

4 2 8

Julius-Kühn-Archiv

57. Deutsche Pflanzenschutztagung

6. - 9. September 2010
Humboldt-Universität zu Berlin

- Kurzfassungen der Beiträge -



042 - Mielke-Ehret, N.; Thoma, J.; Schlatermund, N.; Mühlbach, H.-P.
Universität Hamburg

The pear leaf blister mite *Phytoptus pyri* (Eriophyidae), a putative vector of European mountain ash ringspot associated virus (EMARAV)

The *European mountain ash ringspot associated virus* (EMARAV) is the type member of the novel genus Emaravirus, which is characterized by a multipartite ss(-)RNA genome. It is related to the family Bunyaviridae, but an interesting phylogenetic relationship to three unassigned RNA viruses was found, which are all transmitted by eriophyid mites. Since for EMARAV no vector has been identified yet, we were interested to see, whether eriophyid mites could be involved in EMARAV transmission. Galls of the eriophyid pear leaf blister mite (*Phytoptus pyri*) were frequently observed on EMARAV-infected leaves of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). Individual eriophyid mites were collected from galls of diseased trees, and by immunofluorescence microscopy the nucleocapsid protein P3 could be detected. The highest P3 accumulation was found inside the body of *P. pyri*. By using entire mites in RT-PCR studies, we could show that not only the viral genomic ss(-)RNAs, but also the antigenomic ss(+)RNAs were amplified specifically. Quantitative realtime RT-PCR studies supported these findings. Our results indicate that EMARAV is taken up by *P. pyri* and might be able to replicate within the arthropod, which turns *P. pyri* into a promising vector candidate for EMARAV transmission.

043 - Vincenz, J.¹⁾; Bandte, M.¹⁾; Mielke-Ehret, N.²⁾; Mühlbach, H.-P.²⁾; Schliesske, J.³⁾; Büttner, C.¹⁾
¹⁾ Humboldt-Universität zu Berlin; ²⁾ Universität Hamburg; ³⁾ Pflanzengesundheitskontrolle Hamburg

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

Investigations on the transmission of *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV)

Im gesamten Verbreitungsgebiet der Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.), welches sich von Nord- bis Mitteleuropa erstreckt, werden chlorotische Ringflecken und Scheckungen der Blätter beobachtet. Diese Farbveränderungen sind assoziiert mit dem *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV), dem namengebenden Vertreter des neuen Genus Emaravirus.

Auf der Grundlage der Genomorganisation, Sequenzanalyse und Morphologie besteht eine gewisse Verwandtschaft zur Familie Bunyaviridae sowie ein Zusammenhang zu drei anderen nicht klassifizierten RNA-Viren, *Pigeon pea sterility mosaic virus* (PPSMV), *High Plains virus* (HPV) und *Fig mosaic associated virus* (FMAV). Diese drei viralen Krankheitserreger werden durch Gallmilben (Eriophyoidea) übertragen. Für das nicht mechanisch übertragbare EMARAV sind die Verbreitungswege bisher nicht bekannt. Das vielfach beobachtete Auftreten zahlreicher Gallen auf den Blattunterseiten von erkrankten Ebereschen und die Übertragung der drei phylogenetisch verwandten Viren durch Gallmilben führte uns dazu, die Übertragbarkeit des EMARAV durch Gallmilben zu prüfen. Vor zwei Jahren wurden diese epidemiologischen Untersuchungen begonnen. Dazu wurden insgesamt 300 nicht-EMARAV-infizierte Ebereschensämlinge mit Gallmilben inokuliert, unter Freilandbedingungen kultiviert und regelmäßig visuell bonitiert. Die erste Applikation von Gallmilben wurde im September 2008 durchgeführt. Im September 2008 wurden zunächst Blätter mit Gallen von EMARAV-infizierten Ebereschen um den Stamm nicht-infizierter Ebereschen unterhalb der Blattknospen mit jeweils einer Holzklammer geklammernt. Im Juli 2009 wurden diese ausgewählten Ebereschen erneut durch Klammern von Blättern EMARAV-infizierter Ebereschen mit Gallen auf die Blattunterseite nicht-infizierter Ebereschen mit zwei Holzklammern inokuliert. Als Referenz dienten sowohl unbehandelte Ebereschensämlinge als auch solche, die mit Blättern mit Gallen von nicht EMARAV-infizierten Ebereschen inokuliert wurden. Jeweils ein Jahr nach der Inokulation wurde Blattmaterial dieser Ebereschen 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, für lichtmikroskopische Untersuchungen zur Bestimmung der Gallmilben isoliert (Schliesske, 1995) und ebenfalls mittels RT-PCR auf eine Kontamination mit EMARAV geprüft. Mit der RT-PCR wird dabei ein 204 bp langes Fragment aus der RNA 3 amplifiziert.

