

## Die komplexe Viroosphäre von Knoblauch (*Allium sativum*)

Richert-Pöggeler\*<sup>1</sup>, K.R., Liebig<sup>2</sup>, N., Lange<sup>3</sup>, S., Nagel<sup>4</sup>, C., Maaß<sup>1</sup>, C.,  
Schmalowski<sup>1</sup>, D., Schuhmann<sup>1</sup>, S., Ritz<sup>2,5</sup>, J.

*Keywords: Allium sativum, Potyvirus, Allxivirus, Carlavirus, Pflanzengesundheit*

### Complex virosphere in garlic (*Allium sativum*)

*The virosphere is the space in which viruses occur and which is influenced by viruses. The clonal propagation of commercially grown garlic makes it especially vulnerable to viruses that are transmissible via sap inoculation such as potyviruses, allxiviruses and carlavruses. Additionally poty-, carlavruses use aphids and allxiviruses employ eriophyd mites for their horizontal spread from plant to plant. In a three and a half years project (9/2016-2/2020) the virosphere of garlic bulbs and plants were investigated. Whereas in all garlic lines/varieties infections with multiple viruses could be detected, symptom expression varied. Cloves and bulbils did not differ in their virus susceptibility. Multiple abiotic and biotic factors influenced the bulb quality and yield. Since December 2019 a health certificate according to EU regulation 2016/2031 is required for bulbs sold for planting. The month of May was found to be the best time for monitoring virus symptoms.*

### Einleitung und Zielsetzung

Die Nachfrage nach regional angebautem Knoblauch ist in den letzten Jahren aufgrund der zunehmenden Bedeutung von Regionalität stark angestiegen. Derzeit wird der Bedarf an Knoblauch größtenteils aus dem Ausland gedeckt. Knoblauch aus ökologischer Vermehrung wird dabei fast ausschließlich aus Spanien, Frankreich und Argentinien importiert. Eine zunehmende Bedeutung im ökologischen wie im konventionellen Knoblauchanbau haben dabei die Virusinfektionen des Pflanzgutes. In unserem mehrjährigen Projekt, das den Zeitraum September 2016 bis Februar 2020 umfasste, bestimmten wir den Virusstatus und die Ertragsstabilität von für den ökologischen Anbau interessanten Knoblauchsorten und Herkünften, um einen möglichen Einfluss des Virusbefalls auf den Knollenertrag zu ermitteln (Liebig et al., 2020).

### Methoden

Das Forschungsvorhaben wurde auf zwei Standorten, Dörverden im Norden und Lindewerra in der Mitte Deutschlands, durchgeführt. Vor Versuchsbeginn fand jeweils eine Untersuchung auf Bodennährstoffe sowie Nematoden statt.

Im ersten Versuchsjahr 2016 wurden 11 verschiedene Knoblauchvarianten (s. Tabelle 1, Abbildung 1) angebaut, die 4 Softneck und 7 Hardneck Genotypen umfassten. Kurz vor der Pflanzung wurden die Knollen per Hand auseinandergebrochen und die zu kleinen, kranken und deformierten Zehen aussortiert. Die Sorten (Tab. 1, Abb. 1) wurden hinsichtlich des Genotyps, der Herkunft und Erfahrungen der Projektteilnehmer ausgewählt. Dabei wurde Wert daraufgelegt, Pflanzgut aus verschiedenen Regionen auszuwählen, um zu untersuchen, ob die verschiedenen Herkünfte verschiedene Virusarten beinhalten. Das Pflanzgut stammte aus ökologischer (mit „Sternchen“ in Tabelle 1, 2 gekennzeichnet) als auch aus konventioneller Vermehrung.

