



---

# Jahrbuch der Baumpflege

Das aktuelle Nachschlagewerk  
für die Baumpflege

2000

Themenschwerpunkte:

- Gehölzwertermittlung •
- Baumschutz und Baumpflege •
- Baumkontrolle und Baumkrankheiten •
- Wissenschaftliche Kurzberichte •

Adressen von  
Verbänden, Forschungseinrichtungen,  
Sachverständigen und Baumpflegefirmen aus  
Deutschland, Österreich und der Schweiz

Produkte und Dienstleistungen

Herausgeber:  
Dr. Dirk Dujesiefken  
Petra Kockerbeck



THALACKER MEDIEN

## 4.2 Virusübertragung bei Gehölzen durch Saatgut und vegetative Vermehrung

Prof. Dr. Carmen Büttner\* und Dr. Martina Bandte\*

### Zusammenfassung

Viruskrankungen sind an Laubgehölzen des Forsts und des öffentlichen Grüns weit verbreitet. Sie werden leicht durch vegetative Vermehrung übertragen, einige der isolierten Erreger darüber hinaus auch durch Samen und Pollen. Die Samen- und Pollenübertragbarkeit ist von besonderer epidemiologischer Bedeutung und wird an einigen Beispielen beschrieben. Daraus resultierende Auswirkungen bei der Verwendung von virusinfizierten Samen und Reisern in der Pflanzenanzucht stehen zur Diskussion. Virusfreies Vermehrungsmaterial in der Anzucht kann langfristig zur Verfügung stehen, wenn mittels gezielter diagnostischer Verfahren selektiert wird. Entsprechende Nachweisverfahren werden beschrieben.

### Summary

Virusinfection is widely spread in deciduous trees of forests and public gardens. The causing pathogens are transmitted by vegetative propagation, some of these additionally by seeds and pollen. We present selected examples to describe this particular mode of transmission of epidemiological importance and discuss the resulting problems when using virusinfected buds, cuttings and seeds in nurseries. Plant material has to be tested to make selected healthy mother plants available. Diagnostic tools are given.

### Vermehrung von Gehölzen durch Samen und vegetative Vermehrung

Die meisten Gehölze werden durch die Gewinnung von Saatgut und nachfolgender Anzucht der Sämlinge vermehrt. Bei einigen Baumarten wie beispielsweise der Pappel (*Populus* sp.) erfolgt zumeist eine vegetative Vermehrung über Stecklinge. Zur Arterhaltung insbesondere von seltenen und bedrohten Arten sowie Herkünften mit landeskulturellem Wert werden neben der Saatguteinlagerung in Genbanken Erhaltungssämlingspenderplantagen an unterschiedlichen Standorten angelegt. Für den Fortbestand einer Art ist somit der Gesundheitszustand des Saatgutes und besonders bei der vegetativen Vermehrung derjenige der Mutterbäume von Bedeutung. Nur gesundes Ausgangsmaterial ermöglicht, über Jahrzehnte mit wechselnden Umweltbedingungen vitale,

widerstandsfähige und reproduktionsfähige Gehölze zu erhalten.

### Bedeutung und Verbreitung von Viruskrankheiten an Laubgehölzen

Die bisherigen Untersuchungen an virusinfizierten Laubbäumen sowie die zahlreichen Bonituren und Beobachtungen an erkrankten Bäumen bestätigen, daß Viren die Vitalität und die Widerstandskraft der Bäume stark herabsetzen können (BÜTTNER 1993; NIENHAUS und CASTELLO 1989; NIENHAUS et al. 1990). Eine Virusinfektion verändert die Prädisposition des Baumes und bewirkt eine vorzeitige Seneszenz, weil durch parasitierende Viren die Syntheseleistung der infizierten Bäume bedeutend reduziert wird (BÜTTNER et al. 1996). In Waldökosystemen deutscher Stand-

\* Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin

orte trat das samen- und pollenübertragbare *cherry leafroll virus* (CLRV), *apple mosaic virus* (AMV), das stabile und leicht übertragbare *tobacco mosaic virus* (TMV) und *tobacco necrosis virus* (TNV) am häufigsten auf bzw. war am häufigsten nachzuweisen (NIENHAUS und CASTELLO 1989; BÜTTNER 1993). Darüber hinaus war in Baumschulen das *prune dwarf virus* (PDV) weit verbreitet, eine Infektion mit dem aus obstbaulichen Kulturen bekannte *prunus necrotic ringspot virus* (PNRV) konnte nur in 0,1 % der untersuchten Vogelkirschen (*Prunus avium*) gezeigt werden (HENTSCH 1998).

Der umfangreiche Befund zahlreicher samen- und pollenübertragbarer sowie stabiler Viren aus verschiedenen Waldökosystemen, Baumschulen und Samenspenderanlagen (LÖW 1995; FÜHLING und BÜTTNER 1997; HENTSCH 1998) war Anlaß für die Untersuchungen zur Samenübertragbarkeit sowie zur vegetativen Vermehrung.

## Übertragung von Viren durch Samen und vegetative Vermehrung

In unseren Untersuchungen haben wir uns im Rahmen der Arbeiten zur Virusausbreitung in Forstgehölzen und Laubbaumbeständen mit der Samenübertragbarkeit von Viren sowie der vegetativen Übertragbarkeit der Pathogene an Forstgehölzen befaßt, denn die Übertragungsformen sind von besonderer Bedeutung.

An der Gesamtheit der pflanzenpathogenen Viren nehmen die samen- und pollenübertragbaren Viren zwar nur einen geringen Teil ein, aber aufgrund der großen epidemiologischen Bedeutung muß diese Übertragungsform besonders beachtet werden (MINK 1993). In Abbildung 1 sind die möglichen Übertragungswege am Beispiel des samen- und pollenübertragbaren *cherry leafroll virus* (CLRV) dargestellt. Die Infektion kann durch infiziertes Ausgangsmaterial (Mutterpflanze) bei der generativen oder vegetativen Vermehrung erfolgen oder aber durch eine Infektion im Bestand durch Vektoren, kontaminiertem Boden oder Wasser sowie durch andere CLRV-infizierte Wirtspflanzen. Phytosanitäre Maßnahmen und hier insbesondere die Eliminierung solcher Infekti-

onsquellen sind anzustreben, da keine direkten Bekämpfungsmöglichkeiten gegen Viren zur Verfügung stehen. Deshalb kommen spezifischen Nachweisverfahren zur Kontrolle der Erregerausbreitung eine besondere Bedeutung zu.

Samenübertragbarkeit bedeutet, daß sich Viren mit dem Samen ausbreiten können und mit der Keimung des Samens die Pflanzen infizieren (BENNETT 1969). Interessanterweise erfolgt nicht zwingend eine Infektion des Sämlings, sondern sie ist vom Virusstamm, der Pflanzenart, der Pflanzensorte sowie den Standortbedingungen abhängig. So beträgt die Übertragungsrate des *prunus necrotic ringspot virus* (PNRV) an *Prunus* spp. zwischen 1-91 %. Von *rasberry bushy dwarf virus*-infizierten *Rubus* sp. sind 22-77 % der gebildeten Samen als virusinfiziert anzusprechen (MEYER-KAHSNITZ 1993). Für das in Laubgehölzen weit verbreitete CLRV werden in Abhängigkeit von der untersuchten Baumart unterschiedliche Übertragungsraten angegeben. Während bei *Betula* sp. (0-22 %) und *Sambucus* sp. (0-44 %) auch virusfreie Samen auftrafen, konnten bei *Juglans* sp. (4-32 %) keine virusfreien Samen festgestellt werden. Einfluß nimmt ebenso die Übertragungsform durch das Nährgewebe, den Embryo oder die Samenschale. Die Übertragungsweise ist für verschiedene Viren unterschiedlich. Für die Virusübertragung durch Samen und Pollen gilt, daß einige samenübertragbare Viren auch pollenübertragbar sind, aber alle pollenübertragbaren Viren durch Samen übertragen werden können.

