

Variabilität Protein-kodierender Genombereiche des *Cherry leaf roll virus*

Juliane Langer, Artemis Rumbou, Jana Gentkow, Susanne von Bargaen, Carmen Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät,
Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften,
Fachgebiet Phytomedizin; Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin
phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

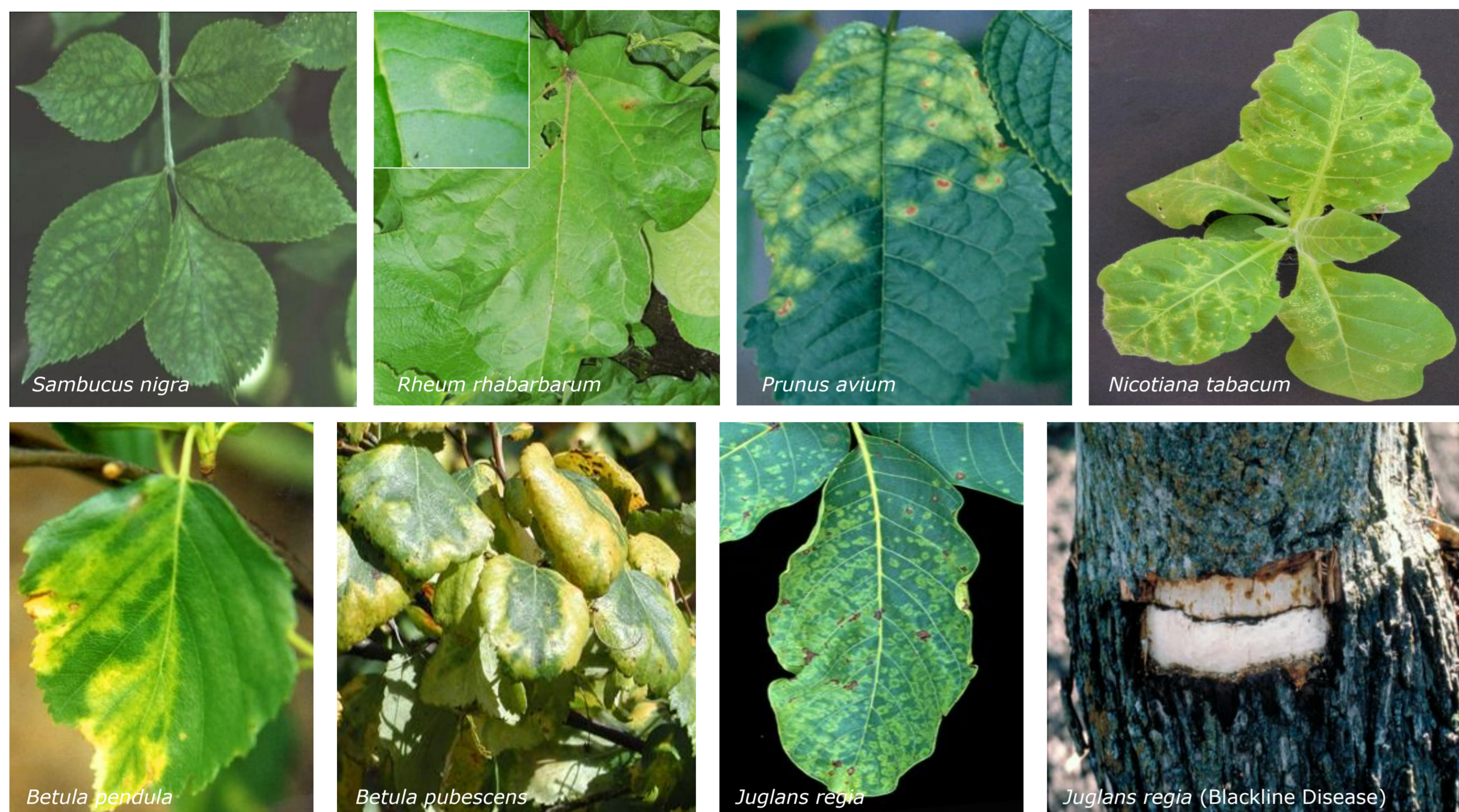


CLRV-Wirtspflanzenkreis

Cherry leaf roll virus (CLRV) ist ein geographisch weit verbreitetes Pflanzenpathogen, das eine Vielzahl verschiedener Wirtspflanzenarten aus **bislang 26, vornehmlich holzigen, Pflanzengattungen** natürlich infiziert.

