

dabei die folgenden Merkmale erfaßt: Gewicht der Stecklinge zu Beginn und zu Ende des Versuches, Wachstumsverhalten des Austriebs sowie generell Ausbildung von Blatt- und Holz-Symptomen. Zur Einschätzung der Holzsymptomatik wurde ein numerisches System entwickelt und erstmalig angewendet. Als Resümee zeigt sich unter den Versuchsbedingungen fast durchwegs ein statistisch signifikanter Einfluß der Wasserversorgung; im Vergleich zur Kontrolle („normal“, nicht-infiziert) sind Pflanzen unter reduzierter Wasserversorgung („Stress“) demnach vermehrt von Esca-assoziiierter Symptomatik betroffen. Im Rahmen von begleitenden Re-Isolierungsversuchen zeigt sich keine strikte räumliche Korrelation zwischen Holzsymptomen und physischer Präsenz des Erregers.

065-Tisch, C.¹⁾; Rühle, M.²⁾; Eibach, R.³⁾; Nick, P.²⁾; Kortekamp, A.¹⁾

¹⁾ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz

²⁾ Karlsruher Institut für Technologie

³⁾ Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Mikroskopische Studien zum frühen Infektionsprozess von *Guignardia bidwellii* auf verschieden resistenten Rebsorten und Europäischen Wildreben

*Microscopical investigation of the early infection process of *Guignardia bidwellii* on grapevine varieties with different levels of resistance and on European wild grapes*

Der Erreger der Schwarzfäule an Weinreben, *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala & Ravaz, stammt ursprünglich aus Nordamerika und gilt dort als bedeutende Pilzkrankheit im Weinbau. Seit 2002 tritt der Erreger auch verstärkt in Deutschen Weinanbaugebieten auf und führt lokal zu großen Schäden, was vor allem den ökologischen Weinbau vor große Bekämpfungsprobleme stellt. Im Rahmen des Forschungsprojektes wurden Wildrebenakzessionen der Europäischen Wildrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris*) auf ihre Resistenz gegenüber wichtigen pilzlichen Schaderregern untersucht. Die vom Aussterben bedrohten Europäischen Wildreben sind autochthon ohne landwirtschaftlichen Einfluss in Auengebieten des Rheins gewachsen und zeichnen sich durch eine natürliche Widerstandsfähigkeit gegenüber pilzlichen Schaderregern aus. Die zugrundeliegenden Mechanismen unterscheiden sich offensichtlich von denjenigen bisher genutzter Resistenzen und dienen daher möglicherweise als neue Resistenzquellen in der Rebzüchtung. Nach ersten Resistenzprüfungen wurden drei Wildrebenakzessionen anhand ihrer Toleranz gegenüber dem Erreger der Schwarzfäule selektiert und näher untersucht. Anfälligkeitsunterschiede zwischen amerikanischen beziehungsweise asiatischen Wildarten sowie traditionellen und neu gezüchteten Rebsorten sind bekannt, Wissenslücken bestehen allerdings hinsichtlich der Interaktion zwischen dem Pathogen und verschieden resistenten Wirtspflanzen, besonders bezüglich des frühen Infektionsprozesses.

Um die Anlagerung der Pilzsporen an der Blattoberfläche und die frühen Infektionsstadien des asexuellen Infektionszyklus von *Guignardia bidwellii* (anamorph: *Phyllosticta ampellicida*) zu charakterisieren, wurde Fluoreszenzmikroskopie kombiniert mit verschiedenen Färbetechniken eingesetzt. Vergleichende Untersuchungen wurden an Blattscheiben der anfälligen Rebsorte 'Müller-Thurgau', der resistenten Unterlagsrebsorte 'Börner' und drei verschiedenen Akzessionen der Europäischen Wildreben hinsichtlich Konidienanheftung, Keimung und Appressorienbildung mikroskopisch durchgeführt.

Im ersten Schritt des Infektionsprozesses heften sich die Konidien an die Blattoberfläche an und bilden anschließend einen Keimschlauch, an dessen Ende sich kurze Zeit später ein Appressorium entwickelt. Von diesem Appressorium ausgehend penetriert der Pilz die pflanzliche Kutikula und beginnt mit dem subkutikulären Hyphenwachstum, welches auf den antiklinalen Zellwänden der Epidermiszellen beschränkt ist. Die Hyphen bilden teilweise auch kürzere dickere Verzweigungen aus, die sogenannten „Hyphenfinger“, deren Funktion noch unklar ist, wahrscheinlich aber einer Oberflächenvergrößerung und damit einer besseren Nährstoffaufnahme dienen.

Zum Vergleich der Keimung und Appressorienbildung auf den verschiedenen Genotypen wurden Blattscheiben inokuliert, nach 24 Stunden angefärbt und die Konidien mittels Fluoreszenzmikroskopie den jeweiligen Infektionsstadien zugeordnet. Bisherige Ergebnisse zeigten, dass auf den Europäischen Wildreben weniger Konidien ausgekeimen und Appressorien bilden als auf der Kulturrebe Müller-Thurgau und der Unterlagsrebe Börner. Eine mögliche Ursache hierfür könnte eine mangelnde Anheftung der Konidien an die Blattoberfläche sein. Um dies an den hier gewählten Rebsorten und -arten zu untersuchen, wurden Blattscheiben mit einer Konidien suspension inokuliert, nach einer Inkubation in Ethanol gewaschen, und anschließend die Anzahl der anhaftenden Konidien mikroskopisch bestimmt. Tendenziell heften sich auf Blättern von Müller-Thurgau und Börner mehr Konidien an als auf Blättern von Wildreben. Um nähere Erkenntnisse über die Oberflächeneigenschaften der unterschiedlichen Rebsorten und -arten zu gewinnen wurden zum einen Untersuchungen zu deren

Adhäsionskraft durchgeführt. Zum anderen weisen erste rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen auf Wachsbildungen bei Wildreben hin.

