

Birnenverfall - Eine Einführung



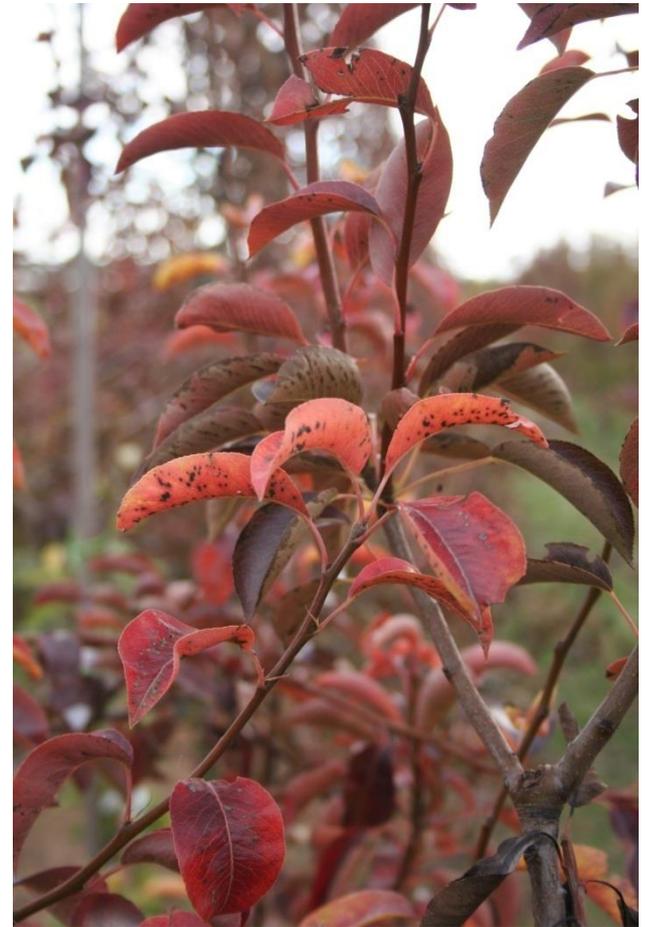
Dr. Wolfgang Jarausch

AlPlanta-IPR, Neustadt a.d.Weinstraße, Deutschland

Foto: J. Egger www.wikipedia.de (Birneverfall (Schweizer Wasserbirne))

Birnenverfall – Pear Decline

- **bakterielle Krankheit der Birne (Phytoplasmosen)**
- **hohe Schäden in der Vergangenheit in Nordamerika und Italien**
 - Ertragsausfall
 - Absterben
- **verstärkte Ausbreitung der Krankheit in Europa in den letzten Jahren:**
 - Erwerbsobstanbau
 - Streuobstanbau



Historie

- **Erstbeschreibung:**
 - **in Europa:**
 - Mader, 1908 (moria del pero, Italien)
 - **in Nordamerika:**
 - McLarty, 1948 (British Columbia)
- **Identifizierung des Erregers:**
 - **Nachweis der Übertragbarkeit:**
Jensen et al., 1964
 - **Nachweis eines MLOs:** Hibino and Schneider, 1970
 - **Spezies-Klassifizierung:**
Seemüller & Schneider, 2004



Pear tree cv. Abate Fetel grafted on quince BA29 affected by pear decline. Foto: EPPO

Wirtspflanzen

- **verschiedenste Birnenarten:**

- *Pyrus* spp.
- Kulturarten der Birne (Sorte, Unterlage)
- Nashi
- Wildarten



- **Quitte:**

- *Cydonia* spp.
- Unterlagensorten

Nashi

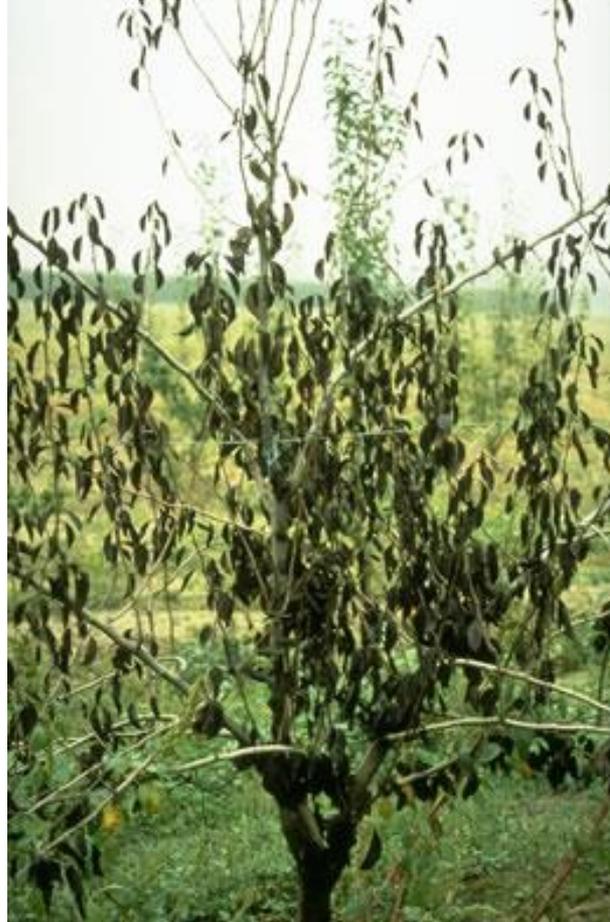
Japanese pear (nashi)
cv. Hosui showing
enlarged vein
with leaf curl induced
by pear decline.
Foto: EPPO



