

# Möglichkeiten zur Detektion des Kirschenblattrollvirus (CLRV) in Gehölzen durch serologische und molekulare Methoden

## Detection of Cherry leaf roll virus (CLRV) in woody plants by serological and molecular methods

*Dipl.-Biol. Jana Gentkow, Dr. Susanne von Bargaen,  
Dr. Kathrin Petrik, Prof. Dr. Carmen Büttner*

### Zusammenfassung

Geeignete Methoden zum Nachweis des Kirschenblattrollvirus in holzigen Wirtspflanzen werden vorgestellt. Es wurde ein IC-RT-PCR-Protokoll etabliert, das einen universellen und sehr empfindlichen Nachweis des Cherry leaf roll virus in Gehölzen ermöglicht und geeignet ist, eine große Anzahl von Proben zu untersuchen. Bei Einsatz eines CLRV-spezifischen polyklonalen Antikörpers, der gegen ein CLRV-Isolat aus Holunder hergestellt wurde, können mittels IC-RT-PCR CLRV-Isolate aus allen phylogenetischen Gruppen nachgewiesen werden. Wird dieser Antikörper im DAS-ELISA eingesetzt, ist aufgrund der unterschiedlichen Antikörperreaktion eine Differenzierung zwischen verschiedenen CLRV-Gruppen möglich.

### Summary

Different methods suitable for detection of Cherry leaf roll virus in woody host plants are presented and discussed. An IC-RT-PCR protocol providing a universal and sensitive detection of Cherry leaf roll virus in woody plants has been established, which proved its suitability in mass screening. By use of a polyclonal antibody raised against CLRV from elderberry in this protocol, all groups of CLRV isolates are detectable. If this antibody is applied in DAS-ELISA, CLRV isolates could be differentiated and clustered according to established groups.

## 1 Einleitung

Das Kirschenblattrollvirus (Cherry leaf roll virus, CLRV) infiziert eine Vielzahl von Bäumen und Sträuchern, zu denen auch wirtschaftlich bedeutende Obst- und Forstgehölze gehören. Symptome einer CLRV-Infektion können zu ökonomischen Schäden führen.

Zur Vermeidung einer schnellen Virusverbreitung in vorhandenen Beständen sowie durch infiziertes Pflanz- oder Saatgut ist ein empfindlicher und effizienter Nachweis von CLRV notwendig. Für die Detektion des Virus stehen unterschiedliche serologische und molekulare Verfahren zur Verfügung, die nachfolgend vorgestellt und bewertet werden.

## 2 Vorkommen und Bedeutung des Cherry leaf roll virus in Gehölzen

Cherry leaf roll virus ist weltweit sowohl in Gehölzen als auch in krautigen Pflanzen verbreitet (BANDTE und BÜTTNER 2001). In Deutschland tritt das Virus vor allem an Holunder, Birke, Kirsche und Walnuss auf. Verursachte Symptome an diesen Pflanzenarten sowie in weiteren holzigen Wirten wurden von OBERMEIER et al. (2003) zusammengestellt. Trotz der weiten Verbreitung ist CLRV in Deutschland bisher von geringer ökonomischer Bedeutung, während es in den USA sowie in Süd- und Osteuropa an Walnuss die „blackline disease“ mit erheblichen Schäden verursacht (BROOKS &

## 4 Wissenschaftliche Kurzberichte

BRUENING 1995). Das Virus kann zum limitierenden Faktor der Walnussproduktion werden (MANDAHAR & GILL 1984). Beispielsweise verursacht eine CLRV-Infektion in sensitiven Unterlagen eine CLRV-Infektion in sensiblen Unterlagen (*Juglans hindsii* und deren Hybride), die häufig in Kalifornien verwendet werden, Gewebenekrosen an der Pfropfstelle. Diese führt schließlich zum Absterben des Baumes (MIRCE-TICH et al. 1980). Auch bei Kirschbäumen (*Prunus* spp.) kann eine CLRV-Infektion zur Degeneration der Pflanzen bis hin zum Absterben führen (KEGLER et al. 1966). Da das Virus in zahlreichen Gehölzen durch Pollen (MINK 1993; MANDAHAR & GILL 1984), Wurzelverwachsungen, mechanisch und vermutlich ebenso durch Gewässer übertragen wird, besitzt CLRV ein hohes Potential, sich schnell in infizierten Beständen zu verbreiten. Somit kann bereits ein einzelner infizierter Baum eine Gefahr für den gesamten Bestand darstellen.

