
Sektion 8

Weinbau

o8-1 - Aufbruch in eine neue Dimension: Zwei- und dreidimensionales Wachstum des Schwarzfäuleerregers der Weinrebe

Into a new dimension: Two and three dimensional growth of black rot on grapevine

Christine Tisch¹, Peter Nick², Andreas Kortekamp¹

¹Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institut für Phytomedizin, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstraße, christine.tisch@dlr.rlp.de,

²Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Botanisches Institut und Botanischer Garten, Kaiserstrasse 2, 76128 Karlsruhe

Phyllosticta ampellicida (*Guignardia bidwellii*) ist der Erreger der Schwarzfäule an Reben, eine Pilzkrankheit die zu schweren Ertragsausfällen führen kann. In Deutschland ist sie von lokaler Bedeutung, stellt jedoch vor allem für den ökologischen Weinbau aufgrund fehlender Bekämpfungsmaßnahmen eine große Herausforderung dar. Trotz ihrer weltweiten Präsenz, vor allem in Nordamerika, ist wenig über den Infektionsprozess, die Ernährungsweise des Pilzes und die potentiellen Abwehrmechanismen der Rebe bekannt. Im Gegensatz zu anderen Pathogenen der Weinrebe zeichnet sich die Schwarzfäule durch eine sehr lange Inkubationszeit von ca. 14 Tagen und einer hemibiotrophen Lebensweise aus.

Die einzelnen Phasen des asexuellen Infektionsprozesses wurden mittels Fluoreszenz- und Rasterelektronenmikroskopie untersucht. Pyknidiosporen auf der Oberfläche von Blättern heften sich an die Kutikula an und keimen unter feuchten Bedingungen kurz darauf aus. Der Keimschlauch bildet ein Appressorium aus, in das Melanin eingelagert wird. Vom Appressorium ausgehend penetriert der Erreger die Kutikula, und erste Hyphen entstehen zwischen der Kutikula und den Zellwänden der Epidermiszellen. Diese Hyphen wachsen zunächst ausschließlich auf den periklinalen Zellwänden. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten, dass die Kutikula dabei angehoben wird. Nachdem der Pilz ein umfangreiches Hyphennetz etabliert hat, verdicken sich vor allem die Hyphenenden im Randbereich des Hyphennetzes und beginnen ein dreidimensionales Wachstum, welches nun auch andere Zellschichten des Wirtsgewebes erschließt. In diesen Bereichen entstehen die Pyknidien, die zunächst unter der Kutikula wachsen, diese aber für eine Sporenfreisetzung durchbrechen.

Während des zweidimensionalen Hyphenwachstums von *P. ampellicida* wurden ca. 8 Tage nach Inokulation kurze laterale Hyphenverzweigungen beobachtet, die teilweise die antiklinalen Epidermiszellen überwachsen. Möglicherweise gewährleisten sie durch eine Vergrößerung der pilzlichen Oberfläche eine bessere Aufnahme von Nährstoffen. Da über die Ernährungsweise des Pilzes keine Informationen vorliegen, wurde im Rahmen eines Substrattests der Abbau verschiedener Zellwandkomponenten wie Cellulose, Hemicellulose und Pektin analysiert. Sowohl Cellulose als auch Hemicellulose wurden sehr gut abgebaut, konnten jedoch kaum für ein Myzelwachstum genutzt werden. Im Gegensatz dazu war der Substratabbau auf pektinhaltigen Medien vergleichsweise gering, das Wachstum im Vergleich zu Kontrolle auf Minimalmedium jedoch deutlich erhöht. *P. ampellicida* scheint daher Pektin von den angebotenen C-Quellen am besten umsetzen zu können. Nähere Untersuchungen zum Pektin Gehalt und zur Pektinzusammensetzung unterschiedlich anfälliger resistenter Rebsorten, werden zurzeit durchgeführt.

