

## Das Verhalten von *Plasmopara viticola* auf resistenten und anfälligen Rebsorten

von

H. DENZER<sup>1)</sup>, G. STAUDT<sup>1)</sup> und E. SCHLÖSSER<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Staatliches Weinbauinstitut, Freiburg, Deutschland

<sup>2)</sup> Justus-Liebig-Universität, Institut für Phytopathologie und angewandte Entomologie, Gießen, Deutschland

**Z u s a m m e n f a s s u n g :** An Topfbreben und Blattscheiben verschiedener resistenter und anfälliger Rebsorten wurde das Verhalten von *Plasmopara viticola* bei verschiedenen Inokulumdichten, unterschiedlicher Temperatur und Beleuchtung während der Inkubation, sowie veränderter Inkubationsdauer und Blattnässedauer geprüft.

Einen starken Einfluß auf die Sporulation des Pilzes auf Blattscheiben hatten die Konzentration des Inokulums sowie die Temperatur und die Belichtung während der Inkubation. Bei diesen Faktoren traten signifikante Interaktionen mit der Sorte auf. Die Dauer der Blattnässe war, soweit sie die für eine Infektion notwendige Dauer nicht unterschritt, ohne Einfluß auf die Sporulation des Pilzes bei verschiedenen Sorten. Ähnliches gilt für die Inkubationsdauer, deren Verlängerung, auch weit über die minimal erforderliche Zeit hinaus, ohne Einfluß auf die Sporulation blieb.

### The behavior of *Plasmopara viticola* on resistant and susceptible grapevine varieties

**S u m m a r y :** The behaviour of *Plasmopara viticola* with respect to inoculum concentration, temperature, level of illumination during incubation, duration of incubation and leaf wetness was investigated with different resistant and susceptible grapevine varieties using leaf discs and potted plants.

Inoculum concentration, temperature and illumination during incubation had a great effect on the sporulation of the fungus on leaf discs and proved to be cultivar-dependent. Duration of leaf wetness had no effect on sporulation provided that it was long enough for the infection process to be completed. In a similar way an incubation time longer than that necessary for completion of fungal growth, had no effect on sporulation.

**K e y w o r d s :** *Plasmopara viticola*, *Vitis vinifera*, infectivity, leaf wetness, variety of vine, resistance, temperature, radiation.

### Einleitung

In vielen Weinbaugebieten der Erde ist *Plasmopara viticola* der wichtigste Krankheitserreger bei der Weinrebe. Um Ertragsverluste durch diesen Erreger zu vermeiden, werden vielerorts fünf bis zehn Fungizidspritzungen durchgeführt. Neben der chemischen Bekämpfung wurde seit Beginn des Auftretens des Erregers in Europa versucht, ihm durch resistente Sorten zu begegnen. Aufgrund dieser nahezu hundert Jahre dauernden Bemühungen stehen heute eine Reihe von Zuchtlinien und Sorten zur Verfügung, die eine hohe Widerstandsfähigkeit gegen *P. viticola* mit guten Anbaueigenschaften und ansprechender Weinqualität verbinden (STAUDT *et al.* 1984). Mit den vorliegenden Versuchen soll das Verhalten von *P. viticola* auf pilzresistenten Rebsorten näher charakterisiert werden. Dazu wurde der Einfluß von Inokulumdichte, Temperatur, Beleuchtung, Inkubationsdauer und Blattnässedauer auf die Sporulation des Pilzes bei verschiedenen resistenten Sorten ermittelt.

### Material und Methoden

**R e b e n :** Die benutzten Topfpflanzen wurden im Jahre 1987 aus Zweiaugenstecklingen angezogen. Dabei handelte es sich um die Sorten Silvaner, Müller-Thurgau, Fr 946-60, Fr 993-60, Pollux (Gf. B-6-18), Castor

(Gf. B-7-2) und SV 5-276. Die Kultur der Pflanzen erfolgte in 5 l Haushaltseimern. Zum Schutz vor unerwünschten *P. viticola* Infektionen waren die Töpfe unter einem nach vier Seiten offenen Glasdach aufgestellt. In den Versuchen wurden jeweils vier Wochen alte Rebblätter, 10. bis 12. Blatt apikal, verwendet.

