

Untersuchungen zur Übertragung des *European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV)*

J.Vincenz¹⁾, M.Bandte¹⁾, N.Mielke-Ehret²⁾, H-P.Mühlbach²⁾, J.Schlieske³⁾, C.Büttner¹⁾



- 1) Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Phytomedizin
 2) Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek, Molekulare Phytopathologie und Genetik
 3) i.R. Pflanzengesundheitskontrolle Hamburg

phytomedizin@agrar.hu-berlin.de



Einleitung

Das *European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV)* ist ein verbreitetes Pflanzenvirus in Nord- und Mitteleuropa. Es repräsentiert eine neue Gattung der ssRNA-Viren, dem Emaravirus. Die infizierten Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.) zeigen chlorotische Ringflecken und Scheckungen (Abb. 1).

Die Übertragungswege sind bisher nicht bekannt. Auf Grund der phylogenetischen Verwandtschaft zu drei durch Gallmilben (*Eriophyoidea*) übertragbaren, nicht-klassifizierten RNA-Viren: *Pigeon pea sterility mosaic virus (PPSMV)*, *High Plains virus (HPV)* und *Fig mosaic associated virus (FMaV)* soll eine Übertragung des EMARaV durch häufig an Ebereschen zu beobachtenden Gallmilben geprüft werden.

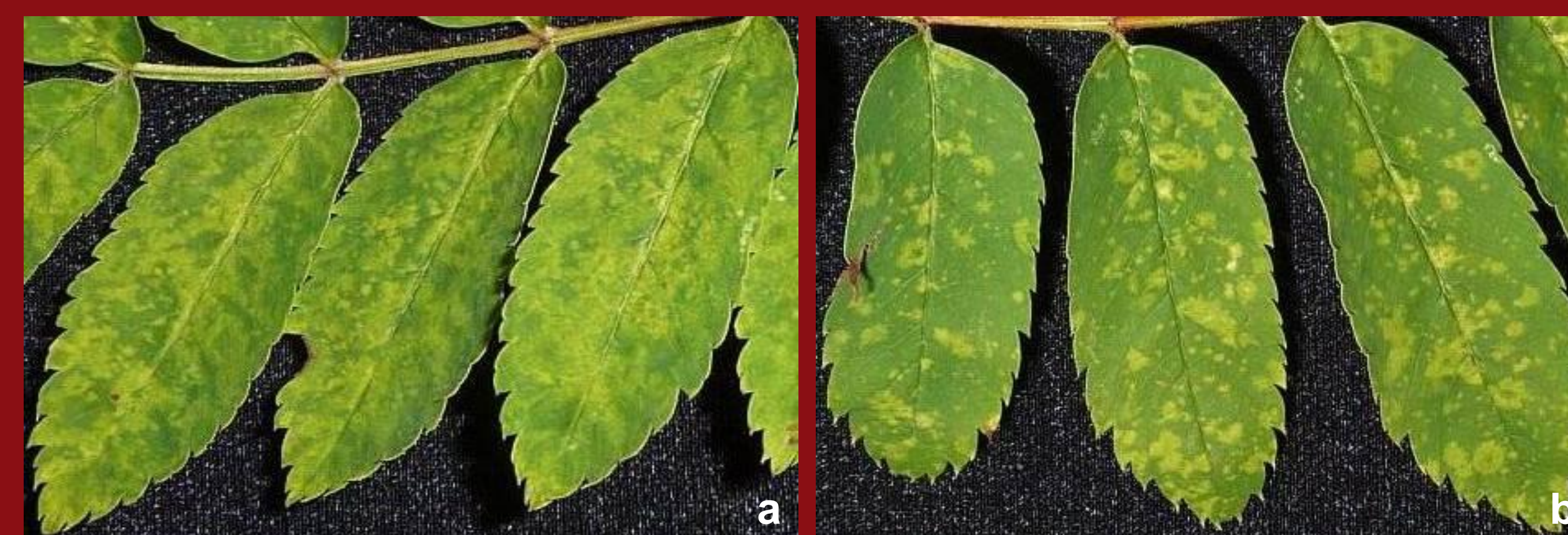


Abb. 1: Scheckung (a) und chlorotische Ringflecken (b) auf Blättern EMARaV-infizierter Ebereschen

Material & Methoden

Vor zwei Jahren wurden 260 nicht-EMARaV-infizierte Ebereschensämlinge mit Gallmilben inokuliert (Abb. 2) und unter Freilandbedingungen weiter kultiviert (Abb. 3). Dabei wurde die Inokulation entweder über Blätter mit Gallen von EMARaV-infizierten Ebereschen um den Stamm (Abb. 2a) oder auf die Blattunterseite (Abb. 2b) vorgenommen. Das EMARaV-infizierte Blattmaterial stammt aus dem Forst Grunewald (Berlin).

