

## **Klonierung viraler dsRNA aus Stieleichen (*Quercus robur* L.)**

### ***Cloning of viral dsRNA extracted from common oak (Quercus robur L.)***

Hahn, Sabine; von Barga, Susanne; Bandte, Martina; Büttner, Carmen

Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin

Von virusverdächtigen Blattsymptomen wie Mosaik, Scheckungen und chlorotischen Ringflecken an Eichen wird seit Mitte der 60er Jahre regelmäßig berichtet (SCHMELZER et al., 1966). Dabei tritt an Stieleichen das Symptombild der chlorotischen Ringflecken am häufigsten auf. Sowohl die Symptomausprägung als auch die Pfropfübertragbarkeit deuten auf eine Infektion mit Viren hin (BÜTTNER & FÜHRLING, 1996). Eine Charakterisierung des Erregers mit serologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen war nicht erfolgreich. Daher wurde der Versuch unternommen eine Identifizierung und Charakterisierung mit Hilfe molekularbiologischer Techniken vorzunehmen. In aktuellen Untersuchungen wurde ein Nachweis basierend auf der Isolierung und Charakterisierung von viraler Doppelstrang (ds)RNA geprüft.

Unabhängig von der Symptomausprägung konnte aus Blättern, Rinde und Knospen von Stieleichen dsRNA der Größen 2,0/1,8 kb sowie 1,5/1,4 kb isoliert werden. Die Größe der dsRNA-Moleküle, das Vorliegen als Doppelbande und der Nachweis in symptomlosen Stieleichen deuten auf eine Infektion mit kryptischen Viren hin. Mit Hilfe der DOP-PCR und cDNA-Synthese gelang es, Fragmente der 1,5/1,4 kb dsRNA partiell zu klonieren. Im Vergleich mit veröffentlichten Sequenzen in Nukleinsäure Datenbanken (NCBI, ClustalW) zeigten drei klonierte dsRNA-Fragmente unterschiedlicher Stieleichenblattproben Übereinstimmungen von 61-67 % mit dem hochkonservierten Bereich einer RNA abhängigen RNA Polymerase (RdRp) des *Beet cryptic virus* 3 (BCV 3) (XIE et al., 1993). Eine ähnlich hohe Übereinstimmung wurde zur dsRNA isoliert aus *Pyrus* (OSAKI et al., 1998) gefunden. Nach Genomanalysen und Verwandtschaftsstudien konnte das Agens aus Stieleichen-assoziiierter dsRNA den Partitiviren zugeordnet werden, denen ebenso verschiedene kryptische Viren angehören. Dieses Ergebnis unterstützt die Vermutung, dass es sich bei der isolierten dsRNA, die als Doppelbande auftritt, um genomische dsRNA kryptischer Viren handeln könnte. Um jedoch das Vorkommen kryptischer Viren in Stieleichen beweisen zu können, müssen in noch anzustellenden Versuchen Viruspartikeln auch in symptomfreiem Pflanzenmaterial elektronenoptisch dargestellt und dsRNA aus diesen isoliert werden.

Weitere dsRNA-Fragmente von 3,5 kb sowie 5,0 kb und 1,7 kb wurden in Rindengewebe bzw. Blättern einer erkrankten Stieleiche gefunden. Diese hochmolekularen dsRNAs zeigten eine zusätzliche Kontamination mit phytopathogenen Viren an, die bisher nicht charakterisiert werden konnten.

Literatur:

- Büttner, C., Führling, M. (1996): Studies on Virusinfections of diseased *Quercus robur* (L.) from forest stands in Northern Germany. *Ann. Scien. For.* 53, 383-388
- Schmelzer, K., Schmidt, H. E., Schmidt, H. B. (1966): Viruskrankheiten und virusverdächtige Erscheinungen in Forstgehölzen. *Arch. Forstwesen* 15/2, 107-120
- Osaki, H., Kudo, A., Ohtsu, Y. (1998): Nucleotide sequence of seed and pollen transmitted double-stranded RNA, which encodes a putative RNA-dependent RNA polymerase. Detected from Japanese pear. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62/11, 2101-2106
- Xie, W.S., Antoniw, J.W., White, R.F. (1993): Nucleotide sequence of *beet cryptic virus 3 dsRNA2* which encodes a putative RNA-dependent RNA polymerase, *J. of Gen. Virol.*, 74, 1467-1470