

Reaktion der Apfelsorten 'Gloster', 'Goldrush', 'Rewena' und 'Topaz' auf eine Blüteninfektion mit dem Erreger des Feuerbrands *Erwinia amylovora* Burrill, Winslow *et al.* (E.a.), im Gewächshaus

von Dr. Thilo Stockert, Ökologisches Versuchswesen im Obstbau an der LVWO Weinsberg

Summary

The histological and histochemical studies from *Erwinia amylovora* Burrill Winslow *et al.* brought further informations about the spread in the apple varieties 'Gloster', 'Goldrush', 'Rewena' und 'Topaz'. It was possible to trap histological and histochemical changes in the tissue where the pathogen was located.

The pathogen spread out in the tissue horizontal and vertical like a string of pearls. E.a. mould a connection between the caverns where it was located. The bacterium was found in seeming healthy tissue. A separate or a final tissue was not found. Calose was only detected in the caverns from 'Gloster' und 'Topaz'. This varieties showed, rapid and heavy symptoms. Further it seem, that not the amount of phenols but the composition of them has more influence on the strength of symptoms.

At 'Gloster' und 'Topaz' the primary attack comes over the flower bottom. At 'Rewena' and 'Goldrush' over the stomatas in the sepals and in the hypanthium. 'Gloster' und 'Topaz' showed in the greenhouse a more rapid and stronger reaction as 'Rewena'. For 'Goldrush' no difference was detected. The different way, the speed and the intensity of infection show, that the morphology of the blossom has an extrem influence to prone for E.a., beneath the phenological and climatic influences.

Zusammenfassung

Die histologische und histochemische Untersuchungen über den Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* Burrill Winslow *et al.* hat zu weiteren Informationen bezüglich der Ausbreitung des Erregers in der Pflanze geführt. Neben einer Lokalisierung und damit Zuordnung des Erregers zu bestimmten Gewebebezirken war es möglich, histologische und histochemische Veränderungen in entsprechenden Gewebebereichen zu erfassen.

Es war festzustellen, daß der Erreger sich horizontal und vertikal, perlschnurartig angeordnet im Gewebe ausbreitet. Die Bakterien in den Kavernen stehen untereinander in Verbindung. Sie sind weit bis in das äußerlich scheinbar gesunde Gewebe anzutreffen. Trenngewebe beziehungsweise Abschlußgewebe konnte nicht gefunden werden. Mit Kallose ausgekleidet waren nur die Kavernen bei den Sorten 'Gloster' und 'Topaz', die rasche und heftige Symptome zeigten. Wie die Untersuchung weiter zeigte, scheint bei der Symptomstärke weniger die Phenolmenge, als das Phenolmuster einen Einfluß zu haben.

Bei 'Gloster' und 'Topaz' erfolgte der Primärbefall der Blüte über den Blütenboden. Im Gegensatz dazu bei 'Rewena' und 'Goldrush' über die Spaltöffnungen unterhalb der Kelchblätter und an der Blütenröhre. 'Gloster' und 'Topaz' wiesen im Gewächshaus eine schnellere und heftigere Reaktion zumindest als 'Rewena' auf. Der Verlauf, die Geschwindigkeit und Stärke der Infektion die unterschiedlich waren, zeigen, daß die Morphologie der Blüte, neben phänologischen Einflüssen und Einflüssen der Witterung, einen wesentlichen Einfluß auf die Anfälligkeit gegenüber E.a. haben.

Einleitung

Einen der Schwerpunkte um dem Feuerbrand Einhalt zu gebieten, nimmt unter anderen die Resistenzzüchtung neuer Apfelsorten ein. Allerdings ist es bis heute nicht gelungen für den Erwerbsobstbau geeignete Sorten mit guten Resistenzeigenschaften herauszubringen (GRAF 1994). BAUMM (1984) führt aus, daß es beim Apfel sehr schwierig ist, eine wirklich resistente Sorte zu züchten, die zudem noch wohlschmeckend, haltbar und somit konkurrenzfähige Früchte liefert. Beim Apfel sind deutliche Sortenunterschiede vorhanden, die von weitgehend tolerant bis hoch anfällig reichen (SEEMÜLLER 1975). Die Mechanismen, die Resistenz beziehungsweise die Toleranz verursachen, sind trotz intensiver Forschung noch relativ unbekannt. Eine Ursache der Resistenz ist von vielen Faktoren abhängig (BAUMM 1984). Sie kann von Jahr zu Jahr wechseln.

Neben biochemischen und immunologischen sowie gentechnischen Methoden werden histologische und histochemische Methoden angewandt, um den Resistenzmechanismen auf die Spur zu kommen. Die meisten Untersuchungen beschränken sich allerdings auf einzelne Blütenorgane bei Birne (*Pyrus communis* spp.) und Weißdorn (*Cotoneaster* spp.). Neben der immunologischen ist es mit histologischen und histochemischen Methoden möglich, Veränderungen innerhalb einer Pflanze in bestimmten Gewebebereiche zu finden. Mit dieser Arbeit wurde daher angestrebt, den Werdegang von E.a. bei den vier Apfelsorten 'Gloster', 'Goldrush', 'Rewena' und 'Topaz' in der Pflanze bis zur Symptomausprägung zu verfolgen. Bei den unterschiedlichen Apfelsorten wurden Veränderungen (Bildung von Trenn- beziehungsweise Abschlußgewebe, erhöhte Teilungsaktivität u.s.w.), die eventuell auftraten, mittels histologischen und histochemischen Methoden verfolgt und verglichen. Dazu wurden künstliche Infektionen mit dem Erreger E.a. über die Blüte durchgeführt.

Infektionsverlauf nach einer Blüteninfektion an Rosaceen durch *Erwinia amylovora* Burrill, Winslow et al.

Zum besseren Verständnis der vorliegenden Arbeit soll kurz auf den bisherigen Kenntnisstand einer Blüteninfektion durch den Erreger des Feuerbrandes E.a. bei Rosaceen eingegangen werden.

Nach THOMSON (1985) fördert Regen den Transport der Bakterien von der Narbe zum Blütenboden, wo im allgemeinen die Infektion stattfindet. Nach dem Autor kann Regen und Tau auch den Transport zwischen den Fruchtblättern fördern, wodurch die Infektionsrate erhöht wird. BEER (1991) weist darauf hin, daß E.a. in das Wirtsgewebe über Wunden, oder bei ausreichender Feuchtigkeit, über natürliche Öffnungen (Nektarien, Hydrathoden oder Lentizellen) eindringt. THOMSON (1985) führt aus, daß die Bakterien besser auf der Narbe überleben als auf dem Blütenboden und anderen Teilen der Blüte. Mittels elektronenmikroskopischen Untersuchungen stellte er fest, daß die Bakterien zwar auf der Narbe vorkamen, aber nur einige Zellschichten weit in den Griffel vordringen konnten. Die Bakterien wurden auf der Narbe von einer schleimigen Flüssigkeit umhüllt.

Nach WILSON et al. (1987), findet bei Weißdorn die Infektion über die Staubblätter schneller als über die Nektarien statt. Nach den Autoren werden beim Apfel, der einen geschlossenen Blütenboden besitzt, zuerst die Narben und die Staubblätter befallen. Bei der Birne der Blütenboden. Dies sei auf den offenen Blütenboden der Birnenblüte zurückzuführen. Nach ROSEN (1935) sind die Blütenanlagen von Birnen und Äpfeln unterschiedlich gebaut, wodurch die Anfälligkeit gegenüber den Bakterien beeinflusst wird. Der Blütenboden beim Apfel ist enger und stärker behaart als bei den Birnen.

Nach der Penetration werden die Pflanzenzellen zerstört (BEER 1991). Während sich die

Bakterienzellen vermehren, verbreiten sich die Bakterien massenhaft im Gewebe und die typischen Symptome erscheinen. LACHAUD und PAULIN (1987) stellten in befallenem Rindengewebe keine klare Trennlinie zwischen gesundem und befallenem Gewebe fest. GOODMAN und WHITE (1981), die künstliche Infektionen an den Kelchblättern der Apfelsorte 'Jonathan' durchführten, fanden Plasmolysen in den Nachbarzellen der Leitelemente, Veränderung der Gefäßgrundsubstanz, das Auftreten von bürstenähnlichen Fibrillen und eine sekundäre Verdickung der Zellwände. Die Plasmolyse wird durch Enzyme, die vom Erreger selbst gebildet werden, verursacht (SEEMÜLLER und BEER, 1976). Anschließend verdickt die Gefäßgrundsubstanz zunehmend, während die Protoplasten der Zellen kollabieren (GOODMAN und WHITE 1981). Nach den Autoren scheinen danach die bürstenähnlichen Fibrillen granularer zu werden, und der Erreger bildet Aggregate mit extrazellulären Polysacchariden aus. Die Kavernen sollen aufgrund des Zusammenbruchs der Leitelemente gebildet werden. Die Leitelemente dienen dem Erreger zur schnellen Ausbreitung. Nach dem Zusammenbruch der Leitelemente und der sie umgebenden Zellen, können die Bakterien sich in den Interzellularen und den neugebildeten Hohlräumen ausbreiten und vermehren. Sie vermehren sich stark und auch äußerliche Symptome werden sichtbar. Nicht alle Leitelemente und ihre Nachbarzellen werden laut den Autoren gleichermaßen befallen.

