

# Erster Nachweis des *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) in Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.) in Norwegen

Theresa Büttner<sup>1</sup>, Jenny Robel<sup>1</sup>, Hans-Peter Mühlbach<sup>2</sup>, Susanne von Bargaen<sup>1</sup>, Carmen Büttner<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin; Lentzeallee 55/57, D-14195; phytomedizin@agrar.hu-berlin.de  
<sup>2</sup> Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek; Ohnhorststr. 18, D-22609



## Einleitung

Das *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) ist ein negativ-orientiertes einzelsträngiges RNA Virus, welches 4 Genomsegmente enthält (Mielke und Mühlbach, 2007). Das Virus konnte mit Symptomen wie **chlorotischen Ringflecken und Scheckungen** an Blättern von Ebereschen assoziiert werden. Die weite Verbreitung von EMARaV und der beschriebenen Symptome ist für Finnland, Schweden, Russland, Deutschland, Österreich, Tschechien und Großbritannien dokumentiert (Robel *et al.* 2013a/b). Als möglichen **Vektor** des Virus wird die Birnenpockenmilbe, *Phytoptus pyri*, diskutiert, die an Ebereschenblättern typische **Gallen** induziert (Mielke-Ehret *et al.*, 2010)

**Das Ziel dieser Studie war der Erstnachweis von EMARaV in Blattproben von *Sorbus aucuparia* aus Norwegen mit Blatt-Symptomen wie chlorotischen Ringflecken, Scheckungen, Gallen, Deformationen und chlorotischen Linienmustern.**

## Material & Methoden

- Untersuchung von 30 Ebereschen verschiedener norwegischer Standorte mit Symptomen (Abb. 1) sowie 1 symptomfreie Blattprobe
- Isolierung von Gesamt-RNA (Mielke *et al.*, 2008)
- cDNA Synthese mit random Hexameren
- Nachweis der viralen RNA2 und RNA3 mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR) (Mielke *et al.*, 2008)
- Sequenzierung der PCR-Produkte
- Sequenzvergleich mittels BioEdit
- Phylogenetische Analyse der Nukleotidsequenzen mittels ClustalX 2.1

## Ergebnisse

- In 9 von 31 Blattproben konnte eine EMARaV Infektion nachgewiesen werden
- Sequenzvergleich mit bereits veröffentlichten Sequenzen konnte die Infektion von 9 Bäumen bestätigen
- Identitäten der Nukleotidsequenzen der 259 bp langen Fragmente aus dem proteinkodierenden Bereich der RNA2 lagen zwischen 94,9-100 %
- Identitäten der Nukleotidsequenzen des 159 bp langen RNA3 Fragmentes der 3' untranslatierten Region (3' UTR) lagen zwischen von 67,2-100 % untereinander bzw. zu bereits veröffentlichten Sequenzen
- Erstmals konnte für eine Genomregion des EMARaV (RNA3, partielle 3' UTR) eine erhöhte Sequenzdiversität gezeigt werden, die zur Bildung von 2 Gruppen innerhalb der norwegischen EMARaV-Varianten führte (Abb. 2)

