

Pfropfübertragung von *Cherry leaf roll virus* (CLRV)-Varianten aus Birken deutscher und finnischer Standorte



Breuhahn, M.¹, von Bargaen, S.¹, Jalkanen, R.², Büttner, C.¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Phytomedizin, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

²The Finnish Forest Research Institute (METLA), Rovaniemi Research Unit, Rovaniemi, Finland

METLA

EINLEITUNG

Das *Cherry leaf roll virus* (CLRV) ist ein weltweit verbreitetes Nepovirus, das der Familie *Secoviridae* angehört. Der außergewöhnlich weite Wirtspflanzenkreis umfasst Laub- und Obstgehölze sowie Zier- und Gemüsepflanzen. Seit 2002 werden in Birkenbeständen Finnlands vermehrt CLRV-typische Symptome, wie Blattscheckung und Blattrollen, beobachtet (Jalkanen *et al.*, 2007). Ziel der Arbeit war der Nachweis der Pfropfübertragbarkeit von CLRV-Varianten aus finnischen und deutschen Birken.

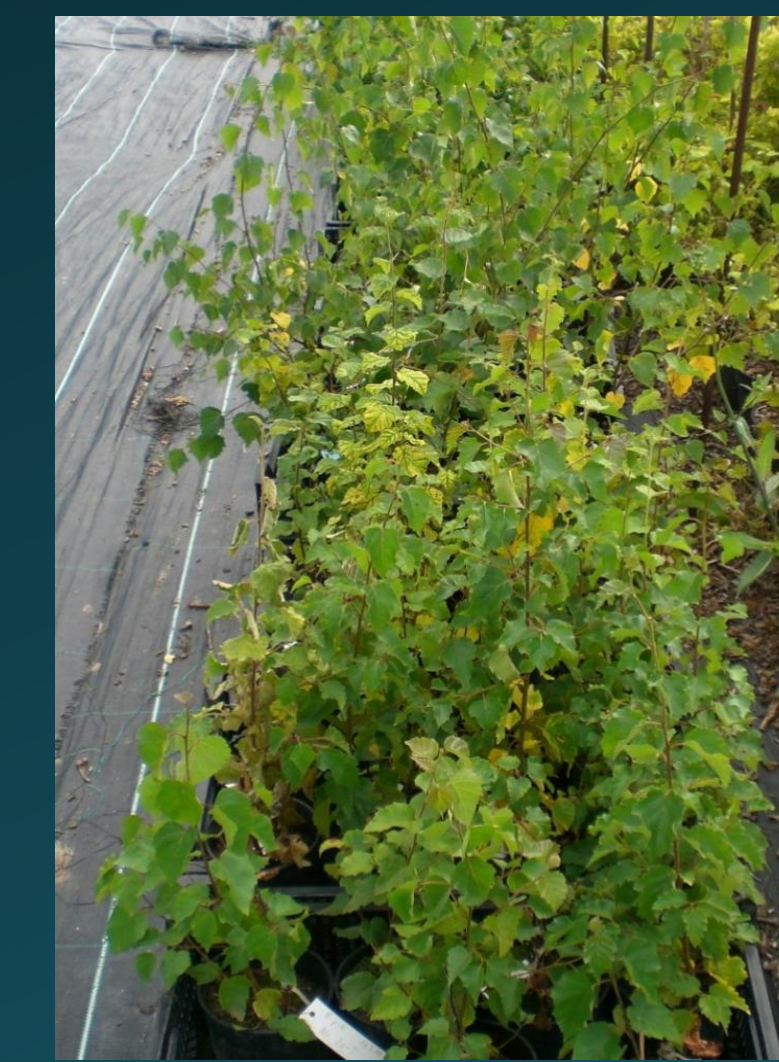


Abb. 1 Versuchsanlage der gepfropften Birken



Abb. 2 CLRV-infizierter Reiser auf einjährigem deutschen Birkensämling

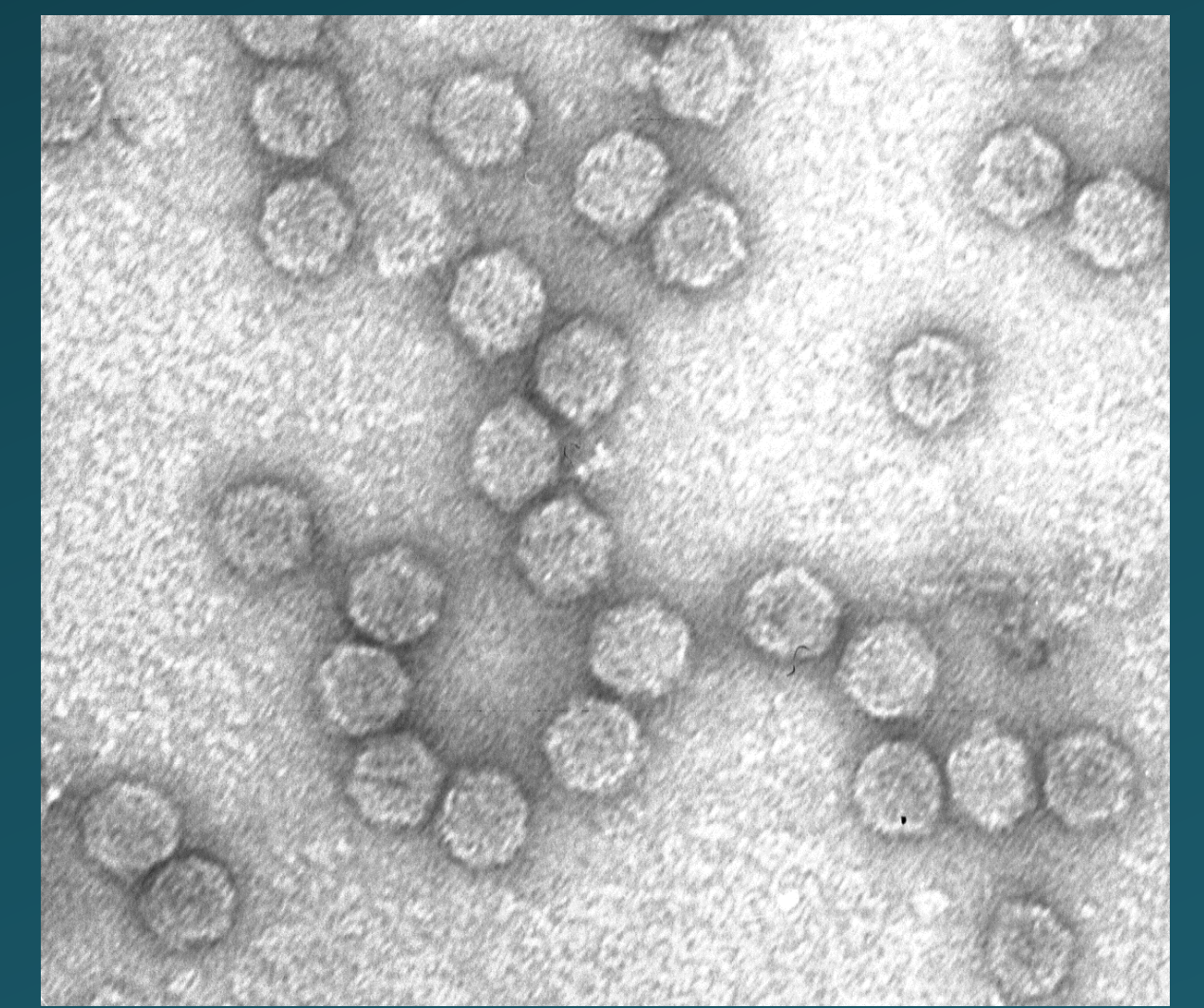


Abb. 3 Darstellung von CLRV-Partikeln (Isolat E395) im Transmissionselektronenmikroskop

