

Phytoplasmen - Allgemeine Informationen

Zusammengestellt von **Dr. Wolfgang Schweigkofler**
Land- und Forstwirtschaftliches Versuchszentrum Laimburg
www.laimburg.it



Was sind Phytoplasmen ? Phytoplasmen sind pflanzenpathogene Bakterien, welche keine Zellwand besitzen und nur in lebendem Wirtsgewebe wachsen. Phytoplasmen bestehen aus meist rundlichen, manchmal unregelmäßig geformten Zellen, die einen Durchmesser von ca. 0.2-0.5 μm aufweisen und damit wesentlich kleiner sind als typische Bakterienzellen (ca. 1.0-2.0 μm). Im Unterschied zu Viren besitzen Phytoplasmen einen eigenen Stoffwechsel, dieser ist allerdings so stark reduziert, dass zahlreiche lebensnotwendigen Bio-Moleküle aus den Wirtszellen importiert werden müssen (obligat biotrophe Lebensweise). Aufgrund ihrer Ähnlichkeit zu den humanpathogenen Mycoplasmen wurden Phytoplasmen lange Zeit als „Mycoplasma-like Organisms“ (MLO) bezeichnet, bevor ihr jetziger Name 1994 eingeführt wurde. Phytoplasmen sind unbeweglich und werden über Insektenvektoren verbreitet.

Was unterscheidet Phytoplasmen von „typischen“ Bakterien ? Phytoplasmen sind kleiner als die meisten anderen Bakterien. Aufgrund der starken Anpassung an ihre pflanzlichen und tierischen Wirte sind Phytoplasmen im Unterschied zu zahlreichen anderen Bakterien (z.B. dem „Feuerbrandbakterium“ *Erwinia amylovora*) nicht auf künstlichem Nährböden kultivierbar. Durch das Fehlen der Zellwand zeigen Phytoplasmen eine Gram-negativ-Färbung. Genetisch und biochemisch unterscheiden sich Phytoplasmen stark von anderen Bakteriengruppen.

Was sind typische Symptome bei Phytoplasmen-Befall ? Diese sind abhängig von der Wirtspflanze; häufig beobachtet werden Blattvergilbung oder auch rötlich-violette Blattverfärbungen, Wuchsstauchung mit verkürzten Internodien („Hexenbesen“), Rosettenbildung der Blätter, vergrößerte Nebenblätter, Kleinfrüchtigkeit und vorzeitiger Fruchtfall. In bestimmten Fällen (z.B. Ulmenvergilbung) kann es zum Absterben der Wirtspflanze kommen; die „Verfrühung“ bei Apfelbäumen, d.h. der vorgezogene Austrieb an Holz und Fruchtansatz, ist ein unsicheres Merkmal.

Welche Pflanzen werden von Phytoplasmen befallen ? Mehr als 700 Pflanzenkrankheiten werden von Phytoplasmen verursacht, wobei die geographische Verbreitung von den warmen gemäßigten bis zu den tropischen Zonen reicht. Phytoplasmen befallen verholzte und krautige Pflanzen, hauptsächlich aus der Gruppe der zweikeimblättrige Pflanzen (Dikotyledonen), aber auch manche einkeimblättrige Pflanzen (Monokotyledonen), z.B. Kokospalmen. Phytoplasmen spielen keine wesentliche Rolle als Krankheitserreger bei Nadelbäumen, kommen aber häufig in Laubbäumen vor (z.B. Ulme, Eiche, Weide, Pappel, Robinie, Erle). Wirtschaftlich bedeutend in Mitteleuropa sind in erster Linie der Befall von Stein- und Kernobst (Apfel, Birne, Pfirsich, Aprikose, Kirsche) sowie der Weinrebe. Infizierte krautige Pflanzen stellen zwar häufig keinen wirtschaftlichen Schaden dar, können aber als Phytoplasmen-Reservoir dienen und daher für die Ausbreitung von Krankheiten eine wichtige Rolle spielen.

