

## ***Virologie / Bakteriologie / Mykologie***

### **I. Vorträge**

#### **Sektion 46 – Virologie / Bakteriologie/ Mykologie I**

##### **46–1 – Götz, R.<sup>1)</sup>; Huth, W.<sup>2)</sup>; Spanakakis, A.<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup> FR. Strube Saatzucht KG

<sup>2)</sup> c/o Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und biologische Sicherheit

##### **Untersuchungen zur Diversität der in Deutschland und Europa vorkommenden Isolate des Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV)**

Investigation of the diversity of isolates of the Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) originating from Germany and Europe

Die bodenbürtigen Viren stellen eines der größten phytopathologischen Probleme für den Getreideanbau dar. In Deutschland und Europa kommen mindestens 3 Viren vor, die von dem Bodenpilz *Polymyxa graminis* übertragen werden und die Pflanzen von Weizen, aber auch Triticale und Roggen befallen. Die Entwicklung virusresistenter Sorten stellt die einzige aussichtsreiche Bekämpfungsstrategie dar. Die Charakterisierung der Viren ist dabei von entscheidender Bedeutung für eine erfolgreiche Resistenzzüchtung.

Verschiedene Isolate des Furovirus Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV), des am weitesten verbreiteten Weizenvirus, wurden auf molekularer Ebene charakterisiert. Anhand der Sequenzdaten der an verschiedenen Versuchsstandorten vorkommenden Virusisolate wurden vergleichende Analysen durchgeführt. Die verschiedenen Isolate des sbcmv zeigen generell einen hohen Grad an Übereinstimmung in der Sequenz ihres Genoms. So besitzen z.B. alle Isolate eine Übereinstimmung von mindestens 93% in der Aminosäuresequenz des Movement Proteins. Trotzdem bestehen Unterschiede im Grad der Übereinstimmung, die dazuführen, daß die SBCMV-Isolate in drei verschiedene Cluster eingeteilt werden können. Dabei scheint die Einstufung von der geographischen Herkunft des Isolates abhängig zu sein.

Die sich aus dieser Beobachtung ergebenden Schlußfolgerungen für die Selektion resistenter Sorten sollen diskutiert werden.

##### **46–2 – Schubert, J.<sup>1)</sup>; Fomitcheva, V.<sup>1)</sup>; Sztangret-Wisnewska, I.<sup>2)</sup>; Thieme, R.<sup>3)</sup>**

<sup>1)</sup> Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik

<sup>2)</sup> Plant Breeding and Acclimatization Institute

<sup>3)</sup> Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für landwirtschaftliche Kulturen, Groß Lüsewitz

##### **Aufklärung der molekularen Struktur von Stämmen des Potato virus Y als Voraussetzung für ihre Nutzung in der Resistenzzüchtung und die Entwicklung von Diagnosemethoden**

Evaluation of the Molecular Structure of Potato virus Y strains as condition for their use in resistance breeding and molecular diagnostics

Das Potato virus Y (PVY) gehört weltweit zu den wichtigsten SchADViren im Kartoffelbau, so auch in Deutschland. Durch die sich zunehmend ausbreitenden Stämme PVY<sup>NTN</sup> und PVY<sup>NW</sup>, die eine erhöhte Virulenz und Pathogenität aufweisen, steht die Aufgabe, neue, stabile und einfach zu handhabende Resistenzen zur Verfügung zu stellen. Dazu sind für die Resistenztestung des Ausgangsmaterials geeignete Stämme zu wählen, die das gesamte Stammspektrum repräsentieren. Neben biologischen Daten sollten für die Auswahl auch molekulare Daten einbezogen werden.

Unter polnischen und deutschen Isolatens des PVY wurden typische Vertreter für die einzelnen Stämme ausgewählt und ihr gesamtes Genom analysiert. Im Vergleich zu bisher publizierten Sequenzen konnten

mehrere neue Typen identifiziert werden, die verschiedene Rekombinanten zwischen Genomen der N- und O-Stämme darstellten. Erstmals konnte in Deutschland auch ein sogenannter Nordamerikanischer-NTN-Stamm des PVY nachgewiesen werden. Besonders interessant waren Sequenzen von Isolaten, die die PVY-Resistenz transgener Pflanzen gebrochen hatten. In ihrer Struktur sind sie bisher einzigartig.

Die Daten erlaubten es nicht, Motive zu identifizieren, die dafür verantwortlich sein könnten, dass bestimmte Isolate Knollennekrosen induzieren bzw. auf Tabak Adernekrosen hervorrufen. Wir vermuten, im Gegensatz zu Literaturdaten, dass mehrere Gene diesen Effekt hervorrufen können.