\*Corresponding author: Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany; [katja.richert-poeeggeler@julius-kuehn.de](mailto:katja.richert-poeeggeler@julius-kuehn.de)

Vor der Verteilung auf die Standorte wurde das gelieferte Pflanzgut auf Pilzbefall bonitiert, der Knollendurchmesser, das mittlere Knollengewicht sowie Anzahl und Gewicht der Einzelzehen bestimmt und auf Virusbefall mit Hilfe der Immunoelektronenmikroskopie (IEM) bzw. der RT-PCR untersucht (Chen et al., 2004; Richert-Pöggeler et al., 2018, Abb. ). Parallel zu den Feldversuchen wurden die Blätter von im Gewächshaus ausgelegten Pflanzgut der Varianten auf die Potyviren onion yellow dwarf virus (OYDV) und leek yellow stripe virus (LYSV), mittels ELISA getestet, sowie auf das Alexivirus Garlic virus X mittels RT-PCR getestet. Darüber hinaus wurden in den Jahren 2018 und 2019 von je 2 Sorten symptomatische und asymptomatische Einzelpflanzen pro Standort auf Poty-, Alexi- und Carlaviren untersucht. Die Herbstpflanzung (11Pfl/m<sup>2</sup>) erfolgte jeweils auf einer randomisierten Versuchsanlage mit je 4 Wiederholungen. An jeweils drei Terminen wurde Feldaufgang, Austrieb in cm, Laubdicke, Laubfärbung, Blattverfärbungen, Rost-, Fusarium-, Blattlaus- und Thripsbefall, Abreifebeginn, Blattanzahl, Anzahl grüner Blätter, Blattlänge, Blattbreite, Pflanzenhöhe, Blütenstiellänge bonitiert. Im Juni/Juli erfolgte an beiden Standorten die Ernte der einzelnen Sorten/Herkünfte und Varianten in Abhängigkeit der individuellen Abreifegrade der Sorten. Nach der Frischluft-Trocknung der Knoblauchpartien wurden die Ertragsmessung und die Knollenbonitur durchgeführt.

Tabelle 1: Herkunft, Vermehrung und Genotypen der im ersten Versuchsjahr angebauten Knoblauchvarianten/-sorten.

Variante	Herkunft-original	Herkunft-aktuell	Typ
<b>Belarus *</b>	levenvanhetland.nl	G. Schmitz, DE 2017	Softneck
<b>Dornröschen*<sup>2</sup></b>	Herkunft 1996, 'Russischer'	Gärtnerei, DE 2016	Hardneck
<b>Echo</b>		Chrestensen, DE 2016	Hardneck
<b>Echo *</b>	Chrestensen, DE 2015	G. Schmitz, DE 2016	Hardneck
<b>Gardos</b>		Planasa, Spanien 2016	Hardneck
<b>Garpek<sup>2</sup></b>		Planasa, Spanien 2016	Hardneck
<b>Germidour<sup>2</sup></b>		Chrestensen, Frankreich 2016	Softneck
<b>Ljubasha</b>		Ukraine 2016	Hardneck
<b>Ljubasha *<sup>2</sup></b>	Ukraine 2011	Dörverden, DE 2016	Hardneck
<b>Ljubasha *<sup>2</sup></b>	Bamberg, DE 2014	Kultursaat, DE 2016	Hardneck
<b>Ljubasha-Rundling</b>		Ukraine 2016	Hardneck
<b>Slavin *<sup>2</sup></b>		Tschechien 2016	Hardneck
<b>Tallinn *</b>	Estland 2010	Kultursaat, DE 2016	Hardneck
<b>Thermidrome*<sup>2</sup></b>		Frankreich 2016	Softneck
<b>Thüringer (THÜLA) *<sup>23</sup></b>	Chrestensen, DE 2005	Kultursaat, DE 2016	Softneck
<b>Vekan *<sup>2</sup></b>	Tschechien	G. Schmitz, DE 2016	Hardneck

\*: aus ökologischem Anbau, Vermehrung.

<sup>2</sup>: für Anbau in den Folgejahren selektiert.

