

Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen

Untersuchungen über Stilbenproduktion und Botrytisanfälligkeit bei *Vitis*-Arten

von

U. STEIN und R. BLAICH

Investigations on the production of stilbenes and susceptibility to *Botrytis* of *Vitis* spp.

S u m m a r y : Both intensity and speed of the stilbene production of *Vitis* leaves after stimulation with inducing agents is correlated with their resistance to growth of *Botrytis* mycelium.

Susceptibility to *Botrytis* and stilbene production are markedly influenced by different factors like age of leaves and time of sampling.

The most suitable test conditions were obtained by using young leaves (4th to 7th leaves from the top) during June and July, and by evaluating the results of a 6 d incubation (after infection with *Botrytis*) and an incubation of 48 h after induction of stilbene synthesis.

The best correlations between susceptibility of leaves vs. berries resulted from comparisons of leaves as described above to berries with a sugar content of at least 50 °Oechsle.

The results indicate that stilbene induction can be used as a crude screening test for varieties resistant to *B. cinerea* in seedling populations of interspecific crossings.

Key words : phytoalexin, resistance, *Botrytis*, breeding.

Einleitung

Im Rahmen eines integrierten Pflanzenschutzes im Weinbau kommt der Züchtung pilzresistenter Rebsorten und der dafür notwendigen Erforschung pflanzeigener Abwehrmechanismen weitreichende Bedeutung zu.

Zu den zahlreichen Faktoren, die innerhalb des komplexen Systems Rebe — Pilz den Grad der Anfälligkeit bzw. Resistenz beeinflussen können, gehören die als Phytoalexine bezeichneten, niedermolekularen pflanzlichen Stoffwechselprodukte Resveratrol und ϵ -Viniferin. (Zur Literaturübersicht und weiteren Einführung in die Thematik s. STEIN 1984).

Bei der Ausarbeitung praktikabler Prüfmethode zur frühdiagnostischen Bewertung des Resistenzverhaltens von Rebsorten gegenüber dem im deutschen Weinbau wichtigsten Schadpilz *Botrytis cinerea* stand in einer früheren Untersuchung die Erarbeitung einer Induktions- und Bestimmungsmethode der pflanzlichen Stilbenproduktion im Vordergrund (STEIN und HOOS 1984).

Im folgenden sollen das Verhalten verschiedener Rebsorten im Hinblick auf Stilbenproduktion und Botrytisanfälligkeit beschrieben und die Einsatzmöglichkeiten der Stilbenanalyse bei der Züchtung botrytisresistenter Rebsorten diskutiert werden.

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden in den Jahren 1981—1983 an Blättern und Trauben von insgesamt 123 verschiedenen Rebarten und -sorten aus dem Versuchsgelände der

Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof durchgeführt. Das Verhalten von 12 ausgewählten Sorten mit unterschiedlicher Botrytisresistenz wurde besonders eingehend untersucht.

Die Bestimmung der Botrytisanfälligkeit und des Stilbenproduktionsvermögens von Rebblättern erfolgte a) durch Inokulation mit Pilzmyzel und Ausmessen der nekrotischen Zonen und b) durch dünnschichtchromatographische Messung und/oder visuelle Bonitur der nach Induktion von Blättern gebildeten Stilbene (Genauerer bei STEIN und HOOS 1984 sowie STEIN 1984, 1985).

Die Inokulation von Trauben im Labor wurde nach Vorversuchen mit Myzelstückchen, Myzel- und Konidiensuspensionen vor allem wegen der einfacheren Handhabung nur noch mit letzteren durchgeführt. Wegen der relativ schnell abnehmenden Keim- und Infektionsfähigkeit älterer Konidien kamen nur solche von 10—12 d alten Kulturen zur Anwendung (CLARK und LORBEER 1976; BLAKEMAN 1980).

