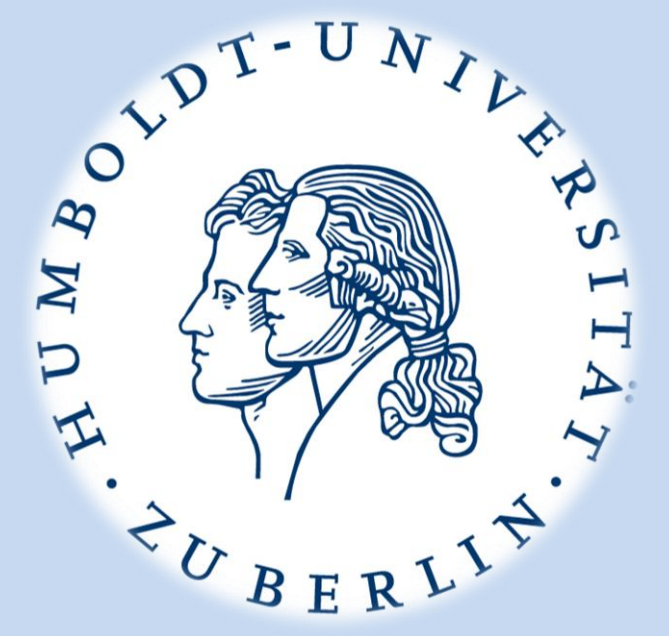


Epidemiologische Untersuchungen zum *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV) in der Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.)



J. Vincenz¹⁾, M. Bandte¹⁾, N. Mielke-Ehret²⁾, H-P. Mühlbach²⁾, C. Büttner¹⁾

¹⁾ Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Phytomedizin, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

²⁾ Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek, Molekulare Phytopathologie und Genetik



Abb. 1: Versuchsfeld mit Ebereschensämlingen in Berlin

Einleitung und Zielsetzung

Das *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV) ist ein verbreitetes Pflanzenvirus in Nord- und Mitteleuropa. Die infizierten Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.) zeigen chlorotische Ringflecken und Scheckungen auf den Blättern. Das EMARAV repräsentiert eine neue Gattung der ssRNA-Viren, dem Emaravirus.

Eine phylogenetische Verwandtschaft besteht zu drei anderen, nicht-klassifizierten RNA-Viren, *Pigeon pea sterility mosaic virus* (PPSMV), *High Plains virus* (HPV) und *Fig mosaic associated virus* (FMaV). Diese vier Viren weisen eine gewisse Verwandtschaft zur Familie *Bunyaviridae* auf. PPSMV, HPV und FMaV werden durch Gallmilben (*Eriophyoidea*) übertragen.

Das vielfach beobachtete Auftreten zahlreicher Gallen auf den Blattunterseiten von erkrankten Ebereschen und die Übertragung der drei phylogenetisch verwandten Viren durch Gallmilben, gaben uns Anlass, die Übertragbarkeit des EMARAV durch Gallmilben zu prüfen.

Material und Methoden

Vor zwei Jahren wurden 300 nicht-EMARAV-infizierte Ebereschensämlinge (Abb.1) mit Gallmilben inokuliert und unter Freilandbedingungen weiter kultiviert. Zur Übertragung wurden Blätter mit Gallen von EMARAV-infizierten Ebereschen um den Stamm nicht-infizierter Ebereschen unterhalb der Blattknospen mit jeweils einer Holzklammer geklammert (Abb. 2). Dieses infizierte Blattmaterial wurde aus dem Forst Grunewald (Berlin) bezogen.

Ein Jahr nach der Inokulation wurde Blattmaterial dieser Ebereschensämlinge entnommen und einer Gesamt RNA-Isolierung mit anschließender RT-PCR (Mielke *et al.*, 2008) unterzogen. Darüber hinaus wurden Milben aus Gallen, die sich an Blättern der Ebereschensämlinge gebildet hatten, isoliert und ebenfalls mit der RT-PCR auf eine Kontamination mit EMARAV geprüft. Mit dieser RT-PCR wird ein 204 bp langes Fragment aus der RNA 3 amplifiziert.



