

## Feldstudie zum Vorkommen der Schwarzholzkrankheit in Franken und Methoden zu deren Bestimmung



*Veröffentlichung aus:  
Rebe und Wein Nr. 5, 2003, S. 17-19*

**Peter Schwappach<sup>a</sup>, Ullrich Gilge<sup>a</sup>, Josef V. Herrmann<sup>a</sup>  
und Michael Maixner<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>Bayerische Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau, Würzburg/Veitshöchheim,

<sup>b</sup>Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für  
Pflanzenschutz im Weinbau, Bernkastel-Kues

**Sachgebiet Rebschutz**

Bayerische Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau  
Herrnstraße 8, 97209 Veitshöchheim

Tel: 0931/9801-572 • e-mail: peter.schwappach@lwg.bayern.de

# Feldstudie zum Vorkommen der Schwarzholzkrankheit in Franken und Methoden zu deren 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 (Lkr. Main-Spessart) während des Sommers 2002 beprobt. 26% aller Rebstöcke dieser 17 ar großen, über 30 Jahre alten Scheureben-Anlage, haben im Jahr 2002 alle typischen Krankheitssymptome entwickelt, die von der Schwarzholzkrankheit bekannt sind. 59% der Rebstöcke wiesen mit mindestens einem Symptom auf eine Infektion hin, nur 40% aller Reben waren völlig frei von Symptomen. 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 Stolburgruppe 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 Symptome 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 und einrollen.



Abb.1: Gelbe, bänderartige Verfärbungen längs der Blattadern und beginnende, sektorielle Blattnekrosen an einer infizierten Rebe



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



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

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 herangezogen werden. Die infizierten Triebe bleiben im Entwicklungsstand des Sommers stehen und reifen verzögert bzw. während des Spätsommers und Herbstes unregelmäßig aus (Abb. 4).



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

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 z.B. im Spätsommer an den Blättern sektorische 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 *Hyalesthes obsoletus* (Abb. 5) als Vektor nachgewiesen (Maixner, 1994).

Die Phytoplasmen der Schwarzholzkrankheit werden beim Saugen an infizierten Begleitpflanzen, z.B. der Ackerwinde aufgenommen, durchdringen die Darmwand des Wirtes 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.



Abb. 5: Die Zikade *Hyalesthes obsoletus*, Vektor der Schwarzholzkrankheit

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 (Lkr. Main-Spessart) ausgewählt, die auf einer Fläche von 17 ar mit Scheurebe bepflanzt ist. Diese Lage ist ein 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 Hanges kann man die Symptome der Phytoplasnose beobachten.

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 dient. Aus dem Falleninhalt wurden sofort nach dem Saugen die Vektoren ausgelesen und mittels Glasrohr in einen kleinen Erlenmeyer-Kolben überführt und durch Schnell-Frost bei minus 18°C getötet und konserviert. Alle Zikaden wurden einzeln aufbereitet und deren 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 *Hyalecthes obsoletus* gelingt der Phytoplasmennachweis problemlos, bei Rebmateriale ist die angewandte Methode jedoch je nach Symptomstärke und phänologischem Stadium bei Rebmateriale nicht immer ausreichend sensitiv.

Alle Stöcke der Anlage wurden Ende September auf folgende Symptome der Phytoplasnose 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 Phytoplasmen-DNA analysiert. Dabei wurden 96% als Stolbur-positiv getestet. Auf einer weiteren Rebfläche der gleichen Lage mit typischen Symptomen wurden 76 *Hyalesthes* gefangen, deren Durchseuchungsgrad nach vorläufigen Ergebnissen sogar 100% beträgt. Abb. 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 (= Streifenmuster in der Mitte der Abbildung) zeigt, dass in diesen Insekten keine Phytoplasmen-DNA nachgewiesen werden konnte.

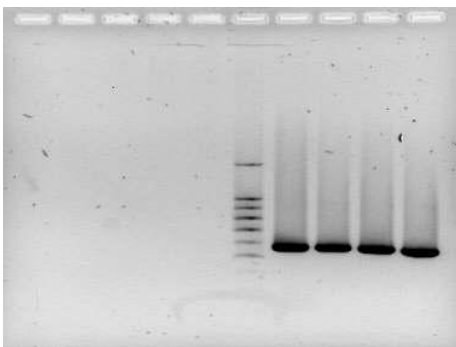


Abb.6: Gelelektrophoretischer Nachweis der PCR-Produkte, die mit Stolbur-spezifischen Primern erhalten wurden.

Amplifizierte DNA, die aus *H. obsoletus* isoliert wurde (rechts neben dem Molekulargewichtsstandard in der Bildmitte; linke Bildhälfte: kein Nachweis)

### Bonitur der Rebstöcke

Über ein Viertel (26%) der insgesamt 751 bonitierten Reben in der untersuchten Anlage zeigte das Vollbild der Stolbur-Phytoplasiose (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 Phytoplasmen infiziert ist, wenngleich keine herdartige Verbreitung beobachtet werden kann. Die Krankheit bleibt auf einzelne Stöcke, vor allem im unteren Teil der Anlage, begrenzt.

