



Mitteilungen

aus der Biologischen Bundesanstalt
für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem

**55. Deutsche Pflanzenschutztagung
in Göttingen 25. - 28. September 2006**

400

Herausgegeben von der
Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Berlin und Braunschweig

2006

Zehn Apfelsorten wurden im Jahr 2005 getestet. Die Testungen erfolgten vergleichend mit vier verschiedenen Gehölzindikatoren und einem Multiplex RT-PCR-Verfahren, mit dem vier häufiger auftretende Apfelviren gleichzeitig erfasst werden. Im Jahr 2006 werden die vergleichenden Untersuchungen an 15 weiteren Apfelsorten fortgeführt.

Die Testungen im Jahre 2005 zeigten folgende Ergebnisse:

- In 3 von 10 untersuchten Sorten wurde mittels Multiplex RT-PCR das Stammnarbungs-Virus (ASPV) und das Apfelmosaik-Virus (ApMV) nachgewiesen.
- Die vergleichenden Untersuchungen mittels Indikatorrestung und Multiplex-RT-PCR zeigten übereinstimmende Ergebnisse. Nur in einem Fall konnten Symptome der Chlorotischen Blattfleckung des Apfels (ACLSV) an den Indikatoren Hopa und Spy mit der Multiplex-RT-PCR nicht bestätigt werden. Die zugesicherte Virusfreiheit des Pflanzmaterials bei der Sorte ‚Pinova‘ wurde nicht eingehalten.
- Die Aussagekraft der Versuchsanlage ist somit durch den unterschiedlichen Virusstatus der Sorten von vornherein eingeschränkt.
- Der Verwendungszweck des Pflanzenmaterials wurde den liefernden Baumschulen im Vorwege mitgeteilt. Trotzdem zeigen die Untersuchungen nicht zu tolerierende Auffälligkeiten und weisen darauf hin, dass die Obstbauern für Neuaufpflanzungen zum Teil noch virusbelastete Ware erhalten.

110 – Jelkmann, W.¹⁾; Leible, S.¹⁾, Rott, M.²⁾

¹⁾ Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz im Obstbau

²⁾ CFIA – Centre for Plant Health

Little cherry Closteroviren –1 und –2, ihre genetische Variabilität und Nachweis mittels Real-Time-PCR

Little cherry closteroviruses –1 and –2, their genetic variability and Real-Time-PCR detection

Die Kleinfrüchtigkeit der Süßkirsche (little cherry) wird durch die Closteroviren Little cherry virus –1 oder –2 (LChV–1, LChV–2) verursacht. Die Infektion von sensitiven Süßkirschsornten resultiert in kantigen, bitter oder wässrig schmeckenden, zu kleinen sowie nicht vollständig abreifenden Früchten. Die Pflanzen sind in ihrem Wachstum erheblich beeinträchtigt. Hohe Ernteverluste sind zu verzeichnen, da die Früchte nicht mehr vermarktet werden können. In langjährigen Arbeiten konnten die mit der Krankheit assoziierten Closteroviren molekular charakterisiert werden. Die Arbeiten führten zur Entwicklung diagnostischer Verfahren mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Neuere Untersuchungen zur Variabilität der beiden Viren wurden an einer großen Anzahl von Virusisolaten aus verschiedenen Kontinenten durchgeführt. Als Resultat konnte eine „Real-Time-PCR“ entwickelt werden, die Isolate beider Viren zuverlässig und gleichzeitig in einem Test nachweisen kann.

111 – Langer, J.; Gentkow, J.; Rebenstorf, K.; Rumbou, A.; Barga, S. von; Büttner, C.

Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin

Vergleich der Hüllproteine ausgewählter Cherry leaf roll virus- Isolate aus unterschiedlichen genetischen Gruppen

Coat protein sequence comparison of selected CLRV-isolates from different genetic groups

Das Cherry leaf roll nepovirus (CLRV), ein Vertreter der Familie Comoviridae, ist ein weltweit verbreiteter Erreger an Obstgehölzen, Zier- und Gemüsepflanzen. CLRV-Isolate weisen sowohl unterschiedliche serologische Eigenschaften auf, als auch eine Wirtspflanzen-spezifische Variabilität innerhalb eines Teilbereichs der langen 3' nicht kodierenden Region (3'NCR) (Rebenstorf et al., 2006).

Zur Untersuchung der Diversität von CLRV-Isolaten anhand kodierender Genomabschnitte wurden die vollständigen Hüllprotein-Sequenzen von acht Isolaten ermittelt, die aus folgenden Wirtspflanzen stammten: Eberesche (*Sorbus aucuparia*), Schwarzer Holunder (*Sambucus nigra*), Englische Walnuss, (*Juglans regia*), Hänge-Birke (*Betula pendula*), Rhabarber, (*Rheum rhabarbarum*) und Himbeere (*Rubus*

idaeus). Die viralen Strukturproteine der untersuchten CLRV-Isolate besitzen ein Molekulargewicht zwischen 55 und 56 kDa.