Zur Herstellung der Sporensuspension wurden jeweils Petrischalen mit dichtem Pilzrasen mehrmals in eine mit Wasser bzw. Biomalz-Pepton-Lösung (1 % und 0,25 % w/v in H₂O) gefüllte Schale übergeklopft, die erhaltene Suspension zur besseren Benetzung der Konidien unter Zugabe eines Tropfens Tween 20 in einem Glaszylinder geschüttelt, durch eine dünne Lage Glaswolle filtriert und nach Bestimmung der Konidiendichte mittels Zählkammer nach Bürker auf 0,5—0,6 × 10⁶ Sporen/ml eingestellt.

Eine weitere Methode zur Bestimmung der Konidienzahl stellt die Messung der Absorption bei 520 nm im Spektralphotometer dar, die sich in dem Bereich von 0,8—1,8 × 10⁶ Sporen/ml nahezu linear verhält (LUCZKA 1982).

Das Aufbringen der Sporensuspension erfolgte mit Hilfe einer Handspritze gleichmäßig auf intakte oder mittels einer Nadel verletzte Beeren; diese wurden bei 22 °C und 100%iger Luftfeuchtigkeit im Dunkeln inkubiert. Nach 4, 6 und 8 d wurde die Anzahl der befallenen Beeren (Befallshäufigkeit) sowie deren Befallsstärke in Stufen von 0—9 bonitiert.

Die Botrytisbonitur von Freilandtrauben wurde nach dem folgenden Schema vorgenommen:

Befallsstufe 0 = kein Befall (0 % befallene Beeren), 1 = Befall sehr gering (bis 5 %), 3 = gering bis mittel (bis 25 %), 5 = mittel (bis 50 %), 7 = hoch (bis 75 %), 9 = sehr hoch (über 90 %) — Zwischenwerte sinngemäß.

Zur Bestimmung des Mostgewichtes wurden jeweils 2—3 Beeren von 40—150 Trauben von 3 bzw. 20 Rebstöcken in einem Becherglas ausgequetscht und das Mostgewicht (und ggf. die Mostsäure) der bonitierten Trauben refraktometrisch ermittelt.

Die Mostgewichtsklassifizierung unverletzter Beeren erfolgte in NaCl-Lösungen unterschiedlicher Dichte (1,030—1,100, entsprechend einem Mostgewicht von 25—85 °Oe) nach der Methode von STEIN *et al.* (1983).

Die Hemmwirkung der Stilbene auf Pilze verschiedener Entwicklungsstadien wurde (verändert nach LANGCAKE 1976 und LANGCAKE *et al.* 1979) folgendermaßen festgestellt:

a) Hemmung der Konidienkeimung: 10 µl Resveratrol bzw. ε-Viniferin (0,1-, 0,5-, 1-, 2%ig w/v in Äthanol) wurden mit 1 ml Konidiensuspension von einer 10 d alten Pilzkultur (0,5 × 10⁶ Sporen/ml) in Biomalz-Pepton-Lösung (1 % und 0,25 % w/v in H₂O) gemischt, zu je 50 µl auf fettfreie Objektträger aufgebracht, in feuchten Kammern (30-cm-Petrischalen) inkubiert und die gekeimten Konidien nach 6, 12 und 24 h im hängenden Tropfen ausgezählt. Je Termin und Variante wurden jeweils 100 Konidien in 5facher Wiederholung ausgewertet; als Kontrolle diente eine Suspension mit 1 % Alkohol ohne Stilbene.

b) Hemmung des Mycelwachstums: 50 ml Biomalz-Agar wurden vor dem Abkühlen jeweils mit 0,5 ml Resveratrol bzw. ϵ -Viniferin (0,1-, 0,5-, 1%ig in Äthanol) gemischt, in kleine Petrischalen ausgegossen, nach dem Abkühlen mit einem kreisrunden Mycelstückchen (\varnothing 6 mm) aus einer 8—10 d alten Pilzkultur beimpft und bei 22 °C im Dunkeln inkubiert. Nach 2, 4 und 6 d wurde der Koloniedurchmesser ins Verhältnis zur Kontrolle (Biomalz-Agar + 1 % Äthanol) gesetzt. Je Versuchsvariante kamen jeweils 7 Platten zur Auswertung.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe entsprechender Computerprogramme (KLENERT, BFAR Geilweilerhof) auf einem APPLE II-Microcomputer. Verrechnung: 3fache Varianzanalyse, Korrelation, Regression. Prüfung: F-Test, t-Test und Grenzdifferenzberechnungen (MUDRA 1958) auf Signifikanz (P 5 % = signifikant, P 1 % = hochsignifikant). Die dargestellten Mittelwerte umfassen, sofern nicht anders angegeben, je nach Versuchsanordnung und Fragestellung 10—30 Einzelwerte in jeweils mindestens 3facher Wiederholung.