Ein weiteres Nutzgehölz, das durch CLRV infiziert wird, ist zum Beispiel die Moor-Birke (*Betula pubescens* EHRH.) in Finnland, die dort als Rohstoff für die Papierindustrie genutzt wird. Es wird angenommen, dass eine Virusinfektion die Holzqualität und damit die Papierherstellung beeinträchtigt. Zudem gehört CLRV zu den häufigsten viralen Pathogenen der Olive (*Olea europaea* L.) und ist im Mittelmeergebiet in 2 % bis 15 % der untersuchten Olivenbäume nachweisbar (ABDULLAH et al. 2005; FADEL et al. 2005; FAGGIOLI et al. 2005).

### 3 Charakteristika des Kirschenblattrollvirus

CLRV ist ein Nepovirus (*Comoviridae*) mit 28 nm großen ikosaedrischen Virionen. Das virale Genom setzt sich aus zwei einzelsträngigen, linearen, positiv orientierten RNA-Molekülen mit einer Größe von 8,2 kb (RNA-1) und 6,7 kb (RNA-2) zusammen (MURANT et al. 1981). Beide RNAs werden einzeln enkapsidiert. Das CLRV-Kapsid ist aus 60 Molekülen des viralen Hüllproteins aufgebaut (JONES & MAYO 1972). CLRV-Isolate lassen sich in verschiedene serologische Gruppen einordnen (JONES 1985). Die phylogenetische Rekonstruktion durch REBENSTORF et al. (2006) auf der Grundlage von Sequenzunterschieden im Bereich der nicht-kodierenden Region am 3'-Ende der CLRV-RNAs unterstützte eine Aufteilung der unter-

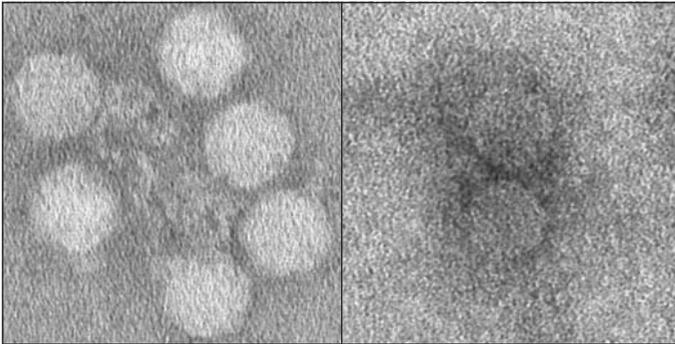
suchten Isolate in 5 phylogenetische Gruppen. Diese zeigten große Übereinstimmungen mit den ermittelten serologischen Gruppen. Die Wirtspflanzenart wurde als wichtigstes Kriterium für die Gruppenzugehörigkeit erkannt. Auch die beobachteten Übertragungsbarrieren zwischen CLRV-Isolaten aus bestimmten Wirtspflanzen (in OBERMEIER et al. 2003) korrelieren mit diesen Ergebnissen.

### 4 Nachweisverfahren zur Detektion von CLRV

In der Diagnostik von Pflanzenviren werden in Abhängigkeit von der Fragestellung unterschiedliche Methoden eingesetzt (BÜTTNER & FÜHRLING 1999; BÜTTNER et al. 1996). Zum Nachweis von CLRV in Gehölzen werden heutzutage serologische und molekulare Verfahren angewendet (FAGGIOLI et al. 2005; CAGLAYAN 2004; BANDTE & BÜTTNER 2001; WERNER et al. 1997). Die Untersuchung von Pflanzenhomogenaten mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ermöglicht beispielsweise eine schnelle Aussage über eine bestehende Virusinfektion. Mischinfektionen morphologisch unterschiedlicher Viren sind mit dieser Methode ebenfalls recht einfach nachzuweisen. Die isometrischen Partikeln von CLRV (Abbildung 1) können nicht allein durch Form und Größe von anderen Viren mit ähnlicher Morphologie unterschieden werden. Sie können nur durch zusätzliche Markierung (Dekoration) durch einen Virus-spezifischen Antikörper im TEM identifiziert werden. Die vergleichsweise geringe Empfindlichkeit der TEM in Verbindung mit den häufig niedrigen Konzentrationen der Viren in Gehölzen (BANDTE & BÜTTNER 2001) kann den Nachweis von CLRV weiter erschweren.

