



Fonds européen de développement  
régional (FEDER)  
Europäischer Fonds für regionale  
Entwicklung (EFRE)



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

**VITIFUTUR** - Transnationale Plattform für angewandte Forschung und  
Weiterbildung im Weinbau

## **Bedeutung und Vorkommen von Viruskrankheiten der Weinrebe**

CHRISTOPHE RITZENTALER (CNRS Strasbourg)

CHRISTOPHE DEBONNEVILLE (Bioreba AG Reinach)

PATRICIA BOHNERT (WBI Freiburg)

GÉRARD DEMANGEAT (INRA Colmar)

**Christophe Ritzenthaler:** Allgemeine Einführung in das Arbeitsprogramm #3:  
**Viruskrankheiten der Rebe**

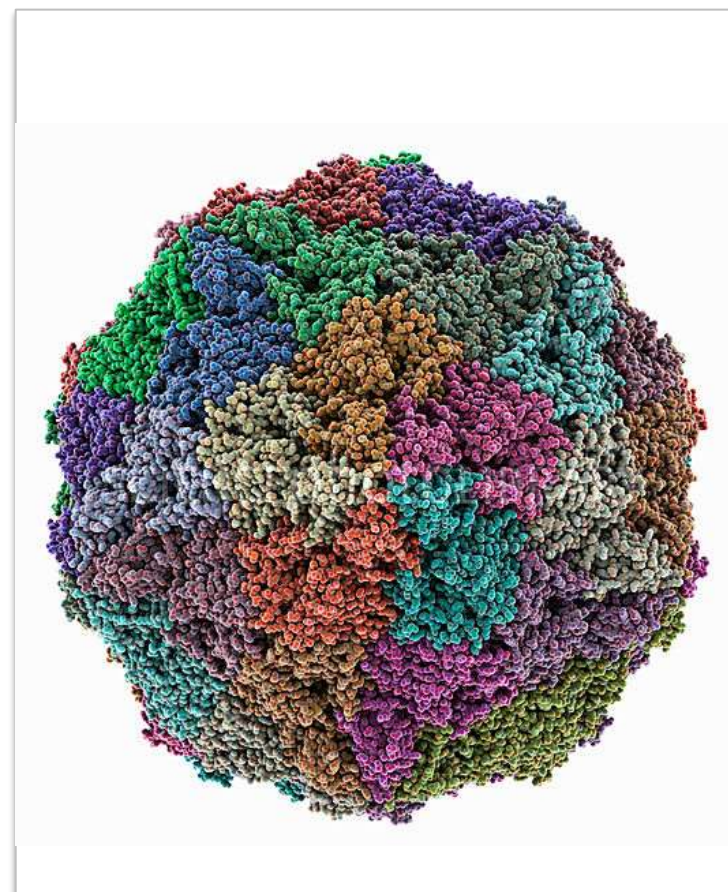
**Christophe Debonneville:** Serologische Verfahren zum Virusnachweis  
und Vorteile von Nanokörpern  
Beispiele für ArMV, RpRSV, GPGV, Blattrollkrankheit

**Patricia Bohnert:** Verbreitung von GFLV, ArMV, GPGV und GLRaV1 in  
oberrheinischen Weinbergen

**Gérard Demangeat:** Methoden der Resistenzbewertung und Perspektiven



Die Rebe: *Vitis vinifera*



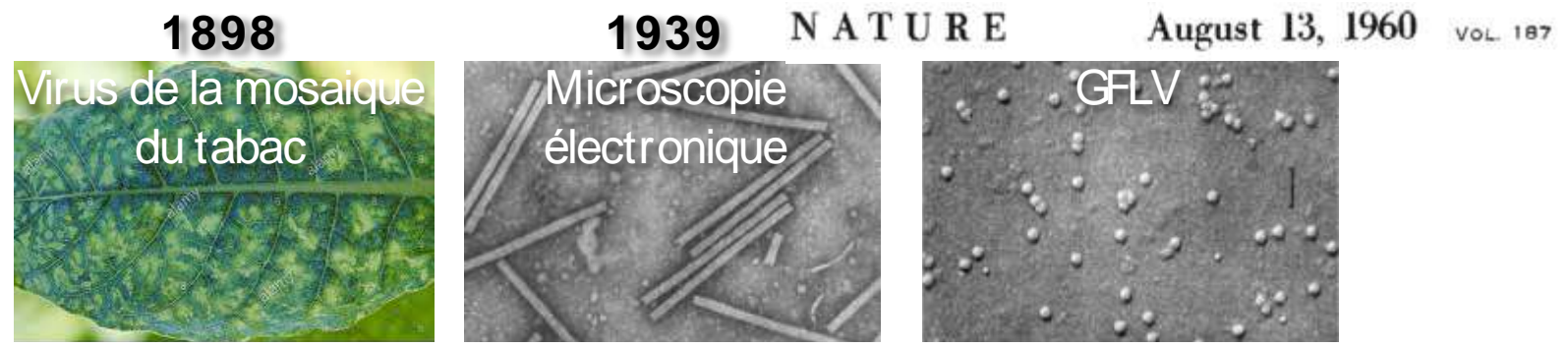
Virus der Reisingkrankheit (GFLV)

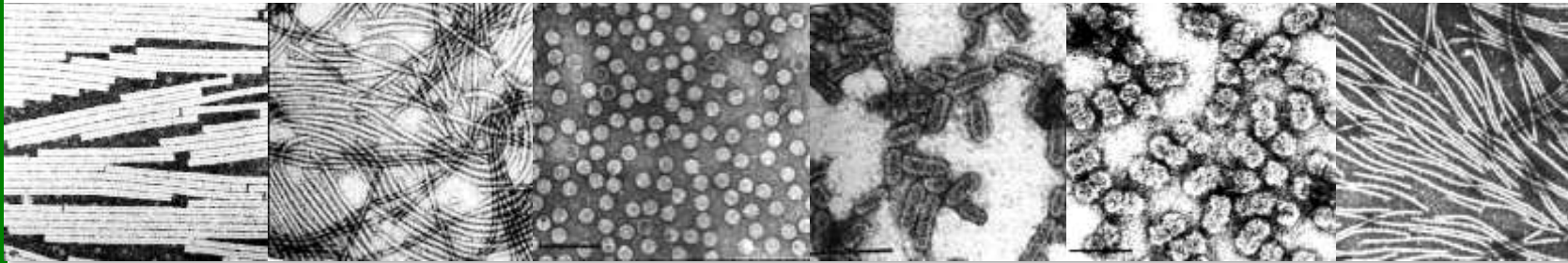




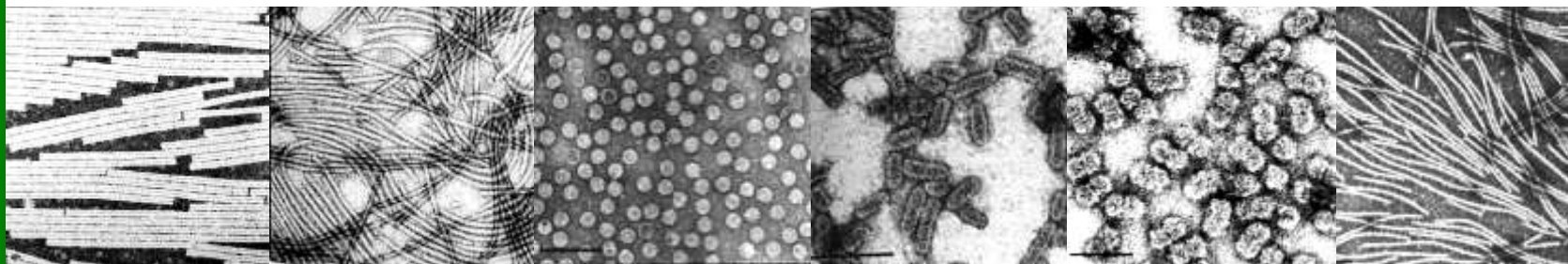


## Virologie, eine neue Disziplin





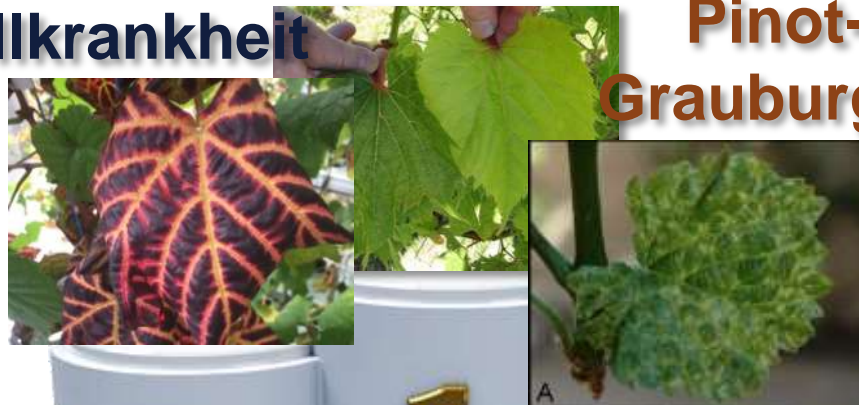
- ❖ **2019: Die Rebe ist ein Reservoir für Viren**
- ❖ **> 80 identifizierte Viren, die zu 30 verschiedenen Gattungen und 15 Familien gehören**
  - = Kulturpflanze mit der höchsten viralen Vielfalt
- ❖ **Keine bekannte Virusresistenz, aber....Riesling?**
- ❖ **Häufige Mehrfachinfektionen**
- ❖ **40 Jahre wirtschaftliche Bedeutung: Verschiedene Krankheiten**



**Court-noué  
Reisigkrankheit**

**Enroulement  
Blattrollkrankheit**

**Pinot-gris virus  
Grauburgunder Virus**



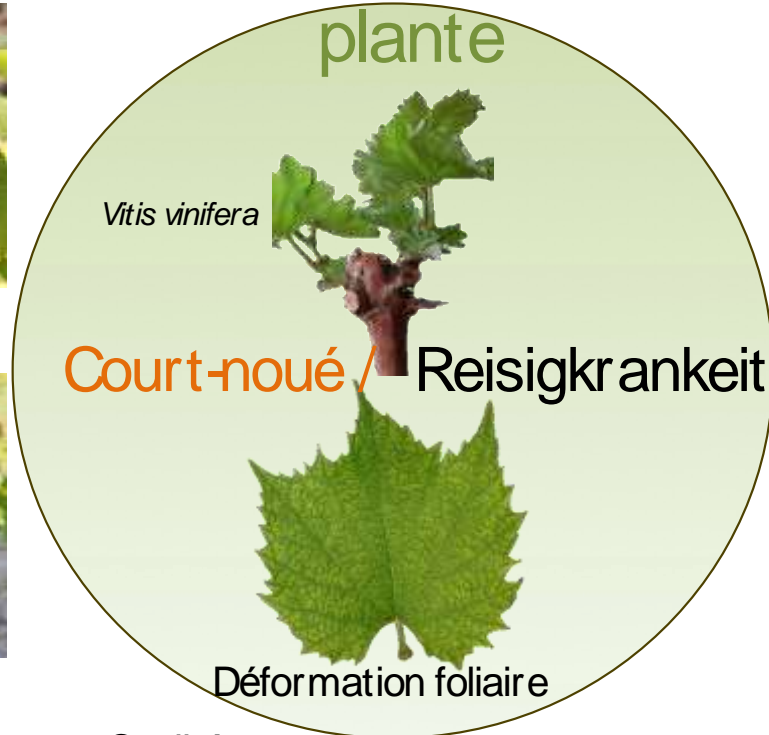




jaunissement



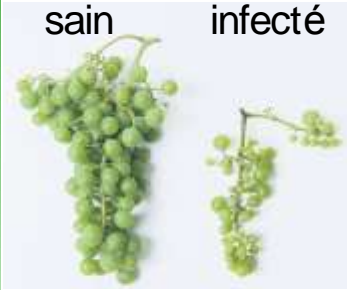
marbrure



Nanisme/ dépérissement

Rendements ↘ Qualité ↘

Entre-nœuds courts



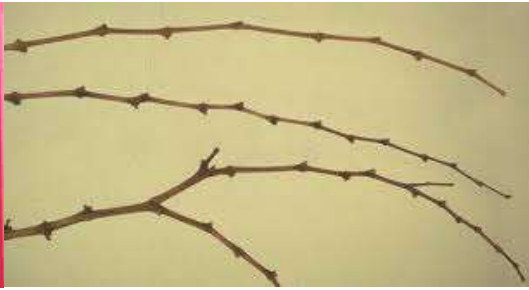
sain

infecté

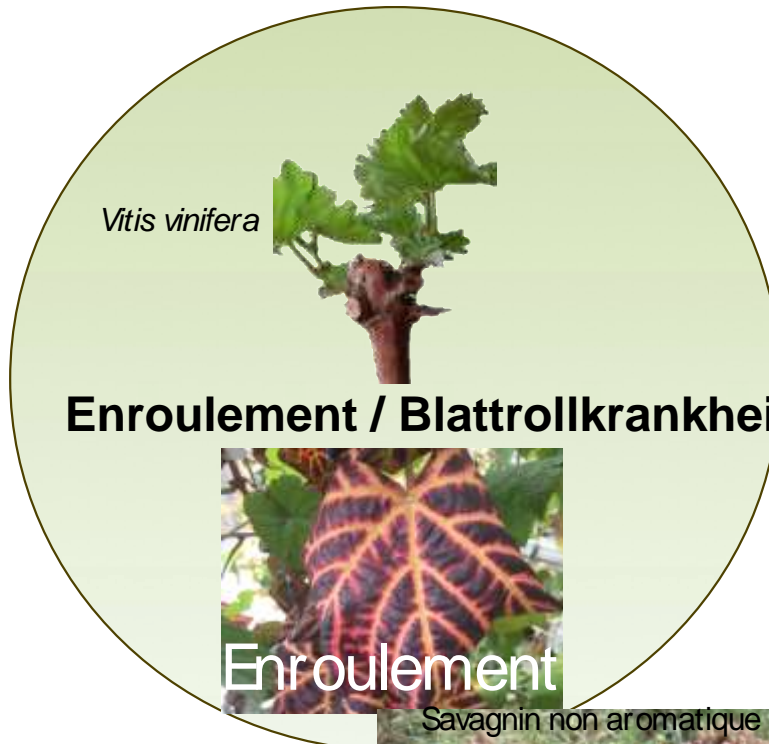


sain

infecté







Retard à la maturation

Sucres ↘

Pigmentation des baies ↘

Rendement ↘ (60 %)



