

1. Sprühinokulation aus 5 cm Entfernung
2. Tauchinokulation der oberirdischen Pflanzenteile
3. Wurzel-Inokulation mit 300 µl Sporensuspension
4. Wurzel-Tauchinokulation mit gekappten Wurzelspitzen (30 min)
5. Wurzel-Tauchinokulation ohne Verletzung (30 min)

Je Variante wurden 20 Pflanzen verwendet, adäquat dazu wurde eine Wasserkontrolle durchgeführt. Die Inkubation erfolgte bei 25 °C und einem 12-stündigen Tag-Nacht-Rhythmus. Die erste Bonitur fand zwei Wochen nach der Inokulation statt, wobei die abgestorbenen Pflanzen quantifiziert wurden.

Literatur

Bailey, J.A., Jeger, M.J., (2004): *Colletotrichum* - Biology, Pathology and Control. CABI publishing.  
Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz,

Projekträger Innovationsförderung, Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung .

091-Taubenrauch, K.<sup>1)</sup>; Gabler, J.<sup>2)</sup>; Hau, B.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> An der Königsheide 33, 27578 Bremerhaven

<sup>2)</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

<sup>3)</sup> Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz

### **Mykologische Untersuchung von *Mycosphaerella anethi* an Fenchel (*Foeniculum vulgare* Mill.)**

Mycological examination of *Mycosphaerella anethi* on fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.)

**Problemstellung:** Im deutschen Arzneifenchelanbau kommt es seit ca. 20 Jahren zunehmend zu Ertragsausfällen durch Doldenkrankheiten. Diese erreichen inzwischen in allen Anbaugebieten regelmäßig 70 - 80 %; auch Totalausfälle wurden registriert. Durch diese wiederkehrenden Schäden ist der traditionelle deutsche Anbau existentiell gefährdet und muss eingestellt werden, falls nicht eine effektive Bekämpfungsstrategie zur Eindämmung der Krankheit entwickelt wird.

**Zielsetzung:** Bei dem Schadbild handelt es sich um eine Blatt- und Stängelanthraknose, verursacht durch den Ascomyceten *Mycosphaerella anethi* (anamorph *Passalora punctum* Delacr.) Petzoldt. Für den Erreger existieren in der Literatur viele historisch begründete oder zuordnungsbedingte Synonyme. Er wird auch als *Cercosporidium punctum*, *Cercospora foeniculi* oder *Ramularia foeniculi* bezeichnet. Der pilzliche Erreger wird heute eingeordnet in die Loculoascomycetidae, Dothidiales, Mycosphaerellaceae.

*M. anethi* wurde bisher kaum wissenschaftlich untersucht und galt 70 Jahre als nicht auf künstlichem Medium kultivierbar. Alle Überimpfungen zur Isolatgewinnung brachten nur Fremdpilze (*Alternaria* ssp., *Cladosporium* ssp. etc.) zum Wachstum. Das Aussehen des *M. anethi* - Myzels war kaum dokumentiert. Auch die Infektionswege waren unbekannt. Aus diesem Grund wurden wissenschaftliche Untersuchungen zur Isolierung, zur Konidienkeimung und zum Nachweis des Ausbreitungswachstums in Pflanzen durchgeführt, die als Basis für die weitere molekularbiologische Untersuchung des Erregers dienen sollten. Ergebnisse: *M. anethi* konnte nach einer starken Desinfektionsbehandlung (15 min in 0,1 % Sublimat) aus Fiederabschnitten isoliert und in Agarkultur überführt werden (Kartoffeldextroseagar). Die Isolierung war nur bei 4 % der Präparate erfolgreich. Nach der Inkulturnahme war nur ein äußerst geringes Ausbreitungswachstum erkennbar, das Myzel bildete nur eine schwarze hirnformig strukturierte Anhäufung. An der Oberfläche wurden nur wenige Konidien gebildet, die mit längeren weißen Hyphen auskeimten, meist aber auf der ursprünglichen Kultur verblieben. Nach einer Abschwemmung konnte erstmalig der Ablauf der Keimung unter sterilen Bedingungen untersucht werden. Hierbei konnte die Existenz von zwei Myzelformen dokumentiert werden. Dickeres schwarzes Myzel diente nach der Etablierung im Gewebe zur Konidienlagerbildung und führte zu lokalen Anhäufungen. Feineres weißes Myzel wurde nur während des Ausbreitungswachstums gebildet und wuchs flach angelegt an den vorhandenen Oberflächen.

**Ausbreitungswachstum in Pflanzen:** Durch den Nachweis von zwei Myzelformen konnte zum ersten Mal das Myzelwachstum von *M. anethi* in der Epidermisschicht nachgewiesen werden. Erst die reifen Konidienlager durchbrachen die Epidermis. Bei der wissenschaftlichen Untersuchung konnte die Samenübertragbarkeit unter Verwendung spezifischer Primern mittels PCR nachgewiesen werden. Die Latenzzeit betrug ca. 4 Monate. Das latente Myzelwachstum verursachte bei Pflanzen keine Wuchsveränderungen. Zum Blühzeitpunkt des Fenchels führten die Konidienlager zum etagenweisen Absterben aller Blätter.