**P i l z m a t e r i a l :** In allen Versuchen diente eine Population von *P. viticola* als Inokulum. Sie wurde zu Beginn jeden Jahres aus dem Versuchsfeld des Staatlichen Weinbauinstituts Freiburg, Gewann Schlierbergsteige, isoliert. Während der Vegetationsperiode wurde der Pilz an Topfpflanzen der Sorte Müller-Thurgau vermehrt und konserviert.

**M e t h o d i k d e r B l a t t s c h e i b e n v e r s u c h e :** Aus Rebblättern wurden mit einem Edelstahlkorkbohrer Blattscheiben von 10 mm Durchmesser ausgestanzt. Die Blattscheiben wurden mit der Oberseite nach unten in wassergefüllten Petrischalen ausgelegt. Bei den Versuchen zur Wirkung der Inokulumkonzentration galten 3 Blattscheiben, bei allen anderen Versuchen 14 Blattscheiben als eine Wiederholung. Jede Blattscheibe wurde bei Tag mit 1 000 Sporangien inokuliert. Nach 24 h Inkubation wurden die Tropfen der Inokulumsuspension mit einer Wasserstrahlpumpe bei sanftem Unterdruck abgesaugt. Die Inkubation der Blattscheiben erfolgte bei 21 °C und einem 14 h-Tag mit 10.000 lx aus Quecksilberhochdrucklampen im Klimaschrank. Die Inkubationsdauer betrug 5 d.

Korrespondenz an: Dr. H. DENZER, Offenburger Str. 33, D-79108 Freiburg, Germany.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung des Forschungsrings des Deutschen Weinbaus durchgeführt.

**Ergebnisse**

**Methodik der Topfpflanzenversuche:** Als Wiederholung galt jeweils ein Blatt mit 10 Infektionsstellen. Jede Infektionsstelle wurde mit 250 Sporangien beimpft. Inokuliert wurde in der Dämmerung. Die Inkubationsdauer betrug bei normaler Sommerwitterung 7 d. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die infizierten Blätter zur Sporangienbildung über Nacht in einer feuchten Kammer inkubiert.

**Bonitur der Sporulation:** Als Kriterium für die Fähigkeit des Pilzes, sich auf einer Sorte zu entwickeln, diente seine Sporulation. Die Sporulation wurde nach einem Schema von 0 bis 9 bonitiert (Tabelle). Eine Korrelationsanalyse zwischen den Ergebnissen einer Bonitur auf Sporangienbildung nach diesem Schema und dem Auszählen von Sporangien mit Hilfe eines Hämatocytometers ergab eine Korrelation von  $r = 0,90$ . Die Bonituren erfolgten unter einem Stereomikroskop.

Tabelle

Bewertungsschema zur Bonitur der Sporulation von *Plasmopara viticola* in Inokulationsversuchen

Rating scale for the evaluation of *Plasmopara viticola* sporulation in inoculation tests

Note	Kriterium
0	keine Spur einer Infektion
1	keine Sporulation, nur Nekrosenbildung
2	einzelne Sporangienträger
3	ein kleiner "Pilzrasen" mit weniger als 1 mm Durchmesser
4	bis zu drei kleine "Pilzrasen"
5	mehr als drei kleine "Pilzrasen", jedoch nicht zusammenhängend
6	wie 5, jedoch teilweise zusammenhängend
7	lichter zusammenhängender "Pilzrasen"
8	dichter zusammenhängender "Pilzrasen", Epidermis noch sichtbar
9	dichter "Pilzrasen", Epidermis nicht mehr sichtbar