Der ELISA (Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay) ist in der Routinediagnostik von Pflanzenviren nach wie vor die am häufigsten angewandte Nachweismethode, da sie sich durch ihre Empfindlichkeit sowie den hohen möglichen Probendurchsatz bei vergleichsweise niedrigen Kosten und geringem apparativen Aufwand auszeichnet. CLRV-Isolate aus unterschiedlichen Gehölzen gehören verschiedenen Serogruppen an (REBENSTORF et al., 2006, JONES et al. 1990; COOPER 1976), so dass sich im DAS-ELISA mit polyklonalen Antikörpern, die gegen ein CLRV-Isolat

## Möglichkeiten zur Detektion des Kirschenblatrollvirus in Gehölzen

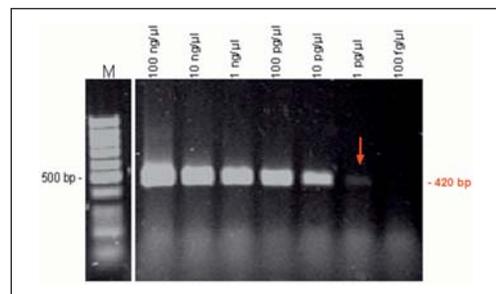


**Abbildung 1:**  
**Viruspartikeln des CLRV aus**  
**Holunder im Transmissions-**  
**elektronenmikroskop:**  
**links undekoriert, rechts**  
**dekoriert mit pAbE603 (auf-**  
**genommen bei 40000-facher**  
**Vergrößerung)**

hergestellt wurden, oft nicht alle CLRV-Isolate nachweisen lassen. Ein gegen das CLRV-Isolat E603 aus Holunder entwickelter polyklonaler Antikörper (pAbE603) detektiert beispielsweise im DAS-ELISA kein CLRV aus Birke und Kirsche. CLRV aus Holunder und anderen Wirtspflanzen, die derselben Serogruppe angehören bzw. der gleichen phylogenetischen Gruppe (nach REBENSTORF et al. 2006) zuzuordnen sind, konnten mit hoher Empfindlichkeit nachgewiesen werden (Tabelle 1), auch in den Fällen wenn im TEM keine CLRV-Partikeln dargestellt werden konnten. Das homologe Antigen war mit einer Konzentration von 1,2 ng/µl mit diesem Antikörper im DAS-ELISA bereits nach einer Stunde nachweisbar.

Inzwischen existieren mehrere PCR-basierende Protokolle zum CLRV-Nachweis in Gehölzen. Einerseits werden Gesamt-RNA-Isolierungsmethoden mit nachfolgender CLRV-spezifischer RT-PCR (reverse Transkription-Polymerase-Kettenreaktion) kombiniert, wie in FAGGIOLI et al. (2005) und PANTALEO et al. (2001) beschrieben. Andererseits eignet sich zur Detektion von CLRV eine IC-RT-PCR (Immunocapture-Reverse Transkription-Polymerase-Kettenreaktion), wie sie von WERNER et al. 1997 für dieses Virus entwickelt wurde. Die Kombination eines virusspezifischen Antikörpers mit virusspezifischen PCR-Primern bedingt einen hochspezifischen CLRV-Nachweis. Waschschritte zwischen Immunocapture und reverser Transkription ermöglichen die Entfernung von sekundären Inhaltsstoffen, welche enzymatische Reaktionen inhibieren. Solche Sekundärmetabolite sind gerade in Gehölzen häufig vertreten und werden durch viele Isolierungsmethoden von Gesamt-RNA nicht ausreichend entfernt. Das IC-RT-PCR-Protokoll von WERNER