Schneller Verfall - Quick decline

- **Trockenstress**
- **anfällige Unterlage**

- **starke
Wurzelschädigung**



Williams auf Kirchensaller (Foto Giunchedi)

Langsamer Verfall - Slow decline

langsames, progressives Absterben
auf wenig toleranten Unterlagen



Abate Fetel auf Quitte BA29



Conference auf Quitte A

Fotos L. Giunchedi, Università degli Studi, Bologna

Symptome beim langsamen Verfall: Rotlaubigkeit

- auf toleranten Unterlagen:
 - vorzeitige Rotlaubigkeit
 - vorzeitiger Blattfall
 - z.T. Blattrollen
 - Reduktion in Wuchs,
Ertrag und Fruchtgröße
- jährliche Schwankung der
Symptomausprägung bis
zum Verschwinden



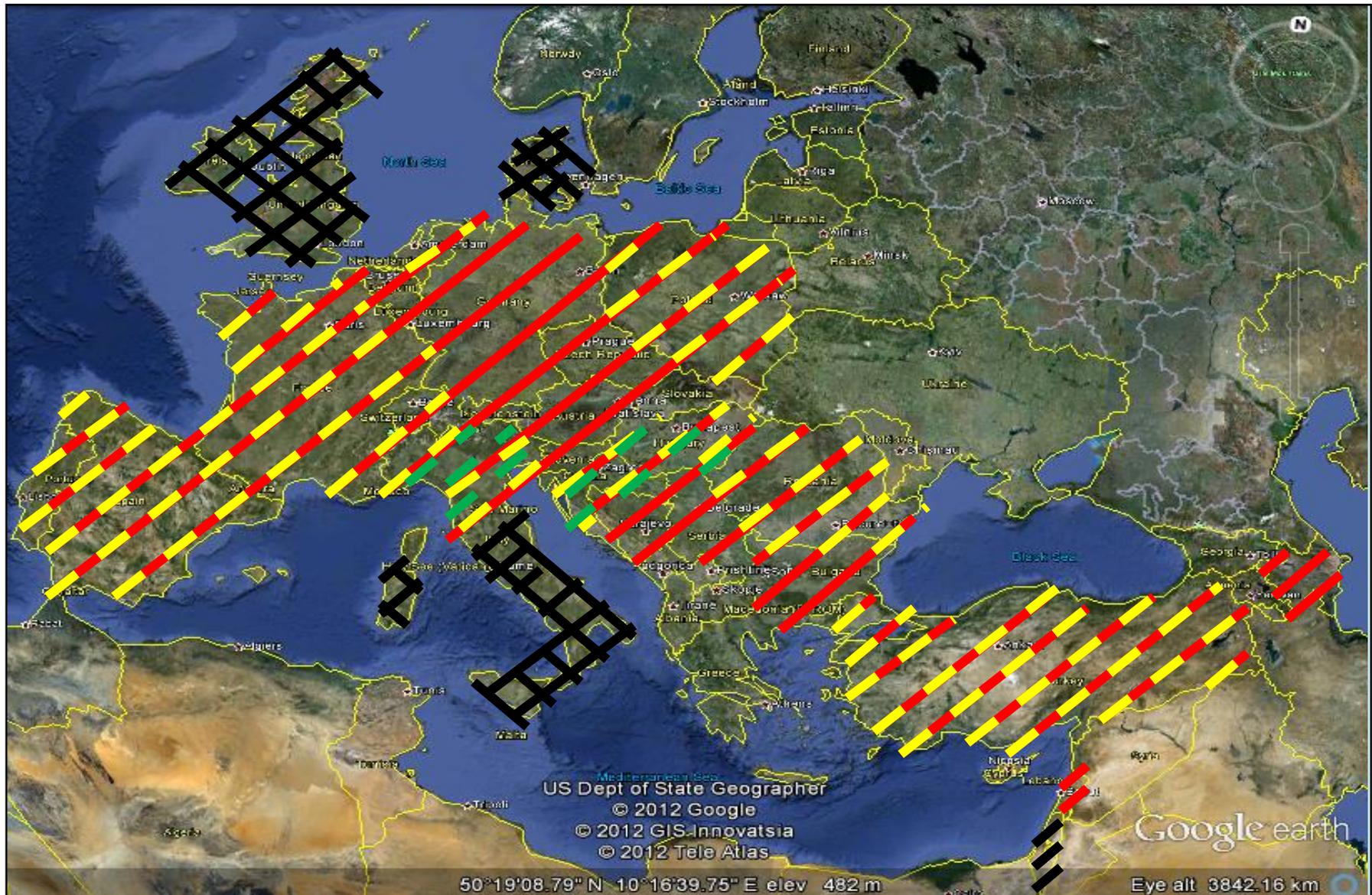
Verbreitung der Krankheit

- **Nordamerika**
- **Europa**
- **Vorderasien**

- **Taiwan:**
 - PDTW (pear decline Taiwan)



Pear Decline in Europe (COST action FA0807)



Der Erreger

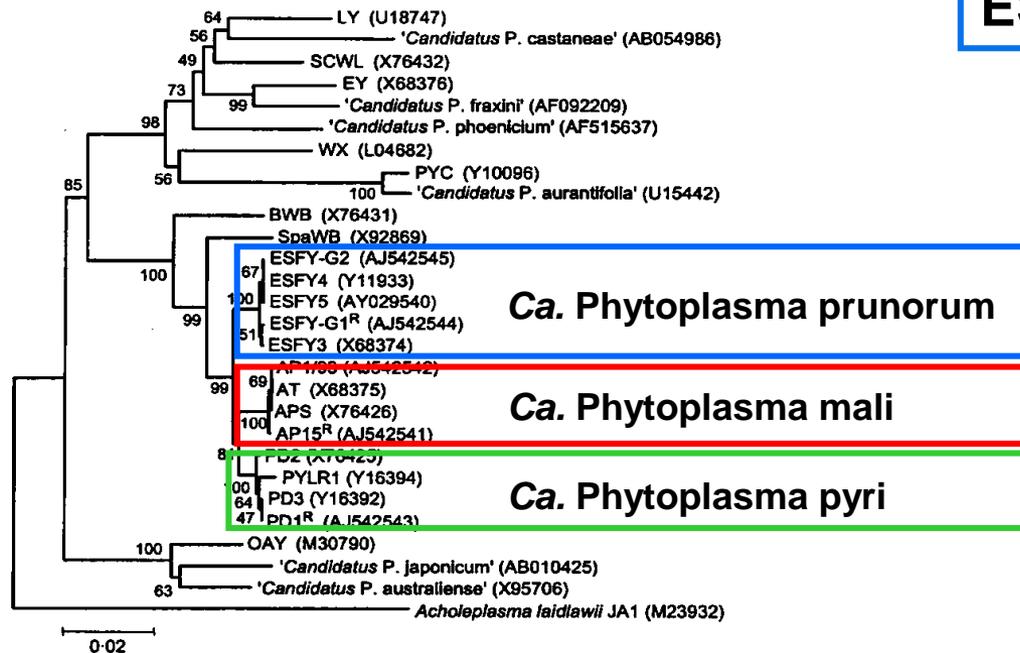
- Zellwand-loses, Pflanzen-pathogenes Bakterium
- *frühere Bezeichnung: Mycoplasma-like Organism (MLO)* (entdeckt 1968)
- *heute: Phytoplasma*
- nicht kultivierbar
- nur in den Siebröhren (Phloem) der Pflanzen
- übertragen durch Phloem-saugende Insekten



