

PATHOLOGISCHE ANATOMIE DES MIT DEM
STAMMNARBEN-VIRUS INFIZIERTEN
VIRGINIA CRAB-APFELS

ESAT HOXHA und NADA PLEŠE

(Naturwissenschaftlich-mathematische Fakultät Priština und Botanisches Institut
der Universität Zagreb)

Eingegangen am 21. Februar 1975

Einleitung

Kommerzielle Sorten und vegetative Unterlagen der Apfelbäume sind oft mit sog. latenten Apfelviren ohne Symptome infiziert. Das Vorkommen dieser Viren in Apfelsorten und -unterlagen wurde mittels der Indikatoren »R 12740-7A« (apple chlorotic leaf spot), »Virginia Crab« (apple stem grooving), »Spy 227« (Spy epinasty and decline) usw. nachgewiesen.

Die latenten Apfelviren verursachen keine grossen Verluste, sie sind aber doch schädlich, und zwar als mögliche Erreger der Unverträglichkeit (Hamdorf 1968, de Sequeira und Cropley 1968) und als Ursache der Klonunterlagen-Produktionsverminderung (Campbell 1965). Es wird angenommen, dass eben die infizierten vegetativen Unterlagen der grossen Ausbreitung dieser Viren beigetragen haben.

Zu den latenten Apfelviren wird auch der Erreger der Stammnarbung des Apfels (apple stem pitting virus) gezählt. Dieses Virus verursacht auch deutliche Krankheitssymptome am Indikator Virginia Crab, an dessen Holzkörper nach Loslösung der Rinde feine Narben bzw. rillenartige Eindellungen längs des Stamms sichtbar werden (Abb. 1 A). Die Krankheitsveränderungen sind manchmal auch an den Früchten ersichtlich (Posnette und Cropley 1963).

Die Stammnarbung des Apfels beobachtete erstlich Smith (1954) in Amerika. Kurz danach gelang es Guengerich und Millikan (1956), den Stammnarbung-Agens durch die Propfung zu übertragen. Sie vermuteten, dass dieser Agens Virusnatur hat. Aber die Viruspartikeln konnten bis jetzt nicht isoliert werden. Die Apfelstammnarbung ist auch in vielen Ländern Europas, sowie in Jugoslawien anwesend (Šarić 1969). Es ist sehr wahrscheinlich, dass dieses Virus überall, wo die kommerziellen Apfelsorten gezüchtet werden, verbreitet ist.

Über anatomische Veränderungen bei dem mit Stammnarbung befallenen Virginia Crab-Apfel haben schon früher Tukey und Mink

(1961) und Hilborn et al. (1965) ziemlich ausführlich berichtet. Die anatomischen Untersuchungen an V. Crab mit Stammnarbung unternahmen wir, um diese anatomischen Veränderungen mit denjenigen, die an demselben Indikator das Stammfurchungsvirus (stem grooving virus) hervorrief (Pleše et al. 1975), vergleichen zu können.

In dieser Arbeit haben wir nebst der kurzen Darstellung der schon bekannten anatomischen Veränderungen noch einige Anomalien, die von den oben angeführten Autoren nicht erwähnt werden, beschrieben.

Material und Methode

Die zweijährigen Stammbildner von *Malus sylvestris* cult. Virginia Crab mit Stammnarbungssymptomen stammten aus Bulgarien, von Dr. D. Trifonov (Institut für Pflanzenschutz, Kostinbrod). Das Material wurde im FAA-Gemisch (Johansen 1940) fixiert und aufbewahrt. Während der anatomischen Untersuchungen haben wir Querschnitte mit Schlittenmikrotom oder mit blosser Hand hergestellt. Bei meisten Durchschnitten wurde Sukzedanfärbung mit Safranin und Lichtgrün angewandt. Die Anwesenheit der Oxalatkristalle wurde zwischen gekreuzten Polarisationsfiltern analysiert.