et al. (1997) wurde für einen Einsatz in der Routinediagnostik und für den hohen Probendurchsatz optimiert. Dabei ist eine einfache Handhabung bei möglichst niedrigem Kostenaufwand durch die Mengen an Reagenzien (spezifische Antikörper, Enzyme, Substrate) von entscheidender Bedeutung. So konnte eine IC-RT-PCR entwickelt werden, welche vollständig in einem Reaktionsgefäß abläuft und für die Proben volumina von 10 µl eines 1:10 verdünnten Pflanzenhomogenats ausreichen. Die Reverse Transkription wurde ebenfalls in einem Volumen von 10 µl ohne Zugabe eines RNase-Inhibitors durchgeführt. Nach der cDNA-Synthese wurden 40 µl eines PCR-Reaktionsansatzes zugegeben, der MgCl<sub>2</sub> in höherer Konzentration enthielt (2 mM final). Das PCR-Programm wurde für einen Robocycler (Stratagene) optimiert (2 min 94 °C; 30 × 1 min 94 °C, 45 s 45 °C, 1 min 72 °C;



**Abbildung 2: PCR-Produkte einer CLRV-**  
**Verdünnungsreihe im 1 %igen Agarose-Gel**  
**zur Bestimmung der Nachweisgrenze bei einer**  
**optimierten IC-RT-PCR.**  
**(M) Marker: 50 bp DNA Ladder (MBIFermen-**  
**tas); Proben: aufgereinigte Viruspartikeln des**  
**Holunder-Isolates E603**

## 4 Wissenschaftliche Kurzberichte

**Tabelle 1: Serologische Differenzierung von 20 CLRV-Isolaten aus unterschiedlichen Wirtspflanzenarten im DAS-ELISA unter Verwendung des polyklonalen Antikörpers pAbE603 (gegen CLRV E603 aus Holunder entwickelt)**

CLRV-Isolate	Originalwirt	Reaktion mit pAbE603 im DAS-ELISA	Phylogenetische Gruppe nach REBENSTORF et al. 2006
E111	<i>Betula pendula</i> ROTH	–	A
E120	<i>Betula pendula</i> ROTH	–	A
E806	<i>Betula pendula</i> ROTH	–	A
E326	<i>Juglans regia</i> L.	+	D
E648	<i>Juglans regia</i> L.	–	D
E327	<i>Prunus avium</i> L.	–	A
E395	<i>Rheum rhabarbarum</i> L.	–	B
E802	<i>Rubus idaeus</i> L.	+	C
E441	<i>Sambucus nigra</i> L.	–	A
E443	<i>Sambucus nigra</i> L.	+	E
E485	<i>Sambucus nigra</i> L.	+	E
E492	<i>Sambucus nigra</i> L.	–	E
E568	<i>Sambucus nigra</i> L.	+	E
E576	<i>Sambucus nigra</i> L.	+/-	E
E583	<i>Sambucus nigra</i> L.	+	E
E603	<i>Sambucus nigra</i> L.	+	E
E622	<i>Sambucus nigra</i> L.	+	E
E676	<i>Sambucus nigra</i> L.	–	E
E804	<i>Sambucus canadensis</i> 'Aurea'	+	E
E693	<i>Sorbus aucuparia</i> L.	+	E

+ : spezifische Reaktion mit pAbE603, Extinktionswert  $\geq 2 \times$  Extinktionswert der Gesundkontrolle

– : keine Reaktion mit pAbE603 detektierbar bzw. Extinktionswert  $\leq 2 \times$  Extinktionswert der Gesundkontrolle

+/- : unterschiedliche Reaktion mit pAbE603 in unabhängigen Experimenten

5 min 72 °C). Mit der modifizierten IC-RT-PCR wurde eine Nachweisgrenze von 10 pg CLRV erreicht (Abbildung 2). Im Vergleich zum DAS-ELISA ist es zudem möglich, mit der IC-RT-PCR Virus-Isolate aller Serogruppen auch bei Verwendung des polyklonalen Antikörpers pAbE603 zu detektieren (Abbildung 3). Die hohe Empfindlichkeit der IC-RT-PCR ermöglicht damit einen CLRV-Nachweis auch bei schwacher Antikörper-Antigen-Reaktion, die beim DAS-ELISA eine Auswertung kaum zulässt.

