

Die Untersuchung der Pilzisolat wird mittels einer PCR mit ISSR (Intersimple Sequence repeat)-Primern durchgeführt. Mit dieser Art von Primern wird ein spezifisches Bandenmuster erzeugt, dass einzelne Polymorphismen zwischen verschiedenen Stämmen aufzeigen kann. Anhand dieser Polymorphismen sollen Marker entwickelt werden, die z.B. regionale Unterschiede der Stämme aufzeigen können.

Im weiteren Verlauf werden die einzelnen Stämme mit Isolaten aus infiziertem Holz und der DNA aus den Sporenfallen abgeglichen, um mögliche Infektionswege, wie die Infektion mit Sporen aus der Luft oder durch Kulturmaßnahmen wie den Rebschnitt, nachzuvollziehen.

050 - Der Esca-Erreger *Phaeomoniella chlamydospora* in der Rebschule: Erarbeitung und Überprüfung von Nachweismethoden aus verschiedenen Substraten

The Esca pathogen Phaeomoniella chlamydospora in grapevine nurseries: development and verification of detection methods from various substrates

Nicolai Haag, Ralf Vögele², Michael Fischer

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

²Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin

Esca ist eine weltweit verbreitete Holzkrankheit der Weinrebe. Es handelt sich dabei um einen Krankheitskomplex an dessen Entwicklung verschiedene Pilze beteiligt sind. Bis heute werden sowohl die beiden Deuteromyceten *Phaeomoniella chlamydospora* (*Pch*) und *Phaeoacremonium aleophilum* (*Pal*), als auch der Basidiomycet *Fomitiporia mediterranea* (*Fmed*) als Hauptverursacher dieser Krankheit in Europa betrachtet. Junganlagen und bereits Pflanzmaterial der Weinrebe können von Erregern der Esca-Krankheit befallen sein. Dies führt zu beträchtlichen und in den letzten Jahren weiter zunehmenden ökonomischen Schäden weltweit. Eine direkte Bekämpfung der an dieser Krankheit beteiligten Pilze ist bis heute auch aufgrund unzureichender Kenntnisse über Biologie, Vorkommen, sowie Infektionswege und Ausbreitungsverhalten der Erreger nicht möglich. Im laufenden Projekt ist die Erfassung epidemiologischer Aspekte für *Pch*, den wohl wichtigsten Erreger im Bereich Pflanzgut, angestrebt. In Verbindung mit den innerbetrieblichen Abläufen sind dabei Untersuchungen im Freilandbereich verschiedener Rebschulen von besonderer Bedeutung. Die Erfassung und Bewertung der oben genannten Faktoren, d.h. Vorkommen, Infektionswege/-quellen und Ausbreitungsverhalten von *Pch* erfordern die Verfügbarkeit zuverlässiger und nach Möglichkeit quantifizierender Nachweismethoden dieses Erregers aus den für das Vorkommen des Erregers relevanten Bereichen Holz, Boden, Luft und Wasser. Daher sollen Nachweisverfahren für Edelreiser-/Unterlagenholz, Vortriebssubstrate wie z. B. Torf oder Sägespäne, Bodenproben im Freiland, Pilzsporen aus der Luft, Wasserproben aus dem Freiland sowie aus Wassertanks und Wasserleitungen entwickelt und in der Praxis erprobt werden.

In der Vergangenheit konnte *Pch* bereits im Holz befallener Reben, in der Luft, sowie in Erde und Wasser nachgewiesen werden (z.B. Larignon & Dubos 2000; Rooney et al. 2001). Desweiteren sind erfolgreiche Nachweise innerhalb von Pflanzgut-Erzeugungsbetrieben aus Vortriebssubstraten, Tauchbädern und verschiedenen Rückständen an Bearbeitungswerkzeugen bekannt (z.B. Retief et al. 2006; Fischer 2009).

Aktuell geprüfte Nachweisverfahren umfassen die konventionelle Isolierung des Erregers auf Nährmedien, molekulare Nachweismethoden wie PCR von extrahierter DNA aus den Bereichen Holz und Boden, sowie unkonventionelle Nachweismethoden aus Holz und Boden. Dabei hat sich eine Nachweismethode aus Rebholz mittels direkter PCR nach Inkubation des Holzes in Flüssignährmedium (Martín et al. 2012) als aussichtsreich und im Hinblick auf Zeitaufwand und Wirtschaftlichkeit als besonders attraktiv herausgestellt.

Literatur

LARIGNON, P. & B. DUBOS 2000: Preliminary studies on the biology of *Phaeoacremonium*. Phytopathol. Mediterr. **39**, 184-189.