Ergebnisse der Untersuchungen

Während der Untersuchungen der anatomischen Veränderungen bei V. Crab-Stammnarbung haben wir sowie Hilborn et al. (1965) konstatiert, dass der Cambiumbereich vom Virus besonders beschädigt wird. Dabei stört das Virus stellenweise die Entstehung der Phloem- und Xylemelemente. An solchen Stellen dringt das Phloëm tiefer ins Holz ein, so dass sich im Holz rillenartige Vertiefungen zeigen. Deshalb werden an der Rindeninnenseite entsprechende Auswülste des Phloems sichtbar.

Nur in Radialen der rillenartigen Vertiefungen kommt es zu den beträchtlichen Veränderungen in Phloëm, Xylem (Holz) und Cambium.

Veränderungen im Phloëm

Da im Bereich der rillenartigen Vertiefungen das Phloëm ins Holz hineinreicht, so wird der Phloëmring an diesen Stellen breiter. Das ist mit Hilfe des sekundären Phloëmfaserbandes besonders leicht zu sehen, weil es sich ganz gerade ausstreckt (Abb. 1 C, D, E; 3 A, B). Das Phloëm ist hier stark verändert. Die Siebröhren haben kollabiert und sind nekrotisiert; ihr Lumen wird vom Druck der umliegenden lebendigen Phloëmparenchym- und Markstrahlzellen eingedrückt. Die zerdrückten Wände der abgestorbenen Siebröhren sind als dichte weisse Massen und die Reste des Zellumens als schmale Spalten sichtbar (Abb. 2 B, C, D). Es scheint, dass die Siebelemente unmittelbar nach ihrer Differenzierung vom Virus geschädigt werden, weil die Nekrosen auch in dem an den Cambiumring direkt angrenzenden Phloëm beobachtet werden (Abb. 2 B).

Die Phloëmparenchymzellen befinden sich in diesen veränderten Regionen in grösserer Anzahl, manche von ihnen sind auch vergrössert. Auch die Markstrahlen strecken sich in befallenen Phloëmbereichen nicht mehr gerade, sondern sie weisen da eine Krümmung auf (Abb. 2 B, C, D; 3 A, B). Ausserdem sind solche Strahlen oft erweitert, d. h. sie sind nicht mehr zweireihig wie die normalen, sondern drei- oder

mehrrichtig (Abb. 2 C). Ihre Zellen sind nicht schmal und verlängert, sondern abgerundet oder gar unregelmässig gestaltet, manchmal auch vergrössert.

Das beschädigte Phloëm hat nicht mehr radial angeordnete Elemente wie das normale Phloëm (Abb. 2 A), sondern es ist merklich zerstört (Abb. 2 B). Man kann auf Grund angeführten Beobachtungen beschliessen, dass die Hyperplasie des Phloëms in Regien der Vertiefungen meistens durch das Ansteigen der Anzahl und Grösse der Parenchymzellen verursacht wird.

Neben diesen angeführten anatomischen Veränderungen bemerkten wir, dass sich im zerstörtesten Phloëmbereich die einzelnen sekundären Phloëmfasern oder Fasernester später differenzieren, d. h. sie befinden sich nun näher dem Holz innerhalb des hyperplastischen Phloëms (Abb. 1 E; 2 C; 3 A, B). Die Streife von sekundären Phloëmfasern streckt sich oberhalb der rillenartigen Vertiefung meistens geradlinig (Abb. 1 E; 3 A, B) zuweilen ist sie unterbrochen oder sie biegt sich leicht nach innen. Ausserdem haben wir festgestellt, dass sich im alterierten Phloënteil zahlreiche Oxalatkristalle befinden, und zwar doppelt so viel als im normalen Phloëm. Diese Kristalle leuchten zwischen gekreuzten Polarisationsfiltern (Abb. 1 E) und deswegen sind sie leicht zu erkennen. Manchmal sind im alterierten Phloëm vereinzelt sclerifizierte und hypertrophierte Parenchymzellen mit Tüpfelkanälen zu finden (Abb. 3 D).