Das optimierte Verfahren der IC-RT-PCR ist geeignet zum Nachweis von CLRV aus unterschiedlichen Gehölzen und bewährt sich zur Bearbeitung einer umfangreichen Probenanzahl. Das Virus kann mit dieser Methode in Holunder und Birken mit CLRV-typischen Symptomen sowie in Walnuss ohne Symptome nach-

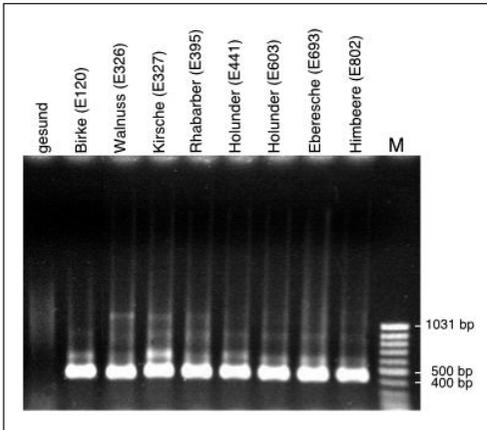
gewiesen werden (Abbildung 4). Laubblätter, Blüten, Samen, Früchte und Knospen sind geeignetes Untersuchungsmaterial.

## 5 Einsatz der CLRV-Nachweisverfahren zur Vorsorge und Kontrolle der Virusverbreitung

Für die Produktion und Kultivierung gesunder, widerstandsfähiger, qualitativ hochwertiger Bäume ist eine regelmäßige Kontrolle und, beim Auftreten virusverdächtiger Symptome, eine zuverlässige Virustestung unerlässlich. Hierfür ist insbesondere bei Gehölzen die Kenntnis erforderlich, wann und in welchem Organ der Nachweis sicher durchgeführt werden kann. Die zur Überwachung von Virusinfektionen

## Möglichkeiten zur Detektion des Kirschenblatrollvirus in Gehölzen

Abb. 3 bei 300 dpi nur 3 cm!  
Neues Foto liefern ?!

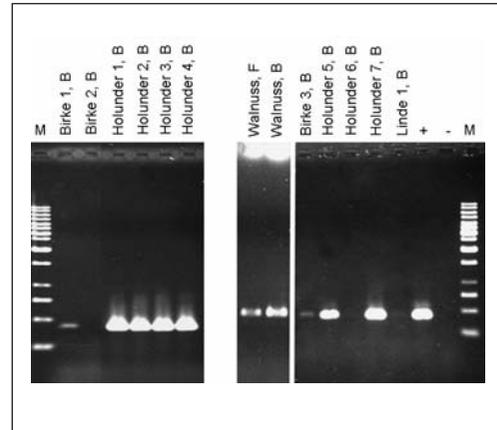


**Abbildung 3: CLRV-Nachweis in CLRV-Isolaten aus verschiedenen Wirtspflanzen durch IC-RT-PCR mit pAbE603 und Amplifikation eines 420 bp-Fragmentes in der PCR (M) Marker: 50 bp DNA Ladder (MBIFermentas); Proben: CLRV-Isolate im Experimentalmwirt *Chenopodium quinoa*; gesund: *C. quinoa***

empfohlenen prophylaktischen Maßnahmen werden von BÜTTNER und BANDTE (2000) in dieser Buchreihe zusammenfassend dargestellt.

Die IC-RT-PCR als universeller, empfindlicher CLRV-Nachweis ist als zu bevorzugende Methode zum Screening großer Pflanzenbestände zu empfehlen. Eine anschließende Differenzierung der Isolate im Hinblick auf die Serogruppen und die biologischen Eigenschaften kann darüber hinaus sinnvoll sein, wenn epidemiologische Fragestellungen bearbeitet werden sollen. Von großer Bedeutung sind angestrebte Untersuchungen zur Evaluierung des Risikos einer CLRV-Übertragung z. B. aus Gehölzen in Parks, Wildgehölzquartieren oder Randbegrünung auf die Bäume von Obstplantagen bzw. von forstwirtschaftlich relevanten Beständen.

