# Detektion von Viren in Rosen mit Mosaik und chlorotischen Adernbänderungen

[1]Demiral R, [1]von Bargen S, [1]Büttner C

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

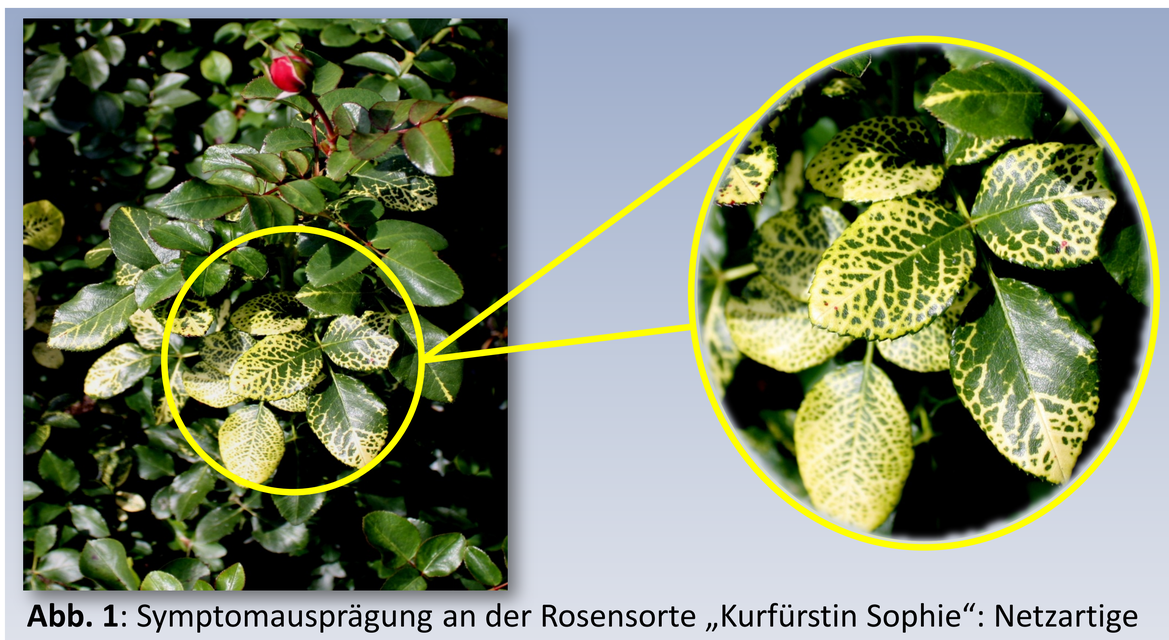

**Abb. 1**: Symptomausprägung an der Rosensorte „Kurfürstin Sophie“: Netzartige Chlorosen und Adernvergilbung. Aufgenommen am 21.09.2013, Insel Mainau, Bodensee.

## Einleitung

Die Insel Mainau im Bodensee/Konstanz kultiviert seit knapp einem Jahrhundert Rosen (*Rosa hybrida* Schleich.). In den letzten Jahren wurden an diesen virusverdächtige Symptome, wie Mosaik, Chlorosen an den Blättern und Adernvergilbung beobachtet (Abb. 1). Insbesondere sind die Sorten Escimo (E), Diamant (D), Leonardo da Vinci (LdV), Chippendale (C), Kurfürstin Sophie (KS), Trier 2000 (T2) und Alea (A) betroffen. Im November 2014 wurden Proben dieser und weiterer Sorten entnommen. Zielstellung war die Identifikation von Viren an den erkrankten Rosen der Insel Mainau.

## Material und Methoden

Die entnommenen Proben (Blatt-, Spross- und Wurzelproben) von Rosen mit und ohne Symptome der Insel Mainau wurden auf die zum „Rose mosaic disease“ Komplex gehörenden Viren *Apple mosaic virus* (ApMV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) und *Arabis mosaic vrius* (ArMV) (1) sowie auf die Gruppe der Potyviren (2) getestet. Dazu wurden Biotest (3), Untersuchungen mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) (4) (Abb. 3) sowie serologische (DAS/ACP - ELISA) und molekulare Methoden (RT-PCR) (5/7) herangezogen.