Zum Nachweis des EMARaV wurden sowohl Blattmaterial als auch Gallmilben einer Gesamt RNA-Isolierung mit anschließender RT-PCR (Mielke *et al.*, 2008) unterzogen. Mit dieser wird ein 204 bp langes Fragment aus der RNA 3 des Erregers amplifiziert. Die Bestimmung der Gallmilben erfolgte lichtmikroskopisch unter Verwendung des Bestimmungsschlüssels von Schlieske (1994).

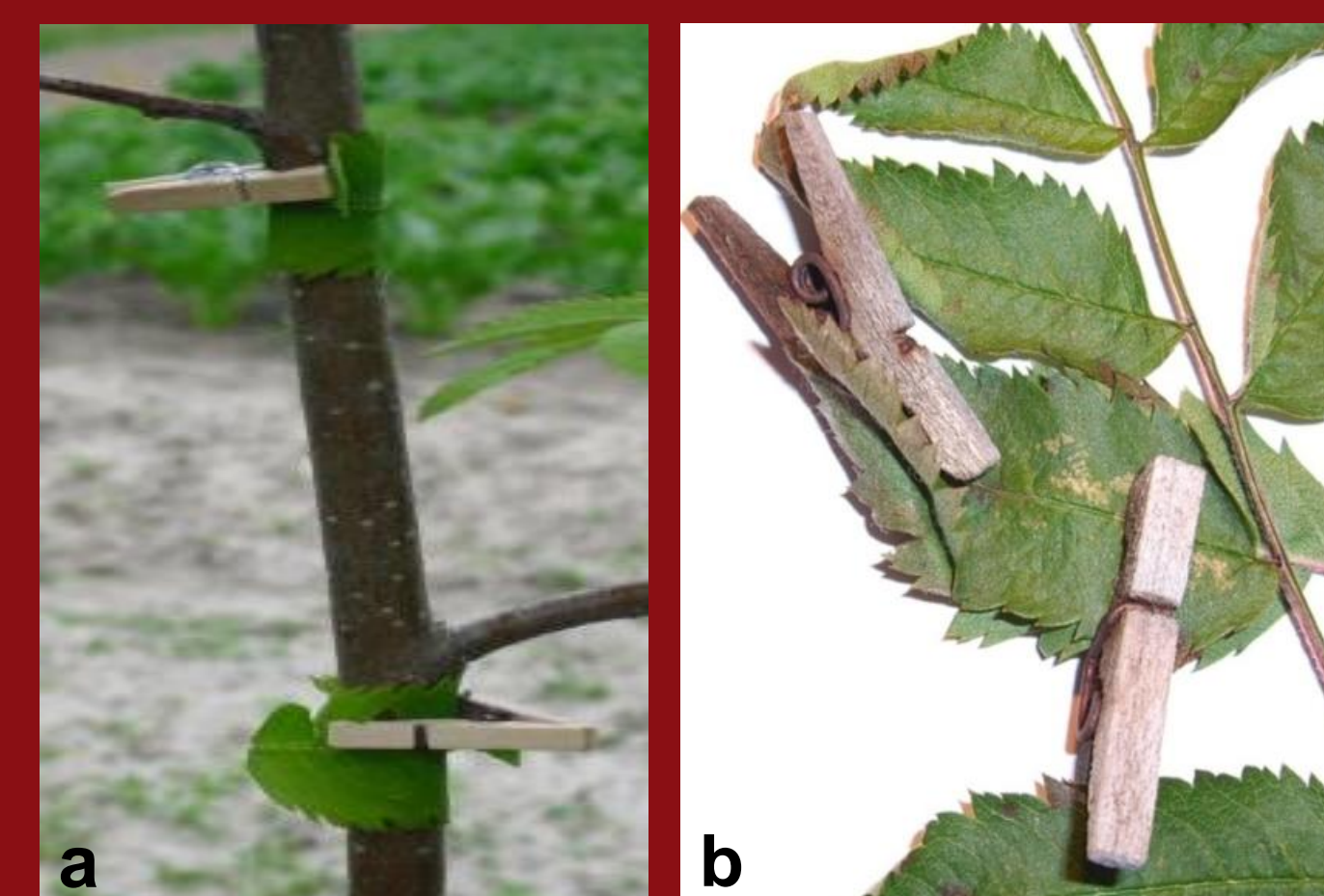


Abb. 2: Inokulation von nicht-EMARaV-infizierten Ebereschen mit Blättern mit Gallen von EMARaV-infizierten Ebereschen auf: a) den Stamm im Kalenderjahr 2008 b) die Blattunterseite im Kalenderjahr 2009



Abb. 3: Versuchsfeld der Ebereschensämlinge n=230 in Berlin Dahlem

Ergebnisse

Die aus den Gallen der Ebereschen isolierten Gallmilben (Abb. 4) konnten als Birnenpockenmilbe (*Phytoptus pyri* Pagenstecher, synonym *Eriophyes pyri*) identifiziert werden. Sie gehören zur Familie *Eriophyoidea* und stellen einen putativen Vektor des EMARaV dar.

Die Ebereschensämlinge wurden regelmäßig bonitiert, beprobt und molekularbiologisch auf eine Infektion mit EMARaV untersucht.



Abb. 4: Lichtmikroskopische Darstellung von *Phytoptus pyri* (Eriophyoidea)



Abb. 5: Gallen auf der Blattunterseite eines behandelten infizierten Ebereschensämlings

