

Erster Nachweis von CLRV und EMARAV in Laubgehölzen in Schweden

First report of CLRV and EMARAV in deciduous trees in Sweden

Susanne von Barga^{1*}, Nick Arndt¹, Luise Dierker¹, Risto Jalkanen² und Carmen Büttner¹

Einleitung

In Schweden zählen Birken (*Betula* spp.) und Ebereschen (*Sorbus aucuparia*) zu den nativen Laubhölzern, die aufgrund ihrer Frosthärte in Europa auch bis zur nördlichsten Baumgrenze verbreitet sind. Die Vertreter beider Taxa sind wichtige Pioniergehölze, deren Vorhandensein wesentlich zur Diversität von Fauna und Flora z.B. im Zuge der natürlichen Sukzession von Lichtungen in den Koniferen-dominierten Wäldern der borealen Zone Skandinaviens beiträgt. Symptome einer Infektion, wie sie durch das *Cherry leaf roll virus* (CLRV) verursacht werden, wurden bereits an Birken in Nordschweden beschrieben (JALKANEN et al. 2007). Ebenso wurden Ringfleckensymptome, die mit dem *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV) assoziiert sind, an Ebereschen in der Region Norrbotten festgestellt (VALKONEN und RÄNNÄLI 2010). Bisher konnte keines der beiden Viren in Schweden nachgewiesen werden.

Material und Methoden

Im Sommer 2010 wurden Blattproben zweier *Betula*-Arten (*B. pendula* und *B. pubescens*) sowie Ebereschen mit Virus-verdächtigen Symptomen von verschiedenen schwedischen Standorten mittels „immunocapture-reverse transcription-polymerase chain reaction“ (IC-RT-PCR) auf eine Infektion mit CLRV untersucht. Verwendet wurden universelle CLRV-Primer (WERNER et al. 1997), die ca. 420 bp des hochkonservierten C-Terminus des bipartiten CLRV-Genoms bzw. RNA2-spezifische Primer, die einen Teil des Hüllprotein-kodierenden Bereichs amplifizieren (VON BARGEN et al. 2009). Zudem wurde aus den Ebereschen Gesamt-RNA isoliert und nach cDNA-Synthese mittels random hexamer Primer durch spezifische Primerpaare (MIELKE et al. 2008) die vier genomischen RNAs des EMARAV detektiert. Amplifizierte Fragmente wurden gereinigt und sequenziert.

Ergebnisse und Diskussion

Elf untersuchte Birken von neun verschiedenen Standorten wiesen unabhängig von der Art Scheckungen und Rollen, chlorotische und nekrotische Linienmuster, Ringflecken und oder Adernbänderungen der Blätter auf. Fiederblätter der 14 in Schweden beprobten Ebereschen (fünf Standorte) zeigten chlorotische Ringflecken und Linienmuster sowie Scheckungen.

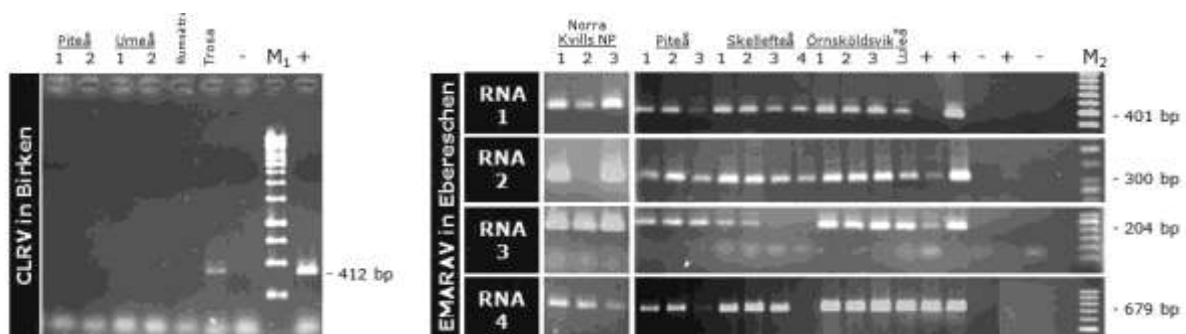


Abbildung 1: Links: CLRV-Nachweis mittels IC-RT-PCR in 6 *Betula* sp. von vier verschiedenen Standorten (Piteå, Umeå, Rumsätra, Trosa) in Schweden unter Verwendung der universellen CLRV-Primer. Rechts: Nachweis der viralen RNA1 bis RNA4 des EMARAV mittels RT-PCR in 14 Ebereschen von 5 verschiedenen Standorten (Norra Kvills NP, Piteå, Skellefteå, Örnköldsvik, Luleå).

CLRV-spezifische Genombereiche der 3´nicht-kodierenden Region (3´NCR) und des Hüllproteins ließen sich in einer der 11 getesteten Birken nachweisen. Alle 14 untersuchten Ebereschen der fünf Standorte (Norra Kvills NP, Piteå, Skellefteå, Örnköldsvik, Luleå) waren mit EMARAV infiziert (Abbildung 1). Es konnte keine CLRV-Infektion in Ebereschen detektiert werden, obwohl das Virus in dieser Baumart bereits nachgewiesen wurde (REBENSTORF et al. 2006). Die Sequenzierung bestätigte die Infektion der Birke mit CLRV und den EMARAV-Nachweis in den Ebereschen und stellt somit den ersten Nachweis der beiden Virusspecies in Schweden dar.

