

Nachweis von Viren in Obstgehölzen

In vielen Kleingärten werden immer wieder hitzige Diskussionen über das mangelnde Wachstum von Obstgehölzen geführt. Dabei wird über Nachbauprobleme geredet, über schlechte Bodenqualität philosophiert oder aber auch hinter vorgehaltener Hand über den „ungenügend ausgebildeten grünen Daumen“ des Baumbesitzers getuschelt. All diese aufgeführten Gründe können zu dem besagten schlechten Wachstum der Pflanzen führen, müssen es aber nicht. Kaum ein Kleingärtner denkt bei schlechtem Wachstum seiner Lieblinge an eine Virusinfektion. Oftmals ist dies aber der Grund für den ganzen Ärger.

Schon um 1570 wurden die ersten Virussympptome an Zierpflanzen durch den großen Maler Rembrandt in Form der Buntstreifigkeit der Tulpe auf Leinwand gebannt. Der Meister wusste damals allerdings noch nicht, welchen phytopathologisch historischen Schatz er der Nachwelt hinterließ. Unvergessen auch die 1950 aufgetretene Scharka-Infektion (Plum pox virus) an Pflaumenbäumen in Jugoslawien. Es wurden auf einen Schlag 16 Millionen infizierte Bäume gerodet, was ca. 85% des gesamten Bestandes entsprach. Traurige Berühmtheit hat auch der Ort Pfeffingen, unweit von Basel erlangt. Hier hat eine ganze Kombination von Viren innerhalb kürzester Zeit ganze Kirschwälder vernichtet, worauf man die entsprechende Krankheit als „Pfeffingerkrankheit“ bezeichnete.

Die Ertragseinbußen bei Virusinfektionen schwanken von 10% bis 100%, wobei mehrere Faktoren berücksichtigt werden müssen. Wird ein Baum einmal von Viren infiziert, so kann er davon nicht wieder geheilt werden. Anders als bei Warmblütern z.B. den Menschen haben die Pflanzen kein Immunsystem, das den Eindringling bekämpfen könnte. Hier hilft dann nur noch die Säge. Gleichzeitig haben aber die Viren einen ganz gravierenden Nachteil bei ihrer Ausbreitung. Sie können nicht durch unverletzte Pflanzenoberflächen in die Pflanze gelangen, sie müssen immer durch einen Helfer zur Zelle gebracht werden. Diese Helfer können saugende, virusbeladene Blattläuse sein, aber auch Nematoden oder sogar Pflanzen, wie z.B. die parasitisch lebenden Kleeseiden. Meist ist auch der Mensch als Helfer im Spiel, der bei der Veredelung von Obstgehölzen die Veredelungspartner nicht sorgfältig genug auswählt und virusinfizierte Edelreiser in gesunde Pflanzen einveredelt. Schon durch eine kurzzeitige Verwachsung der Veredelungspartner kommt es zu einer Übertragung der Viren. Im Bereich der Obstgehölze kennen wir 4 Hauptübertragungsarten. Eine der wichtigsten Übertragungsarten ist unbestritten die Veredelung infizierter Edelreiser und die damit verbundene Erkrankung des gesunden Teils der Veredelung. Speziell beim Kernobst

ist dies, von wenigen Ausnahmen abgesehen, die einzige, aber auch die effektivste Übertragungsart von Viren. Ein ebenso wichtiger Übertragungsweg ist die Verbreitung der Viren durch Blattläuse. Im Obstbau spielt dieser Verbreitungsweg hauptsächlich beim Steinobst eine große Rolle. Insbesondere die Scharka-Krankheit (Plum pox virus) wird so sehr effektiv übertragen. Eine weitere Art ist die Übertragung durch Pollen und Samen. Die Viruspartikel haften hier an der Oberfläche der Samenschale oder des Pollenkornes und dringen durch kleinste Verletzungen, die bei der Keimung des Samens oder des Pollens entstehen in die Pflanze ein. Auch diese beiden Übertragungsarten sind fast ausschließlich im Steinobst anzutreffen. Eine der mit dieser Art übertragenen Viren ist das nekrotische Ringfleckenvirus der Kirsche. Als letzter Weg ist die Verbreitung dieser Erreger durch Ast- oder Wurzelverwachsung zu nennen. Hierbei kommt es zu einem kurzzeitigen Kontakt zwischen einer kranken und einer gesunden Pflanze, indem sich Wurzeln oder Äste kreuzen und für ein bis zwei Tage miteinander verwachsen. Diese kurze Zeit reicht aus, um Viren zu übertragen. Eine Übertragung von Viren durch Schnittwerkzeuge oder gar durch Bodenbearbeitungsgeräte scheidet aus. Die gefährlichen Erreger richten zwar sehr viel Schaden in der Pflanze an, außerhalb ihrer Wirtszelle sind sie dagegen sehr empfindlich und sterben innerhalb kürzester Zeit ab.

