

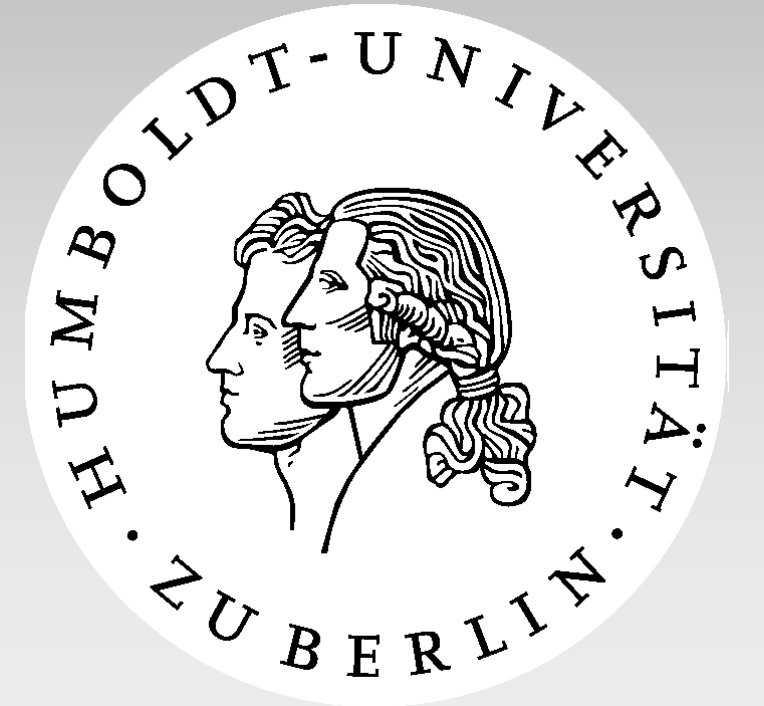
Virusinfektionen in finnischen Laubgehölzen

N. Arndt¹, S. von Bargaen¹, R. Jalkanen², C. Büttner¹

¹Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, Humboldt-Universität zu Berlin, c/o JKI, Königin-Luise Str. 19, D-14195 Berlin

phytomedizin@agr.ar.hu-berlin.de

²Metla, Finnish Forest Research Institute, Rovaniemi, Finland



METLA



Abb. 1: Chlorosen, Adernbänderung und Blattrollen an Blättern CLRV-infizierter *Betula pendula*, Rovaniemi, Finnland



Abb. 2: Ringflecken an EMARAV-infizierter *Sorbus aucuparia*, Loppi, Finnland



Abb. 3: CLRV-infizierter *Sambucus racemosa* mit Blattdeformationen, Sysmä, Harjuntie, Finnland



Abb. 4: Chlorotische und nekrotische Läsionen an Fiederblättern einer CLRV-infizierten *Sorbus aucuparia*, Rovaniemi, Finnland

