

Feldstudie zum Vorkommen der Schwarzholzkrankheit in Franken und Methoden zu ihrer Bestimmung

Vergilbungskrankheiten der Rebe, die durch Phytoplasmen hervorgerufen werden, sind in Deutschland weit verbreitet (Herrmann 2002). Am wichtigsten ist die Schwarzholz- oder Vergilbungskrankheit, die von Phytoplasmen der Stolbur-Gruppe verursacht wird. Betroffen sind vor allem ältere Rebflächen in warmen, sonnigen Lagen auf skelettreichen Böden. Eine solche Lage wurde modellhaft in der Lage Retzbacher Benediktusberg (Landkreis Main-Spessart) während des Sommers 2002 beprobt.

ULLRICH GILGE, PETER SCHWAPPACH UND JOSEF V. HERRMANN, BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR WEINBAU UND GARTENBAU, WÜRZBURG/VEITSHÖCHHEIM
MICHAEL MAIXNER, BIOLOGISCHE BUNDESANSTALT FÜR LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT, INSTITUT FÜR PFLANZENSCHUTZ IM WEINBAU, BERNKASTEL-KUES
peter.schwappach@lwg.bayern.de

Im Jahr 2002 haben 26% aller Rebstöcke dieser 17 a grossen, über dreissig Jahre alten Scheureben-Anlage alle typischen Symptome der Schwarzholzkrankheit entwickelt. 59% der Rebstöcke wiesen mit mindestens einem Symptom auf eine Infektion hin, nur 40% aller Reben waren völlig symptomfrei. In der untersuchten Rebfläche war erwartungsgemäss der Vektor, die Zikade *Hyalesthes obsoletus* vorhanden, die auch in höchstem Masse (96%) mit den Phytoplasmen infiziert war. Zusätzlich wird der Nachweis von Phytoplasmen mit der Polymerase-chain-reaction (PCR) vorgestellt.

Schaderreger und Schadbild

Phytoplasmen sind *in vitro* nicht kultivierbare, vielgestaltige Bakterien ohne feste Zellwand. Sie treten in den Siebröhren des pflanzlichen Phloems auf und werden durch saugende Insekten, aber auch beim Pfropfen übertragen. Von den insgesamt fünf an Reben beschriebenen Gruppen (Boudon-Padieu 2000) konnten in Deutschland bislang nur die Stolbur- und die Elm Yellows-Gruppe (EY) nachgewiesen werden (Maixner et al. 1995). Sie werden durch DNA-Sequenzvergleich und RFLP-Analysen ribosomaler Gene klassifiziert (Lee et al. 1998, Seemüller et al. 1998). Da in Franken nur Phytoplasmen der Stolbur-Gruppe nachgewiesen wurden, werden im Folgenden nur diese Symptome an der Rebsorte Scheurebe beschrieben.

Die Leitsymptome von Phytoplasmosen sind Blattvergilbungen, Wuchsanomalien an Trieb und Wurzel, Defekte der Frucht- und Holzreife sowie reproduktive Störungen (McCoy 1989). Bei der Schwarzholzkrankheit der Rebe ist die Beschränkung der Sympto-

me auf wenige Triebe charakteristisch; erst im Spätstadium wird die ganze Pflanze befallen. An den Blättern der Haupttriebe entwickeln sich im September schmale, gelbe Bänder längs der ebenfalls vergilbenden Hauptadern sowie Nekrosen (Abb. 1 und 2); die Geiztriebblätter können sich messingartig verfärben



Abb. 1: Gelbe, bänderartige Verfärbungen längs der Blattadern und beginnende, sektorielle Blattnekrosen an einer infizierten Rebe. (Alle Fotos ausser Abb. 5: Ullrich Gilge)

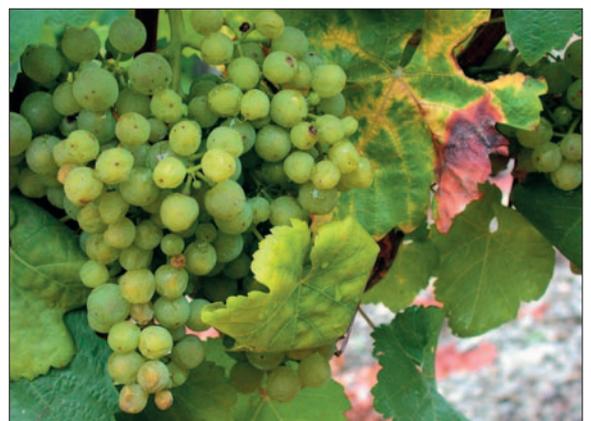


Abb. 2: Schrumpfen der Beeren, Blattverfärbungen und Nekrosen an der Sorte Scheurebe.