Welche Rolle spielen Insekten bei der Verbreitung von Phytoplasmen ? Phytoplasmen sind unbeweglich und werden hauptsächlich von Zikaden und Blattsaugern mit saugend-stechenden Mundwerkzeugen verbreitet (Ordnung: Hemiptera, Familien: Jassidae, Cixiidae und Psyllidae). Sowohl Adulte als auch Larvenstadien (Nymphen) können Phytoplasmen übertragen. Der Grad an Wirtsspezifität ist unterschiedlich ausgeprägt. Manche Vektoren sind polyphag und befallen eine ganze Reihe unterschiedlicher Wirtspflanzen, z.B. *Hyalesthes obsoletus* die Weinrebe (> Schwarzholz) sowie die Ackerwinde (*Convolvulus arvensis*), Brennessel (*Urtica dioica*) und mehrere andere Pflanzen; andere Vektoren saugen nur an einer Pflanze, z.B. *Scaphoideus titanus*, der Überträger der Flavescence dorée der Weinrebe. Generell kann man zwischen Wirtspflanzen unterscheiden, an welchen Insektenvektoren den gesamten Lebenszyklus durchführen können (d.h. sowohl Adulte als auch Larven ernähren sich von dieser Pflanze), Wirtspflanzen, welche regelmäßig von Adulten besucht werden (ohne Larvenfrass) und

Wirtspflanzen, die nur vereinzelt von Adulten besucht werden. Der Vektor kann die Phytoplasmen nicht unmittelbar nach dem Frass an infizierten Pflanzen weitergeben, sondern erst nach einer bestimmten Inkubationsperiode, deren Länge u.a. von der Temperatur abhängt. Während der Inkubationsperiode kommt es zu einer Vermehrung und Verbreitung der Phytoplasmen im Insekt. Eine vertikale Infektion bei Insekten tritt nicht auf, d.h. die Phytoplasmen werden nicht über Eier von einer Generation auf die nächste übertragen. Phytoplasmen werden z.T. auch in Insektengruppen nachgewiesen, welche höchstwahrscheinlich nicht als Vektoren fungieren. Vermutlich werden in diesen Insekten nicht genügend Phytoplasmen gebildet, oder die Übertragung auf Pflanzen ist aufgrund anders geformter Mundwerkzeuge nicht effizient.

Welche Insektenorgane werden von Phytoplasmen besiedelt ? Nach der Aufnahme des Phytoplasmas durch das Insekt vermehren sich die Mikroorganismen zuerst in den Darmzellen des Wirtes, gelangen dann in die Haemolymphe und von dort zu inneren Organen, wie dem Gehirn und der Speicheldrüse. Wenn eine bestimmte Konzentration von Phytoplasmen in der Speicheldrüse erreicht wird, können sie auf eine Pflanze übertragen werden. Die Insekten selbst werden in den meisten Fällen nicht von den Phytoplasmen geschädigt.

Wie erfolgt die Infektion der Wirtspflanze ? Normalerweise durch den Anstich eines infizierten Insekts, das eine genügend hohe Anzahl von Phytoplasmen in der Speicheldrüse aufweist. Bei Kulturpflanzen kann eine Übertragung auch durch Pfropfung erfolgen.

Welche Pflanzenteile werden von Phytoplasmen besiedelt ? Hauptsächlich Siebröhren des Leitgefäßsystems (Phloem). Aufgrund des Verhaltens der Vektoren werden häufig Blätter (durch Adulte) oder Wurzeln (durch Larvenstadien) infiziert. Die Verteilung der Phytoplasmen im Wirtsgewebe ist noch weitgehend unbekannt, saisonale Änderungen der Gewebsspezifität könnten eine Rolle spielen.