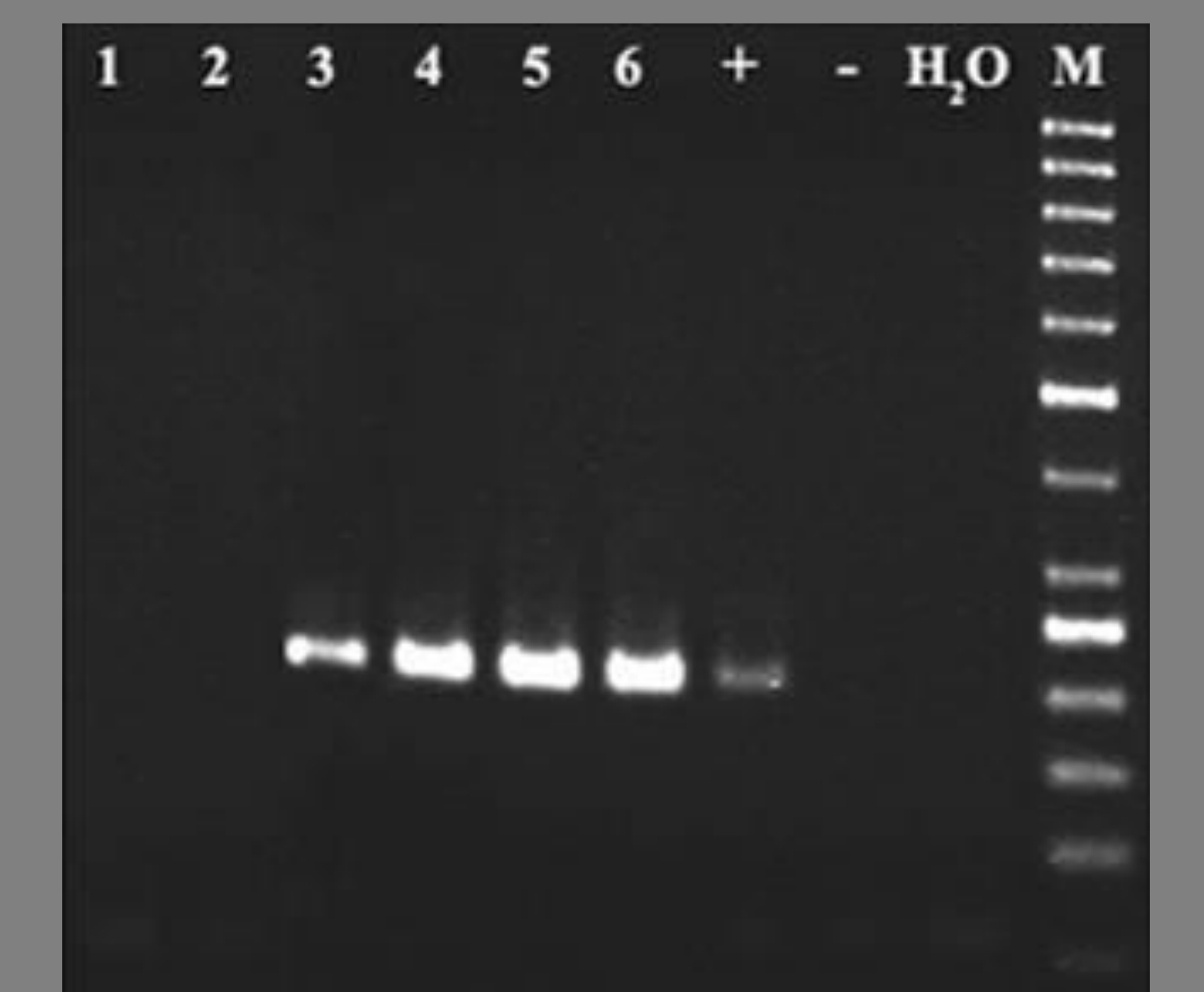


Abb. 5: RT-PCR-Nachweis von EMARAV durch Amplifikation von 204 bp der viralen RNA3, 1-6 = Ebereschen mit Symptomen von verschiedenen finnischen Standorten; (+) = positiv Kontrolle EMARAV-infizierte Eberesche, (-) = asymptomatische Eberesche, H₂O = negativ Kontrolle, M = 50 bp Marker (Fermentas)

Einleitung

Birken (*Betula* spp.) und Ebereschen (*Sorbus aucuparia*) stellen die dominierenden Laubbaumarten Finnlands dar. Seit 2002 treten an verschiedenen *Betula*-Arten vermehrt Symptome wie Adernbänderung, Blattscheckungen und Blattrollen auf (**Abb. 1**), die mit dem Pollen- und Saatgut-übertragbarem **Cherry leaf roll virus (CLR)** assoziiert werden konnten (Jalkanen et al., 2007). Zudem wurde das **European mountain ash ringspot-associated virus (EMARAV)** in Süd- und Mittelfinnland in Ebereschen mit Ringflecken (**Abb. 2**) detektiert (Kallinen et al., 2009). Das Auftreten beider Viren wurde in diesen für Finnland ökonomisch bedeutenden Laubgehölzen untersucht. Zudem wurden mögliche Wege der CLRV-Übertragung analysiert, indem Birken in Samenspenderanlagen und Wasserproben auf CLRV-Kontamination geprüft wurden.

Material und Methoden

- Blatt- und Blütenmaterial von *Betula* spp., *Sambucus racemosa* (Roter Holunder, **Abb. 3**) und *Sorbus aucuparia* (**Abb. 4**) aus Finnland von 2006 bis 2008
- **CLR-spezifische IC-RT-PCR** durch Nachweis eines 162 bp langen Fragmentes aus dem Hüllprotein-kodierenden Bereich der RNA 2
- **EMARAV-Detektion** mittels **Gesamt RNA-Isolierung** nach Mielke et al. (2008) und Amplifikation eines 204 bp langen Fragmentes der RNA3 mittels **RT-PCR**
- Klonierung und Sequenzierung ausgewählter RT-PCR-Produkte