und einrollen. An den erkrankten Trieben verdorren oder verrieseln die Gescheine. Wenn Trauben zur Entwicklung kommen, schrumpfen sie im unreifen Zustand ein (Abb. 3), verfärben sich graugrün und fallen ab. Verbliebene Beeren besitzen keinerlei sortentypisches Aroma mehr, sind auffällig sauer und bitter. Aus qualitativen Gründen dürfen sie nicht zur Weinbereitung verwendet werden. Die infizierten Triebe bleiben im Entwicklungsstand des Sommers stehen und reifen verzögert beziehungsweise während des Spätsommers und Herbstes unregelmässig aus (Abb. 4). An den Internodien sieht man oft reihenförmige, dunkle Pusteln. Nach einigen Jahren können besonders stark geschädigte Rebstöcke absterben; kranke Reben können sich jedoch auch erholen (Herrmann 2002).

Die Symptome der Krankheit sind sortenabhängig. Eine Kombination aller beschriebenen Merkmale beobachtet man vor allem bei Scheurebe und Riesling. Rotweinsorten zeigen zum Beispiel im Spätsommer an den Blättern sektorielle Rotfärbungen, die fortschreiten und schliesslich die ganze Blattfläche erfassen.

Übertragung und Bedeutung

Die Übertragung der Phytoplasmen erfolgt in der Regel durch phloemsaugende Insekten; auch in Franken wurde die Zikade *Hyaletthes obsoletus* (Abb. 5) als Vektor nachgewiesen (Maixner 1994). Die Phytoplasmen der Schwarzholzkrankheit werden beim Saugen an infizierten Begleitpflanzen, zum Beispiel der Ackerwinde, aufgenommen, durchdringen die Darmwand des Wirts und gelangen schliesslich in seine Speicheldrüsen. Von dort können sie in die nächste besaugte Pflanze gelangen. Schon eine einmalige Inokulation sorgt für eine dauerhafte Infektion der Wirtspflanze (Sinha 1984). Auch an der Ackerwinde, der in Franken typischen Wirtspflanze von *H. obsoletus*, können typische Wuchsveränderungen (Starrtracht) beobachtet werden.

Der wirtschaftliche Schaden, der dem fränkischen Weinbau durch Phytoplasmosen entsteht, wurde bislang eher als gering eingeschätzt (Herrmann 2002). An der Mosel wurde bei kranken Reben im Durchschnitt eine Halbierung des Ertrags festgestellt. Da häufig alte Reben in den besten Lagen betroffen sind, ist zumindest eine Kappung der Qualitätsspitze zu befürchten, zumal kranke Trauben signifikant verringerte Mostgewichte und extreme Säurewerte aufweisen.

Durch die Rodung befallener Rebflächen wird eine Umstellung auf Sorten mit geringerer Symptomausprägung möglich. Das kann zwar den Ertragsverlust kompensieren, das Gefährdungspotenzial wird dadurch aber nicht reduziert oder gar eliminiert.

Untersuchungen

Für unsere Feldstudien wurde eine über 30-jährige Anlage im Retzbacher Benediktusberg (Landkreis Main-Spessart) ausgewählt, die auf einer Fläche von 17 a mit Scheurebe bepflanzt ist. Diese Lage ist ein



Abb. 3: Einschrumpfen der Beeren an einem Stolbur-infizierten Stock der Sorte Scheurebe.



Abb. 4: Unregelmässige Holzausreife am einjährigen Trieb, beobachtet Ende September 2002.