Die enorme Anpassungsfähigkeit des CLRV birgt phytosanitäre Risiken mit sowohl ökologischer als auch ökonomischer Bedeutung.

Hinsichtlich dessen ist das CLRV beispielsweise in verschiedene Zertifizierungsprogramme [z.B. *Rubus* (OEPP/EPPO 1994), *Sambucus* (EPPO 2008), *Olea europaea* (EPPO 2006)] für Virus-freies Pflanzenmaterial aufgenommen worden.

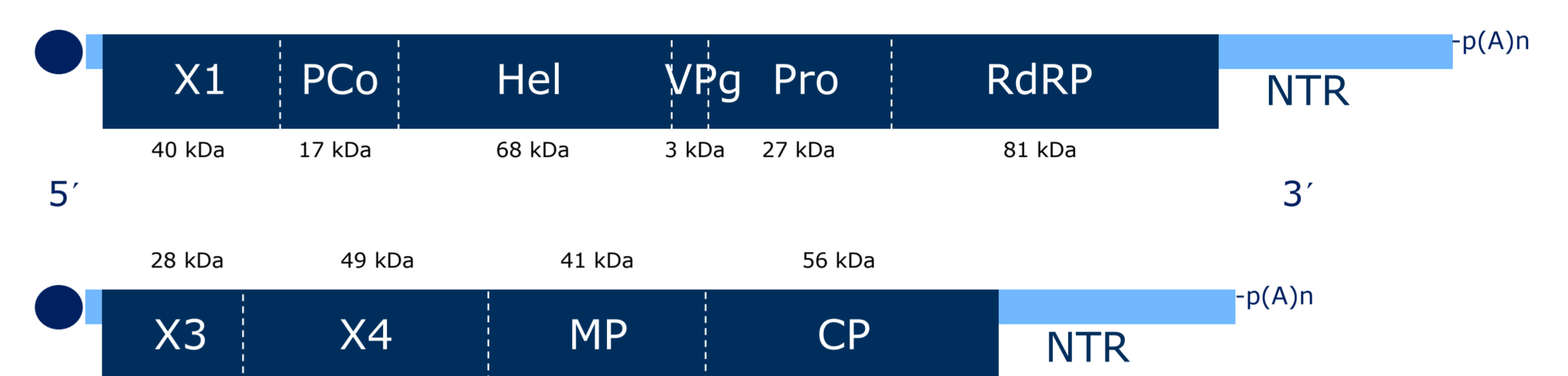


CLRV-Genomorganisation

Das CLRV gehört zur Gattung *Nepovirus*, Familie *Secoviridae* innerhalb der Ordnung *Picornavirales*. Die zwei einzelsträngigen RNA-Moleküle sind am 3' Ende polyadenyliert und am 5' Ende an das VPg kovalent gebunden. Beide RNAs weisen jeweils einen offenen Leserahmen auf, der durch eine 5' und eine 3' nicht-translatierte Region (**NTR**) begrenzt ist. Die RNA1 kodiert für einen Protease Cofaktor (**PCo**), ein NTP-bindendes Protein (**Hel**), das **VPg**, eine Protease (**Pro**) und eine RNA-abhängige RNA-Polymerase (**RdRP**). Die RNA2 kodiert für das Transportprotein (**MP**) und ein Hüllprotein (**CP**), sowie für Proteine, über deren Funktion bisher wenig bekannt ist (X). Die CLRV-kodierten Proteine werden als **Polyprotein** translatiert und nachfolgend durch die virale Protease in die funktionellen Einheiten gespalten.

