

## **Vergleich von molekularen und serologischen Eigenschaften verschiedener Kirschenblattrollvirus-Varianten**

### ***Comparison of molecular and serological characteristics of different Cherry leaf roll virus variants***

Gentkow, Jana; Rebenstorf, Kathrin; von Bargen, Susanne und Büttner, Carmen

Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin-Dahlem

phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Das Kirschenblattrollvirus (*Cherry leaf roll virus*, CLRV) ist ein weltweit verbreiteter Erreger an Obstgehölzen, Zier- und Gemüsepflanzen. Es besitzt ein bipartites, einzelsträngiges, positiv orientiertes RNA-Genom. Beide RNAs werden separat in isometrische Partikel eingehüllt. Aufgrund der langen, hochkonservierten, nichtkodierenden Region (1,5 kb) am 3'-Ende der RNA wird das Kirschenblattrollvirus der Subgruppe C der Gattung *Nepovirus* zugeordnet. Untersuchungen haben gezeigt, dass sich die verschiedenen CLRV-Stämme in ihren RNA-Sequenzen und ihren serologischen Eigenschaften unterscheiden. Die Untersuchung einer 280 bp langen Sequenz innerhalb des hochkonservierten Genomabschnitts am 3'-Ende teilte die dabei untersuchten CLRV-Isolate aus 17 Gehölzarten wirtspflanzenspezifisch in sieben verschiedene Gruppen ein, was durch serologische Untersuchungen bestätigt wurde (Rebenstorf 2005).

Acht ausgewählte CLRV-Isolate aus diesen Gruppen wurden hinsichtlich ihrer biologischen, molekularbiologischen und serologischen Eigenschaften untersucht. Zum Vergleich der Symptome einer CLRV-Infektion wurden Pflanzen der Art *Chenopodium quinoa* mit den verschiedenen CLRV-Isolaten infiziert und bonitiert. Alle CLRV-Isolate verursachten innerhalb von fünf Tagen deutliche Symptome wie chlorotische und nekrotische Lokalläsionen auf den inokulierten Blättern und breiteten sich systemisch in *C. quinoa* aus. Aus den infizierten Pflanzen wurden die Viruspartikel aufgereinigt. Zur Ermittlung der Gesamtgenomlänge wurden zwei ausgewählte gereinigte CLRV-Isolate unter denaturierenden Bedingungen elektrophoretisch nach Größe getrennt. Für die CLRV-RNA1 wurde eine Länge 8,17 kb errechnet, die Länge von CLRV-RNA2 betrug 6,59 kb. Unterschiede in der Größe des Hüllproteins konnten durch SDS-PAGE nicht festgestellt werden; die Molekülmasse der Hüllproteine der acht untersuchten CLRV-Isolate betrug einheitlich 52,4 kDa. Für die serologischen Untersuchungen wurde ein polyklonales Antiserum gegen ein CLRV-Isolat aus Holunder hergestellt. Dieses Antiserum wurde zum Test mehrerer CLRV-Isolate im Double Antibody Sandwich (DAS)-ELISA und Western Blot eingesetzt. Mit Hilfe des Antiserums konnten aufgereinigte CLRV-Isolate im Western Blot nachgewiesen werden und bestätigten die

durch die SDS-PAGE ermittelte Molekülmasse für das CLRV-Hüllprotein. Die Ergebnisse des DAS-ELISA weisen jedoch auf serologische Unterschiede der verschiedenen Isolate hin, da sich mit dem Antiserum gegen CLRV aus Holunder lediglich zehn der zwanzig untersuchten Isolate nachweisen ließen. Zur weiteren Charakterisierung des CLRV-Hüllproteins wurden Hüllproteinsequenzfragmente von vier CLRV-Isolaten aus unterschiedlichen Gruppen sequenziert und miteinander sowie mit weiteren CLRV-Hüllproteinsequenzen verglichen. Die Ergebnisse bestätigen die Gruppierung der CLRV-Isolate abhängig von der Original-Wirtspflanzenart.

#### Literatur:

Rebenstorf K (2005) Untersuchungen zur Epidemiologie des *Cherry leaf roll virus* (CLRV): genetische und serologische Diversität in Abhängigkeit von der Wirtspflanzenart und der geographischen Herkunft. Dissertation, Humboldt-Universität zu Berlin