

Nachweis von Viren in Gehölzen

Anne-Mareen Eisold, Luise Dierker, Jenny Robel, Martina Bandte,
Susanne von Barga, Markus Rott, Carmen Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin
phytomedizin@agr.ar.hu-berlin.de



Zu Viren an Gehölzen des Forstes und öffentlichen Grüns ist bisher wenig bekannt. Beobachtungen seit den 1990er Jahren weisen darauf hin, dass Viren in

diesen Gehölzen weit verbreitet sind und zu größeren wirtschaftlichen Schäden führen als bisher angenommen. Die visuelle Bonitur und der Nachweis von

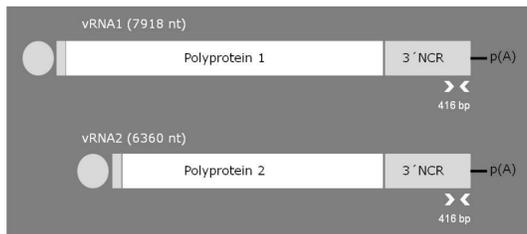
Viren im Labor sind wichtige Voraussetzungen, um die Verbreitung und Bedeutung dieser Pathogene einschätzen zu können.

Cherry leaf roll virus (CLRv)

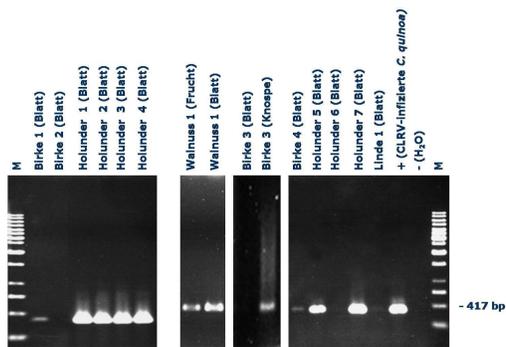
- chlorotische Ringflecken, Adernbänderung, Blattrollen und Kleinblättrigkeit an Blättern von *Betula* spp.
- CLRv ist weltweit verbreitet und weist ein ausgesprochen weites Wirtsspektrum auf



- das einzelsträngige, positiv-orientierte lineare RNA-Genom ist bipartit und wird getrennt enkapsidiert
- jede RNA kodiert für ein Polyprotein, welches durch die virale Protease in funktionelle Einheiten prozessiert wird



- IC-RT-PCR ist für eine Routinediagnostik von CLRv in Gehölzen etabliert (Werner *et al.*, 1997; Gentkow *et al.*, 2007)
 - Kombination eines viruspezifischen Antikörpers mit anschließender Amplifikation eines 416 bp-Fragments der hochkonservierten 3'NCR von RNA1 und RNA2 in der RT-PCR
 - Waschschritte zwischen Immunocapture und RT-PCR: Entfernung von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen, die besonders häufig in Gehölzen auftreten und nachfolgende enzymatische Reaktionen inhibieren können
- Mit der IC-RT-PCR lässt sich CLRv in unterschiedlichen Gehölzarten und Geweben nachweisen



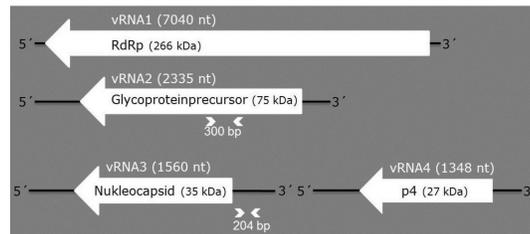
Die IC-RT-PCR eignet sich zum Routinenachweis von CLRv in Gehölzen. Laubblätter, Blüten, Früchte, Samen und Knospen sind geeignetes Untersuchungsmaterial.

European mountain ash ringspot-associated virus (EMARv)

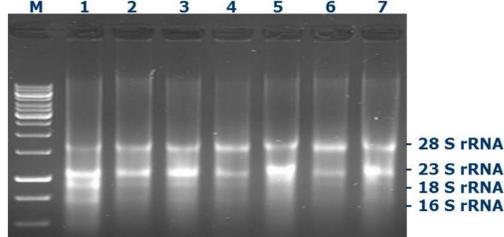
- chlorotische Ringflecken und Scheckungen an Blättern von Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.) sowie der Degeneration der Pflanze
- Symptome an bisher einzig bekannter Wirtspflanze (Eberesche) europaweit verbreitet