Mit Hilfe von Expressionsanalysen wird das Abwehrverhalten der Rebe untersucht. Dafür wurde die anfällige Rebsorte Müller-Thurgau, die teilresistente Neuzüchtung Solaris und die resistente Unterlagsrebsorte Börner ausgewählt. In Anlehnung an andere Pathosysteme wurden dabei frühe Infektionszeitpunkte berücksichtigt. Erste Ergebnisse zeigen, dass vor allem die Expression von PR10 bei der resistenten Sorte Börner und der teilresistenten Sorte Solaris gegenüber Müller-Thurgau erhöht ist. Die Validierung weiterer abwehrrelevanter Gene und Zeitpunkte ist Gegenstand momentaner Untersuchungen.

o8-2 - *Phaeomoniella chlamydospora* – Vorkommen des Esca-Erregers während der Pflanzguterzeugung

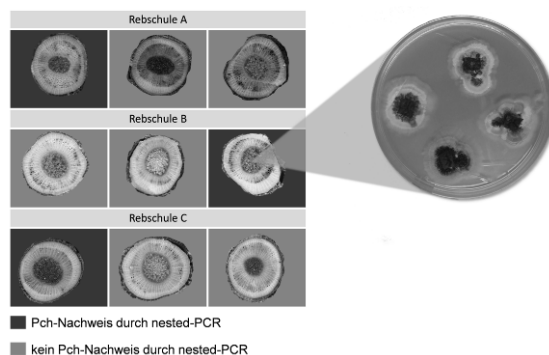
Phaeomoniella chlamydospora – the Esca pathogen in grapevine nursery production

Nicolai Haag¹, Ralf Vögele², Michael Fischer¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Siebeldingen, nicolai.haag@julius-kuehn.de

²Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, Stuttgart

Bei Esca handelt es sich um einen weltweit verbreiteten Krankheitskomplex der Weinrebe, der durch mehrere holzbewohnende Pilze verursacht wird. In Europa werden dabei die Pilze *Phaeomoniella chlamydospora* (*Pch*), *Phaeoacremonium aleophilum* (*Pal*) und der Mittelmeer-Feuerschwamm *Fomitiporia mediterranea* (*Fmed*) als Hauptverursacher angesehen. Die durch die Krankheit verursachten ökonomischen Schäden sind sehr beträchtlich und nehmen in den letzten Jahren weiter zu. Bereits jüngere Rebanlagen und Pflanzgut können von den Erregern betroffen sein. Direkte Bekämpfungsmaßnahmen stehen bislang nur bedingt zur Verfügung, u. a. aufgrund unzureichender Kenntnisse über Biologie und Epidemiologie der beteiligten Erreger. Als Grundlage zur Entwicklung effektiver Bekämpfungsstrategien wird im laufenden Projekt die Erfassung epidemiologischer Faktoren für *Pch*, den vermutlich wichtigsten Erreger für eine mögliche Frühinfektion, sowohl im Freiland als auch während der innerbetrieblichen Abläufe in der Pflanzguterzeugung angestrebt. Zu diesem Zweck werden über den Zeitraum von 2014 - 2016 in drei verschiedenen Rebschulen in Baden-Württemberg und Rheinland-Pfalz Rebholz, Vortriebssubstrate, Tauchbäder, sowie Sporenfallen und Boden hinsichtlich des Vorkommens von *Pch* untersucht.



Visuelle Bonitur vs. molekularbiologischer Nachweis

Die verwendeten Untersuchungsverfahren beinhalten dabei visuelle Bonituren der Holzsymptome, Isolierungen der in den verschiedenen Substraten befindlichen Pilze auf

Nährböden sowie den molekularbiologischen Nachweis von *Pch* durch ein eigens entwickeltes nested PCR-Verfahren.