Ergebnisse und Diskussion

a) Versuche mit Freilandpflanzen

Die für Botrytisanfälligkeit und Stilbenproduktion erarbeiteten Daten (letztere getrennt in Resveratrol und ϵ -Viniferin) wurden mit Hilfe der dreifachen Varianzanalyse für die drei Variablen Rebsorten, Blattstadien und Termine ausgewertet. Aus der Vielzahl der in jeder Verrechnung erhaltenen Mittelwerte für die einzelnen Parameter sowie für die aus der Verknüpfung zweier Variablen resultierenden Werte sollen hier nur die wichtigsten Ergebnisse zusammengefaßt und dargestellt werden.

Die varianzanalytische Verrechnung ergab, daß sich in beiden Versuchsjahren Rebsorten, Blattstadien und Termine sowohl im Hinblick auf Botrytisbefall wie Stilbenproduktion hochsignifikant voneinander unterscheiden. Hinsichtlich der Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Variablen ließen sich für Rebsorte/Blattstadium und Rebsorte/Termin ebenfalls hochsignifikante (bei den chromatographisch ermittelten Stilbenwerten für das erste Paar lediglich signifikante) Differenzen sichern, d. h. einzelne Rebsorten zeigen bei verschiedenen Blattstadien und Terminen unterschiedliches Verhalten. Zwischen Blattstadium/Termin resultierte 1981 nur für die ermittelten Botrytiswerte, 1982 hingegen für beide Parameter, ein signifikant unterschiedliches Verhalten.

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Rebsorten werden aus den in Abb. 1 aufgeführten Mittelwerten für Botrytisbefall und Stilbenproduktion von 3 Blattstadien und 5 bzw. 4 Terminen im Verlauf der Vegetationsperioden 1981 und 1982 deutlich. In beiden Versuchsjahren läßt sich mit zunehmender Stilbenproduktion eine tendenziell abnehmende Botrytisanfälligkeit der untersuchten Blätter feststellen. Eine Ausnahme bildet lediglich die interspezifische Kreuzung Pollux (B-6-18), deren Blätter in beiden Untersuchungen bei geringer Stilbenproduktion eine lediglich mittlere Anfälligkeit zeigten. Hier tragen offensichtlich andere Faktoren als die produzierte Stilbenmenge zu der verminderten Botrytisanfälligkeit bei (vgl. STEIN und HOOS 1984).

Die im Versuchsjahr 1982 dünn-schichtchromatographisch festgestellte Resveratrol- und ϵ -Viniferinproduktion zeigte mit den durch visuelle Bonitur ermittelten Werten eine gute Übereinstimmung (Abb. 1, unten).