Rendements ↘

Qualité des raisins ↘



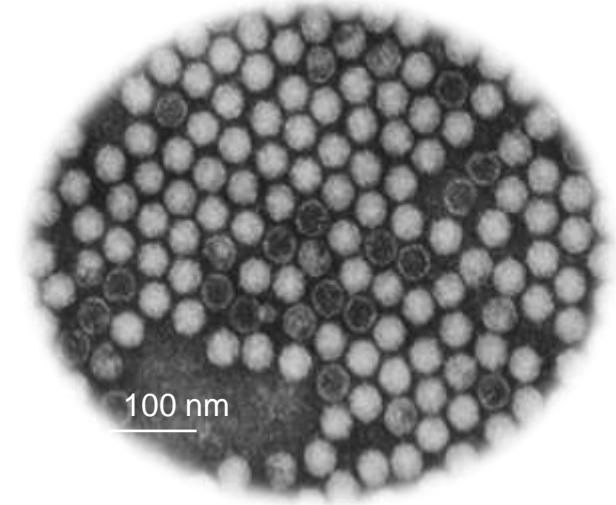
## Court-noué Reisigkrankheit



## Nepovirus

- Grapevine fanleaf virus (GFLV)
- Arabis mosaic virus (ArMV)
- Tomato blackring virus (TBRV)
- Grapevine chrome mosaic virus (GCMV)
- Strawberry latent ringspot virus (SLRV)
- Raspberry ringspot virus (RpRSV)
- Tomato ringspot virus (ToRSV)
- Tobacco ringspot virus (TRSV)
- Blueberry leaf mottle virus (BBLMV)
- Grapevine Bulgarian latent virus (GBLV)
- Artichoke Italian latent virus (AILV)
- Grapevine tunisian ringspot virus (GTRV)
- Peach rosette mosaic virus (PRMV)
- Cherry leaf roll virus (CLRV)
- Grapevine tunisian ringspot virus (GTRV)
- Grapevine anatolian ringspot virus (GARSV)

## Sphärische Partikel

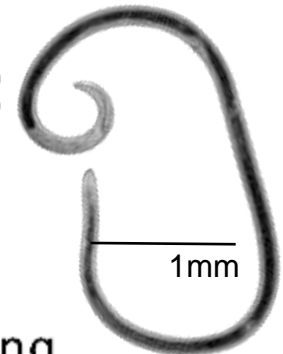


## Transmission: Nematoden

*Xiphinema spp*

3-4 mm

Weltweite Verbreitung

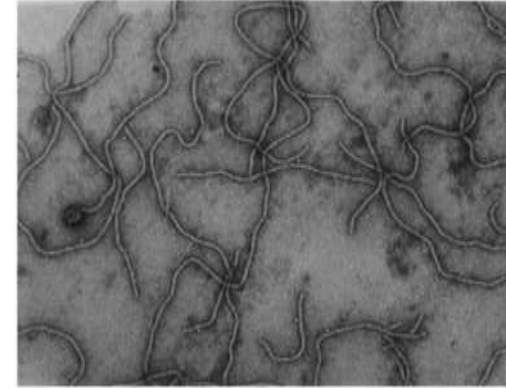




## Enroulement Blattrollkrankheit



## Virus flexueux



## Ampelovirus

- Grapevine leafroll associated virus 1 (GLRaV-1)
- Grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3)
- Grapevine leafroll associated virus 4 (GLRaV-4)
  - GLRaV-4 strain 5
  - GLRaV-4 strain 6
  - GLRaV-4 strain 9
  - GLRaV-4 strain Car

## Transmission: Cochenilles

(7500 Arten)

Größe < 5 mm

Weltweite Verbreitung




## Pinot-gris virus Grauburgunder Virus

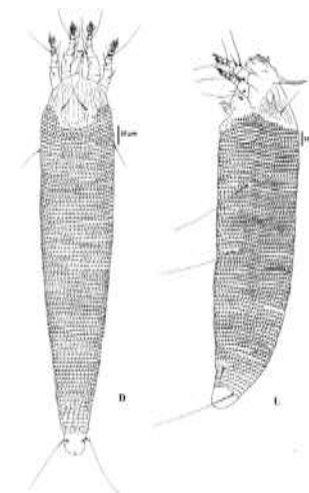


## Trichovirus Grapevine Pinot gris virus (GPGV)

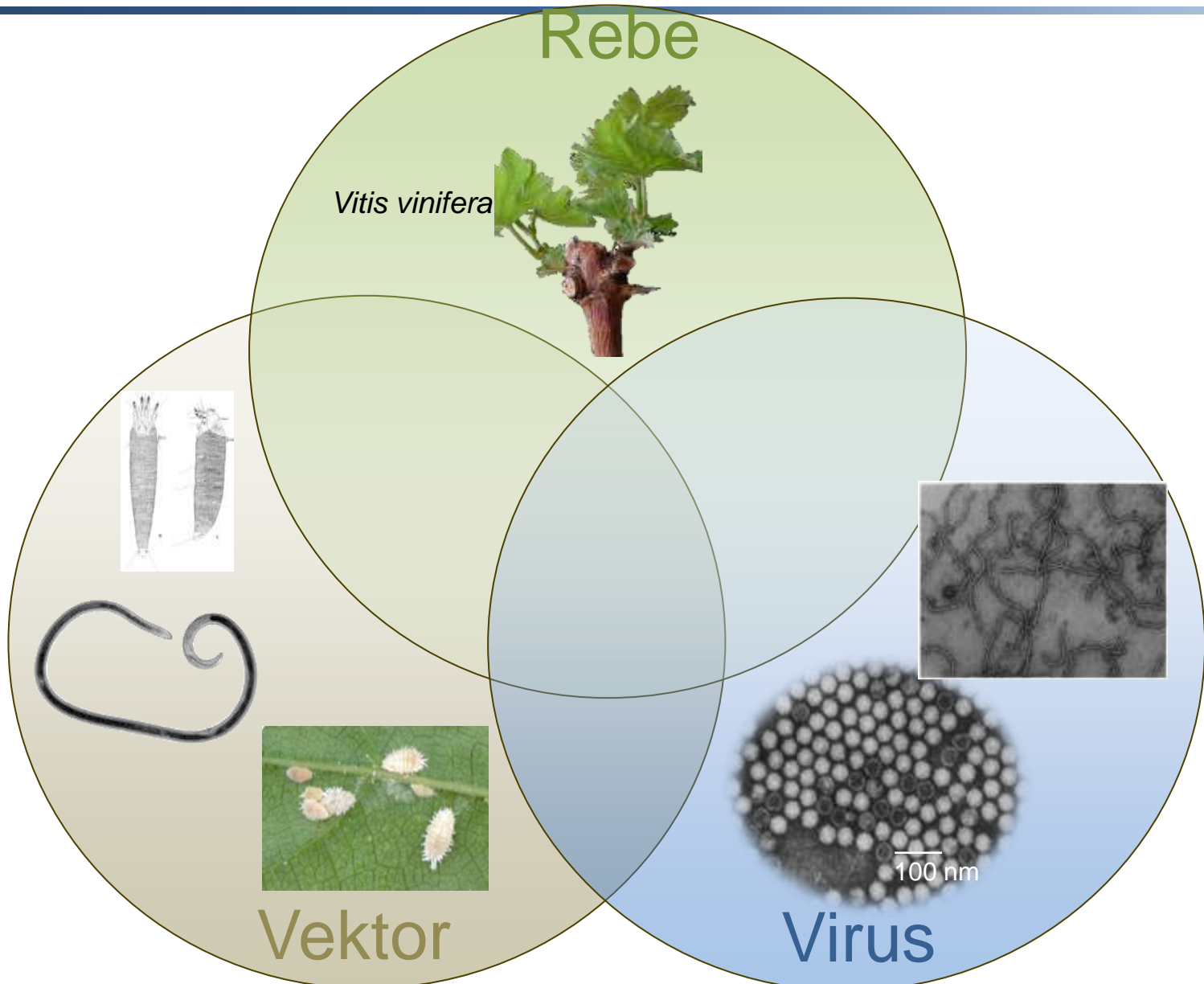
Virus flexueux



Transmission:  
Acarions  
*Colomerus vitis*  
Größe 0,1 mm  
Weltweite Verbreitung

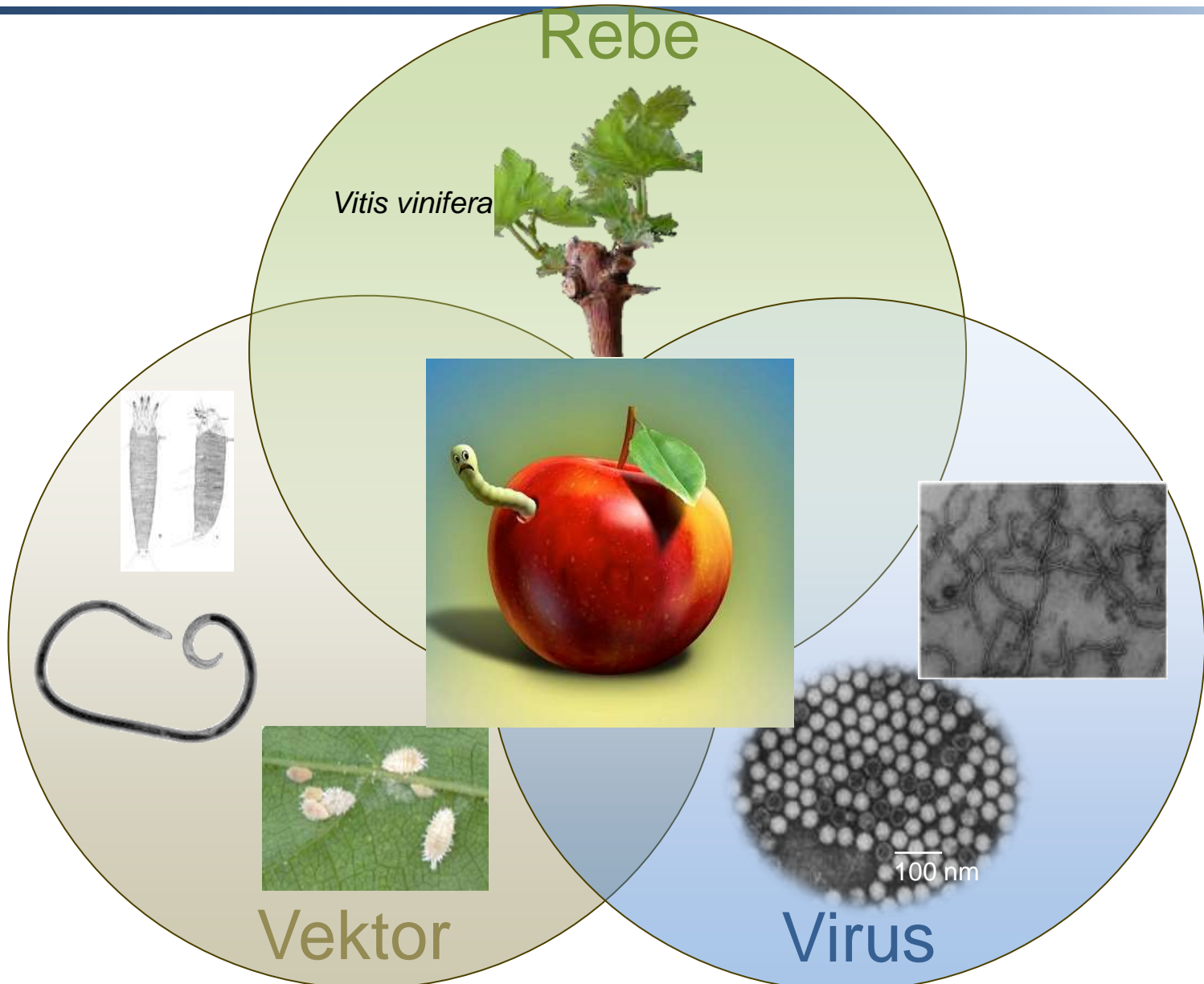


STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG  
 UNI FREIBURG  
 KIT  
 Karlsruher Institut für Technologie  
 Rheinland-Pfalz  
 DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ  
 Agro science  
 JKI  
 Julius Kühn-Institut  
 Federal Research Center for Cultivated Plants  
 UNIVERSITÄT KOBLENZ-LANDAU  
 CNRS  
 UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE  
 INRA  
 SCIENCE & IMPACT  
 SNi  
 SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE





- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- UNI FREIBURG
- KIT  
Karlsruher Institut für Technologie
- Rheinland-Pfalz  
DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- Agro science
- JKI  
Julius Kühn-Institut  
Federal Research Center for Cultivated Plants
- UNIVERSITÄT KOBLENZ-LANDAU
- cnrs
- UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE
- INRA  
SCIENCE & IMPACT
- SNi  
SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



## Court-noué/ Reisingkrankheit



P. Bass ©  
1994

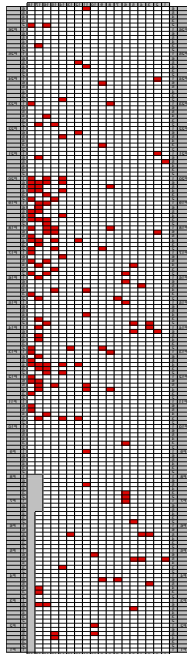


C. Ritzenhaler ©

Cramant, Champagne, France

## Enroulement / Blattrollkrankheit

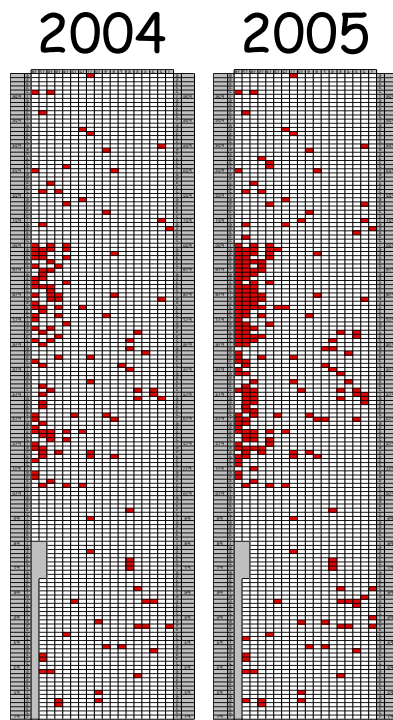
2004



Natürliche Ausbreitung von GLRaV-1 im Weinberg (Le Maguet et al., 2012)

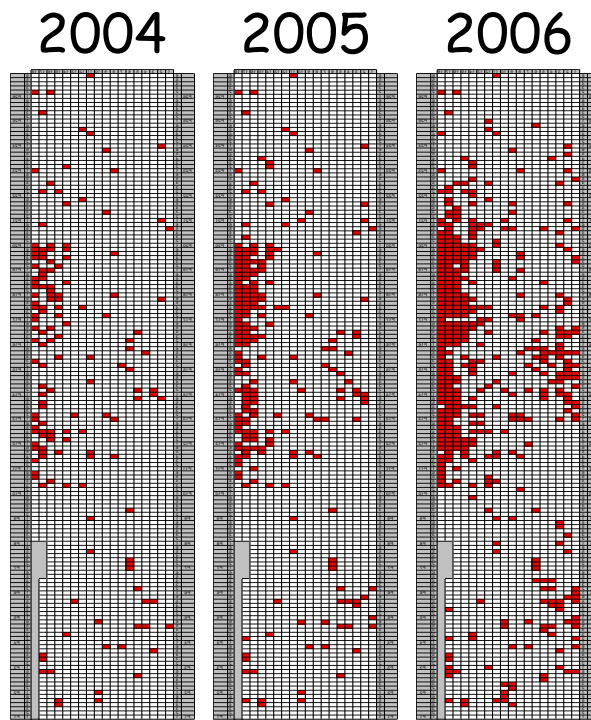


## Enroulement / Blattrollkrankheit



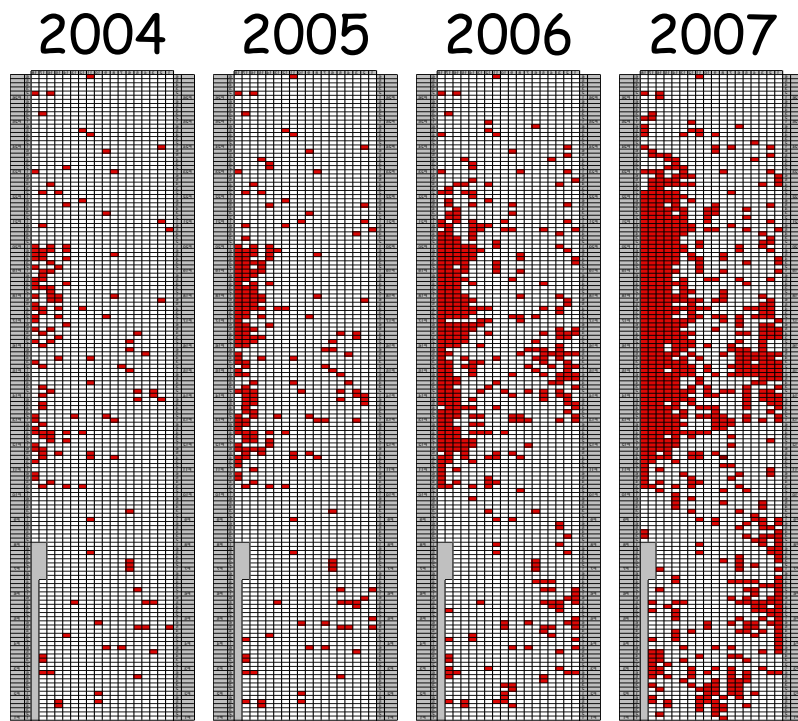
Natürliche Ausbreitung von GLRaV-1 im Weinberg (Le Maguet et al., 2012)