Veränderungen im Kambium

Da in den Regien der rillenartigen Vertiefungen das Phloëm keilförmig ins Holz eingeht, ist die Kambiumlinie nicht gerade, wie im Querschnitt durch den gesunden Stamm (Abb. 1 B), sondern sie windet sich und so wie das Phloëm dringt sie stellenweise rillenartig ins Holz ein (Abb. 1 C, D; 2 D; 3 A).

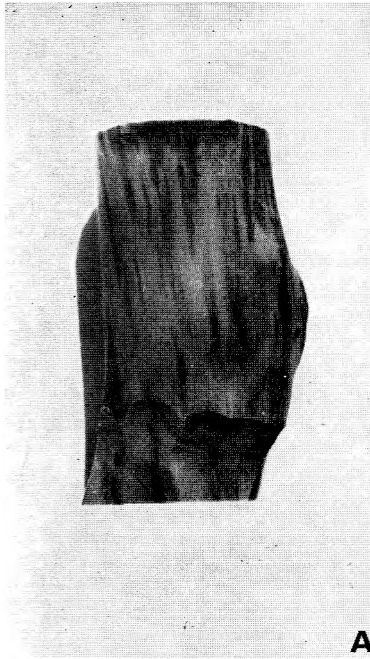
Das Kambium kann im Bereich der Vertiefungen unverändert bleiben, oder es kommt in diesem Bereich zu beträchtlichen Veränderungen des Kambiums. Im Falle dass das Kambium unverändert bleibt, zeigt es eine charakteristische radiale Anordnung der Initialen und bildet nach innen normales oder fast normales Holz, d. h. im Holz ist eine Erholungsphase zu bemerken (Abb. 2 B, C; 3 A, B).

In anderem Falle ist das Kambium im Mittelteil der Vertiefung so sehr verändert, dass die Kambiumzellen nicht mehr bestehen, sondern sie werden durch grössere teilungsfähige Parenchymzellen ersetzt (Abb. 1 D; 2 D; 3 C). Die Kambiumlinie ist dabei gebrochen. Wie schon T u k e y und M i n k (1961) und H i l b o r n et al. (1965) bemerkt haben, steht dieser Ersatz der Kambiuminitialen durch Parenchymzellen in Verbindung mit den Markstrahlen, d. h. er ist immer am Xylemstrahlende zu finden. Dieses desorganisierte Kambium bildet nicht nur ein abnormales Phloëm, sondern auch ein sehr alteriertes Holz, das nur aus vergrösserten und veränderten Holzparenchym- und Markstrahlparenchymzellen besteht (siehe unten).

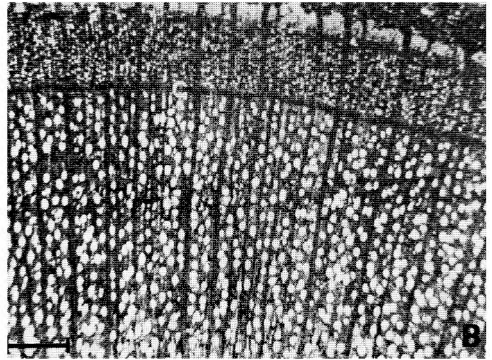
Veränderungen im Holz

In denselben Radien, wo es zu anatomischen Veränderungen im Phloëm kommt, bestehen die Veränderungen auch im Holz (Abb. 1 C, D). An solchen Stellen im Holz wird vor allem die Differenzierung der gros-