**Fazit:** *M. anethi* ist ein extrem langsamwüchsiger Erreger, der sich auf künstlichen Medien kultivieren lässt. Die Isolierungsrate ist sehr gering. Der Erreger bildet zwei Myzelformen. Feineres Myzel ermöglicht eine mehrmonatige latente Ausbreitung ohne Gewebeschädigung. Dickere Myzelanhäufungen bilden Konidienlager, die nachfolgend die Epidermis durchbrechen.

092-Taubenrauch, K.<sup>1)</sup>; Gabler, J.<sup>2)</sup>; Hau, B.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> An der Königsheide 33, 27578 Bremerhaven

<sup>2)</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

<sup>3)</sup> Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz

### **Dualkulturen von Fenchel (*Foeniculum vulgare* Mill.) und *Mycosphaerella anethi* - Symptombildung und Ausbreitung**

Dual culture of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.)

**Problemstellung:** Der Pilz *Mycosphaerella anethi* (anamorph *Passalora punctum* Delacr.) S. Petzoldt verursacht massive Ertragsausfälle im Arzneifenchelanbau. Die Symptome entstehen durch zahlreiche Konidienlager, die zur Blütezeit des Fenchels auftreten. Der Befall führt zunächst zu einem schnellen etagenweisen Absterben aller Blätter und geht später auf die Früchte über. Zur Epidemiologie von *M. anethi* lagen bisher nur wenige wissenschaftliche Untersuchungen vor. Es war ungeklärt, ob sich der Pilz, wie in der Literatur beschrieben, ausschließlich über Konidien an den Fenchelpflanzen ausbreitete (Einzelinfektionen) oder ob ein latentes Ausbreitungswachstum ohne Pflanzenschädigung möglich war. Die Klärung dieser Frage war wesentlich für den Nachweis der Samenübertragbarkeit und den geeigneten Bekämpfungszeitpunkt.

**Methodik:** Zum Ausschluss einer Fremdinfection wurde das latente Myzelwachstum von *M. anethi* unter sterilen Bedingungen unter dem Binokular untersucht. Für die Dualkultur wurden 50 sterile Fenchelpflanzen der Sorte 'Magnafena' in Erlenmeyerkolben auf Fertigmilieu von Murashige und Skoog (Firma Duchefa) angezogen und Myzelstücke einer Agarkultur von *M. anethi* auf die Blätter aufgelegt.

Ergebnisse

**Symptombildung auf Blättern:** Die Myzelstücke bildeten bereits nach wenigen Tagen weiße Hyphen auf der Oberfläche, die sich auf der Epidermis ausbreiteten und in das Blattgewebe eindringen. Nach ca. 6 Wochen Wachstum im Pflanzengewebe wurden erste typische Symptome in Form kleiner schwarzer Pusteln (Konidienlager) in einigem Abstand zum ursprünglichen Myzelstück erkennbar. Vereinzelt trat feines weißes Myzel durch die Epidermis, welches sich zu einem dichten weißen Überzug entwickelte. Gewebeschädigungen wurden nicht beobachtet. Bei dem weißen Myzel handelte es sich um eine zweite Myzelform von *M. anethi*, die bei Kulturen nur einige Tage nach der Konidienkeimung zu finden war und erstmalig an Pflanzengewebe nachgewiesen werden konnte. Durch die Bildung von zahlreichen Konidienlagern wurde deutlich, dass die Blattsymptome auch ohne Konidienflug zunahmen. Das Schadbild wurde nicht ausschließlich durch isolierte Einzelinfektionen verursacht, sondern entstand durch Myzelnetzwerke.

**Ausbreitungswachstum im Gewebe:** Das Wachstum im Pflanzengewebe war gering. Nach 12 Wochen wurden von den Hyphen nur Distanzen von einigen Millimetern überwunden. Das Myzel breitete sich ohne sichtbare Epidermiszellschädigungen aus, ein latentes Wachstum des Erregers war erstmals nachzuweisen. Die Samenübertragbarkeit von *M. anethi* konnte mit spezifischen Primern in der PCR bewiesen werden. Durch das Einwachsen des Myzels in das Endospermgewebe erfolgte eine latente Infektion des Keimlings. Die weitere Erregerausbreitung in den 1,50 - 2,00 m hohen Fenchelpflanzen war ungeklärt, da erst nach vier Monaten erste Symptome erkennbar waren. Ob sich *M. anethi* durch einen engen Kontakt zu teilungsfähigen Pflanzenzellen im Stängel ausbreitet, d. h. eine passive Ausbreitung erfolgt, muss in weiteren Untersuchungen abgeklärt werden.

**Fazit:** *M. anethi* zeigte in Dualkultur mit Fenchelpflanzen ein geringes latentes Ausbreitungswachstum ohne Pflanzengewebeschädigungen. Mit dem Nachweis einer zweiten Myzelform konnte der Ausbreitungsweg des samenübertragbaren Erregers erstmals dokumentiert werden.