Durch die Zellteilung der Bakterien und dem damit verbundenen Wachstum der Bakterienkolonien in den interzellulären Räumen des Wirtes, wodurch diese Räume gefüllt werden, wird ein Druck erzeugt, vermutet SCHOUTEN (1991). Dieser sorgt dafür, daß das Wirtsgewebe verdreht wird. Der bakterielle Schleim trocknet bei dem Wachstumsprozess ein, wodurch die erneute Produktion des Schleims angeregt wird. Als dichte Substanz liegt der Schleim um die Bakterien herum. Der Autor

führt weiter aus, daß der Schleim einen geringen Wassergehalt besitzt, wodurch sein Quellungsvermögen erhöht wird. Der Druck durch Anschwellen ist am Abend und in der Nacht am höchsten. Die Bakterien wandern entweder vertikal als interne Stränge oder horizontal, wobei sie als Exsudat sichtbar werden.

Eine Schlüsselrolle bezüglich der Infektiosität des Bakteriums soll den extrazellulär gebildeten Polysacchariden zukommen, die durch dieses gebildet werden (GOODMAN *et al.* 1974). Veröffentlichungen, unter anderem von BAKER *et al.* (1993), weisen auf die Bedeutung von Harpin, ein Protein, als Auslöser bei hypersensitiven Reaktion hin.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Für die Versuchsdurchführung im Frühjahr 1996 wurde von den vier Apfelsorten 'Gloster', 'Goldrush', 'Rewena' und 'Topaz' jeweils ein zweijähriger Baum verwendet. Die Unterlage war M26. Die Bäume wurden als Topfbäume von der Gesellschaft für Erwerb und Vertrieb von Obstgehölz-Neuheiten (GEVO) sowie Malusbunda gestiftet.

Blüteninfektion

Die Blüteninfektion mit *Erwinia amylovora* Burrill Winslow *et al.* wurde bei den unterschiedlichen Apfelsorten in Abhängigkeit vom Blühtermin (Tab. 1) durchgeführt. Die Konzentration der applizierten Bakteriensuspension betrug 1×10^8 cfu/ml (colony forming units). Infiziert wurde mit dem Isolat Ea 7/74, ein Isolat aus *Cotoneaster bullatus* (Bakteriensammlung der Arbeitsgruppe Zeller), mittels einer Sprühflasche. Die Bakteriensuspension wurde in physiologischer Kochsalzlösung (0,5% NaCl) hergestellt und zur verbesserten Haftung der Bakterien an den Blüten mit dem Netzmittel TWEEN 100 (0,01%) versetzt. Der Versuch wurde im Gewächshaus der Biologischen Bundesanstalt in Darmstadt (BBA) mit freundlicher

Unterstützung von Herrn Prof. Dr. Zeller und Frau Susanne Römmelt sowie Herrn Jan Plagge und weiteren Mitarbeiter(innen) durchgeführt.

Tab. 1 Zeitpunkt der Blüteninfektion in Abhängigkeit des Blühtermins bei den Apfelsorten 'Gloster', 'Goldrush', 'Rewena' und 'Topaz', im Jahr 1996

Zeitpunkt	'Gloster'	'Goldrush'	'Rewena'	'Topaz'
28.02.		x	x	x
06.03.	x		x	

Probennahme

Die Probennahme erfolgte in Abhängigkeit zur äußerlichen Symptomausprägung (Tab. 2). Je Probestermin wurde jeweils ein infiziertes Blütenbüschel und ein nicht infiziertes Blütenbüschel als Kontrolle genommen.

Tab. 2: Probestermine (x) bei den Apfelsorten 'Gloster', 'Goldrush', 'Rewena' und 'Topaz', im Jahr 1996

Probestermine	'Gloster'	'Goldrush'	'Rewena'	'Topaz'
01.03.		x		x
04.03.		x	x	x
05.03.		x	x	x
06.03.		x	x	x
08.03.	x		x	
11.03.	x		x	
12.03.	x		x	
13.03.	x		x	

Für die histologischen und histochemischen Untersuchungen wurden zwei Blüten samt Blütenstiel und dazugehörigem Fruchtspieß zufällig der Fixierlösung entnommen. Diese Proben wurden eingebettet und geschnitten, bevor sie entsprechenden Anfärbungen durchgeführt wurden.

Präparationstechniken

Die folgenden Arbeitsgänge fanden am Institut für Obst-, Gemüse-, und Weinbau der Universität Hohenheim bei Herrn Prof. Dr. R. Stößer statt.

Fixierung

Die Fixierung der Proben fand in Karnovsky-Lösung statt. Nach KARNOVSKY (1965) setzt sich die Fixier-Lösung aus den folgenden Gemischen I und II zusammen: Für Gemisch I wurde 20g Paraformaldehyd in 420 ml Aqua dest. (60°C) gelöst und tropfenweise Natronlauge (NaOH) zugegeben, bis die Lösung sich klärte. Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wurde sie bei 4°C aufbewahrt. Gemisch II bestand aus 80 ml 25% (w/v) Glutaraldehyd und 500 ml Phosphatpuffer (100 ml 100mM KH_2PO_4 und 400 ml 100mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot x \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; pH 7,3). Nach der Filtration von Gemisch II wurde Gemisch I zugegeben. Die fertige Fixierlösung (pH 7,2-7,4) wurde bis zur weiteren Verwendung bei 4°C aufbewahrt.

Die Proben wurden in die Fixierlösung (8°C) gegeben, kurz geschüttelt, in einem Exsikkator schonend evakuiert (bis ca. 500 mbar) und anschließend bei 4°C aufbewahrt.

Einbettung

Die Einbettung der Proben basierte auf der Kunstharz-Methode nach RUDDELL (1967a, b), die von HERMANN und SCHULZ (1981) modifiziert wurde. Die Proben wurden in einer Lösung aus 100mM Phosphatpuffer (pH 7,3) und 3%iger Saccharose gewaschen. Zwischendurch wurden sie im Exsikkator bei 300 mbar evakuiert und unter leichtem Schwenken inkubiert (4°C/2h). Anschließend erfolgte das Zurecht trimmen der Objekte entsprechend der Größe der Formvorlage und der Schnittebene. Danach wurde die Lösung gewechselt und die Proben wiederum bei 4°C für zwei Stunden inkubiert. Die Proben wurden über Nacht bei 4°C aufbewahrt und danach in eine aufsteigende Alkoholreihe überführt (20 Vol.%/2h; 40Vol.%/2h; 60Vol.%/2h; 90Vol.%/3h; 96 Vol.%/3h; 96 Vol.%/3h). Anschließend wurden

die Proben einen Tag lang in einer Lösung mit gleichen Teilen zweier Kunstharze (1:1/v:v) bei 4°C unter leichtem Schwenken durchtränkt. Bei den Kunstharzen handelte es sich um Hydroxyethyl-Methacrylsäureester (GMA) und Methyl-Methacrylsäureester (MMA). Nach etwa sechs Stunden wurde die Lösung erneuert und der Vorgang über Nacht fortgesetzt. Gleiches galt für die darauf folgende Penetration mit Lösung A. Lösung A bestand aus 60 ml GMA, 20 ml MMA, 16 ml Ethylenglycolmonobutylether als Streckmittel, 2 ml Polyethylenglykol 400 als Weichmacher und 270 mg Benzoylperoxid als Katalysator. Zwischen den vorangegangenen Schritten wurde die Luft langsam in einem Exsikkator evakuiert.

Der folgende Schritt führte zur Einbettung der Gewebestücke mit frisch hergestellter Lösung B (Lösung A versetzt mit 0,1%igem N,N-Dimethylanilin als Härter). Die Proben wurden in Formen aus Polyethylen eingelegt und unter Vermeidung von Luftblasen mit Lösung B umgeben. Da die Polymerisation nur unter Luftabschluß gleichmäßig vonstatten geht, wurden den Formaussparungen Aluminiumstempel zur Beschwerung aufgesetzt. Diese dienten gleichzeitig als Blockhalter beim Schneiden. Um Luftblasen in den Blöcken, die durch die entstehende Polymerisationswärme auftreten können, zu vermeiden, wurden die Einbettformen mit Aluminiumfolie eingewickelt. Dadurch wurde eine gleichmäßige Abfuhr der Polymerisationswärme gewährleistet. Die Polymerisation erfolgte innerhalb vier Tagen bei 4°C.