<sup>3</sup>: Thüringer wurde 2021 unter dem Sortennamen THÜLA beim Bundessortenamt angemeldet.

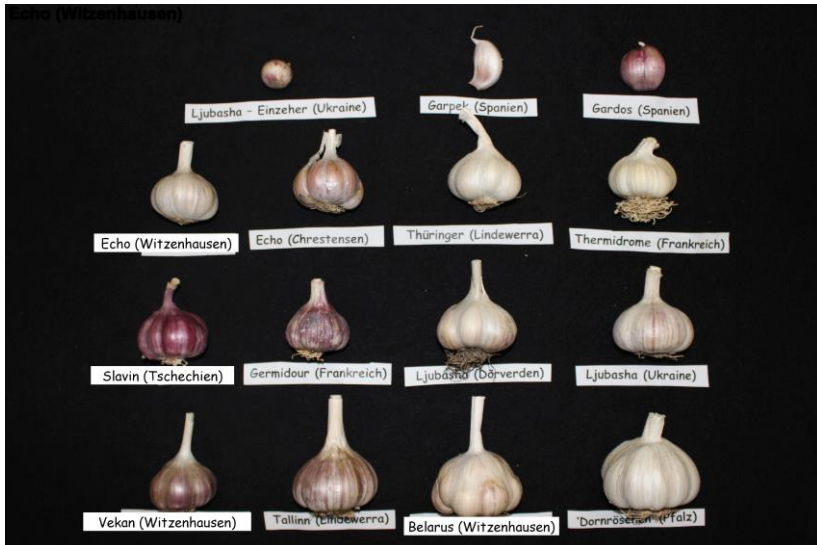


Abbildung 1: Pflanzgut (Knollen, Rundlinge) der verwendeten Sorten im Versuch 2016/2017

## Ergebnisse und Diskussion

Die Virusphäre beschreibt den Raum, in dem Viren auftreten und der von ihnen beeinflusst wird. Bei Knoblauch erscheint diese auf Grund der häufig vorkommenden Mischinfektionen und der sehr unterschiedlichen Auswirkungen auf die daran beteiligten Virusgruppen sowie auf die Wirtspflanze sehr komplex. Hinzu kommen die Verbreitungsmöglichkeiten der beteiligten Virusgruppen, die sowohl durch Vektoren (Blattläuse bzw. Gallmilben) als auch durch Kontakt (Saftkontaminationen) von Pflanze zu Pflanze bzw. von Zehe zu Zehe übertragen werden können.

Im Ausgangspflanzgut konnten zehn verschiedene Virusarten, nämlich die Potyvirusarten OYDV und LYSV, die Alexivirusarten *Garlic virus A* (GarVA), -B (GarVB), -C (GarVC), -D (GarVD) -X (GarVX), *Shallot virus X* sowie die Carlavirusarten *Garlic common latent virus* (GCLV) und *Shallot latent virus* (SLV) nachgewiesen werden (Tab. 2). Dabei dominierten die folgenden fünf Virusarten: OYDV, LYSV, GarVB, GarVD und GCLV. GarVX wurde in 4 Herkünften (Dornröschen, Ljubasha, Slavin, Vekan) nachgewiesen.

Auch in den aus Meristemen regenerierten Sorten Gardos, Garpek und Thermidrome, die für sechs Generationen im Feld angebaut worden waren, waren Potyviren nachzuweisen. Zwar waren in den Zehen von Germidour (Frankreich), Tallin (Estland) und Vekan (Tschechien) zu Projektbeginn keine Potyviren nachzuweisen, doch ließen sich im Pflanzgut Alexi- und Carlaviren detektieren. Interessanterweise waren Potyviren auch in den in den Jahren 2017 bis 2019 weiter angebauten Sorten Germidour und Vekan in einigen Wiederholungen nachweisbar. Eine mögliche Erklärung für den variierenden Potyvirus Nachweis in manchen Sorten sowie den

