

Untersuchungen zur Europäischen Steinobstvergilbung (ESFY) in Deutschland

Barbara Jarausch · Isabel Mühlentz · Annette Fuchs · Isabelle Lampe · Uwe Harzer · Wolfgang Jarausch

Eingegangen: 14 September 2007 / Angenommen: 4 Oktober 2007 / Online veröffentlicht: 6 November 2007
© Springer-Verlag 2007

Zusammenfassung Von 2003 bis 2007 wurden in verschiedenen Steinobstanbaugebieten in Südwestdeutschland visuelle Bonituren durchgeführt, um die Verbreitung der Europäischen Steinobstvergilbung (European stone fruit yellows, ESFY) in Deutschland zu untersuchen. Probenahmen in ausgewählten Referenzanlagen in den Regionen Neuwieder Becken, Rheinhessen, Vorderpfalz und Südpfalz erfolgten regelmäßig im Sommer und Frühjahr an Bäumen, die ESFY-typische Symptome aufwiesen, aber auch an Trieben von Bäumen mit unsicheren Symptomen. Alle Pflanzenproben wurden mit PCR (Polymerase Chain Reaction = Polymerase-Kettenreaktion) auf Infektion mit *Candidatus* Phytoplasma prunorum untersucht. Das Phytoplasma konnte in allen untersuchten Regionen auf den kultivierten *Prunus*-Arten *P. armeniaca*, *P. persica* und *P. domestica* nachgewiesen werden. Auf wilden *Prunus*-Arten wurden keine Infektionen gefunden. Die Krankheit war am stärksten auf Aprikose verbreitet, während Pfirsich und Pflaume weniger betroffen waren. Eine gute Korrelation zwischen visueller Bonitur und molekularem Nachweis des Erregers konnte für die typischen Sommer- und Wintersymptome sowohl bei *P. armeniaca* als auch *P. persica* ermittelt werden.

Mit regelmäßigen Fängen in den Referenzanlagen konnte die Populationsdynamik der Blattsaugerart *Cacopsylla pruni* über mehrere Jahre in Südwestdeutschland

beschrieben werden. Die höchsten Populationsdichten wurden auf wilden *Prunus*-Arten gefunden. Alle gefangenen Einzeltiere wurden mittels PCR auf den Erreger getestet. Es konnte eine jährliche natürliche Infektionsrate von 1–2% aller Individuen von *C. pruni* ermittelt werden.

Schlüsselwörter *Candidatus* Phytoplasma prunorum · *Prunus*-Arten · Symptomkorrelation · *Cacopsylla pruni* · Populationsdynamik · Natürlicher Infektionsgrad

Research on European stone fruit yellows (ESFY) in Germany

Abstract From 2003 to 2007 surveys have been conducted in different stone fruit growing regions in southwest Germany to detect European stone fruit yellows (ESFY) disease in Germany. Samplings have been done regularly in selected reference orchards in the regions Neuwieder Becken, Rheinhessen, Vorderpfalz and Südpfalz in summer on trees showing ESFY typical symptoms as well as on branches of trees with unspecific symptoms. All samples have been analysed by PCR for infection with *Candidatus* Phytoplasma prunorum. The phytoplasma could be detected in all investigated regions on the cultivated *Prunus* species *P. armeniaca*, *P. persica* and *P. domestica*. No infection was found in wild *Prunus* species. The main spread of the disease appeared on apricot while peach and European plum were less affected. A good correlation between symptoms and molecular detection of the pathogen could be shown for the typical symptoms in summer and winter for apricot as well as for peach.

During regular psyllid captures in the reference orchards the population dynamics of *Cacopsylla pruni* could be described in southwest Germany for several years. By PCR-testing all collected insects individually a yearly natural in-

B. Jarausch (✉) · I. Mühlentz · A. Fuchs · W. Jarausch
AlPlanta-Institute for Plant Research, RLP AgroScience,
Breitenweg 71, 67435 Neustadt a. d. Weinstrasse, Germany
E-Mail: barbara.jarausch@agrosience.rlp.de
Tel.: +49-6321-6711308

I. Lampe · U. Harzer
Kompetenzzentrum Gartenbau, DLR Rheinpfalz,
Breitenweg 71, 67435 Neustadt a. d. Weinstrasse, Germany

fection rate of about 1–2% of all individuals of *C. pruni* could be calculated.

Keywords *Candidatus* Phytoplasma prunorum · *Prunus* species · Symptom correlation · *Cacopsylla pruni* · Population dynamics · Natural infection rate

Einleitung

Die Europäische Steinobstvergilbung ist eine im gesamten mittel- und südeuropäischen Raum verbreitete Quarantänekrankheit des Steinobsts, die durch ein bestimmtes Phytoplasma, das *Candidatus* Phytoplasma prunorum (Seemüller u. Schneider 2004), früher ESFY-Phytoplasma, verursacht wird (Jarausch et al. 1998). Dieser Erreger ruft Krankheiten bei verschiedenen *Prunus*-Arten in Europa hervor: „Apricot chlorotic leaf roll“ (Morvan 1977), „Plum leptonecrosis“ (Giunchedi et al. 1978) „Peach yellows“ und „Peach decline“ (Poggi Pollini et al. 1993; Marcone et al. 1996). Lorenz et al. (1994) bestimmten die gemeinsame Herkunft dieser Krankheiten und nannten sie „European stone fruit yellows“ (ESFY). *Ca. P. prunorum* ist sehr nahe verwandt mit den Phytoplasmen, die die Apfelfriebsucht (Apple Proliferation Phytoplasma = *Candidatus* Phytoplasma mali) bzw. den Birnenverfall (Pear Decline Phytoplasma = *Candidatus* Phytoplasma pyri) hervorrufen (Seemüller u. Schneider 2004). *Ca. P. prunorum* wurde bislang in fast allen untersuchten *Prunus*-Arten nachgewiesen, sowohl auf kultivierten (Jarausch et al. 1998) als auch auf wilden Spezies (Jarausch et al. 2001; Carraro et al. 2002; Labonne u. Lichou 2004). Hochanfällig sind Aprikose (*P. armeniaca*), Japanische Pflaume (*P. salicina*) und Pfirsich (*P. persica*). Andere *Prunus*-Arten wie Europäische Pflaume (*P. domestica*), Mandel (*P. amygdalus*), Mirabelle (*P. insititia*), Schlehe (*P. spinosa*) sowie *Prunus*-Unterlagen vom Typ Myrabolan (*P. cerasifera*) oder GF 8–1 (*P. marianna*) können als mehr oder weniger tolerant gelten. Einige Genotypen sind sogar resistent. Kirschen konnten bislang nur experimentell infiziert werden.

