

Laborstudie zur Entwicklung des Feuerbrands in Blüten

Den Feuerbrand besser zu verstehen ist eine Sache der kleinen Schritte. Ein solcher kleiner Schritt ist es, mehr über die Phase kurz vor der Infektion der Blüten zu wissen. Die Blüte ist eine eigene Welt, in der auf engem Raum verschiedenste Bedingungen herrschen. Die Krankheit wird also anders verlaufen, je nachdem, wo genau auf der Blüte die Feuerbrandbakterien *Erwinia amylovora* ([Burrill] Winslow et al.) auftreten. Das ist wichtig bei der Prognose, bei der Prüfung von Bekämpfungsmittel und bei der Bekämpfung selber.

LEONHARD MAMMING UND THOMAS HASLER,
EIDGENÖSSISCHE FORSCHUNGSANSTALT WÄDENSWIL
JÜRIG BOOS, HOCHSCHULE WÄDENSWIL

Widersprüchliche Ergebnisse in der Mittelprüfung, unterschiedliche Erfahrungen mit verschiedenen Prognosemodellen, Unsicherheiten in der Anwendung vorhandener Bekämpfungsmittel – die drei Probleme könnten einen gemeinsamen Nenner haben: dass jede einzelne Blüteninfektion anders abläuft als die anderen. Das Ergebnis sind immer «verbrannte» Blüten, aber der Weg dorthin ist nicht immer der gleiche.

Feuerbrand versprühen

Um die Vorgänge innerhalb der einzelnen Blüte zu klären, wurde in einer Diplomarbeit der Hochschule Wädenswil (Mamming 2000) die «Populationsdynamik» des Feuerbrands untersucht: Wann, wie schnell und auf welchen Blütenteilen installieren sich die Bakterien?

In je drei Wiederholungen wurden Birnen- und Apfelfreier (Conférence und Golden Del.) im Labor zum

Blühen gebracht. Diese Blüten wurden anschliessend mit Feuerbrandbakterien besprüht. Dabei wurde mit der Anzahl von 100 Millionen Bakterien pro Milliliter gearbeitet; das ist eine gebräuchliche Konzentration bei Mittelprüfungen. Zu sechs verschiedenen Zeitpunkten (2, 6, 24, 48, 72 und 96 Stunden nach dem Besprühen) wurden die Blüten in ihre Einzelteile zerlegt. Die verschiedenen Blütenorgane (Abb. 1) von je fünf Blüten bildeten eine Mischprobe. Für jedes Organ und jeden Zeitpunkt wurde die Anzahl der Bakterien bestimmt.

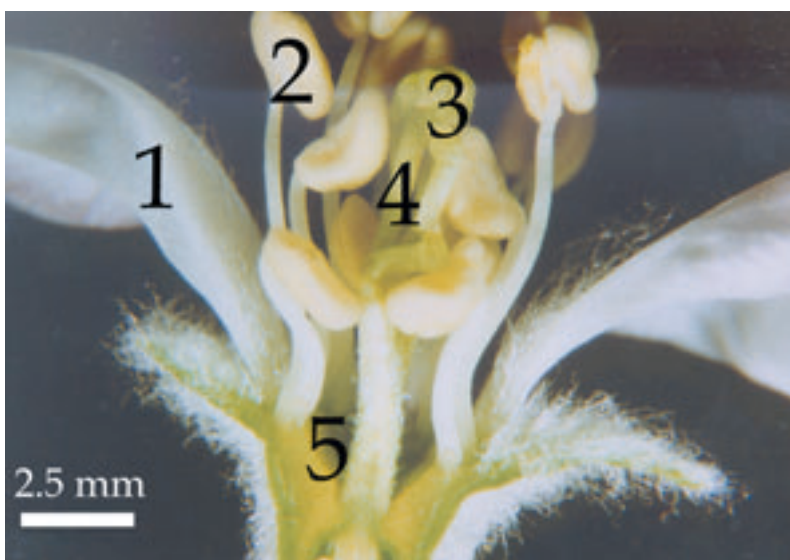
Daraus ergibt sich also ein Bild, wann und wo wie viele Bakterien vorhanden sind, wenn man Blüten mit *Erwinia amylovora* besprüht.