Potyvirusbefall von Meristem-nahen Sorten kann die ungleichmäßige Verteilung von Viren im Gewebe oder eine überproportionale Vermehrung befallener Zellen im Vergleich zu nicht befallenen Zellen sein. Die klonale Vermehrung von Knoblauch bewirkt, dass bei Virusbefall der Ausgangspflanze auch Bulbillen oder Rundlinge entsprechend infiziert waren. In den beiden ertragsstabilen Sorten Ljubasha und THÜLA (=Herkunft Thüringer) waren Poty-, Alexi- und Carlaviren während des gesamten Versuchszeitraums vorhanden. Ob und inwieweit das Mikrobiom sowie das natürliche, auf RNA-Interferenz basierende Abwehrsystem der Pflanze die Virusausbreitung und –vermehrung reguliert und somit die Ertragsstabilität beeinflusst, soll in weiteren Untersuchungen analysiert werden. Wir gehen eher nicht von Potyvirus Neuinfektionen durch Vektoren aus, da in dem Projektzeitraum auf beiden Standorten kein relevanter Befall mit Blattläusen zu beobachten war. Auch die Kontaktübertragung scheint eher unwahrscheinlich, da es sonst auch zu einer bestandesweiten Ausbreitung von GarV-X gekommen wäre, das über den gesamten Versuchszeitraum jedoch nur in einigen wenigen Herkünften zu finden war.

Tabelle 2: Virusnachweis in **Zehen** vor Pflanzung im Jahr 2016.

Sorte	Herkunft (original/aktuell)	TEM Nummer	Potyviren	Alexiviren	Carlaviren
Belarus*	NL/DE	TEM16-559Z	+	+	-
Dornröschen*	DE/DE	TEM16-560Z	+	+	+
Echo	DE	TEM16-552Z	+	+	+
Echo*	DE/DE	TEM16-551Z	+	+	+
Gardos	Spanien	TEM16-554Z	+	-	-
Garpek	Tschechien	TEM16-556Z	+	-	-
Germidour	Frankreich	TEM16-550Z	-	+	+
Ljubasha	Ukraine	TEM16-543Z	+	+	+
Ljubasha	Ukraine/DE	TEM16-542Z	+	-	-
Ljubasha	DE/DE	TEM16-540Z	+	+	+
Ljubasha,Rundling	Ukraine	TEM16-544R	+	+	+
Slavin	Tschechien	TEM16-547Z	+	+	+
Tallin	Estland	TEM16-545Z	-	+	+
Thermidrome	Frankreich	TEM16-557Z	+	+	+
Thüringer	DE/DE	TEM16-548Z	+	+	+
Vekan	Tschechien	TEM16-558Z	-	+	+

+ Viren nachgewiesen; - keine Viren nachgewiesen

Bei der Pflanzgut-Bonitur zu Versuchsbeginn im Jahr 2016 zeigten sich große Unterschiede hinsichtlich des mittleren Knollengewichtes, des Knollendurchmessers, der Anzahl der Zehen/Knolle sowie des mittleren Zehengewichtes (Abb.2, 3). Auffällig waren die großen Knollen der Sorte ‚Dornröschen‘, die von der Demeter-Gärtnerei Dornröschen seit vielen Jahren vermehrt wird. Allerdings zeigten die Knollen auch eine gewisse Austrocknung und eine hohe Anzahl an Zehen/Knolle, die nicht immer eine eigene Hülle aufwiesen.

Im zweiten Anbaujahr wurden auf Grund von Ertrag und Pflanzengesundheit 8 Knoblauch-Varianten (mit „2“ in Tab. 1, 2 gekennzeichnet) für den weiteren Anbau im Projekt ausgewählt.