Die Symptome der Krankheit wurden bereits 1924 in Südfrankreich beschrieben (Chabrolin 1924). Bis vor wenigen Jahren war die Krankheit nur südlich der Alpen und im Mittelmeerraum bekannt. Vor kurzem erschienen jedoch vermehrt Berichte über den Nachweis der Krankheit nördlich der Alpen: In Österreich (Laimer Da Camara Machado et al. 2001), in der Schweiz (Ramel u. Guggerli 2004) und in Tschechien (Fialova et al. 2004). In Deutschland war die Krankheit bis vor kurzem in der Praxis unbekannt, obwohl *Ca. P. prunorum* bereits 1992 in Deutschland nachgewiesen wurde (Lederer u. Seemüller 1992). Nähere Untersuchungen in den Steinobstanlagen erfolgten aber nicht.

Die Blattsaugerart *Cacopsylla pruni* Scopoli (*Psyllinae*) wurde bereits in mehreren europäischen Ländern als Vektor von *Ca. P. prunorum* nachgewiesen (Carraro et al. 1998; Jarausch et al. 2001; Labonne u. Lichou 2004). *C. pruni* kommt überall in Europa vor, so auch in Deutschland. Nachdem in Frankreich lange Jahre vergeblich Zikaden als Überträger von *Ca. P. prunorum* untersucht wurden, wird *C. pruni* heute als einziger Überträger der Krankheit in Italien und Frankreich angesehen. Deshalb wurden die Untersuchungen in dieser Arbeit darauf konzentriert, *C. pruni* auch in Deutschland als Überträger der Steinobstvergilbung nachzuweisen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, mehr Informationen über das Auftreten des Pathogens und das Vorkommen des potenziellen Überträgers, *Cacopsylla pruni*, zu erhalten und daraus den aktuellen Befall in den bedeutendsten Steinobstanbaugebieten Südwestdeutschlands abschätzen zu können.

Material und Methoden

Symptombonituren

Symptombonituren wurden von 2003 bis 2007 in zehn verschiedenen Steinobstanlagen bzw. Beständen wilder *Prunus*-Arten in vier verschiedenen Regionen Südwestdeutschlands durchgeführt. Als Referenzanlagen wurden ausgewählt: Eine Aprikosenanlage im Anbaugebiet Rheinhessen (Laurenziberg), je eine Aprikosen- und Pfirsichanlage in der Vorderpfalz (Neustadt), je eine Aprikosen- und Pfirsichanlage in der Südpfalz (Schwegenheim) und je eine Aprikosen-, Pfirsich- und Pflaumenanlage im Neuwieder Becken (Kettig). Jedes Jahr wurde in diesen Referenzanlagen die Ausbildung typischer Symptome im Frühjahr und Sommer bonitiert. Von allen Bäumen mit typischen Symptomen wurden Proben genommen. In Anlagen mit geringer Symptomausbildung wurden auch nicht-symptomatische Bäume beprobt, um eine repräsentative Probenmenge von mindestens 10% des Gesamtbestandes der Anlage zu erhalten.

Zusätzlich zu den kultivierten *Prunus*-Anlagen wurden auch Bonituren und zufällig ausgewählte Beprobungen in benachbarten Hecken der wilden *Prunus*-Arten *P. spinosa* (Schlehe) und *P. cerasifera* (Kirschpflaume) vorgenommen, um deren potenzielle Rolle als Reservoir von *Ca. P. prunorum* zu untersuchen.

Insektenfänge

Zur Beschreibung der Populationsdynamik von *C. pruni* wurden regelmäßige Insektenfänge mithilfe der Klopfprobenmethode jedes Jahr von März bis Juli in den

bereits beschriebenen Referenzanlagen von *P. armeniaca*, *P. persica* und *P. domestica* im Neuwieder Becken, in Rheinhessen, in der Vorderpfalz und in der Südpfalz durchgeführt. Ebenso wurden regelmäßige Fänge auf den wilden *Prunus*-Arten *P. cerasifera* und *P. spinosa* in der Vorderpfalz vorgenommen. Aus den gemischten Insektenproben wurden alle Individuen von *C. pruni* aussortiert, bestimmt und bei -20°C bis zur DNA-Isolierung aufbewahrt.

DNA-Isolierung und PCR-Nachweis von *Ca. Phytoplasma prunorum*

Die Isolierung der Gesamt-DNA erfolgte bei den Pflanzenproben entweder aus den Blattstielen oder aus dem Stengelpfloem bzw. bei dem Insektenmaterial aus einzelnen Tieren von *C. pruni* nach der Methode von Maixner et al. (1995). Zum Nachweis einer generellen Infektion mit Phytoplasmen wurde zunächst eine Standard-PCR (Polymerase-Kettenreaktion) mit universellen, ribosomalen Primern durchgeführt. Pflanzenextrakte wurden mit den Primern fU5/rU4 (Lorenz et al. 1995; Ahrens u. Seemüller 1992) getestet, Insektenextrakte mit den Primern fU5/P7 (Lorenz et al. 1995; Schneider et al. 1995). Die direkte Identifikation von *Ca. Phytoplasma prunorum* erfolgte in einer zweiten PCR-Reaktion mit den spezifischen Primern ECA1/ECA2 nach Jarausch et al. (1998).

