

Eine Fallstudie zur Detektion von *Elm mottle virus* (EMoV) an Ulme (*Ulmus laevis* Pall.)



Carmen Büttner, Susanne von Barga, Anne-Mareen Eisold, Martina Bandte, Markus Rott

Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin

phytomedizin@agraru-berlin.de

Ziel dieser Arbeit ist die Identifizierung und Charakterisierung eines unbekanntes, putativ viralen, pathogenen Agens an *Ulmus laevis*.

Mögliche Methoden zur Identifizierung des unbekanntes Virus in Ulme:



Seit dem Jahr 2000 wird ein Bestand von ca. 150-jährigen Flatterulmen (*Ulmus laevis* Pall.) im Schlosspark Caputh (Brandenburg, Abb.2) regelmäßig bonitiert. Von 30 Ulmen weisen 16 Bäume virusartige Symptome wie chlorotische Blattscheckungen, Blattflecken, Mosaik und Ringflecken auf (Abb. 3A-D).

In vorangegangenen Untersuchungen wurden pilzliche und bakterielle Pathogene als Verursacher der Symptome ebenso ausgeschlossen wie an Gehölzen häufig auftretenden Viren wie *Arabis mosaic virus* (ArMV) und *Cherry leaf roll virus* (CLRV) (Bandte et al. 2004).



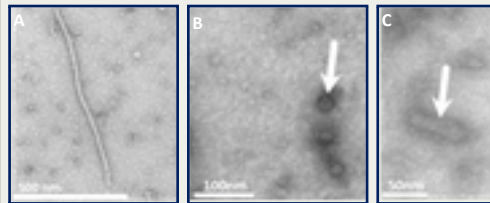
I Mechanische Übertragung

Die Biotestpflanze *Chenopodium quinoa* wurde mit einem Homogenat von Knospen symptomtragender Astpartien von *U. laevis* inokuliert. Die Indikatorpflanzen entwickelten Wuchsdepressionen (A), Blattdeformationen (B) und Chlorosen (C). Die mechanische Übertragbarkeit und die Ausprägung der Symptome deuten auf eine Infektion mit einem Virus hin.



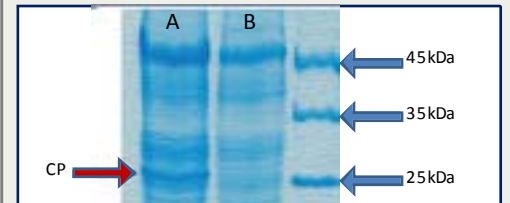
II Virusanreicherung

In Blatthomogenaten erkrankter Ulmen konnten elektronenmikroskopisch filamentöse Partikel (ca. 800 nm) dargestellt werden (A). Viren aus Blattmaterial von inokulierten *C. quinoa* wurden angereichert. Es konnten isometrische Partikel (25 - 30nm, B) und bacilliforme Partikel von (ca. 70nm, C) sowie dargestellt werden.



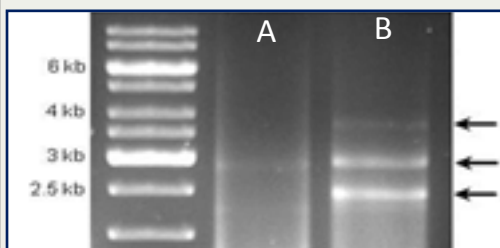
III Proteinfractionierung

Mittels SDS-PAGE konnte in der Virusanreicherung im Vergleich zwischen inokulierter (A) und nicht-inokulierter *C. quinoa* (B) ein putatives virales Hüllprotein (*coat protein*, CP) mit einer molekularen Masse von etwa 25kDa dargestellt werden (roter Pfeil).



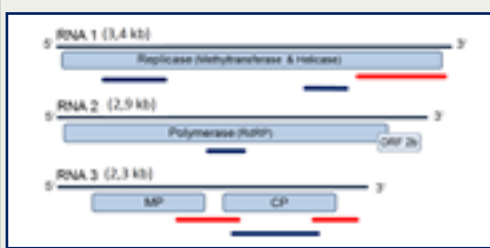
IV dsRNA Isolierung

Isolierte dsRNA aus Blattmaterial von inokulierten *C. quinoa* (B) zeigten im Vergleich zu nicht-inokulierter *C. quinoa* (A) ein 3-segmentiertes dsRNA-Muster. Die Größe der Banden korrespondiert dabei mit den Größen der drei RNAs von EMoV (RNA1: 3431bp, RNA2: 2874bp, RNA3: 2315bp, Pfeile).



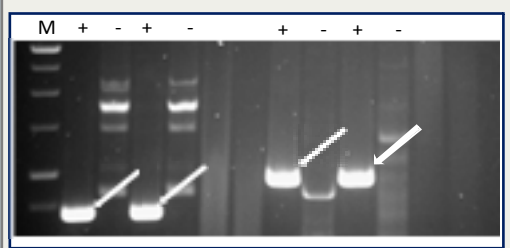
V Random PCR

Aus der Virusanreicherung wurde RNA isoliert und für eine (random) rPCR eingesetzt. Amplikons wurden kloniert und sequenziert. Der Sequenzvergleich mit der NCBI-Datenbank mittels BLAST zeigte Übereinstimmungen mit Sequenzen der RNA1 und RNA3 des EMoV (rote Linien).



VI EMoV-Nachweis durch spezifische PCR

Durch rPCR generierte Sequenzen wurden herangezogen, um EMoV-spezifische Primer abzuleiten. EMoV-spezifische Fragmente (blaue Linien, siehe V) konnten sowohl aus Blattmaterial inokulierter *C. quinoa*, als auch aus Virusanreicherungen aus inokulierten *C. quinoa* amplifiziert werden (Pfeile).



Fazit:

Die **mechanische Übertragbarkeit** des kausalen Agens der Erkrankung der Flatterulmen am Standort Caputh, sowie die **charakteristische Symptomausprägung** deuteten auf eine **Virusinfektion**.

Anhand der **isometrischen Partikel** und der **bacilliformen Partikel**, des **putativen Hüllproteins**, sowie durch den Nachweis von **spezifischer RNA** wurde im untersuchten Ulmenbestand am Standort Caputh das **Elm mottle virus** identifiziert.

Die Bäume sind allerdings mit mehr als nur einem Virus infiziert. Die im TEM gezeigten **fadenförmigen Partikel** weisen auf mindestens **ein weiteres Virus hin**, das in zukünftigen Arbeiten identifiziert werden wird.

Unser besonderer Dank gilt unseren Kooperationspartnern Dr. Joachim Hamacher (AGRO-HORTI-Testlabor, Bonn) und Dr. Richard-Pöggeler (JKI Braunschweig) für die Unterstützung bei den TEM-Untersuchungen.

Literatur:

Bandte et al. (2004), Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales 13, 65-69.