

## Genetische Diversität und Hypovirulenz

# Esskastanienrindenkrebs

Franziska Peters, Johanna Bußkamp und Berthold Metzler

Seit über zwanzig Jahren breitet sich der Esskastanienrindenkrebs in Baden-Württemberg und Rheinland-Pfalz aus. Nach seiner Entdeckung wurde der Erreger *Cryphonectria parasitica* 1992 zunächst nur in wenigen Waldstücken im Ortenaukreis (Baden-Württemberg) und der Südlichen Weinstraße (Rheinland-Pfalz) nachgewiesen. Im Rahmen des Interreg-Projekts konnten wertvolle Erkenntnisse über die weitere Ausbreitung und die genetische Diversifizierung des Schadpilzes gewonnen werden. Genetische Unterschiede an den Pilzisolaten legen nahe, dass der Erreger inzwischen mehrfach unabhängig nach Süddeutschland eingeschleppt worden ist. Besonderes Augenmerk wurde auf die durch ein Pilzvirus übertragbare Hypovirulenz (verminderte Aggressivität des Schadpilzes) gelegt, welche Möglichkeiten zur Eindämmung der Krankheit eröffnet.

Mit der Einschleppung des Rindenkrebserregers *Cryphonectria parasitica* nach Europa 1938 war zunächst befürchtet worden, die vorderasiatisch-europäische Edelkastanie (*Castanea sativa*) könne durch die invasive Krankheit – ähnlich wie die Amerikanische Kastanie (*C. dentata*) im frühen 20. Jahrhundert – nahezu ausgerottet werden. *C. dentata* war bis damals in den östlichen USA die häufigste Hartholzart und stellte 25 % des Holzvorrates. Das Absterben von 3,5 Mrd Bäumen wird als eine Katastrophe ohnegleichen in der Forstgeschichte bezeichnet [2]. Glücklicherweise zeigte sich die Europäische Edelkastanie weniger anfällig, sodass weniger das Überleben der Baumart, sondern „nur“ deren forstliche Nutzbarkeit infrage steht. Die Edelkastanie überlebt die Krankheit in der Regel, jedoch ist das Stammholz durch teilweises Absterben der Rinde (Abb. 1, 2) und der Baumkrone (Abb. 3) oft weitgehend entwertet [7]. So wird die Verbreitung des Pilzes in Südwestdeutschland seit 1992 (nicht zuletzt auch wegen der Qua-

rantäneregelungen der EU) durch die FVA und die Biologische Bundesanstalt (jetzt JKI) sorgfältig verfolgt [5, 8, 9].

### Pilzbiologie

Bei *C. parasitica* handelt es sich um einen Schlauchpilz (Askomyzet), der in Deutschland in den ersten beiden Jahrzehnten nach der Einschleppung nur als Nebenfruchtform (*Endothiella parasitica*, Abb. 1, 4) gefunden wurde. Deren Konidien entstehen in großen Mengen auf der befallenen Rinde. Insbesondere bei feuchter Witterung treten sie als schleimige Masse aus kleinen pusteligen orangeroten Fruchtkörpern (Pyknidien) aus und werden mit Regenwasser, jedoch auch von Tieren (z. B. Insekten, Abb. 6) und auch durch den Menschen übertragen. Der Neubefall findet über kleine Rindenrisse und vor allem über Rindenverletzungen statt. Es wird berichtet, dass Fruchtbäume (Maroni) besonders leicht an der Veredelungsstelle infiziert werden können. Der Befall kann mehr als ein Jahr lang latent bleiben (ohne auffällige Symptome zu verursachen), da das Myzel als kleine Myzelfächer in der Rinde wachsen und überleben kann (Abb. 5, 6). Erreicht der Pilz das Kambium, stirbt dieses fleckweise ab, und je nach Zuwachs reißt am Wundrand die Rinde auf. Die Überwallung der Befallsstelle gelingt dem Baum in der Regel nicht (Abb. 3), sondern die Wundränder werden immer wieder neu infiziert, sodass man von einem Rindenkrebs spricht. Bei stammumfassender

Ringelung können Krone oder größere Äste insgesamt absterben. An der dicken Borke von älteren Bäumen schreitet die Infektion meist nur langsam voran, auch sind Rindenrisse ggf. schwerer zu erkennen.

