

63. Deutsche Pflanzenschutztagung – 26. bis 29. September 2023, Georg-August-Universität Göttingen

diameter and revealed that the formulation consists of spherical nanoparticles. Furthermore, energy-dispersive X-ray spectroscopy measurements verified dsRNA integration into the nanoparticles by the presence of a phosphorous peak in formulations. Moreover, electrophoretic light scattering measurements indicated that the nanoparticles had a positive zeta-potential of +20 to +50 mV, which confirms that the negative charge of dsRNA was successfully masked in the formulation.

In the experiments on fungi, RNAi activity was determined by a reduction of infection sites and necrotic leaf area, as well as gene silencing measured by RT-qPCR. In the experiments against plant viruses, the RNAi was analysed by the number of infection sites, and viral accumulation of targeted-viruses was determined by RT-qPCR. Moreover, these data were compared to nanocarrier formulations of unspecific RNA sequences and without dsRNA, which indicated that both nanocarrier and unspecific dsRNA sequences activate PTI responses, thereby reinforcing plant protection through a second host defence pathway.

In future, we plan to investigate the RNAi efficacy of formulated dsRNA designed against sap-sucking insects. Finally, we will develop a carrier liquid based on biologically degradable surfactants to deliver the formulation to agricultural crops in the field.

Literatur

Bennett, M., J. Deikman, B. Hendrix, A. Iandolino, 2020: Barriers to Efficient Foliar Uptake of dsRNA and Molecular Barriers to dsRNA Activity in Plant Cells. *Front Plant Sci* **11**, 816, DOI: 10.3389/fpls.2020.00816.

Niehl, A., M. Soininen, M.M. Poranen, M. Heinlein, 2018: Synthetic biology approach for plant protection using dsRNA. *Plant Biotechnol J*, DOI: 10.1111/pbi.12904.

Rank, A.P., A. Koch, 2021: Lab-to-Field Transition of RNA Spray Applications - How Far Are We? *Frontiers in Plant Science* **12**, DOI: ARTN 75520310.3389/fpls.2021.755203.

Finanzierung: SusCrop - ERA-NET FACCE-JPI, DFG

28-4 - ViVe_Beet: RNA-Spray zur selektiven Kontrolle der grünen Pflirschblattlaus *Myzus persicae* zum Schutz der Zuckerrübe

Maurice Pierry¹, Eileen Knorr¹, Christoph Hellmann¹, Pascal Geisler¹, Jens Grotmann¹, Maximilian Seip¹, Andreas Vilcinskas^{1,2}, Kwang-Zin Lee^{1*}

¹Fraunhofer IME-BR, Schad- und Vektorinsektenkontrolle, Gießen

²Justus-Liebig-Universität, Insektenbiotechnologie, Gießen

*kwang-zin.lee@ime.fraunhofer

Die Grüne Pflirschblattlaus *Myzus persicae* ist ein Vektor zahlreicher pflanzenpathogener Viren, die in der Zuckerrübe zu signifikanten Ernteverlust führen. Durch den Wegfall von Rüben-Saatgutbeizungen mit Insektiziden seit 2018 stieg die Blattlauspopulation auf den Anbauflächen kontinuierlich an. Die Wirksamkeit von Feldapplikationen mit den verbleibenden Insektiziden ist durch die schnelle Resistenzausbildung gegen synthetische Insektizide von *M. persicae* verringert. Um wirtschaftlichen Verlust durch *M. persicae* entgegen zu wirken, müssen neue Ansätze basierend auf nachhaltige und innovative Methoden entwickelt werden. RNA Interferenz (RNAi) bietet aufgrund passgenauer Selektivität basierend auf der wirtsspezifischen DNA-Abfolge eine vielversprechende Alternative zu chemischen Wirkstoffen. Im Projekt ViVe_Beet zusammen mit den Kooperationspartnern JKI-Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, und das Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) werden

potentielle RNAi Zielgene identifiziert, die spezifische dsRNA hergestellt, geeignete Formulierungen entwickelt und in *M. persicae* getestet. Die Ergebnisse des Projektes werden im Rahmen der deutschen Pflanzenschutztagung vorgestellt.