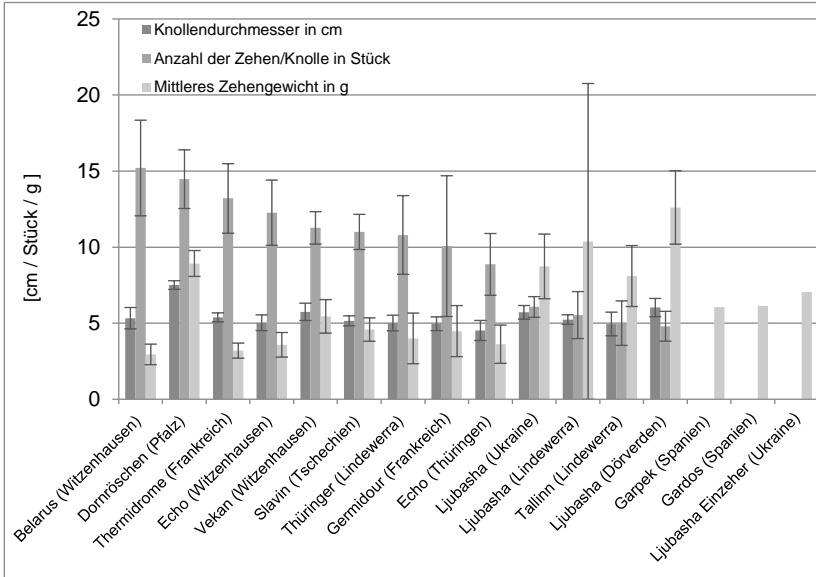


Abb. 2: Pflanzgutbonitur im Oktober 2016

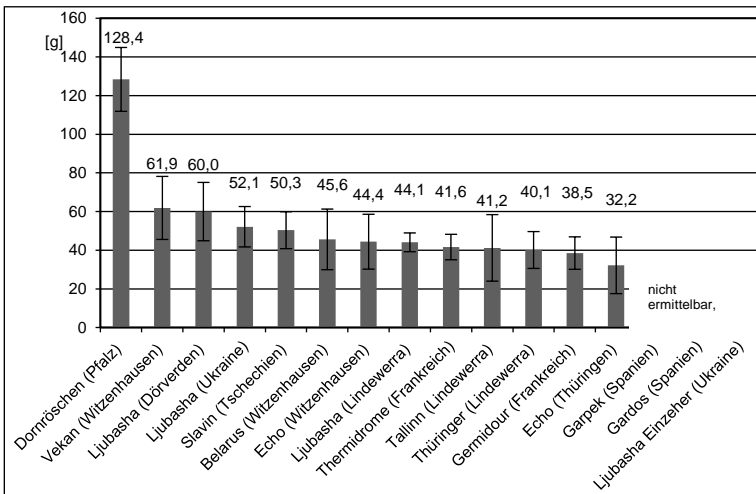


Abb. 3: Mittleres Knollengewicht des gelieferten Pflanzgutes 2016

Es gab bei allen Sorten/Herkünften und Varianten über die drei Versuchsjahre Ertragsschwankungen, die je nach Sorte und Standort unterschiedlich stark ausgeprägt waren. Ljubascha, z. B. zeigte zu Projektbeginn vergleichbare bzw. leicht erhöhte Erträge von 0,65-0,74 kg/m<sup>2</sup> (11 Pflanzen/m<sup>2</sup>) wie sie auch aus Bayern berichtet wurden, die bei 0,71 kg/m<sup>2</sup> (16,5 Pflanzen/m<sup>2</sup>) lagen (Schubert und Rascher, 2015). Relativ geringe Ertragsschwankungen von durchschnittlich 140 g/m<sup>2</sup> waren bei Ljubascha und ein sehr konstantes Ertragsniveau bei Thüringer (THÜLA) mit Schwankungen von durchschnittlich 50 g/m<sup>2</sup> über die drei Projektjahre zu beobachten.

