels? *Journal für Kulturpflanzen* 69, 64-68.

The Julius Kühn-Institut becomes a new member of the European Virus Archive

Richert-Pöggeler, KR¹, Niehl A¹, Wilhelm Jelkmann², Heiko Ziebell¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, D-38104 Braunschweig, Germany, ² Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Schwabenheimer Straße 101, D-69221 Dossenheim

Email: katja.richert-poeggeler@julius-kuehn.de

The European Virus Archive (EVA) was created in 2008 in response to the need for a coordinated and readily accessible collection of human and animal viruses that could be made available to academia, public health organisations and industry.

In the new EU project EVA-GLOBAL in frame of Horizon 2020 gathering 38 academic institutions also plant viruses are incorporated. EVA-GLOBAL is conceived to be an open access entity aiming at developing synergies and complementary capabilities in such a way to offer an improved access to the researchers. This unique advanced community aims at becoming the most responsive network to improve the control of emerging or re-emerging virus outbreaks at the global level. The consortium ensures that the available materials meet the highest scientific standards in terms of safety, quality and characterization. The property of the provided materials remains with the originators. Besides various forms of virus material, antibodies, molecular detection assays, cutting edge methodology for virus cultivation, preservation and analyses are available. The large number of distinct viruses and isolates enables the concept of preparedness which has been beneficial to researchers worldwide during the current SARS-CoV-2 pandemic.

The first EVA-GLOBAL meeting was held on the 12th and 13th of February 2020 in Marseille, France. About 100 people attended from 17 different countries all over the world discussing epidemiology, measures and consequences of human, animal and plant virus outbreaks.

First Finding of... Meldepflicht von Schadorganismen an Pflanzen in Deutschland

Wilstermann, A

Julius Kühn-Institut, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit, Messeweg 11-12, D-38104 Braunschweig, Germany

Seit dem 14. Dezember 2019 gilt in der EU die neue Pflanzengesundheitsverordnung VO (EU) 2016/2031. In der Verordnung ist die Meldepflicht von Schadorganismen an Pflanzen geregelt. Für Unionsquarantäneschadorganismen (VO (EU) 2019/2072, Anhang II) gilt eine Meldepflicht für Jedermann (Unternehmer und alle anderen Personen). Unternehmer sind Personen die Pflanzen anpflanzen, züchten, produzieren, ein- und ausführen, vermarkten, lagern, versenden und verarbeiten; nicht gewerbliche Zwecke sind hier mit eingeschlossen (beispielsweise Universitäten und botanische Gärten). Meldepflichtig durch Unternehmer sind generell auch neue Schadorganismen (Meldung einer unmittelbaren Gefahr), also Schadorganismen die nicht in der VO (EU) 2019/2072 gelistet sind und deren Vorkommen in Deutschland bisher noch nicht bekannt war. Das beinhaltet neben ganz neuen Schadorganismen auch solche, für die Notmaßnahmen gelten (wie z.B. Tomato brown rugose fruit virus), die auf der EPPO Frühwarnliste stehen oder Organismen die aufgrund einer

Risikoanalyse des Julius Kühn-Instituts (JKI) als potenzielle Quarantäneschadorganismen eingestuft wurden (z.B. Citrus bark cracking viroid an Hopfen). Die Meldung erfolgt an den Pflanzenschutzdienst des Bundeslandes, in dem der Schadorganismus gefunden wurde. Nicht meldepflichtig sind Schadorganismen, die in Deutschland bekanntermaßen bereits weit verbreitet oder einheimisch sind. Der Pflanzenschutzdienst entscheidet, ob und welche Maßnahmen zur Verhinderung der Ausbreitung oder zur Tilgung des Organismus ergriffen werden müssen. Ist das Risiko durch den Organismus unklar, wendet sich der Pflanzenschutzdienst an das JKI zur Erstellung einer Risikoanalyse, auf deren Basis über die Durchführung von Maßnahmen in Deutschland entschieden wird. Ist davon auszugehen, dass durch den Schadorganismus nicht hinnehmbare ökonomische, ökologische oder soziale Folgen für Deutschland oder andere Mitgliedstaaten der EU entstehen können, muss das Auftreten durch ein amtlich benanntes Labor nachgewiesen werden und ggf. durch das nationale Referenzlabor (JKI) verifiziert werden. Nach dem Nachweis werden Maßnahmen ergriffen und es erfolgt eine Meldung an die EU und an die anderen Mitgliedstaaten.