



. JAHRESTREFFEN DES ARBEITSKREISES “VIRUSKRANKHEITEN DER PFLANZEN“

19. bis 20. März 2018

Tagungsort

**Haus der Kirche - Evangelische Akademie
Dobler Str. 51, 76332 Bad Herrenalb**

Informationen zum Tagungshaus, Anreise und mehr:
<http://www.hdk.ev-akademie-baden.de/>

Programm, Teilnehmerliste und Abstracts

Sponsoren der Tagung:



Herzlichen Dank für ihre Unterstützung!

Tagungsorganisation:

DPG-Arbeitskreisleitung: Tatjana Kleinow & Mark Varrelmann

Organisation vor Ort: Tatjana Kleinow & Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen,
Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Universität Stuttgart

Montag, 19. März 2018	
11:00 – 12:00	Brezelfrühstück Anreise und Registrierung zur Tagung
12:00 – 12:15	Begrüßung und organisatorische Bekanntmachungen <i>Tatjana Kleinow & Mark Varrelmann</i>
12:15 – 13:15	Sektion I: Moderation <i>Wilhelm Jelkmann</i>
12:15 – 12:35	A geminivirus-based gene silencing vector for reverse genetics applications <i>Björn Krenz, Holger Jeske & Tatjana Kleinow</i>
12:35 – 12:55	Plant viruses as adapters in enzyme-based sensor layouts <i>Claudia Koch, Arshak Poghossian, Michael J. Schöning, Stefan Werner, Yuri Gleba & Christina Wege</i>
12:55 – 13:15	Biomimetic nucleoprotein nanopores as adapters for the implantation into solid-state membranes <i>Klara Altintoprak, Axel Seidenstücker, Alexander Welle, Peter Krolla-Sidenstein, Hartmut Gliemann, Alfred Plettl, Othmar Marti & Christina Wege</i>
13:15 – 14:15	Mittagsmenü
14:15 – 15:35	Sektion II: Moderation <i>Mark Varrelmann</i>
14:15 – 14:55	Gastvortrag The past and future of grapevine fanleaf virus <i>Christophe Ritzenthaler</i>
14:55 – 15:15	Interaction of the beet necrotic yellow vein virus with the auxin signaling pathway in sugar beet <i>Sebastian Liebe, Jose Fernando Gil, Heike Thiel, Britt-Louise Lennfors, Thomas Kraft, David Gilmer, Mark Varrelmann & Eugene I. Savenkov</i>
15:15 – 15:35	In-vivo Produktion von dsRNA mit Hilfe eines Phagen-basierten dsRNA-Replikationssystems und Anwendung zur Bekämpfung von Virusinfektionen in Pflanzen <i>Annette Niehl, Marjukka Soininen, Minna Poranen & Manfred Heinlein</i>
15:35 – 16:25	KAFFEE-/TEEPAUSE und Präsentation der Poster (50 min)
16:25 – 18:25	Sektion III: Moderation <i>Björn Krenz</i>
16:25 – 16:45	Bestimmung der ersten vollständigen Sequenz eines turnip yellows virus Isolates aus Raps deutscher Herkunft und Herstellung eines infektiösen cDNA-Volllängenkons mittels Gibson-Assembly zur Agrobacterium vermittelten Infektion <i>Roxana Hossain, Veronika Wetzels, Muhammad Ahmad, Dennis Knierim, Wulf Menzel & Mark Varrelmann</i>
16:45 – 17:05	Die Rolle von Schildläusen (<i>Homoptera Coccina</i>) in der Epidemiologie von Rebviren als Grundlage für eine Risikoneubewertung im deutschen Weinbau <i>Nadine Steinmetz, Gertraud Michl, Michael Maixner & Christoph Hoffmann</i>
17:05 – 18:00	Sektion IV Berichte & Besprechungspunkte aus der Praxis: Moderation <i>Carmen Büttner</i>
17:05 – 17:20	A Luminex xTAG assay to distinguish between infectious and non-infectious virus in tomato seeds <i>René A.A. van der Vlugt & Jan H.W. Bergervoet</i>
17:20 – 17:35	Untersuchungen zur Verbreitung von Vergilbungsviren der Zuckerrübe <i>Wulf Menzel & Mark Varrelmann</i>
ab 18:15	Abendessen & gemütliches Beisammensein

Dienstag, 20. März 2018	
07:45 – 08:30	Frühstücksbüfett
08:50 – 10:10	Sektion V: Moderation <i>Holger Jeske</i>
08:50 – 09:10	<i>Beta vulgaris</i> resistance protein Rz2 recognizes the beet necrotic yellow vein virus RNA2 encoded movement protein TGB1 and triggers cell death <i>Veronika Wetzel & Mark Varrelmann</i>
09:10 – 09:30	Plant virus RNA <i>in situ</i> hybridization in different tissues via RNAscope® <i>Paolo Margaria, Esperance Munganyinka, Samar Sheat & Stephan Winter</i>
09:30 – 09:50	Allexiviren in Knoblauch: Vielfalt und Vektoren <i>Katja R. Richert-Pöggeler, C. Maaß, S. Schuhmann, D. Schmalowski, N. Liebig, S. Lange & C. Nagel</i>
09:50 – 10:10	A complex virome identified in declining birch <i>Maria Landgraf, Elisha Bright Opoku, Martina Bandte, Susanne von Bargaen, Martin Schreiner, Barbara Jäckel & Carmen Büttner</i>
10:10 – 11:10	KAFFEE-/TEEPAUSE und Präsentation der Poster (60 min)
11:10 – 13:00	Sektion VI: Moderation <i>Annette Niehl</i>
11:10 – 11:30	Viruses affecting ash (<i>Fraxinus sp.</i>) in Europe – genome organization and geographic distribution of a putative novel emaravirus <i>Susanne von Bargaen, Max Tischendorf, Maria Landgraf, Dag-Ragnar Blystad, Katia Gindro, Jean-Sébastien Reynard & Carmen Büttner</i>
11:30 – 11:50	The nuclear shuttle protein NSP of bipartite geminiviruses packages circular single-stranded DNA <i>in planta</i> <i>Gabi Kepp, Tatjana Kleinow & Holger Jeske</i>
11:50 – 12:10	An analysis of the subcellular distribution of geminiviral transport proteins and their influence on the plant's endomembrane system <i>Andrea Bauer, Holger Jeske, Björn Krenz & Tatjana Kleinow</i>
12:10 – 12:50	Allgemeines und Abschlussdiskussion <i>Tatjana Kleinow & Mark Varrelmann</i>
13:00 – 14:00	Mittagsmenü
	Tagungsende

Übersicht Posterpräsentationen

Poster Nr. 1

Detection of grapevine viruses, viroids and Stolbur-group phytoplasma *Candidatus phytoplasma solani* in grapevine using next-generation sequencing

Kerstin Zikeli, Constanze Berwarth, Dennis Knierim, Christoph Hoffmann, Michael Maixner, Stephan Winter & Wilhelm Jelkmann

Poster Nr. 2

Detektion eines neuartigen Emaravirus in Eschen (*Fraxinus excelsior*) mit Blattdeformationen und Fadenblättrigkeit

Max Tischendorf, Susanne von Barga, Martina Bandte, Jean-Sebastien Reynard & Carmen Büttner

Poster Nr. 3

Investigations of fungal root endophytes and their mycoviruses in context with apple replant disease

Carolin Popp, Gisela Grunewaldt-Stöcker & Edgar Maiß

Poster Nr. 4

Construction of strawberry mild yellow edge virus full length cDNA clones by In-Fusion® HD cloning

Wilhelm Jelkmann & Constanze Berwarth

Poster Nr. 5

Novel RNA viruses associated with Apple rubbery wood and Apple flat limb diseases

Mike Rott, Prasad Kesanakurti, Ian Boyes, Constanze Berwarth, H. Rast & Wilhelm Jelkmann

Poster Nr. 6

Detection and characterization of the complete genome of the first cherry (c) strain isolate of Plum pox virus detected in Germany in sour cherry (*Prunus cerasus*)

Wilhelm Jelkmann, Dan Sanderson, Constanze Berwarth & Delano James

Poster Nr. 7

Near-atomic resolution structure of a plant geminivirus determined by electron cryo-microscopy

Katharina Hipp, Clemens Grimm, Holger Jeske & Bettina Böttcher

Poster Nr. 8

Detection of a novel ilarvirus in *Passiflora edulis* in Colombia

Christian Lüchau, Joseph Cutler, Juliane Langer, Orlando Acosta, Gerhard Fischer, Fánor Casierra, Adriana Castañeda, Mónica Betancourt, Wilmer Cuéllar, Eduardo Stasiukynas, Susanne von Bergen & Carmen Büttner

Poster Nr. 9

Hochdurchsatzsequenzierung an der DSMZ: Nachweis und Identifizierung von Pflanzenviren

Dennis Knierim, Paolo Margaria, Wulf Menzel & Stephan Winter

Poster Nr. 10

Hochdurchsatzsequenzierung zur Bestimmung von Viromen verschiedener Leguminosen aus Griechenland

Dennis Knierim, Kyriaki Sareli, Elisavet Chatzivassiliou, Paolo Margaria & Stephan Winter

Poster Nr. 11

Konstruktion eines infektiösen Volllängenkons des Paprika mild mottle virus (PaMMV)

Tom Pielhop & Edgar Maiß

Poster Nr. 12

Development of a diagnostic DAS-ELISA Kit for *Soybean mosaic virus* (SMV)-infected Colombian purple passion fruit

Joseph Cutler, Denise Altenbach, Susanne von Bergen, Juliane Langer, Orlando Acosta Losada, Fánor Casierra-Posada, Adriana Castañeda Cárdenas, Mónica Betancourt Vasquez, Wilmer Cuellar, Eduardo Arvydas Stasiukynas, Emilio Arevalo-Peñaranda, Gerhard Fischer & Carmen Büttner

Poster Nr. 13

Asparagus virus 1 Volllängenkone zur Aufklärung von pathotypspezifischen Unterschieden in *Chenopodium quinoa* und *Nicotiana benthamiana*

Hanna Rose & Edgar Maiß

Poster Nr. 14

Characterization of newly discovered viruses in declining birch

Elisha Bright Opoku, Maria Landgraf, Martina Bandte, Susanne von Bergen, Martin Schreiner, Barbara Jäckel & Carmen Büttner

Poster Nr. 15

Konstruktion eines infektiösen Vollängenklons des Tomato mild mottle virus (TMMoV) aus dem Genus *Ipomovirus* (Potyviridae)

Anabel Aselmeyer, Edgar Maiß & Hanna Rose

Poster Nr. 16

Genome organization of a novel emaravirus in Common oak (*Quercus robur* L.)