## Enroulement / Blattrollkrankheit



Natürliche Ausbreitung von GLRaV-1 im Weinberg (Le Maguet et al., 2012)

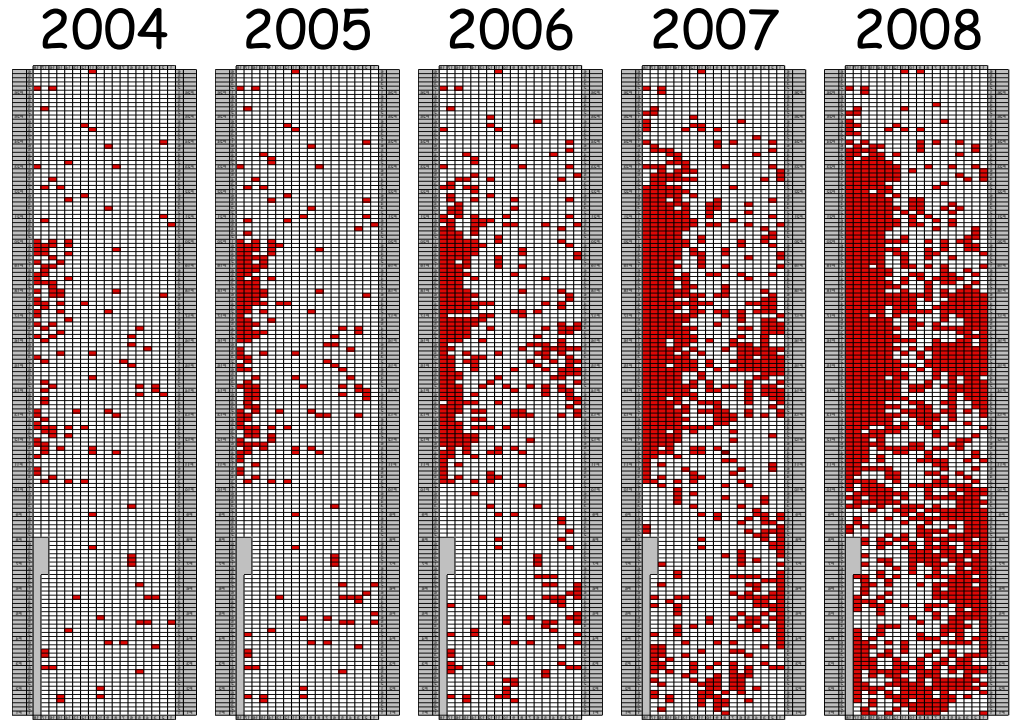
## Enroulement / Blattrollkrankheit



Natürliche Ausbreitung von GLRaV-1 im Weinberg (Le Maguet et al., 2012)

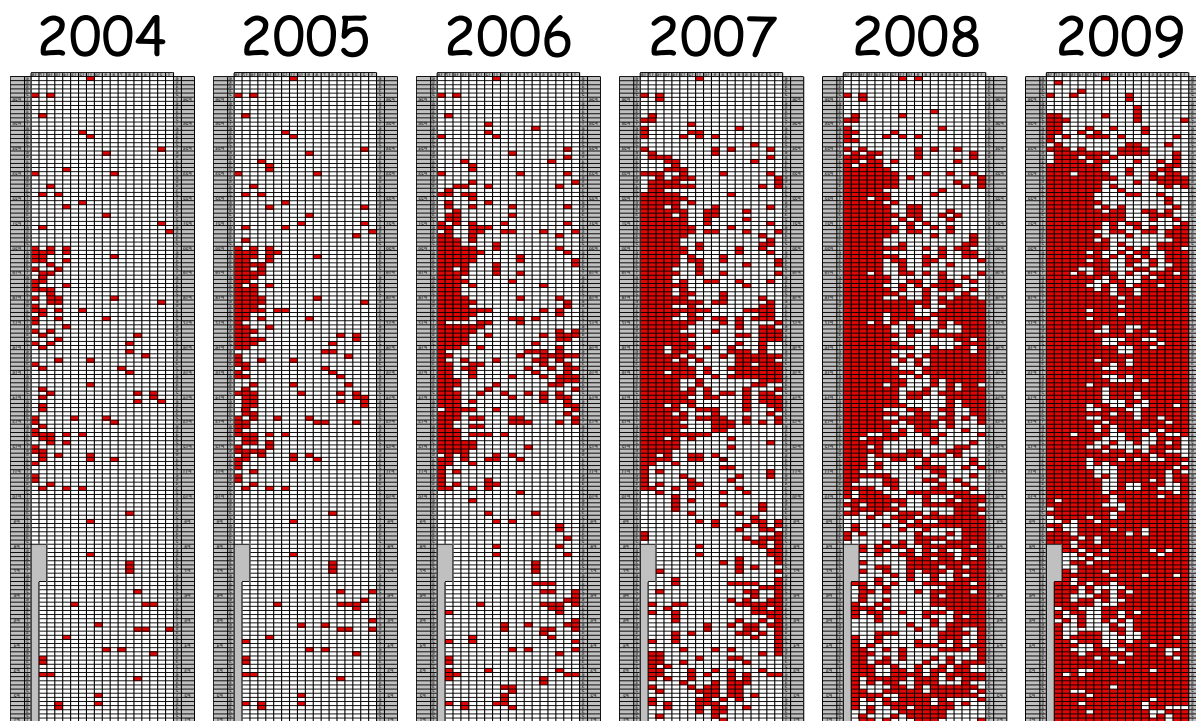


## Enroulement / Blattrollkrankheit



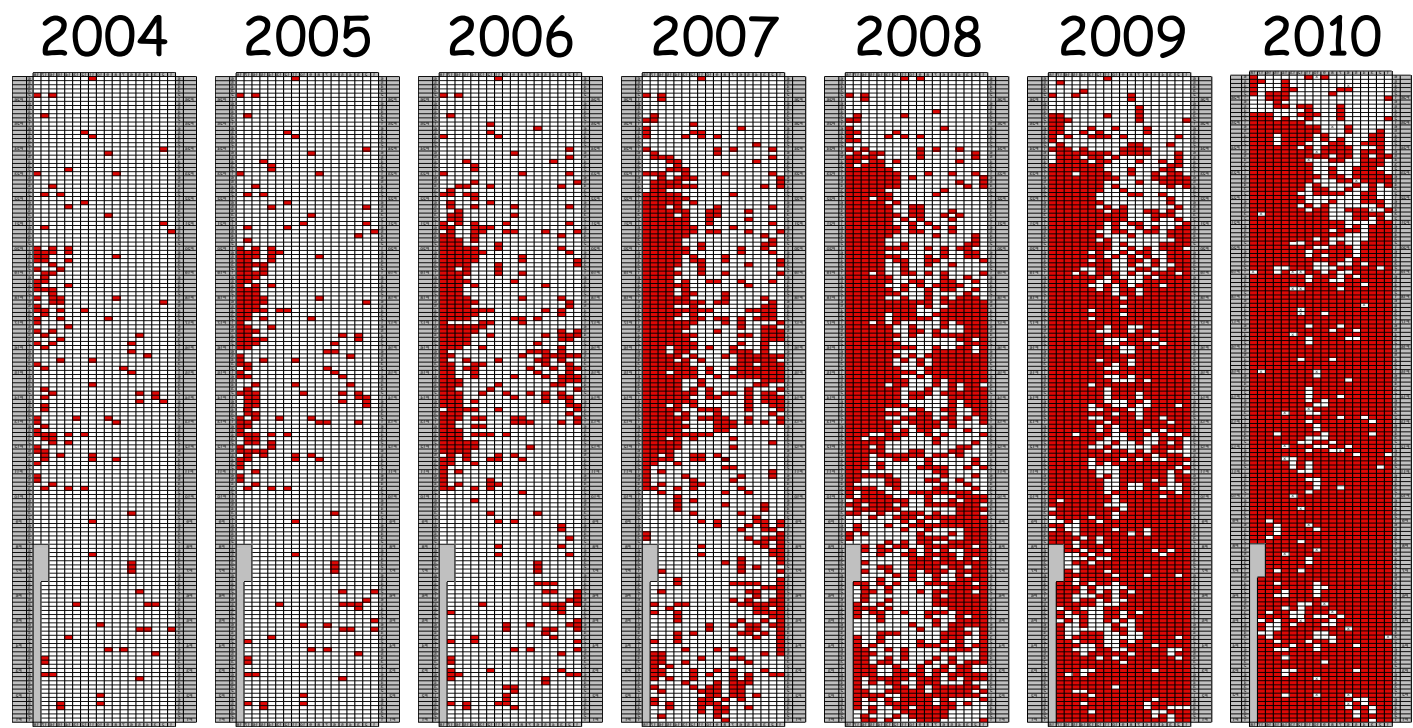
Natürliche Ausbreitung von GLRaV-1 im Weinberg (Le Maguet et al., 2012)

## Enroulement / Blattrollkrankheit



Natürliche Ausbreitung von GLRaV-1 im Weinberg (Le Maguet et al., 2012)

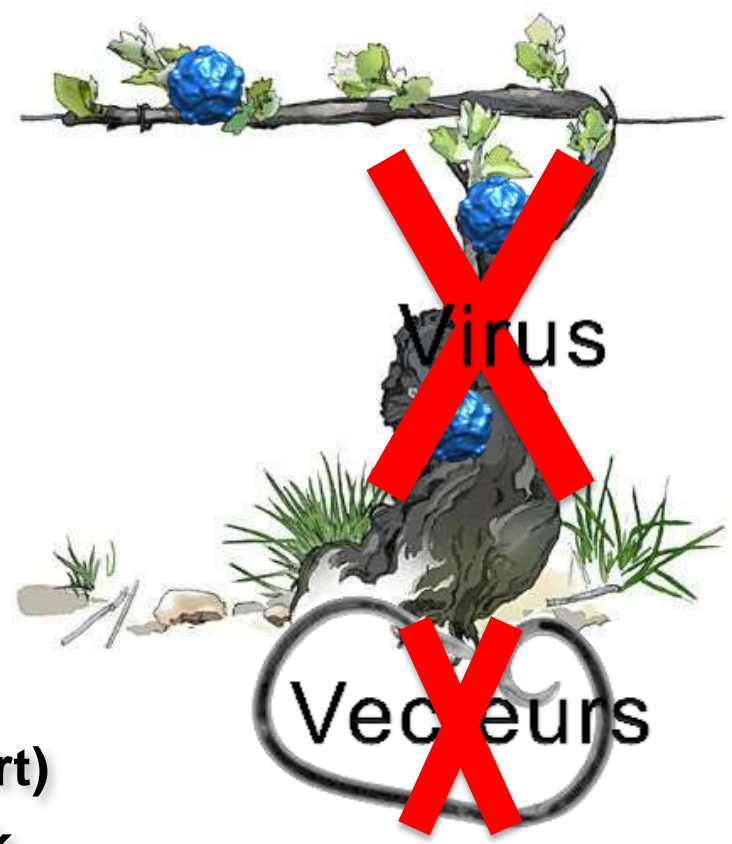
## Enroulement / Blattrollkrankheit



Natürliche Ausbreitung von GLRaV-1 im Weinberg (Le Maguet et al., 2012)



## Vorbeugende Maßnahmen!



- ➔ **Gesundes Material (zertifiziert)**
- ➔ **Virenerkennung = Diagnostik**

Symptomatisch



Indexierung



Diagnostik

Serologisch

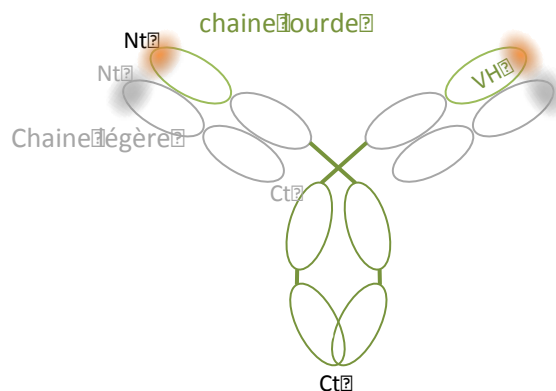
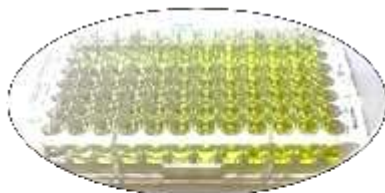