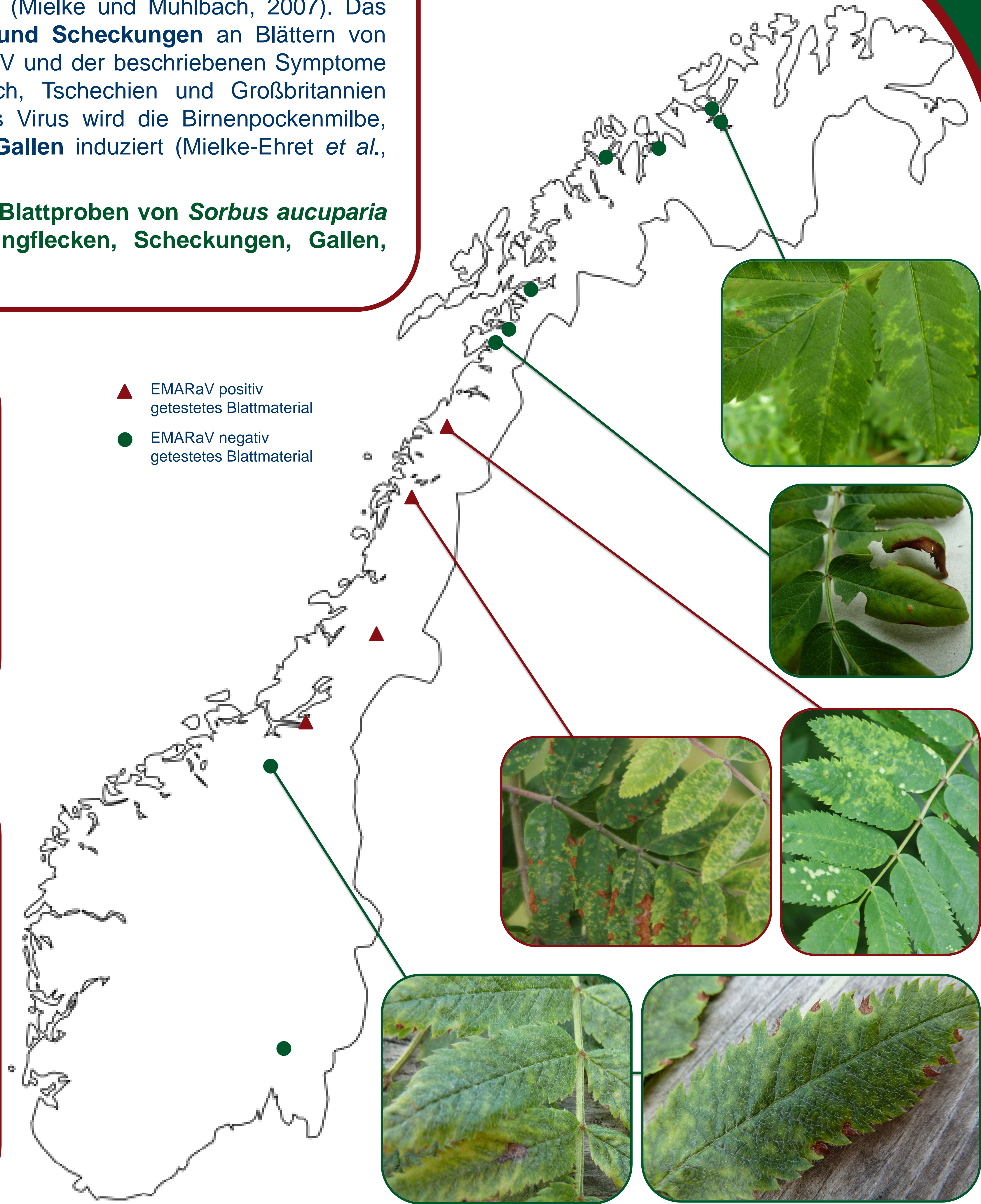


Abb. 1: Karte der beprobten Standorte in Norwegen mit zugeordneten Symptombildern

