

Untersuchungen zur Pflanzübertragbarkeit von neuartigen Viren in Zitterpappel (*Populus tremula*) und Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)

*Graft transmission studies of novel viruses affecting Eurasian Aspen (*Populus tremula*) and sycamore maple (*Acer pseudoplatanus*)*

Florian Hüttner^{1,2*}, Susanne von Barga¹, Hans-Peter Mühlbach³,
Rim Al Kubrusli¹, und Carmen Büttner¹

Einleitung

Da man davon ausgeht, dass Viren für Ertragsverluste im Forst verantwortlich sind und die Vitalität von Gehölzen senken können, ist deren Erforschung von großem Interesse. Als Voraussetzung für die Beschreibung neuartiger Viren, die in Zitterpappel und Bergahorn gefunden wurden, muss ein geeignetes Nachweisverfahren zur Verfügung stehen. Dieses ermöglicht die Assoziation der Erreger mit den Symptomen sowie die Aufklärung der Infektions- und Übertragungswege. Die neuen Viren aus Zitterpappel, das aspen mosaic-associated virus (AsMaV), bzw. aus Bergahorn, das maple mosaic-associated virus (MaMaV), stehen den Emaraviren systematisch nahe. Es handelt sich ebenfalls um negativ orientierte ssRNA Viren, deren Genom auf fünf bei AsMaV bzw. sechs Segmente bei MaMaV aufgeteilt ist. Frühere Studien haben gezeigt, dass Emaraviren durch Pfropfung übertragbar sind (GRIMOVÁ et al. 2015). Ziel dieser Arbeit war es, die Pflanzübertragbarkeit dieser neuartigen Viren nachzuweisen, um sie als infektiöses Agens zu identifizieren und die Symptomentwicklung der gepfropften Sämlinge zu bonitieren.

Material und Methoden

Jahr, Pflanzen- und Virusarten: Untersucht und gepfropft wurden mit dem aspen mosaic-associated virus (AsMaV) infizierte Zitterpappeln und mit dem maple mosaic-associated virus (MaMaV) infizierte Bergahorne während der Vegetationsperiode 2017.

Herkünfte/ -Standort: Die Zitterpappel-Reiser stammten von einer AsMaV-infizierten Zitterpappel im Kivalo Research Forest Rovaniemi, Finnland. Die einjährigen Zitterpappel Unterlagen stammten von einer deutschen Baumschule. Die Ahorn-Reiser stammten von insgesamt zwölf Bergahornbäumen, die im Grunewald, Berlin, Deutschland beprobt wurden. Die einjährigen Bergahorn Unterlagen kommen ebenfalls von einer deutschen Baumschule. Die gepfropften Versuchspflanzen wurden in Berlin Dahlem auf Freiflächen kultiviert.

Versuchsmaterial: Auf eine Virusinfektion getestet wurde Knospen-, Bast- und Blattmaterial zu mehreren Zeitpunkten während der Vegetationsperiode.

Nachweisverfahren: Zum Nachweis der Viren wurde die hochsensitive molekularbiologische Methode RT-PCR genutzt. Dabei kamen gattungsspezifische (ELBEAINO et al. 2013) und verschiedene virus-spezifische Primer zum Einsatz.

Ergebnisse und Diskussion

Zitterpappel: Im März 2017 wurden 275 virusfreie Unterlagen mit Reisern einer AsMaV infizierten Zitterpappel aus Finnland gepfropft. Von dem Pfropfmaterail wurden Knospen- und Bastproben auf Emaraviren und AsMaV untersucht, wobei nur in Knospenmaterial ein Nachweis erfolgen konnte. Über die Vegetationsperiode wurden zu vier Zeitpunkten virusassoziierte Symptome an Blättern, wie Scheckung, Mosaik, oder Adernbänderung bonitiert. Als beste Untersuchungszeit haben sich die Monate Mai und Juni erwiesen. Zu dieser Zeit sind Blätter mit gut differenzierbaren, virusassoziierten Symptomen zu sehen. An 35 Prozent aller Reisern wurden Symptome bonitiert und bis zum Ende der Vegetationsperiode sind 21,8 Prozent der Versuchspflanzen abgestorben. Bei den 30 Kontrollpflanzen und den Austrieben der Unterlage waren keine Symptome und Verluste zu verzeichnen.