Herstellung von Semidünnschnitten

Von den ausgehärteten Kunststoffblöcken wurde mit dem Rotationsmikrotom der Firma Reichert-Jung (Modell 2050) unter Verwendung von Hartmetallmessern Typ D Semidünnschnitte von 5µm Schnittdicke hergestellt. Nachdem die Blöcke bis zur Probenmitte vorgeschritten waren, konnten 24 Längsschnitte in Serie von jedem Block angefertigt werden. Vier davon wurden jeweils auf einen

mit Aqua dest. beschichteten Objektträger aufgezogen, wobei die Oberflächenspannung des Aqua dest. die Schnitte gleichmäßig streckte. Die Vortrocknung der Präparate erfolgte für drei Stunden auf einer Wärmebank bei 40°C. Zur Nachtrocknung wurden die Schnittpräparate für mindestens vier Tage in einen Wärmeschrank bei 35°C gelegt. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Schnitte in Präparatekästen bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Auswahl der Semidünnschnittpräparate

Für die histologischen und histochemischen Untersuchungen fand eine Vorauswahl der Schnitte hinsichtlich der Schnittqualität statt. Es wurden je Anfärbung zwei Objektträger mit jeweils vier Serienschnitten pro Blüte, Blütenstiel und Fruchtspieß ausgewertet.

Färbemethoden

Die Färbung der Semidünnschnitte für die histologische und histochemische Untersuchung wurde folgendermaßen durchgeführt:

- Die Doppelfärbung der Semidünnschnitte fand nach BÖCK (1984) mit Pararosanilin (C.I. 42500) und Haematoxylin (C.I. 75290 Natural) nach Delafield (GERLACH 1984) statt. Dazu wurden die Präparate in 0,5%iger Perjodsäure eingestellt (5 min.) und anschließend in Aqua dest. gewaschen (5 min.). Die Färbung erfolgte für 15 Sekunden in Schiff'schem Reagenz nach GRAUMANN (1953). Bevor die Schnitte mit Haematoxylin nach Delafield weiter behandelt wurden, wurden die Objektträger unter fließendem Leitungswasser gewaschen (15 min.). Anschließend wurden die Semidünnschnitte in der wässrigen Färbelösung (1:10/v:v; 20 min.) inkubiert. Darauf erfolgte eine Spülung unter fließendem Leitungswasser (15 min.). In einem weiteren Schritt wurde bei Raumtemperatur über eine Serie wässriger Ethanollösungen (20 Vol.%, 40 Vol.%, 70 Vol.%, 90 Vol.% und 96 Vol.%; je 2,5 min.) dehydriert. Nachdem die Schnitte in Isopropylalkohol (2x, je 5 min.) und für fünf Minuten in Xylol eingestellt wurden, konnten sie mit Eukitt

eingedeckt werden. Anschließend wurden die Präparate für etwa eine Woche bei 35°C in einem Wärmeschrank getrocknet. Die Perjod-Schiff'sche-Reaktion (PAS) stellt einen Nachweis von Aldehydgruppen dar (BÖCK 1984). Je nach Vorbehandlung können unter anderem Polysaccharide (GERLACH 1984) nachgewiesen werden. Die nachgewiesenen Inhaltsstoffe, beziehungsweise deren funktionelle Gruppen, ergeben mit dem Färbereagenszusammen eine Rotfärbung. Nach GERLACH (1984) ist die blaue Haematoxylinfärbung nach Delafield geeignet, nichtverholzte und unverkorkte Zellwände und damit auch meristematisches Gewebe anzufärben. Verholztes Gewebe weist eine schwache Anfärbung auf.

- Die Untersuchung über die Kalloseeinlagerung wurde an den Semidünnschnitten nach Zach durchgeführt (GERLACH 1984). Zur Vorbereitung für die Anfärbung wurden die Schnitte in Aqua dest. gewaschen (5 min.). Die Färbung fand in einem Gemisch aus Eosin (C.I. 45380) und Anilin (C.I. 427555) (5:1/v:v; 10 min.) statt. Eosin und Anilin WS wurden dafür in Aqua dest. gelöst (1:100/w:v). Die Anilinlösung wurde zusätzlich mit 11,28g/l Trikalium-Phosphat-7-Hydrat ($K_3PO_4 \times 7H_2O$) und 20 Tropfen Eisessig versetzt. Nach der Anfärbung folgte ein Waschschrift (5 min. in Aqua dest.) und die Trocknung der Präparate im Trockenschrank (4 Std./35°C). Anschließend wurden die Präparate für jeweils fünf Minuten in Isopropanol und Xylol getaucht, um sie unter Eukitt einzudeckeln. Nach GERLACH (1984) zeigt Kallose eine blaue Anfärbung und die Zellwände eine rote. KHO und BAER (1970) weisen darauf hin, daß die Kallosebestandteile (β -1,3-Glucose) und Protopektin (α -1,4-Galacturonsäure) durch das Fluorochrom Anilinblau zur Fluoreszenz angeregt werden. Anilinblau wurde bereits von RUSSOW (1883) empfohlen, um die Kalloseplatten in den Siebröhren einzufärben.

- Die Schnellfärbung mit Toluidinblau (C.I. 52040) und basischem Fuchsin (C.I. 42510)

nach TRUMP *et al.* (1961). Bei diesem Färbeverfahren wurde eine 0,1%ige Toluidinblaulösung mit einer Natriumcarbonatlösung (2,5% $NaCO_3 \times 7 H_2O$) hergestellt. Vor der Anfärbung der Schnitte erfolgte ein Waschschrift (5 min. in Aqua dest.). Die Färbezeit in der Toluidinblaulösung betrug 20 Minuten. Nach einem weiteren Waschschrift (5 min. in Aqua dest.) erfolgte die Gegenfärbung mit 1%igem basischen Fuchsin für zwei Minuten bei 60°C auf einer Heizplatte. Anschließend wurden die Schnitte 15 Minuten unter Leitungswasser gespült und für vier Stunden im Wärmeschrank getrocknet. Um eine deutliche Kontrastierung zu erhalten, wurden die Schnitte über eine ansteigende Alkoholreihe vorsichtig entfärbt und dehydriert (20 Vol.%, 40 Vol.%, 60 Vol.%; je 2,5 min.; kurz in 80 Vol.% und 90 Vol.%). Die Eindeckelung unter Eukitt erfolgte nach dem Tauchen in Isopropanol und Xylol (je 5 min.). Nach BÖCK (1988) ergibt sich bei diesem Färbeverfahren eine kräftige Blaufärbung (Toluidin) der basiophilen und osmiophilen Strukturen, sowie Rotfärbung (basisches Fuchsin). Der Autor sieht einen weiteren Vorteil in diesem Färbeverfahren in der Ähnlichkeit des erhaltenen Bildes mit elektronenmikroskopischen Abbildungen.

Makroskopische Untersuchung

Bei dieser Untersuchung wurden äußerliche Merkmale wie Färbung, Deformationen oder der Verlust von Blütenorganen festgehalten.

Mikroskopische Untersuchung

Die mikroskopischen Untersuchungen erfolgten mit einem Stereomikroskop und im Auflicht mit dem Mikroskop Axiophot. Bei den Fluoreszenzaufnahmen wurde der Filtersatz Zeiss Nr. 487709 (BP 390-440, FT 460, LP 425) verwendet. Die Betrachtung erfolgte mit dem Objektiv Neofluar 16x/0,40) unter UV-Anregung (Quecksilber-Hochdruckbrenner HBO 50).

Filmmaterial

Zur Darstellung der Ergebnisse wurden Aufnahmen mit charakteristischen Details angefertigt. Für die Fluoreszenzaufnahmen wurden Kunstlichtfilme mit einer Empfindlichkeit von 50 ASA und Farbbilder von 100 ASA (Ektachrom) verwendet. Die Bilder wurden mit einem Axiophot aufgenommen.

Ergebnisse

Infektionsverlauf bei der Apfelsorte 'Gloster' nach der Blüteninfektion mit dem Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* Burrill Winslow *et al.*

Bei der Sorte 'Gloster' traten zwei Tage nach der Infektion, am 08.03.1996, die ersten äußerlich sichtbaren Symptome auf. Die Fruchtblätter waren schwarz und die Staubblätter braun verfärbt. Am selben Probenstermin konnte im Blütenboden eine hohe Vakuolenanzahl, einhergehend mit einem hohen Phenolgehalt, festgestellt werden.

Eine Schwarzfärbung trat bei den Kelchblättern, dem Blütenboden und dem Blütenstiel am 11.03.1996 auf. Zu diesem Zeitpunkt wies der Blütenboden beziehungsweise die Blütenröhre, im unteren Bereich eine starke Einschnürung auf. Die Untersuchungen zeigten, daß sich in den Leitbündeln der Blüte Kavernen ausgebildet hatten. Eine Einschnürung konnte auch beim Blütenstiel, verbunden mit Exsudatbildung, gefunden werden. Die Ausbildung von Kavernen, die mit Bakterien gefüllt waren, fand auch im Blütenstiel statt.

Degenerierte Samenanlagen wurden am 12.03.1996 festgestellt. Zu diesem Probenstermin hatte sich ein Trenngewebe an der Stielbasis ausgebildet. Im Fruchtspieß konnten Kavernen in den Leitbündeln nachgewiesen werden.