Molekular





Serologisch



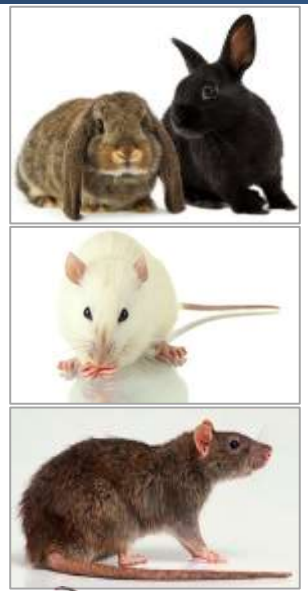
Antikörper  
konventionell



ELISA



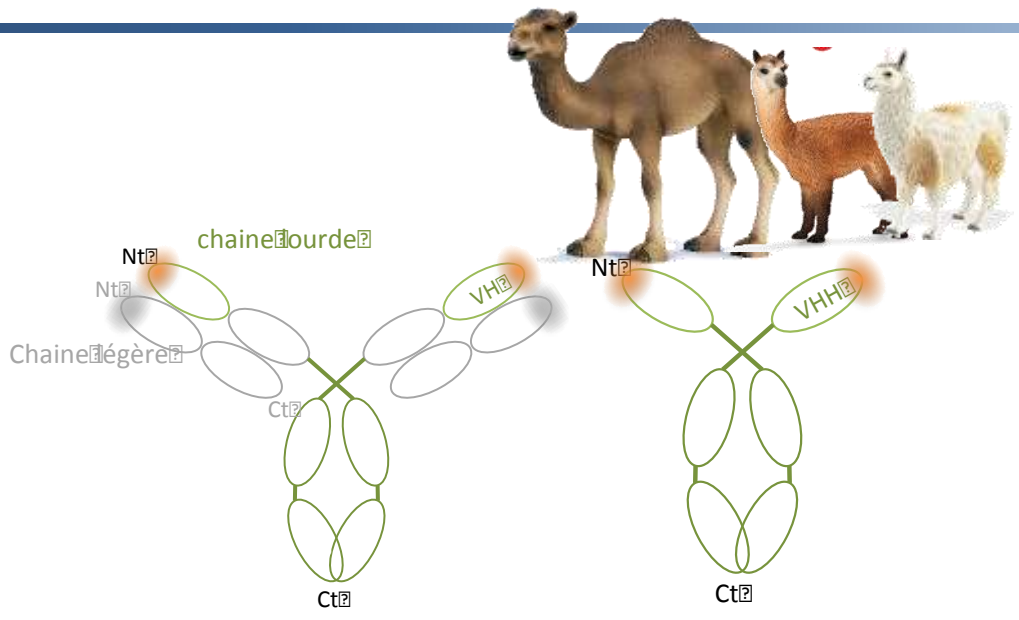
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- UNI FREIBURG
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- Agro science
- Julius Kühn-Institut Federal Research Institute for Cultivated Plants
- UNIVERSITÄT KOBLENZ-LANDAU
- CNRS
- UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE
- INRA SCIENCE & IMPACT
- SNi SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Serologisch



ELISA



Antikörper konventionell

Antikörper von Kameliden



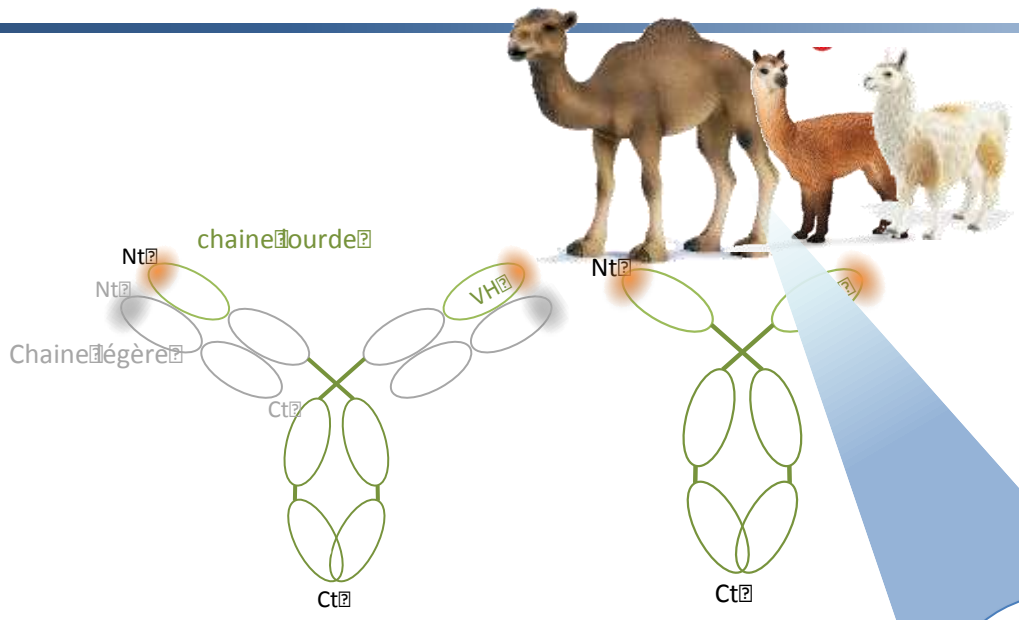
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- UNI FREIBURG
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- Agro science
- Johann Keulemans-Institut für Weinbau & Obstbau in der Südpfalz
- UNIVERSITÄT KOBLENZ-LANDAU
- CNR
- UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE
- INRA SCIENCE & IMPACT
- SNi SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Serologisch



ELISA



Antikörper konventionell

Antikörper von Kameliden



Nanobody®

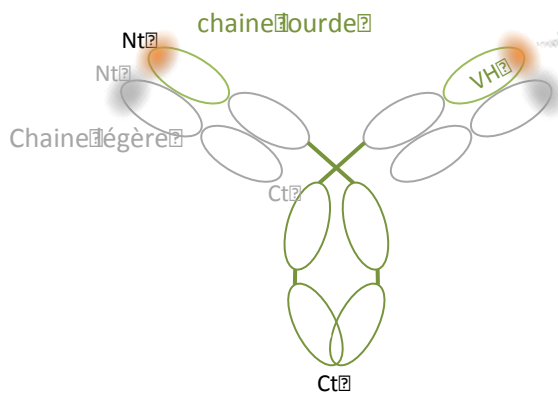
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- 
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- 
- Johann Kühn-Institut Federal Research Centre for Cultivated Plants
- 
- 
- 
- SCIENCE & IMPACT
- SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Serologisch



ELISA



Antikörper konventionell

Antikörper von Kameliden



Nanobody®



Dr. Christophe Debonneville





## Entwicklung eines DAS-ELISA zum Nachweis des Grapevine Pinot gris virus (GPGV)

Dr. Christophe Debonneville



- GPGV ist ein Trichovirus (family Betaflexiviridae), das 2012 entdeckt wurde (Giampetruzzi et al, 2012)
- Auswirkungen auf die Rebe noch unklar; der Zusammenhang zwischen Virusinfektion und Symptomerscheinung ist noch wenig charakterisiert
- Bestätigte Infektionen bei mindestens 28 Rebsorten
- Präsent in vielen Ländern Europas und Asiens sowie in Australien, Kanada und den USA

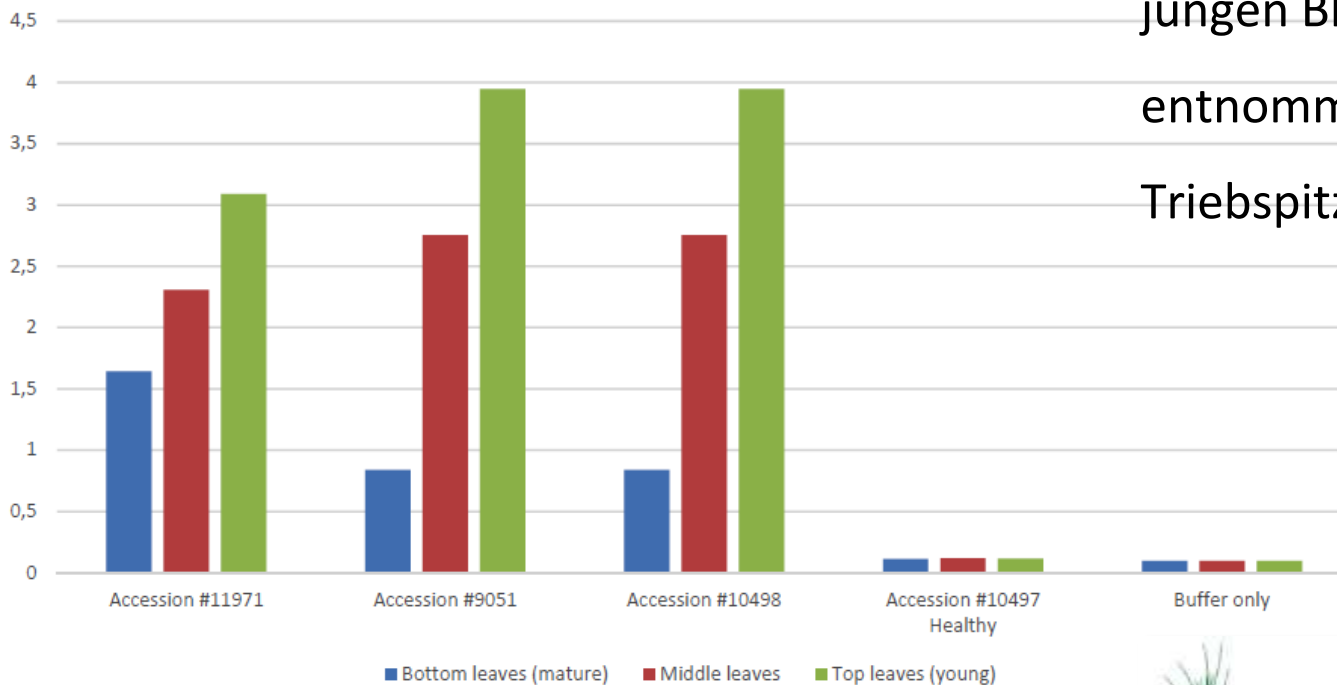
## Produktion von Antikörpern

- Ein rekombinantes Kapsidprotein wurde in E. coli Bakterien produziert und gereinigt
- Dieses Protein wurde verwendet, um polyklonale Antikörper herzustellen
- Mit diesen Antikörpern wurde ein DAS-ELISA-Test entwickelt



## Nachweis von GPGV in Blättern

GPGV ELISA (Leaves)



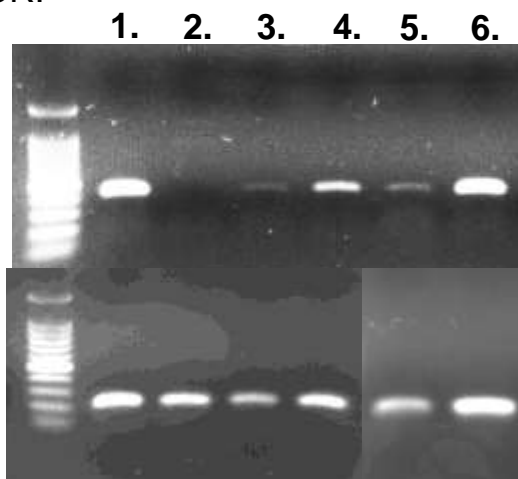
Bestes Signal mit jungen Blättern, entnommen an der Triebspitze

Jean-Sébastien Reynard, Agroscope, Suisse



## Vergleichsprüfung von GPGV: "Test Performance Study" mit Holzproben

RT-PCR:



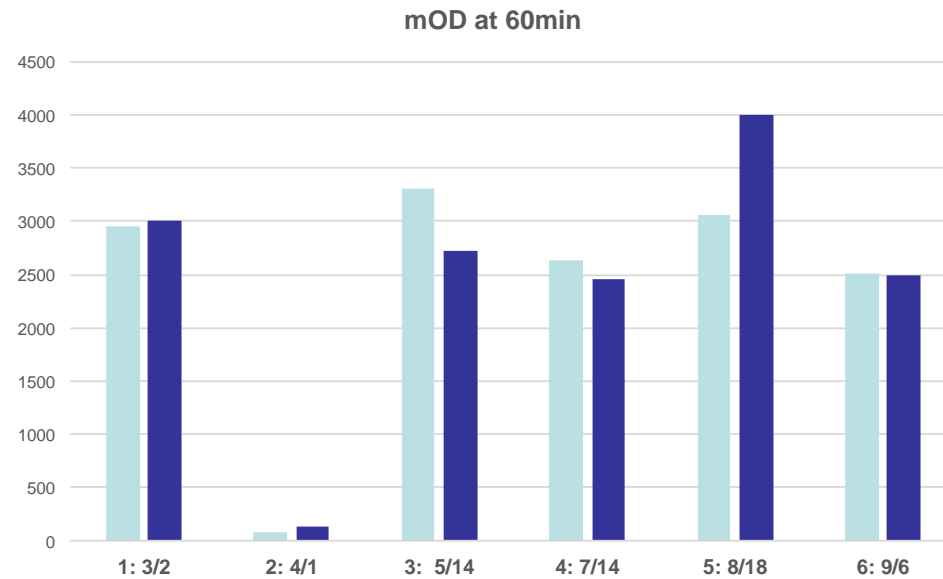
Primers:  
CP-F2/CP-R2  
Amplicon: 430bp

Primers:  
PAL (host gene)  
Amplicon: 197bp

DAS-ELISA:

Samples	OD at 60min
1. 3/2	3'000
2. 4/1	130
3. 5/14	2'720
4. 7/14	2'450
5. 8/18	4'000
6. 9/6	2'500
7. Healthy	100
8. Positive control	2'000

## Vergleichsprüfung von GPGV: “Test Performance Study” mit Holzproben



■ Résultats DLR Rheinpfalz  
■ Résultats BIOREBA



## Zusammenfassung:

DAS-ELISA GPGV:

- Das Virus kann in infiziertem Holz oder Blättern nachgewiesen werden
- Alle bisher getesteten Isolate (aus der Schweiz, Frankreich und Deutschland) werden nachgewiesen

Für eine zuverlässige Detektion ist die richtige Probenahme sehr wichtig. Geeignet ist:

- Ruhendes Holz im Winter
- Junge Blätter im Frühjahr



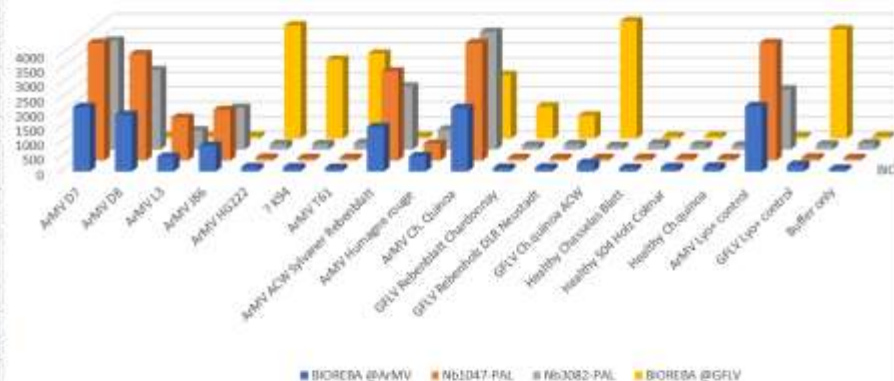


## Verwendung von «Nanobodies» in Diagnostik-Kits



## ArMV: polyklonale Antikörper, die als Konjugate verwendet werden: Ersatz durch «Nanobody» im Konjugat

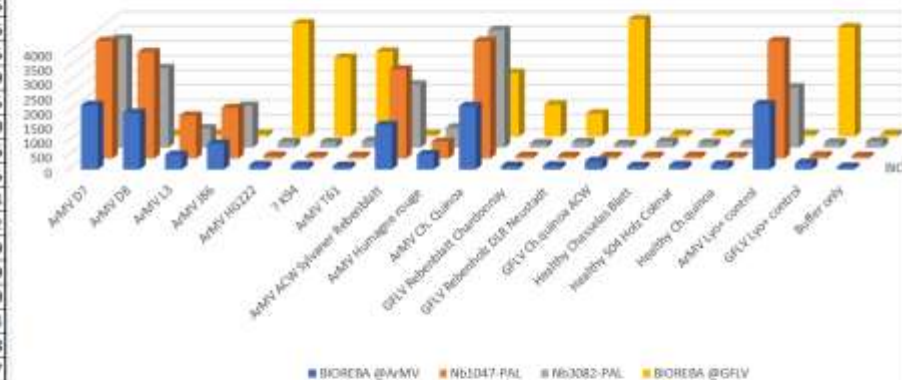
E 083-19	Ref.	Coating: BIOREBA ArMV		Ref.
		Nb1047-PAL	Nb3082-PAL	
mod @60min	BIOREBA @ArMV			BIOREBA @GFLV
1 ArMV D7	2194	4000	3708	85
2 ArMV D8	1927	3619	2704	86
3 ArMV L3	500	1463	658	85
4 ArMV J86	885	1723	1421	89
5 ArMV HG222	150	97	194	3855
6 ? K94	143	87	191	2690
7 ArMV T61	128	96	229	2896
8 ArMV ACW Sylvaner Rebenblatt	1512	3030	2145	85
9 ArMV Humagne rouge	520	574	688	84
10 ArMV Ch. Quinoa	2159	4000	4000	2172
11 GFLV Rebenblatt Chardonnay	129	90	148	1089
12 GFLV Rebenholz DLR Neustadt	137	91	187	789
13 GFLV Ch.quinoa ACW	288	90	128	4000
14 Healthy Chasselas Blatt	121	97	212	84
15 Healthy S04 Holz Colmar	150	93	158	88
16 Healthy Ch.quinoa	168	88	149	87
17 ArMV Lyo+ control	2220	4000	2054	83
18 GFLV Lyo+ control	227	105	171	3722
19 Buffer only	91	87	210	86