Wodurch werden die Krankheitssymptome ausgelöst ? Einzelheiten zur Pathologie bei Phytoplasmen-Befall sind noch weitgehend unbekannt. Es wird vermutet, daß Phytoplasmen den Hormonhaushalt der Wirtspflanzen verändern, und es dadurch zu Wuchsveränderungen kommt. Allerdings wurde diese Hypothese noch nicht im Versuch bewiesen. Phytoplasmen produzieren bestimmte Proteine (z.B. Glucanasen und Haemolysin-ähnliche Proteine), welche als Virulenzfaktoren fungieren könnten. Ausserdem nehmen Phytoplasmen zahlreiche Stoffwechselprodukte aus der Wirtszelle auf, was zu einer Änderung des physiologischen Gleichgewichtes der Pflanze führen könnte.

Überleben Phytoplasmen im Boden ? Phytoplasmen werden in bestimmten bodenbürtigen Insektenstadien und lebenden Pflanzenwurzeln gefunden. In reinen Böden und abgestorbenem Pflanzenmaterial dürften Phytoplasmen nicht überlebensfähig sein.

Wie erfolgt der Nachweis der Phytoplasmen ? Ein direkter Nachweis ist schwierig, da Phytoplasmen aufgrund ihrer geringen Größe nicht im normalen Durchlicht-Mikroskop sichtbar sind, sondern nur im Elektronenmikroskop. Es gibt zwei Möglichkeiten, Phytoplasmen in befallenem Gewebe anzufärben: 1) DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole) bindet an die DNA von Bakterien; 2) Dienes-Reagenz metabolisiert Phytoplasmen und erzeugt eine blaue Färbung. Allerdings sind beide Färbemethoden relativ unspezifisch und reagieren auch mit bestimmten anderen Substanzen.

Spezifische Nachweismethoden wurden für einige wirtschaftlich wichtige Phytoplasmen entwickelt. Monoklonale oder polyklonale Antikörper binden an bestimmte Oberflächenstrukturen der Phytoplasmen und werden mittels „ELISA-Tests“ verwendet. Sensitiver und selektiver sind Nachweise von bestimmten, art-spezifischen DNA-Abschnitten mit der PCR-Technik („Polymerase-chain-reaction“). Quantitative Nachweise von Phytoplasmen mit der sog. „real-time-PCR“ sind z.T. in Ausarbeitung; ihre Praxis-tauglichkeit muss in den meisten Fällen aber noch überprüft werden.

Wie erfolgt die Bekämpfung der Phytoplasmen ? Prinzipiell muss man unterscheiden zwischen einer direkten Bekämpfung der Phytoplasmen und einer Bekämpfung der Vektoren. Da Phytoplasmen keine Zellwand besitzen, sind sie resistent gegenüber Antibiotika, die in die Zellwandsynthese eingreifen (z.B. Penicillin). Antibiotika mit anderem Wirkungsmechanismus, z.B. Tetracycline, können Phytoplasmen abtöten. Durch Injizieren von Antibiotikallösung in infiziertes Pflanzengewebe kann man zwar Symptome verringern, allerdings die Pflanze nicht langfristig heilen. Blatt- und Bodenbehandlungen mit Antibiotika zeigen keine Wirkung.

Durch Thermotherapie können Pflanzen von Phytoplasmen befreit werden (45 Minuten im Wasserbad bei 50°C). Allerdings können dabei auch phytotoxische Effekte auftreten. Ausserdem ist die Methode mit einigem Aufwand (wirtschaftlich, technisch) verbunden und daher wohl nur in Spezialfällen praktikabel.

Eine Vektorenbekämpfung umfasst chemische und kulturtechnische Methoden. Insektizidbehandlungen sind oft schwierig zu planen, da viele Vektoren nur relativ kurze Zeit als Adulte fliegen, und die Nymphen sich meist gut geschützt im Boden entwickeln. Außerdem halten sich polyphage Vektoren (die verschiedene Wirtspflanzen anfliegen) oft nur für eine bestimmte Zeit in der zu schützenden Kulturfläche auf und fliegen aus umliegenden Wäldern oder Hecken zu.