**Statistik:** In allen Versuchen wurde mit 8 Wiederholungen gearbeitet. Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte je nach Verteilung und Herkunft der Daten mit varianzanalytischen Verfahren, LSD- und SCHEFFÉ-Test, rangvarianzanalytischen Verfahren, FRIEDMAN- mit anschließendem WILCOXEN-WILCOX-Test oder nichtparametrischen Verfahren, KUSKAL-WALLIS-Test mit anschließendem NEMENY-Vergleich. Signifikante Unterschiede werden für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p \leq 0,05$  angegeben. Die statistische Auswertung der Ergebnisse aus den Versuchen zum Einfluß von Inokulumdichte und Inkubationstemperatur erfolgte mit einer Regressionsanalyse zu einem Polynom der Form  $Y = B_0 + B_1 \cdot X + B_2 \cdot X^2$ .

Der ausgegebene Vertrauensbereich entspricht einem  $\alpha$  von 0,05.

**Inokulumdichte und Resistenz:** In mehreren Versuchen wurde der Einfluß der Inokulumdichte auf die Sporulation des Pilzes auf den Rebsorten geprüft. Die Versuche wurden im Klimaschrank auf Blattscheiben und an Blättern von Topfpflanzen unter einem Glasdach durchgeführt.

Die Regressionsanalyse (Abb. 1) zeigte sowohl für Blattscheiben- als auch Topfpflanzenversuche eine gute Anpassung an das vorgegebene Polynom. Für die meisten Sorten ergab sich im Blattscheibenversuch eine optimale Sporulation des Pilzes bei einer Inokulumdichte von etwa 20.000 Sporangien/ml. Inokulumdichten von  $\leq 5.000$  oder  $\geq 80.000$  Sporangien/ml hatten eine verringerte Sporulation zur Folge. Bei der Sorte Fr 946-60 konnte keine optimale Inokulumkonzentration ermittelt werden, da diese Sorte bei keiner der Faktorstufen mit nennenswerter Sporulation reagierte. In den Topfpflanzenversuchen zeigte eine Inokulumdichte von etwa 5.000 Sporangien schon eine optimale Sporulation. Hier führte eine Erhöhung der Inokulumkonzentration auf 40.000 und 80.000 Sporangien zu einem signifikanten Rückgang der Sporangienbildung. Bei der Sorte Fr 946-60 traten auch hier aufgrund der geringen Sporulation keine signifikanten Unterschiede auf. Abweichungen im Kurvenverlauf bei den Sorten zeigten sich im Blattschei-