Ist ein Baum oder eine Zierpflanze mit einem Virus infiziert, so gibt es keine Heilung mehr. Der Baum wird je nach Schwere der Infektion und je nach Kombination einzelner Viren mehr oder weniger schnell absterben oder kümmern. Ja sie haben richtig gelesen, es gibt Unterschiede sowohl in der Schwere als auch in der Anzahl der in einer Pflanze enthaltenen Virusarten.

Generell ist zu sagen, dass es bei der Anfälligkeit der einzelnen Obstsorten graduelle Unterschiede in der Symptomausprägung an der Pflanze gibt. Ein Beispiel dazu ist die Empfindlichkeit der „Italienischen Zwetsche“ gegenüber der Scharka-Krankheit. Kommt es bei dieser Zwetschensorte zu einer Infektion, so ist innerhalb von zwei bis drei Jahren mit dem Absterben der Pflanze zu rechnen. Im Gegensatz dazu, zeigen die Zwetschensorten „Hanita“ oder „Cacaks“ bei der gleichen Infektion keine oder nur äußerst geringe Symptome an den Früchten. Gleichwohl sind beide Zwetschensorten mit dem Virus infiziert und bilden eine Infektionsquelle im Bestand, die zu neuen Erkrankungen gesunder Bäume führen kann. Bei Kernobst finden wir fast in allen Fällen eine Infektion mit mehreren Viren. Eine Einzelinfektion kommt so gut wie nie vor. Zur Abschätzung der Folgen ist es wichtig, welche Viren in der Pflanze vorkommen, um eine Aussage über die weitere Entwicklung zu geben. Hierfür werden nun die einzelnen Untersuchungsmethoden zur Identifizierung der einzelnen Viren benötigt.

Für Obstgehölze kennen wir drei wichtige Nachweisverfahren. Dies sind

- die Indikatorpflanzen
- der ELISA-Test und
- der PCR-Test.

Bei einem Indikatortest wird zum Nachweis von Viren eine sehr empfindliche Pflanze verwendet, die bei einer erfolgreichen Infektion mit genau beschriebenen Symptomen reagiert. Bei Äpfeln sind diese Indikatorpflanzen meist hochanfällige Zierapfelsorten. Dieses Verfahren wurde in den 50er Jahren entwickelt, hat aber bis heute seinen festen Platz in der Virologie der Obstgehölze. Im Einzelnen werden zur Durchführung des Testes eine virusfreie Unterlage (Sämlingspflanze mit Wurzeln) genommen und darauf ein kurzes Edelreisstück der zu testenden Obstart gepfropft. Auf dieses Edelreisstück wird wiederum ein kleines Stück des Indikators veredelt, so dass eine sog. Doppelpfropfung entsteht, also Unterlage - zu testendes Edelreis - Indikatorreis. Nach ca. 3 - 4 Wochen nach dieser Veredelung beginnen