Candidatus Phytoplasma pyri

Der Erreger des Birnenverfalls ist eng verwandt mit anderen Obstphytoplasmen

E. Seemüller and B. Schneider



ESFY



Europäische
Steinobstvergilbung

Apfeltriebsucht



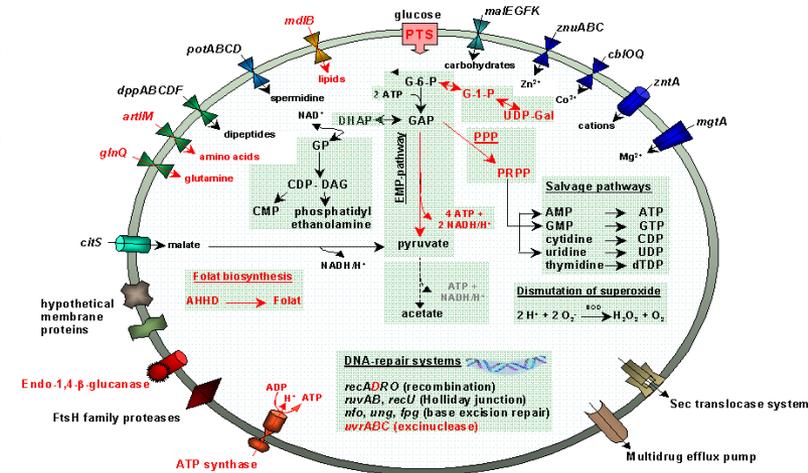
AP

Phylogenetische Analyse des ribosomalen 16S rRNA Gens

Phytoplasmen sind eine der kleinsten lebenden Organismen

- *Escherichia coli* 4.6 Mb
- *Erwinia amylovora* 4.5 Mb
- *Ca. Phytoplasma asteris* 0.7 – 1.3 Mb
- ***Ca. Phytoplasma mali* 0.65 Mb**
- *Mycoplasma genitalium* 0.53 Mb
- *Carsonella rudii* 0.16 Mb

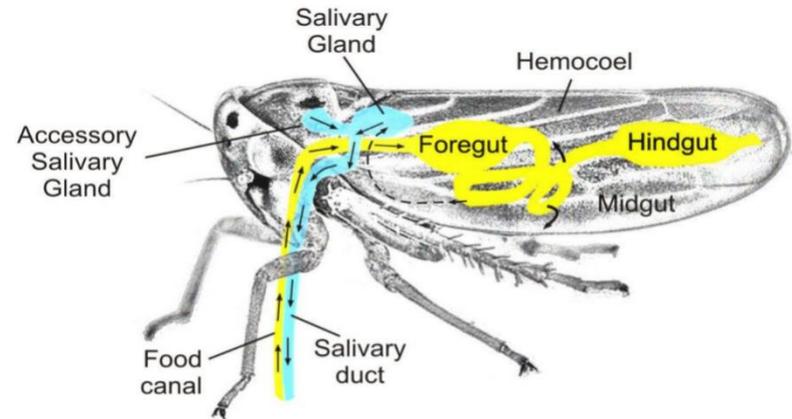
Sequenziertes Genom von *Ca. P. mali*
Kube et al., 2008



Phytoplasmen sind abhängig vom Wirt

Hohe genetische und biologische Variabilität

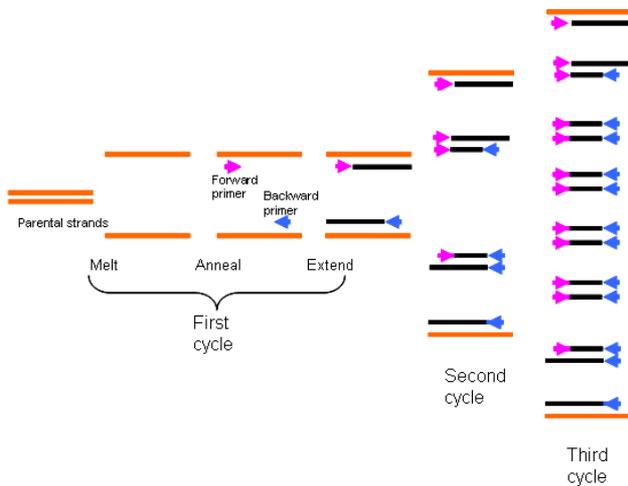
- **Vermehrung in der Pflanze**
 - spezielle Bedingungen im Phloem
- **Vermehrung im Insekt**
 - spezielle Bedingungen in der Hämolymphe



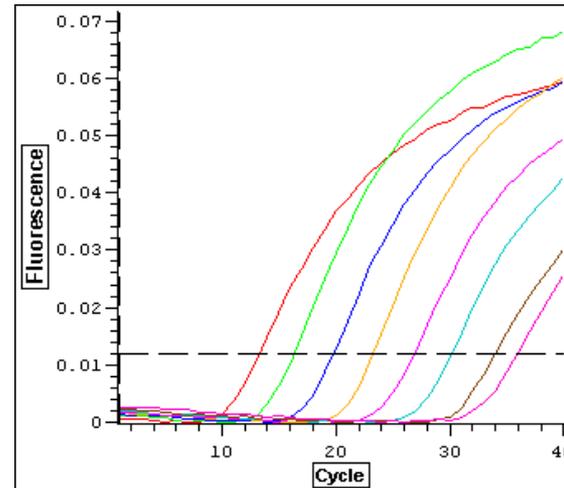
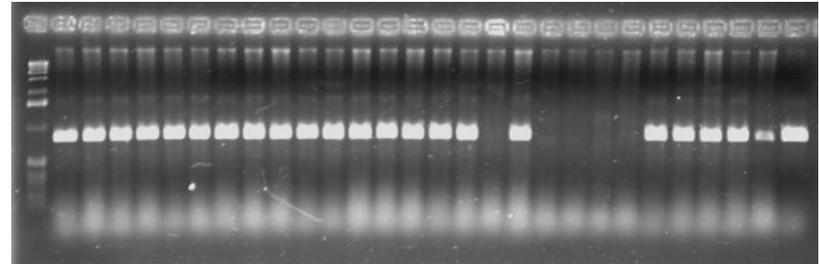
Ca. Phytoplasma mali fehlen bestimmte genetische Reparaturmechanismen
=> ohne Selektionsdruck werden Mutanten akkumuliert

