

DEUTSCHE GARTENBAUWISSENSCHAFTLICHE
GESELLSCHAFT e. V.

UND

BUNDESVERBAND DER HOCHSCHUL-
ABSOLVENTEN/INGENIEURE GARTENBAU UND
LANDSCHAFTSARCHITEKTUR e.V.-BHGL

42. Gartenbauwissenschaftliche Tagung

**"Chancen und Grenzen der nicht-invasiven
Qualitätsanalytik im Gartenbau – Wie ist
Produktqualität messbar?"**

Kurzfassungen der Vorträge und Poster

Geisenheim, 23.02 bis 26.02.2005

ISSN 1613-088X

Versuche zur molekularen Charakterisierung von dsRNA aus Stieleichen (*Quercus robur* L.)

S. Hahn, M. Rott, M. Bandte, S. von Barga, C. Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin,
Lentzeallee 55-57, 14195 Berlin
phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Blattsymptome wie chlorotische Ringflecken, Scheckungen und mosaikartige Verfärbungen werden seit 40 Jahren an Stieleichen beschrieben. Untersuchungen haben gezeigt, dass sich diese Symptome durch Pfropfung auf gesunde Eichensämlinge übertragen lassen. Diese Charakteristika deuten auf eine Virose als verursachendes Agens hin. Über 90 % aller Pflanzenviren besitzen ein einzelsträngiges (ss) RNA Genom, in deren Replikationszyklus intermediäre und replikative dsRNA Formen gebildet werden. Die spezifische Isolierung von dsRNA eignet sich daher zur Diagnose von Pflanzenviren.

In eigenen Untersuchungen wurde dsRNA nach einer Methode von BENTHAK (2001) aus Blättern, Rinde und Knospen virusverdächtiger und symptomloser Stieleichen isoliert. Nach Agarosegelelektrophorese zeigten sich in Abhängigkeit vom Probenmaterial und von der Isolierungsmethode zwei Doppelbanden mit einer Größe von 1400 bp und 1500 bp sowie 1800 bp und 2000 bp. Aus zwei Proben symptomatischen Rinden- bzw. Blattgewebes von unterschiedlichen Standorten gelang es zusätzlich dsRNA mit Größen von 5000 bp, 3500 bp und 1700 bp zu isolieren. Um die Sequenz der dsRNAs aus Eiche zu ermitteln, wurden diese mit Hilfe Reverser Transkriptase in cDNA umgeschrieben und davon Teilbereiche in einer DOP-PCR (PCR mit degenierten Oligonukleotid Primern) amplifiziert bzw. durch klassische cDNA Klonierung ermittelt. Von beiden Ansätzen konnten Teile der dsRNA kloniert und sequenziert werden, die nach Vergleich mit Nukleotid- und Protein-Sequenzdatenbanken (NCBI und EMBL) erste Hinweise auf eine Infektion mit cryptischen Viren erbrachten.

Durch Aufreinigung von Nukleokapsiden aus Stieleichenblättern und nachfolgende RT-PCR mit sequenzspezifischen Primern der untersuchten dsRNA gelang es, aus den aufgereinigten Nukleokapsiden den identischen Sequenzbereich wie in dsRNA-Präparationen zu amplifizieren. Eine im Anschluss durchgeführte SDS-PAGE der Nukleokapsidpräparation in Verbindung mit einer hochsensitiven Silberfärbung konnte weiterhin ein Protein mit einem Molekulargewicht von 53 kDa nachweisen.

BENTHAK, W.; 2001: Klonierung und partielle Charakterisierung des unbekanntes Erregers der Ringfleckigkeit der Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.) anhand doppelsträngiger RNA. Dissertation, Universität Hamburg