

Virologische Untersuchungen zum Agens der chlorotischen Ringfleckigkeit und Scheckung an *Ulmus laevis* (Pall.)



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

Schäden an Flatterulme (*Ulmus laevis* L.) - Virusverdächtige Symptome

Die Flatterulme (*Ulmus laevis* Pall.) gehört neben der Bergulme (*Ulmus glabra* Huds.) und der Feldulme (*Ulmus minor* Mill.) zu den drei in Deutschland beheimateten Ulmenarten. Das natürliche Verbreitungsgebiet dieser langlebigen Edellaubbaumarten reicht von Mittel-, Südost- und Osteuropa bis nach Kleinasien. Die Bestände der heimischen Ulme sind durch anthropogene, parasitäre und nicht-parasitäre Einflussfaktoren in großem Umfang dezimiert worden. In einer Parkanlage im Nordwesten Brandenburgs (Abb. 1) wurden zunächst 30 Flatterulmen (*Ulmus laevis* Pall.) untersucht (Bandte et al., 2004). Die Gehölze weisen ein unterschiedliches Alter auf. Die ältesten Ulmen wurden 1830 gepflanzt, die jüngsten sind etwa 8 Jahre alt. Nach visuellen Bonituren zeigten 27 Pflanzen virusverdächtige Symptome wie Scheckung, chlorotische Ringflecken und Läsionen, Nekrosen sowie Chlorosen entlang der Blattadern (Abb. 2). Diese charakteristischen Symptome wurden an unterschiedlichsten Standorten im öffentlichen Grün in Berlin und Brandenburg beobachtet.



Abb. 1: Standort der Probenahme (○) im Nordwesten Brandenburgs



Abb. 1: Charakteristische Symptome an Ulmen
 A) Chlorotische Ringflecken (Pfeil)
 B) Degeneration eines Astes

Problemstellung

In dem Gesamtkomplex der Untersuchungen an den erkrankten Flatterulmen soll nachfolgenden Fragestellungen nachgegangen werden:

- Verursacht der isolierte virale Krankheitserreger die beobachteten Symptome?
- Identifizierung des Krankheitserregers und ggf. dessen Charakterisierung
- Etablierung und Optimierung eines geeigneten Nachweisverfahrens für die Diagnose der Erkrankung
- Wie kann der Erreger natürlich übertragen werden und welches Infektionsrisiko besteht für vergesellschaftete Pflanzenarten?

Bisherige Ergebnisse

Biotest – Wirkkreis

Der Erreger lässt sich experimentell durch mechanische Inokulation mit Blattpresssaft erkrankter Ulmen auf die Indikatorpflanze Reismelde (*Chenopodium quinoa* Willd.) übertragen. An diesem Indikator treten charakteristische virusinduzierte chlorotische Lokalläsionen auf (Abb. 4). In unsere Untersuchungen zum Wirkkreis des Erregers aus erkrankten Ulmen wurden 23 Pflanzenarten aus 12 Familien, den *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Cariophyllaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Liliaceae*, *Poaceae*, *Solanaceae* und *Ulmaceae* einbezogen. Eine Übertragung des Krankheitserregers war auf Gänsefußgewächse - *Chenopodium amaranticolor* (Coste & Reyn.), *Chenopodium album* (L.) und *Chenopodium foetidum* (Lam.) - sowie Tabakpflanzen - *Nicotiana clevelandii* (Gray.) und *Nicotiana benthamiana* (Domin) - möglich (Abb. 4). Die Tabakpflanzen zeigten nach der mechanischen Inokulation keine Farb- oder Formveränderungen, die Viruspartikeln konnten aber elektronenoptisch dargestellt werden. Alle übrigen getesteten Pflanzenarten waren Nicht-Wirtspflanzen.

Elektronenmikroskopie

Flexible Viruspartikeln mit einer Länge von etwa 800 nm ließen sich sowohl in teilgereinigtem Pflanzenpresssaft aus Blattmaterial erkrankter Ulmen als auch aus Blättern der Indikatorpflanze *Chenopodium quinoa* mit den chlorotischen Lokalläsionen darstellen (Abb. 5). Die Morphologie der Partikeln deutet auf ein Potyv- oder Carlavirus hin.

Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR)

Mit einer RT-PCR konnte unter Einsatz spezifischer Primer (Chen et al., 2000) eine Infektion mit einem Potyvirus ausgeschlossen werden. Die verwendeten Primer Poty-M4 und S sind Universalprimer und eignen sich zum Nachweis von Viren aus der Familie der *Potyviridae*.

Vorgehensweise

Für Laboruntersuchungen werden Blatt- und Rindenmaterial von Alt- und Junggehölzen, Wassertrieben sowie Wurzelschössern und Stockausschlägen entnommen. Nach visuellen Bonituren und ersten Laboruntersuchungen in den letzten Vegetationsperioden führen wir mit diesem Probenmaterial unterschiedliche Arbeitsverfahren zur Isolierung, Übertragung und Darstellung des Erregers durch (Abb. 3).

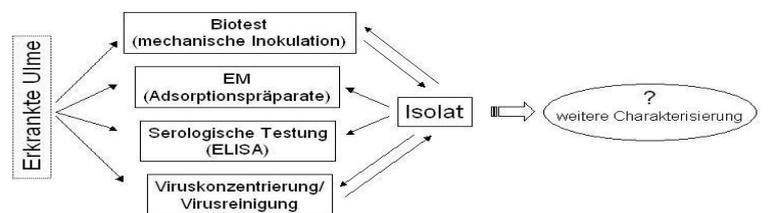


Abb. 3: Vorgehensweise bei den virologischen Untersuchungen mit Blatt-/Rindenmaterial

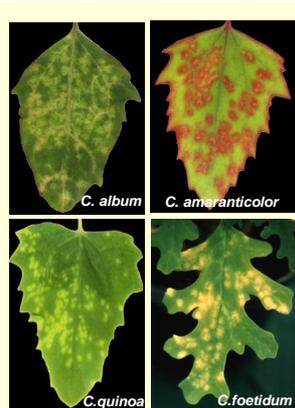


Abb. 4: Charakteristische Symptome induziert durch den Erreger aus erkrankten Ulmen nach mechanischer Inokulation auf *Chenopodiaceae*



Abb. 5: Flexible Viruspartikeln mit einer Länge von ~ 800 nm aus teilgereinigtem Blattthomogenat erkrankter Flatterulmen

ELISA

Eine Infektion der erkrankten Ulmen mit in dieser Baumart bereits nachgewiesenen viralen Krankheitserregern - *Arabis mosaic virus*, *Cherry leafroll virus* und *Tomato ringspot virus* - konnte ausgeschlossen werden.

Das Probenmaterial reagierte ebenso wenig mit spezifischen Antikörpern gegen die in Waldökosystemen bzw. öffentlichem Grün verbreiteten Erreger *Tobacco mosaic virus*, *Carnation italian ringspot virus*, *Tobacco necrosis virus* und *Tomato bushy stunt virus*.

Die Erreger in erkranktem Pflanzenmaterial reagierten auch nicht mit dem Antikörper TuMV-314 (Richter et al., 1995), der zum spezifischen Nachweis von Potyviren Anwendung findet.

Ausblick

In weiteren Untersuchungen soll zunächst eine Isolierung der Erregernukleinsäure erfolgen, um sie anschließend zu klonieren und zu sequenzieren.

Literatur

- BANDTE, M.; ESSING, M.; OBERMEIER, C.; BÜTTNER, C., 2004: Investigations on virus-diseased elm trees (*Ulmus laevis* Pall.) in eastern Germany. Invest. Agrar. Sist Recur For 13, 65-69.
 CHEN, J.; ADAMS, M.J., 2001: a universal PCR primer to detect members of the Potyviridae and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. Archives of Virology 146, 757-766.
 RICHTER, J.; RABENSTEIN, F.; PROLL, E.; VETTEN, H.J., 1995: Use of cross-reactive Antibodies to detect members of the Potyviridae. J. Phytopathology 143, 459-464.