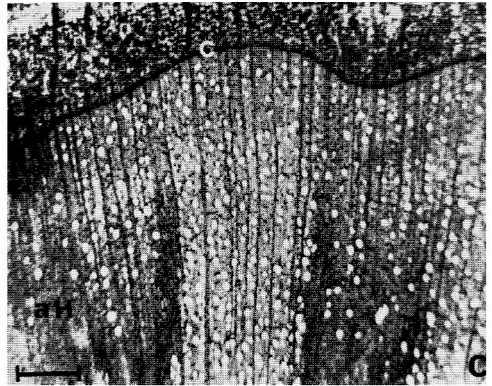
- Abb. 1. A — Äussere Symptome am Holz des mit Stammnarben-Virus befallenen Virginia Crab-Apfels. Dunkel gefärbte Narben oder Rillen. B — Querschnitt durch einen Teil des gesunden Stamms und C, D — des erkrankten Stamms. Bei erkranktem Stamm sind rillenartige Vertiefungen im Xylem (Holz) und entsprechende Vorsprünge des Phloëms sichtbar. In denselben Radien ist anomales Holz ersichtlich. E — Einlagerung der Oxalatkristalle in alteriertem Phloëm. Die Kristalle und Phloëmfasern leuchten zwischen gekreuzten Polarisationsfiltern. aH anomales Holz, C Kambium, Phf Phloëmfasern, Maßstab beträgt 300 μm .
- Sl. 1. A — Vanjski simptomi na drvu jabuke Virginia Crab inficirane virusom izljebljenosti stabla. Tamno obojeni ožiljci ili žljebovi. B — Poprečni presjek kroz dio zdravog stabla i C, D — bolesnog stabla. Na bolesnom stablu vide se žljebaste udubine u ksilemu (drvu) i odgovarajuće izbočine floema. U istim radusima vidi se anomalno drvo. E — Nakupljanje oksalatnih kristala u alteriranom floemu. Kristali i likovnice svijetle među unakrštenim polarizacijskim filtrima. aH anomalno drvo, C kambij, Phf likovnice. Skala predstavlja 300 μm .
- Abb. 2. A — Querschnitt durch das gesunde Phloëm mit radialer Anordnung der Elemente. B, C, D — Querschnitt durch das alterierte Phloëm im Bereich der Vertiefungen. In D anomales Holz auch ersichtlich. kS kolabierte Siebröhren, nH normales Holz, vM veränderte Markstrahlen. Maßstab beträgt: 50 μm (A, B) und 100 μm (C, D).
- Sl. 2. A — Poprečni presjek kroz zdravi floem s radialnim rasporedom elemenata. B, C, D — Poprečni presjek kroz alterirani floem u području udubina. Na D se vidi i anomalno drvo. kS kolabirane sitaste cijevi, nH normalno drvo, vM izmijenjeni traci srčike. Skala predstavlja: 50 μm (A, B) i 100 μm (C, D).
- Abb. 3. A, B — Querschnitt durch das alterierte Phloem im Vertiefungsbereich. Einzelne Phloëmfasern oder -fasernester innerhalb des alterierten Phloëms ersichtlich. C — Im Mittelteil der Vertiefung Kambiumzellen durch Parenchymzellen ersetzt. D — Eine grosse sclerifizierte Parenchymzelle innerhalb des veränderten Phloëms. Pz Parenchymzellen. Maßstab beträgt: 200 μm (A, B), und 50 μm (C, D).
- Sl. 3. A, B — Poprečni presjek kroz alterirani floem u području udubine. Unutar alteriranog floema vide se pojedine likovnice ili gnijezda likovnica. C — U srednjem dijelu udubine kambijske stanice su zamijenjene parenhimskim stanicama. D — Velika sklerotizirana parenhimska stanica unutar izmijenjenog floema. Pz parenhimske stanice. Skala predstavlja: 200 μm (A, B) i 50 μm (C, D).
- Abb. 4. Querschnitt durch das anomale Holz. A, C, D — Ein Teil des veränderten Holzes mit zahlreichen Holzparenchymzellen und vergrößerten Markstrahlen. B — Schräg und querlaufend erstreckte Librifasern, Leitelemente und Parenchymzellen. Maßstab beträgt 100 μm .
- Sl. 4. Poprečni presjek kroz anomalno drvo. A, C, D — Dio izmijenjenog drva s brojnim stanicama drvnog parenhima i povećanim trcima srčike. B — Koso i poprečno položena vlakanca libriforma, provodni elementi i parenhimske stanice. Skala predstavlja 100 μm .



