

Nachweis des *European mountain ash ringspot associated virus* (EMARaV) in *Sorbus aucuparia* L. verschiedener europäischer Standorte



Dieckmann L, Robel J, von Barga S, Büttner C

Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-gärtnerische Fakultät, FG Phytomedizin
phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Einleitung

Die Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.) trifft man als beliebte Baumart in Europa hauptsächlich in Wäldern und Siedlungsgebieten an. Seit mehr als 50 Jahren wird von Krankheitssymptomen wie chlorotischen Ringflecken und Scheckungen der Blätter an verschiedenen Standorten berichtet. Im Jahr 2005 wurden die Symptome des pflanzübertragbaren Agens mit dem *European mountain ash ringspot associated virus* (EMARaV) assoziiert (Führling und Büttner, 1995; Benthack *et al.*, 2005; Mielke und Mühlbach, 2007). Es handelt sich hierbei um ein RNA-Virus mit einem

segmentierten Genom aus vier negativ-orientierten RNAs (Abb. 1). In dieser Arbeit wurden Ebereschen mit virusverdächtigen Symptomen aus fünf verschiedenen Ländern auf eine EMARaV-Infektion getestet. Erstmals wurden Proben aus Schottland und Italien untersucht.

M & M

Blattmaterial von Ebereschen wurde 2011 in Finnland, Schweden, Schottland, Deutschland und Italien gesammelt, siehe Karte. Vierundzwanzig von 29 Proben wiesen EMARaV-spezifische Symptome wie chlorotische Ringflecken und Blattscheckungen auf (Abb. 2 und Tabelle). Einige Proben zeigten außerdem Gallen. Aus den Ebereschenblättern wurde Gesamt-RNA isoliert (Boom *et al.*, 1990 modifiziert nach Mielke *et al.*, 2007) und in einer reversen Transkription mit random Hexameren in cDNA transkribiert. Die vier Genomkomponenten wurden anschließend mit spezifischen Primer-Paaren (Abb. 1) analog zu Mielke *et al.*, 2008 mittels PCR amplifiziert.