## ArMV: polyklonale Antikörper, die als Konjugate verwendet werden: Ersatz durch «Nanobody» im Konjugat

E 083-19	Ref.	Coating: BIOREBA ArMV		Ref.
		Nb1047-PAL	Nb3082-PAL	
mOD @60min	BIOREBA @ArMV			BIOREBA @GFLV
1 ArMV D7	2194	4000	3708	85
2 ArMV D8	1927	3619	2704	86
3 ArMV L3	500	1463	658	85
4 ArMV J86	885	1723	1421	89
5 ArMV HG222	150	97	194	3855
6 ? K94	143	87	191	2690
7 ArMV T61	128	96	229	2896
8 ArMV ACW Sylvaner Rebenblatt	1512	3030	2145	85
9 ArMV Humagne rouge	520	574	688	84
10 ArMV Ch. Quinoa	2159	4000	4000	2172
11 GFLV Rebenblatt Chardonnay	129	90	148	1089
12 GFLV Rebenholz DLR Neustadt	137	91	187	789
13 GFLV Ch.quinoa ACW	288	90	128	4000
14 Healthy Chasselas Blatt	121	97	212	84
15 Healthy S04 Holz Colmar	150	93	158	88
16 Healthy Ch.quinoa	168	88	149	87
17 ArMV Lyo+ control	2220	4000	2054	83
18 GFLV Lyo+ control	227	10	171	3722
19 Buffer only	91	8	210	86



## ArMV: polyklonale Antikörper, die als Konjugate verwendet werden: Ersatz durch «Nanobody» im Konjugat

### Wichtige Kriterien:

- Spezifität
- Sensitivität
- Hintergrundrauschen
- Konjugatsstabilität: mindestens 2 Jahre bei 4°C

OD @ 60min	Coating: BIOREBA Conjugate: BIOREBA	Coating: BIOREBA Conjugate: Nb1047-PAL 1:2000
ArMV B813	1029	2070
ArMV C1200	1599	3038
ArMV D7	1991	4000
ArMV D8	1846	3652
ArMV H133	1074	1965
ArMV H138	536	898
ArMV HG222	128	89
ArMV J86	555	989
? K94	134	88
ArMV L3	499	1618
ArMV L5	1626	3921
ArMV N37	1859	3844
ArMV N152	838	2643
ArMV P116	2510	4000
ArMV P118	2384	4000
ArMV P119	2642	4000
ArMV P120	2345	4000
ArMV T61	120	92

## ArMV: polyklonale Antikörper, die als Konjugate verwendet werden: Ersatz durch «Nanobody» im Konjugat

-Spezifität



- Sensitivität



- Hintergrundrauschen



- Konjugatsstabilität: mindestens 2 Jahre bei 4°C



**Vorteile:**

**Einfache Produktion (aus Bakterien)**

**Keine Markierung mehr erforderlich (der "Nanobody" ist direkt an die alkalische Phosphatase gekoppelt)**

**Konstante Qualität**

## RpRSV-g: Detektionsspektrum optimiert durch Zugabe eines "Nanobody"

Results ELISA E 054-19 (RpRSV Nanobodies)

	RpRSV-g: E 054-19 OD at 60min	Coat: BIOREBA Conj: BIOREBA	Coat: BIOREBA Conj: Nb3.23-PAL (batch 001; 0.51mg/ml) 1:1000	Coat: BIOREBA Conj: Nb3.31-PAL (batch 001; 0.62mg/ml) 1:1000	Coat: BIOREBA Conj: Nb3.35-PAL (batch 001; 0.44mg/ml) 1:1000	Coat: BIOREBA Conj: Nb4.17-PAL (batch 001; 0.51mg/ml) 1:1000	Coat: BIOREBA Conj: Nb4.22-PAL (batch 001; 0.55mg/ml) 1:1000
1	RpRSV-g #815 Quinoa 18.05.2004 (2-B24)	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
2	RpRSV-g Rebe ACW 27.08.2013 (2-B24)	1558	2474	2045	2627	2514	2328
3	RpRSV-g Rebe ACW 16.06.2015 (2-B24)	1773	2949	2379	3078	3169	2553
4	RpRSV-g T82 Rebenblatt Colmar 15.06.2017 (TKS8/FCS)	113	382	351	80	92	78
5	RpRSV-g T82 Rebenholz Colmar fresh	124	906	1043	79	85	79
6	RpRSV-ch cherry leaf ACW 30.05.2018 (3-B23)	105	143	91	79	85	79
7	RpRSV-ch Himbeere 05.06.2013 (3-B31)	94	107	87	82	88	81
8	RpRSV-ch Sylvaner 4/3/1 Neustadt 21.08.2013 (3-B31)	92	88	81	78	82	78
9	RpRSV-ch #1367 Quinoa 12.05.2015 (3-B23)	103	97	81	81	85	79
10	RpRSV-ch #1300 Quinoa 21.07.2015 (3-B23)	92	94	81	80	83	79
11	Healthy Pinot noir wood 17.10.2018	97	93	84	81	88	81
12	Healthy Quinoa 30.08.2001	93	83	79	80	84	77
13	Lyo+ RpRSV-ch #224026	93	92	78	79	83	80
14	Lyo+ RpRSV-g #253947	3318	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
15	Buffer only	96	91	84	80	83	82
16	Buffer only	92	86	81	78	79	78



## RpRSV-g: Detektionsspektrum optimiert durch Zugabe eines "Nanobody"

- RpRSV-g (T82) Isolat aus Comar wird von unserem aktuellen Produkt nicht erkannt
- Der Ersatz des Konjugats durch einen "Nanobody"-AP ermöglicht den Nachweis des T82-Isolats
- Fazit: die Kombination von polyklonalen, monoklonalen und auf Nanobodies basierenden Antikörpern führt zum Erfolg. Die Vorteile der verschiedenen Antikörper können genutzt werden zur Optimierung/Entwicklung von diagnostischen Tests.

## Verbreitung von GFLV, ArMV, GPGV und GLRaV1 in oberrheinischen Weinbergen

Patricia Bohnert

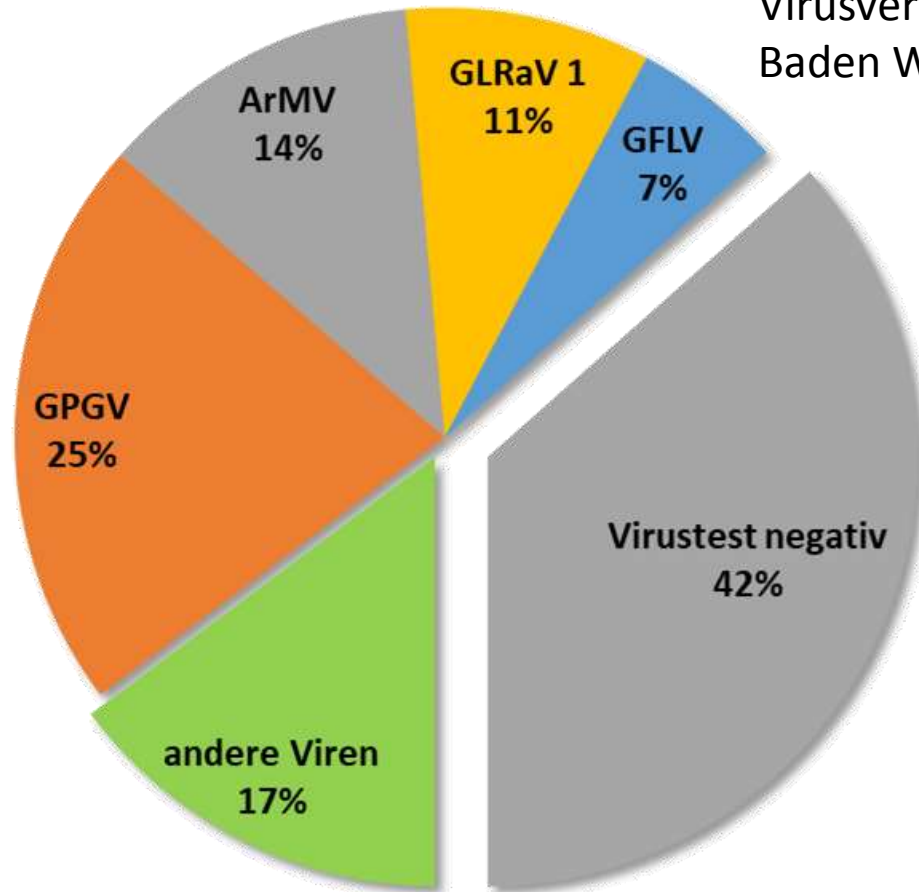


Noemi Meßmer



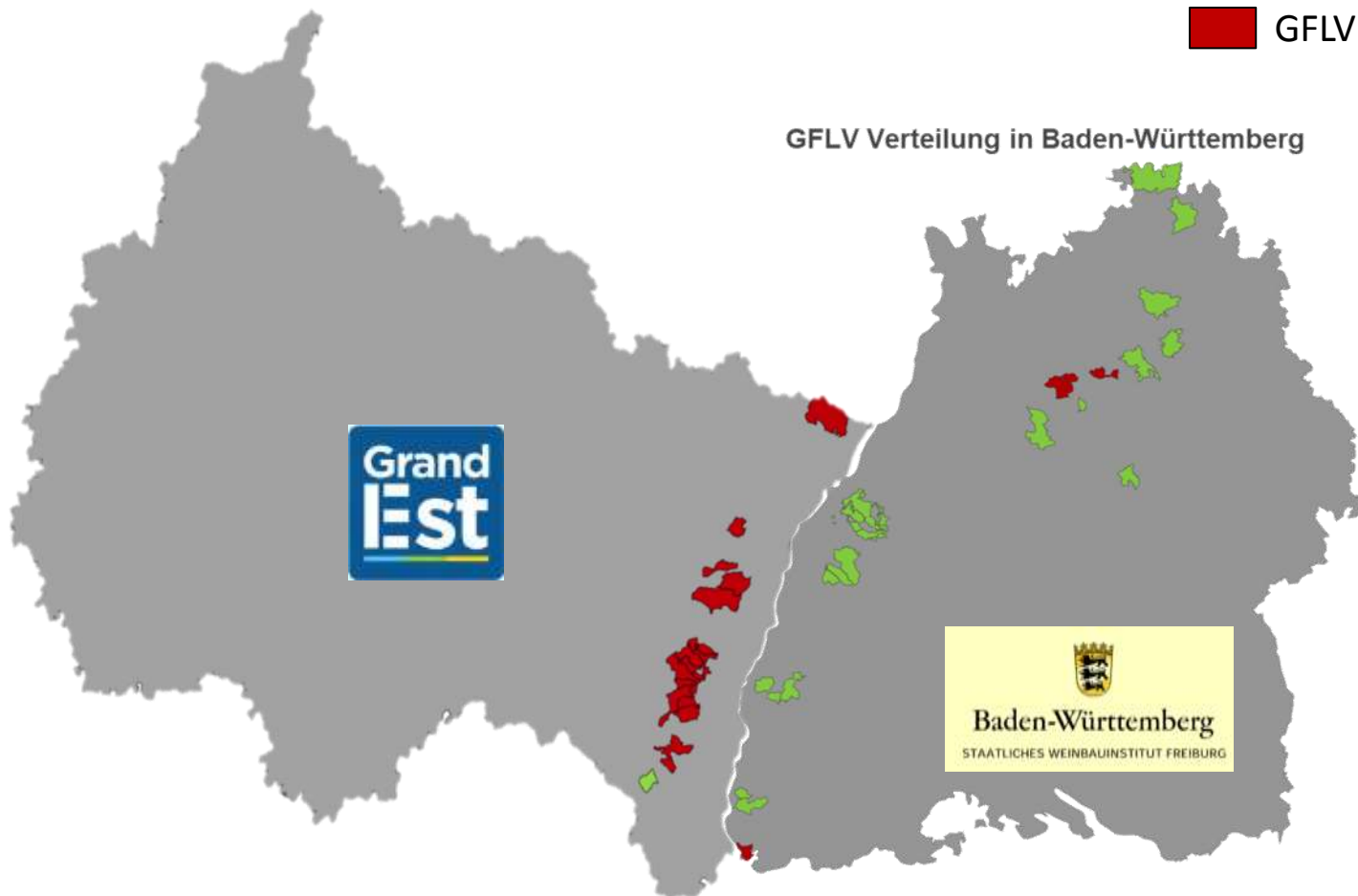
## Verbreitung/Verteilung Baden Württemberg