Ergebnisse

Verbreitung der Krankheit und Symptomkorrelation

Seit den ersten positiven Befunden von *Ca. P. prunorum* in rheinhessischen Aprikosenanlagen im Jahre 2000 wurden jährlich Untersuchungen zum Befall mit Steinobstvergilbung durchgeführt. Um die Verbreitung der Krankheit in Südwestdeutschland genauer zu erfassen, erfolgten seit 2003 in mehreren südwestdeutschen Steinobstanlagen visuelle Bonituren und PCR-Tests von Pflanzenproben. Referenzanlagen von *P. armeniaca* (Aprikose) wurden in den Anbaugebieten in Rheinhessen, in der Vorderpfalz, in der Südpfalz und im Neuwieder Becken untersucht. Die Verbreitung von ESFY bei *P. persica* (Pfirsich) wurde in Referenzanlagen in den Regionen Vorderpfalz, Südpfalz und Neuwieder Becken studiert und bei *P. domestica* (Pflaume) in einer repräsentativen Anlage im Neuwieder Becken. Zusätzlich wurden in benachbarten Hecken der wilden *Prunus*-Arten *P. spinosa* und *P. cerasifera* in der Vorderpfalz visuelle Symptombonituren und Tests von Pflanzen mit unspezifischen Symptomen durchgeführt. Alle Proben wurden mittels PCR mit spezifischen Primern auf *Ca. P. prunorum* getestet. Tabelle 1 gibt eine Zusammenfassung

Tabelle 1 Verbreitung der ESFY-Krankheit in verschiedenen Referenzanlagen in Südwestdeutschland auf verschiedenen *Prunus*-Arten und Darstellung der Korrelation zwischen visueller Symptombonitur und Ergebnis der PCR-Tests

Spezies	Region	Pflanzjahr	Anzahl Bäume gesamt	Anzahl Bäume beprob	Bäume typ. Wintersymptome	Bäume typ. Sommersymptome	PCR-Ergebnis Bäume typ. Sommersymptome	PCR + gesamt/ getestet gesamt
<i>P. armeniaca</i>	Vorderpfalz	1997	120	69	17/17	51/52	68/69	
	Südpfalz	variabel	120	16	k. A.	15/16	15/16	
	Rheinhessen	1995	446	91	32/32	48/59	80/91	
<i>P. persica</i>	Neuwieder Becken	2001	140	7	k. A.	4/4	6/7 (2/3 unspez. Symptome)	
	Vorderpfalz	1999	80	21	7/14	7/7	14/21	
	Südpfalz	variabel	144	15	0/2	2/6	7/15 (5/7 unspez. Symptome)	
<i>P. domestica</i>	Neuwieder Becken	1995	150	6	0/1	5/5	5/6	
	Neuwieder Becken	1993	186	8	2/5	2/3	4/8	
<i>P. cerasifera</i>	Vorderpfalz	k. A.	k. A.	4	0/1	–	0/4 (0/3 keine Symptome)	
<i>P. spinosa</i>	Vorderpfalz	k. A.	k. A.	8	–	–	0/8 (unspez. bzw. keine Symptome)	

k. A.: keine Angaben

dieser Ergebnisse in allen ausgewählten Referenzanlagen für die Jahre 2003 bis 2007.

Eine starke Ausbreitung der Krankheit konnte vor allem bei Aprikose beobachtet werden. In der in Rheinhessen beprobten Aprikosenanlage waren 2003 nur noch die Hälfte der Bäume gegenüber der Pflanzung aus dem Jahr 1995 übrig geblieben. Von diesen Bäumen waren 2003 22% sicher krank. Bezogen auf die im Jahr 2003 verbliebenen Bäume stieg der Befallsgrad 2004 auf 36% und 2005 auf 61%. Da zwischen 2003 und 2005 viele der befallenen Bäume abstarben, ist davon auszugehen, dass auch die zwischen 1995 und 2003 gerodeten Bäume in überwiegendermaßen wegen der Steinobstvergilbung ausgefallen sind. Eine ähnlich schnelle Ausbreitung der Krankheit wurde in der 1997 gepflanzten Aprikosenanlage in der Vorderpfalz beobachtet. Der Befall stieg von 1% im Jahr 2003 über 10% im Jahr 2004 bis auf 30% im Jahr 2005.

Bei Pfirsich hingegen war die Ausbreitung in den untersuchten Anlagen weniger stark. In der 2001 gepflanzten Anlage in der Vorderpfalz konnte für die Jahre 2005, 2006 und 2007 ein Befall von 8,75%, 18,75% und 27,5% des Gesamtbestandes von 80 Bäumen ermittelt werden, das bedeutet dennoch einen jährlichen Zuwachs von ca. 10%.

Typische Symptome der Krankheit werden im Sommer hauptsächlich bei Aprikose und Pfirsich beobachtet: Konisches, chlorotisches Blattrollen bei Aprikose (Abb. 1a) bzw. rötliches, longitudinales Blattrollen bei Pfirsich (Abb. 1b). Bei allen *Prunus*-Arten kann dagegen mehr oder weniger stark ausgeprägt ein vorzeitiges Austreiben der Blätter vor der Blüte im Spätwinter oder zeitigem Frühjahr als typisches Symptom der Steinobstvergilbung beobachtet werden (Abb. 1c,d).

Allerdings ist das Auftreten des vorzeitigen Austreibens in Deutschland stark von der Witterung abhängig. Im milden Winter 2006/2007 konnte dieses Symptom besonders gut beobachtet werden. In anderen Wintern wurden die austreibenden Blätter speziell bei Aprikose jedoch sofort geschädigt und das Symptom war zum Teil gar nicht zu sehen.

Pro Anlage wurden Proben von allen Bäumen mit spezifischen Winter- bzw. Sommersymptomen getestet, mindestens aber 10% des Gesamtbestandes, so dass in einigen Anlagen auch Proben von Bäumen mit unspezifischen Symptomen genommen wurden. Wie aus Tabelle 1 zu erkennen ist, ist die Korrelation zwischen visueller Symptombonitur und molekularem Nachweis des Erregers mittels

Abb. 1 **a** Konisches, chlorotisches Blattrollen bei Aprikose im Sommer; **b** Rötliches longitudinales Blattrollen bei Pfirsich im Sommer; **c** Vorzeitiges Austreiben der Blätter bei Aprikose im Spätwinter; **d** Vorzeitiges Austreiben der Blätter bei Pfirsich im Spätwinter



PCR besonders bei Aprikose (*P. armeniaca*) gut ausgeprägt. Das Auftreten typischer Wintersymptome war zu 100% auf eine Infektion mit *Ca. P. prunorum* zurückzuführen. Aber auch die Ausbildung der typischen Sommersymptome war in allen untersuchten Proben aus den verschiedenen Regionen zwischen 80 und 100% mit dem Vorhandensein des Pathogens korreliert.