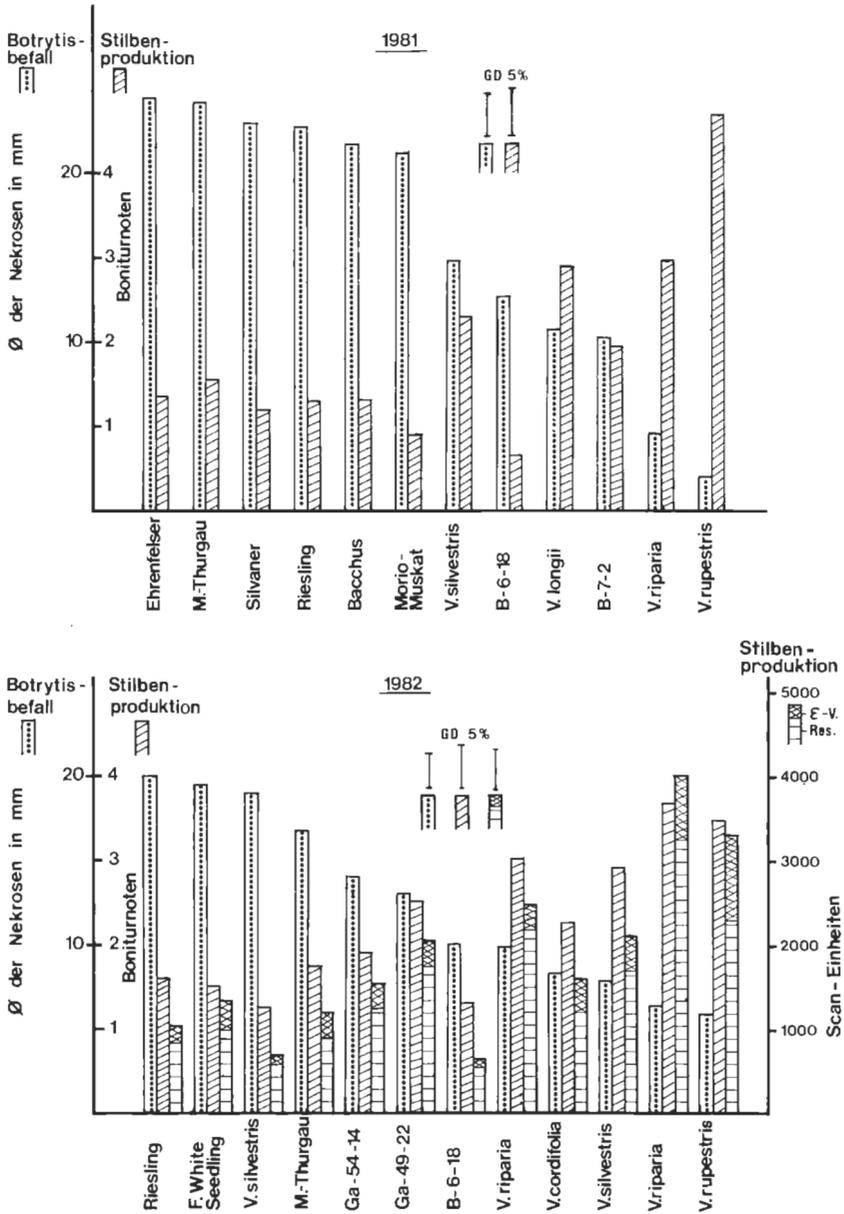


Abb. 1: Botrytisanfälligkeit (Nekrosendurchmesser in mm, 6 d nach Inokulation) und Stilbenproduktion (nach 48 h Inkubation) der Blätter von 12 Rebsorten. Mittelwerte von 3 Blattstadien und 5 bzw. 4 Terminen aus den Vegetationsperioden 1981 und 1982.

Susceptibility to *Botrytis cinerea* (diameter of necroses 6 d after inoculation) and production of stilbenes (48 h after start of induction) of leaves of 12 different grapevine cultivars. Averages of 3 different leaf ages and 5 or 4 sampling dates, respectively, during the growth seasons of 1981 and 1982.

Die Blattstücke gaben überwiegend Resveratrol in den Testkarton ab. Die Viniferinmenge schwankte je nach Rebsorte, Blattstadium und Termin, stand jedoch zu der Resveratrolmenge in einem mehr oder weniger konstanten Verhältnis. Für die 12 untersuchten Rebsorten bestand mit $r = +0,598$ eine signifikant positive Korrelation, d. h. Rebblätter mit hoher Resveratrolproduktion zeigten eine entsprechend erhöhte ϵ -Viniferinbildung und umgekehrt.

Das Verhältnis der Jahresmittelwerte (Mittelwerte aller Termine und Blattstadien) von Resveratrol und ϵ -Viniferin schwankte für die 12 Rebsorten zwischen Werten von 3 : 1 (*V. rupestris*) und 8,9 : 1 (*V. silvestris*) und betrug durchschnittlich 5,2 : 1.