A



B



C

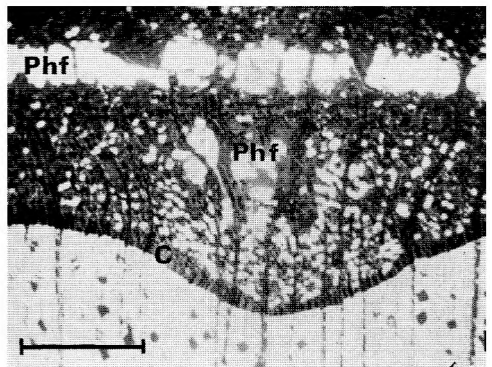


Abb. 1. — Sl. 1.

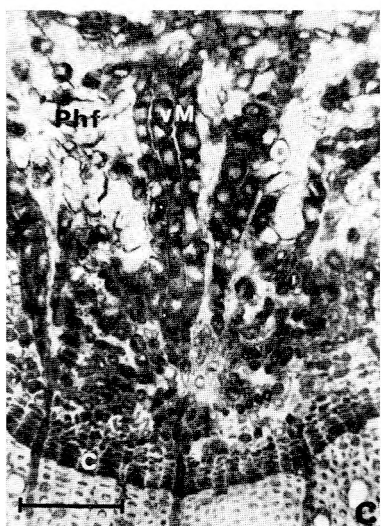
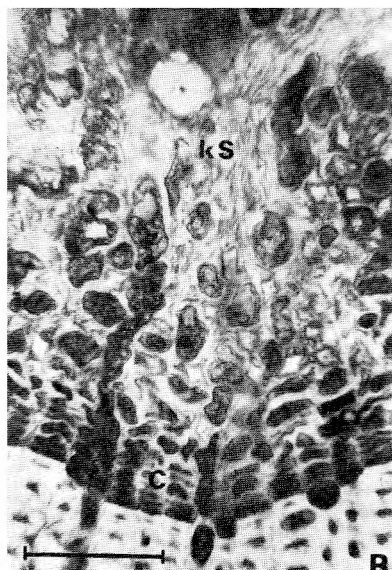
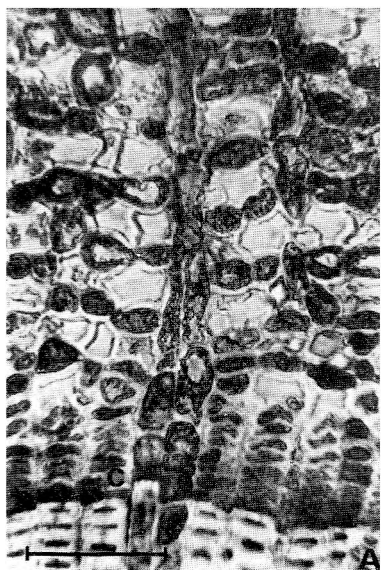


Abb. 2. — Sl. 2.

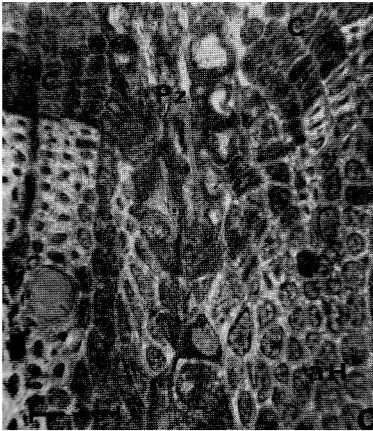
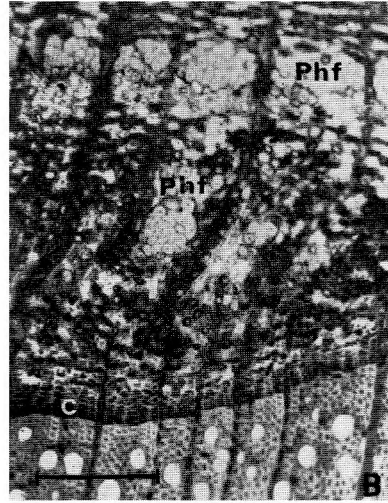


Abb. 3. — Sl. 3.

