

Michael Petruschke

## Virustestung, Virusfreimachung und Vermehrung von Vorstufen- und Basismaterial von Obstsorten

Viren sind submikroskopisch kleine Partikel mit einer Länge zwischen 17 und 2000 Nanometer. Sie besitzen keinen eigenen Stoffwechsel und sind auf Wirtsorganismen angewiesen. Auch an Pflanzen können sie als Krankheitserreger auftreten und zu Ertragseinbußen und sogar zum Tode der Pflanzen führen. Nach einer Infektion sind sie in der Pflanze nicht mehr zu bekämpfen. Um eine weitere Virusausbreitung zu verhindern, besteht die einzige Möglichkeit in der Rodung der befallenen Pflanzen. Insbesondere bei Dauerkulturen, wie Obstpflanzen, ist die Verwendung virusfreier, zertifizierter Pflanzen von großer Bedeutung.

In der EU wird die Vermehrung von Obstpflanzen gesetzlich durch die Richtlinie 2008/90/EG, in Deutschland durch die Anbaumaterialverordnung (AGOZV) geregelt. Für die Produktion und Vermehrung von virusfreiem Vermehrungsmaterial sind Virustestung, Virusfreimachung und Stufenaufbau wesentliche Bausteine. Diese Aufgaben werden im Auftrag des Landes Baden-Württemberg am LTZ Augustenberg, Referat 33, durchgeführt und sind die Grundlage für die Bereitstellung von anerkanntem Vorstufen- und Basismaterial.

### Virustestung

Virusbefall ist aufgrund der Symptome nicht immer eindeutig zu identifizieren und oft nicht sichtbar, also latent. Um eine Virusinfektion nachzuweisen, muss ein spezieller Virustest erfolgen.

Seit der Entdeckung der Pflanzenviren wurden verschiedene Nachweismethoden entwickelt. Die ersten waren sogenannte Biotests mit virussensiblen Indikatorpflanzen, die nach einer Infektion deutliche Symptome zeigen. Der Vorteil dieser Methode liegt in ihrer Empfindlichkeit. Selbst geringe Viruskonzentrationen werden durch die Vermehrung der Viren in der Pflanze erhöht, so dass die entsprechenden Symptome an der Indikatorpflanze mit der Zeit sichtbar werden. Indikatorrestungen können im Gewächshaus oder im Feld (Abb. 1) durchgeführt werden. Ein Nachteil der Methode ist die lange Testdauer, die von 3 Monaten bis zu zwei Jahren

dauern kann. Eine Verkürzung kann im Gewächshaus erreicht werden.

Biotests sind auch heute noch aktuell, da man das gesamte Virusspektrum einer Obstgattung erfassen kann. Um Indikatorpflanzen zu infizieren, bedient man sich bei verholzenden Obstbaumarten der bekannten Veredlungsmethoden wie Okulation, Chip-Budding und Kopulation, abhängig von der Jahreszeit und dem Entwicklungsstand der Pflanzen. Bei Erdbeeren und Himbeeren hat sich die Blattstielpfropfung bewährt, da sie relativ schnell durchzuführen ist. Nach der Pfropfung müssen die Pflanzen für zwei Wochen bei hoher Luftfeuchte gehalten werden, wodurch es zu einem Verwachsen der gepfropften Blattstiele mit dem Indikator kommt (Abb. 2). Für eine deutliche Ausprägung von Virussymptomen ist eine optimale Kulturführung Voraussetzung. Wenn man die Testungen im Gewächshaus vornimmt, dürfen die Temperaturen mittelfristig nicht über 25°C steigen, weil ansonsten die Symptome unterdrückt würden. Die Symptome sind je nach verwendetem Indikator spezifisch und lassen sich definierten Virosen zuordnen. Ein Beispiel für einen Indikator ist die Kirschenart Canindex, die sehr deutlich auf den Befall mit dem Virus der Kleinfrüchtigkeit (Little cherry virus) reagiert (Abb.3).

Im Labor hingegen kann man mit den gebräuchlichen Verfahren wie ELISA und PCR nur gezielt gegen spezielle Erreger testen. Andererseits lassen sich im Labor in wenigen Tagen sehr große Mengen von Proben untersuchen. Diese Verfahren eignen sich eher für



Abbildung 1  
Nachweis latenter Apfelviren in der Baumschule



Abbildung 2  
Blattstielpfropfung an Erdbeerindikatoren



Fotos: W. Petruschke

Abbildung 3  
Symptome von Little cherry virus  
am Indikator Canindex

Abbildung 4  
Kabine für die Thermotherapie  
von Obstpflanzen

Abbildung 5  
Grünspitzenpfropfung nach  
Thermotherapie

Abbildung 6  
Saranhaus für die Kultur von  
Vorstufenmaterial

Abbildung 7  
Kernquartier für die Kultur von  
Basismaterial

diagnostische Zwecke und Serientestungen. Wenn man Obstpflanzen auf Virose testen möchte um anerkanntes Vorstufenmaterial zu produzieren, sollten Biotests und Labortests kombiniert werden.