Molekularer Nachweis mittels PCR oder real-time PCR

- Nachweis in Pflanze und Insekt
- sensitivster Nachweis
- spezifischer Nachweis
- Routine-Diagnose

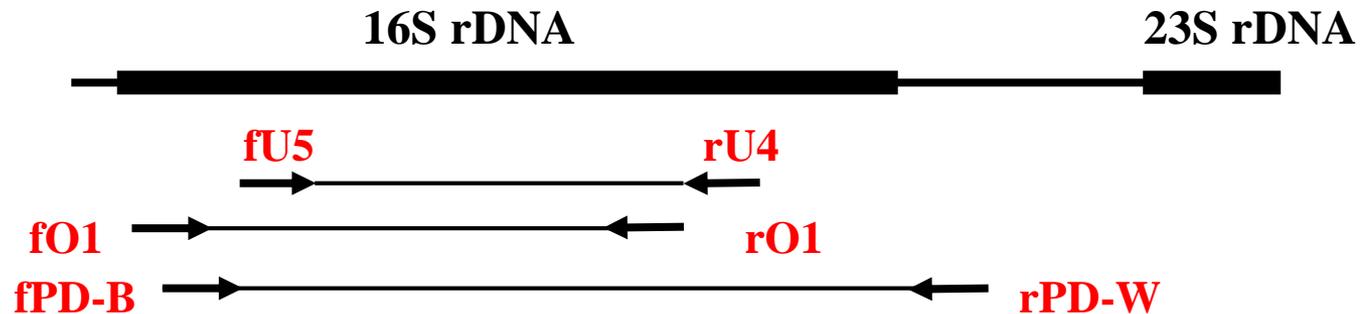


PCR = Polymerase-Kette-Reaktion



- Bestimmung der Konzentration der Phytoplasmen mittels real-time PCR möglich

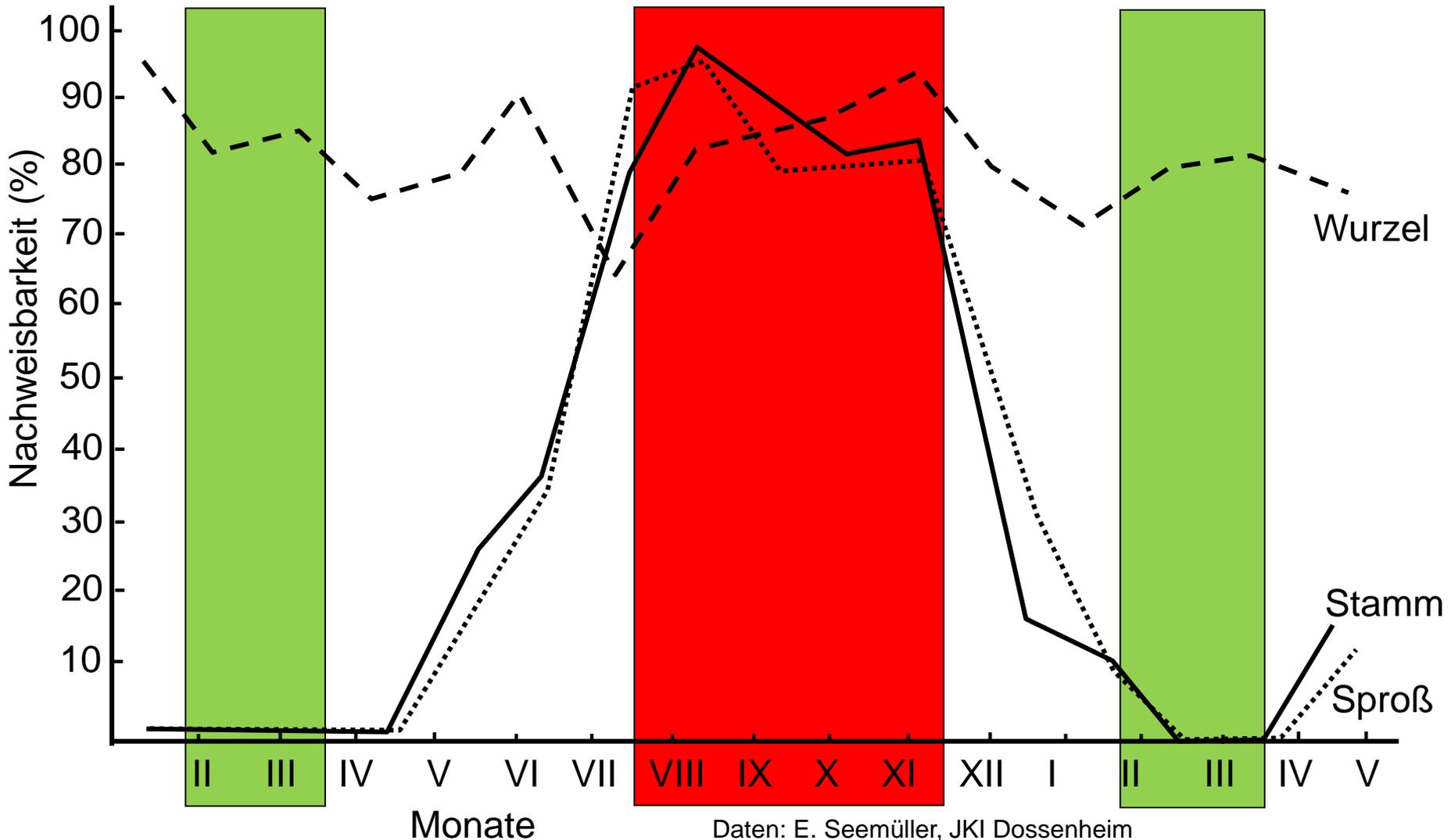
Entwicklung spezifischer PCR-Primer für die direkte Identifizierung von *Ca. Phytoplasma pyri*