Kulturtechnische Methoden wären z.B. Pflügen oder Mulchen zur Bekämpfung der Larvenstadien oder das Entfernen von alternativen Wirtspflanzen. Die gezielte Einsaat von „Nicht-Wirts-Pflanzen“ kann die Wiederansiedelung von alternativen Wirtspflanzen (z.B. Brennessel...) verhindern oder zumindest verringern und dadurch die Vektoren-Population regulieren. Generell ist eine sehr gute Kenntnis der Biologie der Vektoren für eine erfolgreiche Bekämpfung notwendig.

Gibt es Resistenzen gegenüber Phytoplasmen-Befall ? Echte Resistenzen scheinen sehr selten zu sein, ein Fall wurde bei „coconut lethal yellowing“ berichtet. Eine gewisse Toleranz gegenüber Phytoplasmen scheint bei bestimmten Obstbäumen (*Prunus Malus*), Forst- und Parkbäumen (*Fraxinus*, *Prunus virginiana*) und krautigen Pflanzen (*Lavendula*) aufzutreten.

Kann man Phytoplasmen züchten ? Nein; jedenfalls nicht als Reinkultur auf einem künstlichen Medium. Es gibt zwar mehrere Publikationen, welche von einer erfolgreichen Phytoplasmen-Zucht berichten, diese Ergebnisse konnten jedoch in anderen Labors nie wiederholt werden. Allerdings kann man durch Propfen, Pflanzengewebskulturen u. ä. Phytoplasmen in Pflanzenmaterial anreichern.

Wie kann man nachweisen, dass eine Pflanzenkrankheit von Phytoplasmen verursacht wird ? Ein eindeutiger Beweis, dass ein Mikroorganismus der Verursacher einer Krankheit ist, wird durch das Erfüllen der „Koch'schen Postulate“ erbracht (siehe unten). Dadurch, dass Phytoplasmen nicht-kultivierbar sind, ist die Erfüllung der Koch'schen Postulate nur schwer möglich. In der Praxis werden Phytoplasmen als Verursacher einer best. Pflanzenkrankheit betrachtet, wenn die Pflanze die für Phytoplasmenbefall typischen Symptome aufweist, und in der kranken Pflanze regelmässig Phytoplasmen nachgewiesen werden können.

Was sind Koch's Postulate ? Es ist die allgemein anerkannte Methode, Krankheitserreger zu identifizieren (benannt nach dem deutschen Mikrobiologen Robert Koch). Folgende Bedingungen müssen erfüllt werden:

- Der Erreger muss aus dem erkrankten Pflanzenteil isoliert werden und in Reinkultur gehalten werden.
- Nach künstlicher Inokulation mit dem Erreger müssen an gesunden Pflanzen die gleichen Symptome auftreten, wie an der ursprünglichen, erkrankten Pflanze.
- Aus dem nach künstlicher Inokulation erkrankten Pflanzenteil muß der Erreger re-isoliert werden können.
- Der re-isolierte Erreger muß mit dem inokulierten identisch sein.

Ist eine Übertragung über Samen möglich ? Diese Frage ist noch nicht eindeutig geklärt. Phytoplasmen treten vorwiegend in vegetativem, „wasserreichem“ Pflanzengewebe (hauptsächlich dem Phloem) auf und wurden äußerst selten in Pflanzensamen nachgewiesen. Eine Besiedlung des Pflanzenembryos durch Phytoplasmen wurden in der Kokosnuss nachgewiesen, allerdings waren diese Samen nicht keimfähig. In Samen von Apfelbäumen und Weinreben wurden Phytoplasmen bisher nicht nachgewiesen.