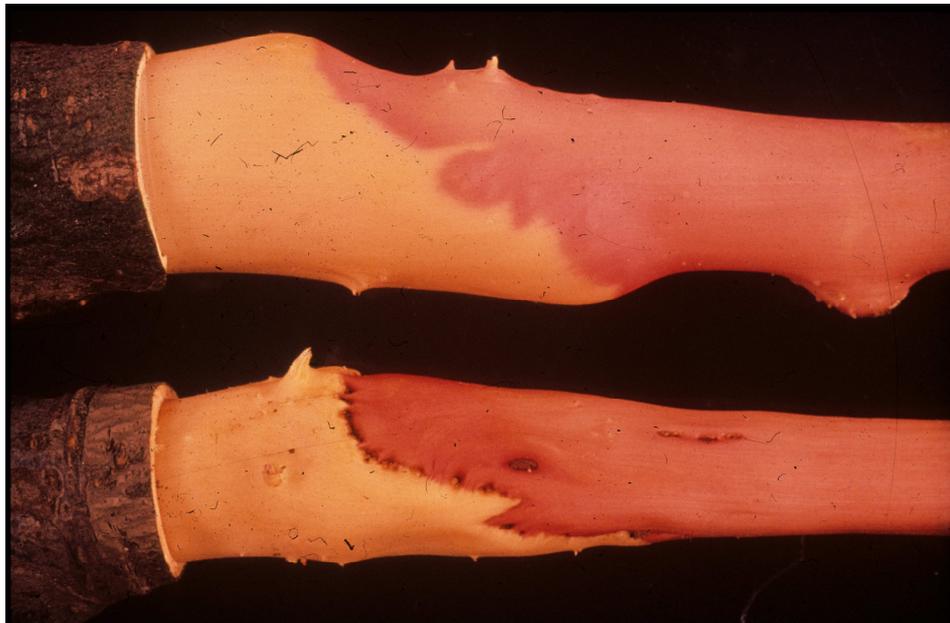


Abbildung 1 Pfropfung bei Apfel: Oben die gut verwachsene Unterlage mit der Indikatortorte, Unten die schlecht verwachsene Veredelungsstelle eines Testreises mit Apple chlorotic leafspot virus

die Pfropfpartner zu wachsen. Der Vorteil bei dieser Methode ist, dass der gesamte Saftstrom aus der Wurzel durch das zu testende Edelreis fließen muss und dabei einen Großteil der im Testreis eventuell vorhandenen Viruspartikel mit in den Indikator transportiert. Der Indikator reagiert dann in Abhängigkeit der Schwere der Infektion schon nach kurzer Zeit mit eindeutigen Virussymptomen. Dies können z.B. Stammfurchungen oder Flecken auf den Blättern sein, es können aber auch Veränderungen an den Früchten des

Indikatoren entstehen. Alle diese Symptome sind jedoch bekannt und können einem oder mehreren Viren zugeordnet werden. Durchgeführt werden die Veredelungen immer im Winter als Pfropfungen. Die Methode ist sehr arbeitsaufwendig, langwierig und teuer, aber bei einigen Erregern speziell im Kernobst ist sie auch heute noch die einzig mögliche Methode, da es hier immer noch Krankheitssymptome gibt, deren Auslöser oder besser gesagt deren Erreger man nicht kennt.

Die nächste Methode ist der sog. ELISA-Test. Mit vollem Namen „Enzym linked immunosorbent assay“. Dieser Test wurde um 1970 bereits in der Humanmedizin eingeführt und 1976 von der Pflanzenvirologie übernommen. Der Test hat einen absoluten Stammsitz sowohl in der Humanmedizin als auch in der Pflanzenvirologie. Heute werden mit diesem Test in der Humanmedizin z.B. Aids-Viren im Blut nachgewiesen. In der Pflanzenvirologie können fast alle bisher bekannten Viren nachgewiesen werden.

Gewonnen werden die sog. Antikörper durch das Einspritzen der Pflanzenviren in ein Kaninchen oder ein Huhn. Diese Tiere reagieren auf die fremden Proteine, hier die Virushüllproteine, mit der Bildung der Antikörper, ähnlich der Reaktion des Menschen auf eine Virusgrippe. Bei Kaninchen wird nach erfolgter Immunisierung in regelmäßigen Abständen Blut entnommen und die Antikörper aus dem Blut herausgereinigt. Bei Hühnern ist dieses Verfahren einfacher, dort finden sich

