

Genetische Variabilität von *Cherry leaf roll virus (CLRV)*-Isolaten aus unterschiedlichen Wirtspflanzen

J. Langer, S. von Bargaen, J. Gentkow, A. Rumbou und C. Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55-57, 14195 Berlin - phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Projektförderung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)



EINFÜHRUNG

Das *Cherry leaf roll nepovirus (CLRV)*, ein Vertreter der Familie *Comoviridae*, ist ein weltweit verbreiteter Erreger an Laub- und Obstgehölzen, Zier- und Gemüsepflanzen.

Der ausgesprochen weite Wirtspflanzenkreis des CLRV weist auf eine schnelle Anpassungsfähigkeit an verschiedene Wirtspflanzen und damit auf eine genetische Diversität zwischen CLRV-Isolaten verschiedener Herkünfte hin.

Die Analyse einer 375 bp langen Sequenz der 3'-non coding region (3'NCR) von 56 CLRV-Proben aus 19 Wirtspflanzenarten ergab eine Einteilung in sechs phylogenetische Hauptgruppen, die mit der serologischen Gruppierung von 24 Isolaten zum großen Teil übereinstimmen und den Einfluss der Wirtspflanzenart auf die genetische Struktur von CLRV-Populationen nahe legen.

Auf dieser Grundlage wird sukzessiv das Genom ausgewählter CLRV-Isolate sequenziert und die genetische Variabilität der einzelnen kodierenden und nicht kodierenden Genomregionen untersucht.

ERGEBNISSE

RdRP

In einem 523 Nukleotide umfassenden Teilbereich der RdRP-kodierenden Sequenz der RNA1 von fünf CLRV-Isolaten ergaben sich Sequenzdiversitäten zwischen 3-23 %

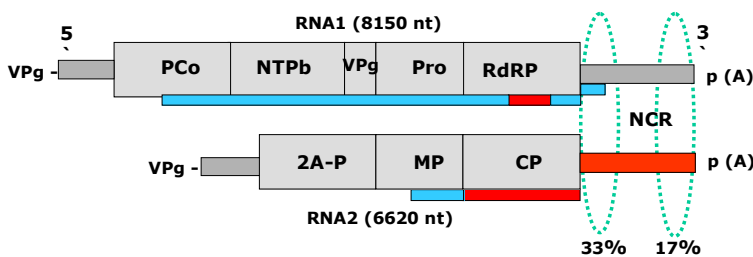


Abb.1: Genomorganisation des CLRV

PCo= Protease Cofaktor, NTPb= NTP-bindendes Protein, VPg= Genom-gekoppeltes virales Protein, Pro= Protease, 2A-P unbekannte Funktion, RdRP= RNA-abhängige RNA-Polymerase, MP= Transportprotein, CP Hüllprotein, NCR= nichtkodierende Region, analysierter Genombereich ■, sequenzierter Genombereich einzelner Isolate ■

Tab.1: Genetische Distanz innerhalb und zwischen phylogenetischen Gruppen, errechnet aus dem Vergleich der Hüllproteinsequenzen (1539-1542 nt bzw. 512-513 aa) von 12 CLRV-Isolaten

Phylogenetische Gruppen (Anz. Gruppenmitglieder)	Nukleotidsequenz	Aminosäuresequenz
Intra-Gruppen-Sequenzdiversitäten		
Birken-Gruppe (3)	8 - 9 %	3 - 4 %
Walnuss-Gruppe (5)	1 - 4 %	1 - 4 %
Holunder-Gruppe (4)	1 - 11 %	1 - 4 %
Inter-Gruppen-Sequenzdiversitäten		
Birke-Walnuss	20 - 22 %	13 - 15 %
Birke-Holunder	22 - 23 %	13 - 14 %
Walnuss-Holunder	16 - 17 %	8 - 9 %

Fazit

Die phylogenetische Analyse der bisher untersuchten Genomabschnitte von insgesamt 12 unterschiedlichen CLRV-Isolaten bestätigt grundsätzlich die Gruppierung nach der Wirtspflanzenart. Eine Ausnahme bildet allerdings ein Himbeer-Isolat, welches sich nach Analyse der Hüllproteinsequenz (**Abb.2**) sowie der serologischen Reaktivität in eine andere phylogenetische Gruppe einordnet als auf der Basis des 375 bp langen Fragments der 3'NCR. Somit könnte es sich hierbei um eine natürliche Rekombinante handeln.

3' NCR-Region

Aus dem Vergleich der gesamten 3'NCR der RNA2 (1557-1602 nt) von sechs CLRV-Isolaten wurden Unterschiede zwischen 4-23 % errechnet. Im Gegensatz zur Hüllproteinsequenz weist die 3'NCR des CLRV einen hochkonservierten Sequenzabschnitt (**Abb.1**) mit max. 17 % Sequenzdiversität im 3'proximalen Drittel und einen variablen Bereich mit bis 25 % im mittleren Teil bzw. bis 33 % im - dem kodierenden Genombereich angrenzenden- ersten Drittel der 3'NCR auf. Aus 3'-NCR-Sequenzfragmenten der RNA1 verschiedener CLRV-Isolate lässt sich ableiten, dass die nicht kodierenden Genombereiche beider RNAs eines Isolats nicht identisch sind. Dies bestätigte die Analyse der vollständigen 3'NCR eines CLRV-Birkenisolats (S84124/25) sowie zweier Vertreter der Gattung *Nepovirus*, dem *Tomato ringspot virus* (M27935/36) und *Black currant reversion virus* (AF368272, AF321564), bei denen die Sequenzunterschiede zwischen den beiden RNAs 1 bzw. 7 % betragen.

CP-Region

Der Hüllprotein-kodierende Genombereich der RNA2 konnte für acht CLRV-Isolate sequenziert werden und weist eine Länge von 1539-1542 nt auf, was einer Polypeptidkette der Hüllproteine von 512 bzw. 513 aa entspricht. Der Sequenzvergleich mit vier Isolaten aus der Datenbank ergab auf Nukleotidebene Unterschiede zwischen 1-23 %, auf Aminosäureebene zwischen 1-15 % (**Tab.1**).

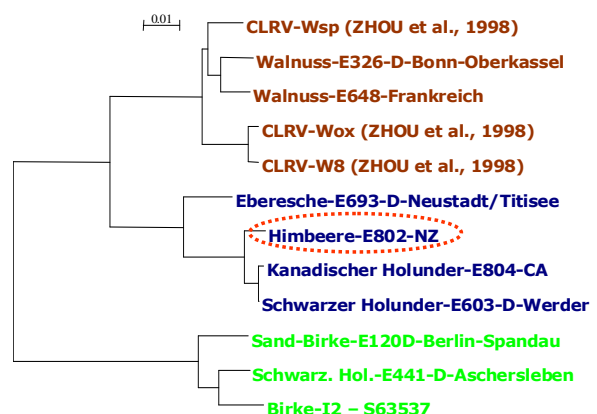


Abb.2: Phylogenetische Analyse der 512 bzw. 513 aa langen CLRV-Hüllproteinsequenz von 12 Isolaten