In allen Beobachtungsjahren konnte im Jahresverlauf ein deutlicher Anstieg der Holzsymptome im Pflanzmaterial beobachtet werden. Dies gilt für alle einbezogenen Rebschulen und sowohl für die Befallshäufigkeit als auch für die Befallsschwere. Ein Nachweis des Erregers konnte regelmäßig in Unterlagenholz, in verschiedenen Tauchbädern sowie in Freiland-Sporenfallen erbracht werden. Auch in diversen Vortriebssubstraten war *Pch* in einzelnen Fällen zu finden.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass prinzipiell verschiedene Substrate zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Pflanzguterzeugung als potenzielle Infektionsquellen in Frage kommen. In Bezug auf Holzsymptomatik und Erregernachweis konnte eine gewisse Diskrepanz festgestellt werden. Dabei war das Auftreten der *Pch*-typischen Holzsymptome zwar häufig zu beobachten, dabei aber nicht durchweg mit der physikalischen Präsenz des Erregers in Korrelation zu bringen (Abb.). Eine mögliche Erklärung hierfür wäre die Beteiligung weiterer, bisher wenig erfasster Pilze mit ähnlicher Symptomatik. Diese Vermutung wird durch jüngst vorgenommene Untersuchungen unterstützt und soll im weiteren Verlauf des Projekts gezielt weiter bearbeitet werden.

o8-3 - Einfluss der Rebengattung auf die intraorganismische Ausbreitung stammassozierter GTD-Pathogene und Bedeutung für die Langlebigkeit

Comparison between two grafting types of grapevine with respect to GTD-related mycoflora and relevance for long-term viability

Martina Hausteil¹, Arno Becker², Andreas Kortekamp¹

¹Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Institut für Phytomedizin, Breitenweg 71, 67435 Neustadt an der Weinstraße, martina.hausteil@dlr.rlp.de,

²Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinhessen-Nahe-Hunsrück, Wormser Strasse 111, 55276 Oppenheim

In deutschen Weinanbaugebieten steigt die Tendenz, aus arbeitswirtschaftlichen Gründen Hochstammreben anzupflanzen, sowohl als Nachpflanzungen in bereits bestehenden Ertragsanlagen als auch bei Neupflanzungen. Feldbeobachtungen lassen eine erhöhte Anfälligkeit von Hochstammreben gegenüber Holzkrankheiten, den sogenannten Grapevine Trunk Diseases (GTDs) vermuten. Die einzige phytosanitäre Maßnahme bei betroffenen Reben besteht zurzeit im Rückschnitt des erkrankten Stammes bis in das gesunde Rebholz, was bei dem geringen Edelreisanteil der Hochstammreben nicht möglich ist.

Der Einfluss des verringerten Edelreis-/Unterlags-Verhältnis auf die Entwicklung und Ausbreitung der GTDs innerhalb der Reben wurde anhand einer visuellen Analyse der pilzinduzierten Symptome an jeweils 50 apoplektischen (abgestorbenen) Hochstamm- bzw. Standardreben (Silvaner auf SO₄, Alter 20 Jahre, benachbarte Weinberge) untersucht.

Um ein komplexes Bild der Veränderungen und Unterschiede hinsichtlich der Mykoflora des gesamten Rebstammes zu erhalten, wurden vier Querschnitte je Rebe angefertigt. Der erste im Kopfbereich, der zweite und dritte jeweils im Abstand von 20 cm darunter und der vierte im Fußbereich. Für jeden Querschnitt wurde der Anteil a-/symptomatischen Gewebes evaluiert, wobei symptomatisches Gewebe in verbräuntes und weißfäulebefallenes Gewebe unterteilt wurde. Aus jeder der drei Gewebekonstruktionen wurde 1 cm³ Material entnommen, oberflächensterilisiert, in 20 Stücke geteilt und auf Malzmedium ausgelegt.

Für jedes der Teilstücke wurde die kultivierbare Mykoflora erfasst und die Häufigkeit sowie Frequenz der einzelnen Pilze errechnet. Hierbei beschreibt die Häufigkeit die Anwesenheit einer Art in einer analysierten Teilmenge (Vorkommen in bestimmter Gewebekonstruktion/ Schnittebene etc. ja/nein) und die Frequenz das durchschnittliche Vorkommen in einer analysierten Teilmenge (Anteil ausgelegter Holzstücke mit Nachweis einer Art).

Die visuelle Auswertung der Querschnitte zeigt, dass signifikante Unterschiede zwischen Hochstamm- und Standardreben bezüglich der Ausprägung der Symptome erst ab der zweiten Schnittebene nachzuweisen sind. Diese liegt bei Standardreben noch im Edelreisbereich, bei den visuell geringer symptomatischen Hochstammreben bereits in der Unterlage.

