

# Nachweis von Pflanzenviren in Rosen (*Rosa* sp.) einer Sorten-Sammlung in Deutschland

## *Detection of plant viruses in roses (*Rosa* sp.) from a German rose collection*

Susanne von Barga<sup>n</sup>\*, Janine Kutta, Karolina Zajac, Rana Demiral und Carmen Büttner

### **Einleitung**

Virusverdächtige Symptome treten seit mehreren Jahren in Rosenbeständen einer Rosensammlung in Deutschland auf. Es werden Scheckungen, chlorotische Ringflecken, Gelbnetz und Linienmuster (Abb. 1), teilweise in Verbindung mit Wuchsstauchungen und Absterbeerscheinungen beobachtet. Verschiedene Ilarviren wie *Apple mosaic virus* (ApMV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Tobacco streak virus* (TSV), Nepoviren wie *Raspberry ringspot virus* (RpRSV), *Arabis mosaic virus* (ArMV) und *Tobacco ringspot virus* (TRSV) sowie das Potyvirus *Rose yellow mosaic virus* (RoYMV) wurden als Verursacher beschrieben (MILLEZA et al. 2013). Ein weiteres bedeutendes Virus, das Rosen infiziert, ist das Rose rosette emaravirus (RRV). Es ist in den Vereinigten Staaten weit verbreitet und führt dort zu beträchtlichen Ertragseinbußen in sämtlichen Bereichen der Rosenkultivierung (BABU et al. 2016).

Ziel dieser Studie war es, Pflanzenviren zu detektieren, die als Verursacher der beobachteten Krankheitssymptome an den Rosen darunter historische, bzw. seltene Akzessionen in Frage kommen.

### **Material und Methoden**

**Pflanzenmaterial:** In die Untersuchung wurden Blattproben von 39 Rosensorten einer Rosensammlung in Deutschland einbezogen. Es wurden Rosensorten ausgewählt, die in den vergangenen Vegetationsperioden und in 2016 virusverdächtige Blattsymptome aufwiesen (Abb.1). Zudem zeigten einige Sorten Verzweigungen bzw. Absterbeerscheinungen.

**Sorten:** Die untersuchten Rosensorten zählen zu den Teehybriden, Kletterrosen, Floribunda und Polyantharosen. Die Rosensammlung beinhaltet sehr wertvolle Sorten darunter erhaltenswerte historische bzw. sehr seltene Akzessionen.

**Probennahme:** Es wurden Blattproben von 2-5 Pflanzen je Rosensorte als Mischprobe an zwei Terminen (10. Mai und 5 Juli 2016) entnommen.

**Virusdetektion:** Blattproben wurden zum einen mittels virusspezifischem DAS-ELISA auf ArMV, TRSV, RpRSV, PNRSV, ApMV bzw. TSV untersucht. Zum anderen wurde ein gattungsspezifischer ACP ELISA zur Detektion von Potyviren eingesetzt. Spezifische Antikörper und Konjugate wurden von Bioreba (Schweiz) bzw. der DSMZ (Deutschland) bezogen. Zum ArMV-Nachweis wurden gereinigtes virusspezifisches IgG bzw. konjugiertes IgG-AP in einer Verdünnung von 1:1000 eingesetzt. Zudem wurde von ausgewählten Proben RNA isoliert und mittels random hexamer Primern eine cDNA hergestellt. Ilar-, Nepo- und Potyviren wurden mittels generischer PCR nach UNTIVEROS et al. (2010), WEI & CLOVER (2008) bzw. ZHENG et al. (2010) untersucht. Der Befall auf RRV wurde sowohl mittels PCR unter Verwendung gattungsspezifischer Primer (ELBEAINO et al. 2013) als auch mit RRV-spezifischen Oligonukleotiden (LANEY et al. 2011) geprüft.

### **Ergebnisse und Diskussion**

In den untersuchten erkrankten Rosensorten traten die Ilarviren PNRSV und ApMV sowie Potyviren am häufigsten auf (Tab.1). Vereinzelt konnte TSV (*Ilarvirus*) und ArMV (*Nepovirus*) nachgewiesen werden. Viele der untersuchten Rosensorten waren mit mehr als einem Virus infiziert (Abb.1). Es wurden Infektionen mit bis zu 4 verschiedenen Viren (z.B. Detektion von 3 Ilarviren und Potyvirus-Nachweis in „Clbg New Yorker“) gefunden. Ein Befall mit dem RRV (*Emaravirus*) sowie mit TRSV und RpRSV konnte nicht in Rosenproben unterschiedlicher Sorten mit chlorotischen Ringflecken, Scheckung der Blätter, Eichenblattmuster und/oder Wuchsdepression festgestellt werden. In 4 Rosensorten („Odette“, „Mosaik“, „Bernstein“, „Frau Eva Schubert“) mit Gelbnetz bzw. Scheckung konnte keines der untersuchten Viren detektiert werden.