Die Symptomzuordnung bei den anderen beiden wichtigen *Prunus*-Kulturen, Pfirsich und Pflaume, war schwieriger. Wie aus Tabelle 1 zu erkennen ist, wurden in den Regionen Südpfalz und Neuwieder Becken in Anlagen von *P. persica* keine typischen Wintersymptome gefunden und die Proben mit unspezifischen Symptomen wurden mit PCR negativ getestet. Aber auch in den Pfirsichbäumen in der Vorderpfalz, die typische Wintersymptome zeigten, konnte nur in der Hälfte der Proben *Ca. P. prunorum* mittels PCR nachgewiesen werden. Die visuelle Bonitur der typischen Sommersymptome bei Pfirsich ergab zwar für die Regionen Vorderpfalz und Neuwieder Becken eine sehr gute Korrelation von 100%, ließ sich aber in der Südpfalz nicht bestätigen.

Ähnlich schwierig wie bei Pfirsich ist auch die Symptomzuordnung bei Pflaume (*P. domestica*). In der einzigen bonitierten und beprobten Anlage im Neuwieder Becken wurde eine Übereinstimmung zwischen der visuellen Bonitur und dem Nachweis des Erregers mittels PCR bei 50% aller Proben ermittelt, wobei die typischen Sommersymptome besser korreliert waren (67%) als die typischen Wintersymptome (40%).

Die Bonitur und Beprobung von benachbarten Beständen der wilden *Prunus*-Arten *P. spinosa* und *P. cerasifera* ergab, dass diese *Prunus*-Arten so gut wie nie Symptome zeigten und bei der zufallsmäßigen Beprobung nicht-symptomatischer Pflanzen keine Infektion nachgewiesen werden konnte, obwohl, wie an späterer Stelle noch gezeigt wird, in diesen Biotopen große Vektorpopulationen auftreten.

Der Überträger *Cacopsylla pruni*

Populationsdynamik von *C. pruni*

Mithilfe der seit 2003 durchgeführten regelmäßigen Freilandfänge wurden jährliche Populationsdynamiken von *C. pruni* in verschiedenen Regionen und auf unterschiedlichen *Prunus*-Arten erstellt. Der biologische Zyklus von *C. pruni* ist auf den verschiedenen *Prunus*-Arten (*P. armeniaca*, *P. persica*, *P. domestica*, *P. spinosa*, *P. cerasifera*) prinzipiell gleich. Große Unterschiede bestehen allerdings in den absoluten Populationsdichten. Während auf Aprikose und Pfirsich nur relativ wenige Tiere gefunden wurden, konnten große Populationen in Hecken wilder *Prunus*-Arten (*P. spinosa*, *P. cerasifera*) gefangen werden. In den Abb. 2a–e ist die Populationsdynamik von *C. pruni* auf Aprikose repräsentativ für die Regionen Vorder- und Südpfalz sowie Rheinhessen für unterschiedliche Versuchsjahre dargestellt. Abb. 2f zeigt im Vergleich dazu die Populationsdynamik von *C. pruni* auf einer Hecke bestehend aus den wilden *Prunus*-Arten *P. spinosa* und *P. cerasifera* in der Vorderpfalz.

Es konnte gezeigt werden, dass *C. pruni* als überwinterndes, adultes Tier ab Mitte März (11.–12. Kalenderwoche) auf seine Wirtspflanze *Prunus* zurückkehrt. Wie aus den Grafiken 2a–f ersichtlich, ist dieser Zeitpunkt des ersten Erscheinens auf *Prunus* für alle Regionen und *Prunus*-Arten während der untersuchten Jahre recht einheitlich. Ebenso wurde das Maximum der überwinternden Adulten im Untersuchungszeitraum gut reproduzierbar in den Kalenderwochen 14 bis 16 (Mitte April) gefunden. Anschließend kopulieren die Tiere und legen ihre Eier auf *Prunus* ab. Die Larven entwickeln sich über fünf Stadien und die neuen Adulten werden um die 23. Kalenderwoche (Anfang Juni) gefunden. Sie verlassen sofort ihre Wirtspflanze, weshalb sie durch die Klopfmethode nur unzureichend erfasst werden konnten. Die Überwinterung erfolgt vermutlich auf

Tabelle 2 Populationsdichte von *C. pruni* im Maximum der Population

Anzahl <i>C. pruni</i> pro Ast im Populationsmaximum						
Pflanze	Region	2003	2004	2005	2006	2007
<i>P. armeniaca</i>	Vorderpfalz	0,27	0,02	0,06	0,04	0,12
	Südpfalz	0,15	0,05	0,62	k. A.	k. A.
	Rheinhessen	0,14	0,20	0,38	0,02	0,04
	Neuwieder Becken	k. A.	k. A.	0,13	0,02	k. A.
<i>P. persica</i>	Vorderpfalz	0,07	0,03	0,06	0,08	0,06
	Südpfalz	0,00	0,06	0,04	k. A.	k. A.
	Neuwieder Becken	k. A.	k. A.	k. A.	0,02	k. A.
<i>P. domestica</i>	Vorderpfalz	k. A.	k. A.	k. A.	0,06	0,30
	Mosel	k. A.	k. A.	0,94	0,11	k. A.
<i>P. spinosa</i>	Vorderpfalz	0,51	0,48	1,28	0,90	0,80
<i>P. cerasifera</i>	Neuwieder Becken	k. A.	k. A.	1,53	0,20	k. A.