Abb. 2: Übertragungsversuch, Blätter mit Gallen EMARAV-infizierter Ebereschen wurden um den Stamm nicht-infizierter Ebereschen unterhalb der Blattknospe mit jeweils einer Holzklammer geklammert



Abb. 3: Gallen auf der Blattunterseite von infizierten Ebereschensämlingen

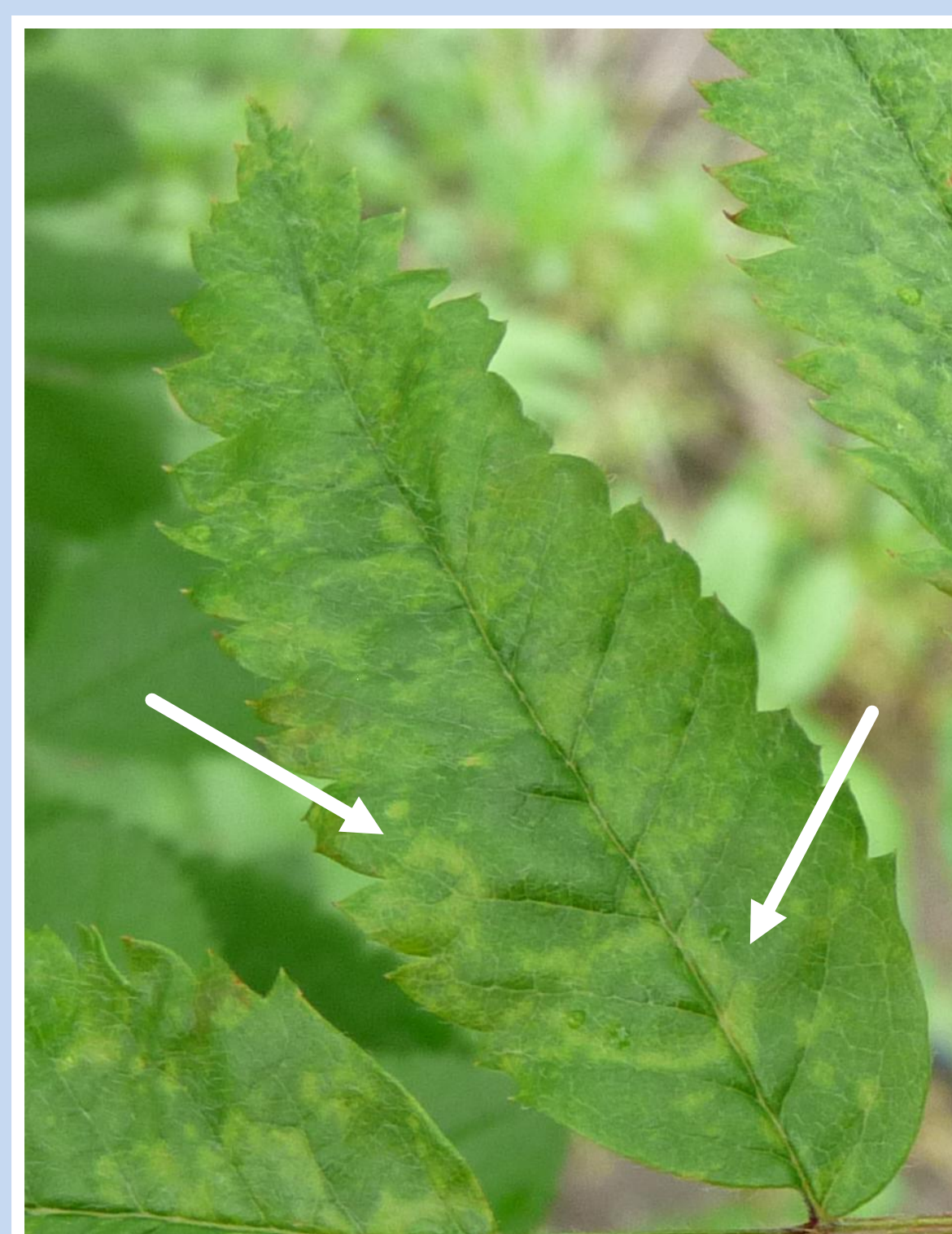


Abb.4: charakteristische Symptome EMARAV-infizierter *Sorbus aucuparia* L.

Bisherige Ergebnisse

Bonitur des Übertragungsversuches 1 Jahr nach der Inokulation

- ✓ Gallen an ca. 5% der behandelten Pflanzen (Abb. 3)
- ✓ Keine Gallen an den unbehandelten Kontrollpflanzen
- ✓ Keine virusverdächtige Symptome an den Ebereschen

Ein **Nachweis des EMARAV** war sowohl aus Blättern als auch Milben mit Hilfe der RT-PCR möglich. Bisher wurden etwa 20 % der inokulierten Sämlinge und Milben aus einer von 12 im Sommer 2009 entnommenen Gallen auf eine Infektion mit dem Erreger überprüft. Ein Sämling ist als EMARAV-infiziert anzusprechen (Abb. 5).

Erstmals konnten 2 Jahre nach der Inokulation an den behandelten Pflanzen virusverdächtige Symptome beobachtet werden (Abb. 4).

Ausblick

Die Ebereschensämlinge werden weiterhin regelmäßig bonitiert, beprobt und molekularbiologisch auf eine Infektion mit EMARAV geprüft.