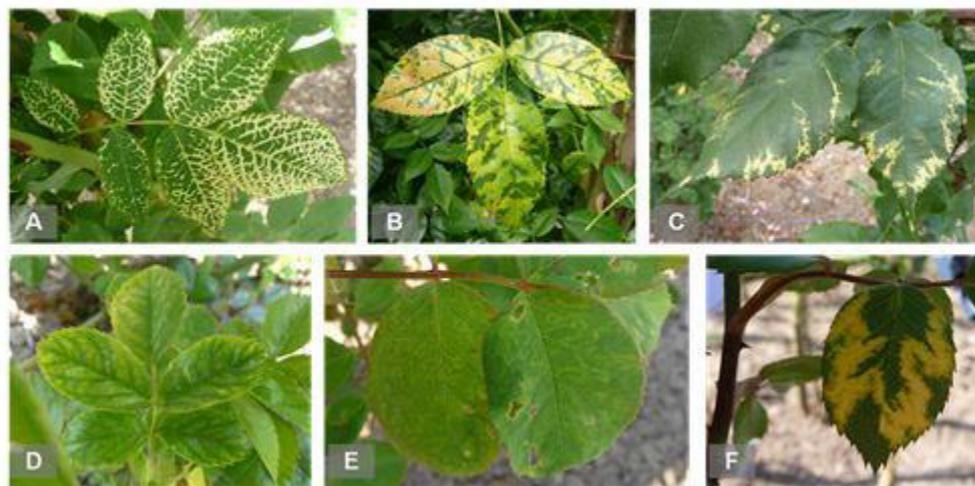


Abbildung 1: Blattsymptome an verschiedenen virusinfizierten Rosensorten der Rosensammlung. (A) Gelbnetz an ArMV-infizierter „Splendid Garland“; (B) Mosaik an „Refreshher“ infiziert mit ApMV, TSV bzw. Potyvirus; (C) chlorotische Linienmuster an „Parade“ infiziert mit ApMV, PNRSV bzw. Potyvirus; (D) Intercostalchlorose an „Aristide Briand“ infiziert mit einem Ilar- bzw. Potyvirus; (E) chlorotische Ringflecken an ApMV-infizierter „Pelé“; (F) chlorotische Eichenblattmuster an „Climbing Mary Hart“ mit PNRSV bzw. Potyvirus-Infektion.

Die Befunde deuten darauf hin, dass die untersuchten erkrankten Rosensorten mit einem Komplex aus mehreren Viren infiziert sind. Die nachgewiesene Infektion mit verschiedenen viralen Erregern aus der Gruppe der Ilar-, Nepo- und Potyviren kann ursächlich für die Wuchsdepression bzw. die beobachteten Ausfälle wertvoller Rosenakzessionen innerhalb der Sammlung sein. Die Detektion an der Erkrankung beteiligter Erreger ist eine wichtige Voraussetzung zur Entwicklung geeigneter Managementstrategien. Bei Ilarviren ist die Samenübertragbarkeit von Bedeutung. Die meisten Potyviren sind durch Blattläuse übertragbar; der bzw. die in dieser Studie nachgewiesenen Potyviren müssten zunächst identifiziert werden, um daraus ein Programm zum Management der Virusübertragung z.B. durch gezielte Vektorbekämpfung bzw. Unterbindung der Saatgut-Übertragbarkeit abzuleiten. Für wertvolle Akzessionen wäre eine Meristem-Kultur in Kombination mit einer Thermotherapie zur Virusfreimachung geeignet.

Tabelle 1: Übersicht zur Virusdetektion in Rosenblattproben mit verschiedenen Nachweisverfahren

	<i>Nepoviren</i>			<i>Ilarviren</i>			<i>Potyv.</i>	<i>Emaraviren</i>	
<b>ELISA</b>	<i>ArMV</i>	<i>TRSV</i>	<i>RpRSV</i>	<i>PNRSV</i>	<i>ApMV</i>	<i>TSV</i>	<i>Potyv.</i>	<i>Emaraviren</i>	
	1/39 <sup>1</sup>	0/39	0/39	17/39	13/35	2/34	18/39	nt*	
<b>PCR</b>	<i>NepoA</i>		<i>NepoB</i>	<i>Ilar 1</i>		<i>Ilar2</i>	<i>Potyv.</i>	<i>Emarav.</i>	<i>RRV</i>
	2/35		0/35	9/39		4/39	0/38	0/35	0/8

<sup>1</sup> positive Nachweise je untersuchter Probenanzahl, \* nt = nicht getestet