Im Juni wurden zehn Blattproben von Pfropfreisern mit Symptomen und ein Blatt einer Unterlage entnommen, um mit spezifischen Primern die RNA6 von AsMaV nachzuweisen. Dies gelang bei neun von zehn Proben. In der Unterlage konnte ein entsprechendes Fragment nicht nachgewiesen werden. Im August wurden fünf der neun positiv auf AsMaV getesteten Reiser und Austriebe der dazuge-

hörigen Unterlagen erneut beprobt und untersucht. Ein AsMaV Nachweis war nur noch in drei Pfropfreiser-proben möglich. Fortschreitende Seneszens könnte ein möglicher Grund dafür sein. In den symptomfreien Blättern der Unterlage konnte AsMaV nicht nachgewiesen werden (Abb. 1)

Bergahorn: Mit den Reisern von zwölf im Grunewald beprobten Bäumen wurden 96 virusfreie Unterlagen gepfropft und neun weitere Unterlagen mit sich selbst als Kontrollpflanzen. Zwei der beprobten Bäume konnten bei Institutsinternen Versuchen schon positiv auf MaMaV getestet werden. Als im April 2017 das Knospenmaterial der Spenderbäume untersucht wurde, konnte nur in einer Probe MaMaV nachgewiesen werden. Während der Vegetationsperiode starben 41 Prozent aller Pfropfreiser ab und virusassoziierte Symptome (Scheckung) zeigten sich an nur einem Pfropfreis. Dass ein MaMaV-Nachweis nur in Blättern dieses Pfropfreis möglich war und in anderen nicht, legt nahe, dass ein Virusnachweis nur aus symptomtragendem Blattmaterial möglich ist. Dieses Pfropfreis stammte von einem anderen Baum als das im April positiv getestete Knospenmaterial. Bei den im August genommenen Proben von Pfropfreis und Unterlage konnte nur in der Pfropfreisprobe ein Fragment der RNA3 von MaMaV nachgewiesen werden (Abb. 1).

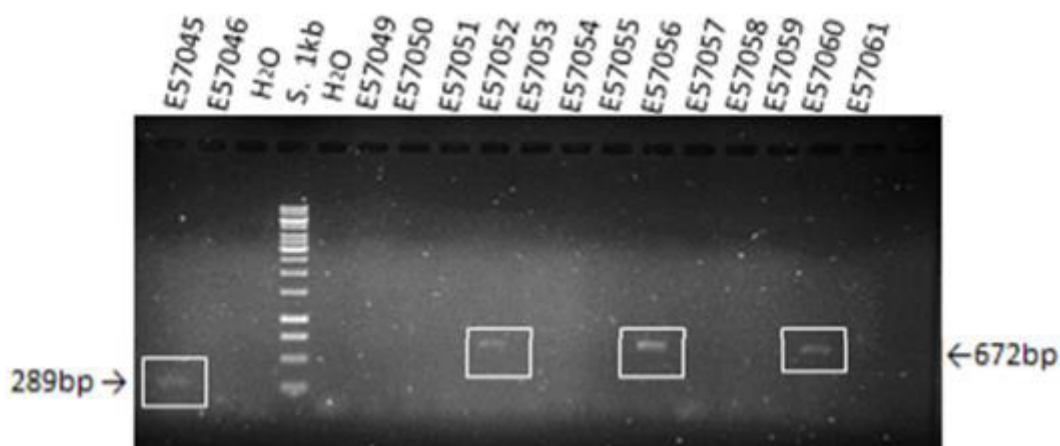


Abbildung 1: Gelelektrophoretische Auftrennung der PCR-Produkte zum Nachweis der RNA3 von MaMaV (links von S. 1kb) und RNA6 von AsMaV (rechts von S. 1kb) mit spezifischen Primern durch Amplifikation eines 289bp bzw. 672bp Fragmentes. Legende: S. 1kb= 1kb Standard Thermo scientific, H2O= Negativkontrolle, E57045 + E57046 = Ahorn Reis und Unterlage, E57049; Pappel Oppdal, , E57050 + E57051 = Pappel Reis und Unterlage, E57052 + E57053 = Pappel Reis und Unterlage, E57054 + E57055 = Pappel Reis und Unterlage, E57056 + E57057 = Pappel Reis und Unterlage, E57058 + E57059 = Pappel Reis und Unterlage, E57060 + E57061 = Pappel Reis und Unterlage