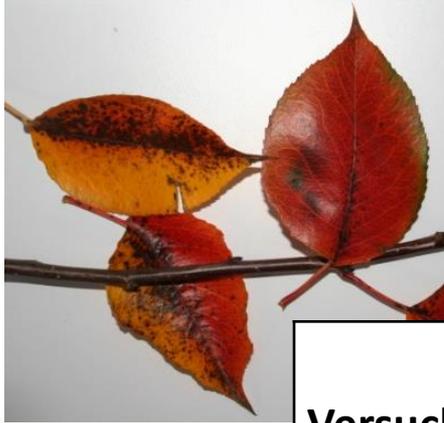
Nachweis von *Ca. P. pyri* mit verschiedenen PCR Primern

universell für alle Phytoplasmen	spezifisch für Obstphytoplasmen	spezifisch für <i>Ca. P. pyri</i>	spezifisch für <i>Ca. P. pyri</i>
fU5/rU4 Ahrens & Seemüller, 1992	fO1/rO1 Lorenz et al., 1995	fPD/rPDS Lorenz et al., 1995	fPD-B/rPD-W Etropolska et al., 2011
122 / 122 (100%)	118 / 122 (96,7%)	97 / 122 (79,5%)	110 / 122 (90,2%)

Nachweisbarkeit von *Ca. P. pyri* im Jahresverlauf



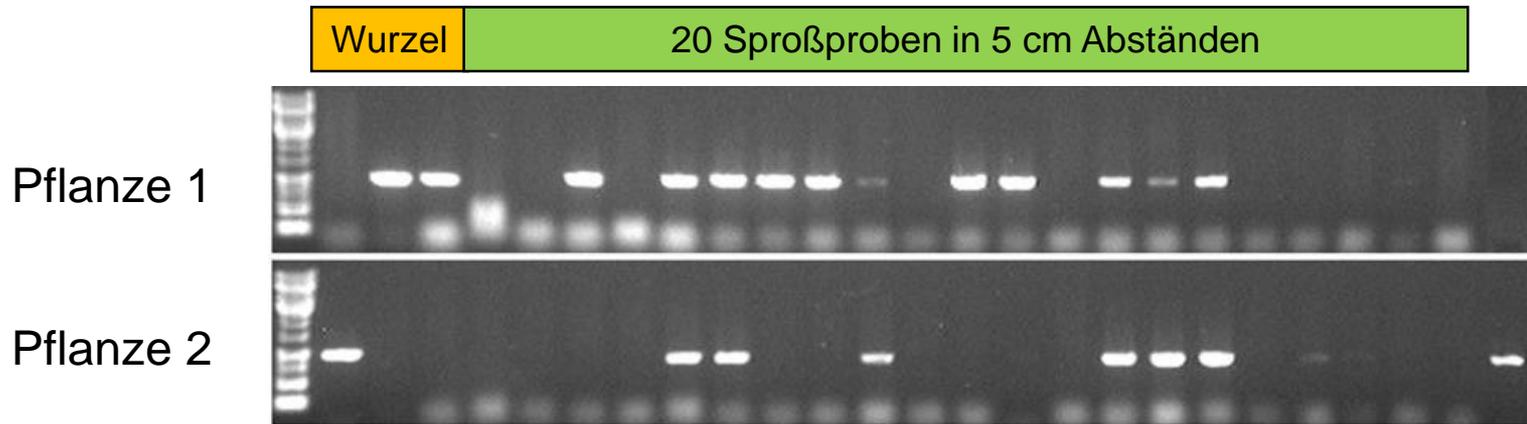
Korrelation von Symptomen mit PCR Nachweis der Phytoplasmen