Bis zum 13.03.1996 schlug die Farbe der Staubfäden ins Schwarze um. Eine besonders starke Kavernenbildung trat unterhalb der Epidermis in der Blütenkelchzone auf. Diese Kavernen waren mit Kallose ausgekleidet

(Abb. 1). Die Teile der Blütenstiele, die Infektionen zeigten, waren stark eingeschnürt und verholzt (Abb. 2). Ihre Leitelemente kollabiert. Eine Haken- und Exsudatbildung wiesen die ausgebildeten Seitentriebe der Blüten auf.

Infektionsverlauf bei der Apfelsorte 'Goldrush' nach der Blüteninfektion mit dem Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* Burrill Winslow *et al.*

'Goldrush' zeigte zwei Tage nach der Blüteninfektion, am 01.03.1996 die ersten Befallssymptome durch das Bakterium. Auf der Narbe und im Griffel konnten Bakterien festgestellt werden. Außerdem wies die Chalaza leichte Beschädigungen, in Form von Auflösungserscheinungen, auf. Zu diesem Zeitpunkt traten an der Unterseite der Kelchblätter leichte Wucherungen auf (Abb. 3). Im Bereich des Blütenbodens fand sich eine große Vakuolenanzahl, gepaart mit einem hohen Phenolgehalt.

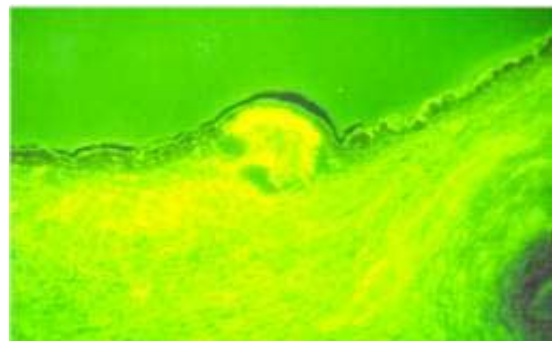


Abb. 1: Kaverne im Blütenstiel mit Kallose ausgekleidet. 'Gloster', 13.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; Fluoreszenz; Filtersatz 15; 20x



Abb. 2: Blütenstiel mit starker Einschnürung und Verholzung. 'Gloster', 13.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

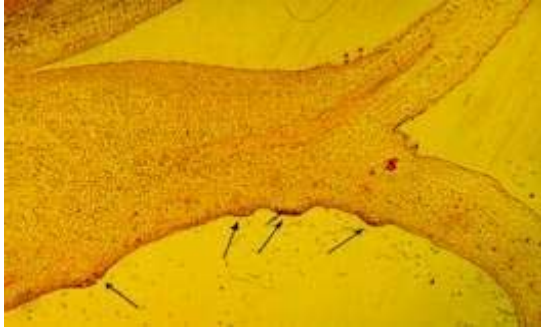


Abb. 3: Wucherungen (Pfeil) unterhalb der Kelchblätter. 'Goldrush', 1.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

Am 04.03.1996 waren die Fruchtblätter dunkel verfärbt. Die Staubblätter dunkel bis braun verfärbt und die Blütenblätter verwelkt. In den dunkel verfärbten Kelchblättern hatten sich Kavernen ausgebildet (Abb. 4). Starke Wucherungen, beziehungsweise Kavernen, traten unterhalb der Epidermis der schwarz verfärbten Blütenröhre und dem stark verholzten Blütenstiel auf (Abb. 5 und 6). Neben einer Exsudatbildung an diesen Blütenteilen konnte eine Einschnürung kurz unterhalb der Blütenröhre festgestellt werden. Schuppig blätterte die Epidermis bis zur Einschnürungsstelle ab.

Schwarze Fruchtblätter und braun-schwarze Staubblätter traten einen Tag später, am 05.03.1996, auf. Die Ansatzstellen der Kelchblätter zum Blütenboden zeigten Auflösungserscheinungen. Im Blütenstiel konnten Bakterienkolonien festgestellt werden. Wiederum einen Tag später, am 06.03.1996, waren die Samenanlagen degeneriert. Die Staub- und Kelchblätter waren schwarz verfärbt, die Leitelemente in diesem Teil der Blüte waren stark verholzt. Der Fruchtspieß begann sich dunkel einzufärben.

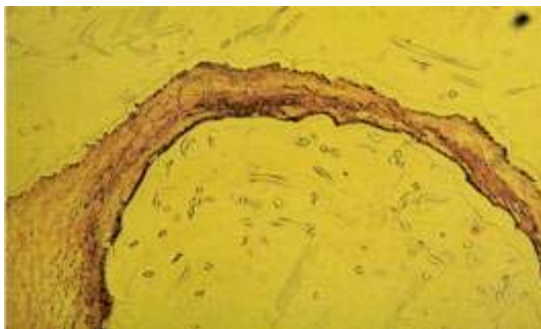


Abb. 4: Kelchblätter mit Kavernen. 'Goldrush', 06.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

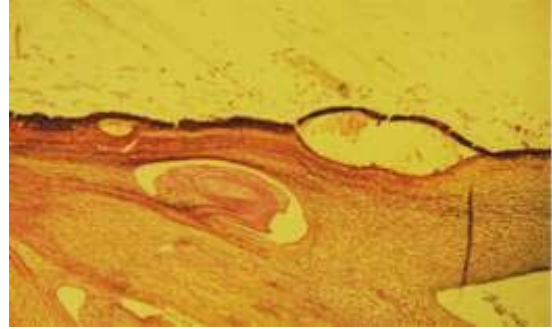


Abb. 5: Blütenröhre mit starker Kavernenbildung. 'Goldrush', 04.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

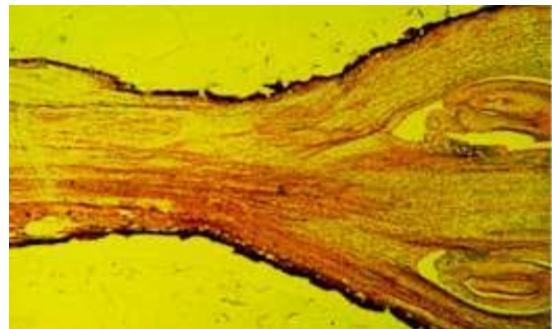


Abb. 6: Blütenstiel mit Einschnürung und Kavernen. Epidermis löst sich schuppig ab. 'Goldrush', 04.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

Infektionsverlauf bei der Apfelsorte 'Rewena' nach der Blüteninfektion mit dem Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* Burrill Winslow et al.

Die ersten deutliche Befallssymptome traten etwa sechs Tage, am 04./05.03.1996, nach der Blüteninfektion auf. Neben dunklen Staubblättern und Fruchtblättern war die Blütenröhre mazeriert. Die Mazerationsstellen wiesen einen hohen Phenolgehalt auf (Abb. 7), wie auch der Blütenboden. Zellschäden konnten auch im Chalazabereich festgestellt werden.

Am 06.03.1996 traten Kavernen unter der Epidermis auf der Unterseite der Kelchblätter und an der Blütenröhre auf (Abb. 8).

Weitere Veränderungen, aufgrund der Infektion, konnten am 11.03.1996 festgestellt werden. Die Fruchtblätter waren nun schwarz verfärbt und die Samenanlagen wiesen leichte Degenerationserscheinungen auf. Bräunliche verfärbten sich die Staubblätter sowie die Kelchblätter. Eine Kavernenbildung trat

auffallend stark unter der Epidermis der Blütenröhre auf. Kavernen konnten auch in den Leitbahnen der Blütenröhre festgestellt werden.

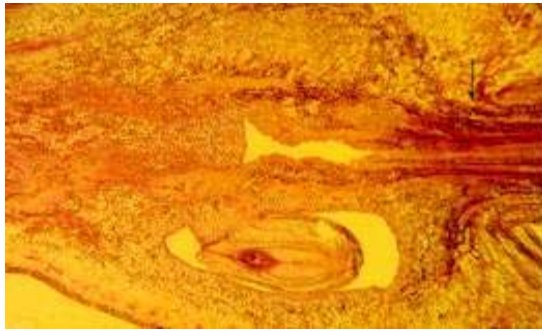


Abb. 7: Blüte mit hohem Phenolgehalt im Bereich der Fruchtblätter (Pfeil). 'Rewena', 08.03.1996; Färbung: Perjodschiß's-Haematoxylin; 5x



Abb. 8: Blüte mit Kavernenbildung unter der Epidermis der Kelchblätter und Blütenröhre. 'Rewena', 06.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

Am 12.03.1996 lagen die Samenanlagen vollständig degeneriert vor. In den Blüten- und in den Kelchblättern wurden Kavernen nachgewiesen. Der Blütenboden war braun verfärbt, der Blütenstiel dunkel. Kavernen fanden sich bis in den Fruchtspieß hinein.