### Virusfreimachung durch Thermotherapie

Stehen von einer Sorte keine gesunden Individuen mehr zur Verfügung, kann nur eine Hitzebehandlung (Thermotherapie) zu neuen virusfreien Pflanzen führen. Wie sieht nun eine Thermotherapie in der Praxis aus? Bevor kranke Obstbäume dem Stress einer Hitzebehandlung ausgesetzt werden, müssen sie in Containern mindestens ein Jahr lang unter optimalen Bedingungen im Gewächshaus kultiviert werden. Die Hitzebehandlung erfolgt dann über mehrere Wochen bei 37°C bis 39°C in einer Kabine mit regelbarer Heizung und starker Zusatzbelichtung bei mindestens 20 klx (Abb. 4). Damit die Pflanzen die Prozedur überleben, hat es sich bewährt, nachts die Temperatur um 2°C abzusenken, ohne dass der Behandlungserfolg gefährdet wird. Die Luftfeuchtigkeit ist niedrig zu halten, damit sich die Pflanzen durch Transpiration kühlen können. Die Dauer der Behandlung und die Temperatur richten sich nach der Sensibilität der Sorte bzw. Gattung. Relativ unempfindlich gegen höhere Temperaturen sind Äpfel, Zwetschen und Himbeeren. Die Therapiedauer kann bei diesen problemlos auf 8 Wochen ausgedehnt werden.

Die kranken Obstpflanzen selbst gesunden während der Therapie zwar nicht, aber eine Vermehrung und Ausbreitung der Viren in die zugewachsenen Triebspitzen wird aufgrund der hohen Temperaturen verhindert. Die meisten Triebspitzen sind deshalb virusfrei. Eine Entnahme der virusfreien Spitzen (unter 0,5 cm) mit anschließender Pfropfung auf virusfreie Unterlagen führt zu den gewünschten virusfreien Ausgangspflanzen, welche als Vorstufenmaterial anerkannt wer-

den können (Abb. 5). Beim Beerenobst sind Veredelungen eher schwierig. Die Bewurzelung der Triebspitzen und Weiterkultur erfolgt deshalb in vitro, bis die Pflanzen eine ausreichende Größe haben und getopft werden können. Die neuen virusfreien Ausgangspflanzen dienen dann zur Vermehrung in großen Stückzahlen.

### Vermehrung von Vorstufen- und Basismaterial

Da der Aufwand der Virusfreimachung relativ groß ist, lassen sich auf diese Weise nur einzelne Ausgangspflanzen therapieren. In mehreren Schritten werden daraus wieder neue Mutterpflanzen produziert, um aus der letzten Stufe die Baumschulen mit Edelreisern zu versorgen. Ziel ist es, das Vermehrungsmaterial über alle Stufen bis zum Endverbraucher virusfrei zu halten. Die erste Stufe nach erfolgreicher Thermotherapie wird als Vorstufenmaterial bezeichnet und unter insektensicheren Bedingungen ([Saranhaus](#)) in Containern kultiviert (Abb. 6).

Von den Vorstufenpflanzen werden die Reiser für die nächste Stufe (Basismaterial) vermehrt. Das Basismaterial wird im Freiland in isolierten Quartieren aufgepflanzt (Abb. 7). Im Gegensatz zur Haltung im Saranhaus sind auf dem Feld Infektionen durch Insekten möglich. Dagegen lassen sich Netze und Insektizide einsetzen. Unter Freilandbedingungen werden die Bäume kräftiger, produzieren mehr Edelreiser und die Holzreife ist besser als im geschützten Saranhaus.

In der dritten Stufe, den Reiserschnittgärten oder offiziell Mutterpflanzen für anerkanntes Anbaumaterial genannt, werden die Sorten in großem Umfang aufgepflanzt, um von dort die Baumschulen und andere Abnehmer zu versorgen. In Deutschland stehen Reiserschnittgärten in Baden-Württemberg, in Niedersachsen und in Nordrhein-Westfalen. ■



**Michael Petruschke**  
LTZ Augustenberg  
Tel. 0721/ 9518-311  
michael.petruschke@ltz.  
bwl.de