Versuchsjahr	Blattfärbung	Anzahl Proben getestet	Anzahl Proben PCR positiv	% Proben PCR positiv
2010	leicht rötlich	25	16	64%
	rot	17	11	65%
	braun-rötlich	6	4	67%
	gelb	723	136	19%
2012	rot	17	13	76%
	grün - gelb	325	75	23%
2013/2014	rotlaubig	11	6	55%

Es gibt kein sicheres Symptom !

Das Problem der unregelmäßigen Verteilung der Phytoplasmen im Baum



Daten: Dr. Bernd Schneider, Julius Kühn-Institut, Dossenheim, Deutschland

Probenahme 20. Mai 2011. PDw ex vitro Pflanzen gleichen Alters. Primer fO1/rO1.

Die Sicherheit des Nachweises ist abhängig von der Probennahme

Das Problem der Latenz

- **Zeitraum zwischen Beginn der Infektion und erstem Auftreten von Symptomen**
- **abhängig von der Stärke des Inokulums**
 - Übertragung durch Insekt
 - experimentelle Inokulation
- **abhängig vom physiologischen Zustand des Baumes**
 - Alter des Baumes
 - Widerstandsfähigkeit



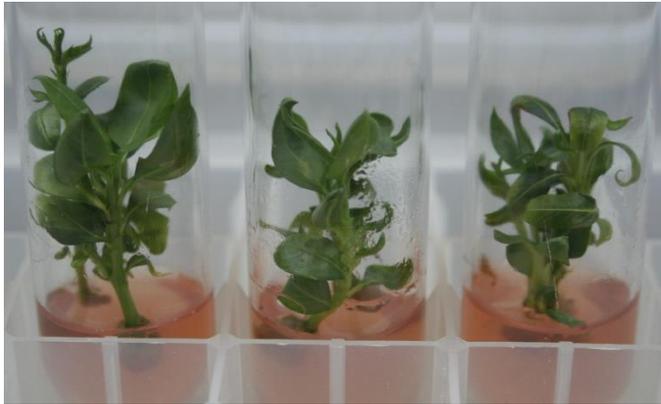
Übertragungswege der Krankheit

- **Phloemverbindungen:**
 - Pfropfung (experimentell oder durch latent infiziertes Reis)
 - Wurzelverwachsungen (Hypothese)
 - Phloem-saugende Insekten
- **infiziertes, vegetativ vermehrtes Pflanzgut (z.B. Unterlagen)**
- **keine Übertragung durch Samen oder Pollen**
- **keine mechanische Übertragung (z.B. Schnittwerkzeuge)**

Ausbreitung der Krankheit durch das Pflanzgut

- **Ca. Phytoplasma pyri ist ein Quarantäne-Schaderreger:**
 - Einschleppung und Ausbreitung in EU verboten
 - Pflanzmaterial muss frei von Phytoplasmen sein
- **Nachweis von Birnenverfall im Muttergarten oder in der Baumschule in der Praxis schwierig**
 - visuelle Bonitur nicht ausreichend
 - molekularer Test nur stichprobenhaft möglich
- **Ausbreitung der Krankheit durch infiziertes Pflanzmaterial über große Distanzen möglich**
- **hohes Risiko der Verbreitung durch nicht-zertifizierte Vermehrung**