## Ergebnisse

1 **Testung auf Viren des Rose mosaic disease Komplex** → **DAS ELISA** → **ApMV -**, **PNRSV -**, **ArMV -**

2 **Testung auf Potyviren** → **ACP ELISA** → **Potyviren +**, **7 von 10 Rosen**

3 **Biotest** → ***Nicotiana benthamiana, N. tabacum, Cheno-podium quinoa***

**Abb 2:** Symptome an *C. quinoa* (Homogenat aus Rosa (A), 16.12.2014) wie chlorotische Ringflecken und Sprenkelungen.

**Verdacht auf Nepovirus** → 4 **Nepoviren Gruppe A und B RT-PCR RNA 1 (Wei & Clover 2008)**

→ **0 von 10 Rosen Nepo A+**, **2 von 10 Rosen Nepo B+**

5 **TEM** → **Verdacht auf Nepovirus**

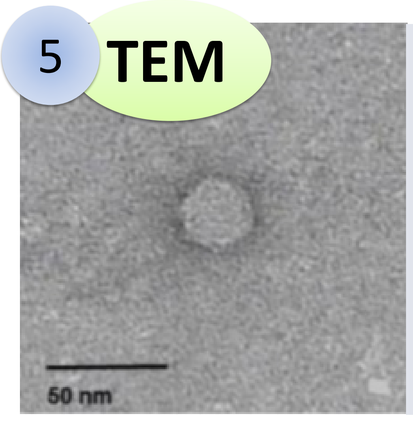


**Abb. 3:** : Isometrisches Partikel (ø 28 nm) mittels TEM, in Blatt-Homogenaten aus symptomatischen Biotestpflanzen (*N. benthamiana*, von Rose A).

6 **Sequenzierung**
**Ähnlichkeiten von bis zu 89 % mit einem Weinisolat des *Raspberry ringspot virus* (RpRSV; AY310444, NCBI) aus Deutschland.**

7 **RpRSV RT-PCR RNA 2 (Ochoa -Corona *et al*. 2005)**

8 **Sequenzierung**
**Ähnlichkeiten des MP-Fragments (RNA 2) von 91 % mit *Raspberry ringspot virus* Weinisolat (AY310445) aus Deutschland.**

→ **5 von 10 Rosen und 7 der Biotestpflanzen RpRSV +**

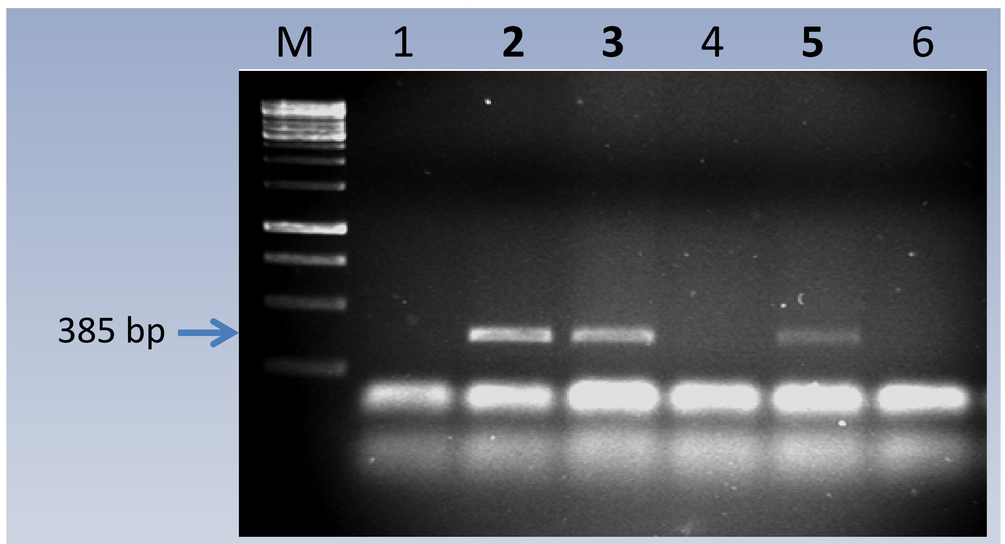


**Abb 4:** Gelelektrophoretische Auftrennung von 5 RT-PCR Produkten der MP-kodierenden Region der RNA2 des RpRSV in 1%igem Agarosegel. Rosa (1) Voyage **(2) LdV (3) T2** (4) KS **(5) A** (6) Negativkontrolle: Mili Q $H_2O$, M Größenstandard 1 kb (Thermo Scientific).

## Fazit

**Erstmals gelang ein Nachweis des *Raspberry ringspot virus* (RpRSV) in Rosen (*Rosa hybrida* Schleich.) mit Mosaik und Adernvergilbung. Die Rolle einer (Misch-) Infektion erkrankter Rosen mit Potyviren wird weiterhin untersucht.**

## Danksagung

Die Arbeit wurde durch die Mainau GmbH (Insel Mainau ) finanziell unterstützt.

## Literatur

OCHOA-CORONA, F. M., LEBAS, B. S. M., TANG, J., BOOTTEN, T. J., STEWART, F. J., ELLIOT, D. R., ALEXANDER, B. J. R., (2005): Diagnosis and strain typing of Pepino mosaic virus and Raspberry ringspot virus by RT-PCR and SSCP. The 15th biennial Australasian plant pathology society conference handbook, 259 S.

WEI, T. & CLOVER, G., (2008): Use of the primers with 5´ non-complementary sequences in RT-PCR for the detection of nepovirus subgroups A and B. Journal of Virological Methods 153, S. 16-21. doi: 10/1016/j.jviromet.2008.020