

## **Aktuelle Arbeiten zu Virosen an Forstgehölzen**

Bandte, M., Hahn, S., Rebentorf, K., Essing, M., Tarasevich, A., Büttner, C., Institut für Gartenbauwissenschaften der Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin

Die Forschungsarbeiten zu Virosen an Forstgehölzen konzentrieren sich am Fachgebiet Phytomedizin derzeit auf die nachfolgenden drei Komplexe: Untersuchungen zur Epidemiologie des Cherry leaf roll virus (CLRV) an Laubgehölzen und Stauden und Identifizierung beteiligter Genomabschnitte. Es wurden Untersuchungen zum Einfluss der Wirtspflanzenart und der geographischen auf die genetische Struktur des Cherry leaf roll virus (CLRV) durchgeführt. Das CLRV ist ein weltweit verbreitetes Virus, das eine Vielzahl an Laubgehölzen und Stauden infiziert. CLRV ist bislang das einzige Pflanzenvirus, das solch einen weiten Wirtspflanzenkreis an Gehölzen aufweist. In phylogenetische Analysen wurde gezeigt, dass sich ein Teilbereich der 3'UTR an die Wirtspflanze zu adaptieren scheint. So können 73 verschiedene CLRV-Isolate in 7 phylogenetische Gruppen unterschieden werden. Obgleich weitere experimentelle Arbeit offenbar erforderlich ist, diese Hypothesen völlig zu validieren, stellen die Ergebnisse dieser Arbeit zum ersten Mal einen starken Beweis für eine wirtsbasierende Selektion der Viruspopulation für ein samen- und pollenbürtiges Virus dar. Sie zeigen auch, dass die serologischen und molekularen Werkzeuge, die für diese Studie entwickelt werden, die nützliche Analyse der CLRV-Isolate in Kulturpflanzen und wilden Wirtspflanzenarten erlauben.

### **Untersuchungen an Stieleichen mit virusverdächtigen Symptomen**

Virusverdächtige Blattsymptome wie Mosaik, Scheckung und chlorotische Ringflecken werden seit Mitte der 60er Jahre an Stieleichen (*Quercus robur* L.) beobachtet. Die Symptomausprägung und Pfropfübertragbarkeit deuten auf eine Virusinfektion hin. Da es bisher noch nicht gelungen ist das putative Agens nachzuweisen, konzentrieren sich die aktuellen Arbeiten an Stieleichen auf die Isolierung und anschließende nähere Charakterisierung des Erregers.

Aus zwei Stieleichenblattproben mit chlorotischen Ringflecken gelang es, stäbchenförmige Viruspartikeln zu isolieren und auf die krautigen Indikatorpflanzen *Chenopodium quinoa* (Willd.), *Nicotiana benthamiana* (L.) und *Nicotiana clevelandii* (L.) zu übertragen. Mit Hilfe einer RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) und anschließender Klonierung

und Sequenzierung des PCR Produktes konnte nachgewiesen werden, dass es sich dabei um ein TMV und ein ToMV-Isolat handelt.

Aus Blättern, Rinde und Knospen virusinfizierter und symptomloser Stieleichen wurde Doppelstrang-(ds)RNA mit Doppelbanden der Größen 2,0/1,8 kb sowie 1,5/1,4 kb isoliert. Das Vorkommen dieser dsRNA unabhängig von der Symptomausprägung in allen untersuchten Pflanzen sowie die Größe der Fragmente der Strukturen und ihr Auftreten als Doppelbanden deuten auf eine Infektion mit kryptischen Viren hin. Mit Hilfe der DOP-PCR und cDNA-Synthese gelang es, die Fragmente der 1,5/1,4 kb dsRNA partiell zu charakterisieren. Im Vergleich mit veröffentlichten Sequenzen in Internet Nukleinsäure Datenbanken (NCBI, Clustal W) zeigten drei klonierte dsRNA-Fragmente unterschiedlicher Stieleichenblattproben Übereinstimmungen von 61-67 % mit dem hochkonservierten Bereich einer RNA abhängigen RNA Polymerase (RdRp) des Beet cryptic virus 3 (BCV 3) (XIE ET AL., 1993). Dieses Ergebnis bestätigt die Vermutung, dass es sich bei der isolierten dsRNA, die als Doppelbande auftritt, um genomische dsRNA kryptischer Viren handeln könnte. Aus der Sequenz eines Klons sind spezifische Primer abgeleitet worden, die nun in einer RT-PCR mit gesamt RNA aus symptomlosen und erkrankten Stieleichen getestet werden.

Untersuchungen an erkrankten Flatterulmen (*Ulmus laevis* Pall.)

Visuelle Bonituren, zunächst durchgeführt in einer Parkanlage im Nordwesten Brandenburgs, ließen an Flatterulmen virusverdächtige Symptome wie Scheckung, chlorotische Ringflecken und Läsionen, Nekrosen sowie Chlorosen entlang der Blattadern erkennen. Diese charakteristischen Symptome wurden nachfolgend an unterschiedlichsten Standorten im öffentlichen Grün in Berlin und Brandenburg beobachtet.

Eine Übertragung des Krankheitserregers war mit Hilfe der mechanischen Inokulation möglich auf Gänsefußgewächse -*Chenopodium amaranticolor* (Coste & Reyn.), *Chenopodium album* (L.) und *Chenopodium foetidum* (Lam.) - sowie Tabakpflanzen -*Nicotiana clevelandii* (Gray.) und *Nicotiana benthamiana* (Domin). Flexible Viruspartikeln mit einer Länge von etwa 800 nm ließen sich sowohl in teilgereinigtem Pflanzenpresssaft aus Blattmaterial erkrankter Ulmen als auch aus Blättern der Indikatorpflanze *Chenopodium quinoa* mit chlorotischen Lokalläsionen elektronenoptisch darstellen.

In dem Gesamtkomplex der Untersuchungen an den erkrankten Flatterulmen sollen zunächst die Kochschen Postulate erfüllt und der Krankheitserreger identifiziert und ggf. charakterisiert werden. Angestrebt wird darüber hinaus die Etablierung und Optimierung eines geeigneten Nachweisverfahrens für die Diagnose der Erkrankung. Studien zur Epidemiologie werden die Arbeiten weiterhin begleiten, um mit der Kenntnis zu den natürlichen Übertragungswegen das Infektionsrisiko für vergesellschaftete Pflanzenarten abschätzen zu können.