Charakterisierung des *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) in alternativen Wirtspflanzen der Gattung *Sorbus*

Dieckmann L, Robel J, von Bargen S, Büttner C
Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, FG Phytomedizin
phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Einleitung

In der Schwedischen Mehlbeere (*Sorbus intermedia* Erhr.) und der Echten Mehlbeere (*Sorbus aria* Erhr.) wurde erstmals das *European mountain ash ringspot-associated virus* nachgewiesen (Robel et al. 2013). **In der vorliegenden Studie erfolgte der Vergleich der RNA1, RNA3 und des p4-Proteins der isolierten Virusvariante aus der Schwedischen Mehlbeere mit der publizierten Sequenz der Virusvariante aus Ebereschen .**

Die Pflanze ist eine Dreifach-Hybride aus Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.), Echter Mehlbeere (*Sorbus aria Erhr.*) und der Elsbeere (*Sorbus torminalis)* (Nelson-Jones et *al.,* 2002). Sie ist im nördlichen Europa beheimatet und wird zu dekorativen Zwecken im Straßen- und Stadtgrün Europas angepflanzt. Während bei Ebereschen Symptome wie Scheckungen und chlorotische Ringflecken seit Jahrzehnten beschrieben werden, konnte im Jahr 2012 erstmals bei einer Schwedischen Mehlbeere chlorotische Linienmuster und chlorotische Ringflecken (Abbildung 1H & I) sowie bei einer Echten Mehlbeere (Abbildung 1E & F) chlorotische Linienmuster beobachtet werden. Diese sind auf einen Befall mit dem *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) zurückzuführen, einem Pflanzenvirus der Gattung *Emaravirus* (Mühlbach und Mielke-Ehret 2011).

Material und Methoden

Blattmaterial einer Schwedischen Mehlbeere sowie einer Echten Mehlbeere mit chlorotischen Ringflecken bzw. chlorotischen Linienmustern wurde im Jahr 2012 und 2013 in Västerås gesammelt. Aus den Mehlbeerenblättern wurde Gesamt-RNA (nach Mielke et *al.* 2007) isoliert und in einer reversen Transkription mit random hexameren in cDNA umgeschrieben. Mittels Genom-Segment spezifischen Primern wurden Teilbereiche der vRNA1, 3 und 4 amplifiziert (Abbildung 2). Die PCR-Produkte wurden im Anschluss kloniert und sequenziert. Die erhaltenen Sequenzen wurden mittels BioEdit abgeglichen, Oligonukleotide entfernt und mit den publizierten EMARaV Sequenzen aus Ebereschenmaterial verglichen.

Ergebnisse

- Bisher konnten alle vier Genomsegmente von EMARaV in dem Blattmaterial von *S. intermedia* und *Sorbus aria* nachgewiesen werden (Abbildung 3)
- Für die Charakterisierung der EMARaV Variante aus *S. intermedia* konnte bisher ein 5370 bp Fragment der RNA1, ein 1485 bp langes Fragment der RNA3 (1569 nt) sowie der p4-kodierende Bereich mit 699 bp der RNA4 amplifiziert werden (Abbildung 2)
- Die Identität der Nukleotidsequenzen
    - des **5370 bp Fragments der RNA1** von EMARaV aus *S. intermedia* beträgt im Vergleich zu *S. aucuparia* (NC013105) 98 %
    - der **p3-kodierenden Region der RNA3** beträgt 98 % zur Vergleichssequenz (DQ831828)
    - des **p4-Proteins** beider EMARaV-Sequenzen ergibt 100 %

Zusammenfassung und Ausblick

Die RNA1, RNA3 und RNA4 der EMARaV-Varianten aus *Sorbus aucuparia* und *Sorbus intermedia* wurden verglichen. Sie weisen eine hohe Übereinstimmung von 98-100 % auf.

Für einen aussagekräftigen Vergleich der beiden Virusvarianten müssen die 5‘ und 3‘-terminalen Bereiche der RNA1, RNA3 und RNA4 sowie die vollständige RNA2 amplifiziert und sequenziert werden.

Danksagung

Dieses Projekt ist durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) gefördert (BU890/27-1)

Abbildung 1: *S. aucupari*a mit Früchten (A, B); *S. aucuparia* Fiederblatt mit chlorotischen Ringflecken (C) bzw. Scheckungen (D); *S. aria* mit Früchten (E); *S. aria* Blätter mit chlorotischen Linienmuster (F); *S. intermedia* mit Blüte (G); *S. intermedia* Blatt mit chlorotischen Ringflecken (H) bzw. chlorotischen Linienmustern (I).