Basierend auf den Sequenzdaten wurden RT-PCR-Primer abgeleitet, die für die Differenzierung der Isolate eingesetzt werden.

Erste Ergebnisse bei der Nutzung von sechs biologisch und molekular definierten PVY-Isolaten in der Resistenztestung ergaben, dass in Wildarten der Kartoffel Gene vorkommen, die differentiell mit den verschiedenen Stämmen reagieren. Sie könnten für eine verbesserte biologische Differenzierung von Stämmen des PVY eingesetzt werden. Es konnte bisher noch kein Material identifiziert werden, das eine biologische Differenzierung von N- und NTN-Stämmen zulässt bzw. das nur Resistenz gegen NTN-Stämme vermittelt.

### **46-3 – Draghici, H.-K.; Varrelmann, M.**

Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzenvirologie

#### **Rekombination von ausbreitungsdefekten Hüllproteingen-Mutanten des Potato virus X (PVX) in *Nicotiana benthamiana* mittels transienter Agrobakterien-vermittelter Expression der Wildtypsequenz**

Recombination of movement defective coat protein gene mutants of Potato virus X (PVX) in *Nicotiana benthamiana* by transient Agrobacterium-mediated expression of the wild-type sequence

Innerhalb der Pflanzenviren scheint die Rekombination eine wichtige Rolle bei der Erzeugung von Diversität, Genomreparaturmechanismen, viralen Evolution und Adaption zu spielen. Potato Virus X (PVX), Genus Potexvirus, wurde bisher bezüglich der Fähigkeit zur Rekombination nicht detailliert untersucht, obwohl Beobachtungen zum Auftreten von Deletionen in PVX-Expressionsvektoren und das Auftreten von „defective“ RNAs (D RNA) bekannt sind. Ziel dieser Arbeit ist, die Rekombination für PVX zu demonstrieren sowie ein schnelles und einfaches experimentelles System zur Charakterisierung der Rekombination (homologe und heterologe Rekombination in Abhängigkeit von der Art und Länge der Template-Sequenz sowie Rekombinationsmechanismus) zu etablieren. Zu diesem Zweck wurde in das CP [237 Aminosäuren (AS)] des agroinfiltrierbaren 35S-PVX-GFP Pflanzenexpressionsvektor (pGr106-GFP) eine Deletion ( $\Delta$ CP: AS173–215) eingefügt, um die Ausbreitungsfunktion zu zerstören. Damit konnte die Mutante auch bei Agroinfektion (LBA4404) mittels Blatinfiltration von *Nicotiana benthamiana* den infiltrierten Bereich der transient transformierten Zellen nicht verlassen. Um ein intaktes in vivo CP-Transkript als Template für die virale RNA Rekombination und Rekonstitution der Ausbreitungsfunktion anzubieten, wurde der CP-ORF plus 3'-nichttranslatierte Region des PVX unter 35S- und pA-CaMV Kontrolle in einen binären Vektor kloniert und in *A. tumefaciens* transformiert. Die Überprüfung der GFP-Expression in mit beiden Konstrukten co-infiltriertem Blattgewebe von *N. benthamiana* zeigte einen höheren Anteil an fluoreszierenden Zellen im Vergleich zur Einzelinfiltration mit PVX- $\Delta$ CP, welches die Komplementation des Kurzstreckentransportes vom ausbreitungsdefekten PVX anzeigte. 12 Tage nach Co-Infiltration von PVX- $\Delta$ CP plus intaktem CP-Transkript, zeigten 45/50 infizierten *N. benthamiana* Pflanzen eine sich ausbreitende GFP-Fluoreszenz und beginnende systemische Virussympptome. Zur Zeit werden PVX-Hüllproteingene mit abweichender Sequenz auf ihre Eigenschaft zur Wiederherstellung der Ausbreitungsfunktion über RNA-Rekombination untersucht. Dieses transiente Expressionssystem kann die funktionelle Charakterisierung der Replikations- und Rekombinationsfunktionen der PVX Polymerase (RdRp) ermöglichen. Vom RdRp-Gen wurde daher im Hintergrund der PVX CP-Deletionsmutante eine „pentapeptide scanning insertion“ Bibliothek mittels transposonvermittelter Insertions Mutagenese erstellt. Zur Zeit erfolgt die Kartierung und Sequenzierung der Insertionen sämtlicher Mutanten sowie eine funktionelle Charakterisierung von replikationsaktiven Bereichen des Proteins. Die Ergebnisse dieser Kartierung werden vorgestellt und im Hintergrund der bekannten funktionellen Bereiche von viralen Polymerasen der „Alphavirus supergroup“ diskutiert.