

Lokalisation des *Cherry leaf roll virus* (CLRV) in Blütenständen der Hänge-Birke (*Betula pendula*)



Luise Dierker, Susanne von Bargaen, Carmen Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin
phytomedin@agr.ar.hu-berlin.de

Die natürliche Verbreitung des *Cherry leaf roll virus* der Gattung *Nepovirus* kann vertikal durch Saatgut und horizontal durch Pollen erfolgen. Etwa 20 % aller Pflanzenviren sind durch Samen übertragbar (Maule und Wang, 1996), so dass dieser Übertragungsweg von großer epidemiologischer Relevanz ist. Die Hänge-

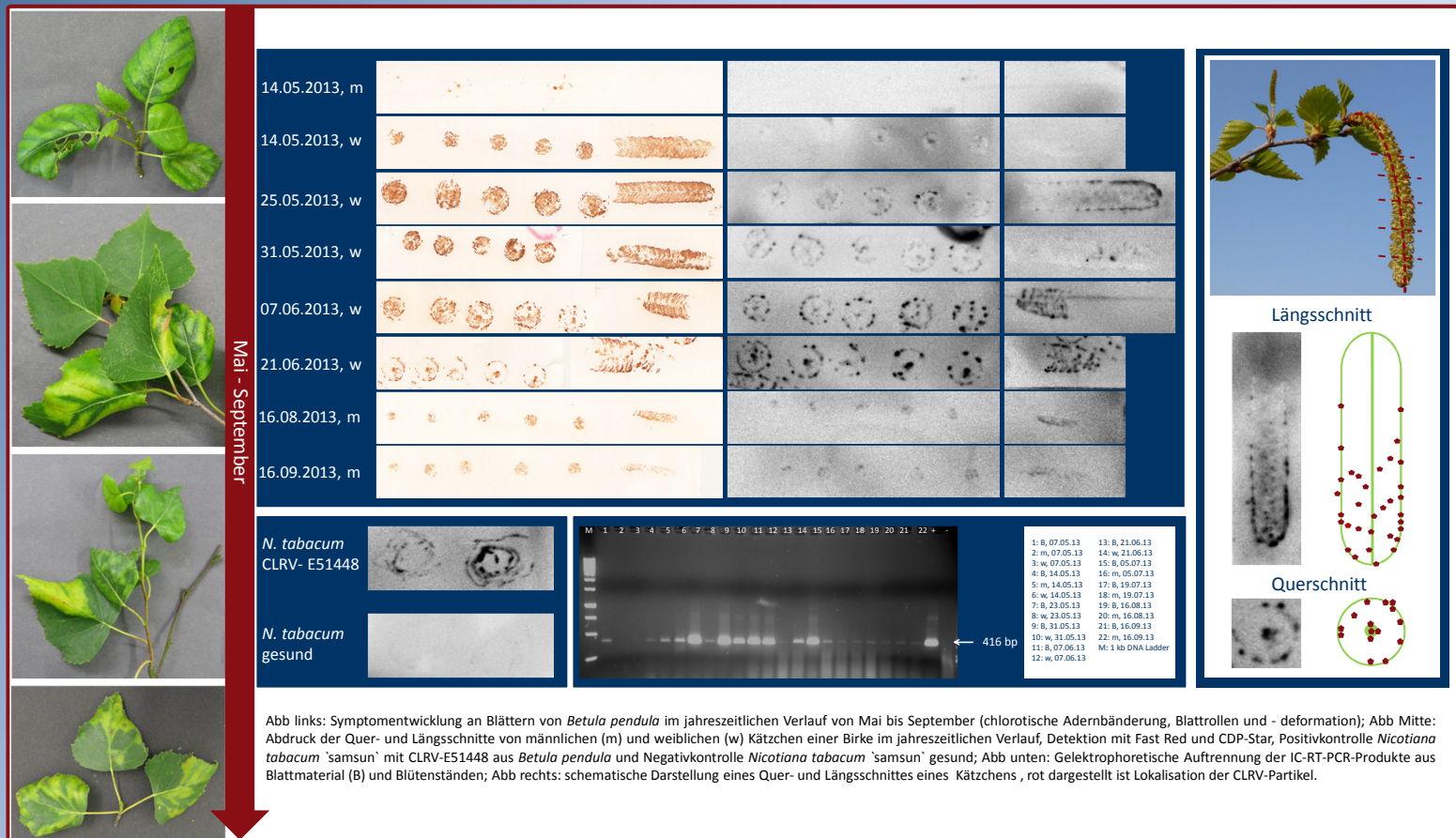
Birke (*Betula pendula*) ist als Wirtspflanze des CLRV ökonomisch und ökologisch bedeutend. Sie ist monözisch und produziert große Mengen an Pollen bzw. Samen. Initiale Studien mit Blütenständen sollten Hinweise zur Lokalisation des Virus in männlichen und weiblichen Blütenständen geben.

