

# Studien zur Übertragung des *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) auf putative neue Wirtspflanzen



Dieckmann HL, Roßbach J, von Barga S, Mühlbach HP, Büttner C

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D 14195 Berlin, Email: phytomedizin@agr.ar.hu-berlin.de

## Einleitung

Das *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) infiziert Ebereschen (*Sorbus aucuparia* L.) und induziert Scheckungen und chlorotische Ringflecken der Blätter. Es handelt sich um ein (-)ssRNA Virus mit 4 RNAs aus der Gattung *Emaravirus* (Mühlbach und Mielke-Ehret, 2011). Im Jahr 2013 konnte das Virus erstmals in der Schwedischen Mehlbeere (*Sorbus intermedia*) und in der Echten Mehlbeere (*Sorbus aria*) nachgewiesen werden (Robel et al. 2013).

## Material und Methoden

Erdbeerpflanzen (*Fragaria* sp.), Erdbeerblättriges Fingerkraut (*Potentilla megalantha*), Frauenmantel (*Alchemilla vulgaris*), *N. rustica* und *N. benthamiana* wurden mechanisch mit EMARaV inokuliert. symptomatische Blätter von infizierten Ebereschen

- mit Celite und Norit Puffer homogenisiert
- mit Celite und 2 % Nicotinlösung (McGavin et al. 2011) homogenisiert
- mit Celite und Phosphatpuffer mit 2 % Nicotin homogenisiert
- auf die Blattober- und z.T. Unterseiten der Testpflanzen abgerieben
- Trockenabrieb der infizierten Blätter ohne Homogenisierung

Nach sieben Tagen wurde das Pathogen von den inokulierten Pflanzen auf neue Pflanzen passagiert. Für den Nachweis wurde Gesamt RNA aus den Blättern der inokulierten Pflanzen mit dem *Invitrap Spin Plant RNA Mini Kit* (Strattec) isoliert. Die reverse Transkription wurde mit *random* Hexameren und eine PCR wurde mit spezifischen Primern nach Elbeaino et al. (2013) durchgeführt.

Die Übertragung des Pathogens ist bisher nur durch Pfropfung zwischen Ebereschen und anderen Baumspezies der Familie der *Rosaceae* beschrieben worden (Grimova et al. 2014). Die bisher bekannten Wirtspflanzen des Pathogens gehören zur gleichen Familie. Ziel dieser Studie war, EMARaV mechanisch auf krautige *Rosaceae* und *Nicotiana* Pflanzen zu übertragen.