066-Schildberger, B.; Griebbacher, A.

Höhere Bundeslehranstalt für Wein- und Obstbau, Wien

Bekämpfung von Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) und Bestimmung deren Mykotoxinbildung

Nach vereinzelt beobachtungen von Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) in verschiedenen Weinbauregionen Österreichs ist seit dem Jahr 2010 ein erstmaliges verstärktes Auftreten wahrzunehmen. Ein Ziel der Untersuchung war es den Einfluss verschiedener Wirkstoffe auf das Wachstum von Schwarzfäule zu untersuchen. Um die Wirksamkeit der einzelnen Wirkstoffe zu testen, wurde im Labor das Wachstum von Schwarzfäule sowohl bei protektiver, wie auch bei kurativer Behandlung untersucht. Beim Plattendiffusionstest wurde die Wirksamkeit der einzelnen Wirkstoffe bei unterschiedlichen Konzentrationen unter Berücksichtigung der Bildung von Hemmhöfen untersucht. Diese Untersuchungen bestätigten die gute Wirkung verschiedener Pflanzenschutzmittel aus den Wirkstoffen der Strobilurine und Triazole. Die Pflanzenschutzmittel mit den Wirkstoffen Kupferoktanoat (Cueva[®]) und Kupferhydroxid (Cuprozin[®] flüssig) hingegen, zeigten keine ausreichende Wirkung gegen Schwarzfäule.

Aufgrund der Tatsache, dass einige Schimmelpilzarten, welche auf Weintrauben gefunden werden, die Mykotoxine Ochratoxin A und Patulin produzieren, galt es herauszufinden, ob diese Mykotoxine auch bei einem Befall durch Schwarzfäule produziert werden.

Mykotoxine sind toxische Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, welche für eine Gesundheitsschädigung verantwortlich sind. Mittlerweile sind mehr als 400 verschiedene Mykotoxine bekannt, es wird jedoch davon ausgegangen, dass noch mehrere Tausend unentdeckt sind. Für Lebensmittel sind jedoch nur einige wenige von Bedeutung, unter anderen Aflatoxinen, Ochratoxin A sowie Patulin. Die eigentliche Funktion der Bildung von Mykotoxinen ist derzeit noch nicht bekannt, es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass diese gebildeten Gifte zur Ausschaltung anderer Mikroorganismen, die eine Konkurrenz darstellen, dienen.

Für die Mykotoxinuntersuchung der Trauben wurden sowohl für Ochratoxin A wie auch für Patulin befallene Beeren aus dem Freiland vom Stielgerüst gewonnen und als Maische untersucht. Parallel zur Vorbereitung der Trauben erfolgte die Untersuchung des Mykotoxingehaltes im Labor. Diese parallele Testung soll sicherstellen, dass es zu keiner Mykotoxinbildung durch andere, möglicherweise auf den Beeren aus dem Freiland befindliche Pilze gekommen ist. Die Untersuchung auf Ochratoxin A erfolgte mittels ELISA, die Testung auf Patulin mittels HPLC.

Bei diesen zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführten Untersuchungen konnten jedoch Ochratoxin A und Patulin, zwei der am häufigsten bei Trauben gefundenen Mykotoxine, nicht nachgewiesen werden.

067-Walter, R.; Altmayer, B.; Kortekamp, A.

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinland

Entwicklung eines molekularbiologischen Nachweises zur Identifizierung von *Penicillium*-Arten an der Weinrebe

Development of a method for the molecular identification of Penicillium species on grapes

Pilze der Gattung *Penicillium* spec. verursachen die Grünfäule an Trauben. Dabei können sie Metabolite bilden, die die Mostqualität negativ beeinträchtigen. Seit 2004 werden am DLR Rheinland in Screenings die *Penicillium*-Arten bestimmt, die die typischen Krankheitssymptome an Trauben verursachen. Durch verschiedene molekularbiologische Verfahren konnten bisher 724 Isolate identifiziert werden. Mit 673 Isolaten war *P. expansum* der Haupterreger der Krankheit an Trauben. Weitere 25 Isolate wurden als *P. minioluteum*, 13 als *P. crustosum*/ *P. commune*, sechs als *P. purpurogenum* und drei als *P. spinulosum* identifiziert. Weitere vier Einzelbefunde wurden den Arten *P. aurantiogriseum*, *P. janthinellum*/ *P. griseovulvum*, *P. solitum*/ *P. echinulatum* und *P. thomii* / *P. purpurescens* zugeordnet.

Spezifischer Nachweis von *P. expansum*

Ein spezifischer Nachweis von *P. expansum*, dem Hauptverursacher der Grünfäule an Trauben, wurde mittels PCR mit den Primern PEF und PER nach MAREK ET AL. (2003) zuverlässig und reproduzierbar durchgeführt. Bei der