

Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen, BR Deutschland

## ***Verticillium lecanii* als Hyperparasit des Rebmehltaus (*Uncinula necator*)**

von

CATHERINE HEINTZ und R. BLAICH

### ***Verticillium lecanii* as a hyperparasite of grapevine powdery mildew (*Uncinula necator*)**

**S u m m a r y:** Oidiospores of *Uncinula necator* germinating on leaf discs of *Vitis vinifera* cvs or on ultrathin metacrylate membranes were infected by a hyperparasite which was identified as *Verticillium lecanii*. Oidiospores were penetrated by hyphae of this fungus either directly or by means of appressoria. Infected spores eventually shrunk and died.

**Key words:** fungus, hyperparasite, *Verticillium lecanii*, *Uncinula necator*, oidium, oidiospore, infection.

### **Einleitung**

Der saprophytische und fakultativ parasitische Deuteromyzete *Verticillium lecanii* (ZIMM.) VÉGAS ist bekannt als Parasit von Rost- und Mehltaupilzen (Literatur bei SPENCER 1980; HÄNSSLER *et al.* 1982; GRABSKI und MENDGEN 1985, 1986), aber auch von Insekten und Spinnen (GARDNER *et al.* 1984). In Holland und Großbritannien wird er kommerziell für den biologischen Pflanzenschutz bei Glashauskulturen eingesetzt (HALL 1985; SRIVASTAVA *et al.* 1985). Bei Rebmehltau scheint er bislang noch nicht beschrieben.

### **Material und Methoden**

Die vorliegenden Beobachtungen wurden an folgenden Kulturen gemacht: (1) an Blattscheiben von *Vitis* spp., die zum Zwecke der Resistenzbonitur (STEIN *et al.* 1985) mit *U. necator* (Oidium) infiziert worden waren und (2) an keimenden Oidiosporen und Primärmyzel, die auf ultradünnen (< 1 µm) Kunststoffmembranen über Nährlösungen bzw. -agar gehalten wurden (HEINTZ 1986; BLAICH *et al.* 1989).

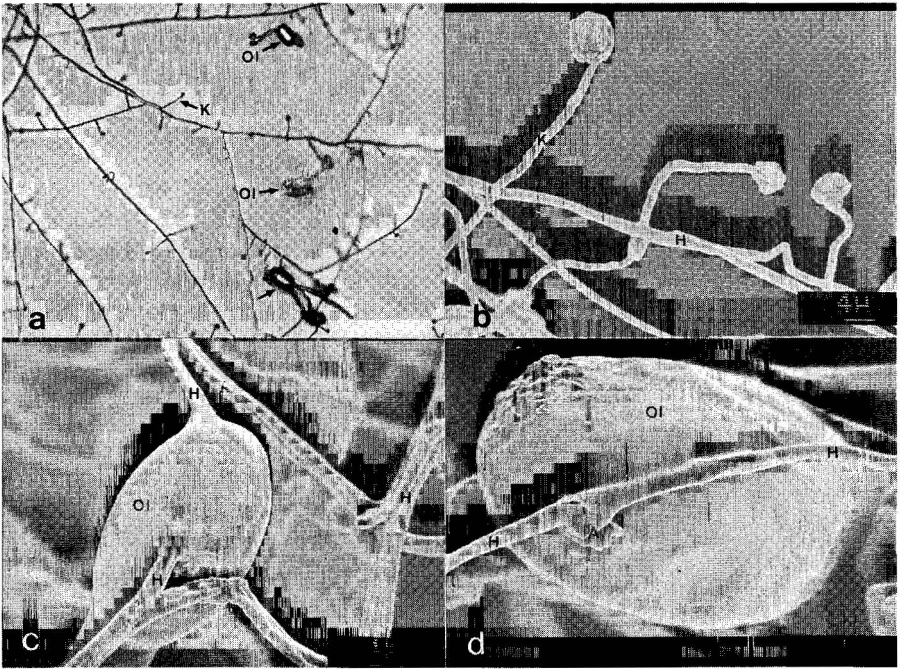
Die Präparation für die Rasterelektronenmikroskopie erfolgte durch Schockgefrieren der Objekte in flüssigem Stickstoff oder durch Kryosubstitution: Blattstücke wurden bei - 100 °C in abs. Ethanol eingefroren und einige Tage in einem Dewargefäß stehen gelassen, wobei das Ethanol regelmäßig gewechselt wurde (modifiziert nach RIEDER und SCHMIDT 1987). Die entwässerten Objekte konnten so ohne Veränderungen auch längere Zeit aufbewahrt und jederzeit für die Beobachtung gefriergetrocknet und besputtert (Edwards Sputter Coater) werden. Diese Präparation lieferte hier weit bessere Resultate als die Kritischer-Punkt-Trocknung.