Der Birnenverfall im Labor



Ca. P. pyri-infizierte Birne *in vitro*



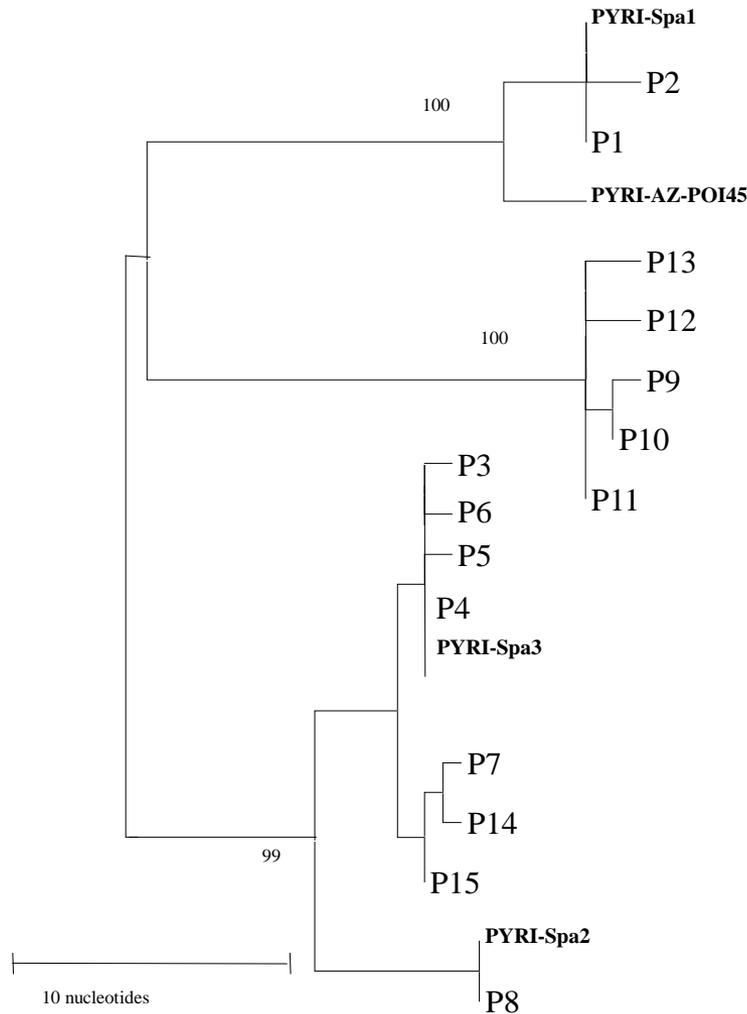
gesunde Birne *in vitro*



Das Problem der biologischen und genetischen Variabilität des Erregers

- **im Genom von *Ca. Phytoplasma pyri* wurden hochvariable Gene identifiziert**
 - z.B. *imp*, *aceF*, *pnp*, *secY* (Danet et al., 2011)
- **in der Pflanze existieren Populationen von genetischen Varianten**
- **biologische Bedeutung noch unklar (Bsp. virulente oder avirulente Stämme)**
- **welche Varianten durch Insekten übertragen werden können, ist nicht untersucht**
- **molekulare Marker für epidemiologische Studien?**

Molekulare Varianten des Markers *pnp*



Ca. *P. prunorum*

Ca. *P. mali*

Ca. *P. pyri*

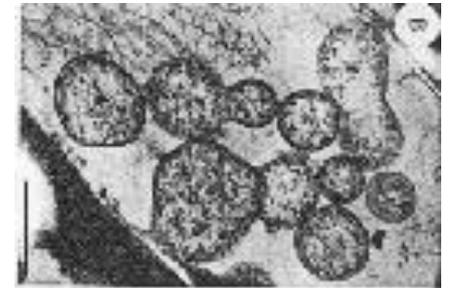
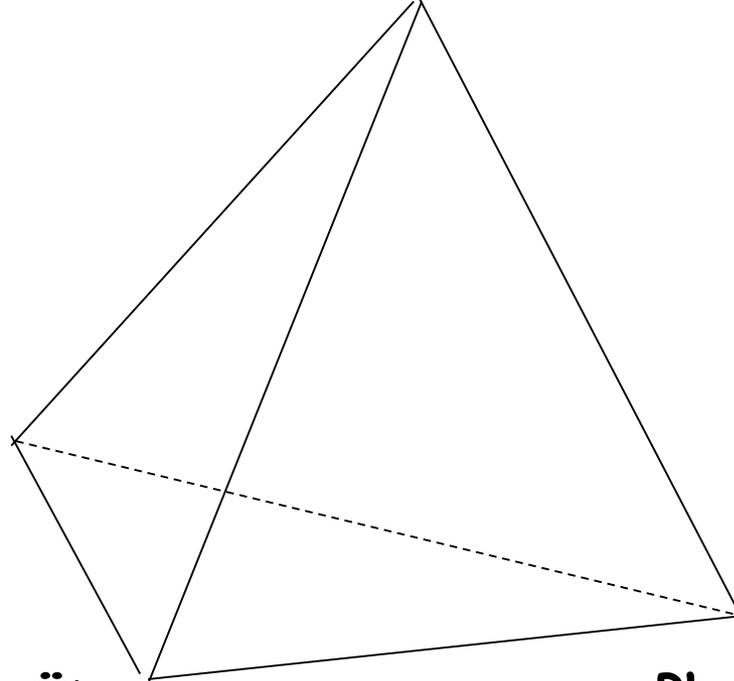
Danet *et al.*, 2011

Der Birnenverfall ist ein komplexes System



Pflanze

Umwelt



Phytoplasma



Überträger

Ansätze für Bekämpfungsmaßnahmen