Ähnliche Unterschiede lassen sich anhand einiger, häufig nachzuweisender Pathogenen, wie beispielsweise *Phaeoconiella chlamydospora* darstellen. *P. chlamydospora* hat bei Standardreben in der zweiten Schnittebene signifikant die höchste Frequenz, wohingegen bei Hochstammreben keine Unterschiede in der Frequenz zwischen den Schnittebenen festzustellen sind. Das gleiche Muster lässt sich bei weiteren Erregern erkennen. Dies deutet auf eine veränderte vertikale Ausbreitung der Pathogene an der Veredlungstelle hin, die für einige der Erreger eine Barriere formt, wobei die physiologisch-anatomischen Ursachen nicht geklärt sind. Eine verstärkte horizontale Ausbreitung als Konsequenz scheint wahrscheinlich und könnte ursächlich für die verringerte Langlebigkeit sein.

o8-4 - Empfindlichkeit von Schnittwunden der Reben gegenüber *Phaeoconiella chlamydospora* – einem Haupterreger im Komplex der Holzkrankheiten

Susceptibility of grape pruning wounds towards Phaeoconiella chlamydospora - one of the main pathogens of the Grape Trunk Disease complex

Annett Kühn¹, Siegfried Dörr¹, Raffaello Zito¹, Andreas Kortekamp²

¹BASF SE, annett.kuehn@basf.com

²Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz

Seit mehr als einer Dekade nimmt die Bedeutung der Rebholzkrankheiten in deutschen Weinbaugebieten zu. Bis zu 1.5 % der Rebstöcke einer Anlage sind pro Jahr so stark geschädigt, dass sie entfernt oder amputiert werden müssen.

Eine der Grundlage zur Entwicklung wirksamer Maßnahmen gegen den Krankheitskomplex ist das Wissen um die Infektionswege und -zeiträume. Haupteintrittspforten für die wichtigsten Pathogene sind die Wunden, die beim Rebschnitt zwangsläufig gesetzt werden.

In einem Freilandversuch mit künstlich inokulierten Schnittwunden wurde getestet, wie sich die Empfindlichkeit der Schnittwunden über einen Zeitraum von 3 Monaten verändert und wie lange eine Wundbehandlung vor Neuinfektion schützt. Die Inokulation erfolgte in einer Portugieser-Anlage mit *Phaeoconiella chlamydospora* am einjährigen Holz, zu verschiedenen Terminen nach dem Rebschnitt, sowohl auf ungeschützte als auch auf einmalig behandelte Wunden. Nach 3 bis 6 Monaten Inkubationszeit im Feld wurde das Rebholz unterhalb der Wunden mykologisch analysiert, um Befallshäufigkeit und -stärke zu bestimmen.

Die Ergebnisse des Versuchsjahres 2015 werden vorgestellt, die erste Antworten auf die gestellten Versuchsfragen ermöglichen.

o8-5 - Ein prophylaktischer Wundverschluss aus elektrogewebenen Polymerfasern zum Schutz gegen die Esca-Krankheit der Weinrebe

A prophylactic wound closure made of electrospun polymer fibers as protection against the Esca disease in vineyards

Melanie Molnar¹, Ralf Vögele², Michael Fischer¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Siebeldingen, melanie.molnar@julius-kuehn.bund.de

²Universität Hohenheim, Stuttgart

Bedingt durch klimatische Veränderungen konnte sich die Esca-Krankheit, die ursprünglich nur in der Mittelmeerregion nachgewiesen werden konnte, in den letzten Jahren weltweit ausbreiten. Aufgrund ihrer Symptomatik an Blättern wie „Tigerstreifen“ und an den Beeren, wie z.B. „Black measles“ und „Lederbeeren“, führt diese Krankheit zu beträchtlichen Ernteverlusten und einer geringen Weinqualität.