28-5 - In *E. coli* exprimierte dsRNA des Beet mosaic virus (BtMV) schützt *Beta vulgaris* und *Nicotiana benthamiana* gegen das mechanisch inokulierte Virus

Dennis Rahenbrock*, Georgia Hesse, Mark Varrelmann

Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Göttingen

*rahenbrock@ifz-goettingen.de

Die Verbreitung der Virösen Vergilbung (VV) und des Beet mosaic virus (BtMV, *Potyvirus*) in deutschen Zuckerrübenanbaugebieten sowie die jüngste politische Entwicklung zur Verringerung des Einsatzes von chemischen Pflanzenschutzmitteln machen deutlich, wie wichtig es ist, alternative Bekämpfungsstrategien zu erforschen. Eine mögliche Lösung besteht in der Verwendung von viralen doppelsträngigen RNA-Molekülen (dsRNA) zur Auslösung der RNA-Interferenz (RNAi), einem natürlichen Abwehrmechanismus, mit dem sich Pflanzen vor einer Virusinfektion schützen können. Durch das Besprühen von Pflanzen mit geringen Mengen viraler dsRNA können wir diesen natürlichen Abwehrmechanismus simulieren und die antivirale RNAi-Maschinerie der Pflanze induzieren. Die exogene Applikation von dsRNA-Molekülen hat sich bei verschiedenen Pflanzenarten als wirksam gegen ein breites Spektrum von Viren erwiesen, darunter auch Potyviren (Worrall et al. 2019). DsRNA-Sprays wurden jedoch noch nicht an *Beta vulgaris* oder für Rüben-infizierende Viren getestet.

In dieser Studie beschreiben wir die Produktion einer 773 bp dsRNA in *E. coli* HT115 (Timmons et al. 2001), die homolog zum partiellen *Nuclear Inclusion Body B* (Nlb)-Gen des Beet mosaic virus ist. Diese dsRNA kann als RNA-Spray verwendet werden, um die Replikation und Ausbreitung von BtMV in *B. vulgaris* und *N. benthamiana* zu hemmen. Wir konnten eine Ausbeute von etwa 600 – 800 µg dsRNA pro 100 ml *E. coli*-Kultur erreichen, was sie zu einer kostengünstigen Alternative zu teuren *in-vitro*-Transkription-Kits macht. Erste Anwendungen, bei denen BtMV 24 Stunden nach dem RNA-Spray auf demselben Blatt mechanisch inokuliert wurde, zeigten eine allgemeine Wirkung des Sprays auf die BtMV-Anfälligkeit sowohl bei *B. vulgaris* als auch bei *N. benthamiana*. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass die Verwendung von dsRNA-Sprays eine vielversprechende Strategie zur Bekämpfung von Rüben-infizierenden Viren sein könnte, auch wenn eine systemische Wirkung auf unbehandelte Blätter und die Verhinderung der Übertragung von BtMV durch Blattläuse bisher noch nicht nachgewiesen werden konnte. In weiteren Studien werden alternative dsRNA-Moleküle und Formulierungen zur Verbesserung der Aufnahme geprüft und die Untersuchung auf andere Zuckerrüben-infizierende Viren wie Beet chlorosis virus (BChV), Beet mild yellowing virus (BMYV) und Beet yellows virus (BYV) ausgeweitet.

Literatur

Timmons, L., D.L. Court, A. Fire, 2001: Ingestion of bacterially expressed dsRNAs can produce specific and potent genetic interference in *Caenorhabditis elegans*. *Gene* (263), 103–112.

Worrall, E.A., A. Bravo-Cazar, A.T. Nilon, S.J. Fletcher, K.E. Robinson, J.P. Carr, N. Mitter, 2019: Exogenous Application of RNAi-Inducing Double-Stranded RNA Inhibits Aphid-Mediated Transmission of a Plant Virus. *Frontiers in plant science* 10, 265, DOI: 10.3389/fpls.2019.00265.