Ein sicherer Nachweis ist ebenfalls zur Differenzierung der Viren bei Mischinfektion unerlässlich. So besteht in Süßkirschenanlagen die Gefahr der synergistischen Wirkung einer CLRV-Infektion, zum Beispiel bei Mischinfektionen mit PNRSV (Prunus necrotic ringspot virus) und PDV (Prune dwarf virus). Diese



**Abbildung 4: CLRV-Nachweis aus Gehölzen durch Amplifikation eines 420 bp langen Fragmentes in der IC-RT-PCR. (M) Marker: 1 kb DNA Ladder (MBIFermentas); Proben: Blattproben (B) bzw. Früchte (F) von verschiedenen Pflanzen; (+) Positivkontrolle: CLRV infizierte *C. quinoa*; (-) Negativkontrolle:  $H_2O$**

allein nicht zwingend letal auf Kirschbäume wirkenden Viren führen bei zusätzlicher CLRV-Infektion zu sehr schweren Symptomen (BUSH 2002). Eine schnelle Überprüfung CLRV-verdächtiger Bäume ermöglicht in solchen Fällen das rechtzeitige Ergreifen von Maßnahmen zur Verhinderung der Verbreitung von CLRV in Gehölzen von Baumschulen, öffentlichem Grün und Forst. Dieses umfasst beispielsweise das Entfernen erkrankter Pflanzen aus dem Bestand und die Dekontamination von Werkzeugen und Stellflächen (BANDTE & BÜTTNER, 2006; BANDTE & BÜTTNER, 2004).

### Literatur

- AL ABDULLAH, A.; EL BEAINO, T.; SAPONARI, M.; HALLAK, H.; DIGIARO, M., 2005: Preliminary evaluation of the status of olive-infecting viruses in Syria. Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin 35, 249–252.
- BANDTE, M.; BÜTTNER, C., 2001: Occurrence, Transmission and Diagnosis of Cherry leafroll nepovirus – a literature review. Pflanzenschutzberichte 59, 1–19.
- BANDTE, M.; BÜTTNER, C., 2004: Viruserkrankungen im öffentlichen Grün. In: DUJESIEFEN, D.; KOCKERBECK, P. (Hrsg.), 2004: Jahrbuch der Baumpflege, Thalacker Verlag, Braunschweig, 312 S.
- BANDTE, M.; BÜTTNER, C., 2006: Desinfektion zur Dekontamination von Viren. In: DUJESIEFEN, D.; KOCKERBECK, P. (Hrsg.), 2006: Jahrbuch der Baumpflege, Thalacker Verlag, Braunschweig, 288 S.
- BROOKS, M.; BRUENING, G., 1995: Transient Gene Expression of Antisense RNA and Coat Protein-Encoding Sequences Reduced