MATERIAL UND METHODEN

- Tissue Printing mit männlichen und weiblichen Blütenständen von *Betula pendula*
 - Probenahme im jahreszeitlichen Verlauf von Blattmaterial sowie männlichen und weiblichen Kätzchen von CLRV-infizierten Birken vom Standort Berlin-Dahlem
 - Applikation von fünf Querschnitten sowie einem Längsschnitt je Kätzchen auf Nitrocellulose
 - Applikation von Blattquerschnitten von gesunder *Nicotiana tabacum* 'samsun' sowie infiziert mit CLRV-E51448 aus *Betula pendula*
 - Detektion des Virus mittels CLRV-spezifischem Antikörper-Konjugat (alkalische Phosphatase) und dem Chemilumineszenzsubstrat CDP-Star (Roche)
 - Colorimetrischer Nachweis mit Fast Red
- parallel CLRV-Nachweis in Blattmaterial sowie Blütenständen von Birke durch Amplifikation eines 416 bp Fragments der 3' nicht-translatierten Region (3' NTR) des CLRV mittels IC-RT-PCR (Werner et al., 1997)

ERGEBNISSE

- Zunahme der CLRV-typischen Blatt-Symptome im Jahresverlauf (Abb links)
- Bestätigung der CLRV-Infektion in den untersuchten Birken in der Vegetationsperiode mittels IC- RT-PCR (Abb unten)
- Detektion von CLRV mittels Tissue Printing sowohl in männlichen als auch in weiblichen Blütenständen (Abb Mitte)
- Lokalisation von CLRV-Partikeln in Querschnitten von Kätzchen (Abb Mitte)
 - ✓ zentral in den Leitgefäßen: Langstreckentransport
 - ✓ peripher an den Blütenständen
- Lokalisation von CLRV-Partikeln in Längsschnitten von Kätzchen (Abb Mitte)
 - ✓ unregelmäßige Verteilung des Virus entlang der Einzelblüten über die gesamte Fläche
- Signalstärke abhängig von Entwicklungsphase der Blütenstände
 - ✓ schwache Signale zu Beginn der Blütezeit in weiblichen Kätzchen
 - ✓ Zunahme der Signalstärke bis Juni
 - ✓ starke Signale in reifen männlichen Kätzchen
- Färbung mit Fast Red Färbung unspezifisch, eignete sich aber sehr gut zur Darstellung der Abdrücke auf der Membran



FAZIT

Mittels Tissue Printing ist die Lokalisation von CLRV-Partikeln in männlichen und weiblichen Blütenständen von *Betula pendula* möglich. Die Signalstärke ist abhängig von der Entwicklungsphase der männlichen und weiblichen Kätzchen. Diese Methode ist aufgrund der Lagerfähigkeit der Membran geeignet für Untersuchungen von Zeitverläufen.

AUSBLICK

Zur genaueren Lokalisierung des Virus können z.B. Ultradünnschnitte von CLRV-infiziertem Gewebe angefertigt und im Transmissionselektronenmikroskop mittels Immungold-markierter Antikörper sichtbar gemacht werden. Aktive Bereiche der viralen Replikation können mit Hilfe der *in situ*-Hybridisierung lokalisiert werden.

QUELLEN

Maule J.A., Wang, D. (1996): Trends in Microbiol 4, 153-158.
Werner R., Mühlbach H.P., Büttner C. (1997): J For Path 5, 309-318

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung dieses Projekts (BU 890/14-1).