die gewünschten Antikörper nach der Immunisierung in den Eidottern wieder und können von dort gewonnen werden. Diese Antikörper sind so spezifisch, dass sie in einem Gemisch aus hunderten von verschiedenen Viren die Erreger finden gegen die sie im Kaninchen gebildet wurden. Nachgewiesen wird nicht etwa das Virus, sondern nur die Hülle des Virus. Aufgrund des Testergebnisses können wir nicht sagen, ob der Erreger noch infektiös war oder ob es sich nur um eine leere Virushülle gehandelt hat. Das Verfahren arbeitet in der Regel mit Blattsaft, es können also auch Triebe oder Blüten von Bäumen in z.B. Hausgärten genommen, Pflanzenpresssaft hergestellt und untersucht werden. Leider gibt es heute diesen Test nur für eine begrenzte Anzahl von Viren, da er in der Herstellung der Antikörper sehr teuer ist und nur wenige Teststationen die Antikörper für Obstgehölze benötigen.

Die Testdurchführung ist sehr einfach, dauert nur ca. 2 Tage und ist im Vergleich zu den Indikatorpflanzen recht günstig. Die Nachweisempfindlichkeit ist hoch, problematisch ist speziell beim Kernobst die doch recht hohe Konzentration von Phenolen und Gerbstoffen in der Zelle, die den Test behindern können.

Als letztes Verfahren möchte ich die Polymerase Kettenreaktion (PCR) vorstellen. Wurde bei den beiden anderen Verfahren immer nur das gesamte Viruspartikel oder die Hülle des Virus

nachgewiesen, so erfolgt bei der PCR der Nachweis auf der Ebene der Erbinformation. Bei dieser Methode werden kleine Erbgutabschnitte mit Hilfe von Nukleinsäurestückchen gesucht, die durch die PCR millionenfach vermehrt und dann auf einem Agarosegel sichtbar gemacht werden. Diese Verfeinerung der Methode hat zum Vorteil, dass nun nicht nur einzelne Viren unterschieden werden können, sondern dass auch noch innerhalb der einzelnen Viren nach bestimmten Merkmalen gesucht werden kann. Vergleichbar ist dies mit der Suche in einer Menschengruppe. Der Indikator-test sagt uns, dass Menschen da sind. Der ELISA-Test sagt uns, welche Personen aus der Gesamtgruppe zur Familie Schmitt gehören. Der PCR-Test gibt uns noch zusätzlich die Information ob es sich um Herrn Schmitt oder Frau Schmitt handelt. Diese Nachweismethode ist relativ neu und setzt voraus, dass die Erbinformation des entsprechenden Erregers bekannt ist. Viele Forschungseinrichtungen und Universitäten arbeiten an derartigen Projekten mit Hochdruck und stellen immer mehr Informationen bereit. Für die Durchführung dieses Testes werden allerdings einige Spezialkenntnisse und eine sehr umfangreiche Laborausstattung benötigt. Der Test dauert auch nur ca. 2 Tage und ist um den Faktor 100 empfindlicher als der ELISA-Test. Problematisch bei der Testdurchführung sind auch hier die Inhaltsstoffe in den Pflanzenzellen, die den Nachweis der entsprechenden Erreger beeinflussen können. Hat eine Teststation diese Methode einmal etabliert, so treten in der Regel keine Schwierigkeiten mehr auf. In der modernen Forschung ist dieses Testverfahren derzeit durch keine andere Methode zu ersetzen.

Wie Sie aus den obenstehenden Ausführungen entnehmen können, ist der Nachweis von Viren in Obstgehölzen mittlerweile zu einer wenn auch recht teuren Routineangelegenheit geworden. Leider hat sich auf dem Gebiet der Virusfreimachung, also der Erzeugung von virusfreiem Material nur sehr wenig getan. Hier wird immer noch mit Hilfe der Wärmetherapie in Zeiträumen von 6 - 8 Jahren virusfreies Pflanzenmaterial erzeugt. Genauso schlecht sieht es bei der Entwicklung von Viroziden, also Pflanzenschutzmittel die eine infizierte Pflanze von einer Virusinfektion heilen oder die Infektion verhindern können aus. Im Bereich der Virologie gibt es also noch viel zu tun.