Der Hüllprotein-kodierende Sequenzbereich umfasst 1539 bzw. 1542 Nukleotide, was einer Polypeptidkette der Hüllproteine (CP) von 512 aa (513 aa) entspricht. Neu sequenzierte CP-Bereiche wurden mit bereits veröffentlichten Sequenzen verglichen und ein phylogenetischer Stammbaum erstellt. Die Nukleotid-Sequenz des CP weist insgesamt eine höhere Diversität von maximal 23% auf, als der durchschnittlich 375 bp lange Teilbereich der 3'NCR, der max. Sequenzunterschiede von 17% zeigte. Auf Aminosäure-Ebene wiesen die Hüllproteine Sequenzidentitäten zwischen 90 und 99% auf. Die phylogenetische Gruppierung der untersuchten CLRV-Isolate nach Wirtspflanzenart, basierend sowohl auf der 3'NCR als auch auf serologischen Untersuchungen, konnte durch die Analyse dieses langen kodierenden Genombereichs jedoch bestätigt werden.

Literatur

Rebenstorf, K., Candresse, T., Dulucq, M. J., Büttner, C., Obermeier, C. 2006. Host species-dependent population structure of a pollen-borne plant virus, Cherry leaf roll virus (CLRV). *J. Virol.* 80, 2453–2462.

112 – Mikona, C.; Jelkmann, W.

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz im Obstbau

***Cuscuta reflexa* als Vektor zur Übertragung von Grapevine leafroll associated virus-7 auf krautige Wirtspflanzen**

Cuscuta species as vector for transmitting Grapevine leafroll-associated virus-7 to herbaceous plant hosts

Sequenzanalysen von Pflanzenviren benötigen ausreichende Mengen gereinigter Doppelstrang-RNA (dsRNA) für enzymatische Modifikationen und Klonierung des genetischen Materials. Dies ist für Closteroviren an Reben nicht immer zu gewährleisten und auch nur mit aufwändiger Präparation von Phloemgewebe möglich. Daher wurde für Versuche mit dem bislang gering charakterisierten Grapevine leafroll-associated virus 7 (GLRaV-7) nach alternativen Wirten gesucht.

Eine mechanische Übertragbarkeit von GLRaV-7 war unbekannt. Auch lagen keine Hinweise auf die Übertragbarkeit des Virus durch Vektoren vor. Bekannt ist der teilweise erfolgreiche Einsatz parasitärer Kleeseidearten (*Cuscuta* spp.) als Vektoren zur Pflanzenvirenübertragung. *Cuscuta* spp. besitzen wenig bis keine photosynthetische Aktivität und beziehen den Großteil ihrer Nährstoffe von ihrem Wirt. Bezüglich des Erfolgs einer Virusübertragung konnte keine Beziehung zwischen Virus und Wirt gefunden werden. Die Effizienz des Vektors ist stark saisonal abhängig. Zudem spielt das Maß der hemmenden Substanzen in der Kleeseide eine wichtige Rolle bei der Virus-Vektor-Interaktion.

Frühere Experimente mit der Übertragung der Blattrollkrankheit durch Kleeseide waren erfolgreich von Rebe zu Rebe, während krautige Empfängerpflanzen gesund blieben. Die Untersuchungen unterschieden jedoch nicht zwischen verschiedenen Blattrollkrankheit assoziierten Virusarten, wodurch keine Rückschlüsse auf das übertragene Virus möglich sind.

Im Versuch wurden drei verschiedenen Kleeseidearten – *Cuscuta campestris* (CC), *Cuscuta europea* (CE) and *Cuscuta reflexa* (CR) – als Vektor und *Nicotiana occidentalis* als Empfänger für die GLRaV-7 Übertragung eingesetzt. GLRaV-7 infizierte Reben wurden stecklingsvermehrt und positiv getestetes Material (RT-PCR) als Virusspender verwendet. Die *Cuscuta* -Arten fungierten im Gewächshaus für mindestens zwei Monate als „Phloembrücke“ zwischen GLRaV-7 infizierten Reben und gesunden Tabakpflanzen. Anschließend wurde ein RT-PCR Nachweis aus Gesamtnukleinsäure-Extraktionen und von dsRNA durchgeführt. Das Virus konnte weder in *Cuscuta europea* noch aus *Nicotiana*-Pflanzen nachgewiesen werden, *Cuscuta reflexa* und *Cuscuta campestris* zeigten jedoch eindeutig positive Reaktionen. Außerdem zeigten dsRNA Aufreinigungen der beiden letztgenannten Vektoren im Agarosegel sichtbare Banden, die dem hochmolekularem Genom und subgenomischen RNAs von GLRaV-7 entsprachen. Das Auftreten der subgenomischen RNAs weist auf die Replikation des Virus in Kleeseide hin.