Die Bestimmung des parasitären Pilzes als *V. lecanii* erfolgte durch die DSM (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen, Göttingen).

### Ergebnisse und Diskussion

Bei Resistenztests an Blattscheiben zeigte sich gelegentlich das Phänomen, daß trotz standardisierter Inokula sehr unterschiedliche Infektionsraten erhalten wurden. Dies konnte nicht von einer Kontamination durch die üblichen Saprophyten herrühren, da keinerlei Spuren von Fäulnis oder Bräunung auftraten.

Licht- und rasterelektronenoptische Untersuchungen zeigten das Vorkommen von sehr feinen Pilzhyphen und Sporenträgern, durch die Oidiosporen(ketten) und keimende Einzelsporen untereinander verbunden waren (Abb. a). Häufig waren die betroffenen Sporen geschrumpft (Abb. a, mittleres Sporenpaar). Stärkere Vergrößerung zeigte, daß die Hyphen an der Oberfläche der Oidiosporen Appressorien bildeten (Abb. d), aber auch in der Lage waren, direkt durchzuwachsen (Abb. c). Dies ließ den Schluß zu, daß es sich bei der Fremdinfection um einen Hyperparasiten von *Oidium* handelte. Dieser zeigte keinen obligaten Parasitismus, denn es war möglich, ihn auf 1,5%igem Malzextraktagar zu kultivieren und so bestimmen zu lassen.



*Verticillium lecanii* und Oidiosporen von *Uncinula necator* unter dem Lichtmikroskop (a) und dem Rasterelektronenmikroskop (b, c, d): a) Keimende Oidiosporen auf einer membranbedeckten Agaroberfläche, die z.T. von dem Hyperparasiten befallen sind. Balken = 100  $\mu$ m. b) Detail des Myzels mit Konidiophoren. c) Von *Verticillium*-Hyph (H—H) durchwachsende Oidiospore. d) Hyph mit Appressorium an einer Oidiospore. — A = Appressorium, H = Hyphen von *Verticillium*, OI = Oidiospore, K = Konidiophore.

*Verticillium lecanii* and oidiospores of *Uncinula necator* under the light microscope (a) and scanning electron microscope (b, c, d): a) Germinating oidiospores on agar covered by an ultrathin membrane; part of them are infected by the hyperparasite. Bar = 100  $\mu$ m. b) Detail of mycelium with conidiophores. c) Hypha of *Verticillium* growing directly through oidiospore (H—H). d) Hypha with appressorium adhering to oidiospore. — A = appressorium, H = hyphae of *Verticillium*, OI = oidiospore, K = conidiophore.

Der Pilz besitzt aufrechte Einzelkonidiophoren mit sehr variabler Länge von 17—30  $\mu\text{m}$ . Diese tragen Phialiden, von denen elliptische Konidien (1—2  $\mu\text{m}$   $\times$  5—7,5  $\mu\text{m}$ ) abgeschnürt werden, die zunächst kleine Aggregate bilden (Abb. b).

Das Auftreten von *V. lecanii* wurde unter *in-vitro*-Bedingungen auch an sporulierenden Kulturen von *Plasmopara viticola* auf Blattscheiben oder ganzen Blättern beobachtet. Wie auch von CANTOLARO (1988, INRA Bordeaux, persönl. Mitteilung) beobachtet, scheint dort der Pilz bei hoher Luftfeuchte die Infektion verhindern zu können.

Der beobachtete alternative Infektionsmechanismus (Appressorienbildung oder direktes Durchwachsen) wurde auch von HÄNSSLER *et al.* (1982) bei *Puccinia graminis* (Getreiderost) und von GRABSKI und MENDGEN (1986) bei *Uromyces appendiculatus* (Bohnenrost) beschrieben. Das Eindringen erfolgt dort durch sehr aktive chitinolytische Enzyme, unterstützt durch mechanischen Druck, also ähnlich wie bei Ephemem Mehltau auf höheren Pflanzen. Während bei Rostsporen das direkte Durchwachsen auf die Keimsporen beschränkt scheint, ist dies bei Mehltausporen nicht der Fall; unsere Beobachtungen deuten jedoch darauf hin, daß der Eintritt der Hyphen in der subapikalen Keimregion der Spore erfolgt, wo die Sporenwand schwächer zu sein scheint, wie Beobachtungen beim Platzen von Oidiosporen andeuteten (BLAICH *et al.* 1989).