- 2007 wurden diese Symptome an Ebereschen mit EMARv assoziiert (Mielke und Mühlbach, 2007)
- EMARv besteht aus vier negativ orientierten einzelsträngigen RNAs, die jeweils für ein Protein kodieren



- Ableitung von diagnostischen Primern durch vorhandene Sequenzinformation möglich (Mielke *et al.*, 2008)
- Nachweis erfordert Isolierung von Gesamt-RNA aus Blättern von Ebereschen und anschließender cDNA-Synthese



- durch RT-PCR mit verschiedenen, viruspezifischen Primern lässt sich EMARv nachweisen
- virale RNA2 und RNA3 eignen sich besonders als Zielregion der Nukleinsäure-basierten Methode der RT-PCR



EMARv ist mittels RT-PCR in Proben unterschiedlicher geographischer Herkunft nachweisbar. Als Ziel-RNAs für die RT-PCR eignen sich die RNA2 und RNA3.

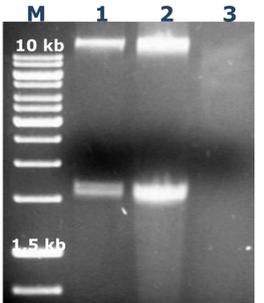
Unbekanntes Pflanzenvirus an Flatterulme

- chlorotische Ringflecken und Nekrosen an Blättern von Flatterulmen (*Ulmus laevis* PALL.)
- Wachstumsdepressionen
- In den letzten Jahren wurden zunehmend Symptome in Flatterulmen beobachtet

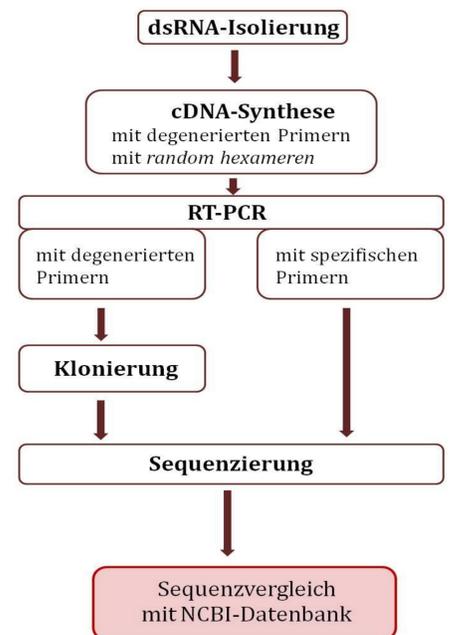


- Infektionen mit an Ulmen bekannten Viren wurden durch serologische Tests und Bioassays ausgeschlossen (Bandte *et al.*, 2004)
- Als potentielles Pathogen wird ein bisher noch nicht identifiziertes Virus vermutet

- Anreicherung viraler Nukleinsäuren aus Pflanzen mittels Isolierung von Doppelstrang-RNA (dsRNA) aus symptomtragendem Pflanzenmaterial (nach Tsanetakis & Martin, 2008)



- Sequenzierung viraler Genomsegmente cDNA-Synthese und anschließende PCR (RT-PCR) unter Verwendung spezifischer bzw. unspezifischer Primer
Ggf. Klonierung und Sequenzierung des Amplifikates zur Identifizierung und phylogenetischen Einordnung des Virus



Die spezifische Isolierung von dsRNA ermöglicht eine Konzentrierung viraler Nukleinsäuren unter Ausschluss pflanzlicher DNA und RNA, was für weitere charakterisierende Analysen entscheidend ist.

Symptome & Verbreitung

Genomorganisation

Nachweis

Fazit

Quellen

Bandte M., Essing M., Obermeier C., Büttner C. (2004): Sist Recur For 13, 65-69
Gentkow J., von Barga S., Petrik K., Büttner C. (2007): Jahrbuch der Baumpflege, 279-302.

Kegler H. (1960): Phytopathol Z 37, 214-216.
Mielke N., Weber M., Khan S., Mühlbach H.-P. (2008): J For Path 38, 371-380.
Mielke N., Mühlbach H.-P. (2007): J Gen Virol 88, 1337-1346.

Tsanetakis I. E. & Martin R. R. (2008): J Virol Meth 149, 167-170.
Werner R., Mühlbach H.P., Büttner C. (1997): J For Path 5, 309-318.