Bis zum 13.03.1996 verfärbten sich die Kelchblätter schwarz und der Blütenboden braunschwarz. Bei den Blüten, die abgestoßen wurden, trat eine Schwarzfärbung des Stielgrundes am 19.03.1996 auf.

Infektionsverlauf bei der Apfelsorte 'Topaz' nach der Blüteninfektion mit dem Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* Burrill Winslow *et al.*

Die ersten Bakterienkolonien konnten auf der Narbe und im Griffel bei der Apfelsorte 'Topaz', zwei Tage nach der Blüteninfektion, am 01.03.1996, gefunden werden. Die Narbe und der Griffel infizierter Blüten wies wie der Fruchtknoten Zersetzungserscheinungen auf (Abb. 9 und 10). Eintrocknet sahen die Integumente der Samenanlagen aus. Leichte Symptome traten bei den Staubblättern auf. Ein hoher Phenolgehalt wurde im Blütenboden festgestellt, dessen Leitbahnen dunkel gefärbt waren.

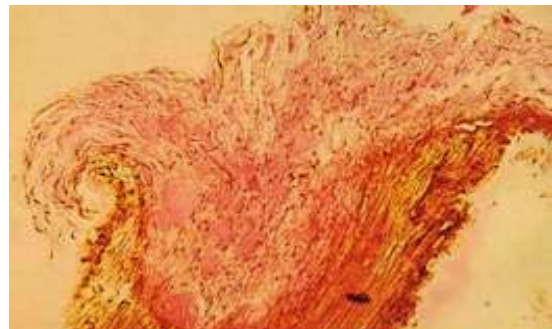


Abb. 9: Narbe mit Bakterien. 'Topaz', 04.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 20x

Am 04.03.1996 waren die Griffel einschließlich der Samenanlagen degeneriert (Abb. 11 und 12). Eine braune Verfärbung wiesen die Staubblätter und eine schwarze die Kelchblätter sowie der Blütenboden auf. Die Pollensäcke zeigten Auflösungserscheinungen (Abb. 13). Kavernen mit Bakterien konnten in den

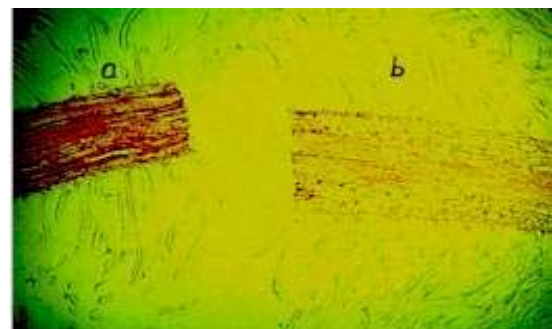


Abb. 10: a) Infizierter Griffel mit Bakterien b) nicht infizierter Griffel. 'Topaz', 01.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 10x



Abb. 11: Intakte Samenanlagen. 'Topaz', 04.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

Kelchblättern (Abb. 14), in den Leitgeweben der Blütenröhre, aber insbesondere unter der Epidermis des Blütenbodens festgestellt werden (Abb. 15). Die Blüte zeigte neben Mazerationserscheinungen einen starken Verholungsgrad. Zum selben Probenstermin wurden im oberen Bereich des Blütenstiel Kavernen festgestellt. In diesem Abschnitt war der Blütenstiel schwarz.

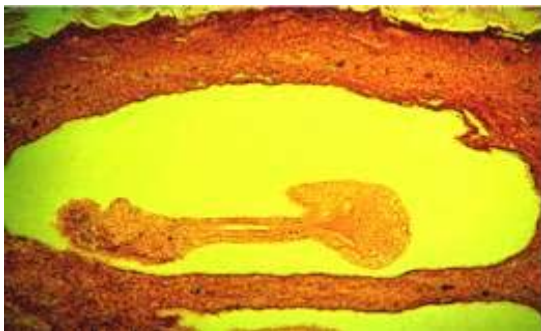


Abb. 12: Degenerierte Samenanlage. 'Topaz', 04.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x



Abb. 13: Befallene Pollensäcke mit Auflöserscheinungen. 'Topaz', 04.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

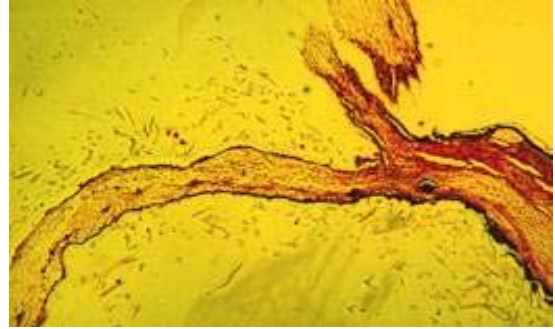


Abb. 14: Kavernen mit Bakterien in den Kelchblättern. 'Topaz', 05.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x



Abb. 15: Befallene Blüte mit großen Kavernen im Blütenkelch. 'Topaz', 04.03.1996; Färbung: Anilinblau-Eosin; 5x

Neben einer Exsudatbildung am Griffel traten am 05.03.1996 etwa in der Mitte der Blütenstiele starke Einschnürungen auf (Abb. 16 und 17). Unterhalb dieser konnten Kavernen in den schwarzen Leitbahnen festgestellt werden. Am letzten Probenstermin, am 06.03.1996, wurde bei diesen Kavernen eine Auskleidung mit Kallose nachgewiesen.

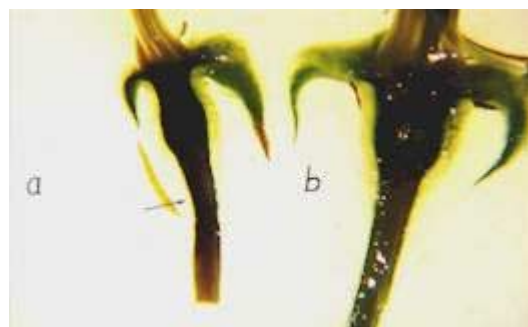


Abb. 16: a) Infizierte Blüte mit schwarzen Leitelementen und Einschnürung am Blütenstiel (Pfeil), b) nicht infizierte Blüte. 'Topaz', 06.03.1996; 0,6x

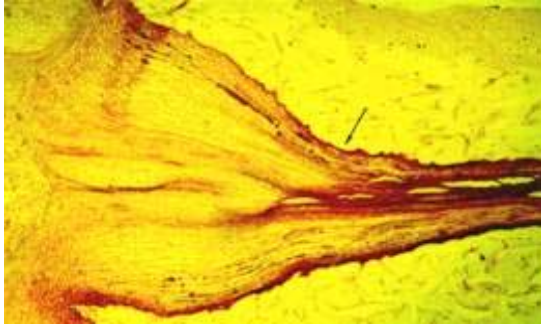


Abb. 17: Einschnürung des Blütenstiels (Pfeil). 'Topaz', 05.03.1996; Färbung: Perjodschiff's-Anilinblau-Eosin; 5x

Unterschiedliche Reaktionen der verschiedenen Apfelsorten auf die Blüteninfektion mit dem Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* Burrill Winslow *et al.*

Bezüglich der Infektionsgeschwindigkeit konnte festgestellt werden, daß bei der Sorte 'Rewena' die ersten Symptome mit deutlicher Verzögerung, im Gegensatz zu den anderen Sorten, auftraten. Auch das Fortschreiten der Infektion war langsamer als bei den anderen untersuchten Sorten. Am raschesten und am heftigsten wirkte sich die Infektion bei 'Topaz' aus. Diese Sorte wies eine drastische Kavernenbildung im Blütenboden und der Blütenröhre sowie im Blütenstiel auf. Kein Unterschied bezüglich der Geschwindigkeit der Infektionsausbreitung konnte bei den beiden Sorten 'Gloster' und 'Goldrush' festgestellt werden.

Die Apfelsorte 'Rewena' wies im Gegensatz zu den anderen Sorten, besonders zu 'Topaz', einen geringeren Verholungsgrad der Blüten auf. Auffallend bei 'Topaz' war, daß die ausgebildeten Kavernen im Blütenstiel größer erschienen als bei den anderen Sorten. Bei dieser Sorte traten die ausgebildeten Kavernen auch unter der Epidermis im Blütenkelch sehr stark auf, während bei den Sorten 'Gloster', 'Goldrush' und 'Rewena' die Kavernenbildung auf die Sepalen und die Blütenröhre (Hypanthium) beschränkt blieb. Bezüglich der Kalloseeinlagerung in den Kavernen wurde diese nur bei den beiden Sorten 'Gloster' und 'Topaz' gefunden. Bei Blüten die abgeworfen wurden, konnte bei 'Rewena' im Gegensatz zu

den anderen Sorten eine Schwarzfärbung der Stielbasis beobachtet werden. Auffallend bei der Sorte 'Goldrush' waren die Wucherungen im epidermalen Gewebe, die mit der fortschreitenden Infektion größer wurden.