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Blattstadien werden aus den in Abb. 2 aufgeführten Mittelwerten für Botrytisbefall und Stilbenproduktion von jeweils 12 Rebsorten an 5 bzw. 4 Terminen in den Versuchsjahren 1981 und 1982 deutlich. Sie sind hochsignifikant; vor allem die jüngeren Blätter waren bei allgemein niedriger Stilbenproduktion hoch botrytis anfällig; mit zunehmendem Blattalter nahm die Pilzanfälligkeit stark ab und die Fähigkeit zur Stilbenbildung zu.

Trotz großer Unterschiede war diese Tendenz, vor allem zu Beginn der Vegetationsperiode, bei allen Rebsorten deutlich festzustellen. Das Verhältnis der Jahresmittelwerte (Mittelwerte aller Rebsorten und Termine) von Resveratrol und ϵ -Viniferin für die 3 Blattstadien lag bei 6,1 : 1 (4. Blatt von apical), 5,2 : 1 (7. Blatt) und 4,4 : 1 (10. Blatt).

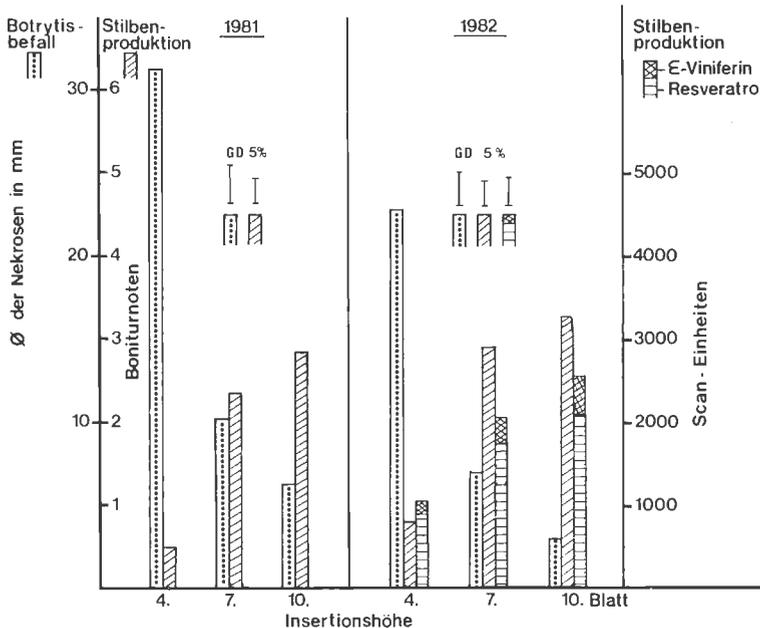


Abb. 2: Botrytis anfälligkeit und Stilbenproduktion von verschieden alten Rebblättern (Insertionshöhe: 4., 7. und 10. Blatt von apical). Mittelwerte von 12 Rebsorten und 5 bzw. 4 Terminen. Weitere Erläuterungen siehe Abb. 1.

Susceptibility to *Botrytis* and production of stilbenes of vine leaves of different ages (leaves no. 4, 7 and 10, counted from the top). Averages of 12 cultivars on 5 or 4 sampling dates. For further explanations see Fig. 1.

Die Unterschiede im Verlaufe der Vegetationsperiode werden durch die in Abb. 3 dargestellten Mittelwerte für Botrytisbefall und Stilbenproduktion von jeweils 5 bzw. 4 Entnahmetermenen in den Jahren 1981 und 1982 verdeutlicht. In beiden Versuchsjahren zeigten die jeweiligen Botrytis- und Stilbenwerte für die 3 Blattstadien einen annähernd synchronen Verlauf.