Da die Krankheit aus einem Komplex von mindestens drei holzbewohnenden Pilzen, *Phaeoaniella chlamydospora* (*Pch*), *Phaeoacremonium aleophilum* und *Fomitiporia mediterranea* besteht, finden sich auch Symptome im Holz. Vorherrschend sind dabei das „brown wood streaking“, Gummosis oder Weißfäule.

Da Wunden im Holz als Haupteintrittspforten für die genannten Pilze angesehen werden, muss ein besonderes Augenmerk auf den Rebschnitt, schwerpunktmäßig auf den jährlichen Winterschnitt, gelegt werden, da hier der Rebe viele Wunden am Stammkopf zugefügt werden.

Bisherige Versuche, wie eine Desinfektion von Werkzeugen und Schnittwunden oder Wundverschlüsse aus Wachsen oder Harzen, haben zu keiner Verbesserung der Situation geführt. Aus diesem Grund wurde in einem mehrjährigen Projekt am Julius Kühn-Institut in Siebeldingen ein neuer Ansatz ein Wundverschluss aus elektrogewebenen Polymerfasern getestet. Dieses neuartige Verfahren des „Electrospinning“ ermöglicht die Herstellung von elastischen und stabilen Fasermatten, die durch eine definierte Porengröße eine mechanische Barriere gegen das Eindringen von Sporen des Esca-Komplexes bilden. Gleichzeitig ist die Matte wasser- und luftdurchlässig, so dass die Wundheilung gefördert und Fäulnisprozesse verhindert werden.



Links: Unterschiedliche Dichtigkeit verschiedener Polymere gegen *Pch*; rechts: appliziertes Vlies auf frischen Schnittwunden einer Rebe

Am JKI in Siebeldingen wurde die Dichtigkeit der Vliese gegen Sporen und daraus resultierende Keimschläuche von *Pch* im Labor und im Gewächshaus getestet und Abbaubarkeitstests im Feld durchgeführt. Zudem wurden in Langzeitversuchen verschiedene Applikationsmethoden im Gewächshaus und im Freiland getestet und evaluiert.

o8-6 - *Trichoderma Atroviride* SC1 gegen Erreger des Escakomplexes im Weinbau

Trichoderma Atroviride SC1 against pathogens of esca complex disease in vine

Daniel Rieger

Belchim Crop Protection, Fachberatung Sonderkulturen, daniel.rieger@belchim.com

Der Esca Krankheitskomplex ist seit vielen Jahrhunderten eine Geisel des Weinbaus. Die Krankheit wird durch verschiedene holzzerstörende Pilze wie *Phaemoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum*, *Fomitiporia mediteraneum*, *Eutypa lata*, *Botryosphaeria* und einige andere verursacht. Diese dringen in das Holz überwiegend über Schnittwunden ein, besiedeln die Leitungsbahnen und können im Laufe der Jahre den ganzen Rebstock zum Absterben bringen.

Trichoderma Atroviride SC1 wurde aus totem Haselnussholz in Norditalien isoliert und zeigt ideale Eigenschaften als Antagonist gegen die Erreger des Esca Komplexes. *Trichoderma Atroviride* SC1 dringt sehr schnell in Schnittwunden ein und besiedelt diese, so dass kein anderer Pilz durch diese Wunde eindringen kann. Unter Laborbedingungen parasitiert er die Sporen und Hyphen der wichtigsten Esca Erreger und entzieht Ihnen durch sein schnelles Wachstum die Nährstoffe und somit die Lebensgrundlage. Damit ist er ideal geeignet als Antagonist nachhaltig gegen diese Krankheit eingesetzt zu werden.

o8-8 - Zikaden als Vektoren von Rebpathogenen in Weinbergs-Fahrterrassen

Potential Auchenorrhyncha vectors of grape pathogens in terraced vineyards

Michael Maixner¹, Dunja Kröhner^{1,2}, Yvonne Kappel^{1,2}

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, michael.maixner@julius-kuehn.de ²Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Mosel, Bernkastel-Kues