In den ersten Jahrzehnten der Ausbreitung von *C. parasitica* in Italien wurde entdeckt, dass manche Rindeninfektionen deutlich milder verlaufen und sogar verheilen können [3]. Bei molekulargenetischen Untersuchungen fand man einen so genannten Hypovirulenzfaktor, der sich als virusähnliche doppelsträngige (ds-) RNA herausstellte; man spricht auch von einem Hypovirus (im Folgenden auch Virus genannt). Die Übertragung des Virus erfolgt nur direkt von Pilz zu Pilz über Hyphenverbindungen, so genannte Anastomosen. Letztere entstehen nur, wenn die einzelnen Myzelien kompatibel sind, d.h. der gleichen vegetativen Kompatibilitätsgruppe (vc-Gruppe) angehören. Es gibt viele verschiedene vc-Gruppen (74 und mehr [7]), die jeweils bei der Askosporenbildung (Hauptfruchtform) genetisch neu kombiniert werden. Eine höhere Zahl dieser vc-Gruppen in einem Gebiet erschwert also die Virusübertragung. Solange nur die Nebenfruchtform auftritt (s. o.), handelt es sich um genetisch unveränderte Klone.

### Entwicklung bis 2010

In Waldbeständen der Ortenau wurden in den Jahren nach der Erstentdeckung zunächst nur die vc-Gruppe EU-2, in Rheinland-Pfalz nur EU-65 nachgewiesen. Während dem Trockenstress des Jahres 2003, unter der auch die Edelkastanie zu leiden hatte [1], kam es offensichtlich zu stärkerer Ausbreitung der Krankheit, und latent vorhandene Infektionen traten deutlicher zutage. So wurden bis 2010 aus Waldflächen (auch der Landkreise Rastatt und Heidelberg) insgesamt sechs verschiedene vc-Gruppen isoliert; drei weitere aus Einzelvorkommen in Grünanlagen. Von einer Ausnahme abgesehen wurde jeweils nur eine vc-Gruppe pro Bestand gefunden. Dies bedeutet, dass die Krankheit mit hoher Wahrscheinlichkeit mindestens neunmal nach Deutschland eingeschleppt worden sein muss [6]. Der überwiegende Teil der damaligen Pilzpopulationen ge-

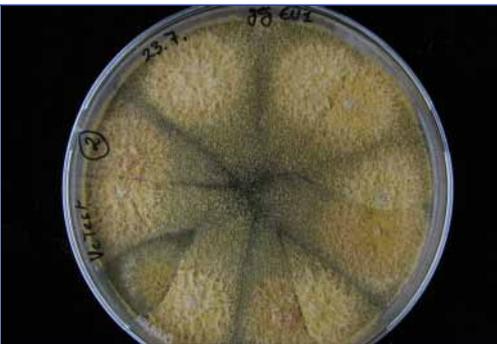
Dipl.-Biol. Dr. F. Peters ist wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Abt. Waldschutz, B. Sc. J. Bußkamp und PD. Dr. habil. B. Metzler arbeiten in der selben Abteilung der FVA.



**Franziska Peters**  
franziska.peters@forst.bwl.de



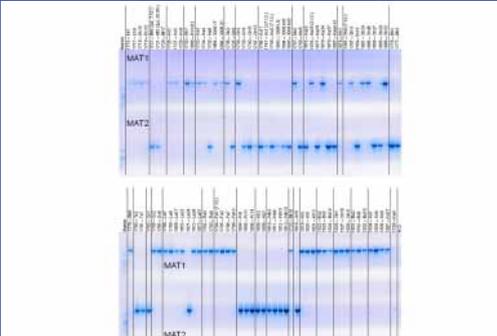
**Abb. 1:** Typischer Esskastanienrindenkrebs mit orangefarbenen Sporenlagern, aufreißender Rinde und Wasserreißern, die wieder abwelken.