Zusammenfassung

Das aspen mosaic-associated virus (AsMaV) und das maple mosaic-associated virus (MaMaV) sind RNA-Viren mit negativer Orientierung und mehrfach geteiltem Genom. Aufgrund bisher bekannter Sequenzinformation gehören sie vermutlich zur Gattung der Emaraviren. Eine MaMaV-Infektion korreliert mit dem Auftreten von Scheckungssymptomen an Blättern von Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*) und konnte bislang nur in Bäumen von einem Standort in Deutschland nachgewiesen werden. AsMaV-infizierte Zitterpappeln (*Populus tremula*) weisen Scheckung, Mosaik und chlorotische Adernbänderungen an den Blättern auf. Das Virus wurde bisher in Blattproben von mehreren Standorten in Nordeuropa nachgewiesen. Um die virusinduzierten Symptome genauer zu beschreiben und eine Pfropfübertragung nachzuweisen, wurden Reiser einer virusinfizierten Zitterpappel bzw. von 12 Bergahorn-Bäumen auf virusfreie Unterlagen der gleichen Spezies gepfropft und über eine Vegetationsperiode bonitiert und beprobt. Zur Virusdetektion aus Knospen-, Bast- und Blattmaterial wurde die RT-PCR eingesetzt. Virusassoziierte Symptome und eine MaMaV-Infektion konnte in einem Bergahornreis mit Scheckungssymptomen auf den Blättern nachgewiesen werden. Bei den Zitterpappel-pflanzen zeigten 31 Prozent aller Reiser virusassoziierte Symptome und in einigen Proben konnte durch RT-PCR eine AsMaV-Infektion bestätigt werden. Eine Pfropfübertragung konnte sechs Monate nach der Pfropfung nicht nachgewiesen werden.

Abstract

The aspen mosaic-associated virus (AsMaV) and the maple mosaic-associated virus (MaMaV) are RNA viruses with negative orientation and multiple segmented genome. Based on known sequence information they are putative members of the genus *Emaravirus*. A MaMaV-infection correlates with mottling on sycamore maple leaves (*Acer pseudoplatanus*) and could be detected in only one place in Germany so far. AsMaV-infected Aspen (*Populus tremula*) show mottling, mosaic and vein banding of their leaves. This virus was detected in diseased aspen from several places in north Europe. For a better description of the virus-associated symptoms and to provide evidence on the graft transmissibility, scions from virusinfected aspen and 12 sycamore maple trees were grafted on virus-free one year old seedlings of the same species. They were evaluated for symptoms and samples were taken during the vegetation period. For virus detection from bud, bast and leaf material RT-PCR was used. Virus-associated symptoms and a MaMaV-infection could be confirmed in one sycamore maple scion showing mottling. 31 percent of the aspen scions showed virus-associated symptoms and in some samples an AsMaV-infection was confirmed. A transmission through grafting could not be confirmed six months after grafting.

Literatur

ELBEAINO, T., 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. In: *Journal of virological methods* 188 (1-2), S. 37–40. DOI: 10.1016/j.jviromet.2012.11.037.

GRIMOVA, L., MAREK, M., KONRADY, M. AND RYŠÁNEK, P. (2015): Newly identified host range of European mountain ash ringspot-associated virus (EMARaV) and its distribution in the Czech Republic. In: *For. Path.* 45 (3), S. 177–189. DOI: 10.1111/efp.12151.

Adressen der Autoren

¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin

² Universität für Bodenkultur Wien, Gregor-Mendel-Straße 33, 1180 Wien

³ Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek, Ohnhorststraße 18, 22609 Hamburg, hpmuehlbach@gmx.net

* Ansprechpartner: Florian HÜTTNER, BSc, huettnef@students.boku.ac.at

Hüttner F, von Barga S, Mühlbach HP, Al Kubrusli R, Büttner C, 2018:

Untersuchungen zur Pfropfübertragbarkeit von neuartigen Viren in Zitterpappel (*Populus tremula*) und Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*).

(*Graft transmission studies of novel viruses affecting Eurasian Aspen (Populus tremula) and sycamore maple (Acer pseudoplatanus).*)

Vortrag V57 im Tagungsbericht 2018 der 73. ALVA-Jahrestagung „Ökologische und soziale Aspekte des innovativen Gartenbaues“, 28.-29. Mai 2018, Kongresshaus Toscana, Toscanapark 6, Gmunden, Österreich. Tagungsband, ISSN 1606-612X, S. 164-166.

V57 ► Vortrags-Abstract: 191 KB