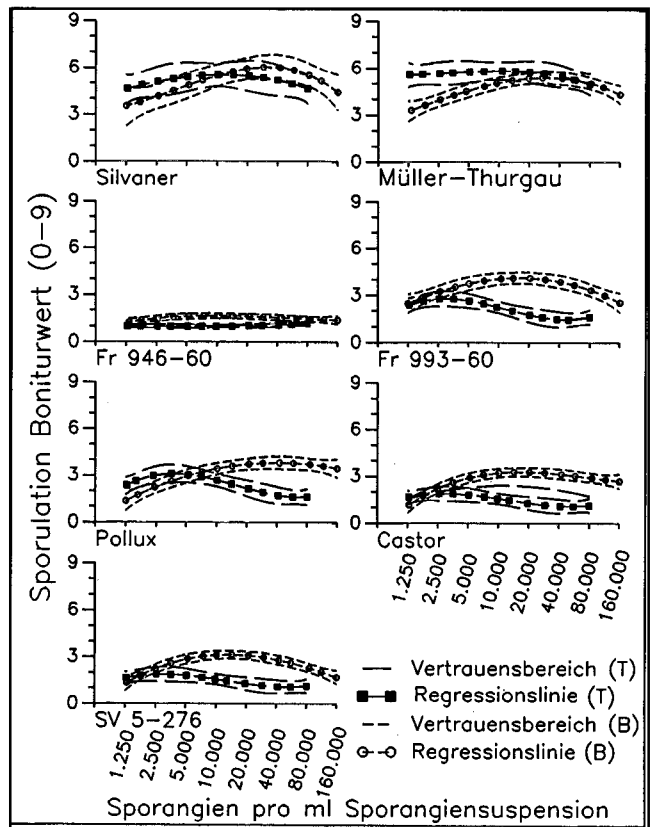


Abb. 1: Einfluß der Inokulumdichte auf die Sporulation von *Plasmopara viticola* bei verschiedenen Rebsorten, auf Blattscheiben im Klimaschrank (B), an Topfpflanzen im Freiland (T).

Influence of inoculum density on sporulation of *Plasmopara viticola* on different grapevine varieties, on leaf discs in the growth chamber (B), on potted plants in the field (T).

benversuch nur bei den Sorten Pollux und Castor; hier war bei sehr hoher Inokulumdichte kein signifikanter Rückgang der Sporulation zu beobachten. Im Topfpflanzenversuch war bei den resistenten Sorten Pollux, Castor, Fr 993-60 und SV 5-276 ein stärker abgegrenztes Optimum bei geringen Inokulumdichten festzustellen. Die Unterschiede im Verlauf der Regressionskurve der Sorten wurden durch eine zweifaktorielle Varianzanalyse bestätigt, die für Blattscheiben- und Topfpflanzenversuche signifikante Interaktionen zwischen Inokulumdichte und Sorte ergab.

**Temperatur und Resistenz:** Zum Einfluß der Inkubationstemperatur auf die Sporulation des Pilzes bei Wirten unterschiedlicher Resistenz wurden 1987 zwei Versuche und 1988 ein Versuch durchgeführt. Da sich das Niveau der beobachteten Sporulation in den beiden Jahren unterschied, mußten mit den Ergebnissen aus den beiden Versuchsjahren getrennte Regressionsanalysen berechnet werden (Abb. 2). Bei den Sorten Silvaner, Müller-Thurgau und Pollux war in beiden Jahren die höchste Sporulation bei etwa 24 °C zu beobachten. Bei der Sorte Fr 946-60 war die Sporulation 1987 so gering, daß kein Unterschied zwischen den Temperaturen auftrat. Im Jahre 1988 wurde auch bei dieser Sorte die maximale Sporulation bei etwa 24 °C erreicht. Bei den Sorten Castor und SV 5-276 waren die Unterschiede in der Sporulation des Pilzes zwischen 20 °C und 28 °C 1987 sehr gering. 1988 zeigte der Pilz auf

diesen Sorten bei 20 °C und 24 °C die stärkste Sporulation. Bei der Sorte Fr 993-60 traten ebenfalls nur geringe Unterschiede in der Sporulation bei den verschiedenen Inkubationstemperaturen auf. Hier wurde in beiden Versuchsjahren die höchste Sporulation bei einer Inkubationstemperatur von 20 °C beobachtet.

**Beleuchtung und Resistenz:** Zur Prüfung des Einflusses der Beleuchtungsstärke auf die Sporulation von *P. viticola* standen Klimaschränke mit Dauerdunkel, 3.500 lx Mischlicht aus Fluora- und Wärmlichtröhren und 10.000 lx und 20.000 lx aus Quecksilberhochdrucklampen zur Verfügung. Die Emissionsspektren der drei verschiedenen Lichtquellen sind der Abb. 3 zu entnehmen.

