

# 438

## Julius-Kühn-Archiv

58. Deutsche Pflanzenschutztagung

10. - 14. September 2012  
Technische Universität Braunschweig

- Kurzfassungen der Beiträge -



Julius Kühn-Institut  
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

**113-Mangelsdorff, A.<sup>1)</sup>; von Bargaen, S.<sup>1)</sup>; Jalkanen, R.<sup>2)</sup>; Büttner, C.<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup> Humboldt-Universität zu Berlin

<sup>2)</sup> Finnish Forest Research Institute (Metla), Finnland

**Methoden zum Nachweis von RNA-Viren in Birkenarten verschiedener Standorte**

*Methods for the detection of RNA viruses in birch species from different locations*

Birken sind Europaweit verbreitet und haben beispielsweise in Finnland eine große wirtschaftliche Bedeutung. Seit 10 Jahren werden dort landesweit zunehmend virus-verdächtige Symptome sowohl an Blättern der Hängebirke (*Betula pendula*) als auch der Moorbirke (*B. pubescens* subsp. *pubescens*) beobachtet. Diese äußern sich z. B. als Blattrollen, Chlorosen, und Adernbänderungen. Das *Cherry leaf roll virus (CLRV)* konnte mit diesen Symptomen in Verbindung gebracht werden (Jalkanen et al. 2007, von Bargaen et al. 2009), es ist jedoch denkbar, dass weitere RNA-Viren, die bisher noch nicht identifiziert wurden, an der Krankheit beteiligt sind.

Als Voraussetzung zum Nachweis von RNA-Viren in erkrankten Bäumen wurden daher einerseits Methoden zur spezifischen Isolierung von Doppelstrang-RNA, die Replikationsintermediate von RNA-Viren darstellt, aus Birkenblättern erprobt; Andererseits wurden verschiedene Methoden zur Gesamtnukleinsäure-Isolierung aus Birkenmaterial miteinander verglichen. Nachfolgend wurde die Eignung der Nukleinsäure-Präparationen zur molekularen Detektion von Viren in erkrankten Birken am Beispiel des *CLRV* geprüft.

Doppelstrang RNA konnte aus Blattmaterial einer Birke mit der auf CF11-Cellulose beruhenden Methode nach TZANETAKIS und MARTIN (2008) isoliert werden. Vier weitere dsRNA-Isolierungsmethoden mit verschiedenen Extraktionspuffern waren dagegen nicht geeignet, ebenso wie aus Gesamt-Nukleinsäure-Isolierungen keine dsRNA nachweisbar war. Weder nach DNase 1-Verdau und Abbau von ssRNA mittels RNase A in Gegenwart von 300 mM mgCl<sub>2</sub> (Hochsalzbedingungen) waren dsRNA's im Agarosegel darstellbar, noch mittels dsRNA-spezifischer monoklonaler Antikörper im Elektrolot Immunoassay (EBIA) aus Gesamt-RNA detektierbar. Weiterhin konnte für *B. pubescens* und *B. pendula* eine geeignete Gesamt-RNA-Isolierungsmethode zum Nachweis von Pflanzenviren etabliert werden. Sowohl das Invitrap Spin Plant RNA Mini Kit (Invitex) als auch eine modifizierte Gesamt-Nukleinsäure-Isolierung nach Boom et al. (1990) waren geeignete Methoden, RNA in ausreichender Qualität und Quantität aus 100 mg Blattmaterial zu isolieren. Diese Verfahren erlaubten den RT-PCR basierten Nachweis von *CLRV* aus infizierten Birkenblättern.

Literatur

VON BARGEN, S., GRUBITS, E., BÜTTNER, C., JALKANEN, R., 2009: *Silva Fennica* 43, 727 - 738.

BOOM, R., SOL, C. J. A., SALIMANS, M. M. M., JANSEN, C. L., WERTHEIM-VAN DILLEN, P. M. E., VAN DER NOORDAA, J., 1990: *Journal of Clinical Microbiology* 28, 495 - 503.

JALKANEN, R., BÜTTNER, C., VON BARGEN, S., 2007: *Silva Fennica* 41, 755 - 762.

TZANETAKIS, I. E., MARTIN, R. R., 2008: *Journal of Virological Methods* 149, 167 - 170.