Wo fühlen sich die Bakterien wohl?

Stellvertretend ist auf den Bildern der Abbildung 2 und in der Graphik der Abbildung 3 das Ergebnis einer Wiederholung bei Conférence zu sehen. Die im folgenden genannten Zahlen beziehen sich auf den Durchschnitt von drei Wiederholungen bei Conférence.

Gleich nach dem Besprühen weist jeder Blütenteil so viele Bakterien auf, wie er mit seiner Oberfläche aufgefangen hat: die grossen Blütenblätter tragen mehr als die kleinen Griffel. Nach sechs Stunden sind alle Populationen kleiner geworden. Das bedeutet, dass ein Teil der Bakterien die Bedingungen in der neuen Umgebung nicht überlebt hat. Aber diejenigen Bakterien, die die Umstellung überlebt haben, beginnen innerhalb der ersten 24 Stunden mit der grossen Vermehrung: auf den Narben zum Beispiel innerhalb von 18 Stunden von 350 Organismen auf 1,5 Millionen. Auf den anderen Organen setzt die Vermehrung zwar später ein, aber spätestens nach 72 Stunden haben die Populationen überall die Millionengrenze überschritten. Nach 96 Stunden tragen zum Beispiel die Blütenböden 12, die Staubbeutel 22 und die Narben 28 Millionen Feuerbrandbakterien. Nur auf den Blütenblättern bleiben sie mehr oder weniger immer auf dem gleichen Niveau. Gemäss Freilandbeobachtungen aus den USA ist ab 10 Millionen Bakterien pro Blüte eine Infektion sehr wahrscheinlich (Norelli et al. und Beer 1975).

Abb. 1: Die Organe einer Apfelblüte (Golden). 1 = Blütenblätter (Petalen); 2 = Staubblätter (Antheren und Filamente); 3 = Narben (Stigmata); 4 = Griffel (Styli); 5 = Blütenboden (Hypanthium).



Theorien und Modelle

Das starke Wachstum auf den Narben und die am Ende erreichten hohen Populationsdichten sind nichts grundsätzlich Neues. Thomson (1986) stellte nach Laborversuchen und Feldbeobachtungen die Theorie auf, dass die Bakterien mit den Insekten als Vektor kommend auf die Narben der Blüten treffen, dort ein gutes Milieu vorfinden und sich stark vermehren. Auf der Narbe soll schliesslich auch der Pollen keimen können, deshalb herrschen dort gute Wachstumsbedingungen. Bei Regen oder Tau werden die Bakterien dann von der Narbe in den Blütenboden geschwemmt. Dort erst können sie durch die grossen Öffnungen der Nektardrüsen in das Innere der Pflanze eindringen. Dies ist die heute allgemein anerkannte Theorie zu Blüteninfektionen; sie liegt auch dem Prognosemodell Maryblyt zugrunde.

Mit dieser Untersuchung der Populationsdynamik kann jetzt gezeigt werden, dass die Bakterien auch auf den anderen Blütenorganen «selbstständig» hohe Populationsdichten erreichen können, auch wenn das stärkste Wachstum auf den Narben stattfindet. Ein Transport innerhalb der Blüte dürfte im Labor nicht stattgefunden haben. Schliesslich gab es dort ja keine Regenspritzer, die die Bakterien von der Narbe auf die Pollensäcke hätten übertragen können, und kei-

nen Tau, der die Bakterien in den Blütenboden geschwemmt hätte. Die Frage ist jetzt also,