k. A.: keine Angaben

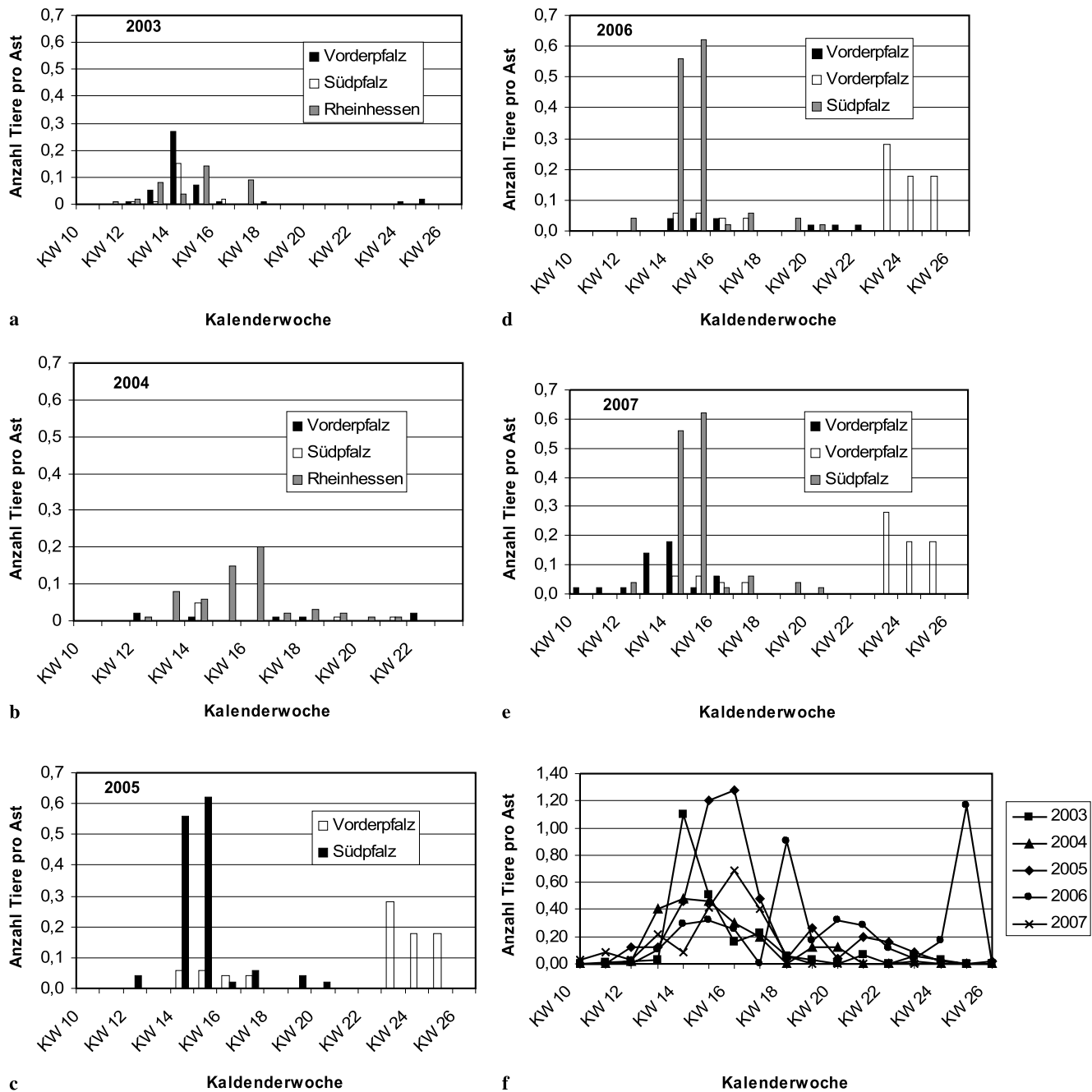


Abb. 2 a–e Populationsdynamik von *C. pruni* auf Aprikose in verschiedenen Referenzanlagen in Südwestdeutschland 2003–2007; f Populationsdynamik von *C. pruni* auf einer Hecke der wilden *Prunus*-Arten *P. spinosa*/*P. cerasifera* in der Vorderpfalz 2003–2007

Koniferen, jedoch fehlen hierzu verlässliche Daten ebenso wie für die Migrationsphasen zwischen Hauptwirt und Überwinterungswirt.

Aus den Darstellungen geht hervor, dass der Verlauf der Populationsdynamik von *C. pruni* während des Untersuchungszeitraumes von fünf Jahren gut reproduzierbar war. Schwankungen ergaben sich vor allem in der absoluten Populationsdichte der überwinternden Generation auf Aprikose zwischen den verschiedenen Untersuchungsjahren als auch zwischen Aprikose und wilden *Prunus*-Arten.

Um diese Unterschiede im Populationsmaximum noch besser zu dokumentieren, ist in Tabelle 2 die Anzahl der überwinternden *C. pruni* pro beprobten Ast zwischen der 14. und 16. Kalenderwoche, das heißt zum Zeitpunkt des ermittelten Populationsmaximums, für die Untersuchungsjahre vergleichend zusammengefasst.

Hierbei sind auch Daten für Regionen und *Prunus*-Arten aufgeführt, die nur in diesem Zeitraum und nicht während des gesamten biologischen Zyklus beprobt wurden.

Tabelle 3 Natürlicher Infektionsgrad von *C. pruni* auf verschiedenen *Prunus*-Arten in Referenzanlagen in Südwestdeutschland 2003–2007

Region	Pflanze	2003			2004			2005			2006			2007		
		Tiere PCR+/ Tiere getestet	% infi- ziert		Tiere PCR+/ Tiere getestet	% infi- ziert		Tiere PCR+/ Tiere getestet	% infi- ziert		Tiere PCR+/ Tiere getestet	% infi- ziert		Tiere PCR+/ Tiere getestet	% infi- ziert	
Vorderpfalz	<i>P. armeniaca</i>	0/40	0		0/7	0		2/42	4,8		0/8	0		0/16	0	
Vorderpfalz	<i>P. persica</i>	1/14	7		0/5	0		0/5	0		0/7	0		0/9	0	
Vorderpfalz	<i>P. spinosa</i>	3/158	1,9		1/95	1		1/248	0,4		2/169	1,2		2/144	1,4	
	<i>P. cerasifera</i>															
Südpfalz	<i>P. armeniaca</i>	0/19	0		0/24	0		0/65	0		k. A.	k. A.		k. A.	k. A.	
	<i>P. persica</i>	0/1	0		0/10	0		0/2	0		k. A.	k. A.		k. A.	k. A.	
Rheinhausen	<i>P. armeniaca</i>	1/96	1		1/59	1,7		2/44	4,5		0/1	0		0/2	0	
Gesamt		5/288	1,7		2/200	1		5/406	1,2		2/185	1,1		2/171	1,2	

k. A.: keine Angaben

Eine einheitliche Tendenz besteht darin, dass die absolute Populationsdichte auf wilden *Prunus* (*P. spinosa*/*P. cerasifera*) um einen Faktor 10 höher ist als auf den kultivierten *Prunus*-Arten, wobei auch hier erhebliche Schwankungen von Jahr zu Jahr auftreten können. In einem definierten Versuchsjahr war die absolute Dichte auf wilden *Prunus*-Arten immer größer als auf den kultivierten Arten.