Die Nutzung von *V. lecanii* zur biologischen Bekämpfung von Rebenmehltau wäre wegen seiner hohen Anforderungen an die Luftfeuchtigkeit, die auch bereits von GRABSKI und MENDGEN (1985) konstatiert wurde, wohl nur im Gewächshaus möglich; die Bedeutung des Hyperparasiten für den Rebenzüchter liegt vielmehr in seiner Rolle als — nicht ohne weiteres zu erkennender — Störfaktor bei Mehltausistenztests.

### Zusammenfassung

*In-vitro*-Infektionsversuche von Rebblättern mit Oidiosporen von *Uncinula necator* wurden von einem Pilz gestört, der als *Verticillium lecanii* identifiziert wurde und dessen Hyphen in der Lage sind, Sporen mittels Appressorien zu penetrieren oder direkt zu durchwachsen und schließlich abzutöten.

Wir danken unseren technischen Mitarbeitern für ihre Unterstützung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihren finanziellen Beitrag zu diesen Arbeiten.

### Literaturverzeichnis

- BLAICH, R.; HEINTZ, C.; WIND, R.; 1989: Studies on conidial germination and initial growth of the grapevine powdery mildew *Uncinula necator* on artificial substrates. Appl. Microbiol. Biotechnol. **30**, 415—421.
- GARDNER, W. A.; OETTING, R. D.; STOREY, G. K.; 1984: Scheduling of *Verticillium lecanii* and benomyl applications to maintain aphid (Homoptera: Aphidae) control on chrysanthemums in greenhouses. J. Econ. Entomol. **77**, 514—518.
- GRABSKI, G. C.; MENDGEN, K.; 1985: Einsatz von *V. lecanii* als biologisches Schädlingsbekämpfungsmittel gegen den Bohnenrostpilz *U. appendiculatus* var. *appendiculatus* im Feld und im Gewächshaus. J. Phytopathol. **113**, 243—251.
- — ; — — ; 1986: Die Parasitisierung des Bohnenrostes *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* durch den Hyperparasiten *Verticillium lecanii*: Untersuchungen zur Wirt-Erkennung, Penetration und Abbau der Rostpilzsporen. J. Phytopathol. **115**, 116—123.
- HALL, R. A.; 1985: Aphid control by fungi. In: HUSSEY, N. W.; SCOPES, N. (Eds.): Biological Pest Control — the Glasshouse Experience, 138—141. Blandford Press, Poole.

- HANSSLER, G.; HERMANN, M.; REISNER, H.-J.; 1982: Elektronenmikroskopische Beobachtungen der Interaktion zwischen Uredosporen von *Puccinia graminis* var. *tritici* und *Verticillium lecanii*. J. Phytopathol. **103**, 139—148.
- HEINTZ, CATHERINE; 1986: Infection mechanisms of grapevine powdery mildew (*Oidium tuckeri*): Comparative studies of the penetration process on artificial membranes and leaf epidermis. Vitis **25**, 215—225.
- RIEDER, N.; SCHMIDT, K.; 1987: Morphologische Arbeitsmethoden in der Biologie. Verlag Chemie, Weinheim.
- SPENCER, D. M.; 1980: Parasitism of carnation rust (*Uromyces dianthi*) by *Verticillium lecanii*. Trans. Brit. Mycol. Soc. **74**, 191—194.
- SRIVASTAVA, A. K.; DÉFAGO, G.; KERN, H.; 1985: Hyperparasitism of *Puccinia horiana* and other micro-cyclic rusts. J. Phytopathol. **114**, 73—78.
- STEIN, U.; HEINTZ, CATHERINE; BLAICH, R.; 1985: Die *in-vitro*-Prüfung von Rebsorten auf *Oidium*- und *Plasmopara*-Resistenz. Z. Pflanzenkrankh. Pflanzensch. **92**, 355—369.

Eingegangen am 17. 4. 1990

Prof. Dr. R. BLAICH  
BFA für Rebenzüchtung  
Geilweilerhof  
D 6741 Siebeldingen  
BR Deutschland