MATERIAL UND METHODEN

Im Frühjahr 2011 wurden Reiser CLRV-infizierter Birken aus Finnland (*Betula pubescens*) und Deutschland (*Betula pendula*) auf einjährige deutsche Birkensämlinge gepfropft (Abb. 2). Die Kultivierung unter Freilandbedingungen war identisch (Abb. 1). In den Vegetationsperioden 2011 und 2012 erfolgten regelmäßige monatliche Bonituren auf CLRV-verdächtige Symptome sowie die Entnahme von Blattmaterial für den serologischen und molekularbiologischen Nachweis einer CLRV-Infektion. Blattmaterial deutscher Birken wurde mittels CLRV-spezifischer IC-RT-PCR und DAS-ELISA untersucht. Nach Gesamt-RNA-Isolierung erfolgte der Nachweis von CLRV in finnischen Varianten mithilfe einer RT-PCR. Zur Amplifikation wurden drei CLRV-spezifische Primer verwendet die an verschiedene Bereiche im CLRV-Genom binden (Abb. 4).

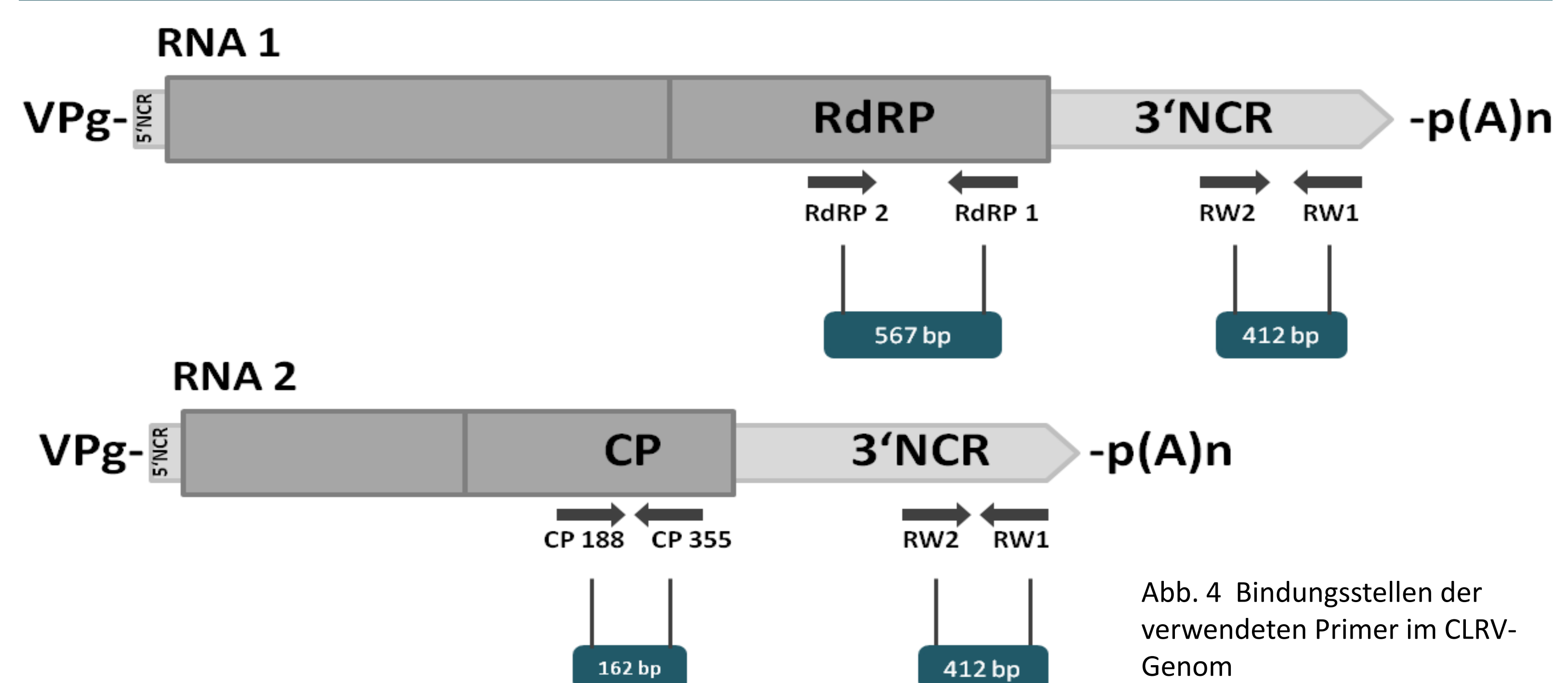


Abb. 4 Bindungsstellen der verwendeten Primer im CLRV-Genom

ERGEBNISSE

Pfropfreiser aus Deutschland

- 70 % der deutschen *B. pendula*-Reiser konnten erfolgreich gepfropft werden (n= 100)
- Im Juni 2012 konnten an 20 Reisern virusverdächtige Symptome wie Blattrollen, Chlorosen und Adernbänderung festgestellt werden (Abb. 5 a, b)
- Mittels IC-RT-PCR und DAS-ELISA konnte CLRV in 23 von 70 untersuchten Reisern detektiert werden (Abb. 6)
- 7 der 23 positiv getesteten Reiser zeigten CLRV-typische Symptome



Abb. 5 CLRV-verdächtige Symptome an deutschen gepfropften Birken
a) Adernbänderung, Blattrollen
b) Chlorotische Flecken, Adernbänderung