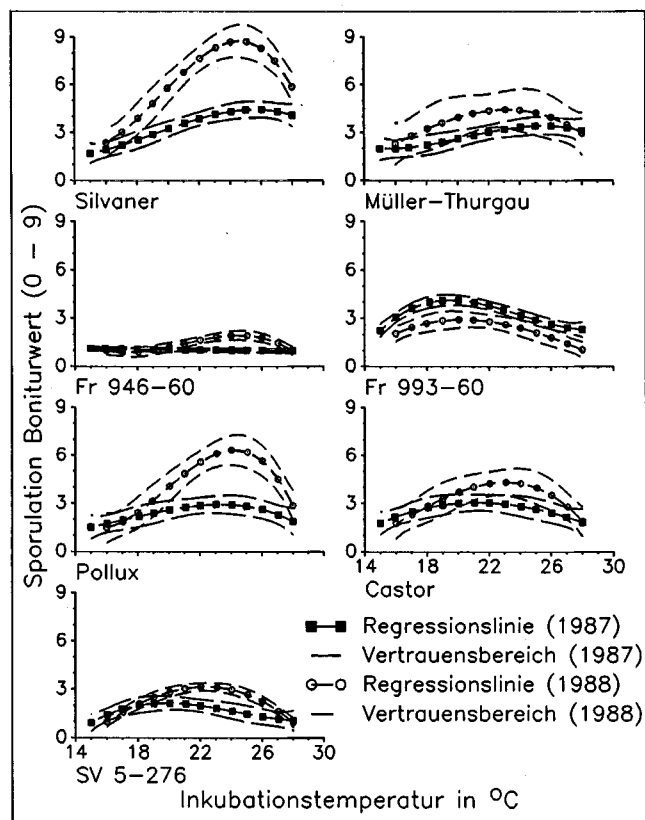


Abb. 2: Einfluß der Temperatur auf die Sporulation von *Plasmopara viticola* bei verschiedenen Rebsorten (Blattscheibenversuche).

Influence of temperature on sporulation of *Plasmopara viticola* on different grapevine varieties (leaf disc tests).

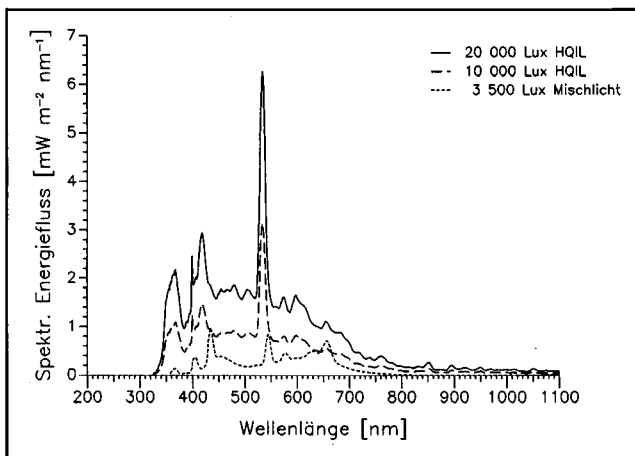


Abb. 3: Spektraler Energiefluß der Lichtquellen in den Versuchen zum Einfluß der Beleuchtung auf die Sporangienbildung durch *Plasmopara viticola*.

Spectral energy emission of the light sources during the investigations on the influence of illumination on the sporangia formation of *Plasmopara viticola*.

In den beiden Versuchen ergaben sich große Unterschiede zwischen den Dunkelvarianten und den Varianten mit verschiedener Lichtintensität (Abb. 4). Bei dauernder Dunkelheit war bei allen Sorten die Sporulation signifikant geringer. Signifikante Unterschiede zwischen den drei Lichtintensitäten waren im ersten Versuch bei den Sorten Silvaner, Fr 946-60, Pollux und Castor zu beobachten. Die Inkubation der Blattscheiben bei 10.000 lx erbrachte bei diesen Sorten die geringste Sporulation. Bei der Sorte Fr 946-60 war die Sporulation auf den Blattscheiben, die bei dieser Beleuchtung inkubiert wurden, nicht signifikant verschieden von der bei Dunkelheit. Im zweiten Versuch war bei der Sorte Fr 993-60 die Sporulation auf den mit 10.000 lx beleuchteten Blattscheiben am höchsten. Gesichert werden konnten die Unterschiede zwischen den drei Lichtintensitäten bei dieser Sorte jedoch nicht. Nur bei Pollux war die Sporulation in der Variante mit 10.000 lx signifikant geringer als bei den anderen beiden Lichtvarianten.