Ergebnisse

CLR ist in Finnland landesweit verbreitet (**Abb. 6**). Das Virus konnte in allen sechs untersuchten **Betula-Species**, in **Ebereschen** und **Roten Holunder** detektiert werden (**Tab. 1**). Des Weiteren konnte CLRV in einer **Oberflächenwasserprobe** eines Sees nachgewiesen werden und war in Birken zweier **Samenspenderanlagen** nachweisbar. **Die Sequenzanalyse** des Fragmentes aus der Hüllprotein-kodierenden Region zeigte, dass CLRV-Varianten aus Birken verschiedener finnischer Standorte nicht mit anderen Isolaten aus Birke gruppierten, die aus deutschen bzw. englischen Herkünften stammten, sondern eine eigene **Untergruppe** bildeten (**Abb. 7**). Ähnliche Ergebnisse erhielten von Bargaen et al. (2009) beim Vergleich von CLRV-Sequenzfragmenten der 3' nicht-kodierenden Region (3' NCR) von sechs Birken verschiedener finnischer Standorte.

Vier der sechs auf CLRV getesteten Ebereschen erwiesen sich als **EMARAV** infiziert (**Abb. 5**). In einer dieser EMARAV-positiven Ebereschen konnte zudem CLRV detektiert werden. Der Sequenzvergleich der DNA Fragmente mit der Referenzsequenz des Typstammes des EMARAV ergab Übereinstimmung von 96,2-98,1 %. Der Vergleich der erhaltenen Sequenzen untereinander ergab eine Übereinstimmung von 96,2-99,5 %. Somit konnte eine **EMARAV-Infektion** von **vier individuellen Ebereschen** an zwei unterschiedlichen Standorten durch Sequenzierung des RT-PCR generierten Fragments bestätigt werden.

Zusammenfassung

- Das **Cherry leaf roll virus (CLR)** ist in allen sechs untersuchten in Finnland heimischen Birken-Arten nachweisbar.
- Das Virus konnte in weiteren Laubgehölzen detektiert werden und ist landesweit verbreitet.
- Sowohl CLRV-kontaminiertes Oberflächenwasser als auch CLRV-infizierte Birken aus Samenspenderanlagen könnten an der Virusverbreitung in Finnland beteiligt sein.
- Sequenzanalysen der Hüllprotein-kodierenden Region des Virus bestätigen die anhand der Untersuchung der partiellen 3' NCR postulierten atypischen Verwandtschaftsbeziehungen von CLRV-Varianten aus finnischen Birken.
- **Erstmals** wurde eine **Mischinfektion** von *Sorbus aucuparia* mit CLRV und dem **European mountain ash ringspot-associated virus (EMARAV)** gezeigt.