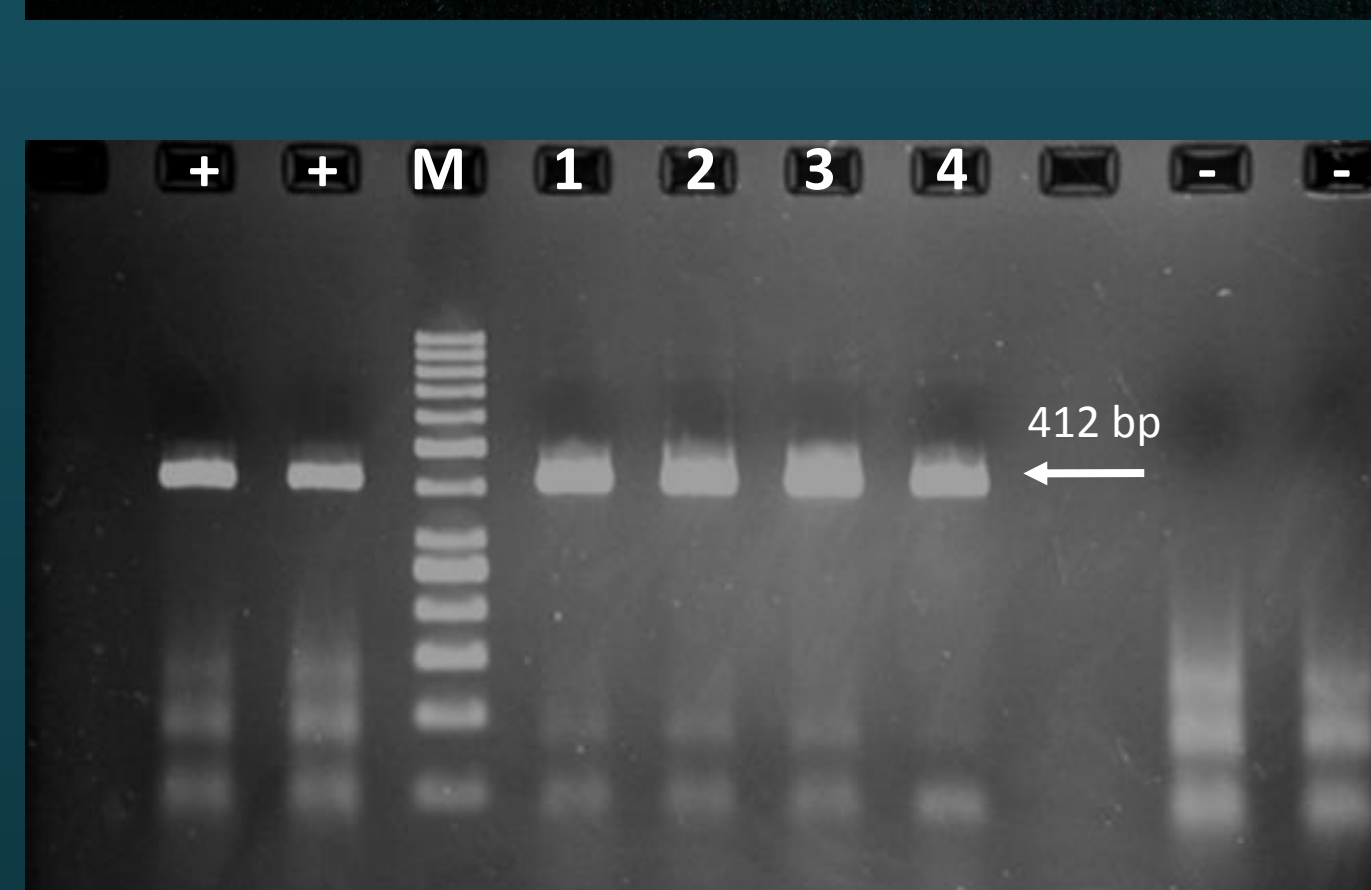


Abb. 6 CLRV-Nachweis in Blattmaterial deutscher Birken durch Amplifikation eines 412 bp langen Fragments in der IC-RT-PCR, (+) Positivkontrolle CLRV-infizierte deutsche Birke, (-) Negativkontrolle nicht CLRV-infizierte *C. quinoa*, (1-4) deutsche Birkensämlinge, (M) 50 bp

Pfropfreiser aus Finnland

- 20 % der finnischen *B. pubescens*-Reiser konnten zunächst erfolgreich gepfropft werden (n = 100), ab August 2011 überlebten nur die Unterlagen
- Im Juni 2012 konnten an 6 der verbliebenen 20 Unterlagen Blattrollen, chlorotische Ringflecken und Adernbänderung bonitiert werden (Abb. 7 a, b)
- Mittels RT-PCR konnte in 7 von 20 untersuchten Unterlagen CLRV nachgewiesen werden (Abb. 8)
- 2 der 7 positiv getesteten Unterlagen zeigten CLRV-typische Symptome



Abb. 7 CLRV-verdächtige Symptome an Unterlagen der finnischen Pfropfreiser
a) Adernbänderung, Ringflecken, Chlorosen
b) Chlorotische Flecken, Adernbänderung, Blattrollen, Mosaik



Abb. 8 CLRV-Nachweis in Blattmaterial (Unterlage) finnischer Birken durch Amplifikation eines 162 bp (CP) und eines 567 bp (RdRP) langen Fragments mittels RT-PCR, (+) CLRV-infizierte deutsche Birke, (-) nicht CLRV-infizierte *C. quinoa*, (H₂O) Wasserkontrolle, (1-2) Unterlagen finnischer Birken, (M) 50 bp

Ausblick

Die serologische und genetische Diversität verschiedener Isolate aus Deutschland und Finnland (von Bargaen *et al.* 2009) soll im weiteren Verlauf durch **Sequenzanalysen** und **Restriktionsverdau** näher charakterisiert werden.

Danksagung

Finanziell wurde das Projekt durch die DFG (BU890/15-1) unterstützt.

Literatur

von Bargaen, S. *et al.* (2009): *Silva Fennica* 43, 727-738
Jalkanen, R. *et al.* (2007): *Silva Fennica* 41, 755-762