

II. Poster

099 – Nitschke, E.; Varrelmann, M.

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

Auxinresponsive Markergenexpression als Möglichkeit, die Beeinflussung des Phytohormonhaushalts in Virus–Pflanze–Interaktionen zu untersuchen

Auxin-responsive marker gene expression as a tool to study plant–virus interactions

Pflanzenhormone sind eine wichtige Gruppe pflanzeigener organischer Verbindungen, die als endogene Regulatoren Wachstum und Entwicklung der Pflanzen koordinieren. Aus zahlreichen Untersuchungen der Wirt–Pathogen–Interaktion bei Bakteriosen und Mykosen ist die Beteiligung von unterschiedlichen Phytohormonen bei Pathogenbefall untersucht worden. Für Pflanzenviren liegen bislang nur wenige Untersuchungen bezüglich der Beteiligung von Phytohormonen an dem Verlauf der Wirt–Virus Interaktion vor. Ziel dieser Untersuchung ist es daher, die hormonelle Ebene der Virus–Pflanze–Interaktion zu charakterisieren. Aufgrund der von Pflanzenviren verursachten Symptome wie Stauchungen, Blattkräuselungen und Wuchsdeformationen wurde die Hypothese abgeleitet, dass pflanzenvirale Infektionen den pflanzlichen Phytohormonmetabolismus beeinflussen. Derartige Veränderungen im pflanzlichen Hormonhaushalt sollten unter Verwendung des synthetischen Regulationselementes DR5, welches Auxin-induzierbare Markergenexpression ermöglicht, visuell dargestellt werden. Für diese Untersuchungen wurde ein GFP–Reportergen unter Kontrolle des Auxin–responsiven Promotors DR5, sowie des Terminationssignals pA–CaMV gebracht und in einen binären Pflanzentransformationsvektor kloniert. Durch Agrobakterien–vermittelten Gentransfer wurde das Markergenkonstrukt in *N. tabacum* transformiert. Transgene Linien mit einer Insertion wurden selektiert und für die weiteren Untersuchungen zunächst auf auxininduzierbare Reportergenaktivität durch exogene Auxinapplikation überprüft. Die Applikation von 50µM NAA führte zu detektierbarer GFP–Fluoreszenz im untersuchten Pflanzengewebe sowohl in einem *in vitro*–Kulturassay als auch in *ex vitro*–Jungpflanzen. Im Anschluss an grundlegende Untersuchungen zum Expressionsverhalten des Markergenkonstruktes wurden die erzeugten transgenen Linien (*N. tabacum*) mit verschiedenen Pflanzenviren (Tobacco mosaic virus, Tobacco necrosis virus, Tobacco rattle virus, Cucumber mosaic virus und Potato virus X) künstlich inokuliert und die aus der Pathogeninfektion resultierende differentielle GFP–Aktivität mittels Epifluoreszenzmikroskopie und RT–PCR der Markergenexpression untersucht. Die Beeinflussung der Auxinhomeostase wurde über verschiedene Stadien der Infektionsentwicklung verfolgt, sowie zwischen kompatiblen und nicht–kompatiblen Wirt–Pathogen–Interaktionen verglichen. Aus den Ergebnissen sollen Rückschlüsse auf die potentielle Wirkung der untersuchten Pflanzenviren auf die Auxindynamik möglich werden und im Hinblick auf die Rolle von Auxin in der Wirt–Virus–Interaktion, sowie in Bezug zu weiteren Phytohormonen diskutiert werden. Die resultierenden Ergebnisse können erste Informationen zur pflanzenviralen Beeinflussung des Auxinhaushaltes des Wirtes bzw. Nicht–Wirtes liefern.

100 – Ehrig, F.; Kühne, T.

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ), Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik (IRP)

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Übertragung des BaMMV durch *Polymyxa graminis*

Das Barley mild mosaic Bymovirus (BaMMV) wird durch den bodenbürtigen Pilz *Polymyxa graminis* übertragen. Obwohl Pilze als Vektoren für Pflanzenviren bereits seit 1969 bekannt sind, konnten Einzelheiten dieses Prozesses bisher nicht aufgeklärt werden. Bei aphidenübertragbaren Luteoviren wurden zwei spezielle Helferproteine nachgewiesen, die für die Virusübertragung von essentieller Bedeutung sind. Eine Komponente ist ein virales Strukturprotein, während das andere von bakteriellen Symbionten der Aphiden synthetisiert wird. Es konnte gezeigt werden, dass die Helferproteine die Aufnahme des Virus in den Vektor ermöglichen sowie seinen enzymatischen Abbau im Vektor verhindern. Ob im System Gerste/*Polymyxa graminis* virale Nichtstrukturproteine für die Vektor–

übertragung von Bedeutung sind, ist unbekannt. In eigenen Arbeiten wurden Beobachtungen aus elektronenmikroskopischen Untersuchungen mit Ergebnissen aus biologischen, molekularbiologischen und immunelektronenmikroskopischen Versuchen verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass beim BaMMV das Protein 2 der RNA 2 mit großer Wahrscheinlichkeit die entscheidende Rolle bei der Pilzübertragung des Virus spielt.