**Inkubationsdauer und Resistenz:** In zwei Topfpflanzenversuchen wurde geprüft, ob sich die Sporulation des Pilzes bei unterschiedlichen Sorten mit Verlängerung der Inkubationszeit verändert. Im ersten Ver-

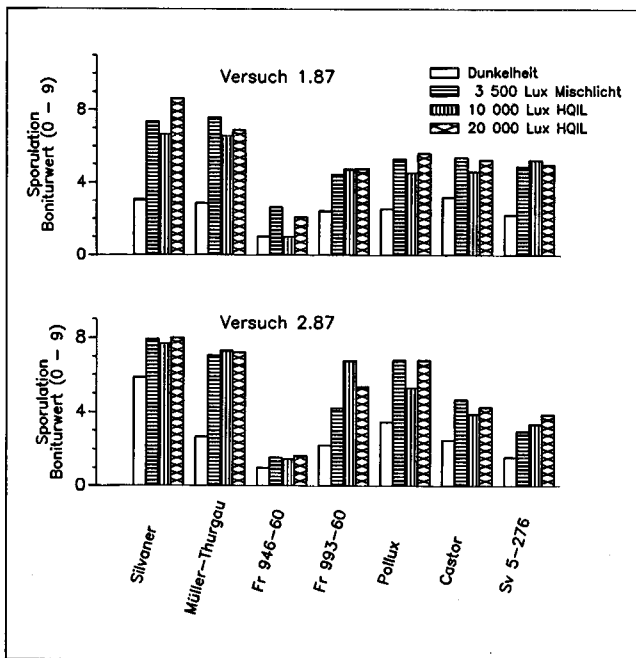


Abb. 4: Einfluß von Lichtqualität und -intensität auf die Sporulation von *Plasmopara viticola* bei verschiedenen Rebsorten (Blattscheibenversuche).

Influence of light quality and light intensity on the sporulation of *Plasmopara viticola* on different grapevine varieties (leaf disc tests).

sich wurde die Inkubationszeit von 6 auf 8, 10 und 12 d und im zweiten Versuch von 7 auf 14, 21 und 28 d verlängert. Nach 6 bzw. 7 d Inkubationsdauer hatte der Pilz bei den herrschenden Freilandtemperaturen noch nicht seine maximale Sporulationsfähigkeit erreicht. Zwischen den längeren Inkubationszeiten konnten jedoch bei allen Sorten keine signifikanten Unterschiede in der Stärke der Sporulation gefunden werden. Die zur maximalen Sporulation notwendige Inkubationsdauer war überschritten und die Sporulationsleistung blieb stabil.

**Blattnässedauer und Resistenz:** Da der Ansteller von Infektionsversuchen die Zeitdauer der Blattbenetzung zur Inokulation von Blattscheiben selbst bestimmt, wurde geprüft, ob dieser Faktor einen Einfluß auf die Entwicklung des Pilzes bei verschiedenen Sorten hat. In zwei Versuchen wurden die Inokulationstropfen für 6, 24, 48 und 72 h auf den Blattscheiben belassen. Dabei traten nur bei drei der untersuchten Sorten geringe signifikante Unterschiede auf. Insgesamt bestanden auf den für 6 oder 24 h benetzten Blattscheiben für den Pilz etwas bessere Entwicklungsbedingungen als auf den Blattscheiben, von denen der Tropfen erst später entfernt wurde.