## 4 Wissenschaftliche Kurzberichte

- Accumulation of Cherry Leafroll Virus in Tobacco Protoplasts. *Virology* 208, 132–141.
- BÜTTNER, C.; FÜHRLING, M.; WERNER, R.; MÜHLBACH, H. P.; LUKACS, N., 1996: Phytopathogene Viren in Laubbäumen des öffentlichen Grüns und Baumschulen sowie in Böden und Gewässern – eine diagnostische Vorgehensweise. *Gesunde Pflanzen* 48, 95–103.
- BÜTTNER, C.; FÜHRLING, M., 1999: Anwendung von Nachweisverfahren zur Diagnose von Viren in Laubgehölzen. In: DUJESIEFEN, D.; KOCKERBECK, P. (Hrsg.), 1999: *Jahrbuch der Baumpflege*, Thalacker Verlag, Braunschweig, 376 S.
- BÜTTNER, C.; BANDTE, M., 2000: Virusübertragung bei Gehölzen durch Saatgut und vegetative Vermehrung. In: DUJESIEFEN, D.; KOCKERBECK, P. (Hrsg.), 2000: *Jahrbuch der Baumpflege*, Thalacker Verlag, Braunschweig, 352 S.
- BUSH, M. R., 2002: Cherry growers must contain the Cherry Leaf Roll Virus – A new cherry disease to Pacific Northwest. *Basin Business Journal*, July 31, 2002, A13–A14.
- CAGLAYAN, K.; FIDAN, U.; TARLA, G.; GAZEL, M., 2004: First report of olive viruses in turkey. *J. Plant Pathol.* 86 (1), 91.
- COOPER, J. I., 1976: The possible epidemiological significance of pollen and seed transmission in the United Kingdom. *Mitt. Biol. Bundesanstalt* 170, 17–22.
- FADEL, C.; DIGIARO, M.; CHOUHEIRI, E.; EL BEAINO, T.; SAPONARI, M.; SAVINO, V.; MARTELLI, G. P., 2005: On the presence and distribution of olive viruses in Lebanon. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 35, 33–36.
- FAGGIOLI, E.; FERRETTI, L.; ALBANESE, G.; SCIARRONI, R.; PASQUINI, G.; LUMIA, V.; BARBA, M., 2005: Distribution of olive tree viruses in Italy as revealed by one-step RT-PCR. *J. Plant Pathol.* 87, 45–51.
- JONES, A. T.; MAYO, M. A., 1972: The Two Nucleoprotein Particles of Cherry Leaf Roll Virus. *J. Gen. Virol.* 16, 349–358.
- JONES, A. T., 1985: Cherry leaf roll virus, CMI/AAB Description of Plant Viruses No. 306.
- JONES, A. T.; KOENIG, R.; LESEMANN, D.-E.; HAMACHER, J.; NIENHAUS, E.; WINTER, S., 1990: Serological comparison of isolates of cherry leafroll virus from diseased beech and birch trees in a forest decline area in Germany with other isolates of the virus. *J. Phytopathology* 129, 339–344.
- KEGLER, H.; RICHTER, J.; SCHMIDT, H. B., 1966: Untersuchungen zur Identifizierung und Differenzierung des Blattrollvirus der Kirsche (cherry leaf roll virus). *Phytopath. Z.* 56 (4), 313–330.
- MANDAHAR, C. L.; GILL, P. S., 1984: The epidemiological role of pollen transmission of viruses. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz* 91, 246–249.
- MINK, G. I., 1993: Pollen- and seed-transmitted viruses and viroids. *Ann. Rev. Phytopathol.* 31, 375–402.
- MIRCETICH, S. M.; SANBORN, R. R.; RAMOS, D. E., 1980: Natural spread, graft-transmission, and possible ethiology of walnut blackline disease. *Phytopathology* 72, 988.
- MURANT, A. E.; TAYLOR, M.; DUNCAN, G. H.; RASCHKE, J. H., 1981: Improved estimates of molecular weight of plant virus RNA by agarose gel electrophoresis and electron microscopy after denaturation with glyoxal. *J. Gen. Virol.* 53, 321–332.
- OBERMEIER, C.; REBENSTORF, K.; BANDTE, M.; BÜTTNER, C., 2003: Bedeutung und Verbreitung des Kirschenblattrollvirus (CLRV) in Zier- und Forstgehölzen. In: DUJESIEFEN, D. (Hrsg.), 2003: *Jahrbuch der Baumpflege*, Thalacker Verlag, Braunschweig, 312 S.
- PANTALEO, V.; SAPONARI, M.; GALLITELLI, D., 2001: Development of a nested PCR protocol for detection of olive-infecting viruses in crude extracts. *J. Plant Pathol.* 83 (2), 143–146.
- REBENSTORF, K.; CANDRESSE, T.; DULLUCQ, M. J.; BÜTTNER, C.; OBERMEIER, C., 2006: Host species-dependent population structure of a pollen-borne plant virus, cherry leaf roll virus. *J. Virol.* 80 (5), 2453–2462.

WERNER, R.; MÜHLBACH, H.-P.; BÜTTNER, C., 1997: Detection of cherry leaf roll nepovirus (CLRV) in birch, beech and petunia by immunocapture RT-PCR using a conserved primer pair. *Eur. J. For. Pathol.* 27, 309–318.

### Autoren

*Dipl. biol. Jana Gentkow* und *Dr. rer. nat. Susanne von Barga* sind wissenschaftliche Mitarbeiterinnen im Fachgebiet Phytomedizin. *Dr. agr. Kathrin Petrik* hat hier ihre Promotionsarbeit durchgeführt. *Prof. Dr. agr. Carmen Büttner* ist Leiterin des Fachgebietes Phytomedizin.



*Humboldt-Universität zu Berlin*  
*Institut für Gartenbauwissenschaften,*  
*Fachgebiet Phytomedizin*  
*Lentzeallee 55/57*  
*D-14195 Berlin*  
*Tel. (0 30) 31 47 11 39*  
*Fax (0 30) 31 47 11 78*  
*Phytomedizin@*  
*agr.ar.hu-berlin.de*