Allgemeine Beobachtungen

Bei dem Befall durch den Erreger des Feuerbrandes ist hervorzuheben, daß bereits im äußerlich gesunden Gewebe Kavernen und Bakterien auftreten, wenngleich in einer scheinbar geringeren Anzahl als im offensichtlich kranken Gewebe. Die Bakterien sind in dem befallenen Pflanzengewebe wie eine Perlenkette aufgereiht (Abb. 18). Sie werden von einem Schleim umgeben (Abb. 19). Die Bakterien scheinen direkt in die Samen vorzudringen und diese aufzuzehren. Befallene Blütenteile weisen nach einiger Zeit einen hohen Verholungsgrad auf. Eine klare Trennlinie von gesundem und kranken Gewebe ist bei mikroskopischer Betrachtung nicht festzustellen.

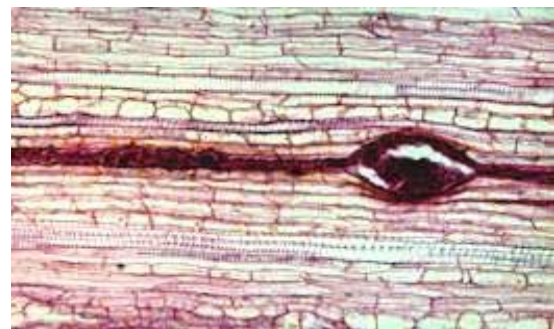


Abb. 18: Perlschnurartige Ausbreitung der Bakterien in den Gefäßelementen des Blütenstiels. 'Rewena', 12.03.1996; Färbung: Perjodschiff's-Haematoxylin, 40x

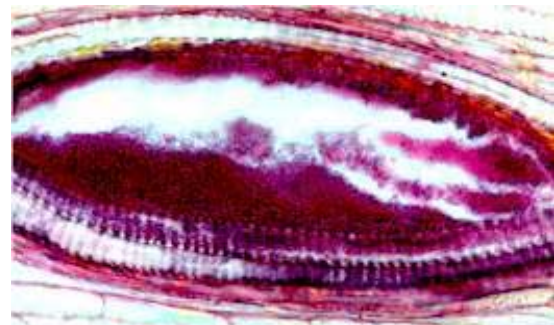


Abb. 19: Kaverne mit Bakterien Schleim in einem Gefäßelement des Blütenstiels. 'Topaz', 12.03.1996; Färbung: Perjodschiff's-Haematoxylin, 100xOel

Diskussion

Die Mechanismen, die die Resistenz, beziehungsweise die Toleranz gegen *Erwinia amylovora* Burill Winslow *et al.* (E.a.), verursachen, sind trotz intensiver Forschung noch relativ unbekannt (SEEMÜLLER 1975). Um die Mechanismen der Resistenz näher kennenzulernen und die Grundlagen für weitere Forschungsvorhaben zu legen, wurde dieser Versuch durchgeführt. Dafür wurde der Infektionsweg über die Blüte bis zur Symptomausprägung verfolgt. Veränderungen in der Pflanze wurden histologisch und histochemisch analysiert. Die Untersuchung fand bei den Apfelsorten 'Gloster', 'Goldrush', 'Rewena' und 'Topaz' statt.

Beeinflusst wird die Anfälligkeit der Kulturen bei natürlichen Infektionen von dem Baumalter (SHAW 1934), dem Ernährungszustand (PARKER *et al.* 1961; ALDWINCKLE und BEER 1976), von der Lage der Anlage und der Bodenart (FISHER *et al.* 1959). Trockener Boden und eine geringe Transpiration der Bäume verringern die Vermehrung von E.a. erheblich (SCHOUTEN 1991). Die Anfälligkeit einer Wirtspflanze des Feuerbranderreger ist des weiteren abhängig von der Zusammensetzung des Nektars und dem Alter der Äste (Van der ZWET und KEIL 1979). Einen großen Einfluß besitzt die Unterlage (KEIL und Van der ZWET 1972). Innerhalb der verschiedenen Apfelunterlagen soll M26 besonders anfällig gegenüber E.a. sein (BEER 1991). Die bei dem Versuch verwendete Unterlage M26 könnte somit der Grund dafür sein, daß ausnahmslos alle untersuchten Sorten eine mehr oder minder starke Symptomausprägung aufwiesen.

Eine weitere Ursache für die erfolgreichen Blüteninfektionen bei allen Sorten könnte die verwendete Bakteriendichte sein. Sie betrug 10^8 cfu/ml. Nach THOMSON (1985) reichen geringe Bakteriendichten von 10^5 bis 10^6 /Blüte aus, um über den Blütenboden eine Infektion auszulösen.

Bei den Birnenblüten geht die Infektion im allgemeinen über Nektarien und Stempel, während bei der Apfelblüte Narbe und

Staubbeutel zuerst befallen werden (WILSON *et al.* 1987; Van der ZWET und BEER 1995). Nach den Autoren sind dafür Unterschiede im Morphologischen Aufbau von Birnen- und Apfelblüten verantwortlich. Bei der Birne ist der Blütenboden offen, beim Apfel geschlossen (ROSEN 1929, 1933). THOMSON (1985) führt aus, daß im allgemeinen die Infektion beim Apfel über den Blütenboden stattfindet. Wie die Untersuchung aber zeigte, erfolgte bei 'Goldrush' und 'Rewena' die erste Infektion über die Spaltöffnungen unterhalb der Kelchblätter an der Blütenröhre. Im Gegensatz zu den Sorten 'Gloster' und 'Topaz', die über Narbe, Staubblätter und Spaltöffnungen des Blütenbodens infiziert wurden. Eine Abhängigkeit der Befallsstärke könnte daher auch zur Blütenmorphologie bestehen. Weitergehende Untersuchungen diesbezüglich, sind noch notwendig. In diesem Zusammenhang sei auch darauf hingewiesen, daß bei 'Topaz', das Auftreten der Bakterien im Pflanzengewebe und eine sofortige, heftige Reaktion, beziehungsweise Symptomausprägung, zumindest im Gewächshaus bei künstlicher Inokulation, scheinbar eng korreliert.

Über den Befallsverlauf in den verschiedenen Pflanzengeweben gibt es unterschiedliche Aussagen. ALDWINCKLE und PRZEWESKY (1976) fanden eine Abhängigkeit bezüglich der Länge der Streifen in den Gefäßelementen und den Läsionen im Rindbereich. Sie folgerten daraus, daß der Befall des Rindengewebes von den Leitbündeln aus stattfindet. HOCKENHULL (1979) allerdings stellte nach einer Blattinfektion von Weißdorn mit E.a. fest, daß der Erreger nur im primären Gefäßelement bei Blättern und Stielen vorkommt und nicht im daneben liegenden Gewebe. Die vorliegende Untersuchung weist darauf hin, daß die Ausbreitung des Erregers sowohl von den Leitbündeln ins Rindengewebe als auch von den Öffnungen in der Epidermis über das Rindengewebe in die Gefäßelemente erfolgen kann. Gestützt wird dies, von dem perlchnurartigen Bild, das die Bakterien in den Gefäßelementen und im Rindengewebe zeigen. Auch HOCKENHULL (1974) und WILSON *et al.* (1987) vermuten, daß die

Fäden, die bei infizierten Pflanzen äußerlich auftreten können, mit den langen inneren, vertikal orientierten Fäden im scheinbar gesunden Gewebe zusammenhängen. SHOUTEN (1991) weist darauf hin, daß die Bakterien vertikal und horizontal als interne Stränge wandern können.

Der Mechanismus, wie E.a. die Pflanzenzelle abtötet, ist nicht bekannt. Klar ist nur, daß die Zellmembranen zerstört werden, wofür wahrscheinlich ein Toxin, produziert durch das Bakterium verantwortlich sein dürfte (Van der ZWET und BEER 1995). GOODMAN *et al.* (1974) weisen auf die Bedeutung extrazellulär gebildeten Polysacchariden, bezüglich der Infektion durch E.a., hin. Auch die Ergebnisse der vorliegende Untersuchung geben darauf einen Hinweis. Eine Auskleidung der Kavernen mit Kallose, die sich unter anderem aus Polysacchariden zusammensetzt (KHO und BAER 1970), konnte nur bei den Sorten 'Gloster' und 'Topaz' festgestellt werden, die rasche und heftige Reaktionen nach der Infektion zeigten.

ADDY und GOODMAN (1974) stellten bei ihren Versuchen im Gewebe von Apfelblättern einen erhöhten Phenolgehalt nach einer künstlichen Infektion fest. Nach den Autoren ist die Symptomausprägung eng mit dem Auftreten von Phenolen verbunden. Dem widerspricht die verzögerte Reaktion der Sorte 'Rewena', obwohl auch bei dieser ein erhöhter Phenolgehalt festgestellt wurde. Ein höherer Phenolgehalt konnte in den infizierten Blüten gegenüber den nichtinfizierten Blüten festgestellt werden. Allerdings scheint die Befallsstärke davon nicht beeinflusst zu werden. Gerade bei der Sorte 'Topaz', die sehr rasch, starke Symptome aufwies, war der Phenolgehalt auffallend hoch. Der Grund könnte sein, daß weniger auf die absolute Mengen der Phenole als auf das Phenolmuster geachtet werden muß. Kenntnisse über eventuell auftretende Änderungen des Phenolmusters, nach einer Infektion, könnten neue Wege zur Bekämpfung von E.a. aufzeigen.