Ein Jahr nach der Inokulation von 2008 konnten keine virusverdächtigen Blattsymptome an den 300 Versuchspflanzen beobachtet werden, obwohl etwa 5 % der Pflanzen Gallen aufgewiesen haben. Erstmals waren ein Jahr nach der 2009 durchgeführten Inokulation an den behandelten Pflanzen charakteristische EMARAV-Symptome zu erkennen. Die bisherigen Bonituren zeigen eine Zunahme der Gallen an den inokulierten Sämlingen. Die unbehandelten Kontrollpflanzen wiesen weder Gallen noch virusverdächtige Symptome an den Blättern auf. Ein molekular-biologischer Nachweis des EMARAV war sowohl aus Blättern als auch Milben mit Hilfe der RT-PCR möglich. Die isolierten Milben aus den Gallen der Ebereschensämlinge konnten auf der Grundlage eines Bestimmungsschlüssels nach Schliesske (1995) beschrieben werden. Sie gehören zur Familie der Gallmilben

(Eriophyoidea) und stellen einen putativen Vektor des EMARAV dar. Die Ebereschensämlinge werden weiterhin regelmäßig bonitiert, beprobt und molekularbiologisch auf eine Infektion mit EMARAV untersucht.

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.

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

044 - Bandte, M.¹⁾; Eisold, A.-M.¹⁾; Lukacs, N.²⁾; Büttner, C.¹⁾

¹⁾ Humboldt-Universität zu Berlin; ²⁾ Corvinus University of Budapest

Virologische Untersuchungen an erkrankten Flatter-Ulmen (*Ulmus laevis*)

Virological investigations on diseased European White Elm (*Ulmus laevis*)

In einer Parkanlage im Nordwesten Brandenburgs wurden 30 Flatterulmen (*Ulmus laevis* Pall.) untersucht. 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. Diese für Viren charakteristischen Symptome wurden an verschiedenen Standorten in Berlin und Brandenburg beobachtet. Eine Infektion der erkrankten Ulmen mit in dieser Baumart bereits nachgewiesenen viralen Krankheitserregern – *Arabis mosaic virus* (ArMV), *Cherry leaf roll virus* (CLRV) und *Tomato ringspot virus* (TRSV) – konnte nach Testung mit Hilfe des enzyme-linked-immunosorbent assay (ELISA) ebenso ausgeschlossen werden wie eine Infektion mit den in Waldökosystemen bzw. öffentlichem Grün verbreiteten Erreger *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Carnation italien ringspot virus* (CIRV), *Tobacco necrosis virus* (TNV) und *Tomato bushy stunt virus* (TBSV).

Für Laboruntersuchungen wurde Blatt- und Rindenmaterial von den 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.

Der Erreger lässt sich durch mechanische Inokulation mit Blattpresssaft erkrankter Ulmen auf Gänsefußgewächse und Tabakpflanzen übertragen. Dabei werden beispielsweise an der Reismelde (*Chenopodium quinoa* Willd.) und am Weißen Gänsefuß (*C. album* L.) charakteristische chlorotische Lokalläsionen induziert; an *Chenopodium amaranticolor* (Coste & Reyn.) treten anthocyanfarbene Ringflecken und an *Chenopodium foetidum* (Lam.) nekrotische Flecken und Läsionen auf. Tabakpflanzen – *Nicotiana clevelandii* (Gray.) und *Nicotiana benthamiana* (Domin) – zeigten nach der mechanischen Inokulation keine Farb- oder Formveränderungen, die Viruspartikeln konnten aber elektronenoptisch dargestellt werden. Weitere 17 Pflanzenarten aus den Familien der Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Liliaceae, Poaceae, Solanaceae und Ulmaceae erwiesen sich als Nicht-Wirtspflanzen.

Flexible Viruspartikeln von etwa 800 nm Länge ließen sich elektronenoptisch darstellen. Die Morphologie der Partikeln deutet auf eine Infektion der Ulmen mit einem Poty- oder Carlavirus hin. Dieser Verdacht ließ sich bisher weder mit serologischen noch molekularbiologischen Arbeitsmethoden bestätigen.

Derzeitig wird über den Nachweis und die Isolierung von doppelsträngiger (ds) RNA versucht, den Erreger weiter zu charakterisieren.

045 - Münte, M.¹⁾; Christoph, M.¹⁾; Heydeck, P.²⁾

¹⁾ Berliner Forsten; ²⁾ Landeskompetenzzentrum Forst Eberswalde

Reduzierung der Spätblühenden Traubenkirsche (*Prunus serotina*) mit dem Violetten Knorpelschichtpilz (*Chondrostereum purpureum*)

Die aus Nordamerika stammende Spätblühende Traubenkirsche (*Prunus serotina* Ehrh.) hat sich in Europa kontinuierlich ausgebreitet. Besonders in Waldbeständen ist gebietsweise eine störende Expansion zu beobachten. Aus diesem Blickwinkel erscheint die Suche nach umweltverträglichen und wirksamen Methoden zur Reduzierung dieser Baumart sinnvoll.