Marius Rehanek, Susanne von Bargen, Martina Bandte & Carmen Büttner

Poster Nr. 17

Molecular and biological characterization of Neckar river virus (NRV)

Thi Chi Tran & Edgar Maiß

Poster Nr. 18

NanoLuc as a tool to study infection with a plant virus

Marie Ducouso, Sylvaine Buissinot, Véronique Brault & Martin Drucker

Poster Nr. 19

Biological and molecular characterisation of a putative Tomato bushy stunt virus (TBSV) isolate from Kalanchoe

Thu-Giang Thi Bui & Edgar Maiß

Poster Nr. 20

Untersuchungen zur Blattrollkrankheit an Reben und Schildläusen am Oberrhein im Rahmen des Interreg V Projekts „InvaProtect“

Etienne Herrbach, Céline Abidon, Antoine Alliaume, Jérôme Attard, Pauline Audema, Delphine Binet, Patricia Bohnert, Michael Breuer, Marie Fagot, Alexandre Fleisch, Lucie Froehlicher, Arthur Froehly, Gérard Hommay, Ulrike Ipach, Lilo Kling, Marie-Noëlle Lauer, Gertraud Michl, Catherine Reinbold, Nadine Steinmetz & Christoph Hoffmann

Teilnehmer Liste

Abo El-Abbas	Fawzy	Faculty of Agriculture Ain Shams University Cairo	Hadayek Shobra, PO Box 68 11241 Cairo Egypt
Altintoprak	Klara	Universität Stuttgart Institut f. Biomaterialien & biomolekulare Systeme Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Pfaffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Amari Baba	Khalid	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	Inhoffenstr. 7B 38124 Braunschweig Deutschland
Bandte	Martina	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Bauer	Andrea	Universität Stuttgart Insitut f. Biomaterialien & biomolekulare Systeme Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Pfaffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Bergervoet	Jan	Wageningen University & Research Wageningen Plant Research Biointeractions and Plant Health	Droevendaalstesteeg 1 6708 PB Wageningen Niederlande
Berwarth	Constanze	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau	Schwabenheimer Str. 101 69221 Dossenheim Deutschland
Bui	Thu-Giang Thi	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Str. 2 30419 Hannover Deutschland
Butgereitt	Anja	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	Inhoffenstr. 7B 38124 Braunschweig Deutschland
Büttner	Carmen	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Cernusko	Robert	Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern (LALLF M-V)	Graf-Lippe-Str. 1 18059 Rostock Deutschland
Cutler	Joseph	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Drucker	Martin	INRA, UMR 385 BGPI Equipe VIP TA A54K, Campus International de Baillarguet	34398 Montpellier Cedex 5 Frankreich
Ginsberg	Judith	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum- Rheinessen-Nahe-Hunsrück Diagnoselabor	Rüdesheimer Str. 60-68 55545 Bad Kreuznach Deutschland
Herrbach	Etienne	UMR INRA-Unistra Santé de la Vigne et Qualité du Vin Centre INRA	28 rue de Herrlisheim 68000 Colmar, Alsace, Frankreich
Hipp	Katharina	Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie Elektronenmikroskopie	Max-Planck-Ring 5 72076 Tübingen Deutschland

Holz	Sabine	Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung Referat 313 - Innovationsförderung	Deichmanns Aue 29 53179 Bonn Deutschland
Hossain	Roxana	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
Jelkmann	Wilhelm	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau	Schwabenheimer Str. 101 69221 Dossenheim Deutschland
Jeske	Holger	Universität Stuttgart Institut f. Biomaterialien & biomolekulare Systeme Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Pfaffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Kleinow	Tatjana	Universität Stuttgart Institut f. Biomaterialien & biomolekulare Systeme Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Pfaffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Knierim	Dennis	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	Inhoffenstr. 7B 38124 Braunschweig Deutschland
Koch	Claudia	Universität Stuttgart Institut f. Biomaterialien & biomolekulare Systeme Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Pfaffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Korz- Lunkenheimer	Gisela	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum- Rheinessen-Nahe-Hunsrück Diagnoselabor	Rüdesheimer Str. 60-68 55545 Bad Kreuznach Deutschland
Krenz	Björn	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	Inhoffenstr. 7B 38124 Braunschweig Deutschland
Landgraf	Maria	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Liebe	Sebastian	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
Liedl	Peter	Selecta Klemm GmbH & Co. KG	Hanfäcker 10 70378 Stuttgart Deutschland
Loewe	Renate	Loewe Biochemica GmbH	Mühlweg 2a 82054 Sauerlach Deutschland
Lüchau	Christian	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Maiberg	Verena	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	Inhoffenstr. 7B 38124 Braunschweig Deutschland
Maiß	Edgar	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Str. 2 30419 Hannover Deutschland

Margaria	Paolo	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Menzel	Wulf	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	Inhoffenstr. 7B 38124 Braunschweig Deutschland
Niehl	Annette	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Opoku	Elisha Bright	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Pielhop	Tom	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Str. 2 30419 Hannover Deutschland
Popp	Carolin	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Str. 2 30419 Hannover Deutschland
Rehanek	Marius	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Reuper	Hendrik	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	Inhoffenstr. 7B 38124 Braunschweig Deutschland
Richert-Pöggeler	Katja	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik	Messeweg 11-12 38104 Braunschweig Deutschland
Riedel	Marko	Landesamt für Ländliche Entwicklung, Landwirtschaft und Flurneuordnung (LELF), Phytopathologische Diagnostik	Steinplatz 1 15806 Zossen Deutschland
Ritzenthaler	Christophe	Institut de biologie moléculaire des plantes, CNRS and Université de Strasbourg	12, rue du Général Zimmer 67084 Strasbourg Frankreich
Rose	Hanna	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Str. 2 30419 Hannover Deutschland
Schütze	Katia	KWS SAAT SE	Grimsehlstr. 31 37574 Einbeck Deutschland
Schwind	Mareike	Verband der hessisch-pfälzischen Zuckerrübenanbauer e.V.	Rathenastr. 10 67547 Worms Deutschland
Seigner	Luitgardis	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft	Lange Point 10 85354 Freising Deutschland
Steinmetz	Nadine	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau	Geilweilerhof 76833 Siebeldingen Deutschland

Stolz	Dijana	BIOREBA AG	Christoph Merian-Ring 7 4153 Reinach Schweiz
Tischendorf	Max	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Tran	Thi Chi	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme Phytomedizin, Pflanzenvirologie	Herrenhäuser Str. 2 30419 Hannover Deutschland
van der Vlugt	René	Wageningen University & Research Wageningen Plant Research Biointeractions and Plant Health	Droevendaalstesteeg 1 6708 PB Wageningen Niederlande
Varrelmann	Mark	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
von Bargaen	Susanne	Humboldt-Universität zu Berlin Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Phytomedizin	Lentzeallee 55-57 14195 Berlin Deutschland
Wege	Christina	Universität Stuttgart Institut f. Biomaterialien & biomolekulare Systeme Molekularbiologie & Virologie der Pflanzen	Pfaffenwaldring 57 70569 Stuttgart Deutschland
Wetzel	Veronika	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Phytopathologie	Holtenser Landstr. 77 37079 Göttingen Deutschland
Zahn	Volker	Landwirtschaftskammer (LWK) Niedersachsen Pflanzenschutzamt	Wunstorfer Landstr. 9 30453 Hannover Deutschland
Zikeli	Kerstin	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau	Schwabenheimer Str. 101 69221 Dossenheim Deutschland
Zimmermann	Carolin	Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg (LTZ), Biologische Diagnosen, Pflanzengesundheit, Sachgebiet Virologie	Neßlerstr. 25 76227 Karlsruhe Deutschland

Abstracts der Vorträge

Sektion I

A geminivirus-based gene silencing vector for reverse genetics applications

*Björn Krenz*¹, *Holger Jeske*² & *Tatjana Kleinow*²

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

² Universität Stuttgart, Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Deutschland

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

The geminivirus Abutilon mosaic virus (AbMV) was engineered as a silencing vector in which the coat protein gene of DNA-A was replaced by sequences of interest. The DNA-A construct was genetically stable upon systemic infection *in planta* and, in common with the parental virus, remained phloem-limited. For testing the virus-induced gene silencing (VIGS) capacity a partial phytoene desaturase gene (PDS) was inserted into the vector. After infection, PDS silencing was triggered efficiently in all leaf tissues without interference by viral symptoms. Moreover, a cell-free construction based on Phi29-based rolling circle amplification was developed for convenient assembly and delivery of VIGS constructs for functional genomics. The plastid-targeted chaperone cpHSC70-1 was shown to interact with the AbMV movement protein (MP) and their complexes were detected at the cellular margin and co-localized with plastids. AbMV-infection induced a cpHSC70-1-containing stromule network that transverses whole cells. The biological relevance of MP-chaperone-interaction for viral spread was tested by a VIGS approach. The AbMV-based vector was effectively used to knock-down cpHSC70 expression and revealed an impact of cpHSC70 on plastid stability and restricted AbMV movement, but not viral DNA accumulation. The findings support a role of cpHSC70-1-containing stromules in AbMV transport and indicated the developed VIGS vector as a versatile tool for reverse genetics applications.

Plant viruses as adapters in enzyme-based sensor layouts

*Claudia Koch*¹, *Arshak Poghossian*², *Michael J. Schöning*², *Stefan Werner*³, *Yuri Gleba*³ & *Christina Wege*¹

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

² Institut für Nano- und Biotechnologien, FH Aachen, Campus Jülich, Heinrich-Mußmann-Str. 1, 52428 Jülich, Deutschland

³ Nambawan Biotech GmbH, Biozentrum Halle, Weinbergweg 22, 06120 Halle/Saale, Deutschland

Email: claudia.koch@bio.uni-stuttgart.de

A cysteine-exposing mutant of tobacco mosaic virus (TMV) allows binding of bifunctional biotin linkers, thereby enabling a high surface-density presentation of fully active streptavidin [SA]-conjugated enzymes, which came out to be advantageous for biosensing. The cooperating two-enzyme system consisting of glucose oxidase (GOx) and horseradish peroxidase (HRP) for the detection of glucose, and [SA]-penicillinase (Pen) for antibiotic detection, respectively, were installed on the biotinylated TMV adapter sticks (1-4). A turnip vein clearing virus (TVCV; a related tobamovirus) mutant presenting domains of the *S. aureus* protein A allowed the immobilization of the GOx/HRP combination via antibodies (IgGs). With these plant virus-enzyme hybrid systems different sensor types were developed and characterized by colorimetric or electrochemical methods. The viruses applied as multivalent adapters allowed a substantial enrichment of enzymes on different sensor surfaces and strongly enhanced enzyme stability up to a year. This underlines a great potential for the integration of viruses in biosensors with various applications e.g. in environmental, food, or medical diagnostics.

References

1. Koch, C. et al., (2015). *Front Plant Sci.* 6, 1137
2. Koch, C. et al., (2016). *Beilstein J Nanotechnol.* 7, 613-629
3. Bäcker, M., Koch, C. et al., (2017). *Sens Actuators, B.* 238, 716-722
4. Koch, C. et al., (2018). *Nanotheranostics.* 2(2), 184-196

Biomimetic nucleoprotein nanopores as adapters for the implantation into solid-state membranes

*Klara Altintoprak*¹, *Axel Seidenstücker*², *Alexander Welle*³, *Peter Krolla-Sidenstein*³, *Hartmut Gliemann*³, *Alfred Plett*², *Othmar Marti*⁴ & *Christina Wege*¹

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

² Universität Ulm, Institut für Experimentelle Physik, Universität Ost N25, 89069 Ulm, Deutschland

³ Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen, Deutschland

⁴ Universität Ulm, Institut für Experimentelle Physik, 89069 Ulm, Deutschland

Email: christina.wege@bio.uni-stuttgart.de

Nanoporous materials with well-defined pore size and chemistry have a high potential for sorting and separating small molecules, and for the detection of analytes or markers for bacterial or viral infection. As it is difficult to produce for example solid-state membranes (SSMs) with large numbers of homogeneous pores of nanometric diameter and adjustable charge, uniform protein adapters fitting into inorganic membrane backbones might offer a versatile novel route towards the fabrication of stable nanopore arrays for different applications.