## Schlussfolgerungen

1. Es gab keine relevanten Unterschiede im Potyvirus-Vorkommen bei Pflanzgut aus konventionellem oder ökologischem Vermehrungsanbau oder in meristem-nahen Herkünften. Freierwerdende „Virus-Nischen“ im Knoblauch können von anderen Virusarten eingenommen werden, die gleiche Auswirkungen wie die Potyviren auf die Pflanzengesundheit (s.u.) haben.
2. Blattverfärbungen in Form von Strichel- und/oder Streifenmustern, z. T. verbunden mit Wuchsminderungen und Deformationen weisen auf Virusbefall hin. Die häufig auftretenden Mischinfektionen lassen keine Virusartbestimmung anhand der Symptome zu. Die Bonitur sollte im Mai erfolgen und kranke Pflanzen entfernt werden, insbesondere wenn es sich um den Vermehrungsanbau handelt. Die **seit Dezember 2019 EU weit geltende Verordnung zur Pflanzengesundheit** (EU regulation 2016/2031, <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2016/2031/deu>) verlangt einen Pflanzenpass für den Vermehrungsanbau. Dazu ist eine Registrierung des Betriebes notwendig. Registrierte Betriebe, die selbst Pflanzenpässe ausstellen wollen, müssen vom zuständigen Pflanzenschutzdienst dazu ermächtigt werden (sog. *ermächtigte Unternehmer*). In der Verordnung werden für Knoblauch die Potyviren onion yellow dwarf virus und leek yellow stripe virus geregelt. Für leek yellow stripe virus ist ein Anteil symptomatischer Pflanzen nach visueller Bonitur von bis zu 1% im Bestand erlaubt (Picard et al., 2018).
3. Für die Virusidentifikation im Pflanzgut eignen sich IEM oder RT-PCR.
4. Die Vermehrung über Bulbillen bei Hardneck-Typen bewirkt keine Virusreduzierung.
5. Mehrere Faktoren wie z.B. Sorte/Herkunft, Pilzbefall (z. B. Fusarium oxysporum), Witterung, Standort sowie Schädlingsbefall (z. B. Gallmilben, Blattläuse) beeinflussen den Ertrag. Qualitätsmängel sind nicht allein durch einen Potyvirusbefall zu erklären.
6. Die Sorte Vekan zeigte sich tolerant gegenüber Potyviren, war jedoch sehr anfällig gegenüber Gallmilben und Allexiviren.

## Danksagung

Das Projekt „Entwicklung von Verfahren zur Reduzierung virusbedingter Qualitätsmängel bei Züchtung und Vermehrung von Knoblauchpflanzgut“ wurde im Programm zur Innovationsförderung von BMEL/BLE unter den Kennzeichen 313-06.01-28-1-82.090-15, -17, -115 gefördert.

## Literatur

- Chen, J., Zheng, H.-Y., Antoniw, J. F., Adams, M. J., Chen, J.-P., and Lin, L. (2004). Detection and classification of allexiviruses from garlic in China. *Arch Virol* 149, 435–445. doi: 10.1007/s00705-003-0234-2
- Liebig, N. et. al. (2020). Abschlussbericht „Entwicklung von Verfahren zur Reduzierung virusbedingter Qualitätsmängel bei Züchtung und Vermehrung von Knoblauchpflanzgut“. FKZ 2818208915, 2818209017, 2818209115
- Picard, C., Afonso, T., Benko-Beloglavec, A., Karadjova, O., Matthews-Berry, S., Paunovic, S. A., et al. (2018). Recommended regulated non-quarantine pests (RNQP s), associated thresholds and risk management measures in the European and Mediterranean region. *EPPO Bull* 48, 552–568. doi: 10.1111/epp.12500
- Richert-Pöggeler, K. R., Franzke, K., Hipp, K., and Kleespies, R. G. (2018). Electron Microscopy Methods for Virus Diagnosis and High Resolution Analysis of Viruses. *Front Microbiol* 9, 3255. doi: 10.3389/fmicb.2018.03255