

treten. Es dominieren die beiden Stämme *PVYNTN* und *PVYNW*. Im Rahmen eines Projekts zur Stammspezifizierung von *PVY* sind Hunderte von *PVY*-Blattsymptome an Augenstecklingspflanzen verschiedener Sorten fotografiert worden. Mit der visuellen Bonitur, wie sie bei der Beschaffenheitsprüfung von Kartoffelpflanzgut durchgeführt wird, erfolgte die Einstufung der Symptome in leichte und schwere Ausprägungsform.

Der *PVYNTN*-Stamm rief bei den untersuchten Sorten in gleicher Häufigkeit, jeweils nahezu zur Hälfte, sowohl schwere als auch leichte Symptome hervor. Bei *PVYNW*-infizierten Blättern konnte ebenfalls dieses Verhältnis festgestellt werden. An nur 0,7 Prozent der untersuchten, vom *NTN*-Stamm infizierten Blätter ließen sich keine Schadsymptome visuell erkennen. Diese latenten Infektionen lagen auch beim *NW*-Stamm auf dem sehr niedrigen Niveau von einem Prozent. Auch bei den in größerem Umfang beprobten Sorten wie 'Agría', 'Christa', 'Ditta', 'Fontane', 'Quarta', 'Nicola' und 'Selma' konnte keine Präferenz bei der Symptomstärke der genannten Stämme beobachtet werden. *PVYO* trat sehr selten und *PVYN* nicht auf, sodass hier hinsichtlich einer schwerpunktmäßigen Symptomausprägung keine Aussage gemacht werden kann. Das gewonnene Bildmaterial stellt eine Orientierung für die Bewertung der Intensität der Virusinfektion an Augenstecklingspflanzen im Rahmen der Beschaffenheitsprüfung dar. Es soll in einer Datenbank allgemein zugänglich verfügbar gemacht werden.

### 113-Mangelsdorff, A.<sup>1)</sup>; von Barga, S.<sup>1)</sup>; Jalkanen, R.<sup>2)</sup>; Büttner, C.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Humboldt-Universität zu Berlin

<sup>2)</sup> Finnish Forest Research Institute (Metla), Finnland

### Methoden zum Nachweis von RNA-Viren in Birkenarten verschiedener Standorte

*Methods for the detection of RNA viruses in birch species from different locations*

Birken sind Europaweit verbreitet und haben beispielsweise in Finnland eine große wirtschaftliche Bedeutung. Seit 10 Jahren werden dort landesweit zunehmend virus-verdächtige Symptome sowohl an Blättern der Hängebirke (*Betula pendula*) als auch der Moorbirke (*B. pubescens* subsp. *pubescens*) beobachtet. Diese äußern sich z. B. als Blattrollen, Chlorosen, und Adernbänderungen. Das *Cherry leaf roll virus (CLRV)* konnte mit diesen Symptomen in Verbindung gebracht werden (Jalkanen et al. 2007, von Barga et al. 2009), es ist jedoch denkbar, dass weitere RNA-Viren, die bisher noch nicht identifiziert wurden, an der Krankheit beteiligt sind.

Als Voraussetzung zum Nachweis von RNA-Viren in erkrankten Bäumen wurden daher einerseits Methoden zur spezifischen Isolierung von Doppelstrang-RNA, die Replikationsintermediate von RNA-Viren darstellt, aus Birkenblättern erprobt; Andererseits wurden verschiedene Methoden zur Gesamtnukleinsäure-Isolierung aus Birkenmaterial miteinander verglichen. Nachfolgend wurde die Eignung der Nukleinsäure-Präparationen zur molekularen Detektion von Viren in erkrankten Birken am Beispiel des *CLRV* geprüft.

Doppelstrang RNA konnte aus Blattmaterial einer Birke mit der auf CF11-Cellulose beruhenden Methode nach TZANETAKIS und MARTIN (2008) isoliert werden. Vier weitere dsRNA-Isolierungsmethoden mit verschiedenen Extraktionspuffern waren dagegen nicht geeignet, ebenso wie aus Gesamt-Nukleinsäure-Isolierungen keine dsRNA nachweisbar war. Weder nach DNase 1-Verdau und Abbau von ssRNA mittels RNase A in Gegenwart von 300 mM mgCl<sub>2</sub> (Hochsalzbedingungen) waren dsRNA's im Agarosegel darstellbar, noch mittels dsRNA-spezifischer monoklonaler Antikörper im Elektrolot Immunoassay (EBIA) aus Gesamt-RNA detektierbar. Weiterhin konnte für *B. pubescens* und *B. pendula* eine geeignete Gesamt-RNA-Isolierungsmethode zum Nachweis von Pflanzenviren etabliert werden. Sowohl das Invitrap Spin Plant RNA Mini Kit (Invitex) als auch eine modifizierte Gesamt-Nukleinsäure-Isolierung nach Boom et al. (1990) waren geeignete Methoden, RNA in ausreichender Qualität und Quantität aus 100 mg Blattmaterial zu isolieren. Diese Verfahren erlaubten den RT-PCR basierten Nachweis von *CLRV* aus infizierten Birkenblättern.

#### Literatur

VON BARGA, S., GRUBITS, E., BÜTTNER, C., JALKANEN, R., 2009: *Silva Fennica* 43, 727 - 738.

BOOM, R., SOL, C. J. A., SALIMANS, M. M. M., JANSEN, C. L., WERTHEIM-VAN DILLEN, P. M. E., VAN DER NOORDAA, J., 1990: *Journal of Clinical Microbiology* 28, 495 - 503.

JALKANEN, R., BÜTTNER, C., VON BARGA, S., 2007: *Silva Fennica* 41, 755 - 762.

TZANETAKIS, I. E., MARTIN, R. R., 2008: *Journal of Virological Methods* 149, 167 - 170.