Precisely shaped pore-adapters were generated of tobacco mosaic virus intermediates, which are helical assemblies of 68 coat proteins stabilized by short single-stranded RNA constructs of a disk-like structure. Their central pores have a size of 4 nm, and their outer rim can be functionalized by covalently bound molecules such as linkers, fluorescent dyes or peptides. Proper orientation of the viral protein pore adapters inside the SSM pores will be achieved by electrophoretically driven insertion of appropriate designed novel nucleoprotein constructs with attached negatively charged double-stranded RNA, resulting in a disk-on-a-leash construct.

Mineral deposition-inducing peptides are applied to fine-tune silica formation at the viral pore-adapters outer surface, allowing gap sealing inside conical silica-containing holes of SSMs by means of biomineral precipitation between protein and inorganic template. Individual functionalization inside or close to the protein pore will extend the applicability of such bio-hybrid nanoporous membranes, customized for diagnostic and further special approaches.

Sektion II

Gastvortrag

The past and future of grapevine fanleaf virus

*Christophe Ritzenthaler*¹

¹ Institut de biologie moléculaire des plantes, CNRS and Université de Strasbourg, 12 rue du général Zimmer 67084 Strasbourg, France

Email: ritzenh@unistra.fr

Fanleaf degenerative disease is often considered to be the most detrimental and widespread viral disease of grapevine. It affects vineyards worldwide, in particular those of high-added value in which grapevines have been cultivated for centuries. The disease is characterized by a range of symptoms that include yellow mottling and distortion of the leaves that can resemble a fan, malformed canes with exceedingly short internodes, smaller than normal clusters and overall stunted vines of reduced vigor (Schmitt-Keichinger et al., 2017).

Grapevine fanleaf virus (GFLV) and to a lesser extent *Arabidopsis mosaic virus* (ArMV) are the major causal agents of fanleaf degenerative disease. As members of the genus *Nepovirus* within the family *Secoviridae*, these viruses are transmitted in nature by ectoparasitic dagger nematode vectors of the genus *Xiphinema* that primarily feed on root tips (Andret-Link et al., 2017). GFLV and ArMV possess a bipartite positive-strand RNA genome. Their icosahedral capsid with T = pseudo3 symmetry is composed of 60 copies of approximately 54 kDa coat protein (CP) that play essential functions in transmission by nematodes (Lai-Kee-Him et al., 2013; Marmonier et al., 2010; Schellenberger et al., 2010; Schellenberger et al., 2011). Empty particles are frequently found upon GFLV purification from infected plants, suggesting that the CP of GFLV is able to self-assemble into virus-like particles (VLPs). We recently confirmed the VLP self-assembly capacity of the CP upon its transient expression in *Nicotiana benthamiana* leaves. In addition, we found that the N and C-terminal ends of the GFLV CP are compatible with the genetic fusion of large proteins such as fluorescent proteins and the plant based production of nucleic-acid free VLPs (Belval et al., 2016). In this respect, pending N- or C-terminal fusion, up to sixty recombinant proteins can be exposed to either the inner cavity or outer surface of VLPs, respectively (Figure 1). Such properties are unique for a single viral structural protein and are of biotechnological interest.

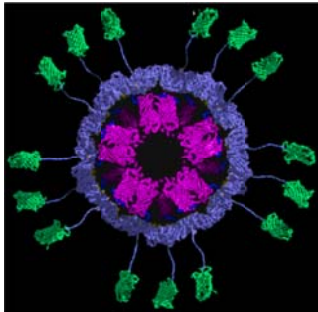


Figure 1. Molecular modeling of a GFLV-derived VLP in which 60 GFP are exposed at the outer surface and 60 red fluorescent protein are encaged.

With the initial aim to gain further insights into virus movement in plant and transmission by nematodes, we recently also produced Nanobodies (Nbs) against GFLV and ArMV. Nbs are single domain peptides derived from heavy chain only antibodies naturally found in camelids (Muyltermans, 2013). Because of their unique biochemical properties combining monomeric structure, small size and high stability, they have proven to be of outstanding biotechnological interest yet their use in agro-biotechnology remains scarce. Among the different Nb directed against GFLV that were isolated, Nb23 displayed remarkable properties as it conferred strong resistance to GFLV upon stable expression in the model plant *Nicotiana benthamiana* and also in grapevine rootstock, the natural host of the virus. We showed that resistance was effective against a broad range of GFLV isolates independently of the inoculation method including upon nematode transmission but not against its close relative, *Arabidopsis mosaic virus*. We also demonstrated that virus neutralization occurs at an early step of the virus life cycle, prior to cell-to-cell movement (Hemmer et al., 2017). Our findings may pave the way for the generation of novel antiviral strategies in plants based on Nbs. In addition to their antiviral activity, we also investigated the potential of Nbs as reagents for ELISA, in particular their performance for the detection of a wide range of natural GFLV and ArMV isolates from different grapevine collections. Our results show that Nbs outcompete the classical kits available on market in terms of sensitivity and spectrum and present the additional advantage to be easily produced in *E. coli*.

Finally, the capacity of Nbs to recognize with high specificity and affinity GFLV-derived VLP was exploited to expose various proteins at the outer surface of particles. Using a set of three different Nbs we managed to expose up to 180 recombinant proteins such as fluorescent proteins at the surface of a single VLP. Combined with the encaging capacity of VLP.

References

Andret-Link, P., Marmonier, A., Belval, L., Hleibieh, K., Ritzenthaler, C. and Demangeat, G. (2017) Ectoparasitic Nematode Vectors of Grapevine Viruses. In: *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management* pp. 505-529. Springer

- Belval, L., Hemmer, C., Sauter, C., Reinbold, C., Fauny, J.D., Berthold, F., Ackerer, L., Schmitt-Keichinger, C., Lemaire, O., Demangeat, G. and Ritzenthaler, C. (2016) Display of whole proteins on inner and outer surfaces of grapevine fanleaf virus-like particles. *Plant Biotechnol J* 14, 2288-2299
- Hemmer, C., Djennane, S., Ackerer, L., Hleibieh, K., Marmonier, A., Gersch, S., Garcia, S., Vigne, E., Komar, V., Perrin, M., Gertz, C., Belval, L., Berthold, F., Monsion, B., Schmitt-Keichinger, C., Lemaire, O., Lorber, B., Gutierrez, C., Muyldermans, S., Demangeat, G. and Ritzenthaler, C. (2017) Nanobody-mediated resistance to Grapevine fanleaf virus in plants. *Plant Biotechnol J*
- Lai-Kee-Him, J., Schellenberger, P., Dumas, C., Richard, E., Trapani, S., Komar, V., Demangeat, G., Ritzenthaler, C. and Bron, P. (2013) The backbone model of the Arabis mosaic virus reveals new insights into functional domains of Nepovirus capsid. *Journal of structural biology* 182, 1-9
- Marmonier, A., Schellenberger, P., Esmenjaud, D., Schmitt-Keichinger, C., Ritzenthaler, C., Andret-Link, P., Lemaire, O., Fuchs, M. and Demangeat, G. (2010) The coat protein determines the specificity of virus transmission by *Xiphinema diversicaudatum*. *Journal of Plant Pathology*, 275-279
- Muyldermans, S. (2013) Nanobodies: natural single-domain antibodies. *Annual review of biochemistry* 82, 775-797
- Schellenberger, P., Andret-Link, P., Schmitt-Keichinger, C., Bergdoll, M., Marmonier, A., Vigne, E., Lemaire, O., Fuchs, M., Demangeat, G. and Ritzenthaler, C. (2010) A stretch of 11 amino acids in the β B- β C loop of the coat protein of Grapevine Fanleaf Virus is essential for transmission by the nematode *Xiphinema index*. *Journal of virology* 84, 7924-7933
- Schellenberger, P., Sauter, C., Lorber, B., Bron, P., Trapani, S., Bergdoll, M., Marmonier, A., Schmitt-Keichinger, C., Lemaire, O., Demangeat, G. and Ritzenthaler, C. (2011) Structural Insights into Viral Determinants of Nematode Mediated Grapevine fanleaf virus Transmission. *PLOS Pathogens* 7, e1002034
- Schmitt-Keichinger, C., Hemmer, C., Berthold, F. and Ritzenthaler, C. (2017) Molecular, Cellular, and Structural Biology of Grapevine fanleaf virus. In: *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management* pp. 83-107. Springer

Interaction of the beet necrotic yellow vein virus with the auxin signaling pathway in sugar beet

Sebastian Liebe¹, Jose Fernando Gil², Heike Thiel¹, Britt-Louise Lennfors³, Thomas Kraft³, David Gilmer⁴, Mark Varrelmann¹ & Eugene I. Savenkov²

¹ Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Phytopathologie, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen, Deutschland

² Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Plant Biology, Linnean Centre for Plant Biology Uppsala BioCentre, Almas Allé 5, 75007 Uppsala, Sweden

³ MariboHilleshög Research AB, Säbyholmsvägen 24, 261 91 Landskrona, Sweden

⁴ Institut de biologie moléculaire des plantes, CNRS UPR2357, Université de Strasbourg, 12 rue du General Zimmer, 67084 Strasbourg Cedex, France

Email: liebe@ifz-goettingen.de

Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) is the causal agent of Rhizomania, a viral disease of sugar beet with high economic importance. Infected plants display massive lateral root proliferation leading to a “root beard”. Since auxin is the major plant hormone controlling the development of lateral roots, it is supposed that BNYVV interacts with the auxin signaling pathway. The mechanism responsible for that is unknown. We identified an Aux/IAA protein (AUX28) from sugar beet as an interaction partner of the pathogenicity factor P25. Aux/IAA proteins control the transcriptional activity of auxin response genes involved in lateral root development. P25 and AUX28 interacted *in planta* as demonstrated by bimolecular fluorescence complementation assay. Domain mapping revealed that P25 is able to interact with domain I and II of AUX28. Subcellular localization showed that P25 localizes to both cytoplasm and nucleus whereas the Aux/IAA protein localizes exclusively to the nucleus. In the presence of P25, the Aux/IAA protein was relocalized to the cytoplasm. This relocalisation must be followed by transcriptional changes of auxin responsive genes. This hypothesis was supported by expression analysis showing that several genes involved in lateral root development are induced upon BNYVV infection. Based on the results, a model explaining how

BNYVV interacts with the auxin signaling pathway in order to induce lateral root development is presented.

***In-vivo* Produktion von dsRNA mit Hilfe eines Phagen-basierten dsRNA-Replikationssystems und Anwendung zur Bekämpfung von Virusinfektionen in Pflanzen**

Annette Niehl^{1,3}, Marjukka Soininen², Minna Poranen² & Manfred Heinlein¹

¹ Université de Strasbourg, Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, UPR2357 CNRS, Université de Strasbourg, 67000 Strasbourg, France

² Faculty of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki, Viikinkaari 1, 00014 University of Helsinki, Finland

³ Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Deutschland

Email: annette.niehl@julius-kuehn.de

Neue Pflanzenschutzmodelle basieren auf der Induktion von RNA-Interferenz (RNAi) durch externe Applikation von doppelsträngiger (ds) RNA mit Homologie zu Pathogensequenzen. Dabei werden Pflanzen mit pathogenspezifischer dsRNA besprüht, die dann über noch weitgehend unbekannte Wege von Pflanzen, Pathogenen und Virus-übertragenden Vektoren aufgenommen wird und RNAi induziert. Dieses „environmental RNAi“ stellt einen nicht-transgenen, flexiblen Ansatz zur Kontrolle von Pflanzenkrankheiten dar. Wir stellen hier ein Bakteriophagen-basiertes System für die stabile Produktion akkurat gepaarter dsRNA-Moleküle in *Pseudomonas syringae* vor. Das System macht sich die Replikation der dsRNA durch die Phi6 RNA-abhängige RNA Polymerase zunutze, was zur Produktion langer, perfekt gepaarter dsRNA Moleküle führt. Ersetzen der kodierenden Regionen zweier der drei Phi6 Genom-Segmente mit Tabakmosaikvirus (TMV)-Sequenzen und Einbringen der Sequenzen zusammen mit dem Replikase-kodierenden dritten Phi6 Segment in *Pseudomonas syringae* erlaubte die stabile Produktion von TMV-spezifischer dsRNA. Applikation der so produzierten dsRNA durch Sprühen bzw. mit Hilfe von mechanischer Inokulation resultierte in effizientem antiviralen Silencing in *N. benthamiana*.