## Diskussion

Bei zu geringer Inokulumkonzentration ist der Pilz innerhalb der gegebenen Inkubationszeit nicht in der Lage, das Gewebe vollständig zu durchwachsen. Er kann die maximale Sporangienträgerzahl auf der gegebenen Blattfläche nicht bilden. Bei zu hohen Sporangienkonzentra-

tionen in der Inokulumsuspension kommt es zu einer Hemmung der Sporangienkeimung. Diese ist wahrscheinlich durch den hohen osmotischen Druck der Suspension bedingt (GEISSLER 1959; BISSBORT 1991). Die von der Sporangienkonzentration abhängige Hemmung der Sporangienkeimung erklärt jedoch nicht die Unterschiede in der Reaktion der einzelnen Sorten auf die Steigerung der Inokulumkonzentration. Mit zunehmender Konzentration erhöht sich der durch den Erregerangriff bedingte Reiz für die Pflanze, was eine stärkere Bildung von Stressmetaboliten zur Folge haben könnte. GEHMANN (1987) beobachtete bei jungen Müller-Thurgau Blättern, die mit zu hohen Sporangienkonzentrationen inokuliert wurden, eine rasche Mazeration des Gewebes. Mikroskopische Untersuchungen früher Stadien der Wirtsbesiedlung durch *P. viticola* zeigten, daß die Versuchssorten unterschiedlich auf den Angriff des Erregers reagierten. In ihrer Fähigkeit zur Bildung des Stressmetaboliten Resveratrol konnten ebenfalls Unterschiede gefunden werden (DENZER 1991).

Die Unterschiede in der Wirt-Parasit-Interaktion bei den Versuchssorten zeigten sich auch im Verhalten der Sorten bei verschiedenen Inkubationstemperaturen. Die Optimaltemperatur für die Entwicklung des Pilzes lag für die meisten Sorten bei 24 °C. Dies liegt nahe bei der von MÜLLER und SLEUMER (1934) gefundenen Temperatur mit der kürzesten Inkubationszeit (23 °C). Auf den Sorten Fr 993-60 und SV 5-276 konnte sich der Pilz jedoch schon bei 20 °C optimal entwickeln. BLAESER und WELTZIEN (1978) fanden die beste Sporulation auf Europäerreben bei 27 °C und LALANCETTE *et al.* (1988 b) auf *Vitis labrusca* cv. Catawba bei 20 °C.

Bei den Versuchen zum Einfluß der Belichtung während der Inkubation ergab sich im Dauerdunkel bei allen Sorten die geringste Sporulation. Zwischen den Belichtungsvarianten traten bei einigen Sorten abzusichernde Unterschiede auf. Bei den meisten Sorten erwiesen sich die Varianten mit 3.500 lx Mischlicht oder 20.000 lx Quecksilberhochdrucklampen günstiger als die Variante mit 10.000 lx Quecksilberhochdrucklampen; davon ausgenommen waren die Sorten Fr 993-60 und SV 5-276. Der spektrale Energiefluß zeigt beim Mischlicht drei etwa gleichhohe Spitzen bei 430–440 nm, 540–550 nm und 650–670 nm. Die Quecksilberhochdrucklampe hatte eine Emissionsspitze im Bereich von 530 nm und zwei kleinere Spitzen bei 360 und 430 nm. Nach ZIPSE (1981) ist violettes, blaues und rotes Licht einer erfolgreichen Infektion förderlicher als grünes Licht. Dies würde erklären, warum die bei Mischlicht inkubierten Blattscheiben trotz der geringen Lichtintensität eine hohe Sporulation aufwiesen.

Die an Topfpflanzen der verschiedenen Sorten hervorgerufenen Infektionen behielten über vier Wochen ihre volle Sporulationsfähigkeit. HILL (1989) konnte im Freiland beobachten, daß Ölflecken unter trockenen Bedingungen ihre Fähigkeit zur Sporulation über zwei Monate erhalten können.