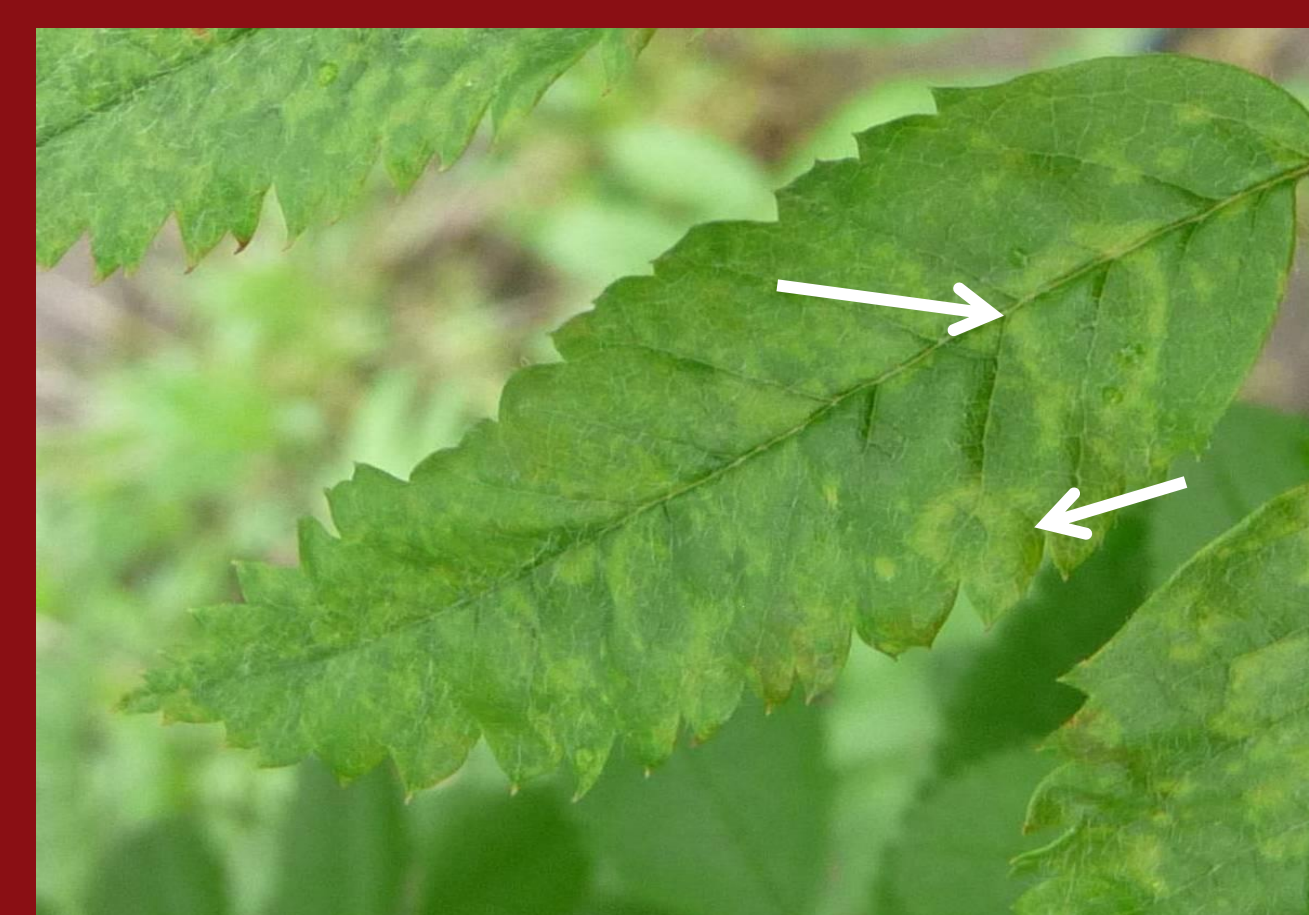


Abb. 6: charakteristische Symptome EMARaV-infizierter *Sorbus aucuparia* L. nach Inokulation des Sämlings mit Gallmilben



Abb. 7: Gelelektrophoretische Trennung von RT-PCR Amplifikaten aus Blattmaterial mit Gallen EMARaV-infizierter Ebereschen, Positivkontrolle (Spur 1), Wasserkontrolle (Spur 2), inokulierte Sämlinge (Spur 3-6), 50 bp Marker (Spur M)

Erste Inokulation (2008)	Erneute Inokulation (2009)
<ul style="list-style-type: none"> ✓ EMARaV-inokulierte Pflanzen (n=230) Gallen: ca. 5% der Pflanzen (Abb. 5) keine virusverdächtigen Symptome ✓ Kontrollpflanzen (n=40) keine Gallen keine virusverdächtigen Symptome ✓ Inokulierte Kontrollpflanzen (n=30) keine Gallen keine virusverdächtigen Symptome ✓ Laboruntersuchungen Nachweis von EMARaV in Blättern und Milben mittels RT-PCR möglich <u>EMARaV-infiziert:</u> Baum A6 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ EMARaV-inokulierte Pflanzen (n=230) Gallen: ca. 10% der Pflanzen virusverdächtige Symptome an 2 Pflanzen (Abb. 6) ✓ Kontrollpflanzen (n=40) keine Gallen keine virusverdächtigen Symptome ✓ Inokulierte Kontrollpflanzen (n=30) keine Gallen keine virusverdächtigen Symptome ✓ Laboruntersuchungen Nachweis von EMARaV in Blättern und Milben mittels RT-PCR möglich (Abb. 7) <u>EMARaV infiziert:</u> Baum K 34 Baum K 36

Zusammenfassung

In dem der ersten Inokulation folgenden Kalenderjahr konnten bereits an 5 % der behandelten Sämlinge Gallen beobachtet werden. Die Gallmilben konnten als *Phytoptus pyri* identifiziert werden. Virusverdächtige Symptome traten hingegen nicht auf. Diese entwickelten sich erstmals zwei Jahre nach der Behandlung. Die unbehandelten Kontrollpflanzen wiesen weder Gallen noch virusverdächtige Symptome an den Blättern auf. Ein molekularbiologischer Nachweis des EMARaV war sowohl aus Blättern als auch Milben mit Hilfe der RT-PCR möglich. Ein Sämling von 2008 ist als EMARaV-infiziert anzusprechen. Bisher konnte EMARaV in drei Sämlingen mit charakteristischen Symptomen - Farbveränderungen und Gallen - nachgewiesen werden.

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

SCHLIESKE J, 1995: Gallmilben an Obstgehölzen: Morphologie und Symptomatologie. Schriftenreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft, Ulmer Verlag