### Virusverteilung in auffälligen Flächen in Baden Württemberg



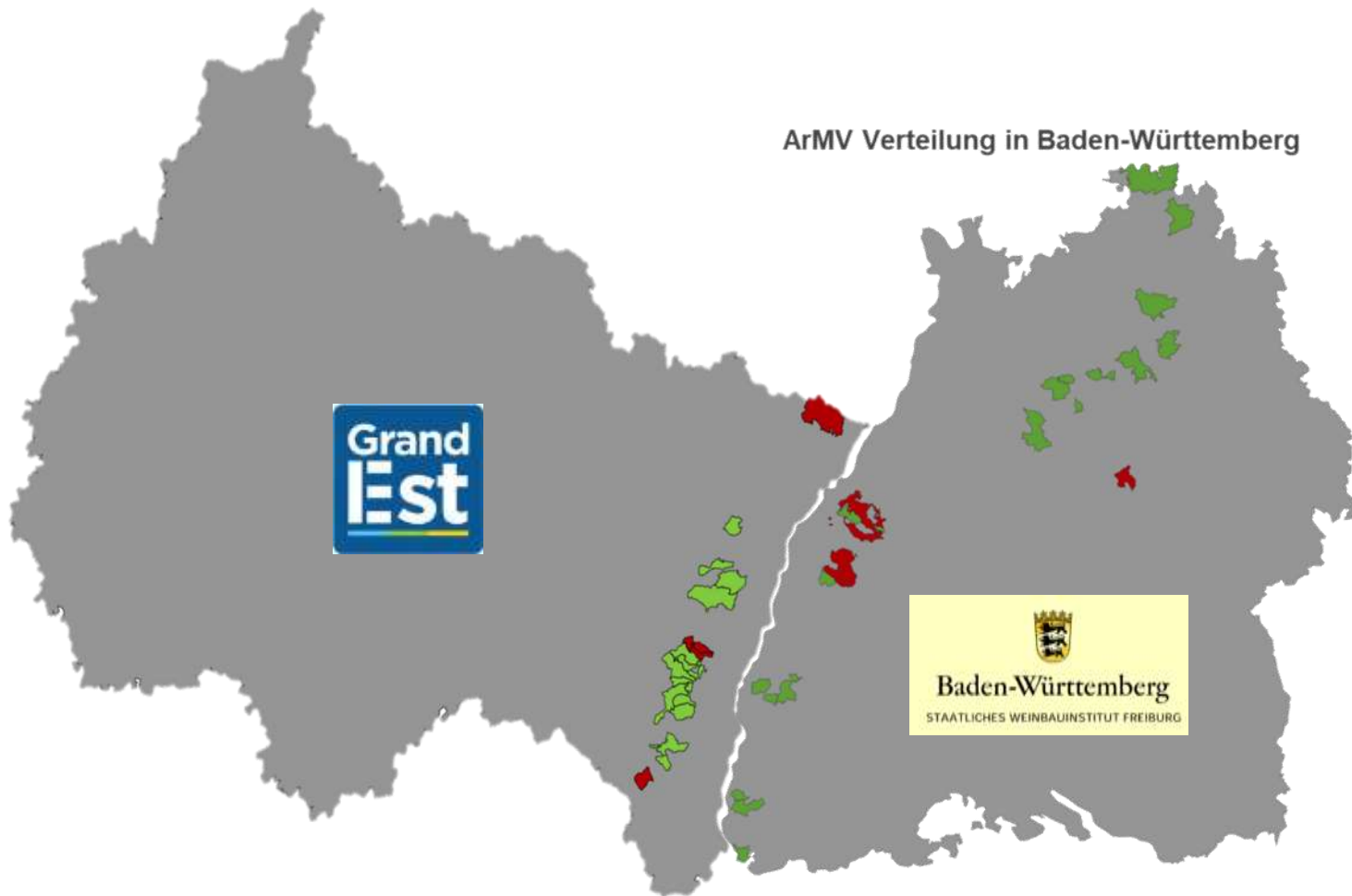
27 Orte  
80 Flächen  
654 Stöcke

GFLV negativ  
 GFLV positiv





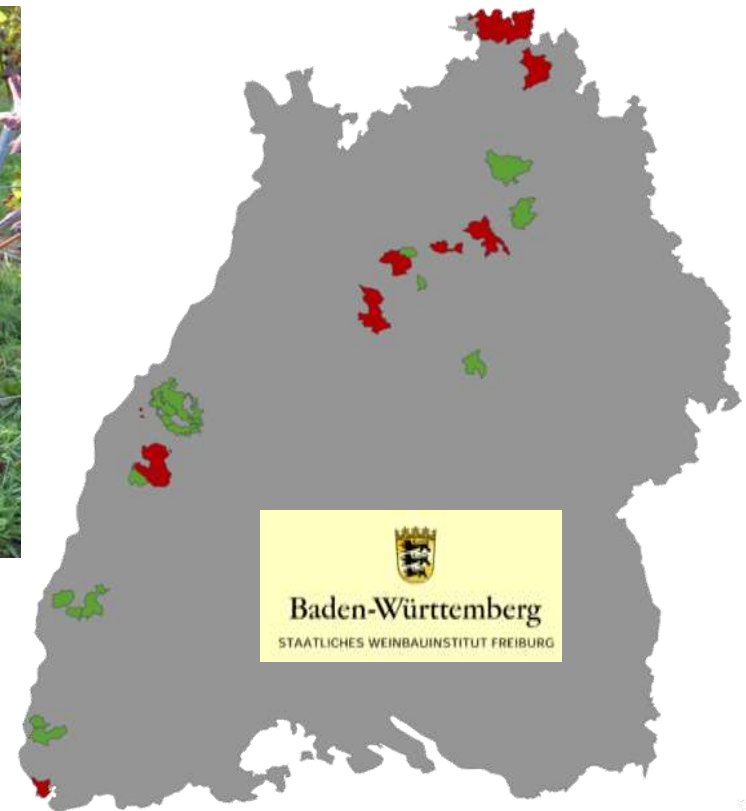
ArMV negativ  
 ArMV positiv



## GLRaV-1 Verteilung in Baden-Württemberg

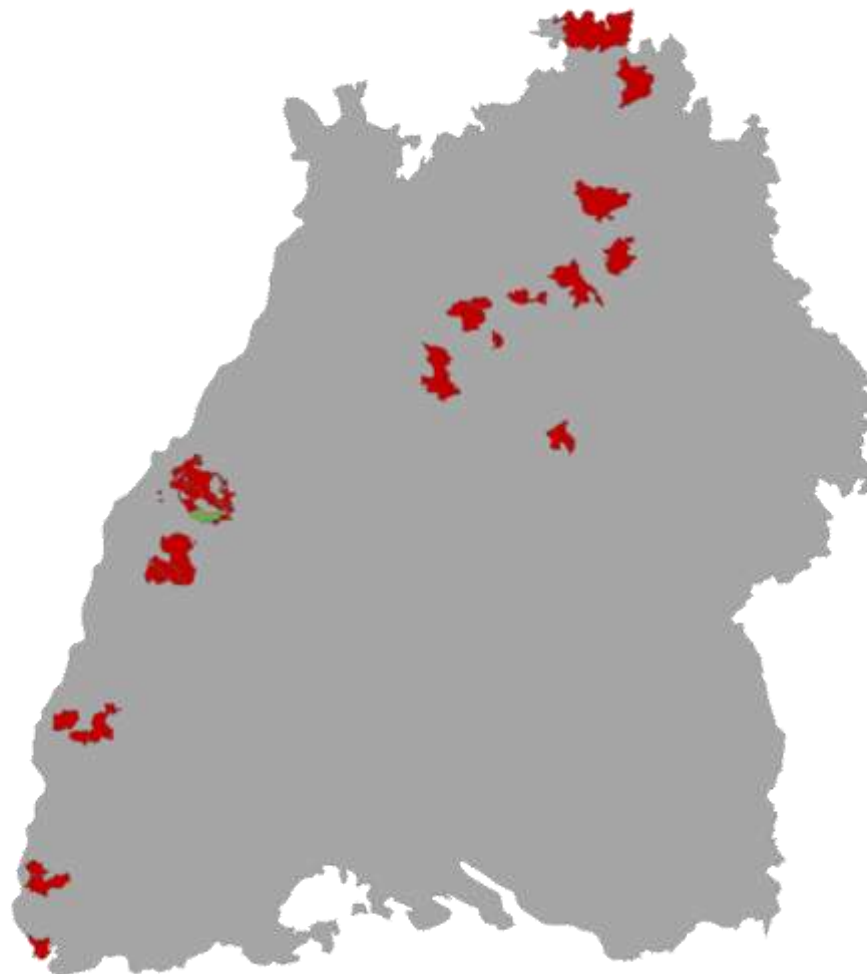
GLRaV 1 negativ  
 GLRaV 1 positiv

Kartierung auffälliger Flächen in 2018





## GPGV Verteilung in Baden-Württemberg



- GPGV negativ
- GPGV positiv



## Versuchsaufbau

**Standort: Weinstadt**

*alle Riesling Pflanzen sind bis 2019 gesund*

Durchgang			Riesling 5BB						Riesling 5BB		Riesling 5BB		Riesling 5BB			Durchgang	
	oben																
Stock 6	positiv	1 negativ	positiv	1 negativ	positiv	positiv	1 tot	positiv	1 tot	1 tot	positiv	positiv	positiv	positiv	1 tot	1 tot	positiv
Stock 5																	
Stock 4																	
Stock 3																	
Stock 2																	
Stock 1	Merlot SO4	Muskateller SO4	Muskateller 5BB	Weißburgunder SO4	Weißburgunder 5BB	Trollinger SO4	Trollinger 5BB	Lemberger Binova	Lemberger 5BB	Spätburgunder SO4	Spätburgunder 5BB	Spätburgunder SO4	Lemberger Binova	Trollinger SO4	Weißburgunder SO4	Muskateller SO4	Cab. Sauvignon SO4
Reihe	1	2	3	4	5	6	Riesling 5BB	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Wasserstaffel rechts																

Alle Riesling Pflanzen sind bis 2019 gesund



## Fanleaf Übertragungsversuch in Weinstadt

St.	2014 Pflanzjahr																	2015 1. Standjahr																	2016																	
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
	<b>102 Stöcke gesund</b>																	<b>102 Stöcke gesund</b>																	<b>49 Stöcke Fanleaf krank, 48% krank</b>																	

St.	2017																	2018																	2019																	
1	+	+	-	+	-	+	+	+	T	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	T	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	T	+	+	+	+	+		
2	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	-	+	+	+	+	T	T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	T	T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	T	T	+	+	+	+	+	
5	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6	+	+	+	-	+	+	+	T	-	+	+	+	+	T	T	+	+	+	+	-	+	+	+	+	T	+	+	+	+	T	T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	T	+	+	+	+	+	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
	<b>78 Stöcke Fanleaf krank, 76% krank</b>																	<b>80 Stöcke Fanleaf krank, 78% krank</b>																	<b>99 Stöcke Fanleaf krank, 97% krank</b>																	
	6 Stöcke abgestorben																	6 Stöcke abgestorben																	6 Stöcke abgestorben																	
	18 Stöcke gesund																	16 Stöcke gesund																	2 Stöcke gesund																	

Kooperation mit LVWO Weinsberg und Rebenveredelung Wahler, Weinstadt

## Weinstadt 2019



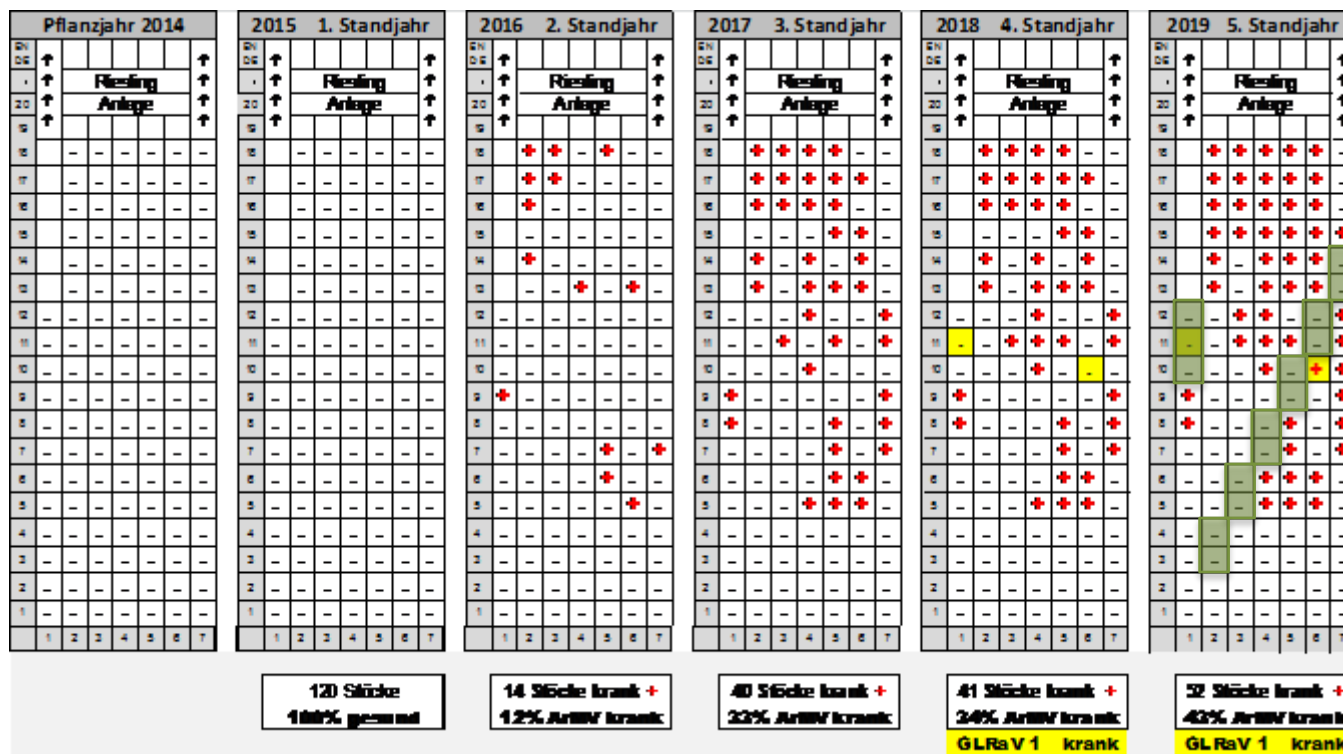


## Weinstadt 2018



## Übertragungsversuch ArMV

## Riesling



Ortenau 2014 - 2019

Zusammenarbeit mit Herr Männle, Oberkircher Winzer eG, Oberkirch



## Ortenau 2019



## Fazit: Sonderfall Riesling?

- Weinstadt und Ortenau: kein infizierter Stock
- Test am Edelreis! Infektion der Unterlage wahrscheinlich
- Wenn Unterlage infiziert: warum kein Übergang ins Edelreis?

## Gérard Demangeat: Methoden der Resistenzbewertung und Perspektiven





Das Virus wird beim Saugvorgang von Nematoden auf die Wurzel übertragen

Nahrungsaufnahme  
= Gallenbildung

Überleben der  
Nematoden  
Viruspersistenz } >4 Jahre

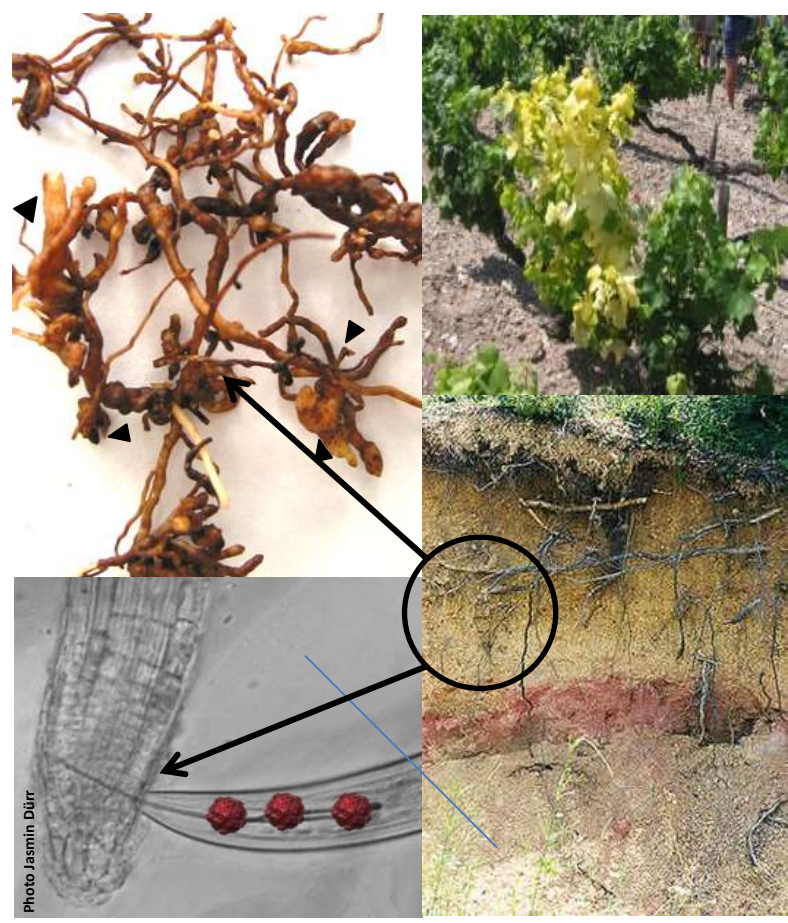


Photo Jasmin Dürr





Glyphosat Behandlung



Sanitäre Selektion



Aufreißen gefolgt von Brache >7 Jahre



Verkürzt durch den Einsatz von Pflanzen mit antagonistischer Wirkung

**Keine nachhaltige Lösung !**

## Resistenz gegen Nematoden !



Beständig gegen Virusübertragung



Unterlage  
Nemadex AB

Toleranz für  
Reisigkrankheit  
Geringe  
agronomische  
Qualität

## Resistenz gegen Virus !

Veredlung

>700 Zugänge  
getestet !