Virusinfizierte Pollen entstehen nur in virusinfizierten Pflanzen. Neben infizierten Antheren entwickeln sich auch virusfreie mit nicht infizierten Pollen. Pollenübertragung ist für einige Nepo- (*cherry leafroll virus*, *tomato blackring virus*, *tomato ringspot virus*) und Ilarviren (*prunus necrotic ringspot virus*) bei Rosaceae (*Rubus*, *Prunus*) und Juglandaceae (*Juglans regia*) nachgewiesen. Eine Übersicht der samenübertragbaren Viren an Gehölzen gibt Tabelle 1.

Bisher ist der Mechanismus, mit dem Viren durch Pollen auf gesunde Gehölze übertragen werden, noch nicht geklärt. Nach MINK (1993) wird vermutet, daß die Wechselwirkung von drei Faktoren zur Verbrei-

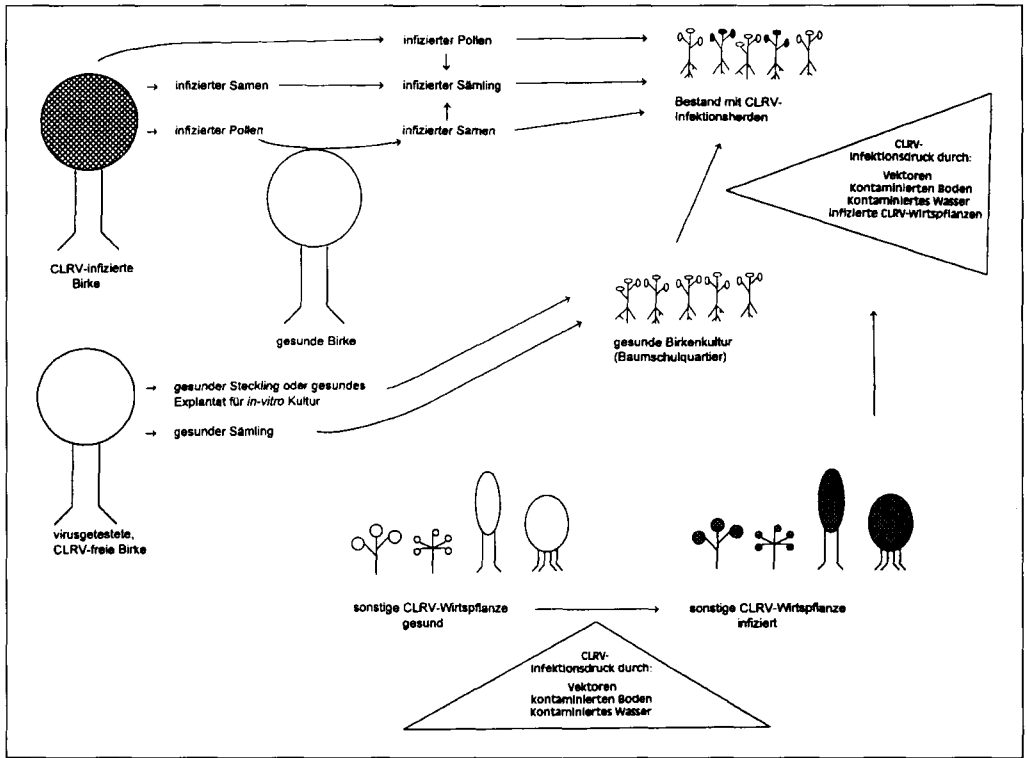


Abbildung 1: Mögliche Übertragungswege des *cherry leafroll virus* (CLRIV)

Tabelle 1: Samenübertragbare Viren an Gehölzen

(+ : nachgewiesen, - nicht nachgewiesen/nicht untersucht)