Sektion III

Bestimmung der ersten vollständigen Sequenz eines turnip yellows virus Isolates aus Raps deutscher Herkunft und Herstellung eines infektiösen cDNA-Volllängenklons mittels Gibson-Assembly zur *Agrobacterium* vermittelten Infektion

Roxana Hossain¹, Veronika Wetzel¹, Muhammad Ahmad², Dennis Knierim³, Wulf Menzel³ & Mark Varrelmann¹

¹ Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Phytopathologie, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen, Deutschland

² Georg-August-Universität Göttingen, Wilhelmsplatz 1, 37073 Göttingen, Deutschland

³ Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstr. 7B, 38124 Braunschweig, Deutschland

Email: Hossain@ifz-goettingen.de

Turnip yellows virus (TuYV) verursacht ernstzunehmende Ertragsverluste im Rapsanbau in Deutschland, seit die insektizide Saatgutbeizung zur Vektorkontrolle fehlt. Rapspflanzen deutscher Herkunft, in denen mittels ELISA eine Polerovirusinfektion nachgewiesen werden konnte, wurden für eine Tiefsequenzierung aus Gesamt-RNA Extrakten mit anschließender „Rapid amplification of cDNA ends“ (RACE) zur Bestimmung der ersten vollständigen Sequenz eines europäischen TuYV Isolates aus Raps eingesetzt. Diese Sequenz diente für einen Vergleich mit bekannten TuYV Isolatendivergenter Wirte und Herkunft. Weiterhin wurde die Sequenzinformation genutzt, um mittels RT-PCR das vollständige Genom in einem cDNA Fragment (5681 bp) zu amplifizieren und mittels Gibson-Assembly in einen binären Vektor unter Kontrolle des 35S-Promotor und des HDV-Ribozyms für eine

Agrobakterien vermittelte Infektion zu klonieren. Die Blattinfiltration in der experimentellen Wirtspflanze *Nicotiana benthamiana* führte zu lokalen Nekrosen und einer systemischen Ausbreitung des Virus, die mittels ELISA und Western Blot mit polerospezifischen Antikörpern nachgewiesen werden konnte. Damit eröffnet dieser TuYV cDNA-Klon die Möglichkeit einen Resistenztest ohne den Einsatz des Virusvektors (z.B. *Myzus persicae*) für die praktische Züchtung zu etablieren, neue Resistenzquellen zu identifizieren, sowie bereits vorhandene Resistenzquellen detailliert zu charakterisieren.

Die Rolle von Schildläusen (*Homoptera Coccina*) in der Epidemiologie von Rebviren als Grundlage für eine Risikoneubewertung im deutschen Weinbau

Nadine Steinmetz¹, Gertraud Michl¹, Michael Maixner¹ & Christoph Hoffmann¹

¹ Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Geilweilerhof, 76833 Siebeldingen, Deutschland

Email: nadine.steinmetz@julius-kuehn.de

Die Blattrollkrankheit ‚Grapevine leafroll-associated virus‘ (GLRaV) ist eine der wirtschaftlich bedeutendsten Rebenkrankheiten weltweit. Bei symptomatischen Stöcken färben sich die Blätter je nach Sorte rot bzw. vergilben, während die Blattadern grün bleiben. Zusätzlich rollen sich die Blätter. Die Blattrollkrankheit kann zu starken Ertrags- und Qualitätsverlusten führen. Schildläuse sind für die Übertragung der Krankheit bekannt, in Deutschland sind vier Schildlausarten an Reben zur Virusübertragung fähig.

Das Ziel dieses Projektes ist es, die Bedeutung von Schildläusen als Virusüberträger im deutschen Weinbau zu untersuchen, um eine Neubewertung der von diesen Schaderregern ausgehenden Risiken vorzunehmen. Epidemiologische Untersuchungen sollen zeigen, welche Rolle Schildläuse bei der Übertragung der Blattrollkrankheit im Freiland spielen. In weiteren Untersuchungen soll geklärt werden ob Schildlausbefall an Reben und die Ausbreitung der Blattrollkrankheit in verschiedenen Weinbauregionen unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Hierfür wurden zunächst in den Weinbauregionen Pfalz, Rheinhessen und Nahe stichprobenartig verschiedene nach dem Zufallsprinzip ausgewählte Weinberge auf Viren der Blattrollkrankheit und Schildlausbefall untersucht. In verschiedenen Weinbauregionen ist es zu teilweise massiven Schildlausvorkommen gekommen, hier sollen verschiedene Pflanzenschutzmittel untersucht werden, ob diese einen Effekt auf die Schildläuse oder deren natürlichen Feinde haben.

Sektion IV Berichte & Besprechungspunkte aus der Praxis

A Luminex xTAG assay to distinguish between infectious and non-infectious virus in tomato seeds

René A.A. van der Vlugt¹ & Jan H.W. Bergervoet¹

¹ Wageningen University & Research, Wageningen Plant Research, Biointeractions and Plant Health, Droevendaalstesteeg 1, 6708 PB Wageningen, The Netherlands

Email: jan.bergervoet@wur.nl

Pepino mosaic virus (PepMV) is a world-wide known disease of tomato crops. As a *Potexvirus* it is mechanically transmissible, but its main long-range transmission is through seeds and PepMV has within the EU a quarantine status on tomato seeds. Several serological and molecular tests are available to detect the presence of the virus on seed and in plant material but only an elaborate, time consuming bio-assay can determine if the virus is (still) infectious. Many plant viruses are transmitted through seed and often (dry) heat-treatment is used in an attempt to inactivate the virus. Current serological (DAS-ELISA) and molecular (TaqMan RT-PCR) methods are unable to distinguish infectious and non-infectious virus and thus to evaluate the efficacy of the heat-treatment. We developed a method, based on the Luminex xTAG technology, to reliably distinguish between

infectious and non-infectious virus and demonstrated its potential on seeds harvested from a PepMV infected tomato crop.

Untersuchungen zur Verbreitung von Vergilbungsviren der Zuckerrübe

Wulf Menzel¹ & Mark Varrelmann²

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

² Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Phytopathologie, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen, Deutschland

Email: wulf.menzel@dsmz.de

Seit Mitte der 1990er Jahre werden die durch Blattläuse übertragenen Vergilbungsviren der Zuckerrübe erfolgreich durch Saatgutbeizungen mit Insektiziden aus der Gruppe der Neonikotinoide kontrolliert. Veranlasst durch die aktuelle Diskussion über ein mögliches Verbot der Neonikotinoide werden in einem durch das BMEL geförderten Projekt in Zusammenarbeit mit Zuckerrübenzüchtungsunternehmen diese Daten erhoben, um alternative Kontrollstrategien zu entwickeln und Entscheidungen in der Resistenzzüchtung treffen zu können. In einem ersten Survey in 2017 wurden über 3000 Blattproben aus 10 europäischen Ländern mittels ELISA spezifisch auf das *Beet yellowing virus* (BYV, Gattung *Closterovirus*) und das *Beet mosaic virus* (BtMV, Gattung *Potyvirus*) getestet. In einem weiteren ELISA Test wurden die Proben auf eine Infektion mit den Zuckerrüben infizierenden Poloroviren untersucht. Dieser Test basiert auf breit reagierenden Antikörpern, die nicht zwischen den Spezies *Beet chlorosis virus* (BChV), *Beet mild yellowing virus* (BMYV) und *Beet western yellows virus* (BWYV) diskriminieren. Dies erfolgt in einem weiteren Schritt mittels RT-PCR und Sequenzierung. Zusammenfassend wurde das BYV in am häufigsten nachgewiesen, gefolgt von Polorovirus-positiven Proben und dem BtMV. In einigen symptomatischen Proben keines der oben genannten Viren im ELISA nachweisbar. Diese Proben werden jetzt mittels Illumina Hochdurchsatzsequenzierung weitergehend untersucht.

Sektion V

***Beta vulgaris* resistance protein Rz2 recognizes the *Beet necrotic yellow vein virus* RNA2 encoded movement protein TGB1 and triggers cell death**

Veronika Wetzel¹ & Mark Varrelmann¹

¹ Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Phytopathologie, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen, Deutschland

Email: Wetzel@ifz-goettingen.de

Rhizomania is threatening the sugar cultivation by causing up to 80 % sugar yield loss and can only be controlled by cultivating resistant varieties carrying *Rz1* and *Rz2* resistance genes alone or in combination. Causative agent is the soil-borne *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV), family *Benyviridae*, transmitted by the root colonizing protist *Polymyxa betae*. Infection causes a massive proliferation of rootlets and results in a stunted taproot with a wine glass like shape. Systemic infected plants show pale leaves in upright position as well as vein yellowing and necrosis. Recent studies identified the resistance gene *Rz2* in a *Beta vulgaris* ssp. *maritima* wild beet population using a mapping-by-sequencing approach (Capistrano-Gossmann et al., 2017). As a typical R-gene, *Rz2* encodes a CC-NB-ARC-LRR protein mediating resistance towards BNYVV. *Beet soil-borne mosaic virus* represents another family member with virtually the same genome organization and high sequence similarity but varying symptom induction in sugar beet. In order to proof that *Rz2* additionally targets BSBMV, a resistance bioassay was performed, applying infectious full-length cDNA clones of both species to homozygous breeding lines. By means of specific ELISA, no virus replication of both viruses could be detected, showing that *Rz2* mediates resistance against both viral species. *Agrobacterium* patch infiltration assay with cDNA clones of BNYVV and BSBMV, respectively, triggered cell death in presence of transient expressed *Rz2* (under 35S control) in the experimental host *Nicotiana benthamiana*. *Agrobacterium*-mediated co-expression of all individual BNYVV encoded proteins in

presence of *Rz2* led to cell-death only in case of the RNA2 encoded triple gene block protein 1 (TGB1). Consistently, BSBMV TGB1 with 72 % homology on amino-acid level resulted in a similar phenotype after co-expression, indicating that both proteins represent the avirulence protein targeted by *Rz2*. Protein expression of BNYVV and BSBMV TGB1 and *Rz2* was verified by means of Western Blot by C-terminal fusion with Human influenza hemagglutinin (HA) –tag. A non-translatable *Rz2* variant did not induce cell-death, when co-expressed with TGB1. Further studies are required to characterize the physical interaction and identify the corresponding domains as well as the resistance phenotype in sugar beet.

References

Capistrano-Gossmann, G.G.; Ries, D.; Holtgrawe, D.; Minoche, A.; Kraft, T.; Frerichmann, S.L.M.; Soerensen, T.R.; Dohm, J.C.; Gonzalez, I.; Schilhable, M.; et al. Crop wild relative populations of *Beta vulgaris* allow direct mapping of agronomically important genes. Nat. Commun. 2017, 8, 15708.