Keine Resistenz  
gefunden!

⇒ Übertragung des Virus durch Nematoden: Resistenz-Suche gegen die Reisigkrankheit!



# Herstellung von virulentem *X. index* Inokulum in Gewächshäusern

80 m<sup>2</sup> Gewächshaus unter kontrollierten Bedingungen



Vermehrung von Nematoden an Feigenbäumen



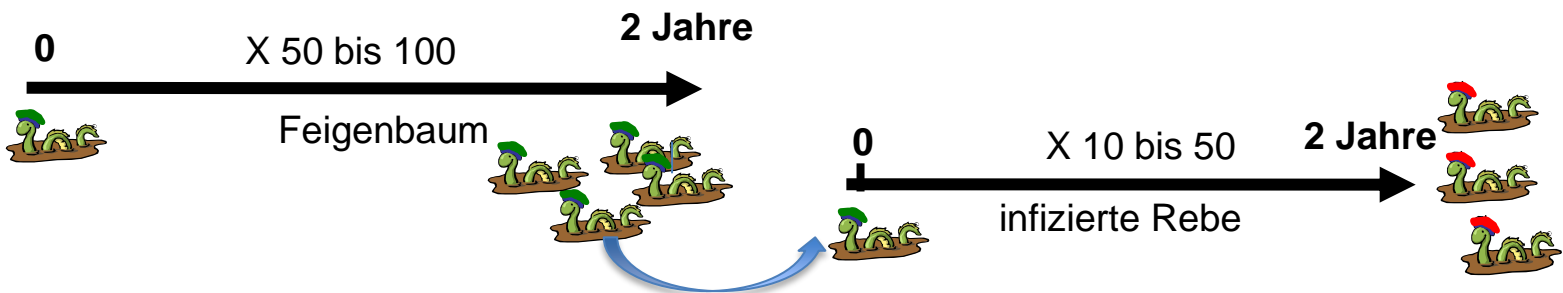
Vermehrung von virusinfizierten Nematoden



Virus frei



mit Virus





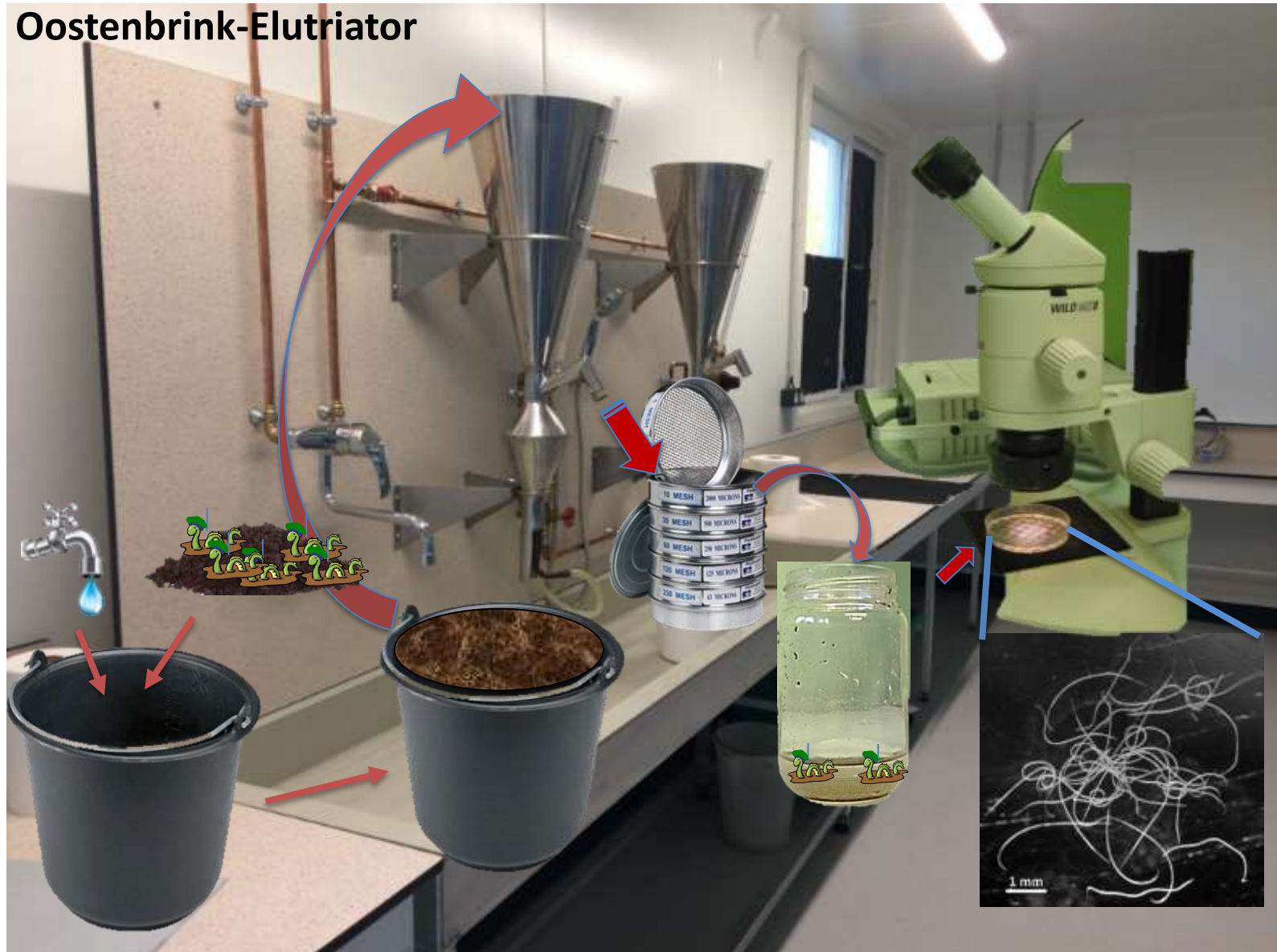


## Oostenbrink-Elutriator





## Oostenbrink-Elutriator



STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG  
 UNI FREIBURG  
 KIT  
 Karlsruher Institut für Technologie  
 Rheinland-Pfalz  
 DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ  
 Agro science  
 JKI  
 Julius Kühn-Institut  
 Federal Research Centre for Cultivated Plants  
 UNIVERSITÄT KOBLENZ-LANDAU  
 cnrs  
 UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE  
 INRA  
 SCIENCE & IMPACT  
 SNi  
 SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE

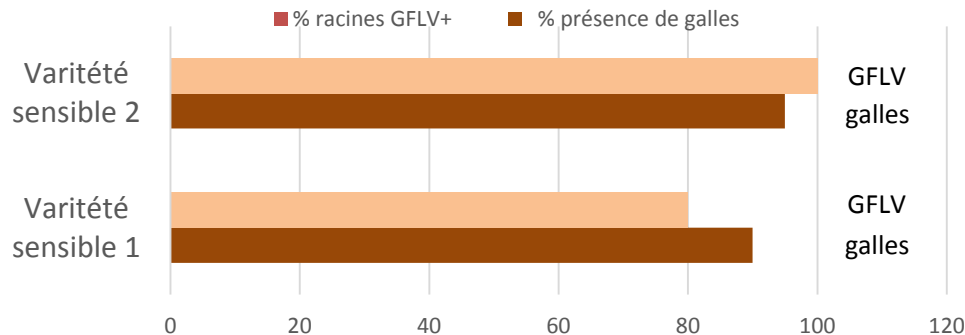
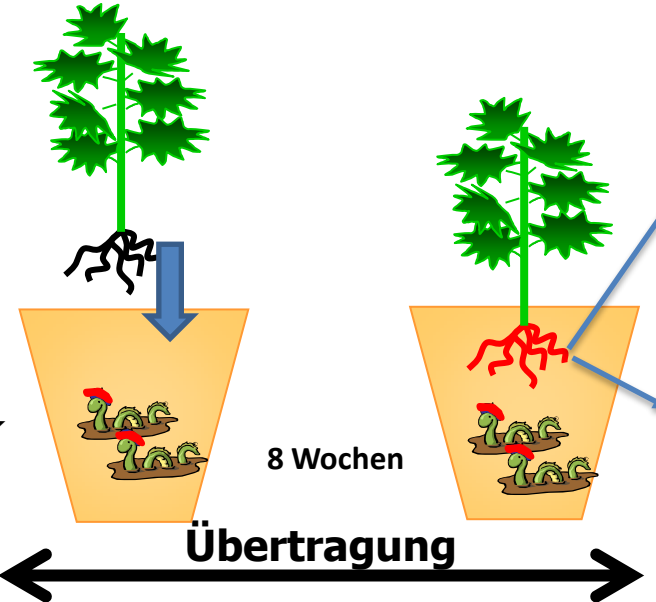


Nematoden mit Virus



200-250  
*X. index*

Rebe zum Prüfen

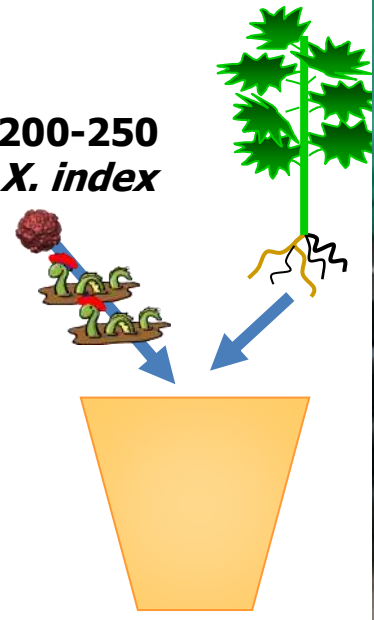


Virusübertragungsrate : 80-100%.



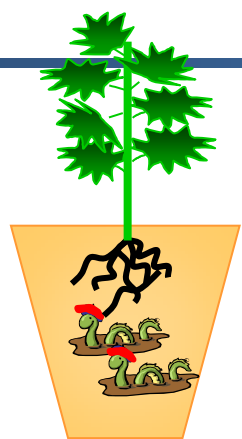
Rebschnitte  
zum Prüfen

200-250  
*X. index*

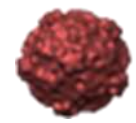




Nemadex AB

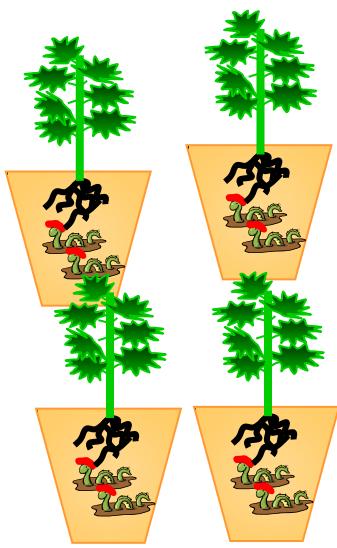


10 %



10 bis 30% GFLV

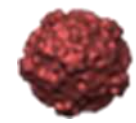
10 Sorten mit geringer Sensibilität für *Xiphinema index*



2 Sorten



10 %



0%

Zusammenarbeit : INRA Bordeaux und Sophia Antipolis



1. Verbesserung der agronomischen Qualitäten der Unterlage Nemadex AB  
 ⇒ Zusammenarbeit : INRA Bordeaux und Sophia Antipolis

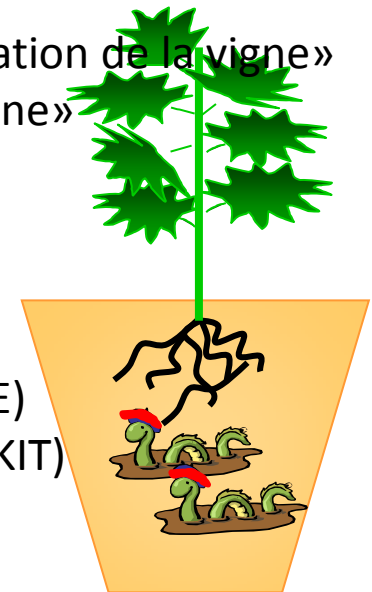
2. Resistenzen bei Anbausorten....

- in der Region Oberrhein (....., Riesling, Pinot Noir, ...)
- andere *Vitis Vinifera*...