- |        |                                       |       |                                 |
|--------|---------------------------------------|-------|---------------------------------|
| CLRIV: | <i>cherry leaf roll virus</i>         | TMV:  | <i>tobacco mosaic virus</i>     |
| PDV:   | <i>prune dwarf virus</i>              | TBRV: | <i>tomato black ring virus</i>  |
| PNRV:  | <i>prunus necrotic ringspot virus</i> | TBSV: | <i>tomato bushy stunt virus</i> |
| RBSV:  | <i>rasperry dwarf virus</i>           | ToRV: | <i>tomato ringspot virus</i>    |

	CLRIV	PDV	PNRV	RBDV	TMV	ToBRV	ToBSV	ToRV
<i>Betula</i> sp.	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Juglans</i> sp.	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Malus</i> spp.	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Prunus</i> spp.	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Rubus</i> spp.	-	-	-	+	-	+	-	+
<i>Sambucus</i> sp.	+	-	-	-	-	+	-	+

tung von Viren durch Pollen notwendig ist: 1. Virus-kontaminierte Pollenkörner, 2. Insekten als Vektoren für diese Pollenkörner und 3. Pollen-fressende Arthropoden, die die Blüte verletzen und so Wunden schaffen für eine mechanische Übertragung der Viren in nicht gametophytisches Gewebe.

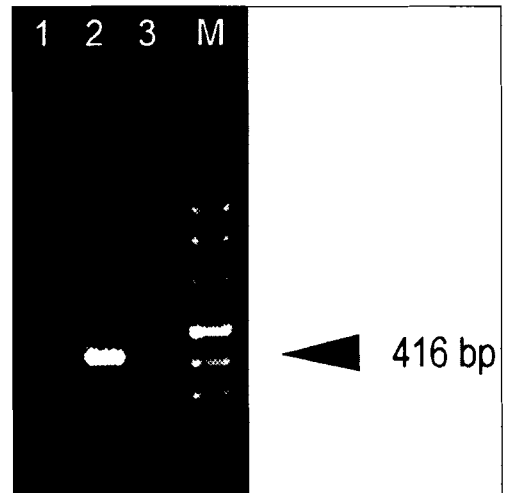
## Diagnostische Vorgehensweise

Eine sichere Diagnose des Virus in den Gehölzen und erst recht im Samen ist aufgrund der geringen Viruskonzentration und einer unregelmäßigen Verteilung in der Pflanze häufig recht schwierig (BITTERLIN et al. 1984; FUCHS und GRÜNTZIG 1994). Aus diesem Grunde ist ein hochempfindliches Nachweisverfahren, das einen Nachweis des Virus in mehreren vereinigten Proben, einer Mischprobe, eines Baumes erlaubt, von Vorteil. Die Untersuchung der Saatgutproben kann in Abhängigkeit vom Virus und des zu prüfenden Wirtes mit einem serologischen (enzym-linked-immunosorbent assay, ELISA) und/oder molekularbiologischen Nachweisverfahren (immuno-capture-reverse transkriptase Polymerasekettenreaktion, IC-RT PCR) erfolgen (BÜTTNER und FÜHLING 1999).

Der ELISA ist der gängigste serologische Test in der Routinetestung (CLARK und ADAMS 1977) und wurde seit seiner Etablierung vielfältig modifiziert und den spezifischen Eigenschaften der Viren, Gehölze und dem Saatgut angepaßt. Er wird gezielt für den spezifischen Nachweis bestimmter Erreger eingesetzt. Das Verfahren beruht auf dem Nachweis einer Antigen-Antikörper-Bindung, an die ein Enzym gekoppelt wird. Dieses Enzym setzt nach einer Substratzugabe ein Chromogen in ein farbiges Endprodukt um, daß photometrisch gemessen werden kann.