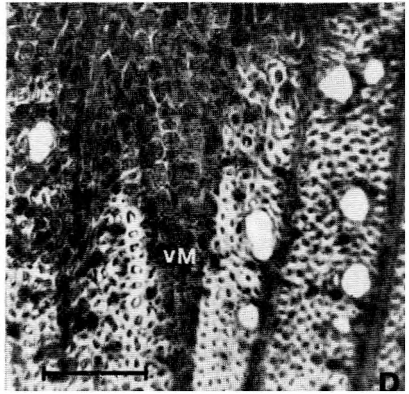
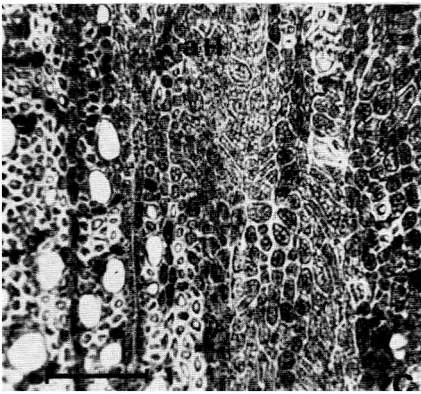
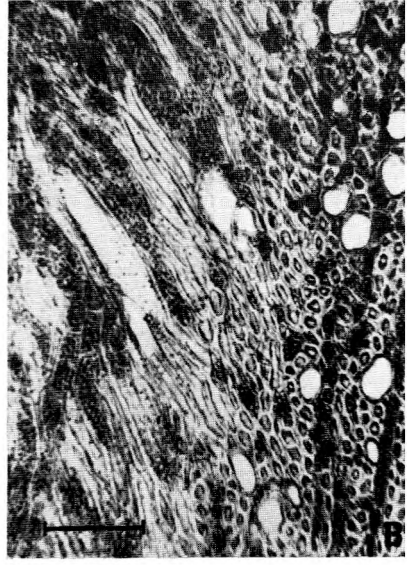
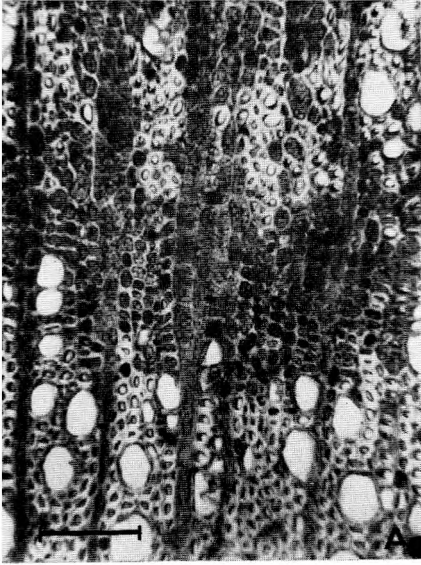


Abb. 4. — Sl. 4.

sen Leitelemente (der Tracheen) zurückgedrängt, und das Holz ist hauptsächlich aus Holzparenchym, Markstrahlenparenchym, Librifasern und Tracheiden zusammengesetzt.

Die Holzparenchymzellen sind deformiert, vergrößert und reich mit Stärkekörnern ausgefüllt (Abb. 3 C; 4 A, C). Die Markstrahlen werden auch in diesem anomalen Holzteil stark beschädigt. Sie sind nämlich aus vergrößerten, nicht mehr schmalen und verlängerten, sondern unregelmässig ausgestalteten oder fast isodiametrischen Zellen aufgebaut (Abb. 4 A, D). Ausserdem sind diese Strahlen öfters mehr als zwei Zellen breit, was auch abnormal ist (Abb. 4 D). Im so veränderten Holz unterscheiden sich die Markstrahlen gar nicht mehr vom Holzparenchym (Abb. 4 C, D). Die Tracheiden und Librifasern sind unregelmässig und verkrümmt; manchmal haben sie eine ganz gestörte Orientierung, so dass sie sich im Holz nicht mehr longitudinal, sondern schräg oder sogar querlaufend strecken (Abb. 4 B).