### Zusammenfassung

Virusverdächtige Symptome wie Scheckungen, Adernvergilbungen, chlorotische Ringflecken und Linienmuster, teilweise in Verbindung mit Wuchsstauchungen und Absterbeerscheinungen werden seit einigen Jahren in den Rosenbeständen einer Sorten-Sammlung in Deutschland beobachtet. Als Verursacher kommt eine Vielzahl an Pflanzenviren in Betracht, die Rosen infizieren können. Verschiedene Ilar- sowie Nepoviren sind in der Regel als Viruskomplex in unterschiedlichen Kombinati-

onen in Rosen am Weitesten verbreitet. Darüber hinaus wurden weitere Viren in Rosen beschrieben, darunter das *Rose rosette virus* (RRV, Gattung Emaravirus) und das zu den Potyiren zählende *Rose yellow mosaic virus* (RoYMV).

Blattproben verschiedener Rosensorten (*Rosa* sp.), darunter Teehybriden, Kletterrosen, Floribunda bzw. Polyantharosen mit genannten Symptomen wurden auf eine Virus-Infektion mittels ELISA bzw. RT-PCR-Verfahren unter Verwendung gattungsspezifischer Oligonukleotide in Verbindung mit Sequenzierung der PCR-Produkte untersucht. Diese Studie zur Detektion von Ilar-, Nepo-, Potyviren sowie zum RRV-Nachweis bestätigt eine vorwiegende Infektion der untersuchten Rosen mit Ilar- und Potyviren. Zudem wurden vereinzelte Infektionen mit dem Arabis mosaic nepovirus (ArMV) festgestellt. Die erkrankten Rosensorten waren häufig mit mehreren Viren infiziert, ein Befall mit RRV konnte ausgeschlossen werden.

### **Abstract**

Virus-suspected symptoms like mottle, vein netting, chlorotic ringspots and line patterns, in combination with dwarfing and decline are increasingly observed since several years in rose cultivars of a rose-collection in Germany. Several viruses can induce these symptoms such as several Ilar- and nepoviruses which are reported to affect as virus complex many rose cultivars. Additionally, Rose rosette virus (RRV, Genus *Emaravirus*) and the Rose yellow mosaic potyvirus (RoYMV) were detected in virus diseased roses.

Leaf samples of different rose cultivars (*Rosa* sp.) such as tea hybrids, climbing varieties, Floribunda and Polyantha roses exhibiting virus-like symptoms were investigated by ELISA and RT-CPR applying generic primers followed by sequencing of PCR products. This study revealed the presence of ilar-, nepo-, and potyviruses in the rose collection. Few cultivars were infected by arabis mosaic nepovirus. The roses were often infected by several viruses. However, RRV was found to be absent in the diseased cultivars.

### **Danksagung**

Wir bedanken uns bei zwei Rosenstiftungen, die diese Studie finanziell unterstützt haben.

### **Literatur**

- BABU B, JEYAPRAKASH A, JONES D, SCHUBERT TS, BAKER C, WSCHBURN BK, MILLER SH, PODUCH K, KNOX GW, OCHOA-CORONA FM, PARET ML 2016: Development of a rapid, sensitive TaqMan real-time RT-PCR assay for the detection of Rose rosette virus using multiple gene targets. *J Virol Meth* 235, 41-50.
- ELBEAINO TA, WHITFIELD A, SHARMA M, DIGIARO M 2013: Emaravirus-specific degenerate PCR primers allowed the identification of partial RNA-dependent RNA polymerase sequences of Maize red stripe virus and Pigeonpea sterility mosaic virus. *J Virol Meth* 188, 37-40.
- LANEY AG, Keller KE, Martin RR, Tzanetakakis IE. 2011: A discovery 70 years in the making: characterization of the Rose rosette virus. *J Gen Virol* 92, 1727–1732.
- MILLEZA EJM, WARD LI, DELMIGLIO C, TANG JZ, VEERAKONE S, PEREZ-EGUSQUIZA Z 2013: A survey of viruses infecting *Rosa* spp. in New Zealand. *Australasian Plant Pathol* 42, 313–320.
- UNTIVEROS M, PEREZ-EGUSQUIZA Z, CLOVER G 2010: PCR assays for the detection of members of the genus Ilarvirus and family Bromoviridae *J Virol Meth* 165, 97-104.
- WEI T & CLOVER G 2008: Use of primers with 5' non-complementary sequences in RT-PCR for the detection of nepovirus subgroups A and B. *J Virol Meth* 153, 16-21.
- ZHENG L, RODONI BC, GIBBS MJ, GIBBS AJ 2010: A novel pair of universal primers for the detection of potyviruses. *Plant Pathol* 59, 211-220.

### **Adresse der Autoren**

Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin

\* Ansprechpartnerin: Dr. Susanne VON BARGEN, susanne.von.bargen@agrar.hu-berlin.de