Die IC-RT-PCR ist ein hochempfindliches Nachweisverfahren, welches bisher für den Nachweis von einigen Viren in ausgewählten Obstgehölzen und Rosen beschrieben wurde (NOLASCO et al. 1993; Rowhani et al. 1995) und in eigenen Arbeiten modifiziert für Forstgehölze und Saatgut Anwendung findet (BÜTTNER et al. 1996; WERNER et al. 1997 a, b). In den Arbeiten sind die Laborprotokolle zur Testdurchführung exakt beschrieben. Danach werden bei diesem Verfahren

die Probenröhrchen zunächst wie in einem ELISA-Test mit spezifischen Antikörpern beschichtet. Nach dem Waschen der Röhrchen werden die Virionen an die antikörperbeschichtete Oberfläche gebunden. Es folgen weitere Waschschriffe sowie eine reverse Transkription der Virus-RNA unter Verwendung von virusspezifischen Erststrang-Primern. Anschließend werden die RNA/DNA-Hybriden denaturiert und die Reverse Transkriptase hitzeinaktiviert. Der Zweitstrang-Primer kann sich anlagern und das Virusfragment kann durch Verwendung der Taq-Polymerase amplifiziert werden. Die Amplifikationsprodukte werden abschließend in einem Agarosegel analysiert. Bei dem spezifischen CLRV-Nachweis wird mit Hilfe der IC-RT PCR ein Nukleinsäurefragment mit einer Länge von 416 Basenpaaren (bp) vervielfältigt. Proben von infiziertem Saat- oder Pflanzgut zeigen diese 416 bp Bande, Proben von gesundem Pflanzenmaterial oder destilliertem Wasser als Kontrolle hingegen nicht (Abb. 2).



**Abbildung 2:** Nachweis von CLRV aus Birken-samen durch Amplifikation eines spezifischen 416 bp langen Fragments

- 1: Samen einer gesunden Birke
- 2: Samen einer CLRV-infizierten Birke
- 3: aqua dest.
- M: DNA-Marker (VIII, Boehringer)

Die IC-RT-PCR ist bisher nur für einige der samen- und pollenübertragbaren Viren etabliert. Das Verfahren hat im Vergleich zum ELISA beispielsweise beim Nachweis des CLRV eine um den Faktor  $10^2$  niedrigere Nachweisgrenze (WERNER et al. 1997 b) und ist somit bei geringer Viruskonzentration in der Probe dem ELISA weit überlegen. Die IC-RT PCR ist daher in besonderem Maße zur Prüfung von Saatgutchargen geeignet.

### Auswirkungen bei Verwendung von virusinfizierten Samen und Reisern in der Pflanzenanzucht

Virusinfizierte Samen weisen eine verminderte Keimfähigkeit auf. Darüberhinaus kann ein vermehrtes Absterben junger Sämlinge nach der Samenkeimung beobachtet werden. Kontrollierte Bestäubungen an gesunden und CLRV-infizierten Birken zeigten, daß die Keimrate am niedrigsten ist, wenn die Mutterpflanze CLRV-infiziert ist (COOPER et al. 1984). In Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen lag die Virusübertragung bei 17-30 %. Inwieweit die niedrige Keimrate der Samen von virusinfizierten Pflanzen durch die Viruspräsenz im Samen oder aber durch die Krankheitssymptome und ihre Auswirkungen auf die Mutterpflanze hervorgerufen werden, ist noch zu untersuchen.

Eine Übertragung von Viren durch Samen ist von großer Bedeutung für die Ausbreitung einer Viruserkrankung. Diese Art der Verbreitung ermöglicht dem Pathogen eine Ausbreitung über die Zeit und geographische Distanz. Eine horizontale Übertragung führt dazu, daß infizierte Samen weitere Infektionsherde etablieren können und ggf. andere Species infizieren. Felduntersuchungen zur vertikalen Übertragung zeigten am Beispiel des CLRV an Birke, daß 3 % der Sämlinge in einer 3-m-Zone um den infizierten Mutterbaum ebenfalls infiziert waren (COOPER et al. 1984).