- ⇒ Zusammenarbeit mit «Equipes Génétique et Amélioration de la vigne»  
 «Métabolisme Secondaire de la Vigne»

3. Untersuchung der Resistenz in *Vitis Sylvetris*  
 bisher unbekannt!

- ⇒ Zusammenarbeit mit Université de Haute Alsace (LVBE)  
 mit Karlsruhe Institut für Technologie (KIT)

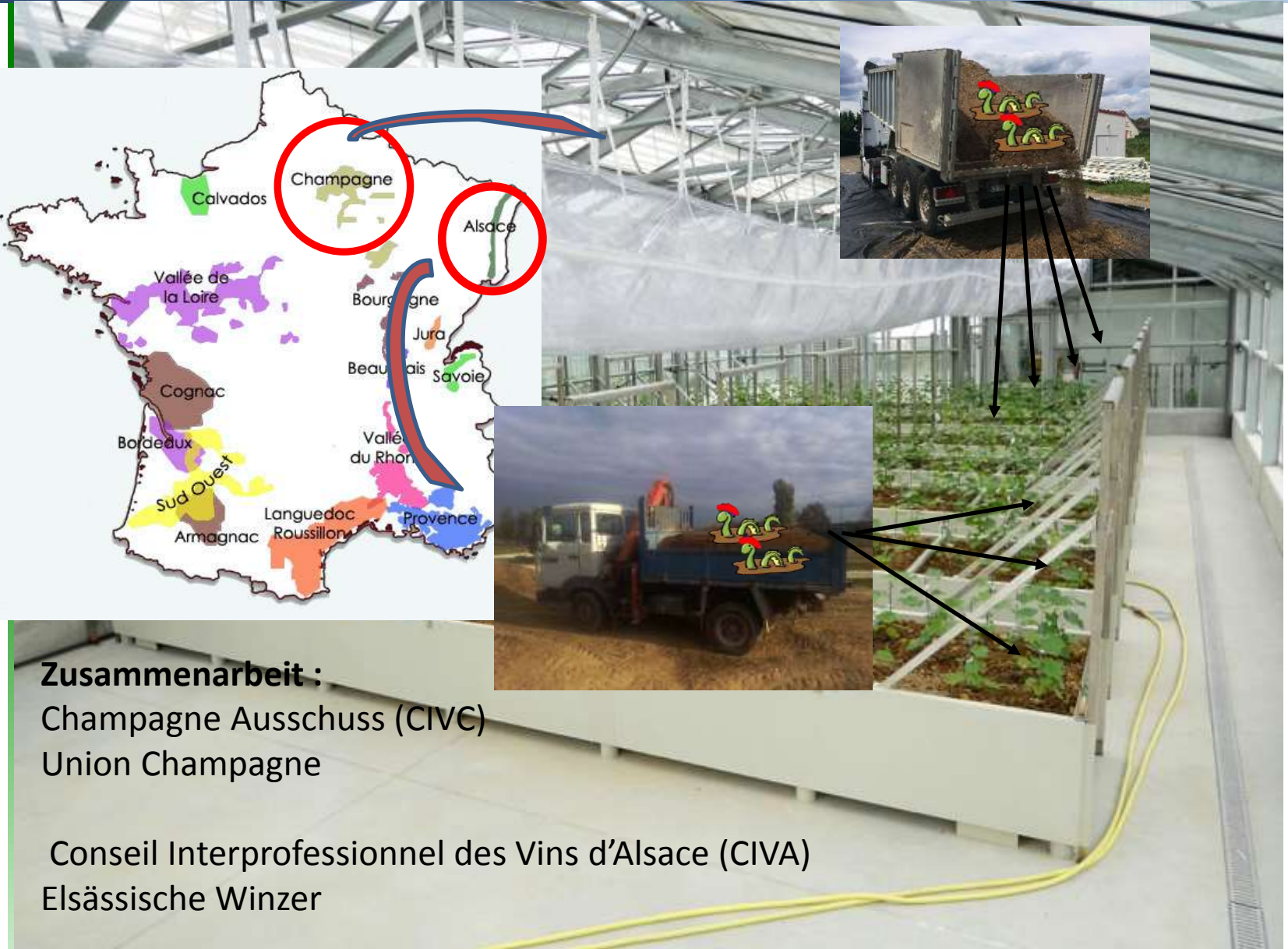




Seit Juli 2018

7 Container à 10m<sup>2</sup>





**Zusammenarbeit :**  
Champagne Ausschuss (CIVC)  
Union Champagne

Conseil Interprofessionnel des Vins d'Alsace (CIVA)  
Elsässische Winzer

# Phenotypisierungsmodule in geschlossener Umwelt



Kapazität: 1200 - 1300 Pflanzen

2 Pathosysteme



Elisa, Juli 2018

Terre d'Alsace

1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	
3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	

1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	
3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	

1	4	7	10	13	16	19	22	25	27a	30	33	36	39	42	45	48
2	5	8	11	14	17	20	23	26	28	31	34	37	40	43	46	49
3	6	9	12	15	18	21	24	27	29	32	35	38	41	44	47	

Terre de Champagne

1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	

1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	

1	4	7	10	13	16	19	22	25	27	30	33	36	39	42	45	48
2	5	8	11	14	17	20	23	26	28	31	34	37	40	43	46	49
3	6	9	12	15	18	21	24	26a	29	32	35	38	41	44	47	

1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	51

Elisa, September 2019

Terre d'Alsace

G	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	
F	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	
E	1	4	7	10	13	16	19	22	25	27a	30	33	36	39	42	45	48
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	28	31	34	37	40	43	46	49
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	29	32	35	38	41	44	47	

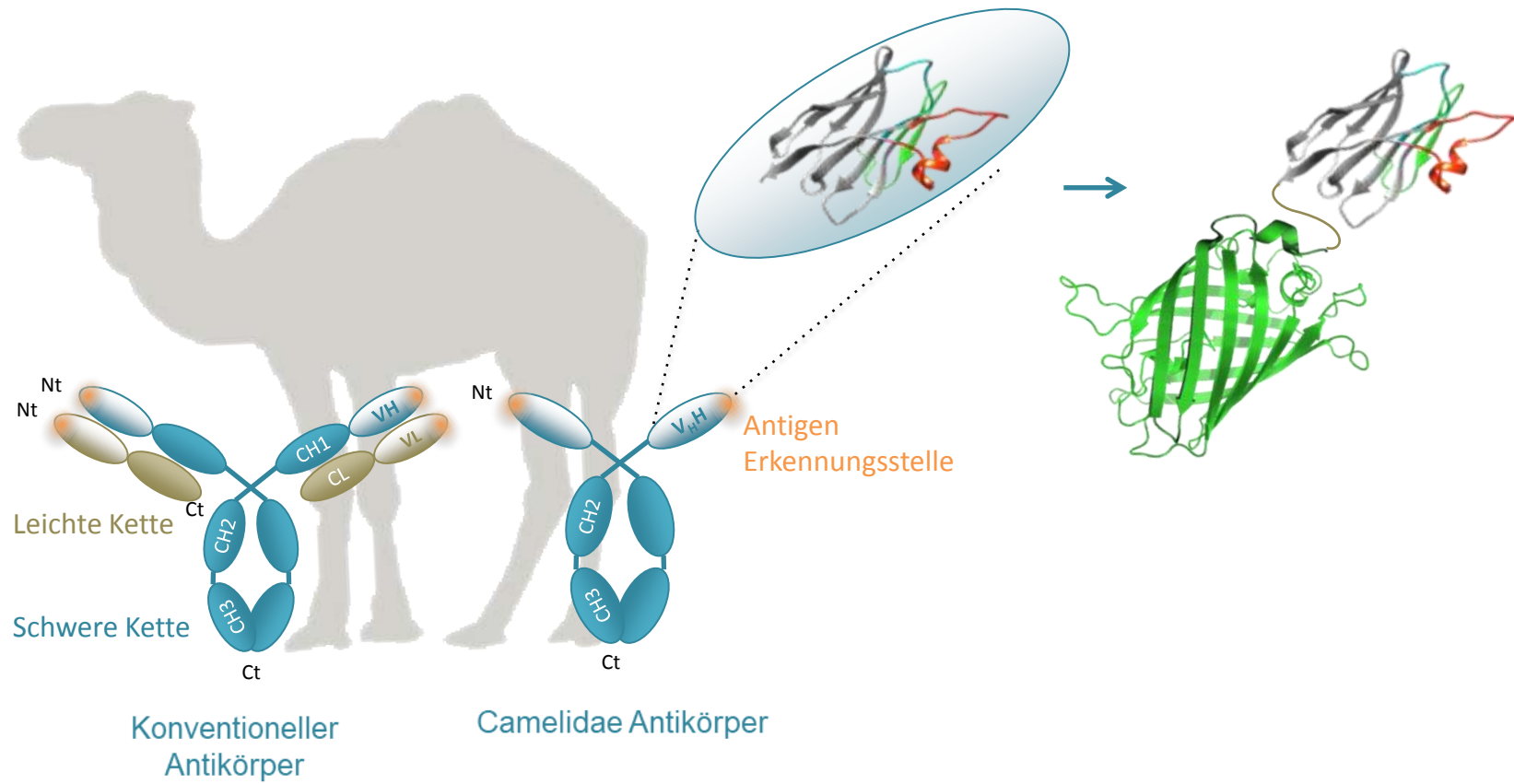
Terre de Champagne

D	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	
C	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	
B	1	4	7	10	13	16	19	22	25	27	30	33	36	39	42	45	48
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	28	31	34	37	40	43	46	49
	3	6	9	12	15	18	21	24	26a	29	32	35	38	41	44	47	
A	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	51

Antikörper von *Camelidae*

Nanobody

Chromobody

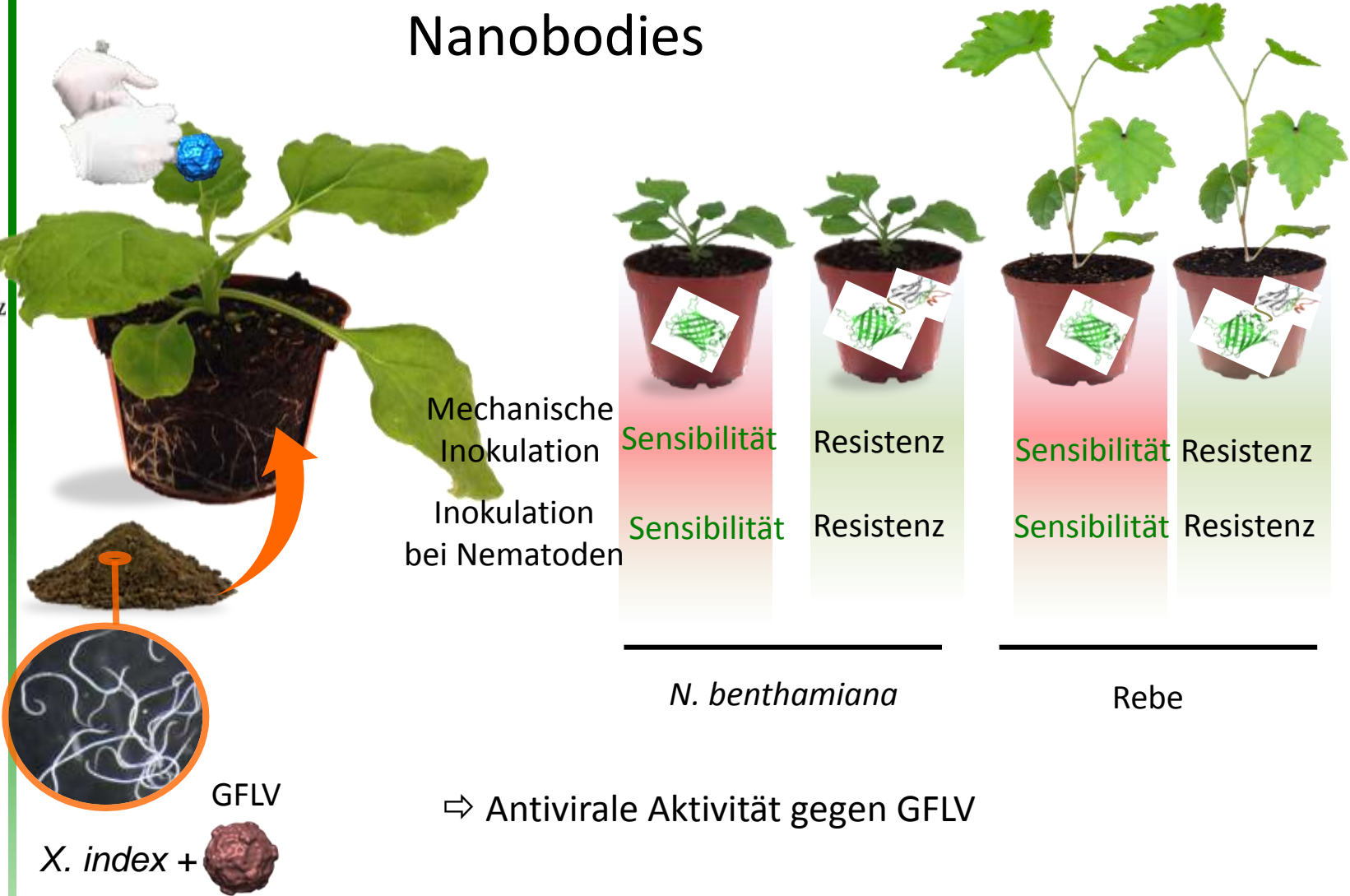


Konventioneller Antikörper

Camelidae Antikörper



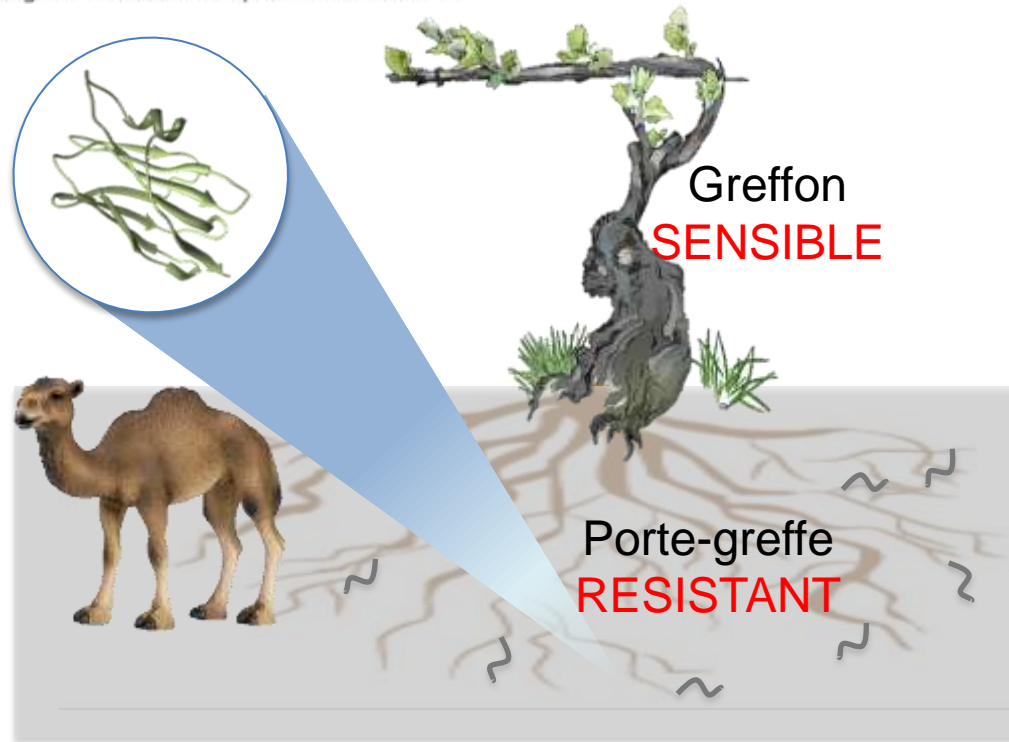
## Nanobodies





# Nanobody-mediated resistance to Grapevine fanleaf virus in plants

Caroline Hemmer<sup>1,2</sup>, Samia Djennane<sup>2</sup>, Léa Ackerer<sup>1,2,3</sup>, Kamal Hleibieh<sup>1</sup>, Aurélie Marmonier<sup>2</sup>, Sophie Gersch<sup>2</sup>, Shahinez Garcia<sup>2</sup>, Emmanuelle Vigne<sup>2</sup>, Véronique Komar<sup>2</sup>, Mireille Perrin<sup>2</sup>, Claude Gertz<sup>2</sup>, Lorène Belval<sup>2</sup>, François Berthold<sup>1</sup>, Baptiste Monsion<sup>1</sup>, Corinne Schmitt-Keichinger<sup>1</sup>, Olivier Lemaire<sup>2</sup>, Bernard Lorber<sup>4</sup>, Carlos Gutiérrez<sup>5</sup>, Serge Muyldermans<sup>6</sup>, Gérard Demangeat<sup>2,\*</sup> and Christophe Ritzenthaler<sup>1,\*</sup>



# Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

Zusätzliche Informationen:

[www.vitifutur.net](http://www.vitifutur.net) | <http://forum.vitifutur.net/>

*Der Oberrhein wächst zusammen, mit jedem Projekt.  
Dépasser les frontières, projet après projet.*

Europäischer Fonds für regionale Entwicklung (EFRE)  
Fonds européen de développement régional (FEDER)