**Abb. 7:** Bestimmung der vegetativen Kompatibilität (vc) an *C. parasitica*-Myzelien in einer Petrischale.



**Abb. 2:** Nur noch etwa ein Drittel des Stammumfangs (oben) ist an diesem Querschnitt vital.



**Abb. 8:** Molekulargenetischer Nachweis der beiden Kreuzungsfaktoren bei *C. parasitica*.



**Abb. 3:** Durch den Rindenkrebs absterbende Kronenteile



**Abb. 9:** Die erstmalig in Deutschland (Interreg-Projekt) nachgewiesene Hauptfruchtform von *C. parasitica*: Perithezien mit schlauchförmigen Öffnungen



**Abb. 4:** Orangefarbene Pyknidien (Endothiella-Nebenfruchtform) von *C. parasitica* auf der Rinde einer befallenen Edelkastanie.



**Abb. 10:** Freigelegtes kugeliges Perithecium der Hauptfruchtform mit schlauchförmiger Öffnung



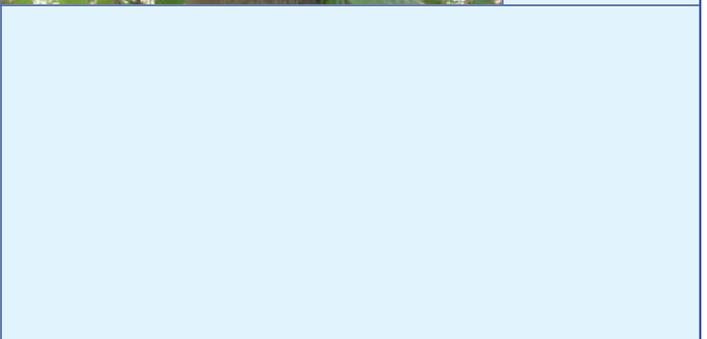
**Abb. 5:** Frische Rindennekrose; unter der abgestorbenen Rinde finden sich kleine cremefarbene Myzelfächer des Schadpilzes.



**Abb. 11:** Verheilende Läsion mit hypovirulentem Befall. Die Rinde bleibt geschlossen und Wasserreißer welken nicht ab.



**Abb. 6:** Die Befallsstellen (Myzelfächer von *C. parasitica* rechts im Bild) werden oft von Käferlarven (links im Bild) besiedelt.



hörte der vc-Gruppe EU-2 an. Die ersten Nachweise von *C. parasitica* im Elsass waren 2002 erfolgt mit den vc-Gruppen EU-5 in Wangen bei Strasbourg und EU-65 bei Kaisersberg [4].

### Neue Erkenntnisse

Im Zuge des Interreg-Projekts konnten Kastanienbestände intensiv untersucht werden, wobei auch neue Befallsflächen entdeckt wurden. Mit 14 vc-Gruppen wurde eine deutlich höhere Vielfalt nachgewiesen. In Abb. 7 ist die Methodik dargestellt. Wenn auch weiterhin auf den meisten Flächen nur eine vc-Gruppe vorhanden ist, gibt es inzwischen einige Flächen, auf denen zwei oder mehrere vc-Gruppen zu finden sind.

Die sexuelle Rekombination wird durch den Kreuzungstyp (+/-) gesteuert, der die vc-Gruppen überlagert. Bei den Untersuchungen wurden beide Kreuzungstypen gefunden, womit das Potenzial für geschlechtliche Fortpflanzung nachgewiesen ist (Abb. 8). Zu diesem Befund passend wurde erstmalig 2012 in Deutschland die Hauptfruchtform des Pilzes gefunden (Abb. 9, 10). Eine daraus entstandene weitere Diversifizierung des Erregers konnte am Standort Edenkoben nachgewiesen werden. Die Analyse des Kreuzungstyps und weiterer genetischer Merkmale zusätzlich zu den vc-Gruppen zeigt eine größere Diversität des Pilzes an als bisher bekannt. Allerdings ist die Zahl der vc-Gruppen im Vergleich zu anderen europäischen Ländern nach wie vor gering.

### Hypovirulenz

Bis 2010 waren in Deutschland unter 400 Isolaten von *C. parasitica* nur vier hypovirulente Pilzisolat festgestellt worden. Eine wesentliche Neuigkeit im Interreg-Projekt ist das vermehrte Auftreten von heilenden Rindenläsionen in der Ortenau (Abb. 11) und der Nachweis von weiteren 35 hypovirulenten Pilzisolaten in der Ortenau und im Landkreis Rastatt mit molekulargenetischen Methoden. Obwohl sie von unterschiedlichen Flächen stammen und auch verschiedenen vc-Gruppen (EU-2, EU-5, EU-13) angehören, zeigen genetische Untersuchungen, dass die Viren alle einheitlich dem deutschen Subtyp des Virus angehören. Auf drei speziell untersuchten Flächen konnte an 24 % der gefallenen Edelkastanien das Virus nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse zeigen