- MARTÍN, M. T., R. COBOS, L. MARTÍN, L. LÓPEZ-ENRÍQUEZ 2012: Real-Time PCR Detection of *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum*. Appl. Environ. Microb. **78**, 3985-3991.
- RETIEF E., A. MCLEOD, P. H.FOURIE 2006: Potential inoculum sources of *Phaeoconiella chlamydospora* in South African grapevine nurseries. Eur. J. Plant Pathol. **115**, 331-339.
- ROONEY, S. N., A. ESKALEN, W. D. GUBLER 2001: Recovery of *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium inflatipes* from soil and grapevine tissues. Phytopathol. Mediterr. **40**, 351-356.
- FISCHER, M. 2009: Untersuchungen zu den Übertragungswegen der Esca-Erkrankung im Weinbau und Erarbeitung von Verfahren zur Erzeugung gesunden Rebenpflanzguts. Abschlussbericht „Forschungsvorhaben 06HS022“.

051 - Untersuchungen zum pathogenen Potential von *Botryosphaeria*-Arten bei der Weinrebe

Research on the pathogenic potential of Botryosphaeria species of grapevine

Martina Hausteil, Matthias Zink, Joachim Eder, Andreas Kortekamp

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Abteilung Phytomedizin

Die Esca-Krankheit der Weinrebe wird durch einen Komplex verschiedener pilzlicher Schaderreger verursacht, die das Holz insbesondere des Rebstammes besiedeln. Die dadurch verursachten Schäden führen je nach Schweregrad zu einer chronischen Verlaufsform der Krankheit oder zu einem schnellen Absterben der gesamten Rebe. Aus dem symptomatischen Holz bzw. den angrenzenden Bereichen können Pilze aus verschiedenen systematischen Gruppen isoliert werden, wobei einige Arten gehäuft auftreten. Im jungen Holz lassen sich bereits zu einem frühen Zeitpunkt der Rebenentwicklung Pilze aus der Gruppe der *Botryosphaeriaceae* nachweisen, die potentiell pathogen sind und an der Esca-Krankheit bzw. Esca-assoziierten Krankheiten, wie BDA (black dead arm disease), ursächlich beteiligt sind. Daher wurden zunächst über 100 Isolate von Reben aus deutschen Anbaugebieten gesammelt. Diese bisher in Deutschland gesammelten *Botryosphaeria*-Arten wurden anschließend mittels ITS-Sequenzierung bzw. Analyse des Translations- und Elongationsfaktors 1a und anhand morphologischer Merkmale bestimmt sowie das pathogene Potential bei der Weinrebe untersucht. Alle bisher untersuchten Isolate konnten den Arten *B. parva* (*Neofusicoccum parvum*), *B. obtusa* (*Diplodia seriata*), *B. dothidea* (*Diplodia dothidea*) und *Diplodia mutila* zugeordnet werden. Dabei repräsentiert *B. obtusa* die dominierende Art.

Zur Untersuchung der Pathogenität und Virulenz der gesammelten Isolate wurden zunächst Internodien aus dem einjährigen Holz anfälliger Reben der Sorte Riesling künstlich infiziert, für 14 Tage bei 25°C in einer feuchten Kammer inkubiert und anschließend die Symptomausprägung ausgewertet. Sowohl zwischen den Arten, als auch zwischen den Isolaten bestehen offensichtlich große Unterschiede hinsichtlich der durch sie verursachten Schadsymptome im Rebholz. Insbesondere die Isolate der Art *B. parva* verursachen weitreichende Nekrosen mit Verschwärzungen im betroffenen Gewebe. Ähnliches konnte im Falle von *D. mutila* beobachtet werden, wobei bisher nur ein Isolat untersucht werden konnte. Die Isolate der Art *B. obtusa* waren unterschiedlich virulent. Während einzelne Isolate möglicherweise nicht pathogen sind, verursachten die meisten Isolate nach einer künstlichen Infektion Verbräunungen von unterschiedlicher Intensität. Das Vorhandensein von *B. obtusa* im jungen Rebholz führt somit nicht zwangsläufig zur Krankheit mit entsprechender Symptomausprägung.

In weiteren Versuchen mit künstlich infizierten Topfreben konnten die Ergebnisse des internodien-Tests bestätigt werden. Infektionen mit *B. parva* führten zu einem Absterben der Triebe oberhalb der Infektionsstelle, wohingegen *B. obtusa* unterschiedlich stark ausgeprägte Nekrosen an infizierten Trieben verursachte. Erste Untersuchungen an verschiedenen, für Deutschland relevante Rebsorten zeigen, dass gegenüber den Erregern *B. obtusa* und *B. parva* ebenfalls sortenspezifische Anfälligkeiten bestehen. Insbesondere die wirtschaftlich bedeutende Sorte Riesling weist eine vergleichsweise erhöhte Empfindlichkeit auf.