Bei der Verwendung von virusinfizierten Reisern bei der Stecklingsvermehrung ist davon auszugehen, daß alle daraus gewonnenen Stecklinge ebenfalls virusinfiziert sind. So sollte beispielsweise das bei der Vermehrung von Pappeln verwendete Ausgangsmaterial zuvor auf eine Infektion mit dem *poplar mosaic*

*virus* (PopMV) geprüft werden. Die Infektion führt an den Pflanzen zu vermindertem Wuchs, Verkahlung der Äste, Kleinblättrigkeit und Farbveränderungen. Dieser Erreger wird auch bei der Vermehrung in-vitro an die nachfolgenden Sproßkulturen weitergegeben. Eine regelmäßige Kontrolle der Klonlinien auf Virusfreiheit ist somit erforderlich.

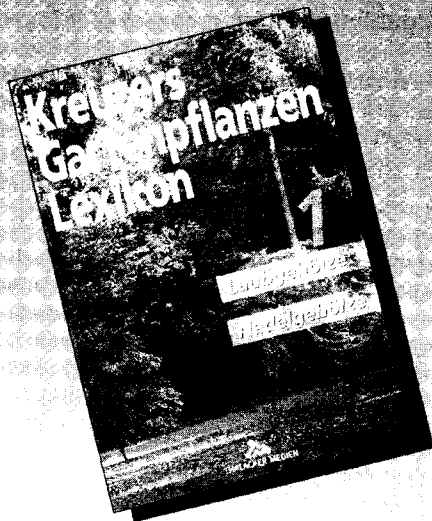
Zunächst vereinzelte Infektionsquellen im Forst, im öffentlichen Grün oder in Baumschulen stellen langfristig ein sich weit ausbreitendes Infektionspotential dar. Um so wichtiger ist, daß im Hinblick auf die lange Kultivierung der Laubgehölze im öffentlichen Grün gesunde Pflanzenbestände angelegt werden. Erst eine Selektion auf virusfreies bzw. virusgetestetes Saatgut und Pflanzenmaterial in Baumschulen kann die Voraussetzung für langfristig gesunde Pflanzenbestände schaffen. Weitgehend praktiziert wird die Selektion virusfreier Stecklinge und Pfropfreiser bei Ziergehölzen durch visuelle Bonitur und serologische Tests, in Obstkulturen ergänzt durch die Thermotherapie virusinfizierten Pflanzenmaterials. Kaum genutzt wird bisher dagegen ein spezifischer und zuverlässiger Virustest (ELISA, IC-RT PCR) bei Saatgut von Gehölzpflanzen, obwohl eine weite Verbreitung beispielsweise des CLRV durch Samen zahlreicher Baumarten von Bedeutung ist (NIENHAUS und KIEWNICK 1998).

### Literatur

- BENNETT, C. W., 1969: Seed transmission of plant viruses. *Adv. Virus Res.* 14, 221 – 261.
- BITTERLIN, M. W.; GONSALVES, D.; CUMMINS, J. N.; 1984: Irregular distribution of tomato ringspot virus in apple trees. *Plant Disease* 68, 567 – 571.
- BÜTTNER, C.; FÜHRLING, M.; WERNER, R.; MÜHLBACH, H. P.; LICACS, N., 1996: Phytopathogene Viren in Laubbäumen des öffentlichen Grüns und Baumschulen sowie in Böden und Gewässern – eine diagnostische Vorgehensweise. *Gesunde Pflanzen*, 48, 95 – 103.
- BÜTTNER, C., 1993: Viruserkrankungen an Laubgehölzen. *Deutsche Baumschule*, 45, 552 – 554.
- CLARK, N. E.; ADAMS, A. N., 1977: Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34, 475 – 483.
- COOPER, J. I.; MASSALSKI, P. R.; EDWARDS, M.-L., 1984: *Cherry leaf roll virus* in the female gametophyte and seed of birch and its relevance to vertical virus transmission. *Ann. Appl. Biol.* 105, 55 – 64.
- FUCHS, E.; GRÜNTZIG, M., 1994: Verteilungsmuster von Viren in holzigen Wirtspflanzen. *Kühn-Arch.* 88, 40 – 53.