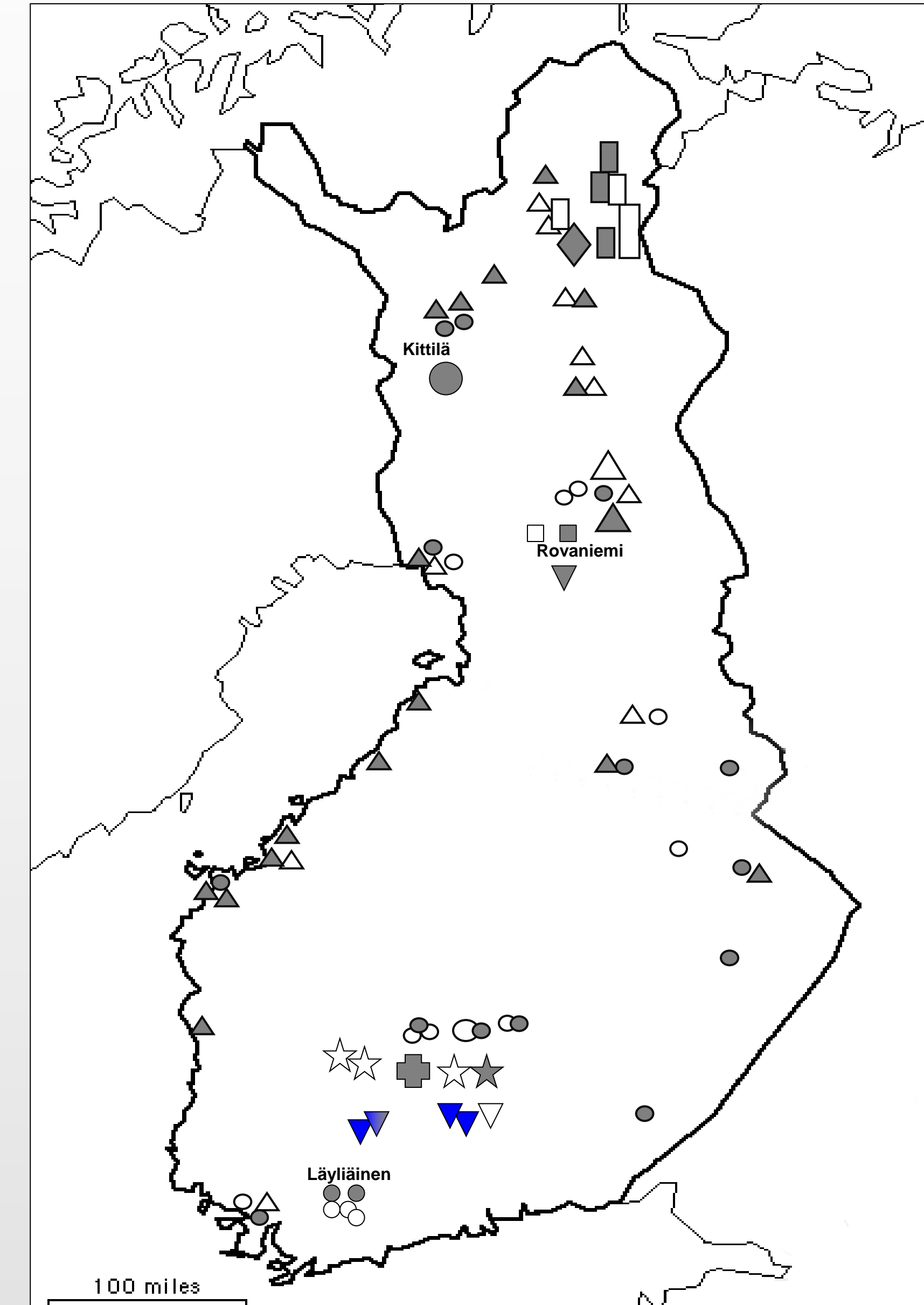


Abb. 6: Standorte in Finnland. Zeichenerklärung: *Betula pubescens* subsp. *pubescens* (Δ), *B. pendula* (○), weitere *Betula*-Arten (□) *Sorbus aucuparia* (▽), *Sambucus racemosa* (+), Wasserproben (*). CLRV-infizierte Bäume sind durch graue Symbole gekennzeichnet; EMARAV-infizierte Ebereschen sind blau markiert. Kleine Symbole repräsentieren individuelle Bäume, große Symbole 4-5 Bäume.

Proben	untersuchte Proben	CLR positiv
Birken-Arten mit virusverdächtigen Symptomen		
<i>B. pubescens</i> ssp. <i>pubescens</i>	32	18
<i>B. pendula</i>	25	12
<i>B. pubescens</i> ssp. <i>czerepanovii</i>	6	2
<i>B. pubescens</i> var. <i>appressa</i>	5	5
<i>B. nana</i>	4	2
<i>B. pendula</i> var. <i>carelica</i>	1	1
Weitere Arten mit virusverdächtigen Symptomen		
<i>Sorbus aucuparia</i>	6	2
<i>Sambucus racemosa</i>	1	1
Birken-Samenspenderanlage		
Kittilä (<i>B. pub. ssp. pubescens</i> , <i>B. pendula</i>)	4	4
Läyliäinen (<i>B. pendula</i>)	5	2
Wasserproben		
Wasser	4	1
Gesamt	93	50

Tab. 1: Nachweis von CLRV mittels IC-RT-PCR in Proben finnischer Herkunft (s. Abb. 6)