Zusammenfassung

In Schweden zählen Birken (*Betula* spp.) und Ebereschen (*Sorbus aucuparia*) zu den nativen Laubbölkern, die aufgrund ihrer Frosthärte in Europa auch bis zur nördlichsten Baumgrenze verbreitet sind. Die Vertreter beider Taxa sind wichtige Pioniergehölze, deren Vorhandensein wesentlich zur Diversität von Fauna und Flora z.B. im Zuge der natürlichen Sukzession von Lichtungen in den Koniferen-dominierten Wäldern der borealen Zone Skandinaviens beiträgt.

Im Sommer 2010 wurden Blattproben zweier *Betula*-Arten (*B. pendula* und *B. pubescens*) sowie Ebereschen mit Virus-verdächtigen Symptomen von verschiedenen schwedischen Standorten mittels RT-PCR auf eine Infektion mit dem *Cherry leaf roll virus* (CLRV) bzw. dem *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV) untersucht. CLRV-spezifische Genombereiche der 3´ nicht-kodierenden Region sowie des Hüllproteins ließen sich in einer von 11 untersuchten Birken mit Blattrollen bzw. Chlorosen nachweisen. In keiner der 14 untersuchten Ebereschen mit Ringfleckensymptomen ließ sich CLRV detektieren. Dagegen waren alle Ebereschen mit EMARAV infiziert, wie durch die Amplifikation spezifischer Fragmente der viralen RNA1 bis RNA4 gezeigt werden konnte. Die Sequenzierung bestätigte die Infektion der Birke mit CLRV und den EMARAV-Nachweis in Ebereschen an verschiedenen Standorten in Nord- und Südschweden.

Abstract

Birches (*Betula* spp.) and rowans (*Sorbus aucuparia*) are native deciduous trees of Sweden, occurring up to the northern tree line, due to their frost hardiness. Both taxa contain important pioneer species thus contributing to the diversity of fauna and flora in succession zones of the boreal forest of Scandinavia usually dominated by conifers.

In summer 2010 leaf material exhibiting virus-like symptoms of two birch species (*B. pendula* and *B. pubescens*) as well as rowans were sampled in different locations in Sweden. Samples were evaluated for the infection with *Cherry leaf roll virus* (CLRV) and *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV) by RT-PCR. CLRV-specific genome fragments of the 3´non-coding region and the coat protein were detected in one out of 11 investigated birches exhibiting leaf roll and chloroses. In none of the rowan trees showing distinct ring spots on leaves CLRV could be detected. However, all 14 assayed *Sorbus aucuparia* samples were infected by EMARAV as was evident by amplification of specific fragments from viral RNA1 to RNA4. Sequencing of PCR-products confirmed the CLRV-infection of a single birch as well as the EMARAV-infection of rowans from different locations in northern and southern Sweden for the first time.

Danksagung

Wir bedanken uns bei Dr. Uta Effmert und Dr. Ralf Bastrop von der Universität Rostock für die Unterstützung bei der Probenahme in Südschweden. Finanziell wurden die Arbeiten durch die DFG (Förderkennzeichen: BU890/14-1) unterstützt. Dankenswerterweise dürfen wir unsere Arbeiten - seit Beginn der Großbaumaßnahmen an unserem Gebäude - am Julius Kühn-Institut in Dahlem durchführen.

Literatur

JALKANEN R, BÜTTNER C, VON BARGEN S, 2007: Cherry leaf roll virus, CLRV, abundant on *Betula pubescens* in Finland. *Silva Fennica* 41, 755-762.

MIELKE N, WEBER M, KHAN S, MÜHLBACH HP, 2008: Detection of European mountain ash ringspot-associated virus (EMARAV) in *Sorbus aucuparia* L. by a specific antiserum and reverse transcription-PCR. *Forest Pathology* 38, 371-380.

REBENSTORF K, CANDRESSE T, DULUCQ MJ, BÜTTNER C, OBERMEIER C, 2006: Host Species Dependent Population Structure of a Pollen-Borne Plant Virus, Cherry leaf roll virus. *Journal of Virology* 80, 2453-2462.

VALKONEN JPT, RÄNNÄLI M, 2010: First Report of European mountain ash ringpot-associated virus in *Sorbus aucuparia* from Eastern Karelia, Russia. *Plant Disease* 94, 921.

VON BARGEN S, ARNDT N, GRUBITS E, BÜTTNER C, JALKANEN R, 2009: Cherry leaf roll virus in birch – an old problem or an emerging virus in Finland? In: Feldmann F, Alford DV, Furk C: *Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors*, 242-250.

WERNER R, MÜHLBACH HP, BÜTTNER C, 1997: Detection of cherry leaf roll nepovirus (CLRV) in birch, beech and petunia by immuno-capture RT-PCR using a conserved primer pair. *European Journal of Forest Pathology* 27, 309-318.

Adressen der Autoren

¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, c/o JKI, Königin-Luise Straße 19, 14195 Berlin

² The Finnish Forest Research Institute Metla, Northern Research Unit, Eteläranta 55, FI-96300 Rovaniemi, Finland

* Ansprechpartner: DR. Susanne VON BARGEN, susanne.von.bargen@agrar.hu-berlin.de