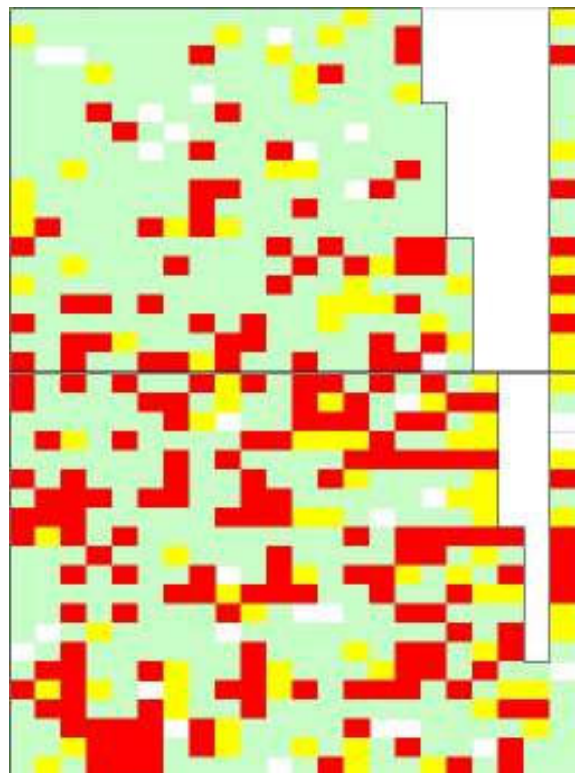


Abb. 7: Stockplan der Infektion mit Phytoplasiose: rot: alle Symptome sichtbar, gelb: sichere Hinweise auf Infektion, grün: keine Symptome, weiß: Fehlstellen

## **Bekämpfungsmöglichkeiten**

Eine direkte Bekämpfung der Phytoplasnose ist derzeit nicht möglich. Aber auch die Bekämpfung des Vektors mit Insektiziden erscheint nicht sinnvoll, da *Hyalesthes obsoletus* nicht ampelophag lebt, sondern die Rebe nur zufällig aufsucht. Wichtig ist deshalb, potentiell infizierte Wirtspflanzen der Zikade, wie Ackerwinden, konsequent aus den Rebanlagen zu entfernen. Untersucht wird zur Zeit, 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 unbefallene 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 notwendig. 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. Deshalb bittet der Amtliche Rebschutzdienst an der Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau in Veitshöchheim um umgehende Information, falls der Verdacht auf Infektion mit Phytoplasmen besteht.

In wie weit 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.

Fotos und Abbildungen: U. Gilge, Abb. 5: M. Maixner

## Literatur

- Boudon-Padieu, E.: Recent advances on grapevine yellows : detection, etiology, epidemiology and control strategies. Extended Abstracts 13th Meeting ICVG, Adelaide, Australia, 12. - 17. March 2000, 87-88 (2000)
- Lee, I.M., Gundersen-Rindal, D.E., Davis, R.E. Bartoszyk, I.M.: Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *Int. J. Syst. Bacteriology* 48, 1153-1169 (1998).
- Herrmann J. V., Maixner M.: Vergilbungskrankheiten an Reben – auf dem Vormarsch? *Rebe & Wein* 7, 19-22 (2002)
- Langer, M., Maixner, M.: Control of phytoplasma vectors in organic viticulture. Abstract, IOBC/wprs working group "Integrated control in viticulture", Volos, Griechenland, 18. 23. März 2003.
- Magarey P. A., Wachtel M. F.: Australian grapevine yellows. *Int. J. Trop. Plant Dis.* 4, 4-14 (1986)
- Maixner M., Ahrens U., Seemüller E.: Detection of the German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) MLO in grapevine, alternative hosts and a vector by a specific PCR procedure. *Eur. J. Plant Pathol.* 101, 241-250 (1995)
- Maixner M.: Transmission of German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) by the planthopper *Hyalesthes obsoletus* (Auchenorrhyncha: Cixiidae). *Vitis* 33, 103-104 (1994)
- Maixner, M., Rüdell, M., Daire, X. und Boudon-Padieu, E. (1995): Diversity of grapevine yellows in Germany. *VITIS* 34, 235-236.
- McCoy R. E., Caudwell A., Chang C. J., Chen T. A., Chyikowski L. N., Cousin M.-T., Daale De Leuw G. T. N., Golino D. A., Hackett K. J., Kirkpatrick B. C., Marwitz R., Petzold H., Sinha R. H., Sugiura M., Whitcomb R. F., Yang I. L., Zhu B. M., Seemüller E.: Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms. In: Whitcomb R. F., Tully J. G. [Hrsg.]: *The Mycoplasmas*, Vol. V, pp 545-560. New York: Academic Press (1989)
- Reinert W.: Detektion und Differenzierung rebpathogener Phytoplasmen (Mollicutes, Eubacteria) in Deutschland unter Berücksichtigung phytopathologischer Aspekte. Diss. Univ. Darmstadt (1999)
- Schneider B.: Differenzierung, Charakterisierung und Klassifizierung phytopathogener Mykoplasmen mit Methoden der molekularen Biologie. Diss. Univ. Heidelberg (1992)
- Seemüller E., Marcone C., Lauer U., Ragozzino A., Göschl M.: Current status of molecular classification of the phytoplasmas. *J. Plant Pathol.* 80, 3-26 (1998)
- Sinha R. C.: Transmission mechanism of mycoplasma-like organisms by leafhopper vectors. In: Harris K. F. [Hrsg.]: *Current topics in vector research*, Vol. II, pp. 93-109. New York, Philadelphia, Eastbourne: Praeger Scientific (1984)
- Weber A., Maixner M.: Habitat requirements of *Hyalesthes obsoletus* (Auchenorrhyncha: Cixiidae) and approaches to control this planthopper in vineyards. *IOBC/WPRS Bulletin* 21 (2), 77-78 (1998)