Wie die Tabelle 2 zeigt, variieren die Populationsdichten auf allen *Prunus*-Arten zum Teil stark von Jahr zu Jahr. Die höchsten Populationsdichten wurden im Jahr 2005 gefunden, wohingegen in den beiden nachfolgenden Jahren 2006 und 2007 die Populationen stark zurückgingen.

Natürlicher Infektionsgrad von *C. pruni*

Ein wichtiges Kriterium für die Verbreitung der Krankheit ist nicht nur die absolute Populationsdichte des Vektors *C. pruni*, sondern der Anteil infizierter Tiere innerhalb der Population. Alle Tiere aus Freilandfängen wurden daher individuell extrahiert und mit PCR getestet, um den natürlichen Infektionsgrad mit *Ca. P. prunorum* zu ermitteln. Die Ergebnisse der molekularen Analysen sind in Tabelle 3 dargestellt.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass auf allen untersuchten *Prunus*-Arten infizierte Tiere von *C. pruni* gefunden wurden und dass trotz der Heterogenität der einzelnen Daten eine stabile Infektionsrate von 1–2% aller pro Jahr getesteten Tiere ermittelt werden konnte.

Diskussion

Obwohl *Ca. P. prunorum* bereits 1992 in Stichproben verschiedener *Prunus*-Arten in Deutschland nachgewiesen wurde (Lederer u. Seemüller 1992), erfolgten keine weiteren Untersuchungen zur Verbreitung dieser Krankheit in Erwerbsanlagen. Dies lag unter anderem auch daran, dass Phytoplasmen ausschließlich das Phloem der befallenen Pflanzen besiedeln und nur in diesem Gewebe mithilfe aufwändiger Testverfahren nachgewiesen werden können. Der Nachweis von Phytoplasmen erfolgte zuerst mithilfe der Elektronenmikroskopie, später mithilfe fluoreszenzmikroskopischer Verfahren im Lichtmikroskop (DAPI-Test) (Seemüller 1976). Eine sichere, sensitive Detektion von *Ca. P. prunorum* ist allerdings nur durch den molekularen PCR-Test möglich, bei dem ein spezifisches Genfragment amplifiziert und nachgewiesen wird. Hierbei erwiesen sich die von Jarausch et al. (1998) entwickelten spezifischen Primer ECA1/ECA2 als ebenso gut geeignet wie die universellen Standard-Primer und können für einen routinemäßigen Einsatz zum Nachweis von *Ca. Phytoplasma prunorum* in Pflanzen- und Insektenproben verwendet werden.

Die vorgestellten Daten zeigen, dass die Krankheit weiter verbreitet ist als anhand der bis dato vorliegenden Beobachtungen vermutet wurde. Im Rahmen dieser Studie wurde nur die Verbreitung in den wichtigsten südwestdeutschen Steinobstgebieten untersucht. Aprikose ist dabei die von der Steinobstvergilbung bei weitem am stärksten betroffene Kultur.

Eine starke Ausbreitung der Krankheit vor allem auf *P. armeniaca* wurde auch in benachbarten mitteleuropäischen Ländern beobachtet. In einer Anlage in der Westschweiz verdoppelte sich die Anzahl infizierter Pflanzen innerhalb von vier Jahren (Ramel u. Guggerli 2004). Untersuchungen in Tschechien (Fialova et al. 2004) und Österreich (Laimer Da Camara Machado et al. 2001) ergaben Infektionsgrade in Aprikosenanlagen von 5–40%. Weniger eindeutig ist die Verbreitung der Krankheit bei *P. persica* sowohl hinsichtlich der Ermittlung des Befallsgrades als auch der Symptomcharakterisierung.

Die eingangs erwähnten typischen Symptome der Steinobstvergilbung wurden für den Mittelmeerraum beschrieben. Es war deshalb nicht sicher, ob diese Symptome auch unter den klimatischen Bedingungen Mitteleuropas in gleicher Weise auftreten. Aus diesem Grund wurde die Korrelation von möglichen ESFY-Symptomen mit dem molekularen Nachweis der Phytoplasmen im Baum näher untersucht. Es zeigte sich, dass das vorzeitige Austreiben der Blätter im Spätwinter oder zeitigen Frühjahr vor allem bei Aprikose (100% Korrelation) aber auch bei anderen kultivierten *Prunus*-Arten ein relativ sicheres Symptom der Krankheit auch in Deutschland ist (Jarausch et al. 2007). Allerdings ist das Auftreten des vorzeitigen Austreibens in Deutschland stark von der Witterung abhängig und kann speziell bei Aprikose mehr oder weniger stark sein. Bei längeren milden Perioden im Spätwinter kann das Symptom gut beobachtet werden, bei Frösten werden die austreibenden Blätter jedoch sofort geschädigt und das Symptom ist so gut wie gar nicht zu sehen. Entgegen früherer Arbeiten konnte bei Pfirsich und Pflaume in den untersuchten Anlagen nur eine Korrelation von 50% oder niedriger bei den typischen Wintersymptomen festgestellt werden.

Im Sommer sind typische Symptome nur bei Aprikose und Pfirsich zu beobachten. In unserer Studie erwiesen sich sowohl das typische konische, chlorotische Blattrollen bei Aprikose mit 80–95% Korrelation in allen untersuchten Anlagen als auch das rötliche, longitudinale Blattrollen bei Pfirsich bei ausreichendem Probenumfang mit 100% als sicheres Merkmal der Steinobstvergilbung. Allerdings wurden hier auch nur Bäume mit starken Symptomen beprobt, die nicht immer zu finden sind. Da in den beprobten Pfirsich- und Pflaumenanlagen kaum Bäume mit ESFY-typischen Symptomen zu finden waren, war der Umfang der Probenmenge weitaus geringer als bei *P. armeniaca* und der Befallsgrad kann nicht direkt mit dem in den untersuchten

Aprikosenanlagen verglichen werden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass gerade bei den *Prunus*-Arten, die eine weniger eindeutige Symptomausprägung zeigen, ein hoher Prozentsatz an Proben (über 20%) von Bäumen mit unsicheren Symptomen mit dem Phytoplasma infiziert war (Jarausch et al. 2007). Ebenso ist in Italien und Tschechien die Symptomausprägung und damit die ökonomische Bedeutung von ESFY bei *P. persica* unsicher (Poggi Pollini et al. 2001; Fialova et al. 2004).