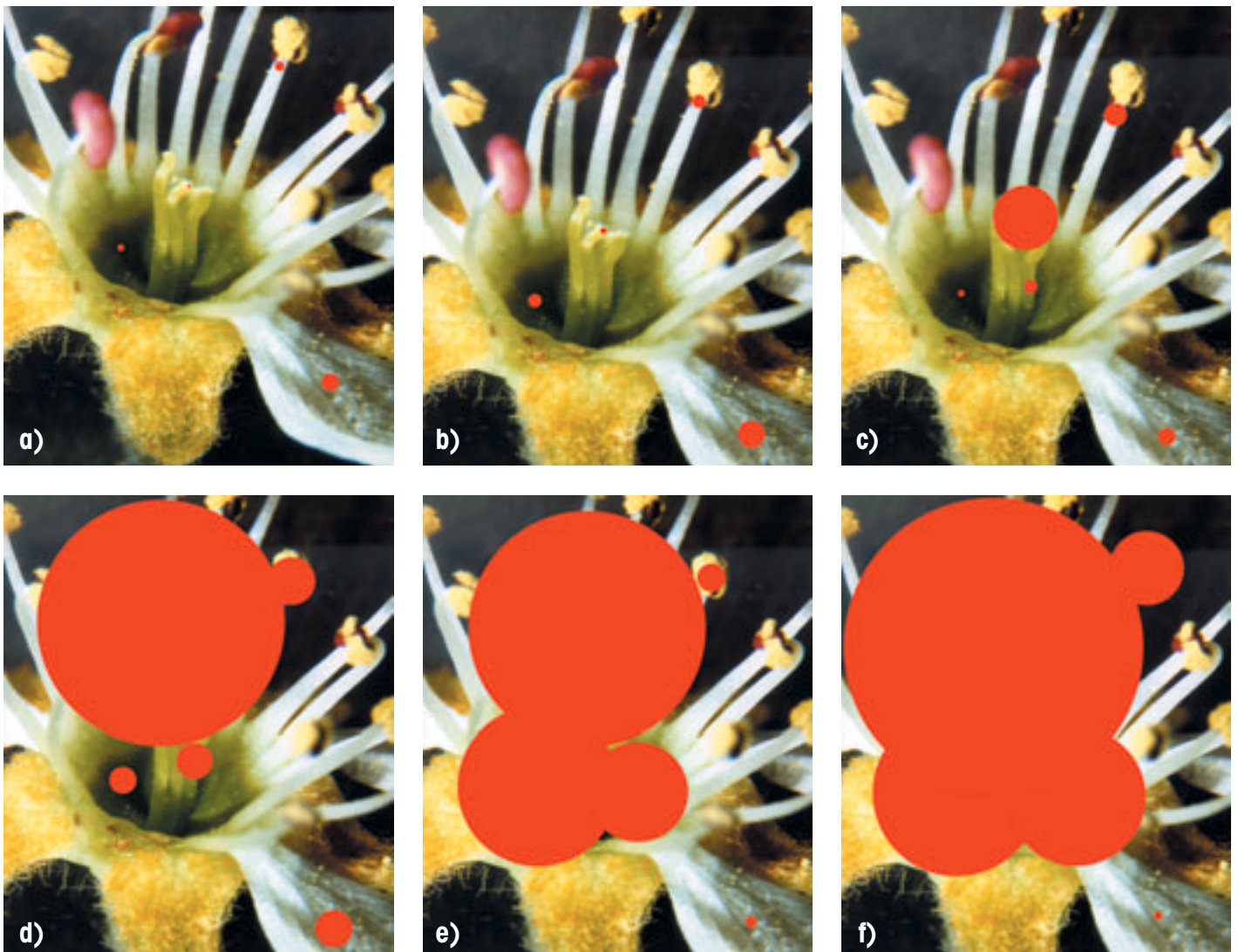
- ob die Feuerbrandbakterien unter natürlichen Bedingungen zuerst fast ausschliesslich auf die Narben treffen und nur dort eine Massenvermehrung stattfindet (wie es das Maryblyt-Programm voraussetzt) oder
- ob, wie bei der Besprühung, alle Blütenteile (Narben, Pollensäcke, Blütenboden) mit Bakterien in Kontakt kommen und sich die Bakterien auf der ganzen Blüte vermehren.