Wie werden Phytoplasmen eingeteilt ? Aufgrund genetischer Unterschiede (Sequenzanalyse des 16SrRNA-Gens) werden Phytoplasmen in folgende Gruppen eingeteilt (unvollständig):

Phytoplasmen-Gruppe	Vertreter	Wirtspflanze	Vorkommen
16SrI Aster-Yellows-Gruppe	Aster yellow phytoplasma Giallume della vite	Aster Weinrebe Pappel	I I
16SrIII X-disease-Gruppe	FDI Grapevine Yellow	Weinrebe Weinrebe	I ISR, USA
16SrIV Coconut lethal yellow-Gruppe	Coconut lethal yellow phytoplasma	Kokusnuss	USA, MEX, Karibik
16SrV Ulmenvergilbungs-Gruppe („elm yellow“)	Flavescence dorée FD-Pfalz Grapevine Yellow Elm yellows phytoplasma (EY1) Cherry lethal yellow (CLY) Jujube tree lethal yellow (JWY)	Weinrebe Weinrebe Weinrebe Ulme Kirsche Jujubebaum	F, I, E D USA USA China China
16SrX Apple-proliferation-Gruppe (AP)	Apfeltriebsucht-Phytoplasma (AP) European stone fruit yellows (ESFY)	Apfel Aprikose, Pfirsich	I, D F, I
16SrXI Rice yellow dwarf-Gruppe	Rice yellow dwarf phytoplasma Sugarcane White leaf phytoplasma	Reis Zuckerrohr	Asien Asien
16SrXII Stolbur-Gruppe	Schwarzholz Potato stolbur-Phytoplasma	Weinrebe Kartoffel, Tomate, Paprika, Melanzani..	D, F, I, E, ... Europa
Candidatus australiense	Phytoplasma Australian Grapevine Yellows	Weinrebe	AUS

Gibt es ähnliche Bakterien-Gruppen ? Die Phytoplasmen gehören zur Gruppe der Mollicutes, das sind zellwandlose Tier- und Pflanzen-Parasiten, welche viel kleiner als typische Bakterien sind und einen sehr reduzierten Metabolismus aufweisen. Die systematische Einteilung der Mollicutes erfolgte ursprünglich nach den von ihnen hervorgerufenen Symptomen, derzeit aber aufgrund von DNA-Sequenzvergleichen des 16SrRNA-Gens.

Andere Vertreter der Mollicutes sind:

Mycoplasmen: bestehen aus meist runden, unbeweglichen Zellen; Parasiten von Tieren, z.B. *Mycoplasma pneumoniae*, der Erreger von atypischen Pneumonien im Menschen

Spiroplasma: spiralförmige Parasiten von Insekten und Pflanzen. *Spiroplasma citri* befällt Zitronenbäume und zahlreiche andere Pflanzen, *S. melliferum* und *S. apis* sind Bienenschädlinge, *S. floridula* wurde aus Maikäfern isoliert. Viele Spiroplasma leben saprophytisch auf verschiedenen Pflanzen, ohne Krankheiten hervorzurufen.

Acholeplasma: meist runde (vereinzelt filamentöse) unbewegliche Zellen, z.T. Parasiten von Wirbeltieren, aber auch saprophytische Formen auf Pflanzen und in Insekten. Im Unterschied zu Mycoplasmen benötigen sie kein externes Sterol zum Wachstum.

Entomoplasmen: meist runde unbewegliche Parasiten von Insekten und Pflanzen.

Warum sind Phytoplasmen auf lebendes Wirtsgewebe angewiesen ? Phytoplasmen haben ein extrem reduziertes Genom, d.h. es fehlen zahlreiche Gene, die in anderen Organismen für lebenswichtige Stoffwechsellleistungen codieren. Phytoplasmen sind wahrscheinlich nicht in der Lage, Nukleotide (die Bausteine der DNA), selbst zu synthetisieren, sondern müssen sie von der Wirtspflanze importieren. Auch fehlen wichtige Gene zur Biosynthese von Aminosäuren und Fettsäuren. Da Phytoplasmen die einzigen Organismen sind, die keine ATP-Synthetase bilden, muss wahrscheinlich auch ATP (die „Energieeinheit“ jeder lebenden Zelle), aus der Umgebung aufgenommen werden.