Unsicher bleibt auch nach wie vor die Bedeutung der weit verbreiteten Hecken wilder *Prunus*-Arten für die Verbreitung der Krankheit. Die Studie hat gezeigt, dass Pflanzen von *P. spinosa* und *P. cerasifera* keinerlei typische Symptome zeigen und auch molekularbiologisch keine Infektion mit dem Pathogen nachgewiesen werden konnte. Diese Beobachtung wurde auch von anderen Autoren berichtet (Jarausch et al. 2001; Carraro et al. 2002; Labonne u. Lichou 2004).

Die Ergebnisse sind insofern für die Praxis noch unbefriedigend, da eine visuelle Bonitur nur schwer möglich ist. Im Zweifel muss immer ein molekularer Nachweis erfolgen. Der hohe Prozentsatz infizierter Bäume mit unsicheren Symptomen deutet zudem auf einen schwer erfassbaren latenten Befall in den Anlagen hin. Die unklare Symptomatik der Krankheit in Deutschland ist sicher ein Hauptgrund für die bislang unerkannte Ausbreitung der Krankheit.

Ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Studie war, das Vorkommen des Überträgers *Cacopsylla pruni* in Südwestdeutschland zu überprüfen und dessen Populationsdynamik auf den untersuchten *Prunus*-Arten zu beschreiben. Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass *C. pruni* in allen untersuchten südwestdeutschen Regionen und auf allen beprobten *Prunus*-Arten gefunden wurde. Die Psyllidenart *C. pruni* wurde außerdem auf verschiedenen *Prunus*-Arten in den Bundesländern Bayern, Baden-Württemberg, Saarland, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein gefunden (B. Jarausch, pers. Mitteilung). In diesen Regionen wurden jedoch keine weiteren Untersuchungen zur Verbreitung der ESFY-Krankheit durchgeführt.

In Übereinstimmung mit Berichten anderer Autoren (Carraro et al. 2002; Labonne u. Lichou 2004) wurden auch in Südwestdeutschland die höchsten Populationsdichten auf wilden *Prunus*-Arten ermittelt, während in angebauten Steinobstkulturen zum Teil nur einzelne Tiere gefangen wurden. Dies deutet daraufhin, dass diese wilden *Prunus*-Hecken ein Reservoir für den Vektor darstellen können. Wodurch die Schwankungen innerhalb des Populationsmaximums zwischen den Jahren bedingt sind, ist noch Gegenstand laufender Untersuchungen.

Die geringe Anzahl Tiere auf kultivierten *Prunus*-Arten hängt vermutlich mit dem Insektizideinsatz in kommerziellen Anlagen zusammen, der zumindest zur Reduktion der Blattsaugerpopulation führen kann. Vereinzelte Spritz-

mittelversuche zur gezielten Bekämpfung von *C. pruni* brachten jedoch keine befriedigenden Ergebnisse. Bei der molekularen Bestimmung des Infektionsgrades der gefangenen Tiere wurde eine natürliche Infektionsrate von 1–2% ermittelt. Dieser Wert scheint nicht sehr hoch, entspricht aber dem durchschnittlichen Infektionsgrad anderer Vektoren und Pathogene (Kirkpatrick 1991; Carraro et al. 2004). Interessanterweise blieb dieser Infektionsgrad während des gesamten Untersuchungszeitraumes sehr stabil, trotz der jährlichen zum Teil erheblichen Schwankungen innerhalb der Populationsdichte. Ebenso interessant ist auch, dass der Prozentsatz infizierter Tiere auf den wilden *Prunus*-Arten trotz der wesentlich größeren Zahl gefangener Tiere ebenso identisch war. Es bleibt bei diesen Erhebungen zu berücksichtigen, dass mit der Klopfprobenmethode nur jeweils ein geringer Teil der gesamten Blattsaugerpopulation erfasst wird und sich daher noch weitere Tiere, ob infiziert oder nicht, auf den beprobten Pflanzen befinden. Dennoch zeigt dieses Ergebnis, dass nicht hohe Vektorzahlen, sondern der Prozentsatz potenziell infektiöser Tiere primär ausschlaggebend für eine große Verbreitung des Erregers ist. Diese Analyse bestätigt zudem die Hypothese, die auch für andere durch einen Vektor übertragbare Krankheiten gilt, nämlich dass eine geringe Anzahl infektiöser Tiere ausreicht, um eine Vielzahl von Bäumen zu infizieren.

Da das Studium der Vektorübertragung von *Ca. P. prunorum* im Freiland nicht möglich ist, wurden gezielte Versuche unter Laborbedingungen durchgeführt, um die Übertragung des Pathogens zu charakterisieren und das Vektorpotenzial von *C. pruni* zu demonstrieren (Carraro et al. 1998, 2001, 2004; Labonne u. Lichou 2004). Die ersten Ergebnisse aus Deutschland bestätigen italienische Arbeiten (Carraro et al. 2001), dass sowohl die überwinterten Tiere von *C. pruni* als auch die Adulten der neuen Generation den Erreger der Steinobstvergilbung übertragen können (Jarausch et al. 2007).

Fazit

Die Steinobstvergilbung ist auch in Südwestdeutschland weit verbreitet. Sie richtet große wirtschaftliche Schäden vor allem im Aprikosenanbau an. Typische Symptome der Krankheit wie vorzeitiges Austreiben der Blätter im Spätwinter und konisches, chlorotisches Blattrollen bei Aprikose im Sommer sind auch in Deutschland zu beobachten.