Übertragung auf einzelne Organe

Von den Blüten besuchenden Insekten weiss man Folgendes:

- Pollen sammelnde Bienen berühren hauptsächlich Pollensäcke und Narben (Ohe 1988). Sie bringen die Bakterien oder mit Bakterien verseuchten Pollen auf die Narben.
- Nektar sammelnde Bienen stehen auf den Blütenblättern und berühren mit ihren Mundwerkzeugen den Blütenboden, ausserdem streift ihr Rücken gelegentlich die Pollensäcke (Liebig 1989). Sie übertragen allfällige Bakterien wahrscheinlich auf fast alle Blütenorgane.

Abb. 2 (a–f): Verlauf der Populationen von *Erwinia amylovora* auf fünf Organen von Conferenceblüten zu sechs Zeitpunkten nach Inokulation mit 10^8 cfu/ml. Die Populationsgrösse in colony forming units ist als Kugelvolumen dargestellt ($\text{cfu} = V = 1,33 \times r^3 \times \pi$; r in Pixel $\times 4$).



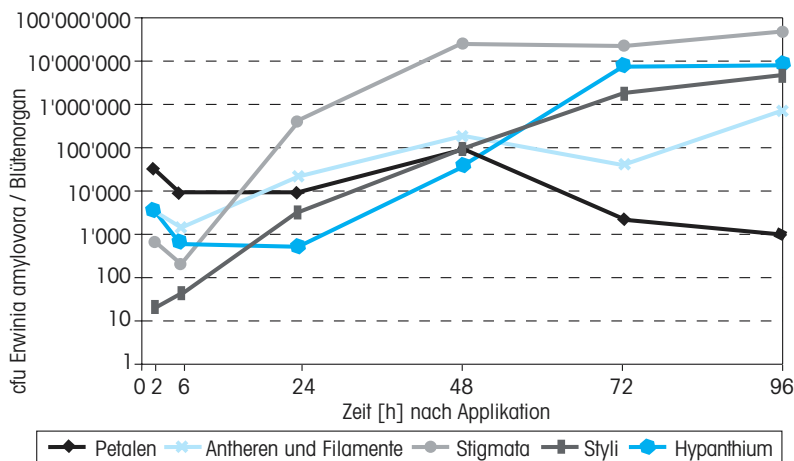


Abb. 3: Halblogarithmische Darstellung des Verlaufes der Populationen von *Erwinia amylovora* in cfu auf fünf Organen von Conférenceblüten zu sechs Zeitpunkten nach Inokulation mit 10^8 cfu/ml.

- Andere Insekten (Hummeln, Wildbienen, Fliegen), die je nach Anlage 1 bis 5% der Blütenbesucher ausmachen, gehen weniger gezielt an die Blüten heran und berühren meistens alle Organe (Ohe 1988). Ihr Einfluss ist unberechenbar.

Durch Insektenbesuche gelangen also die Bakterien auf alle Organe. Zusätzlich werden die Bakterien durch Regentropfen innerhalb des Baums von oben nach unten verfrachtet. Dieser Vorgang ist zwar weniger wichtig als die Übertragung durch Insekten (Thomson et al. 1999), für einen gewissen Teil der Infektionen ist er aber doch verantwortlich. Letztlich wird bei der Besprühung mit Feuerbrand dieser Vorgang nachgestellt.

Zusammengefasst heisst das: Aus Arbeiten über die Blütenbesucher ist zu vermuten, dass die Bakterien im Freiland auf allen Blütenteilen auftreten, und die eigenen Versuche haben gezeigt, dass sie sich auch auf allen Blütenteilen stark vermehren können.

Was heisst das konkret für:

- den Einsatz von Antagonisten:
Diese «Gegenspieler»-Bakterien besetzen meistens

innerhalb der Blüte eine bestimmte Nische und halten so die Population von *Erwinia amylovora* klein. *Erwinia herbicola* zum Beispiel besetzt die Narben (Hattingsh et al. 1986) – das heisst, dass es Infektionen direkt in den Blütenboden nicht verhindern kann. Ähnliches gilt wohl auch für andere Antagonisten. Das bedeutet erstens, dass verschiedenen Antagonisten-Strategien zusammengelegt werden müssen, um in allen Situationen einen genügend hohen Wirkungsgrad zu erreichen.