Plant virus RNA *in situ* hybridization in different tissues via RNAscope®

*Paolo Margaria*¹, *Esperance Munganyinka*², *Samar Sheat*¹ & *Stephan Winter*¹

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

² Rwanda Agriculture Board, Butare, Rwanda, East Africa

Email: paolo.margaria@dsmz.de

Investigation of the localization of plant viruses in host tissues and organs can provide fundamental details on virus infection processes as well as on the host responses to virus invasion. In this context, *in situ* hybridization (ISH) is a powerful technique that allows the detection of specific molecules in tissues and cells. At the DSMZ Plant Virus Department, the disease caused by cassava brown streak viruses (CBSVs) is a key research topic. To fulfill the need of an ISH method for CBSVs, we have developed a protocol based on RNAscope®, an innovative technology based on a unique probe design and signal amplification system, that allows specific and sensitive detection and visualization of target RNA molecules. A critical advantage of this technique is the potential of target molecule(s) detection at the single cell level while maintaining an intact environment, thus providing morphological context of the observed hybridization signal. We developed the method initially with the experimental CBSV host *Nicotiana rustica* and then adapted it to study virus infections in cassava, where it allowed detection with absence of background signal in sections prepared from non-infected tissues. We are currently using the developed ISH method to study the tropism, replication and movement characteristics of CBSVs in various cassava genotypes, in single and mixed infections.

Allexiviren in Knoblauch: Vielfalt und Vektoren

*Katja R. Richert-Pöggeler*¹, *C. Maaß*¹, *S. Schuhmann*¹, *D. Schmalowski*¹, *Nadine Liebig*², *S. Lange*³ & *C. Nagel*⁴

¹ Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Deutschland

² Bioland e.V. Niedersachsen, Bahnhofstr. 15 b, 27374 Visselhövede, Deutschland

³ Demeter, Praxisbetrieb, 37318 Lindewerra, Deutschland

⁴ Kultursaat e.V. Kronstr. 24, 61209 Echzell, Deutschland

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

A complex virome identified in declining birch

Maria Landgraf¹, Elisha Bright Opoku¹, Martina Bandte¹, Susanne von Barga¹, Martin Schreiner², Barbara Jäckel² & Carmen Büttner¹

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

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

Email: phytomedizin@agrار.hu-berlin.de

The application of bioinformatic tools on NGS data of birch enables to identify new plant viruses continuously in birch samples from different origin. The virome of birch seems to be more complex and heterogenic as compared to other investigated deciduous trees and this is in some way special. The virome includes DNA as well as RNA viruses with their specific characteristics and they consequently influence the host plants divers. In 2015 and 2016 the incidence of 4 viruses (CLR_V, ApMV, *Carlavirus* and *Badnavirus* (Rumbou et al. 2017) of the heterogenic virome of birch was investigated in symptomatic leaves in Berlin (Landgraf et al. 2017). Different combinations of viruses in single and mixed infection were detected by RT-PCR. Some viral combinations are more distinct distributed in Berlin birch than others, so that the question of their relevance in birch and the observed “leaf roll disease” poses. The picture of heterogeneity is also known from the leaf symptomatology in virus containing birch leaves. As the correlation of symptoms and viral infection is not shown yet for the mixed infections, it is unknown if the complexity of the virome is causative for the complicated symptomatology. Epidemiology and pathogenicity of the new discovered viruses as well as species specificity, life cycle, mode of transmission, host plant range and phylogeny are totally unknown and have to be investigated within the next years.

References

Rumbou A, Candresse T, Marais A, Theil S, Langer J, Jalkanen R, Büttner C 2017: A novel Badnavirus discovered from betula sp. Affected by birch leaf roll disease, PLOS ONE PONE-D-17-44140

Landgraf M, Langer J, Gröhner J, Zinnert L, Bandte M, von Barga S, Schreiner M, Jäckel B, Büttner C, 2017: Viruserkrankungen im urbanen Grün – eine Studie an Birken im Berliner Bezirk Steglitz-Zehlendorf Viral diseases in urban areas – a study on birch in Berlin Steglitz-Zehlendorf Jahrbuch der Baumpflege, 21. Jg., S. 327–332

Sektion VI

Viruses affecting Ash (*Fraxinus* sp.) in Europe – genome organization and geographic distribution of a putative novel emaravirus

Susanne von Barga¹, Max Tischendorf¹, Maria Landgraf¹, Dag-Ragnar Blystad², Katia Gindro³, Jean-Sébastien Reynard³ & Carmen Büttner¹

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

² NIBIO, Norwegian Institute of Bioeconomy Research, P.O. Box 115, NO-1431 Ås, Norway

³ Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil, Route de Duillier 50, Case Postale 1012, 1260 Nyon 1, Switzerland

Email: susanne.von.barga@agrار.hu-berlin.de

European ash (*Fraxinus excelsior*) populations are not only threatened by the dieback disease which is caused by a fungus. Diseased ash trees are also reported to be affected by several viruses such as *Arabidopsis mosaic virus* (ArMV), *Cherry leaf roll virus* (CLR_V), *Tomato ringspot virus* (ToRSV), *Tobacco ringspot virus* (TRSV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), and *Tobacco mosaic virus* (TMV). Samples from different ash species exhibiting virus-like symptoms were collected in 2016 and 2017 from different locations in Germany and adjacent countries. Diseased ash trees showed leaf deformation, shoestring, mottle, chlorotic, ringspots, spots and blotching. Some trees had a scattered canopy indicating reduced vigor. The virome of 3 sample pools were determined by next generation sequencing (NGS) prepared from symptomatic leaf samples obtained from Switzerland,

Norway and Sweden. Scaffolds were assembled from the resulting NGS datasets indicating the presence of known and novel viruses in the analyzed samples. Interestingly, none of the viruses which have been previously reported from *Fraxinus* sp. were found in the scaffolds. In 2 of the NGS sample pools a putative novel emaravirus could be identified. Further analyses enabled the reconstruction of 5 genome segments of the virus. RT-PCR-based confirmation of identified RNA1-RNA5 in collected plant material provides first insight into the distribution of the putative novel emaravirus and allowed the association with observed symptoms.

The nuclear shuttle protein NSP of bipartite geminiviruses packages circular single-stranded DNA *in planta*

Gabi Kepp¹, Tatjana Kleinow¹ & Holger Jeske¹

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

Email: holger.jeske@bio.uni-stuttgart.de

Geminiviruses with a bipartite genome utilize a nuclear shuttle protein (NSP) and a movement protein (MP) to spread from cell to cell in plants. The basic NSP is able to bind DNA in a sequence-independent manner whereas MP is membrane-associated and responsible for traffic across plasmodesmata. *In vitro* assays and microinjection experiments have shown that single-stranded (ss) as well as double-stranded (ds) may be bound and transported by NSP (1-3). We have revisited this question using inducible expression constructs for NSP and MP (4) together with DNA A with the coat protein (CP) gene replaced by the green fluorescent protein (GFP) gene (5) and wildtype DNA B of Abutilon mosaic virus (AbMV). NSP forms filamentous structures within nuclei (4) different from the typical gemini particles formed by CP (6). NSP-DNA complexes were isolated after agroinoculation and partially purified by different techniques. The DNA within these complexes was characterized by different gel systems, blotting and hybridization. Upon overexpression of NSP together with or without MP, a complex with circular ssDNA was considerably enriched whereas the levels of other viral DNA forms remained constant. Interestingly, this cssDNA migrated in alkaline gels as an unexpected compact structure, the topology of which will be discussed.

References

1. Gilbertson RL, Sudarshana M, Jiang H, Rojas MR, Lucas WJ. 2003. Limitations on geminivirus genome size imposed by plasmodesmata and virus-encoded movement protein: insights into DNA trafficking. *Plant Cell* 15:2578-2591
2. Hehnle S, Wege C, Jeske H. 2004. Interaction of DNA with the movement proteins of geminiviruses revisited. *J Virol* 78:7698-7706
3. Lazarowitz SG, Beachy RN. 1999. Viral movement proteins as probes for intracellular and intercellular trafficking in plants. *Plant Cell* 11:535-548
4. Kleinow T, Tanwir F, Kocher C, Krenz B, Wege C, Jeske H. 2009. Expression dynamics and ultrastructural localization of epitope-tagged Abutilon mosaic virus nuclear shuttle and movement proteins in *Nicotiana benthamiana* cells. *Virology* 391:212-220
5. Krenz B, Wege C, Jeske H. 2010. Cell-free construction of disarmed Abutilon mosaic virus-based gene silencing vectors. *J Virol Methods* 169:129-137
6. Hipp K, Grimm C, Jeske H, Bottcher B. 2017. Near-Atomic Resolution Structure of a Plant Geminivirus Determined by Electron Cryomicroscopy. *Structure* 25:1303-1309 e1303

An analysis of the subcellular distribution of geminiviral transport proteins and their influence on the plant's endomembrane system

Andrea Bauer¹, Holger Jeske¹, Björn Krenz² & Tatjana Kleinow¹

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

² Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstr. 7B, 38124 Braunschweig, Deutschland

Email: andrea.bauer@bio.uni-stuttgart.de

The model virus in this study is Abutilon mosaic virus, a Geminivirus. The functional details on how its movement- (MP) and nuclear shuttle (NSP) -proteins coordinate viral trafficking is not yet understood. The localization of MP and NSP was investigated via CLSM analyses. Fluorescent protein-tagged NSP and MP were either solely or co-overexpressed with a marker protein of the inner nuclear membrane (INM) or a luminal marker of the ER in *N. benthamiana*. Whereas MP distributes to the plasma membrane and around the nucleus, NSP predominantly localizes within the nucleus. Aggregates composed of MP were emerging at early time points after agroinfiltration. These were found to move alongside the ER and non-moving aggregates were targeting plasmodesmata. By co-expression of MP and NSP, vesicles released from the plant's nucleus were observed, comprising inner nuclear membrane. To the best of our knowledge this is the first time that nuclear vesicles are reported for plant cells, which gives hint to a novel macromolecular trafficking route hijacked by plant viruses.

Abstracts der Posterpräsentationen

Detection of grapevine viruses, viroids and Stolbur-group phytoplasma *Candidatus phytoplasma solani* in grapevine using next-generation sequencing

*Kerstin Zikeli*¹, *Constanze Berwarth*¹, *Dennis Knierim*², *Christoph Hoffmann*³, *Michael Maixner*³, *Stephan Winter*² & *Wilhelm Jelkmann*¹

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

² Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstr. 7B, 38124 Braunschweig, Deutschland

³ Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Geilweilerhof, 76833 Siebeldingen, Deutschland

Email: kerstin.zikeli@julius-kuehn.de

Next-generation sequencing (NGS) technologies are applied to a greater extent for detection of plant pathogens in recent years, thus for diagnostics of viral and virus-like diseases of grapevines as well. Bois noir (BN), a grapevine yellows disease reported in almost every grapevine producing region in Germany, is associated with the phytoplasma species '*Candidatus phytoplasma solani*'. The emergent symptoms of Grapevine enation disease (GED) have been reported in 2006 in Germany. The etiology of GED, causing formation of enations on the underside of basal leaves and growth depression, still remains unknown.