Im Steillagenweinbau werden in der Falllinie bewirtschaftete Rebflächen zu Fahrterrassen umgewandelt, um die Bewirtschaftung zu erleichtern. Damit geht die Zunahme der krautigen Vegetation innerhalb der Rebanlagen einher, da die entstehenden Böschungen durch Begrünung stabilisiert werden müssen. Für phytophage Insekten stellt dies eine erhebliche Verbesserung des Wirtspflanzenangebots dar. Im Rahmen eines Projektes zum Einfluss der Steillagenbewirtschaftung auf die Biodiversität in Kooperation mit dem DLR-Mosel werden Elemente der Zikadenfauna in Terrassenanlagen unterschiedlichen Alters erfasst, die als potentielle Überträger von Rebkrankheiten in Frage kommen. Ziel ist es, die Auswirkungen der Umstellung der Bewirtschaftungsform auf Vektoren und besonders auf das Pathosystem der Schwarzholzkrankheit einschätzen zu können.

Die Untersuchungen werden seit 2012 in Terrassenanlagen der Untermosel und angrenzenden konventionellen Rebanlagen durchgeführt. Während der Vegetationszeit erfolgen Zikadenfänge durch Gelbfallen- und Streifnetz. Vertreter der Cixiidae werden auf Infektion mit Stolbur-Phytoplasmen, den Erregern der Schwarzholzkrankheit der Rebe, untersucht, und die Befallshäufigkeit der Reben in den Anlagen durch visuelle Bonituren ermittelt.

Die Terrassenanlagen weisen im Vergleich zu konventionellen Rebflächen und Brachflächen eine höhere Vielfalt krautiger Pflanzenarten auf. Während in stärker von Gras dominierten Böschungen abgesehen von Typhlocybiniae die Vertreter der Deltocephalinae und Delphacidae dominieren, waren in Anlagen mit höherem Anteil zweikeimblättriger Arten die Cixiidae und Agalliinae die häufigsten Gruppen. Trotz der weiten Verbreitung von Ackerwinde und teilweise auch Brennessel war *Hyalesthes obsoletus* (Cixiidae), der

wichtigste Vektor der Schwarzholzkrankheit, nur schwach vertreten, obwohl in der Umgebung der Versuchsanlagen besonders die Brennnessel teilweise stark besiedelt wurde. Die häufigste Cixiide war *Reptalus panzeri*, eine ansonst seltene Art. Als dritter regelmäßig auftretender Vertreter der Familie wurde *Cixius wagneri* festgestellt. Diese Art war relativ häufig auf Gelbfällen zu finden, trat aber nur sporadisch in Streifnetzfängen auf. Eine Korrelation zwischen den Fallenfängen der Cixiiden und der in unmittelbarer Nähe vorherrschenden Vegetation (Gräser, Kräuter, Ackerwinde) wurde nicht festgestellt. Die Infektionshäufigkeit bei *H. obsoletus* bewegte sich mit durchschnittlich 11 % (90 % tuf-a - Brennnesseltyp des Stolbur-Phytoplasmas) auf dem Niveau anderer Populationen der Brennnessel-Wirtsrasse. Dagegen waren nur 1.5 % der untersuchten *R. panzeri* infiziert (tuf-b - Ackerwindentyp). Der Anteil schwarzholzkranker Reben variierte in den Terrassenanlagen zwischen 1 % und 15 % und war damit mit der Befallshäufigkeit in anderen Rebanlagen vergleichbar.

Regelmäßig wurden in den Terrassenanlagen auch Vertreter der Aphrophoridae, Cercopidae und Cicadellinae nachgewiesen. Diese xylemsaugenden Arten sind als potentielle Vektoren des in Europa eingeschleppten Quarantäneschaderregers *Xylella fastidiosa* anzusehen. Das Bakterium verursacht unter anderem Pierce's Disease der Rebe.

Aufgrund der bisherigen Untersuchungsergebnisse ist nicht von einem erhöhten Infektionsdruck durch Phytoplasmen in querterrassierten Weinbergen auszugehen. Eine endgültige Aussage ist jedoch nur möglich, wenn Daten aus einer der epidemischen Periode der Schwarzholzkrankheit vorliegen, die in unregelmäßigen Abständen zu beobachten sind.

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), FKZ 2811HS003.