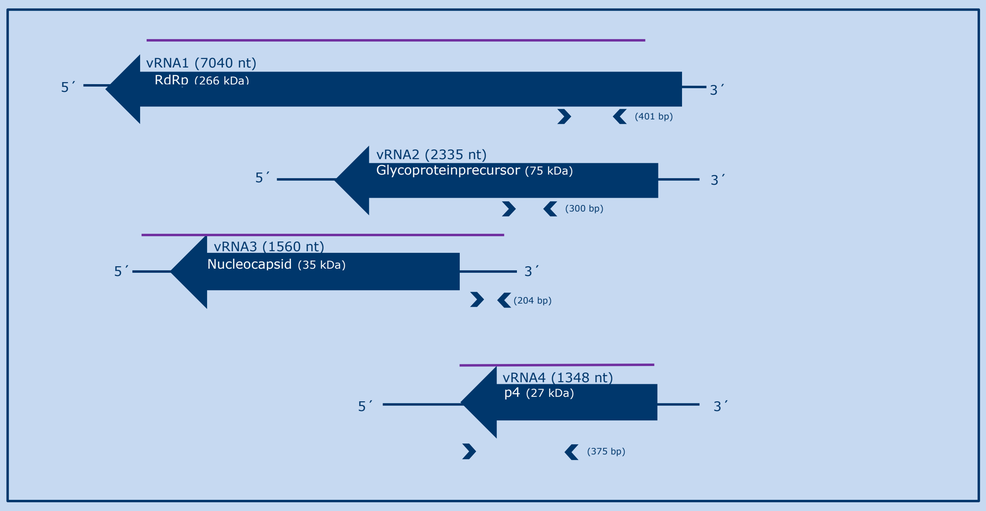

Abbildung 2: Genomorganisation von EMARaV sowie Lage der Oligonukleotidpaare (blaue Pfeile) für bden Nachweis der vier viralen RNAs; Bisher vorhandene Sequenzinformation der EMARaV Variante aus S. intermedia (violetter Balken).

Nachweis aller vier Genomsegmente des Virus durch RT-PCR

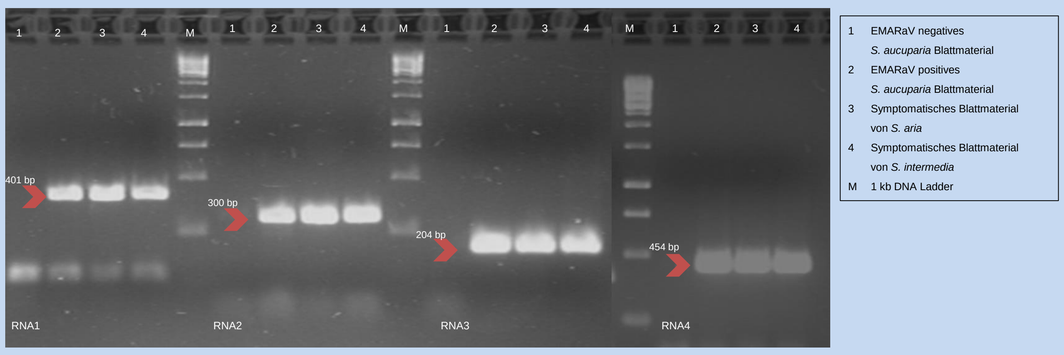

Abbildung 3: Gelelektrophoretische Auftrennung der PCR-Fragmente zum Nachweis der vier viralen RNAs.

Literatur

Mielke N, Mühlbach HP. 2007. Journal of General Virology 88: 1337-1346.
Mühlbach, H.-P. & Mielke-Ehret, N., 2011: Emaravirus. In: King, A.; Lefkowitz, E.; Adams, M.J.; Carstens, E.B. (Hrsg.) Elsevier Academic Press, San Diego/USA, 767-770
Nelson-Jones EB, Briggs D, Smith AG. 2002. Theoretical Applied Genetics 105:953-963
Robel J, Büttner T, Mühlbach HP, von Bargen S, Büttner C. 2013. Advances in plant pathology. Norwich.