Im Holz der rillenartigen Vertiefungsregionen werden auch Erholungsphasen sichtbar. Dabei geht anomales Holz rasch oder allmählich in normales Holz über (Abb. 1 C). Bei allmählichem Übergang ist das Holz aus Holzparenchymzellen, Librifasern und Markstrahlen zusammengesetzt. Derartige Holz sieht normal aus, doch ist es etwas dichter, weil die Tracheen spärlich anwesend sind (Abb. 1 C).

Diskussion

So wie Tukey und Mink (1961) und Hilborn et al. (1965) haben auch wir festgestellt, dass es unter der Einwirkung des Stammnarben-Virus in Regionen der rillenartigen Vertiefungen zu pathologischen Veränderungen kommt, wie zum Absterben der Siebröhren, zur vergrößerten Anzahl der Phloem- und Xylemparenchymzellen, zur Desorganisation der Markstrahlen und zum Fehlbetrag der Tracheen und Kambiuminitialen. Derartige oder ähnliche anatomische Veränderungen können auch von manchen anderen Viren verursacht werden (Schneider 1954, Esau 1957, 1960 Gilmer 1962, Miličić et al. 1968, Pleše et al. 1975).

Tukey und Mink (1961) haben angeführt, dass im Bereich des veränderten Phloëms die Phloëmfasern verbleiben. Wir dagegen haben an unserem Untersuchungsobjekt konstatiert, dass es im beschädigten Phloëmbereich manchmal nur bis zur kurzen Unterbrechung des sekundären Phloëmfasernstreifens kommen kann. Vereinzelt Fasern oder Fasernester differenzieren sich auch später, und zwar innerhalb des hyperplastischen Phloëms. Es ist nicht zu ersehen, wie alt die von den erwähnten Autoren untersuchten Exemplare von Virginia Crab waren.

Die vergrößerte Menge der Oxalatkristalle in beschädigten Phloëmbereichen haben auch Tukey und Mink (1961) bemerkt. Es scheint, dass die Einlagerung der Kristalle in Verbindung mit der erhöhten Anzahl der Phloëmparenchymzellen steht.

Es ist noch zu erwähnen, dass ein anderes latentes Virus und zwar das Stammfurchungsvirus (apple stem grooving) an V. Crab ähnliche Symptome verursacht. Die anatomischen Veränderungen, die unter dem Einfluss dieses Virus entstehen, unterscheiden sich jedoch von den durch das Stammnarben-Virus hervorgerufenen Veränderungen. Das Stammfurchungsvirus verursacht nämlich im Bereich der Furchen die Erscheinung der charakteristischen dünnwandigen Parenchymzellen und des Wundkorkes.

Zusammenfassung

Infolge der Einwirkung des Stammnarben-Virus des Apfels (apple stem pitting virus) entstehen längs des Holzzylinders des Virginia Crab-Indikators kleine rillenartige Vertiefungen, die mit den gleichgestalteten Vorsprünge des Phloëms übereinstimmen. Es scheint, dass das Virus den Kambiumbereich besonders beschädigt, indem es die normale Differenzierung der Kambiumzellen stört.

Als Folge dieser Viruswirkung kommt es im Phloëm des Vertiefungsbereichs zum Absterben der Siebröhren, zur Erhöhung der Anzahl der Phloëmparenchymzellen und Oxalatkristalle und zur Störung im Bauen von Markstrahlen und in der Differenzierung der Phloëmfasern. Im Bereich der Vertiefung können anstatt der Kambiuminitialen andere Parenchymzellen vorkommen.

In denselben Radien, wo die anatomischen Veränderungen im Phloëm erkennbar werden, werden diese auch im Holz anwesend. Anomales Holz ist hauptsächlich aus veränderten Holzparenchymzellen, vergrößerten Markstrahlen und verkrümmten Libriformfasern ausgebaut. In derartigem Holz sind die Tracheen meistens abwesend oder sind sie seltener.