101 – Kastirr, U.¹⁾; Wortmann, H.²⁾

¹⁾ Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ),
Institut für Resistenzforschung und Pathodiagnostik (IRP)

²⁾ HYBRO Saatzucht, Station Wulfstode

Untersuchungen zum Verlauf der Infektion durch bodenbürtige Viren an Weizen, Triticale, Roggen und Indikatorpflanzen

Investigation of the progress of the infection caused by soil-borne viruses on wheat, triticale, rye and indicative plants

Bodenbürtige Viren werden durch den pilzlichen Vektor *Polymyxa graminis* Ledgh. übertragen und verursachen in verschiedenen Getreideanbaugebieten wirtschaftlich bedeutsame Virosen. In Deutschland wurden die Furoviren Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) und Soil-borne Wheat mosaic virus (SBWMV) sowie das Bymovirus Wheat spindle streak mosaic virus (WSSMV) nachgewiesen, deren Infektionsverlauf an Weizen Triticale, Roggen und an ausgewählten Indikatorpflanzen untersucht wurde. Es konnte gezeigt werden, wie sich der Nachweis von Furo- und Bymoviren während der Vegetation unter Feldbedingungen in Abhängigkeit von der Temperaturentwicklung unterscheidet. Weiterhin wurden zwischen den verschiedenen Getreidearten Unterschiede im Erstauftreten der Viren in den Stängeln und Blättern erfasst. In Sachsen-Anhalt wurde ein Befallsstandort identifiziert, auf dem Sorten, DH-Linien und genetische Ressourcen von Weizen, die auf anderen Flächen nicht durch das SBCMV infiziert werden, erkrankten. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass von diesem Virus inzwischen Stämme mit einer bislang unbekanntem Virulenz auftreten. Unter kontrollierten Bedingungen wurde der Infektionsverlauf an Getreideformen mit unterschiedlicher Resistenz gegen bodenbürtige Viren verglichen. Diese Untersuchungen belegten, dass als resistent eingestufte Sorten im Bereich der Wurzel durchaus mit den Viren infiziert sein können, sich das Virus meist über die Wurzel hinaus nicht ausbreitet. Bei mechanischer Inokulation der Blätter ließen sich die Pflanzen hingegen infizieren. Es liegt hier eine Ausbreitungsresistenz vor, die jedoch bei einem erheblichen Anteil von Einzelpflanzen (ca. 25%) dieser Sorten durchbrochen wurde. Mit dem Ziel der biologischen Differenzierung wurden ausgewählte Indikatorpflanzen mechanisch mit unterschiedlichen Virusisolaten inokuliert. *Nicotiana benthamiana* konnte als Wirt für die Unterscheidung der beiden Furoviren SBCMV und SBWMV selektiert werden.

102 – Dietrich, C.¹⁾; Qayyum, A.¹⁾; Winter, S.²⁾

¹⁾ Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) GmbH

²⁾ DSMZ, AG Pflanzenviren, c/o Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Untersuchungen zur Funktion des p15 Proteins aus Johnsongrass chlorotic

Analysis of the p15 protein of /Johnsongrass chlorotic stripe mosaic virus/ (JCSMV)/

Johnsongrass chlorotic stripe mosaic virus (JCSMV) is a Carmovirus (*Tombusviridae*), which naturally infects Johnsongrass (*Sorghum halepense*). The genome of JCSMV consists of a single-stranded RNA molecule of approximately 4,65 kb. Sequencing of the genome revealed an internal open reading frame (ORF, 417 bp) within the most 3'-located ORF, coding for a protein of 15,5 kDa (p15). Because Tombusviruses encode a gene silencing suppressor at a similar position (p19 of Tomato bushy stunt virus/TBSV), the p15 protein was tested for its ability to act as a silencing suppressor. p15 was compared to a series of other plant viral suppressor proteins including a potyviral HC-pro, the 2b protein of Cucumber mosaic virus, two different geminiviral AC2 proteins (East African and African Cassava mosaic virus) and the p19 of TBSV. It was found that p15 is a strong gene silencing suppressor in a transient assay using GFP-transgenic *Nicotiana benthamiana* plants. Further on, the suppressor was expressed via a viral vector to investigate synergistic effects.