In saftigen, lockeren Parenchymgewebe erfolgt die Ausbreitung des Erregers rasch

(HOCKENHUL 1974). Saftiges Gewebe von Birne und Apfel ist sehr anfällig für Feuerbrand, im Gegensatz zu hartem, stärkerem Gewebe, in dem eine Infektion oft zum Stillstand kommt (Van der ZWET und KEIL 1979). Auch ZELLER (1983) stellte in Freilandversuchen beim Apfel fest, daß die Infektionen mit dem Erreger des Feuerbrandes zumeist vor dem älteren Holz zum Stillstand kommt. GRAF (1994), der beim Apfel, bei Birne und bei Quitte einen kräftigen Rückschnitt befallener Partien anrät und für ausreichend hält, beruft sich darauf, daß die Bakterien nicht weiter, als an den Symptomen sichtbar, vordringen. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse und denen von ROSEN (1935) und GOODMAN und WHITE (1981) sowie LACHAUD und PAULIN (1987) ist diese Annahme falsch. ROSEN (1935) fand das Bakterium in den Gefäßelementen von Sprossen der scheinbar gesunden Birnensorte 'Kieffer'. LACHAUD und PAULIN (1987) stellten eine fortschreitende Entwicklung des Bakteriums fest, ohne äußerliche Symptome zu erkennen. Bei Infektionsversuchen an den Kelchblättern von der Apfelsorte 'Jonathan' fanden GOODMAN und WHITE (1981) Kavernen in den Gefäßelementen und Plasmolysen des Grundgewebes, obwohl äußerlich noch keinen Symptome zu erkennen waren. Auch das Ergebnis dieser Untersuchung zeigt, daß das Bakterium bei den Apfelsorten 'Gloster' und 'Rewena' nach dem Absterben der Blüten bereits in den Fruchtspieß vorgedrungen ist. Van der ZWET und BEER (1995) vermuten das Bakterium sogar bereits im Tragast. Unterstützt wird diese Annahme durch die Untersuchungen von ROSEN (1929), KEIL und Van der ZWET (1972), BEER und OPGENROTH (1976) und Van der ZWET *et al.* (1988). Die Autoren führen aus, daß E.a. für eine lange Zeit im Gewebe von Apfel und Birne überlebt, ohne daß Krankheitssymptome an den Wirtspflanzen ausgebildet werden. Dementsprechend wäre in kommerziellen Obstanlagen ein starker Rückschnitt bei Befall zu überdenken und einer Rodung befallener Bäume den Vorrang zu geben. Ob dieser drastische Eingriff zu diesem Zeitpunkt allerdings noch eine Ausrottung oder Eindämmung zuläßt, ist fraglich, denn von

einem latentem Befall in nahezu allen Anlagen in denen Infektionen auftraten, kann nach dem heutigen Wissenstand ausgegangen werden. Beobachtungen, daß geringer wüchsige Bäume, durch E.a. weniger geschädigt werden lassen weitere Empfehlungen zu. Es empfiehlt sich zumindest für das Streuobst, nur im Winter zu schneiden, worauf auch HARTMANN (1996) verweist. Zu diesem Zeitpunkt besteht keine Gefahr eines Neuaustriebes und die Übertragung durch Schnittwerkzeuge und Vektoren ist gering. Der Schnitt sollte allerdings mäßig ausgeführt werden, um im Frühjahr kein allzu starkes vegetatives Wachstum zu erzeugen. In Erwerbsanlagen sollte dem Riß Vorrang gegenüber dem Schnitt gegeben werden. Durch einen Riß erfolgt die Wundheilung schneller und schlafende Beiaugen werden mit entfernt, die somit nicht mehr austreiben können. Eine Übertragung durch Schnittwerkzeuge ist auch ausgeschlossen.

Als Abwehrreaktion der Wirtspflanzen gegenüber dem Feuerbranderreger werden unterschiedliche Möglichkeiten genannt. ALDWINCKLE und PRECZEWSKY (1976) stellten bei resistenten Apfelsorten, nach einer Triebinfektion mit E.a., anders gefärbte Streifen in den Gefäßelementen als die typischen Läsionen, wie sie bei anfälligen Sorten auftreten, fest. Sortenunterschiede bezüglich der Ausfärbung der Gefäßelemente konnte bei dieser Untersuchung nicht festgestellt werden. Auch eine Trenngewebeausbildung, wie u.a. von HARTMANN (1996) bei Birnen beschrieben, wurde bei den vier Apfelsorten nicht gefunden.

GRAF (1994) führt aus, daß nicht allzu viel Hoffnung auf eine Resistenzzüchtung im Obstbau gesetzt werden sollte. Die bisherigen Untersuchungsergebnisse seien recht niederschmetternd, da die meisten Apfelsorten als feuerbrandempfindlich eingestuft werden müßten. Das Hauptproblem ist jedoch die Schwierigkeit, eine wirklich resistente Apfel- oder Birnensorte zu züchten, die außerdem noch wohlschmeckende, haltbare und somit konkurrenzfähige Früchte liefert. Nach SEEMÜLLER (1975) treten beim Apfel

deutliche Sortenunterschiede bezüglich der Anfälligkeit gegenüber dem Erreger des Feuerbrandes auf. Sie geht von weitgehend tolerant bis hoch anfällig. ZELLER (1996) verweist hinsichtlich dem 7. Internationalen ISHS-Meeting in St. Catharines/ Kanada auf die Ausführungen von Frau Prof. Dr. Fischer. Nach ihrer Aussage wird, unter anderen, die Apfelsorte 'Rewena' als feuerbrandresistent eingestuft. Nach EDEN-GREEN und BILLING (1974) existiert allerdings in kommerziellen Kulturen bei Apfel und Birne keine komplette Resistenz. Darüber berichtet auch ZELLER (1983), daß unter günstigen epidemiologischen Bedingungen auch scheinbar weniger anfällige Sorten stärker befallen werden. Dies traf höchstwahrscheinlich bei der vorliegenden Untersuchung zu. Bei keiner der überprüften Sorten konnte eine Toleranz, geschweige eine Resistenz festgestellt werden. Alle wiesen nach einem entsprechendem Inokulationszeitraum Symptome auf, die durch den Erreger des Feuerbrandes verursacht wurden. 'Rewena' zeigte allerdings, bezüglich der Symptomausprägung, als auch im Infektionsverlauf, deutliche Unterschiede zu den Sorten 'Gloster', 'Goldrush' und 'Topaz'. Bei ihr war die Inkubationszeit bis zur Symptomausprägung deutlich länger und die Heftigkeit der Blüensymptome geringer als bei den anderen Sorten. Der Apfelsorte 'Goldrush' wird von GROSBY *et al.* (1994) eine mittlere Anfälligkeit gegenüber E.a. einberaumt. Vergleicht man jedoch die Reaktion dieser Sorte mit der hochanfälligen Sorte 'Gloster' (ZELLER 1983), so konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Bei beiden Sorten traten die ersten Symptome bereits zwei Tage nach der Blüteninfektion auf und auch in der Stärke des Befalls stand die Sorte 'Goldrush' der Sorte 'Gloster' in nichts nach. FISCHER und SCHAEFER (1990) sprechen bei den Apfelsorten 'Pinova' und 'Pilot' sowie anderen resistenten Zuchtstämmen von einer deutliche Erhöhung des Resistenzgrades. Wie die Untersuchung aber zeigt, sollte man beim Feuerbrand von Toleranz und nicht von Resistenz sprechen. Dies sollte man zumindest solange tun, bis eindeutige Resistenzmechanismen gefunden werden.

Ausblick

Um weitere Einblicke in die Biologie des Feuerbranderregers *Erwinia amylovora* Burrill Winslow *et al.* zu erhalten sollten sich Untersuchungen hinsichtlich der Blütenmorphologie unterschiedlich anfälliger Obstsorten anschließen. Des weiteren wären Untersuchungen hinsichtlich eines Zusammenhangs zwischen Populationsdichte der Bakterien und Symptomausprägung erforderlich, um die Vorhersagen zur Bekämpfung zu optimieren. Stereologische Untersuchungen infizierter und nicht infizierter Zellen würden weitere Kenntnisse bezüglich des Infektionsverlaufs liefern. Schwerpunkte sollten dabei morphologische und histochemische Methoden bilden, unterstützt von analytischen Methoden. Untersucht werden sollte die Zellwanddicke, das Vorkommen von bestimmten Inhaltsstoffen, denen eine Bedeutung im Infektionsverlauf zukommen soll, wie zum Beispiel (L)2,5-Dihydrophenylalanin und die Phenolmuster von infiziertem und nicht infiziertem Gewebe.