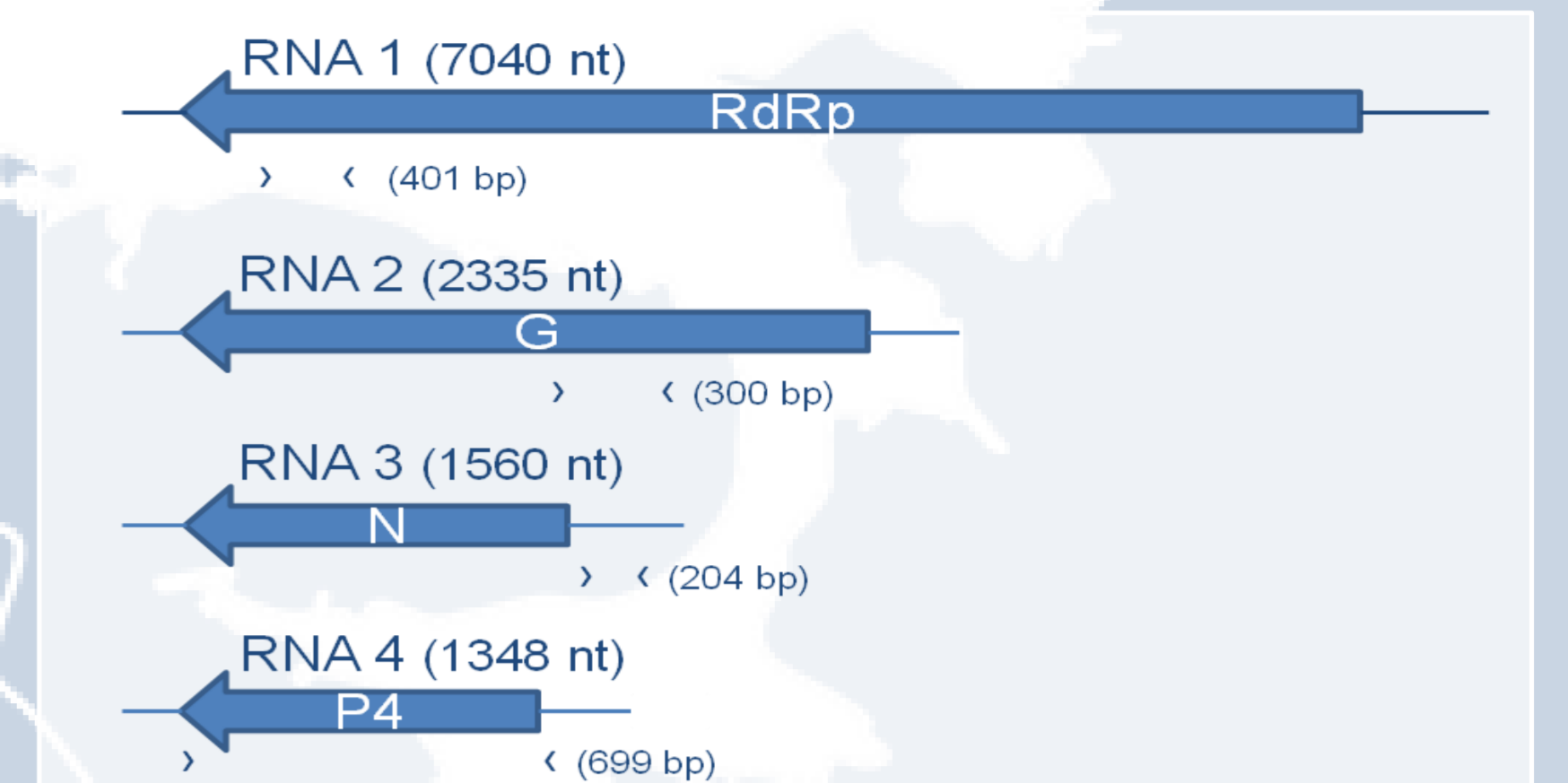


Abb. 1: Genomorganisation von EMARaV und Lage der Primer (Pfeile)