mehrfach die natürliche Übertragung und Ausbreitung der Hypovirulenz, sodass hier ein harmloserer Krankheitsverlauf erwartet werden kann. Um diesen Vorgang auf anderen Flächen anzustoßen oder zu beschleunigen, kann man erkrankte Bäume mit einem Virus-tragenden Pilz der gleichen vc-Gruppe beimpfen. So kann die Hypovirulenz auch in Bestände eingebracht werden, die bisher nur von virulenten Pilzstämmen infiziert waren. Das Verfahren wurde versuchsweise in der Südlichen Weinstraße angewendet, wo bisher keine natürlich auftretende Hypovirulenz beobachtet worden war. Dafür wurde das aus der Ortenau stammende Virus auf einen lokalen Pilzstamm übertragen. Ein Jahr nach der Beimpfung konnte jetzt die Virusübertragung an lebenden Bäumen durch Reisolierung bestätigt werden.

### Fazit

Die natürliche Ausbreitung der Hypovirulenz in drei vc-Gruppen von *C. parasitica* in der Ortenau ist eine sehr positive Entwicklung. Mit dem Auftreten der Hauptfruchtform ist allerdings zu erwarten, dass sich die Zahl der vc-Gruppen noch weiter erhöht, was wiederum der natürlichen Verbreitung der Hypovirulenz Grenzen setzt. Die von uns eingebrachte Hypovirulenz im Forstbezirk Haardt hat sich in den beimpften Bäumen etabliert. In den nächsten Jahren muss sich zeigen, ob eine weitere Übertragung der Hypovirulenz auf erkrankte Nachbarbäume erfolgt und ob sich schließlich die Bestände insgesamt gesünder entwickeln werden.

### Literaturhinweise:

- [1] BARTHOLD, F.; CONEDERA, M.; TORRIANI, D.; SPINEDI, F. (2004): Welkesymptome an Edelkastanien im Sommer 2003 auf der Alpensüdseite der Schweiz. *Schweiz. Z. Forstwes.* 155, S. 392-399. [2] GRIFFIN, G. J.; ELKINS, J. R. (1986): Chestnut blight. In: Roane M. et al. (eds.): Chestnut blight, other Endothia diseases and the Genus *E. APS Mon.Ser.*, St. Paul. [3] DAY, P. R.; DODDS, J. A.; ELLISTON, J. E.; JAYNES, R. A.; ANAGNOSTAKIS, S. L., (1977): Double stranded RNA in *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 67, S. 1393-1396. [4] DSF (2005): Bilan 2004. La Sante des Forêts dans le Nord-Est. *Inf. Techn.* N. 42, Minist. Agricult et de la Pêche, 83 S. [5] KEHR, R.; METZLER, B.; SCHRÖDER, T.; WULF, A. (2005): Rindenkrebs der Esskastanie auf dem Vormarsch – Hinweise zur Erkennung und Handlungsoptionen. *Jahrbuch der Baumpflege* 2005. Thalacker Verlag, S. 192-198. [6] PETERS, F. S.; HOLWEG, C. L.; RIGLING, D.; METZLER, B. (2012): Chestnut blight in south-western Germany: multiple introductions of *Cryphonectria parasitica* and slow hypovirus spread. *Forest Pathology* 42 (5), S. 397-404. [7] ROBIN, C.; HEINIGER, U. (2001): Chestnut blight in Europe: Diversity of *Cryphonectria parasitica*, hypovirulence and biocontrol. *Forest Snow and Landscape Res.* 76, S. 361-367. [8] SEEMANN, D.; BOUFFIER, V.; KEHR, R.; WULF, A.; SCHRÖDER, T.; UNGER, J. (2001): Die Esskastanie in Deutschland und ihre Gefährdung durch den Kastanierrindenkrebs *Cryphonectria parasitica*. *Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzd.* 53, S. 49-60. [9] SEEMANN, D.; UNGER, J. G. (1993): Rindenkrebs der Edelkastanie in der Bundesrepublik Deutschland. *Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzd.* 45, S. 120-122.