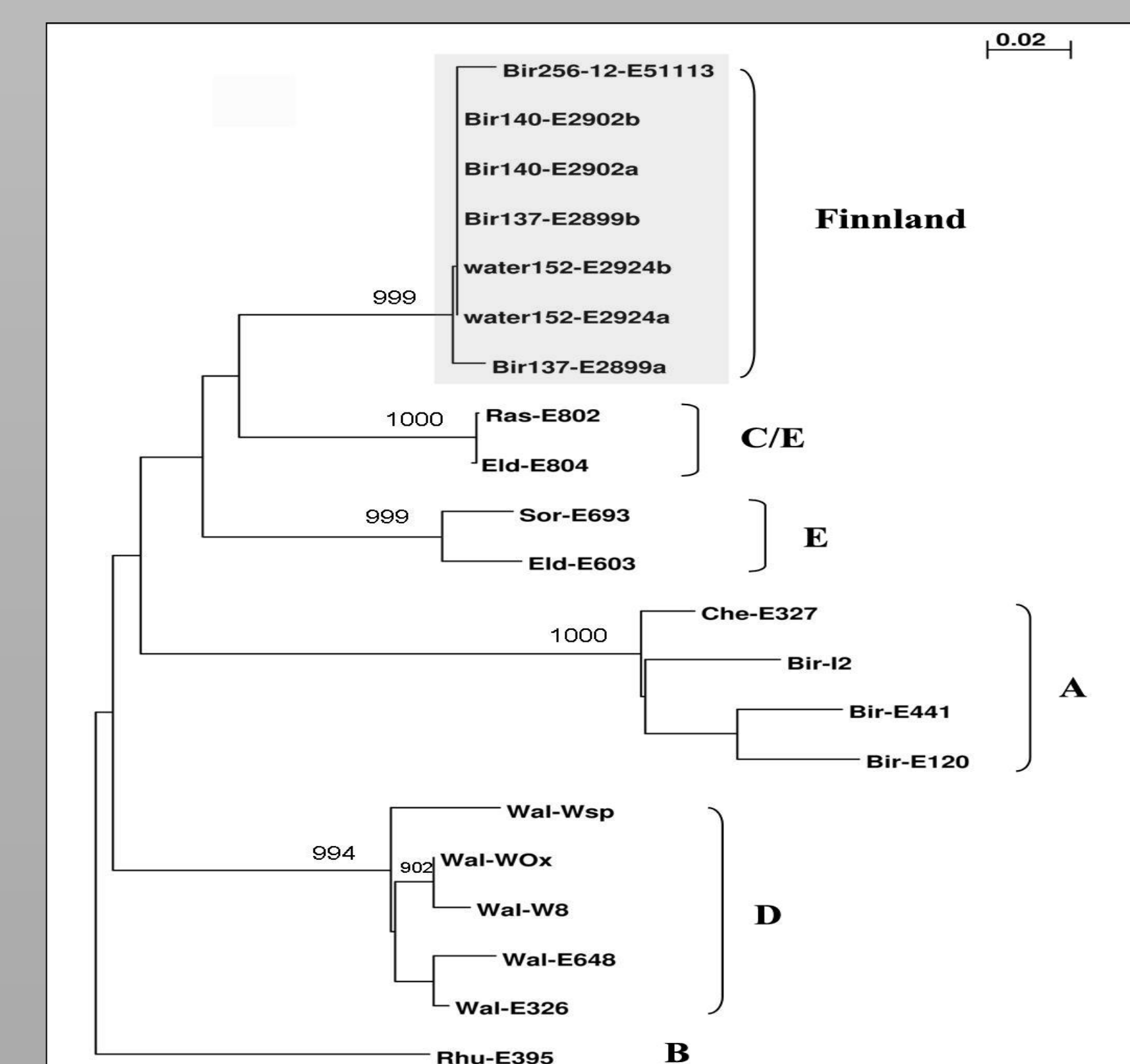


Abb. 7: Phylogenetische Analyse eines 112 bp langen DNA-Fragments aus der Hüllprotein-kodierenden Region der RNA2, amplifiziert mit den Primern CP-R350/CP-F188, von finnischen CLRV-Isolaten (graue Box). Vergleich mit CLRV-Referenzsequenzen aus verschiedenen Wirtspflanzen (Bir=Birke, Che=Kirsche, Eld=Holunder, Ras=Himbeere, Rhu=Rhabarber, Sor=Eberesche, Wal=Walnuss). Phylogenetische Gruppen A-E nach Rebenstorf et al. (2006) sind rechts angegeben.

Literatur

- von Bargaen, S. et al. (2009): *Silva Fennica* 43: 727–738.
 Jalkanen, R. et al. (2007): *Silva Fennica* 41: 755-762.
 Kallinen, A. K. et al. (2009): *Phytopathology* 99: 344-352
 Mielke, N. et al. (2008): *Forest Pathology* 38: 371-380.
 Rebenstorf, K. et al. (2006): *Journal of Virology* 80: 2453-2462.

Danksagung

Dankenswerterweise dürfen wir unsere Arbeiten - seit Beginn der Großbaumaßnahmen an unserem Dienstgebäude in der Lentzeallee - am Julius Kühn-Institut in Berlin-Dahlem durchführen.