Die Ergebnisse der Versuche zum Einfluß der Blattnässedauer decken sich mit den von DIEHL (1988) beschriebenen Beobachtungen. Bei einer Blattnässedauer von mehr als 24 h traten teilweise Schädigungen auf, die eine optimale Pilzentwicklung verhinderten.

## Literatur

- ARENS, K.; 1929: Physiologische Untersuchungen an *Plasmopara viticola* unter besonderer Berücksichtigung der Infektionsbedingungen. Jahrb. Wiss. Bot. **70**, 93–157.
- BISSBORT, S.; 1991: Beurteilung einer möglichen Resistenzentwicklung gegenüber Dimethomorph, dargestellt an *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt. ex de Bary) Berl. & de Toni. und *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet. Diss. Univ. Gießen.
- BLAESER, M.; WELTZIEN, H. C.; 1978: Die Bedeutung der Sporangienbildung, -ausbreitung und -keimung für die Epidemiebildung von *Plasmopara viticola*. Z. Pflanzenkrankh. Pflanzensch. **85**, 155–161.
- DENZER, H.; 1991: Resistenz von Rebsorten gegen *Plasmopara viticola*. Diss. Univ. Gießen.
- DIEHL, H.-J.; 1988: Untersuchungen zur Erbllichkeit von Resistenzeigenschaften bei Reben gegen *Oidium tuckeri*, *Plasmopara viticola* und *Botrytis cinerea*. Diss. Univ. Stuttgart-Hohenheim.
- GAUMANN, E.; 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Verlag Birkhäuser, Basel.
- GEHMANN, K.; 1987: Untersuchungen zur Epidemiologie und Bekämpfung des Falschen Mehltaus der Weinrebe, verursacht durch *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt. ex de Bary) Berl. & de Toni. Diss. Univ. Stuttgart-Hohenheim.
- GEISLER, G.; 1959: Zoosporenbildung und Keimung bei *Plasmopara viticola* in Abhängigkeit vom osmotischen Wert. Vitis **2**, 40–44.
- HILL, G. K.; 1989: Effect of temperature on sporulation efficiency of oil-spots caused by *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt. ex de Bary) Berl. & de Toni in vineyards. Wein-Wiss. **44**, 86–90.
- INGHAM, J. L.; 1973: Disease resistance in higher plants. Phytopathol. Z. **78**, 314–335.
- LALANCETTE, N.; ELLIS, M. A.; MADDEN, L. V.; 1988 a: Development of an infection efficiency model for *Plasmopara viticola* on american grape based on temperature and duration of leaf wetness. Phytopathology **78**, 794–800.
- -; MADDEN, L. V.; ELLIS, M. A.; 1988 b: A quantitative model for describing the sporulation of *Plasmopara viticola* on grape leaves. Phytopathology **78**, 1316–1321.
- MÜLLER, K.; SLEUMER, H.; 1934: Biologische Untersuchungen über die Peronosporakrankheit des Weinstocks. Landwirtsch. Jahrb. **79**, 509–576.
- MÜLLER-THURGAU, H.; 1911: Infektion der Weinrebe durch *Plasmopara viticola*. Zentralbl. Bakt. II. Abt. **29**, 683–695.
- RAFALA, C.; SEVENCO, V.; DAVID, Z.; 1968: Contributions to the biology of *Plasmopara viticola*. Phytopathol. Z. **63**, 328–336.
- STAUDT, G.; BAUER, O.; KOEPCHEN, W.; 1984: Resistenzzüchtung bei Reben. Sechsjährige Ergebnisse des FDW-Versuches mit Weißwein-Neuzüchtungen interspezifischer Abstammung. Dt. Weinbau **39**, 1538–1543.
- ZIPSE, W.; 1981: Untersuchungen über die Wirkungsdauer zweier systemischer *Plasmopara*-Fungizide. Diplomarbeit Univ. Gießen.

Eingegangen am 22. August 1994