- Identifikation der Gallmilben (*Eriophyoidea*)
- Sequenzierung der RT-PCR-Amplifikate von den Gallmilben
- Herstellen eines Zusammenhanges zwischen EMARAV-kontaminierten Milben und EMARAV-infizierten Ebereschen

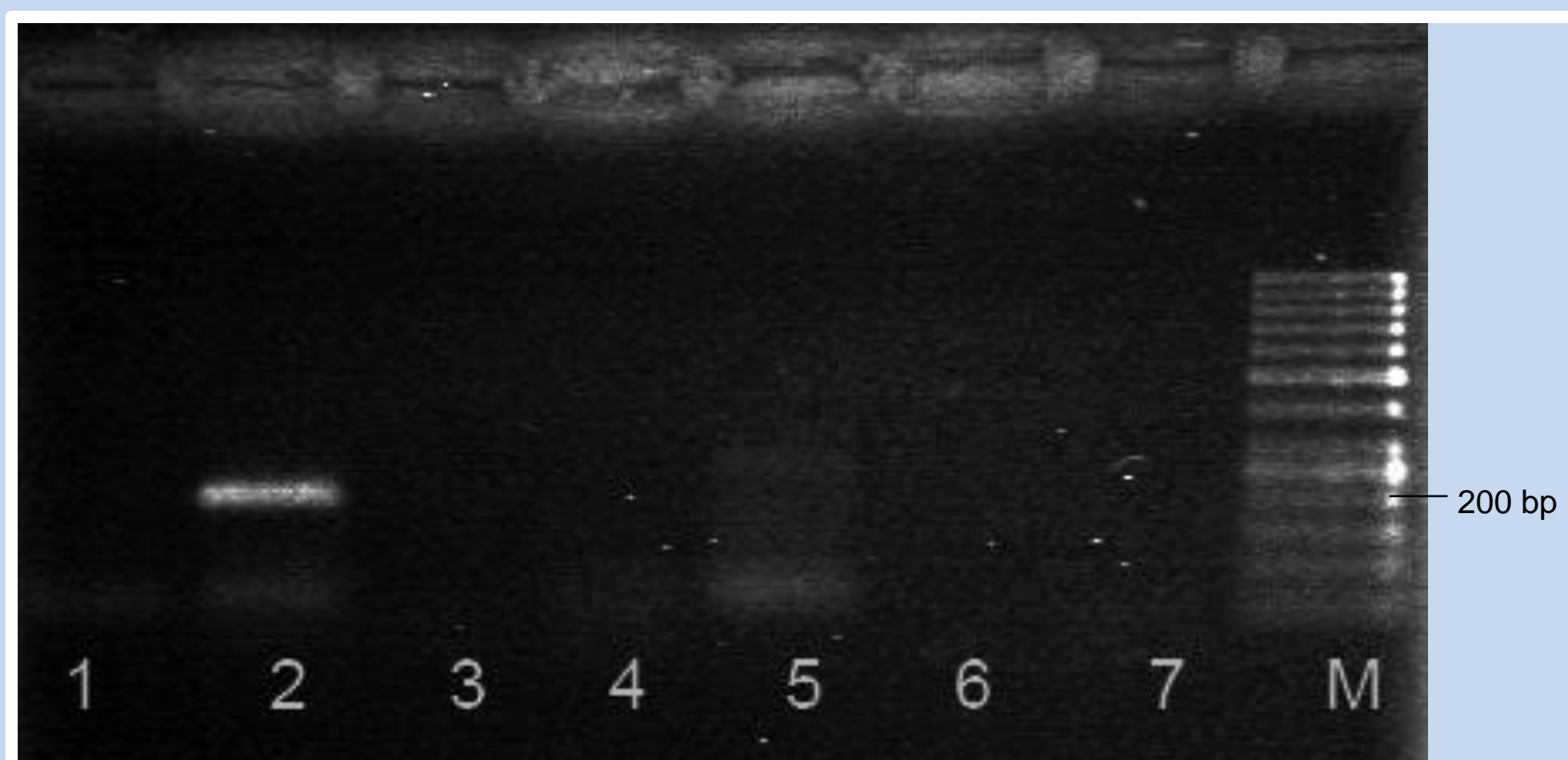


Abb. 5: Gelelektrophoretische Trennung von RT-PCR Amplifikaten aus Blattmaterial symptomloser mit Gallen EMARAV-infizierter Ebereschen, inokulierte Sämlinge (Spur 2-7), Wasserkontrolle (Spur 1) und Marker (Spur M)

Literatur

MIELKE N, WEBER M, KHAN S, MÜHLBACH H-P, 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

Dankenswerterweise dürfen wir unsere Arbeiten-seit Beginn der Großbaumaßnahmen an unserem Gebäude- am Julius-Kühn-Institut in Dahlem durchführen und haben dort unseren vorübergehenden Sitz in der Königin-Lusie-Str.19, 14195 Berlin