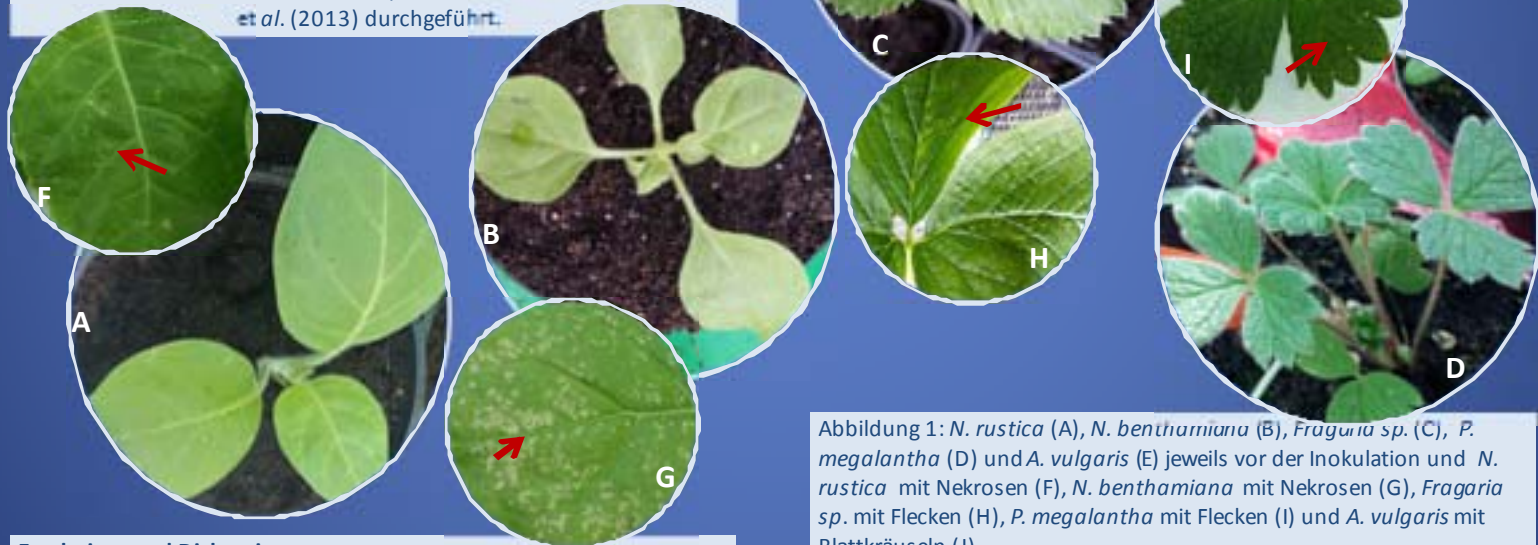


Abbildung 1: *N. rustica* (A), *N. benthamiana* (B), *Fragaria* sp. (C), *P. megalantha* (D) und *A. vulgaris* (E) jeweils vor der Inokulation und *N. rustica* mit Nekrosen (F), *N. benthamiana* mit Nekrosen (G), *Fragaria* sp. mit Flecken (H), *P. megalantha* mit Flecken (I) und *A. vulgaris* mit Blattkräuseln (J)

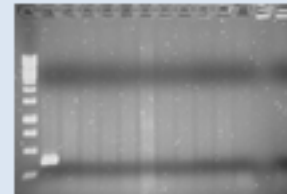
## Ergebnisse und Diskussion

- Großteil der Pflanzen ohne Symptome
- Einige unspezifische Symptome, u.a. Abreibeschäden sowie Nekrosen, Scheckungen, Flecken und Blattrollen (Abbildung 1)
- Eine Infektion der Pflanzen mit EMARaV konnte in keinem Fall molekularbiologisch bestätigt werden (Abbildung 2)
- Die mechanische Übertragung des Pathogens ist nicht gelungen
  - kleiner Wirtspflanzenkreis des Erregers
  - Instabilität des Erregers außerhalb des Wirts

## Literatur

- McGavin WJ, Mitchell C, Cock PJA, Wright KM, MacFarlane SA. 2011. *Journal of General Virology*, 93, 430–437
- Elbeaino T, Whitfield A, Sharma M, Digiaro M. 2013. *Journal of Virological Methods* 188, 37-40
- Grimová L, Marek M, Konrady M, Ryšánek P. 2014. *Forest Pathology*
- Mühlbach HP, Mielke-Ehret N. 2011. In: King A, Lefkowitz E, Adams MJ, Carstens EB. *Virus Taxonomy: IXth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*: 767–770.
- Robel J, Büttner T, Mühlbach HP, von Barga S, Büttner C. 2013. Poster. *International Advances in Plant Virology* 25.-27.9.2013 in Norwich

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



Motif A-s/ Motif C-as = 360 bp

- M: 1 kb DNA ladder
- 1: EMARaV-infizierte Eberesche
- 2: EMARaV-negative Eberesche
- 3: Trockenabrieb
- 4: Trockenabrieb passagiert
- 5: Trockenabrieb Blattober- und Unterseite
- 6: Noritpuffer
- 7: Noritpuffer passagiert
- 8: 2 % Nicotin
- 9: 2 % Nicotin passagiert
- 10: 2 % Nicotin Blattober- und Unterseite
- 11: 2 % Nicotin in Phosphatpuffer
- 12: 2 % Nicotin in Phosphatpuffer passagiert
- 13: 2 % Nicotin in Phosphatpuffer Blattober- und Unterseite

Abbildung 2: Gelelektrophoretische Auftrennung der PCR-Fragmente zum Nachweis einer EMARaV-Infektion von *N. rustica*

## Danksagung

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