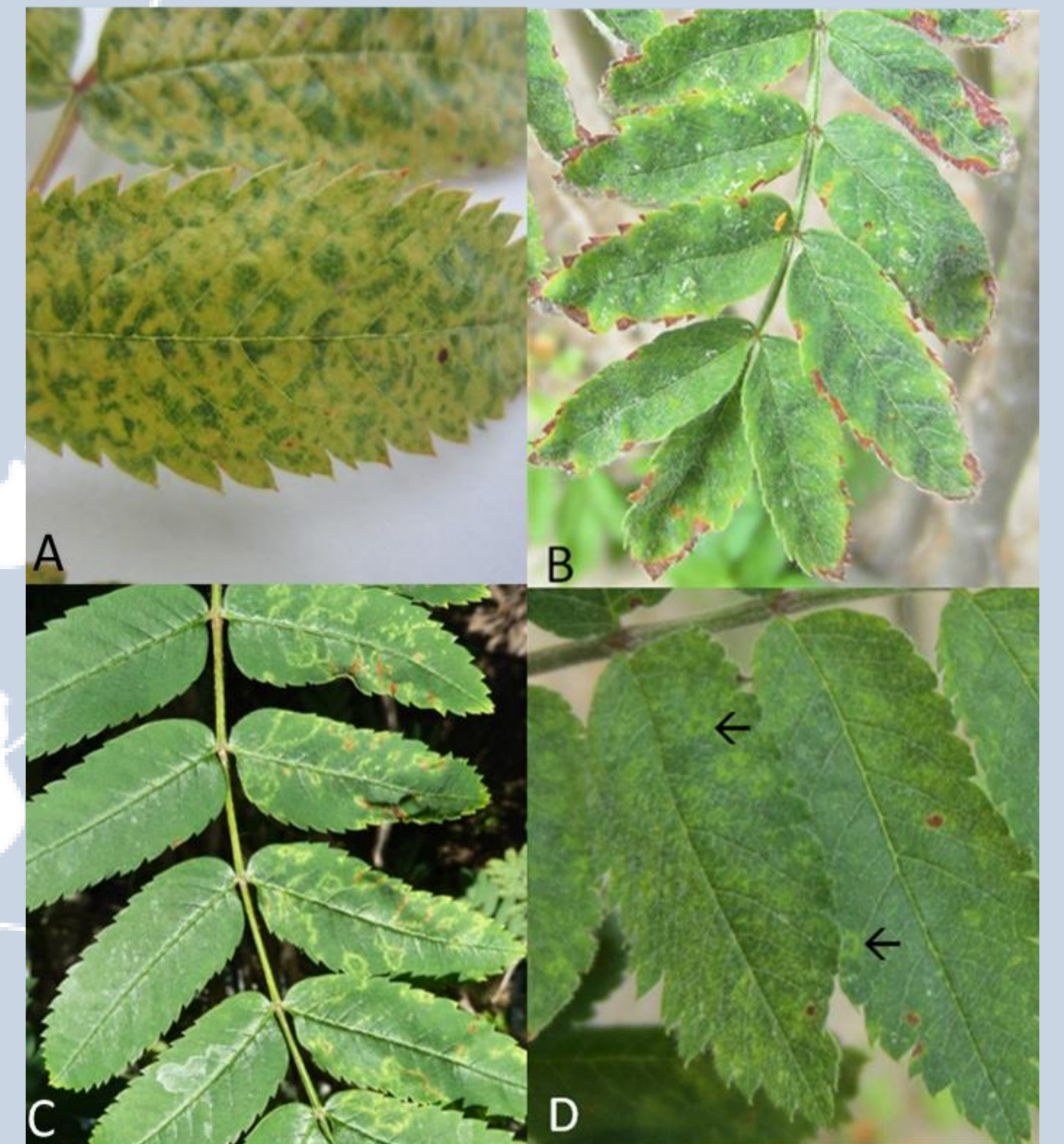


Abb. 2: Symptome an EMARaV-infizierten Ebereschenblättern
A: Blattscheckungen B: Nekrosen
C: nur rechte Blatthälfte symptomatisch
D: chlorotische Ringflecken (Pfeile)

Tab. 1: Übersicht RT-PCR getesteter Proben

Herkunft	Symptome	PCR-Produkte			
		RNA 1	RNA 2	RNA 3	RNA 4
Schottland					
S1 Skye	Ringflecken, Gallen	○	●	●	○
S2 Ullapool Hill	Ringflecken	○	●	●	●
S3 Ullapool Hill	Ringflecken, Gallen	○	○	○	○
S4 Ullapool Hill	Ringflecken	○	●	●	○
S5 Corrieshalloch Gorge	Ringflecken, Gallen	○	●	●	○
S6 Kinlochleven	Ringflecken	●	●	●	●
Schweden					
Sw1 Stockholm	Ringflecken, Scheckungen	○	○	●	○
Sw2 Stockholm	Ringflecken, Scheckungen	○	○	●	○
Sw3 Stockholm	Ringflecken, Scheckungen	●	●	●	●
Sw4 Köping	Ringflecken, Scheckungen	●	●	●	●
Sw5 Köping	Ringflecken, Scheckungen	○	○	○	○
Sw6 Köping	Ringflecken, Scheckungen	○	○	○	○
Sw7 Köping	Ringflecken, Scheckungen	○	○	○	○
Sw8 Köping	Ringflecken, Scheckungen	○	○	○	○
Finnland					
F1 Rovaniemi	Ringflecken, Scheckungen	●	●	●	●
F2 Rovaniemi	Ringflecken, Scheckungen	●	●	●	●
F3 Rovaniemi	Ringflecken, Scheckungen	●	●	●	●
F4 Rovaniemi	Ringflecken, Scheckungen	●	●	●	●
F5 Rovaniemi	Ringflecken, Scheckungen	○	○	○	○
Deutschland					
D1 Bad Schandau	Ringflecken, Scheckungen	○	○	○	○
D2 Dortmund	Scheckungen	○	○	○	○
D3 Dortmund	Keine Symptome	○	○	○	○
D4 Dortmund	Keine Symptome	○	○	○	○
D5 Dortmund	Keine Symptome	○	○	○	○
D6 Frankfurt	Rostpilzbefall	○	○	○	○
D7 Frankfurt	Gallen	○	○	○	○
D8 Ebnath	Ringflecken, Scheckungen	●	●	●	●
D9 Mahlow	Ringflecken, Scheckungen	○	○	○	○
Italien					
It Laimburg	aufgehellte Blättern	○	○	○	○