Literatur

- Campbell, A. I., 1965: The effect of some apple viruses on clonal rootstock production. *Zaštita bilja* 16, 261—265.
- Esau, K., 1957: Phloem degeneration in *Gramineae* affected by the barley yellow-dwarf virus. *Am. J. Bot.* 44, 245—251.
- Esau, K., 1960: Cytologic and histologic symptoms of beet yellows. *Virology* 10, 73—85.
- Gilmer, R. M., 1962: Pathological anatomy of rapid decline of Spy 227 apple. *Phytopathology* 52, 1027—1030.
- Guengerich, H. W. and D. F. Millikan, 1956: Transmission of the stem pitting factor in apple. *Plant Dis. Repr.* 40, 934—938.
- Hamdorf, G., 1968: »Hopa« ein Indikator für »Latente Apfelviren«. *Tagungsber. DAL Nr. 97*, 63—75.
- Hilborn, M. T., F. Hyland and R. C. McCrum, 1965: Pathological anatomy of apple trees affected by the stem-pitting virus. *Phytopathology* 55, 34—39.
- Johansen, D. H., 1940: *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, New York and London.
- Miličić, D., N. Pleše und H. Kegler, 1968: Anatomische Untersuchungen über viröse Rindenschäden bei »Gellert«-Birnen. *Tagungsber. DAL Nr. 97*, 317—326.
- Pleše, N., E. Hoxha and D. Miličić, 1975: Pathological anatomy of trees affected with apple stem grooving virus. *Phytopath. Z.* (im Druck).
- Posnette, A. F. and R. Croyley, 1963: Apple stem pitting. In *Virus diseases of apples and pears*. *Tech. Commun. Bur. Hort. E. Malling* 30.
- Schneider, H., 1954: Anatomy of bark of bud union, trunk, and roots of quick-decline-affected sweet orange trees on sour orange rootstock. *Hilgardia* 22, 567—601.
- Sequeira, O. A. de and R. Croyley, 1968: Symptoms in "Virginia Crab" caused by the E36 virus. *Tagungsber. DAL Nr. 97*, 35—42.
- Smith, W. W., 1954: Occurrence of "stem pitting" and necrosis in some body stocks of apple trees. *Amer. Soc. Hort. Sci., Proc.* 63, 101—113.
- Šarić, A., 1969: Zaraze s latentnim virusima u nekim sortama jabuke. *Pojoprivredna znanstvena smotra* 26, 3—12.
- Tukey, R. B. and G. I. Mink, 1961: Morphology and anatomy of stem-pitting in Virginia Crab. *Amer. Soc. Hort. Sci., Proc.* 78, 8—15.

SADRŽAJ

PATOLOŠKA ANATOMIJA JABUKE VIRGINIA CRAB INFICIRANE VIRUSOM IZLJEBLJENOSTI STABLA

Esat Hoxha i Nada Pleše

(Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Prištini i Institut za botaniku
Sveučilišta u Zagrebu)

Pod utjecajem virusa izljebljenosti stabla jabuke (apple stem pitting virus) nastaju u drvu indikatora Virginia Crab male žljebaste udubine koje se podudaraju s odgovarajućim izbočinama floema. Čini se da virus osobito oštećuje područje kambija i poremećuje normalno diferenciranje kambijskih stanica.

Pod utjecajem virusa dolazi u floemu u području žljebastih udubina do kolabiranja sitastih cijevi, povećanja broja stanica floemskog parenhima, nakupljanja oksalatnih kristala te do poremećaja u građi trakova srčike i u diferenciranju likovnica. Inicijalne stanice kambija mogu biti u području udubine zamijenjene drugim parenhimskim stanicama.

U istim radijusima u kojima nalazimo promjene u floemu dolazi do promjena i u drvu. Anomalno drvo izgrađeno je uglavnom od izmijenjenih stanica drvnog parenhima, povećanih trakova srčike, iskrivljenih vlaknaca libriforma, a traheje su malobrojne ili čak izostaju.

Esat Hoxha
Katedra za botaniku
Prirodno-matematički fakultet
Ul. Maršala Tita 22
38000 Priština (Jugoslavija)

Dr Nada Pleše
Institut za botaniku
Sveučilišta u Zagrebu
Marulićev trg 20/II
41000 Zagreb (Jugoslavija)