CLRV-Rhabarber-Isolat (E395)

RNA1, 7918 nt (ORF: nt 12-6350; Polyprotein 1: 2112 aa, 236 kDa)



RNA2, 6360 nt (ORF: nt 12-4781; Polyprotein 2: 1589 aa, 175 kDa)

Genetische Diversität repräsentativer Genomregionen verschiedener CLRV-Isolate

Die genetische Variabilität des CLRV wurde anhand der RNA1-kodierten Proteine VPg, Protease, RNA-Polymerase, des RNA2-kodierten Hüllproteins und der RNA1- und RNA2-spezifischen 3' nicht-translatierten Regionen von CLRV-Isolaten aus verschiedenen Wirtspflanzen bestimmt.

Das Verhältnis von synonymen zu nicht-synonymen Nukleotidsubstitutionen, das bei den untersuchten CLRV-Proteinen weit über dem Wert 1 liegt (**dS/dN > 1**), weist auf einen **hohen negativen Selektionsdruck** hin. Dabei unterliegt die Protease mit einem dS/dN von 78,91 offenbar dem stärksten Selektionsdruck

		VPg	Protease	RdRP	CP	3' NTR
		5 CLRV-Isolate	5 CLRV-Isolate	6 CLRV-Isolate	15 CLRV-Isolate	8 CLRV-Isolate
Größe	nt	87	723	2163/2166	1539/1542	1538-1600
	aa	29	241	720/721	512/513	
Diversität (%)	nt	9.2-31.1	9.6-25.1	4.4-24.3	0.1-22.7	4.3-26.3
	aa	0-10.4	3.0-12.5	3.4-16.5	0.2-15.1	
dS/dN		21.69	78.91	12.63	19.39	

Fazit

Offenbar ist die Evolution der Protease des CLRV sehr stark eingeschränkt.

Funktionelle Interaktionen des VPg, der RdRP und des CP mit möglicherweise spezifischen Faktoren der Wirtspflanzenart könnten eine höhere Variabilität der entsprechenden kodierenden Genombereiche bedingen.

Der Grad der CLRV-Wirt-Coevolution sowie der Übertragungsweg (vertikal/horizontal) von CLRV-Populationen zwischen den Wirtspflanzen könnten zudem auch CLRV-Isolat-spezifische genetische Variabilitäten in verschiedenen Genombereichen beeinflussen.

Diversität der Quasispezies individueller CLRV-Isolate am Beispiel der 3' NTRs

Die Quasispezies individueller CLRV-Isolate wurde hinsichtlich der Diversität innerhalb der RNA1- und RNA2-spezifischen 3' NTRs von drei unabhängigen RNA-Populationen untersucht. Demnach sind CLRV-Isolat-spezifische **3' NTRs sehr konserviert** und weisen insgesamt nur 0,6-4,3% Nukleotidsequenzunterschiede auf.

Deutliche Unterschiede zwischen den CLRV-Isolaten waren aber in der Häufigkeit von gering diversen Sequenzvarianten zu verzeichnen. Höchste Homogenität zeigte ein **Walnuss-Isolat mit 5%** Sequenzvarianten relativ zur Anzahl der untersuchten 3' NTRs, im Gegensatz zu einem **Holunder-Isolat mit 41,5%**.

CLRV-Isolate	3' NTR	Klone aus 3 RNA-Pop.	3' NTR-Diversität %	3' NTR-Varianten (%)	3' NTR-Diversität (%) RNA1/RNA2
Walnuss E326	RNA1	30	0.6-0.9	5% (60)	0.6-1.9
	RNA2	30	0.1-0.8		
Kirsche E327	RNA1	30	0.5-1.0	9% (50)	2.6-3.3
	RNA2	20	0.8-1.4		
Rhabarber E395	RNA1	30	0.3-1.6	11% (53)	1.9-3.9
	RNA2	23	1.4-4.5		
Holunder E603	RNA1	15	0.4-1.3	41.5% (41)	1.6-3.7
	RNA2	26	0.2-2.1		
Himbeere E802	RNA1	25	0.7-1.1	23.5% (47)	0.9-4.3
	RNA2	22	0.5-3.7		

Danksagung

Die Arbeiten zur molekularbiologischen Charakterisierung des CLRV wurden finanziell durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, BU 890/8-1, 8-2, Bu 890/12-1) unterstützt.