Abb. 5: Die Zikade *Hyaletthes obsoletus*, Vektor der Schwarzholzkrankheit. (Foto: Michael Maixner)

Schwarzholzkrankheit: Situation in der Schweiz

Die Schwarzholzkrankheit wird in der Westschweiz und im Tessin seit Anfang der 90er-Jahre beobachtet und seit dem Jahr 2000 vielfach mit molekularen Tests nachgewiesen. Bis anhin wurde die Krankheit auf den Sorten Chardonnay, Diolinoir, Doral, Gamaret und Merlot gefunden (Revue Suisse Vitic. Hortic. Arboric Vol. 34 (1): 15–17, 2002). Grössere Schäden wurden im Tessin und im Wallis registriert. Die kranken Stöcke sind vermehrt am Parzellenrand zu finden. Der Krankheitserreger wurde auch in den angeblichen Vektoren (*Hyaletthes obsoletus*) sowie in Unkräutern diagnostiziert. Letztere gelten als Krankheitsquellen für die Schwarzholzkrankheit. Die mehr gefürchtete Vergilbung «Flavescence dorée» wurde bis heute in der Schweiz noch nicht gefunden, obwohl deren Vektoren (*Scaphoideus titanus*) im Tessin und im Kanton Gené vorkommen.

PAUL GUGERLI, AGROSCOPE RAC, CHANGINS

klassischer Muschelkalkstandort mit steilen, skelettreichen Südhängen, die zu den besten in Franken zählt. Dort stehen bevorzugt Riesling, Scheurebe, Grauer Burgunder und Silvaner. In vielen Parzellen dieses Hangs kann man die Symptome der Phytoplasma beobachtet.

Im Juni und Juli wurde dort aus dem Unterwuchs der Anlage *H. obsoletus* mit einem handelsüblichen Laubsauger (Husqvarna Partner BV 24) gesammelt. Dazu wurde der Ansaugstutzen des Saugers mit einem Sanitär-Rohr (KG-Rohr) verlängert und in das zweiteilige Rohr ein Feinstrumpf eingelegt, der als leicht auswechselbare Falle diente. Aus dem Falleninhalt wurden sofort nach dem Saugen die Vektoren ausgelesen, mittels Glasrohr in einen kleinen Erlenmeyer-Kolben überführt und durch Schnellfrost bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ getötet und konserviert. Alle Zikaden wurden einzeln aufbereitet und ihre DNA extrahiert.

Die Aufbereitung der so gewonnenen Proben und die molekularbiologischen Nachweise wurden nach Reinert (1999) durchgeführt. Der Phytoplasmennachweis erfolgte mit Primern, deren Zielsequenzen im Bereich des 16S rRNA-Gens liegen. Es kamen die Paare rSTOL/fSTOL (spezifisch für Phytoplasmen der Stolbur-Gruppe) sowie P1/P7 (breit detektierend) zur Anwendung. Die visuelle Auswertung erfolgte nach Agarose-Gelelektrophorese in Gegenwart von Ethidiumbromid durch fotografische Dokumentation der im UV-Licht sichtbaren Banden. Bei *Hyalesthes obsoletus* gelingt der Phytoplasmennachweis problemlos, bei Rebmateriale ist die angewandte Methode jedoch je nach Symptomstärke und phänologischem Stadium nicht immer ausreichend sensitiv.

Alle Stöcke der Anlage wurden Ende September auf folgende Symptome der Phytoplasmaose bonitiert:

- schwarze Pusteln an einjährigen Trieben
- Vergilbungen längs der Blattadern
- nach unten gerollte Blätter
- ungleichmässige Holzreife
- eingeschrumpfte Beeren

Treten alle fünf Kriterien auf, ist das Vollbild der Krankheit erfüllt. Die beiden letzten Symptome in Kombination gelten als sicherer Hinweis für die Schwarzholzkrankheit.

Ergebnisse

Untersuchung der Zikaden

122 *Hyalesthes obsoletus* wurden auf der Rebfläche gesammelt, hauptsächlich auf der Ackerwinden-Begleitflora. Alle Tiere wurden einzeln für die PCR aufbereitet und auf das Vorhandensein von Phytoplasmenn-DNA analysiert. Dabei wurden 96% als Stolburpositiv getestet. Auf einer weiteren Rebfläche der gleichen Lage mit typischen Symptomen wurden 76 *Hyalesthes* gefangen, deren Durchseuchungsgrad nach vorläufigen Ergebnissen sogar 100% betrug. Abbildung 6 zeigt den Nachweis der DNA von Stolbur-Phytoplasmen in vier verschiedenen Individuen von *H. obsoletus* (dunkle Bandenmuster in der rechten Bildhälfte). Das Fehlen von dunkel gefärbten Banden in fünf Proben links neben dem Standard (= Streifen-