For developing and implementing effective control strategies, diagnosis of viruses and virus-like diseases associated with serious grapevine diseases is essential. Therefore NGS (Illumina MiSeq platform) was applied in this study for detection of viral and phytoplasmic infections in two grapevine samples. An asymptomatic sample (tested negative by phytoplasma-specific PCR) of BN diseased grapevine as well as a GED symptomatic sample were subjected to a NGS pipeline, starting from total RNA extract for generating an untargeted metagenome dataset. Raw NGS data were analyzed using the bioinformatic software Geneious. Beside viruses and phytoplasma detected by PCR, further grapevine pathogenic viruses and viroids were found to be present. In this study, phytoplasmas, viruses and viroids were simultaneously detected in a single grapevine sample using NGS (RNA-Seq).

Detektion eines neuartigen Emaravirus in Eschen (*Fraxinus exelsior*) mit Blattdeformationen und Fadenblättrigkeit

*Max Tischendorf*¹, *Susanne von Barga*¹, *Martina Bandte*¹, *Jean-Sebastien Reynard* & *Carmen Büttner*¹

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

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

Mit Hilfe moderner Hochdurchsatz-Sequenzierungsmethoden wurde in 2016 aus einer Mischprobe zweier Eschen (*Fraxinus exelsior*) aus dem Kanton Basel (Schweiz) ein bisher unbekanntes Virus identifiziert, welches Ähnlichkeiten zu Vertretern der Gattung *Emaravirus* aufweist. Eine dieser beiden Eschen wies dabei eine starke Deformation und Kräuselung ihrer Blätter auf, welche als Fadenblättrigkeit beschrieben wurde. Basierend auf den Sequenzergebnissen konnten bisher fünf verschiedene einzelsträngige RNA-Segmente negativer Polarität mit je einem offenen Leserahmen pro Genomsegment identifiziert werden. Mithilfe der Sequenzinformationen wurden sechs Primerpaare für die Detektion der einzelnen RNA-Segmente abgeleitet. Zwei Primerpaare wurden dabei für den Nachweis der RNA1 entworfen. Eschen verschiedener Standorte in Südschweden sowie dem Kanton Basel, welche mit für Emaraviren typischen Symptomen wie Ringflecken, aber auch Deformationen und Fadenblättrigkeit assoziiert waren, wurden für die Nukleinsäureisolierung ausgewählt und anschließend mittels RT-PCR auf das neuartige Emaravirus getestet. Der

Virusnachweis war dabei eindeutig mit dem Symptom der Fadenblättrigkeit korreliert. Auch in Eschen mit wenig ausgeprägten Blattdeformationen konnte das Virus nachgewiesen werden, ebenso wie zwei Bäume latent infiziert waren. Es wird vermutet, dass das Virus eine Deformation der Blätter hervorruft, die je nach Alter des Blattes und Zeitpunkt der Virusinfektion unterschiedlich stark ausfällt.

Investigations of fungal root endophytes and their mycoviruses in context with apple replant disease

Carolin Popp¹, Gisela Grunewaldt-Stöcker¹ & Edgar Maiß¹

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

Email: popp@ipp.uni-hannover.de

The phenomenon Apple Replant Disease (ARD) is a big problem in tree nurseries and specialized apple growing areas worldwide. After replanting, apple plants show a reduced vegetative growth and decayed root systems. Furthermore, yield reduction leads to economic losses. As the disease is persistent in soil for decades, a lack of alternative areas for crop rotation aggravates the problem. After soil disinfection, the plant growth can be restored. But, former used chemical disinfectants are now banned due to their environment toxicity, and steam treatments are highly expensive. The development of practically applicable approaches is essential to maintain sustainable soil productivity. Up to now, the cause of ARD is still unknown, but fungi have appeared to contribute to the complex of biotic factors. In the BonaRes Project ORDIAmur various research groups are investigating the cause of ARD and potential control mechanisms. Our focus is to evaluate the associated fungal root endophytes and their role in the etiology of ARD. We report on cultured isolates obtained from surface sterilized fine roots of apple plants grown in ARD affected soils of different sites. They were identified by ITS-PCR and Sanger sequencing. Frequently occurring ones belong to the broad spectrum of Nectriaceae and, interestingly, some of them harbor mycoviruses, which open new questions about virus-mediated hypovirulence and its impact on fungal root pathogens in the replant disease context.

Construction of strawberry mild yellow edge virus full length cDNA clones by In-Fusion® HD cloning

Wilhelm Jelkmann¹ & Constanze Berwarth¹

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

Email: Wilhelm.Jelkmann@julius-kuehn.de

Strawberry mild yellow edge virus is a well characterized member of the *Potexvirus* genus. Its genome has been completely sequenced and infectious cDNA clones obtained. SMYEV can readily be detected using ELISA or molecular detection assays as well as traditionally used biological indexing in susceptible indicator plants. Surprisingly for a *Potexvirus*, which are not usually vector borne, SMYEV is transmitted by the strawberry aphid *Chaetosiphon fragaefolii* (Cockerell). In earlier experiments no vector transmission from strawberry plants was achieved after infection with a full length cDNA clone of isolate MY-18. Since this isolate was kept for a longer period of time on *Rubus rosifolius* as experimental host full length cDNA clones were generated in this study from seven SMYEV isolates. 16 out of 41 plasmids were able to infect strawberry indicator plants by agroinoculation. Aphid transmission experiments from original isolates and from agroinoculated UC4 and UC5 plants are underway.

Novel RNA viruses associated with Apple rubbery wood and Apple flat limb diseases

*Mike Rott*¹, *Prasad Kesanakurti*¹, *Ian Boyes*¹, *Constanze Berwarth*², *H. Rast*¹ & *Wilhelm Jelkmann*²

¹ Canadian Food Inspection Agency, Sidney Laboratory, 8801 East Saanich Rd, North Saanich, British Columbia, Canada, V8L1H3, Canada

² Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Schwabenheimer Str. 101, 69221 Dossenheim, Deutschland

Email: Wilhelm.Jelkmann@julius-kuehn.de

Apple rubbery wood disease (ARWD), first observed in England in 1935, is widely distributed and thought to be caused by a virus, based on symptoms and graft transmissibility. The disease is characterised by unusual flexibility of stems and branches. Apple flat limb disease (AFLD) first noticed in 1887, was initially classified as a rough bark disease. The only reliable method of detecting either ARWD or AFLD is by inoculation onto a sensitive host. More recently it has been suggested that the same infectious agent causes ARWD and AFLD. NGS methods were used to identify and characterize several related novel viruses associated with isolates of the ARWD and AFLD, which have been named Apple rubbery wood virus 1 and 2 (ARWV1 and 2). Additional isolates of ARWD tested positive by RT-PCR with primers designed to either ARWV1 and/or 2. Neither virus could not be found associated with over 100 known ARWD/AFLD free malus plants or 100 prunus plants tested by NGS, suggesting that these viruses are specific to ARWD/AFLD. The two viruses are distantly related to bunyaviruses with three RNA segments large (L), medium (M) and small (S) and likely represent a new genus, with a suggested name of Rubodvirus. While two distinct viruses could be identified, it was not possible to specifically associate one with ARWD and the other with AFLD.

Detection and characterization of the complete genome of the first cherry (c) strain isolate of Plum pox virus detected in Germany in sour cherry (*Prunus cerasus*)

*Wilhelm Jelkmann*¹, *Dan Sanderson*², *Constanze Berwarth*¹ & *Delano James*²

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

² Canadian Food Inspection Agency, Sidney Laboratory, 8801 East Saanich Rd, North Saanich, British Columbia, Canada, V8L1H3, Canada

Email: Wilhelm.Jelkmann@julius-kuehn.de

Plum pox or Sharka, caused by Plum pox virus (PPV), is considered the most harmful disease affecting stone fruits (*Prunus* spp.). PPV is genetically diverse with 9 strains of the virus described. The various strains may differ in their geographic distribution, aphid transmissibility, symptom severity and host range. Cherry was once considered to be immune to PPV infection but we now know that there are at least two strains of the virus, Cherry (C) and Cherry Russian (CR). In this study a PPV isolate was detected in sour cherry in the Eastern region of Germany and determined to be an isolate of strain C. Isolates of PPV have been detected in Germany before but only D and M isolates were identified previously. This is the first detection and complete genome characterization of an isolate of PPV C (GC27) in Germany.

Near-atomic resolution structure of a plant geminivirus determined by electron cryo-microscopy

Katharina Hipp¹, Clemens Grimm², Holger Jeske³ & Bettina Böttcher⁴

¹ Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie, Elektronenmikroskopie, Max-Planck-Ring 5, 72076 Tübingen, Deutschland

² Universität Würzburg, Biozentrum, Biochemie, Am Hubland, 97074 Würzburg, Deutschland

³ Universität Stuttgart, Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme, Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Pfaffenwaldring 57, 70569 Stuttgart, Deutschland

⁴ Universität Würzburg, Rudolf Virchow Center, Biochemie, Joseph-Schneider Strasse 2, 97080 Würzburg, Deutschland

Email: katharina.hipp@tuebingen.mpg.de

African cassava mosaic virus is a whitefly-transmitted geminivirus which forms unique twin particles of incomplete icosahedra that are joined at five-fold vertices building an unusual waist. We have used electron cryo-microscopy and image processing to determine the virion structure at near atomic resolution and built an atomic model for its capsid protein. So far, it has been unknown how its 22 capsomers interact within a half-capsid or across the waist. The inter-capsomer contacts mediated by the flexible N-termini and loop regions differed within the half-capsids and at the waist, explaining partly the unusual twin structure. The tip of the pentameric capsomer is sealed by a plug formed by a turn region harboring the evolutionary conserved residue Y193. Basic amino acid residues inside the capsid form a positively charged pocket next to the five-fold axis of the capsomer suitable to bind DNA. Within this pocket, density most likely corresponding to DNA was resolved.

Detection of a novel ilarvirus in *Passiflora edulis* in Colombia

Christian Lüchau¹, Joseph Cutler¹, Juliane Langer, Orlando Acosta, Gerhard Fischer, Fánor Casierra, Adriana Castañeda, Mónica Betancourt, Wilmer Cuéllar, Eduardo Stasiukynas, Susanne von Barga¹ & Carmen Büttner¹

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

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

Colombia is one of the world's most important producers and exporters of tropical fruits. These fruits are gaining substantial importance for the country. Nevertheless, it lacks a robust preventive management programme for the control of plant viruses. The consumption of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) is growing worldwide and due to Colombia's climatic and geographical conditions, it could play a leading role in this market. Next Generation Sequencing (NGS) has demonstrated the presence of a new virus related to members of the *Ilarvirus* genus in Colombian *P. edulis*. The spread of this virus could mean a drastic reduction in crop yields and significant economic losses. Therefore, the detection and characterisation of this plant pathogen is essential to Colombian farmers for preventing its infection and negative impacts on this important crop. In order to examine the frequency and distribution of this virus in Colombia, to characterize the symptoms associated with it, and to identify the pathways for its transmission, an RT-PCR based detection of the virus was established. For this purpose, Samples of *P. edulis* were collected in Cundinamarca and Boyaca, Colombia, thereafter total nucleic acid was isolated from leaf samples of diseased passion fruit plants and primers were used to detect the RNA1, RNA2 and RNA3 of the ilarvirus by RT-PCR. The new ilarvirus was detected in leaf material of the Cundinamarca region with deformations, blistering and chlorotic spots.