- die Prognose:
Das Modell «Bei hohen Temperaturen Narbenvermehrung – bei Regenereignis Wassertransport in den Blütenboden – Infektion» stimmt wahrscheinlich zum grossen Teil, aber nicht für alle Infektionen. Wenn die Umgebungsluft feucht genug und der Nektar flüssig ist, findet auch direkt im Blütenboden eine grosse Vermehrung statt, die zur Infektion führt. Es ist allerdings eine andere Frage, ob das im Freiland so oft der Fall ist, dass das Modell angepasst werden muss.
- die Mittelprüfung:
Gemäss bisherigen Erfahrungen können gesicherte Ergebnisse nur dort erwarten werden, wo die Startbedingungen bei allen geprüften Varianten etwa gleich sind. Das erreicht man zum Beispiel mit der künstlichen Infektion von Blüten im Labor oder im Gewächshaus. Aber auf der Ebene der einzelnen Blüte muss der natürlichen Vielfalt der Infektionsmöglichkeiten Rechnung getragen werden. Das heisst wieder, dass man am besten Insekten zur Hilfe nimmt (Johnson et al. 1993). Es können zum Beispiel einige Blüten im Bestand künstlich infiziert werden und der grosse Rest dann mit Insektenübertragung. Die Bienen und Hummeln können nach getaner Arbeit eliminiert werden.

Literatur

- Hattingsh M. J., Beer S. V. und Lawson E. W.: Scanning electron microscopy of apple blossoms colonized by *Erwinia amylovora* and *E. herbicola*. *Phytopathology* 76: 900-904, 1986.
- Johnson K. B., Stockwell V. O., Burgett D. M., Sugar D. und Loper J. E.: Dispersal of *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas fluorescens* by honey bees from hives to apple and pear blossoms. *Phytopathology* 83: 478-484, 1993.
- Liebig G.: Bestäubungswichtige Eigenschaften der Bienen. *Obst und Garten* 108: 216-220, 1989.
- Mammig L.: Populationsdynamik von Feuerbrand (*Erwinia amylovora* [Burk.] Winslow et al.) auf verschiedenen Blütenteilen von Kernobst und Pflanzenteilen von Zierpflanzen. Diplomarbeit Hochschule Wädenswil, 2000.
- Norelli J. L. und Beer S. V.: Factors affecting the development of fire blight blossom infections. *Acta Horticulturae* 151: 37-39, 1984.
- Ohe W.: Biene und Obstbau: Biologische Aspekte der Befruchtung. *Mitteilungen des Obstbauversuchsrings des Alten Landes* 43: 107-113, 1988.
- Thomson S. V.: The role of stigma in fire blight infection. *Phytopathology* 76: 476 - 482, 1986.
- Thomson S. V., Wagner A. C. und Gouk S. C.: Rapid colonization of apple flowers and the role of insects and rain. *Acta Horticulturae* 489: 459-464, 1999.

RÉSUMÉ

Etude de laboratoire sur le développement du feu bactérien du pommier et du poirier

Afin de mieux comprendre ce qui se passe à l'intérieur de la fleur juste avant l'infection par le feu bactérien (*Erwinia amylovora*), des fleurs de pommier et de poirier ont été aspergées de 10^8 unités/ml formant des colonies dans le cadre d'un travail de diplôme de la Haute école spécialisée de Wädenswil. Les populations de *E. amylovora* ont ensuite été mesurées à six moments différents sur différentes parties de la fleur (pétales, anthères et filaments, stigmates, styles et hypanthium).

La plus forte croissance fut enregistrée sur le stigmate, mais dans les réceptacles et sur les sacs polliniques, les populations atteignirent également des densités suffisantes pour provoquer une infection.

Le fait que les bactéries du feu bactérien puissent proliférer partout a un impact direct sur:

- l'utilisation d'antagonistes: tous les organes de la fleur doivent être protégés.
- le pronostic de la maladie: des populations dangereuses peuvent se développer y compris dans le réceptacle lui-même.
- l'étude de nouveaux produits de lutte: toutes les formes de colonisation possibles de la fleur doivent être prises en compte.