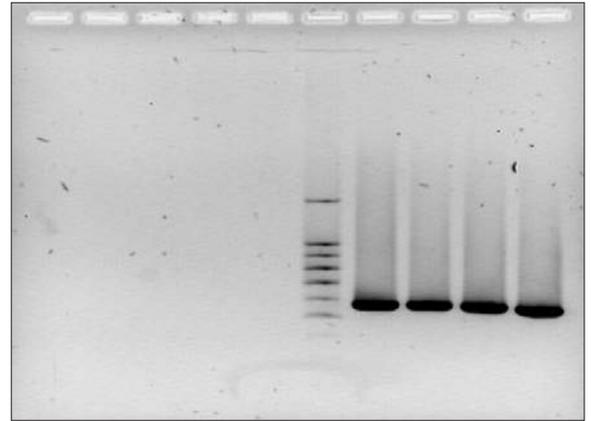


Abb. 6: Gelelektrophoretischer Nachweis der PCR-Produkte, die mit Stolbur-spezifischen Primern erhalten wurden. Amplifizierte DNA, die aus *H. obsoletus* isoliert wurde (rechts neben dem Molekulargewichtsstandard in der Bildmitte; linke Bildhälfte: kein Nachweis).

muster in der Mitte der Abbildung) zeigt, dass in diesen Insekten keine Phytoplasmenn-DNA nachgewiesen werden konnte.

Bonitur der Rebstöcke

Über ein Viertel (26%) der insgesamt 751 bonitierten Reben in der untersuchten Anlage zeigte das Vollbild der Stolbur-Phytoplasmaose (in Abb. 7 rot dargestellt). Bei weiteren 13% wurden die beiden wichtigsten Symptome – ungleichmässige Holzreife und Einschrumpfen der Beeren – beobachtet (gelbe Flächen in Abb. 7). Demnach waren insgesamt 39% der Stöcke von der Schwarzholzkrankheit betroffen. Weitere 12% zeigten unsichere Symptome und nur 41% blieben völlig frei von Symptomen (grüne Felder); 30 Fehlstellen wurden dokumentiert (in Abb. 7 weiss dargestellt). Die Darstellung zeigt, dass die Anlage massiv mit Phytoplasmenn infiziert ist, wenngleich keine herdartige Verbreitung beobachtet werden kann. Die Krankheit bleibt auf einzelne Stöcke, vor allem im unteren Teil der Anlage, begrenzt.

Bekämpfungsmöglichkeiten

Eine direkte Bekämpfung der Phytoplasmaose ist derzeit nicht möglich. Aber auch die Bekämpfung des Vektors mit Insektiziden erscheint nicht sinnvoll, da *Hyalesthes obsoletus* die Rebe nur zufällig aufsucht. Wichtig ist deshalb, potenziell infizierte Wirtspflanzen der Zikade wie Ackerwinden konsequent aus den Rebanlagen zu entfernen. Untersucht wird zurzeit, inwieweit die im Boden lebenden Larven des Vektors durch Bodenbearbeitungsmassnahmen geschädigt werden können (Langer und Maixner 2003). Empfehlenswert ist die strikte Verwendung von zertifiziertem Pflanzgut bei Neuanlagen, um die Schwarzholzkrankheit nicht in bisher unbeeinträchtigte Areale zu verbringen. Da von schwarzholzkranken Reben selbst keine Infektionsgefahr ausgeht, sind Massnahmen wie die Rodung befallener Anlagen und die Entfernung kranker Stöcke, die zur Bekämpfung anderer Vergilbungskrankheiten ergriffen werden, nicht not-

wendig. Erkrankte Triebe sollten jedoch keinesfalls als Zielholz verwendet und alles kranke Holz sollte beim Rebschnitt sorgfältig entfernt werden.

Ausblick

Durch weitere Untersuchungen soll der qualitative Nachweis von Phytoplasmen in der Begleitflora und den Rebstöcken der Untersuchungsfläche in Retzbach erfolgen. Ein modifiziertes PCR-Testverfahren, mit dem an der Mosel der Nachweis in Pflanzen bereits erfolgreich verlief, soll künftig auch in Franken eingesetzt werden.

Wichtig sind ausserdem zusätzliche Kenntnisse über das Vorkommen der Vergilbungskrankheit im fränkischen Weinbaugebiet, die bislang fehlen.

Inwieweit die Umstellung auf weniger empfindliche Sorten das Infektionspotenzial verringert, kann erst nach Rodung und Neupflanzung abgeschätzt werden. Daher ist es notwendig, den weiteren Krankheitsverlauf in dieser Anlage zu beobachten, auch oder gerade wenn sie mit anderen Sorten bepflanzt wird.