Literatur

- Addy, S.K. und Goodman, R.N.:** Phenols in relation to pathogenesis induced by avirulent and virulent strains of *Erwinia amylovora*. Acta Phytologia Academiae Scientiarum Hungaricae **9**: 277-286, 1974
- Aldwinckle, H.S. und Beer, V.:** Nutrient status of apple blossoms and their susceptibility to fire blight. Ann. Appl. Biol. **82**: 159-163, 1976
- Aldwinckle, H.S. und Preczewsky, J.L.:** Reaction of terminal shoots of apple cultivars to invasion by *Erwinia amylovora*. Phytopathology **66**: 1439-1444, 1976
- Baker, C.J.; Orlandi, E.W. und Mock, N.M.:** Harpin, an elicitor of the hypersensitive response in tobacco caused by *Erwinia amylovora*, elicits active oxygen production in suspension cells. Plant Physiol. **102**: 1341-1344, 1993
- Baum, L.H.:** Bericht über das dritte internationale Feuerbrandtreffen in Bordeaux vom 12. bis 16. September 1983. Mitteilungen des OVR **39**: 13-17, 1984
- Beer, S.V.:** Diseases caused by Bacteria. Jones, A.L. und Aldwinckle, H.S. (eds.); Compendium of Apple and Pear Disease: 61-63, 1991
- Beer, S.V. und Opgenorth, D.C.:** *Erwinia amylovora* in fire blight canker surface and blossoms in relation to disease occurrence. Phytopathology **66**: 317-322, 1976
- Böck, P.:** Der Semidünnschnitt. J.F. Bergmann Verlag: 1984
- Böck, P.:** Romeis. Mikroskopische Technik. 17. Auflage. Urban und Schwarzenberg Verlag, 1988
- Crosby, J.A.; Janick, J.; Pecknold, P.C.; Goffreda, J.C.; Korban, S.S.:** 'Goldrush' apple. HortScience. **29**: 827-828, 1994
- Eden-Green, S.J. und Billing, E.:** Fireblight. Rev. Plant Path. **53**: 353-365, 1974
- Fischer, C. und Schaefer, H.J.:** Vergleichende Untersuchungen der Resistenz von Apfelsorten gegenüber Feuerbrand im Gewächshaus und im Freiland. Gartenbau **7**: 299-300, 1990
- Fisher, E.G.; Parker, K.G.; Luepschen, N.S. und Kwong, S.S.:** The influence of phosphorus, potassium, mulch, and soil drainage on fruit size, yield, and firmness of the 'Bartlett' pear and on the development of the fire blight disease. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci. **73**: 78-90, 1959
- Gerlach, D.:** Botanische Mikrotechnik. 4. Auflage; Georg Thieme Verlag: 1984
- Goodman, R.N.; Huang, J.S. und Huang, Pi-Yu.:** Host-specific phytotoxic polysaccharide from apple tissue infected by *Erwinia amylovora*. Science **183**: 1081-1082, 1974
- Goodman, R.N. und White, J.A.:** Xylem parenchyma plasmolysis and vessel wall disorientation caused by *Erwinia amylovora*. Phytopathology **71**: 844-852, 1981
- Graf, H.:** Praktische Erfahrungen in der Bekämpfung des Feuerbrandes aus dem Alten Land. Köhler, K. (Hrsg.); Oppenheimer Gartenbaureihe **12**: 124-131, 1994
- Graumann, W.:** Zur Standardisierung des Schiffschens Reagenz. Z. wiss. Mikr. **61**: 225-226, 1953
- Hartmann, W.:** Feuerbrandsituation im Streuobstanbau. Obst und Garten **115**: 170-173, 1996

- Hermanns, W. and Schulz, L.C.:** Enzyme histochemical demonstration of certain cell populations in synovium using plastic-embedded whole rat joints. In: Decker, H. and Schulz, L.C. (eds.); *Arthritis, Models and Mechanisms*; Springer Verlag: pp. 137-143, 1981
- Hockenhull, J.:** Some anatomical and pathological features of healthy and diseased hawthorn (*Crataegus monogyna*) naturally infected by fireblight pathogen *Erwinia amylovora*. Kgl. Vet. Landbohøsk. Arsskr.: 125-136, 1974
- Hockenhull, J.:** In situ detection of *Erwinia amylovora* antigen in symptomless petiole and stem tissue by means of the fluorescent antibody technique. Kgl. Vet. Landbohøsk. Arsskr.: 1-14, 1979
- Karnovsky, M.J.:** A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journ. Cell Biol.* **27**: 137A-138A, 1965
- Keil, H.L. und Van der Zwet, T.:** Recovery of *Erwinia amylovora* from symptomless stems and shoots of 'Jonathan' apple and 'Bartlett' pear trees. *Phytopathology* **62**: 39-42, 1972
- Kho, Y.O. und Baer, J.:** Die Fluoreszenzmikroskopie in der botanischen Forschung. *ZEISS Inf.* **18**: 54-57, 1970
- Koch, E.:** Wirkungsweise und Anwendungsmöglichkeiten mikrobieller Antagonisten von Pflanzenkrankheiten. *Gesunde Pflanzen* **48**: 11-19, 1996
- Lachaud, G. und Paulin, J.P.:** Infrared photography and video technique for visualization of fire blight internal lesions. *Acta Horticulturae* **217**: 87-91, 1987
- Parker, K.G.; Luepschen, N.S. and Fischer E.G.:** Tree nutrition and fire blight development. *Phytopathology* **51**: 557-560, 1961
- Rosen, H.R.:** The life history of the fire blight pathogen, *Bacillus amylovora*, as related to the means of overwintering and dissemination. *Arkansas Agricultural Experiment Station Bulletin* **244**: 1929 [zitiert nach Van der Zwet und Beer 1995]
- Rosen, H.R.:** Further studies on overwintering and dissemination of the fire blight pathogen. *Arkansas Agricultural Experiment Station Bulletin* **283**: 1933 [zitiert nach Van der Zwet und Beer 1995]
- Rosen, H.R.:** The mode of penetration of pear and apple blossoms by the fire blight pathogen. *Science* **81**: 26, 1935
- Ruddell, C.L.:** Hydroxyethyl methacrylate combined with polyethylene glycol 400 and water; an embedding medium for routine 1-2 micron sectioning. *Stain Technol.* **42**: 119-123, 1967a
- Ruddell, C.L.:** Embedding media for 1-2 micron sectioning. 2-hydroxyethylmethacrylate combined with 2-butoxyethanol. *Stain Technol.* **42**: 253-255, 1967b
- Russow** 1883 (zitiert nach Schneider und Zimmermann 1922)
- Schneider, H. und Zimmermann, A.:** Die Botanische Mikrotechnik. Ein Handbuch der mikroskopischen Arbeitsverfahren. 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1922
- Schouten, H.J.:** Simulation of pressure caused by multiplication and swelling of *Erwinia amylovora* in intercellular space of host tissue. *Neth. J. Pl. Path.* **97**: 139-141, 1991
- Seemüller, E.A.:** Der Feuerbrand - eine Gefahr für den Kernobstbau. *Erwerbsobstbau* **17**: 19-22, 1975
- Seemüller, E.A. und Beer, S.V.:** Absence of cell wall polysaccharide degradation of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* **66**: 433-436, 1976
- Shaw, L.:** Studies on resistance of apple and other rosaceous plants to fire blight. *Journ. Agric. Res.* **49**: 283-313, 1934
- Thomson, S.V.:** The role of the stigma in fire blight infections. *Phytopathology* **76**: 476-482, 1985
- Trump et al.** 1961 (zitiert nach Böck 1988)
- Van der Zwet, T.:** Evaluation of inoculation techniques for determination of fire blight resistance in pear seedlings. *Plant Dis. Rep.* **54**: 96-100, 1970
- Van der Zwet, T. und Keil, H.L.:** Fire blight. A bacterial disease of rosaceous plants. U.S. Department of Agriculture, *Agriculture handbook* No **510**: 200pp, 1979

Van der Zwet, T.; Zoller, B.G. und Thomson, S.V.: Controlling fire blight of pear and apple by accurate prediction of the blossom blight phase. *Plant Disease* **72**: 464-472, 1988

Van der Zwet, T. und Beer, S.V.: Fire blight - It's nature, Prevention, and Control. A practical Guide to Integrated Disease Management. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Information Bulletins No **631**: 97pp, 1995

Wilson, M.; Epton, H.A.S. und Sigee, D.C.: Ultrastructural studies on fire blight of hawthorn flowers. *Acta Horticulturae* **217**: 189-194, 1987

Zeller, W.: Feuerbrand. Bericht vom 7. Internationalen ISHS-Meeting in St. Catharines/Kanada. *Obstbau* **21**: 60-62, 1996

Zeller, W.: Resistenzprüfung von Apfel- und Birnensorten gegen den Feuerbrand (*Erwinia amylovora*) in Schleswig-Holstein. *Obstbau* **8**: 266-268, 1983