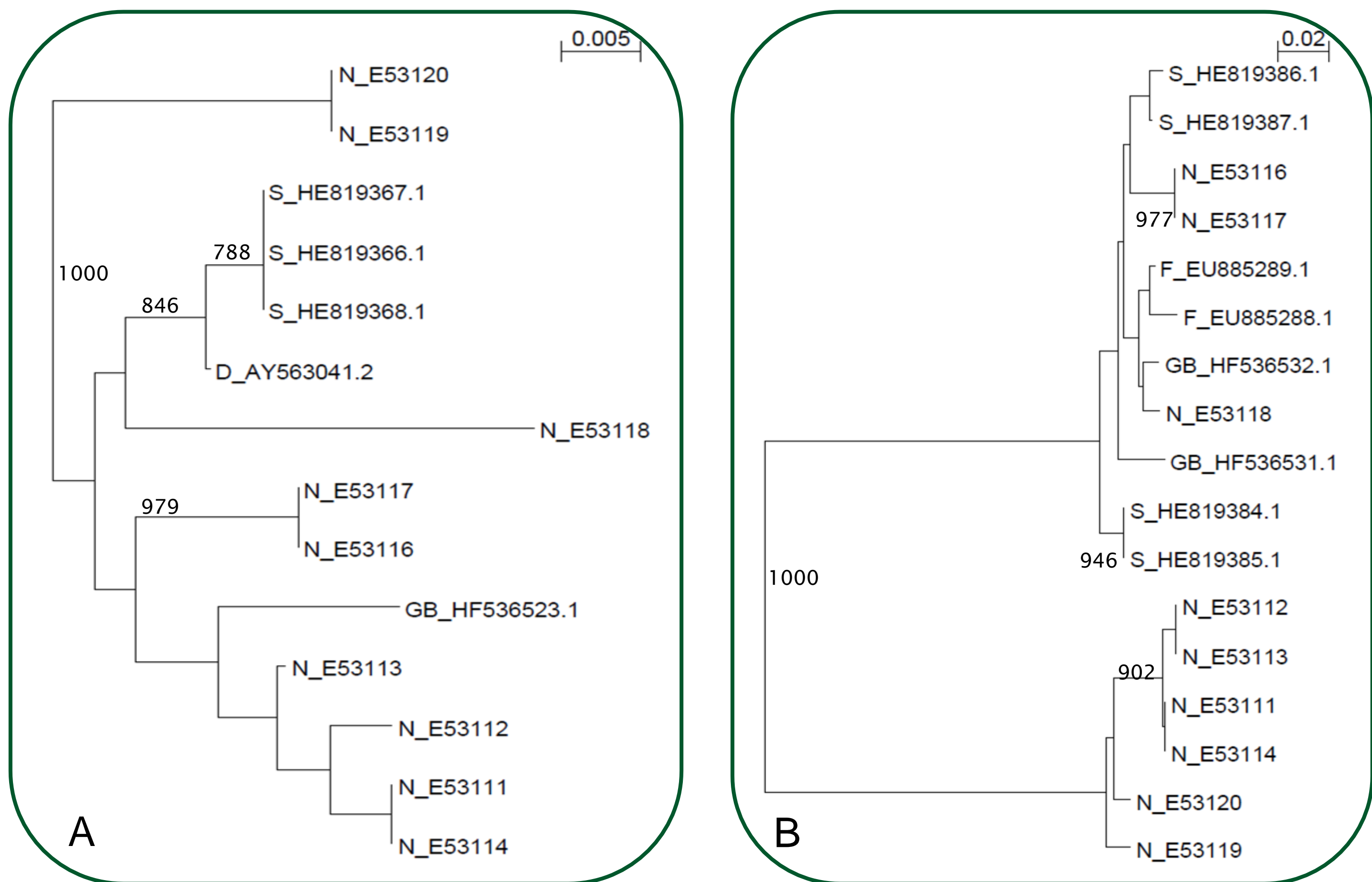


Abb. 2: Phylogenetische Stammbäume (*neighbour-joining*, mit Angabe der *bootstrap* Werte über 750 (n=1000)) der Nukleotidsequenzen des 259 bp Fragments der RNA2 (A) und des 159 bp Fragments der RNA3 (B)

## Diskussion

Warum konnte nur in 9 von 31 untersuchten Proben EMARaV nachgewiesen werden?

- Probenahme zu unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Ebereschen von Nord nach Süd beinhalten eine unterschiedliche Symptomausprägung & haben womöglich Einfluss auf den Virustiter und damit die Nachweisbarkeit von EMARaV

Woher stammt die erstmalig beschriebene höhere genetische Variabilität der RNA3 3' UTR (67,2-100 %)?

- Für schwedische und finnische EMARaV Varianten wurden bisher mindestens Identitäten von 94 % der 3' UTR dokumentiert (Kallinen *et al.*, 2009; von Bargaen *et al.*, 2013)

## Ausblick

- erneute Probenahme in Norwegen & Bestimmung der Gallmilbenart in Proben von norwegischen Standorten
- Etablierung neuer, zuverlässiger Detektionsmethoden in Hinblick auf die festgestellte höhere genetische Variabilität der EMARaV-Varianten aus Norwegen

## Quellen

- Kallinen A.K., Lindberg I.L., Tugume A.K., Valkonen J.P.T. 2009 Detection, Distribution, and genetic variability of *European mountain ash ringspot-associated virus*, *Phytopathology* 99, 344-352
- Mielke N., Mühlbach H.P. 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-Ehret N., Thoma J. Schlatermund N., Mühlbach H.P. 2010 Detection of *European mountain ash ringspot-associated virus*-specific RNA and protein P3 in the pear blister mite *Phytoptus pyri* (Eriophyidae), *Archives of Virology* 155, 987-991
- 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
- Robel, J., Bandte, M., Mühlbach, H.-P., von Bargaen, S., Büttner, C. 2013, a Ein neuartiges Virus in *Sorbus aucuparia* L.: Nachweis und Verbreitung des *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV). In: Dujesiefken, D. (Ed.), *Jahrbuch der Baumpflege*, Haymarket Media, Braunschweig, 47-53.
- Robel, J., Dieckmann, L., von Bargaen, S., Büttner C. 2013, b First detection of *European mountain ash ringspot associated virus* in rowan trees in Scotland. *New Disease Reports* 27, 13. [http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2013.027.013]
- von Bargaen, S., Arndt, N., Robel, J., Jalkanen, R., Büttner C. 2013, Detection and genetic variability of *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) in Sweden. *Forest Pathology* 43, 429-432.

## Danksagung



Dieses Projekt ist durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) gefördert (BU890/27-1, MU559/13-1)