- FÜHLING, M.; BÜTTNER, C., 1997: Viruserkrankungen an Laubgehölzen – zu beachten in Baumschulen, im Garten- und Landschaftsbau sowie im Forst –. In: DUESJEFKEN, D.; KOCKERBECK, P. (Hrsg.): Jahrbuch der Baumpflege 1997. Thalacker Medien, Braunschweig, 184 – 188.
- HENTSCH, T., 1998: Untersuchungen zum Auftreten und zur Diagnose von Viren in Forstbaumschulen. Universität Halle, Dissertation, 146 S.
- MEYER-KAHSNITZ, S., 1993: Samen- und Pollenübertragungen. In: MEYER-KAHSNITZ, S., Angewandte Pflanzenvirologie. Thalacker Medien, Braunschweig, S. 27 – 31.
- LÖW, A., 1995: Untersuchungen zum ganzjährigen serologischen Nachweis von *cherry leaf roll virus* (CLRV) und *prune dwarf virus* (PDV) in Wildkirschen (*Prunus avium*). Universität Bonn, Dissertation, 125 S.
- MINK, G. I., 1993: Pollen- and seed-transmitted viruses and viroids. Annu. Rev. Phytopathol. 31, 375 – 402.
- NIENHAUS, F.; BÜTTNER, C.; HAMACHER, J., 1990: Virus infection of forest trees by mechanical transmission. J. Phytopathology 129, 141 – 150.
- NIENHAUS, F.; CASTELLO, J. D., 1989: Viruses in forest trees. Annu. Rev. Phytopathol. 27, 165 – 186.
- NIENHAUS, F.; KIEWNICK, L., 1998: Pflanzenschutzmaßnahmen. In: NIEHAUS, F.; KIEWNICK, L. (Hrsg.): Pflanzenschutz bei Ziergehölzen. Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 40 – 71.
- NOLASCO, G.; DE BLAS, C.; TORRES, V.; PONZ, F., 1993: A method combining immunocapture and PCR amplification in a microtiter plate for the detection of plant viruses and subviral pathogens. J. Virol. Meth. 45, 201 – 218.
- ROWHANI, A.; MANINGAS, M. A.; LILE, L. S.; DAUBERT, S. D.; GOLINO, D. A.: 1995: Development of a detection system for viruses of woody plants based on PCR analysis of immobilized virions. Phytopathology 85, 347 – 352.
- WERNER, R.; MÜHLBACH, H.-P.; BÜTTNER, C., 1997 a: Detection of *cherry leaf roll nepovirus* (CLRV) in birch, beech and petunia by immunocapture RT-PCR using a conserved primerpair. Eur. J. For. Pathol. 27, 309 – 318.
- WERNER, R.; MÜHLBACH, H.-P.; BÜTTNER, C., 1997 b: Detection of *poplar mosaic carlavirus* by immunocapture RT-PCR. In: DEHNE, H.-W.; ADAM, G.; DIERMANN, M.; FRAHM, J.; MAULER-MACHNIK, A.; VAN HALTEREN, P., (Hrsg.): Diagnosis and identification of plant pathogens. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, 403 – 405.

## Das Standard-Nachschlagewerk der Gehölze:



Kreuzers  
Gartenpflanzen-Lexikon  
Band 1

**Laubgehölze und  
Nadelgehölze**

10. Auflage 1998.

272 Seiten, 737 Farbfotos,  
umfangreicher Tabellen-  
und Registerteil,  
gebunden.

ISBN 3-87815-119-5-2

**DM 78,-**

© BARCOWSKY DESIGN

  
THALACKER MEDIEN

Postfach 8364  
38133 Braunschweig  
Fon 0531.38004.26/28  
Fax 0531.38004.25