● steht für eine erfolgreiche Amplifizierung des jeweiligen Fragments
○ zeigt eine durchgeführte PCR an, jedoch ohne Amplicon

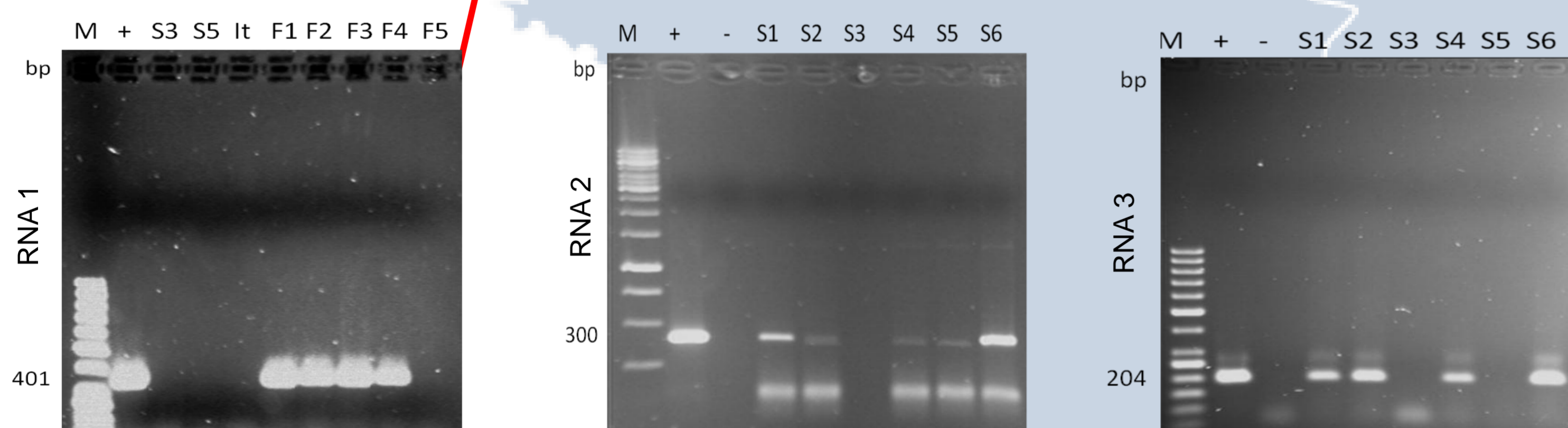


Abb. 3: Detektion der viralen RNA 1 bis RNA 3 des EMARaV mittels RT-PCR in sechs schottischen Ebereschenproben (S1-S6) bzw. Kontrollen (+,-) und Auftrennung im 1%igem Agarosegel

Ergebnisse

- ✓ In 60 % der symptomatischen Bäume konnte eine EMARaV-Infektion detektiert werden.
- ✓ In allen Proben (14 Ebereschen) konnte die RNA 3 nachgewiesen werden.
- ✓ In 12 Proben gelang der Nachweis der RNA 2.
- ✓ Die RNA 1 war in 8 Proben detektierbar.
- ✓ In 9 Proben wurde die RNA 4 nachgewiesen.
- ✓ Die Assoziation von EMARaV mit den bekannten Symptomen konnte bestätigt werden.
- ✓ Es gelang ein erster Nachweis von EMARaV in Schottland.

Fazit

Virusinfizierte Ebereschen sind in Nord- und Mitteleuropa bemerkenswert weit verbreitet. Fragen zur Epidemiologie und dem möglicherweise bedeutenden Wirtspflanzenkreis sowie die wirtschaftliche Relevanz sind aufzuklären.

Quellen

Benthack W, Mielke N, Büttner C & Mühlbach HP. 2005. Double-stranded RNA pattern and partial sequence data indicate plant virus infection associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). Archives of Virology 150: 37-52.
Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PM & van der Noordaa J., 1990. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. Journal of Clinical Microbiology 28: 495-503.
Führling M & Büttner C., 1995. Transmission experiments of viruses to woody seedlings (*Quercus robur* L. and *Sorbus aucuparia* L.) by grafting and mechanical inoculation. European Journal of Forest Pathology 25: 129-135.

Mielke N & Mühlbach HP., 2007. A novel, multipartite, negative-strand RNA virus is associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). Journal of General Virology 88: 1337-1346.
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.