Merkblatt: Schwarzholzkrankheit der Rebe

Die Schwarzholzkrankheit (Bois noir) ist eine Vergilbungs-krankheit der Rebe, die von zellwandlosen Bakterien (so genannten Phytoplasmen) verursacht wird. Zur Übertragung der Krankheit auf die Rebe sind Vektoren (Überträger) erforderlich. Der einzige bisher bekannte Vektor der Schwarzholzkrankheit ist die Wärme liebende Zikade *Hyalesthes obsoletus*.

Die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) in Braunschweig (D) hat ein vierseitiges Merkblatt über Symptome und Regulationsmöglichkeiten herausgegeben.

Das Merkblatt kann unter www.bba.de/veroeff/popwiss/popwiss.htm gratis heruntergeladen oder bei BBA, Messeweg 11/12, D-38104 Braunschweig bestellt werden.

Literatur

Das Literaturverzeichnis kann bei den Autoren angefordert werden.

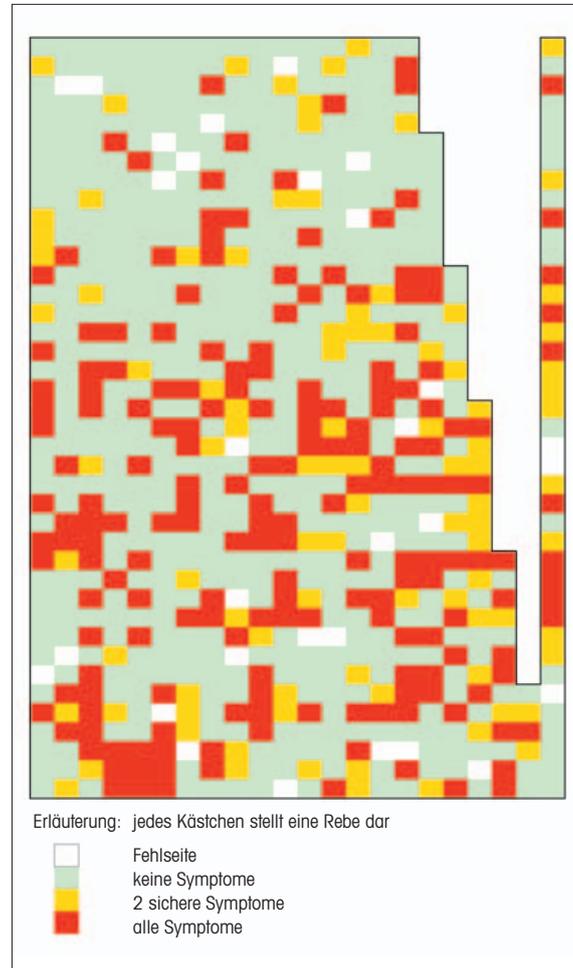


Abb. 7: Schematische Darstellung (Stockplan) der Phytoplasmeninfektion am Retzbacher Benediktusberg.

RÉSUMÉ

Etude de terrain sur la présence de la maladie du bois noir et méthodes pour la déterminer

Les maladies de flétrissure de la vigne provoquées par des phytoplasmes sont très répandues en Allemagne, la plus fréquente étant la maladie du bois noir que provoquent des phytoplasmes du groupe *Stolbur*. Elle sévit surtout dans les vignobles déjà anciens en exposition chaude et ensoleillée sur des sols riches en dépôts squelettiques. Des échantillons ont été prélevés à titre d'exemple durant l'été 2002 sur le Retzbacher Benediktusberg (dist. de Main-Spessart dans la région viticole de Franconie) qui correspond tout à fait à ce profil. 26% des ceps de ce vignoble planté de Scheurebe qui a plus de 30 ans et couvre une superficie de 17 a ont développé tous les symptômes caractéristiques connus de la maladie du bois noir en 2002. 59% des ceps présentaient au moins un symptôme révélateur d'une infection, seulement 40% de tous les ceps étaient entièrement indemnes de symptômes. Dans les vignobles étudiés, la cigale *Hyalesthes obsoletus*, un vecteur connu de la maladie du bois noir, était également très présente et très fortement infestée (96%) de phytoplasmes. Dans le texte, les auteurs décrivent aussi la méthode de dépistage de phytoplasmes par réaction en chaîne de polymérase (PCR).