

Genomorganisation eines neuartigen Emaravirus in Stieleiche (*Quercus robur* L.)



Rehnek M, von Bergen S, Bandte M, Büttner C

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Abteilung Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D 14195 Berlin, Email: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

An Stieleichen (*Quercus robur* L.) wurden in frühen Studien virusverdächtige Symptome wie chlorotische Ringflecken und Scheckungen beobachtet [1]. Diese Symptome sind auch heutzutage häufig anzutreffen [2]. Mit Hilfe der Hochdurchsatzsequenzierung (NGS, Illumina RNaseq) wurde das Virom einer erkrankten Stieleiche untersucht. Es wurden Contigs in assemblierten Sequenzdaten identifiziert, die größte Ähnlichkeit zu 4 Genomsegmenten von Emaraviren aufwies ([3]; Abb. 1).



Abb. 1: Workflow zur Identifikation des neuartigen Emaravirus, aus 1) Gesamt-RNA-Isolierung, 2) Hochdurchsatzsequenzierung, 3) bioinformatische Analyse der generierten Daten und 4) Abgleich mit Referenzsequenzen. Die identifizierten vier Genomsegmente kodieren für jeweils ein virus-spezifisches Protein wie angegeben: MP - Transportprotein

Assoziation des Virusnachweises mit beobachteten Symptomen

Gesammeltes Blattmaterial von erkrankten Stieleichen (Abb. 2, n = 139) wurde auf die Infektion mit dem Virus getestet. Dazu wurden diagnostische PCRs mit spezifischen Primern zur Detektion der identifizierten 4 Genomsegmente entwickelt (Tab. 1).



Abb. 2: Probenorte mit erkrankten Blättern. Darstellung verschiedener Probenortstandorte, inklusive einer Sättelingsparzelle (a), Parkplatz (b), Parkanlagen (c und f) und Forststandorten (d, e und g) in mehreren europäischen Ländern

Proben (n)	Standort*	RNA 1	RNA 2	RNA 3	RNA 4
chlorotische Ringflecken (122)	D (Fo, Ha, Pr) S (Asp, Fo, Gu, HoK, KP, SA, VI) N (As, Hu)	108/122	79/115	118/121	118/122
Symptomlos (17)	D (Fo, Fo) S (Asp, Gu, SA, VI) N (Hu)	2/17	0/17	0/17	0/17

*D = Deutschland (Be = Berlin, Fe = Fellinghausen, Ha = Herz, Pr = Pfarrow)
N = Norwegen (As = Ås, Hu = Hurn)
S = Schweden (Asp = Aaspberg, Fo = Fossum, Gu = Gustavberg, HoK = Holms kyrka, KP = Kottneros Park, SÅ = Sjöfälla, VI = Viljokka)

Tab. 1: Detektion des neuartigen Emaravirus in Proben von Blättern durch virus-spezifische RT-PCR zur Detektion verschiedener RNAs

Amplifikation vollständiger Genomsegmente

Die Sequenzinformationen der identifizierten Genomsegmente wurden durch eine Vollängen-PCR mit Emaravirus-spezifischen terminalen Primern vervollständigt [4]. Für erkrankte Stieleichen mit chlorotischen Ringflecken konnten mehrere Banden detektiert werden, die mit den erwarteten Größen der Genomsegmente korrelieren (Abb. 3). Amplifizierte Fragmente wurden kloniert, sequenziert und die Längen der RNAs bestimmt. Dabei wurde ein fünftes Genomsegmente identifiziert, das ebenfalls mit erkrankten Stieleichen assoziiert ist (Tab. 2).

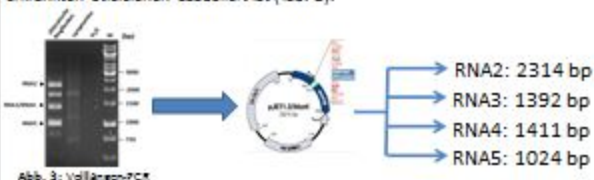


Abb. 3: Vollängen-PCR

Tab. 2: RT-PCR zur Detektion der RNAs in erkrankten Blättern

Proben (n)	Detektion RNAs
Chlorotische Ringflecken (122)	112/115
Symptomlos (17)	0/14

Zusammenfassung

In Stieleichen tritt ein neuartiger Vertreter der Emaraviren auf. Das Virus ist mit chlorotischen Ringflecken und Scheckungen an den Eichenblättern korreliert. Betroffen sind Bäume der verschiedensten Habitate (Abb. 2). Das Virus lässt sich in erkrankten Eichen durch spezifische RT-PCRs zur Detektion aller viralen Genomsegmente nachweisen (Tab. 1; Tab. 2, n = 139). Der erfolgreiche Virusnachweis in mehreren deutschen, schwedischen und norwegischen Standorten legt eine weite Verbreitung des putativ neuen Emaravirus nahe. Neben den vier im NGS identifizierten RNAs enthält das Virus mindestens ein weiteres Genomsegment, das für ein Protein unbekannter Funktion kodiert.