Der Vektor von *Ca. P. prunorum*, *Cacopsylla pruni*, kommt in allen untersuchten Anbaugebieten in Rheinland-Pfalz vor und wurde auch in anderen Bundesländern gefunden. Er hat eine vergleichbare Populationsdynamik auf allen *Prunus*-Arten. Die Populationsdichten sind jedoch eher gering auf Aprikose und Pfirsich, dagegen hoch auf

Hecken wilder *Prunus*-Arten. Wichtig für die Vektorübertragung und Verbreitung der Krankheit ist nicht die absolute Populationsdichte, sondern der Prozentsatz infektiöser Tiere. Dieser liegt stabil bei 1–2% der Tiere pro Jahr.

Für eine Bekämpfung der Krankheit bedeuten die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse, dass es zunächst wichtig ist, befallene Bäume zu roden, um eine Akquisition der Phytoplasmen durch die neue Generation von *C. pruni* zu verhindern. Direkte Bekämpfungsstrategien gegen *C. pruni* werden zurzeit untersucht.

Danksagung Wir bedanken uns für die Durchführung der Psyllidenfänge und Bonituren in Rheinhessen bei Werner Dahlbender, Günther Hensel und Wiebke Hein und für die Arbeiten im Neuwieder Becken bei Matthias Jönck.

Literatur

- Ahrens U, Seemüller E (1992) Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. *Phytopathology* 82:828–832
- Carraro L, Ferrini F, Ermacora P, Loi N (2002) Role of wild *Prunus* species in the epidemiology of European stone fruit yellows. *Plant Pathol* 51:513–517
- Carraro L, Ferrini F, Labonne G, Ermacora P, Loi N (2004) Seasonal infectivity of *Cacopsylla pruni*, vector of European stone fruit yellows phytoplasma. *Ann Appl Biol* 144:191–195
- Carraro L, Loi N, Ermacora P (2001) Transmission characteristics of the European stone fruit yellows phytoplasma and its vector *Cacopsylla pruni*. *Eur J Plant Pathol* 107:695–700
- Carraro L, Osler R, Loi N, Ermacora P, Refatti E (1998) Transmission of European stone fruit yellows phytoplasma by *Cacopsylla pruni*. *J Plant Pathol* 80:233–239
- Chabrolin C (1924) Quelques maladies des arbres fruitiers de la Vallée du Rhône. *Ann Epiphytes* 10:265–333
- Fialova R, Navratil M, Valova P, Kocourek F (2004) Epidemiology of European stone fruit yellows phytoplasma in Czech republic. *Acta Hort* 657:483–487
- Giunchedi L, Marani F, Credi R (1978) Mycoplasma-like bodies associated with plum decline (leptoncrosis). *Phytopath Mediterranea* 17:205–209
- Jarausch W, Jarausch-Wehrheim B, Danet JL, Broquaire JM, Dosba F, Saillard C, Garnier M (2001) Detection and identification of European stone fruit yellows and other phytoplasmas in wild plants in the surroundings of apricot chlorotic leaf roll-affected orchards in southern France. *Eur J Plant Pathol* 107:209–217
- Jarausch W, Lansac M, Saillard C, Broquaire JM, Dosba F (1998) PCR assay for specific detection of European stone fruit yellows phytoplasmas and its use for epidemiological studies in France. *Eur J Plant Pathol* 104:17–27
- Jarausch B, Mühlentz I, Beck A, Lampe I, Harzer U, Jarausch W (2007) Epidemiology of European stone fruit yellows in Germany. *Acta Hort*, in Druck
- Kirkpatrick BC (1991) Mycoplasma-like organism-Plant and Invertebrate Pathogens. In: Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH (eds) *The prokaryotes* vol 2. Springer Verlag, New York, pp 4050–4067
- Labonne G, Lichou J (2004) Data on the life cycle of *Cacopsylla pruni*, Psyllidae, vector of European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasma in France. *Acta Hort* 657:465–467

- Laimer Da Camara Machado M, Paltrinieri S, Panzer V, Arthofer W, Strommer S, Martini M, Pondrelli M, Bertaccini A (2001) Presence of European stone fruit yellows (ESFY or 16SrX-B) phytoplasmas in apricots in Austria. *Plant Pathol* 50:130–135
- Lederer W, Seemüller E (1992) Demonstration of mycoplasmas in *Prunus* species in Germany. *J Phytopath* 134:89–96
- Lorenz K-H, Dosba F, Poggi Pollini C, Llacer G, Seemüller E (1994) Phytoplasma diseases of *Prunus* species in Europe are caused by genetically similar organism. *Z Pflanzenkrankh Pflanzenschutz* 101:567–575
- Lorenz K-H, Schneider B, Ahrens U, Seemüller E (1995) Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. *Phytopath* 85:771–776
- Maixner M, Ahrens U, Seemüller E (1995) 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
- Marcone C, Ragozzino A, Seemüller E (1996) European stone fruit yellows phytoplasma as the cause of peach vein enlargement and other yellows and decline diseases of stone fruits in southern Italy. *J Phytopathol* 144:559–564
- Morvan G (1977) Apricot chlorotic leaf roll. *EPPO Bulletin* 7:37–55
- Poggi Pollini C, Bissani R, Giunchedi L (2001) Occurrence of European stone fruit yellows phytoplasma (ESFYP) Infection in Peach Orchards in Northern-Central Italy. *J Phytopath* 149:725–730
- Poggi Pollini C, Giunchedi L (1993) MLOs and suspected MLO diseases in fruit trees in Emilia-Romana and Veneto. *Phytopath Med* 32:65–66
- Ramel ME, Gugerli P (2004) Epidemiological Survey of European stone fruit yellows phytoplasma in Two Orchards in Western Switzerland. *Acta Hort* 657:459–462
- Schneider B, Seemüller E, Smart CD, Kirkpatrick BC (1995) Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas. In: Razin S, Tully JG (eds.). *Molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasmaology*, Vol. I. Academic Press, San Diego, pp 369–380
- Seemüller E (1976) Investigations to demonstrate mycoplasma-like organisms in diseased plants by fluorescence microscopy. *Acta Hort* 67:109–112
- Seemüller E, Schneider B (2004) ‘*Candidatus* Phytoplasma mali’, ‘*Candidatus* Phytoplasma pyri’ and ‘*Candidatus* Phytoplasma prunorum’, the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:1217–1226