Hochdurchsatzsequenzierung an der DSMZ: Nachweis und Identifizierung von Pflanzenviren

Dennis Knierim¹, Paolo Margaria¹, Wulf Menzel¹ & Stephan Winter¹

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

Email: dennis.knierim@dsmz.de

Die Hochdurchsatzsequenzierung ist ein nützliches Werkzeug um unbekannte Viren zu entdecken oder um von bekannten Viren das Genom bzw. die Genomvariation zu bestimmen. In der Abteilung Pflanzenviren der DSMZ wurde ein Workflow etabliert der zur globalen Virusanalyse von Pflanzenproben genutzt wird und sowohl RNA und DNA Pflanzenvirussequenzen aufdeckt. Die Herstellung der cDNA Bibliothek und die darauffolgende Datenanalyse wird durch die wissenschaftliche Fragestellung bestimmt. Sind bekannte oder unbekannte Viren in einer Probe zu finden, vollständige Virusgenome zu rekonstruieren oder Genomvarianten eines spezifischen Virus zu bestimmen beeinflussen die Sequenzierungsstrategie. In diesem Beitrag wird eine Übersicht über die verschiedenen Varianten anhand von Beispielen dargestellt.

Hochdurchsatzsequenzierung zur Bestimmung von Viromen verschiedener Leguminosen aus Griechenland

Dennis Knierim¹, Kyriaki Sareli², Elisavet Chatzivassiliou², Paolo Margaria¹ & Stephan Winter¹

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

² Agricultural University of Athens, Department of Crop Science, Plant Pathology Laboratory, Athen, Greece

Email: dennis.knierim@dsmz.de

Aus Blattproben von diversen Leguminosen aus Griechenland, Alfalfa, Kichererbse, Erbse und Ackerbohne mit verdächtigen Virussympomen wurden cDNA Bibliotheken für die Hochdurchsatzsequenzierung erstellt, um einen globalen Überblick über vorhandene Viren zu bekommen. RNA Präparate wurden aus Blattproben hergestellt und je 4 bis 5 RNAs für die Herstellung einer Bibliothek zusammengefasst. Zur Anreicherung viraler RNA wurden ribosomale RNA aus der gesamt RNA eliminiert. Die Analyse der Sequenzdaten erfolgte mit der Absicht bekannte und unbekannte Viren zu finden. Neben den erwarteten Virusspezies, *Alfalfa mosaic virus* und *Bean leafroll virus* wurden nahezu vollständige Genomsequenzen des *Potyvirus Bean yellow mosaic virus* rekonstruiert und auch ein vermeintlich neues Virusspezies der Gattung *Emaravirus* entdeckt.

Konstruktion eines infektiösen Vollängenklons des Paprika mild mottle virus (PaMMV)

Tom Pielhop¹ & Edgar Maiß¹

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

Email: tom.pielhop@stud.uni-hannover.de

Das Paprika mild mottle virus (PaMMV) gehört zum Genus *Tobamovirus* (García-Luque et al., 1993). Neben *Capsicum*- und *Nicotiana*-Arten zählt Tomate zu den Wirtspflanzen (Hamada et al., 2002). Obwohl es Wachstumsdepressionen und Deformationen bis hin zum Absterben der Wirtspflanzen hervorruft, ist die Datenlage zum PaMMV eher gering. Um das Virus näher zu untersuchen, wurde ein Isolat aus Aserbaidschan (DSMZ: PV-1072) vollständig sequenziert und ein Vollängenklon mittels Gibson-Assembly in pDIVA (KX665539.1) erstellt (Gibson et al., 2009).

Die Sequenzierung ergab eine Identität von 98 % zu dem NCBI-Referenzgenom eines japanischen Isolates und 98 % zu einer israelischen Sequenz. Nach *Rhizobium radiobacter*-Infiltration konnte die Infektiosität des Vollängenklons in *Nicotiana benthamiana* gezeigt werden. Außerdem wurde eine

systemische Infektion in den vier *Capsicum*-Wildtypen *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense* und *C. chacoense* sowie in *Tetragonia tetragonioides* bestätigt.

Um die Bedeutung des Hüllproteins für die systemische Infektion zu untersuchen, wurde das Hüllproteingen des PaMMV durch das des Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) ersetzt. Die erzeugte Chimäre war weder in der Lage Wirte des PaMMV, noch die des CGMMV systemisch zu infizieren. Mit dem Austausch weiterer Genomteile sollen die Determinanten für die systemische Infektion verschiedener Pflanzen näher eingegrenzt werden.

Development of a diagnostic DAS-ELISA Kit for *Soybean mosaic virus* (SMV)-infected Colombian purple passion fruit

*Joseph Cutler*¹, *Denise Altenbach*², *Susanne von Barga*¹, *Juliane Langer*¹, *Orlando Acosta Losada*³, *Fánor Casierra-Posada*⁴, *Adriana Castañeda Cárdenas*⁵, *Mónica Betancourt Vasquez*⁶, *Wilmer Cuellar*⁷, *Eduardo Arvydas Stasiukynas*⁸, *Emilio Arevalo-Peñaranda*⁹, *Gerhard Fischer*³ & *Carmen Büttner*¹

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

² BIOREBA AG, Christoph Merian- Ring 7, 4153 Reinach, Schweiz

³ Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, A.A. 14490, Av. Carr. 30 No. 45-03 Bogotá, Colombia Oficina 404, Colombia

⁴ Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia – UPTC, Avenida Central del Norte 39-115, 150003 Tunja, Tunja, Boyacá, Colombia

⁵ Instituto Colombiano Agropecuario Dirección Técnica de Análisis y Diagnóstico Agrícola Avenida El Dorado No. 42-42 Bloque 4 Bogotá, Colombia

⁶ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Km 14 Vía Mosquera – Bogotá, Colombia

⁷ International Center for Tropical Agriculture (CIAT) Km 17 Recta Cali-Palmira, Apartado Aéreo 6713, Zip code: 763537 Cali, Colombia

⁸ Hacienda Misiones, Mesitas del Colegio, Cundinamarca, Colombia

⁹ Instituto Colombiano Agropecuario Dirección Epidemiología y Vigilancia Fitosanitaria Avenida El Dorado No. 42-42 Bloque 4 Bogotá, Colombia

Email: joseph.cutler@agr.ar.hu-berlin.de

Colombian purple passion fruit is increasingly in demand as domestic and international markets recognize its unique taste, antioxidant properties, and potential for industrial processing. One of the main problems for production is the incidence of viral pathogens that affect yields. In Cundinamarca there has been an increase in passion fruit plants exhibiting typical symptoms of viral diseases such as leaf blistering and fruit deformation. Of 102 samples collected between 2016-17, 9% tested positive using a PTA (Plate-Trapped Antibody) - ELISA and a *Potyvirus*-group specific antibody. In a pooled sample from multiple farms, Next Generation Sequencing (NGS) demonstrated the presence of *Soybean mosaic virus* (SMV), among other viruses. PCR detection of SMV in *Potyvirus*-group positive passion fruit was carried out using primers based on Botelho, et al (2016). PCR-positive SMV samples were then sent to BIOREBA Laboratories where a new SMV DAS-ELISA Kit was synthesized. This experiment is part of a cooperation project between German and Colombian universities, BIOREBA, the Colombian Agricultural Institute (ICA), the Colombian Corporation of Agricultural Investigation (CORPOICA), and the International Center for tropical Agriculture (CIAT), in which detection and diagnosis of viruses present in passion fruit plantations in several regions of Colombia can assist in certification of virus-tested plant material.

References

Botelho, S. R., Martins, T. P., Duarte, M. F., Barbosa, A. V., Lau, D., Fernandes, F. R., & Sanches, M. M. (2016). Development of methodologies for virus detection in soybean and wheat seeds. *MethodsX*, 3, 62-68

Asparagus virus 1 Volllängenkclone zur Aufklärung von pathotypspezifischen Unterschieden in *Chenopodium quinoa* und *Nicotiana benthamiana*

Hanna Rose¹ & Edgar Maiß¹

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

Email: maiss@ipp.uni-hannover.de

Asparagus virus 1 (AV-1) gehört zum Genus *Potyvirus* und zeigt die für Potyviren typische Genomorganisation (Blockus et al., 2015). Das Virus ist weit verbreitet in Spargel, wobei es zu Ertragseinbußen und bei Mischinfektionen mit anderen Viren zum frühzeitigen Absterben der Spargelpflanzen kommen kann (Nothnagel et al., 2013). AV-1 tritt in zwei Pathotypen auf, die anhand ihrer Symptome in *Chenopodium quinoa* und *Nicotiana benthamiana* unterschieden werden. Während AV-1 Pathotyp 1 (AV-1/1) Lokalläsionen in *C. quinoa* verursacht und *N. benthamiana* nicht infizieren kann, finden sich für Pathotyp 2 (AV-1/2) systemische Symptome in *N. benthamiana* aber keine Lokalläsionen bei *C. quinoa*. Um die biologischen Unterschiede aufklären und Pathotypen molekular unterscheiden zu können, stellen Volllängenkclone ein ideales Werkzeug dar. Von AV-1/1 (DSMZ, PV0955, KJ830761.1) und AV-1/2 (DSMZ, PV0954, NC_025821.1) wurden im Vektor pDIVA (KX665539.1) mittels Gibson-Assembly Volllängenkclone erstellt. Mit pDIVA_AV-1/2 konnten nach Agroinokulation in *N. benthamiana* systemische Symptome beobachtet werden, während pDIVA_AV-1/1 keine Symptome verursachte. Sechs chimäre Volllängenkclone wurden durch Austausch der korrespondierenden Genombereiche P1, HC-pro-6K1 sowie VPg-CP im Hintergrund von pDIVA_AV-1/1 bzw. pDIVA_AV-1/2 erzeugt. Nach Agroinokulation der chimären Volllängenkclone werden die für die unterschiedliche Symptomatologie ursächlichen Genomregionen gegenwärtig näher eingegrenzt.

Characterization of newly discovered viruses in declining birch

Elisha Bright Opoku¹, Maria Landgraf¹, Martina Bandte¹, Susanne von Bargaen¹, Martin Schreiner², Barbara Jäckel² & Carmen Büttner¹

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

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

Email: brightopok@yahoo.com

Data from next generation sequencing have shown the complexity of the birch virome. Based on molecular biological diagnostics of *Cherry leaf roll virus*, *Apple mosaic virus*, *Badna-* and *Carlavirus* from birch in 2016 and 2017, data on distribution of the viral complex were collected in the urban landscape of Berlin. Characterization of newly discovered viruses is one major goal in the next years to determine pathogenicity and evaluation of their impact in urban green and forests. Especially interesting for management and maintenance of urban green is the mode of viral transmission. Transmission experiments for *Carla-* and *Badnaviruses* were carried out in 2017 using biotest plants (*Chenopodium quinoa*) and mechanical inoculation by infected leaves. First positive results were obtained for *Badnaviruses*. This gave the impression that *Badnaviruses* found in birch are mechanically transmissible. Consequences for hygienic practices during tree management and maintenance will be examined once confirmation of *Badnavirus* pathogenicity is known. The complex symptomatology will be further investigated to correlate mixed viral infection and symptomatology. Viruses will be localized within the observed symptoms based on microscopic technologies to determine if they contribute to the role in birch leaf roll diseases.

References

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

Landgraf, M., Gehlsen, J., Rumbou, A., Bandte, M., von Bargaen, S., Schreiner, M., Jäckel, B., Büttner, C. 2016: Absterbende Birken im urbanen Grün Berlins – eine Studie zur Virusinfektion. In: Dujesiefken, D. (Ed.), Jahrbuch der Baumpflege, Haymarket Media, Braunschweig, 276-283

Konstruktion eines infektiösen Volllängenklons des Tomato mild mottle virus (TMMoV) aus dem Genus *Ipomovirus* (*Potyviridae*)

*Anabel Aselmeyer*¹, *Edgar Maiß*¹ & *Hanna Rose*¹

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

Email: rose@ipp.uni-hannover.de

Mit Hilfe infektiöser Volllängenklone von Pflanzenviren ist es möglich, gezielte Modifikationen in der Sequenz vorzunehmen, um Proteinfunktionen oder die Bedeutung von Sequenzmotiven zu untersuchen. In diesem Projekt erfolgte die Konstruktion eines Volllängenklons eines äthiopischen Tomato mild mottle virus (TMMoV) Isolats (Acc.-Nr.: HE600072, DSMZ: PV-0993) (Abraham et al. 2012) mittels Gibson Assembly (Gibson et al. 2009). TMMoV wurde erstmals 1990 in der Republik Jemen in Tomaten und schwarzem Nachtschatten (*Solanaceae*) nachgewiesen (Walkey et al. 1994). Aufgrund der flexiblen filamentösen Virusstruktur, der Bildung zylindrischer Einschlusskörper sowie Sequenzanalysen erfolgte eine Klassifizierung als Mitglied des Genus *Ipomovirus* (*Potyviridae*) (Walkey et al. 1994; Abraham et al. 2012). Das Wirtspflanzenspektrum von TMMoV ist auf *Solanaceae* begrenzt und eine Übertragung durch die Weiße Fliege *Bemisia tabaci* konnte experimentell nachgewiesen werden (Abraham et al. 2012). Das Virusgenom, bestehend aus 9283 Nukleotiden, wurde in vier Fragmenten amplifiziert und sukzessive im Vektor pDIVA (KX665539.1) zusammengesetzt. Die Infektiosität der resultierenden Volllängenklone konnte mittels *Rhizobium radiobacter* Infiltration und anschließendem RT-PCR Nachweis in *Nicotiana benthamiana* bestätigt werden. Mit dem infektiösen Volllängenklon steht nun ein System zur Verfügung, um Motive für die Weiße Fliege Übertragung zu charakterisieren oder Wirts- und Symptombestimmanten zu bestimmen.

Genome organization of a novel emaravirus in Common oak (*Quercus robur* L.)

*Marius Rehanek*¹, *Susanne von Barga*¹, *Martina Bandte*¹ & *Carmen Büttner*¹

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

Email: Marius-Rehanek@t-online.de

The emergent group of emaraviruses becomes more and more prominent. It contains several classified and unclassified members of different hosts ranging from important ornamental and economical plants like rowans, roses and fig to several deciduous trees. All these viruses have a segmented genome of a core of four monocistronic RNAs in common. The RNA1 encodes the RNA-dependent RNA-Polymerase, the RNA2 encodes a glycoproteinpresursor, the RNA3 encodes the nucleocapsidprotein and the RNA4 encodes the supposed movement protein. Beyond this core components further number of genome segments varies greatly between different members of the genus. For some members eight fragments in total could be identified. However, their function in the viral life cycle remains to be determined. Here, a new putative member of emaraviruses was identified in a diseased Common oak in a nursery in Fellinghausen (Northern Westfalia). It was tentatively named Common oak ringspot-associated virus (CORaV) and shown to be widely spread in Germany, Sweden and Norway. High throughput sequencing and application of full length PCR according to Di Bello et al. (2015) allowed the determination of the genome structure of CORaV. Results support the relationship of the virus to members of the genus emaravirus.

References

Di Bello PL, Ho T, Tzanetakis IE. The evolution of emaraviruses is becoming more complex: seven segments identified in the causal agent of Rose rosette disease. *Virus Research* 210, 241–244

Molecular and biological characterization of Neckar river virus (NRV)

Thi Chi Tran¹ & Edgar Maiß¹

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

Email: tran@ipp.uni-hannover.de

Neckar river virus (NRV), firstly isolated from the river Neckar, was serologically characterized as a novel tombusvirus. So far, only partial sequences of NRV are available. Here we determined the complete sequence of NRV (DSMZ; PV0270) and compared it with other tombusviruses. The NRV genome consists of 4857 nucleotides with five open reading frames (ORFs) and one putative ORF in the 3' terminal region. Phylogenetic analysis based on the coat protein (CP) amino acid level demonstrates that NRV represents a distinct species of the *Tombusvirus* genus. Its CP shares 71.9 % and 57.9 % sequence identity with limonium flower distortion virus (LFDV) and tomato bushy stunt virus (TBSV), respectively, which is far below 87 % required for species demarcation in the genus *Tombusvirus*. Mechanical inoculation of the wild-type NRV was carried out to evaluate the host range of NRV. Both systemic and local infections typically caused by viruses of the genus *Tombusvirus* were observed including leaf distortion, necrosis, chlorotic lesion and stunting. An infectious full-length clone of NRV was constructed in pDIVA (KX665539.1) using Gibson Assembly and investigated by agroinfiltration in *Nicotiana benthamiana*. Systemic necrotic symptoms leading to plant death developed on *N. benthamiana* within 14 days, confirming the infectiousness of the clone. The molecular and biological data verify the classification of NRV as a distinct species in the genus *Tombusvirus* of the family *Tombusviridae*.

NanoLuc as a tool to study infection with a plant virus

Marie Ducouso¹, Sylvaine Buissinot², Véronique Brault² & Martin Drucker^{1,2}

¹ INRA, UMR 385 BGPI, Equipe VIP, TA A54K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier, Cedex 5, France

² INRA - Centre de Recherches de Colmar, UMR Santé de la Vigne et Qualité du Vin, 28 rue de Herrlisheim, 68021 COLMAR Cedex, France

Email: martin.drucker@inra.fr

NanoLuc is a smaller and brighter luciferase than the classically used Firefly and *Renilla* luciferases, and might be suited for stable insertion into plant virus genomes to study virus propagation in the plant by luminescence. The insertion can be further reduced by using split NanoLuc where only half the protein is cloned into a genome and the other half is provided in trans. We inserted NanoLuc and the N-terminal half of NanoLuc into the genome of Turnip yellows virus (TuYV) and tested the transgenic viruses for genome stability and bioluminescence. First results are presented.

Biological and molecular characterisation of a putative Tomato bushy stunt virus (TBSV) isolate from Kalanchoe

Thu-Giang Thi Bui¹ & Edgar Maiß¹

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

Email: giang.bui@stud.uni-hannover.de

Tomato bushy stunt virus (TBSV) is the type member of the genus *Tombusvirus*. TBSV encodes a RNA-dependent RNA polymerase, a coat protein, a movement protein, and a suppressor of silencing. The natural hosts of TBSV are tomato, chilli pepper, eggplant, lettuce, as well as a wide and diverse range of experimental hosts (Rochon, 1999). The consequences of TBSV infections are a reduced yield with small fruits leading to the low value in the market.

The aim of this study was to analyse a TBSV strain isolated from Kalanchoe (TBSV-Kal), provided by the Leibniz Institute - DMSZ. The isolate was propagated on *Nicotiana benthamiana* before

mechanical transmission to different plants for determination of its host range. TBSV-Kal lead to systemic infection on tomato cvs. Black from Tula and Saint Piere, eggplant (cv. Violetta lunga) and bell pepper (cv. California Wonder). In addition, some tomato varieties show local symptoms such as cvs. Gartenperle, Marmande and Hellfrucht. In addition, local symptoms occurred on red cabbage, red beet, lettuce, chicory, and artichoke.

The genome of TBSV-Kal consists of 4773 nucleotides. An infectious full-length clone of TBSV-Kal lead to systemic symptoms within 5 days post infiltration by *Rhizobium rhizobacter* in *N. benthamiana*. In contrast, successful infection of *Kalanchoe blosfeldiana* and *K. calandiva* both by mechanical inoculation and *Agrobacterium* infiltration with the TBSV-Kal full-length clone failed, indicating the need for an optimization.

Untersuchungen zur Blattrollkrankheit an Reben und Schildläusen am Oberrhein im Rahmen des Interreg V Projekts „InvaProtect“

*Etienne Herrbach*¹, *Céline Abidon*², *Antoine Alliaume*¹, *Jérôme Attard*³, *Pauline Audema*³, *Delphine Binet*¹, *Patricia Bohnert*⁴, *Michael Breuer*⁴, *Marie Fagot*⁵, *Alexandre Fleisch*⁵, *Lucie Froehlicher*⁵, *Arthur Froehly*⁶, *Gérard Hommay*¹, *Ulrike Ipach*⁷, *Lilo Kling*⁷, *Marie-Noëlle Lauer*³, *Gertraud Michl*⁸, *Catherine Reinbold*¹, *Nadine Steinmetz*⁸ & *Christoph Hoffmann*⁸

¹ Unit Santé de la Vigne et Qualité du Vin (SVQV), Unistra-INRA, Biopôle, 68000 Colmar, France

² Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV), 68000 Colmar, France

³ Chambre d'Agriculture d'Alsace (CAA), 68127 Sainte-Croix-en-Plaine, France

⁴ Staatliches Weinbauinstitut Freiburg (WBI), Merzhauser Str. 119, 79100 Freiburg im Breisgau, Deutschland

⁵ Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles (Fredon Alsace), 67600 Sélestat, France

⁶ Conseil Interprofessionnel des Vins d'Alsace (CIVA), SPMC, Biopôle, 68000 Colmar, France

⁷ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz (DLR RLP), Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstraße, Deutschland

⁸ Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Geilweilerhof, 76833 Siebeldingen, Deutschland

Email: etienne.herrbach@inra.fr

Im Zuge des „Interreg V Oberrhein Programmes“ wird das Projekt „InvaProtect“ (Nachhaltiger Pflanzenschutz gegen invasive Schaderreger im Obst- und Weinbau) von 30 Partnern aus Deutschland, Schweiz und Frankreich gemeinsam bearbeitet. In Arbeitsgruppen werden verschiedene invasive Schaderreger untersucht.

Die Arbeitsgruppe „Cocc'n'roll“ befasst sich mit der Epidemiologie und Verbreitung der Blattrollkrankheit an Reben sowie mit der Rolle von Schildläusen (*Hemiptera Coccoidea*) als deren Vektoren. Ziel ist es, festzustellen ob die aktuellen Maßnahmen der Eindämmung (Produktion gesunden Pflanzgutes, Kontrolle der Vektoren) für Weinbau und Pflanzgutproduktion noch nachhaltig sind. Fünf einheimische Schildlausarten sind fähig, Viren der Blattrollkrankheit (Ampelovirus) von Rebe zu Rebe zu übertragen. Im Rahmen des Projektes wurde die Übertragungseffizienz der Ahornschmierlaus (*Phenacoccus aceris*) verschiedener Herkünfte verglichen. In epidemiologischen Untersuchungen wurden ausgewählte Weinberge über mehrere Jahre auf Viren getestet, um die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Krankheit zu ermitteln. Die Ergebnisse amtlicher Routineprüfungen werden mit den Ergebnissen epidemiologischer Felduntersuchungen in Frankreich und Deutschland zusammengeführt. Daraus soll ein Maßnahmenkatalog entwickelt werden, der Politik, Verbänden, Rebveredlern und Winzern eine Handlungsgrundlage für eine zugleich umweltschonende- als auch effektive Eindämmung der Blattrollkrankheit am Oberrhein bietet.