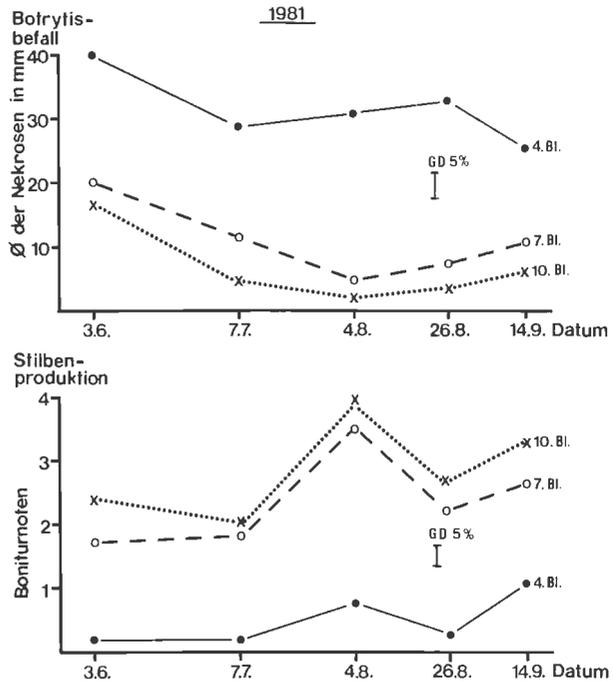


Abb. 3: Botrytis anfälligkeit und Stilbenproduktion verschieden alter Reblätter (Mittelwerte von 12 Rebsorten) im Verlaufe der Vegetationsperioden 1981 und 1982. Weitere Erläuterungen siehe Abb. 1 und 2.

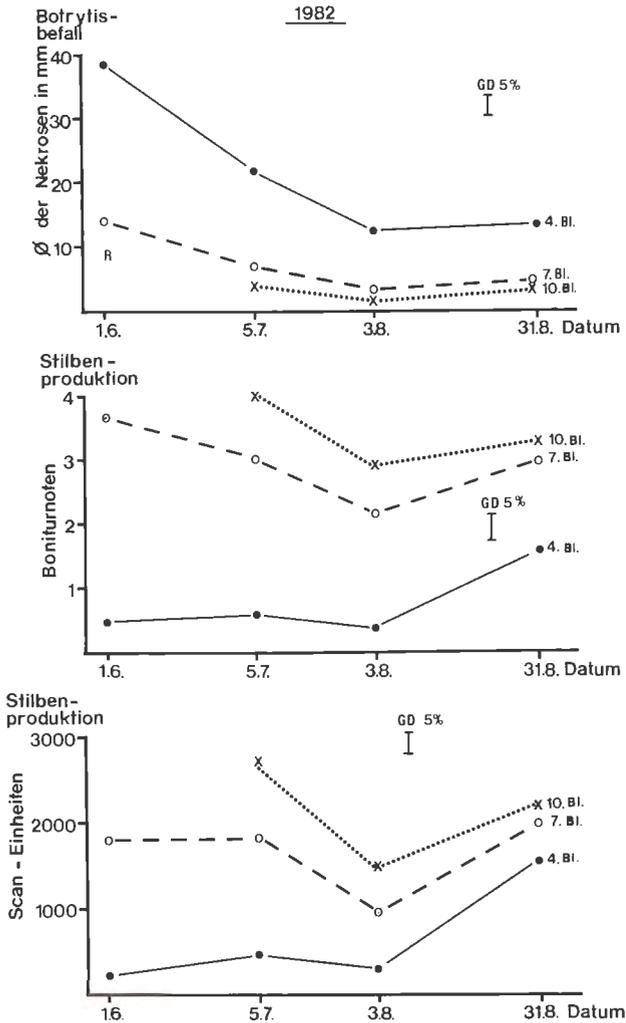
Susceptibility to *Botrytis* and production of stilbenes of vine leaves of different ages during the growth seasons of 1981 and 1982. Averages of 12 cultivars. For further explanations see Figs. 1 and 2.

Auffällig sind die Meßergebnisse vom 4. 8. 81 und 3. 8. 82. Während im ersten Versuchsjahr Anfang August die höchsten Stilbenwerte resultierten, wurden im darauffolgenden Jahr zu dem entsprechenden Zeitpunkt — mit Ausnahme der 10. Blätter der Sorte GA-49-22 — die niedrigste Stilbenproduktion festgestellt.

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Blattstadien im Hinblick auf Botrytisbefall und Stilbenproduktion, die an den ersten Terminen am größten waren, nahmen im Verlauf der Vegetationsperiode, vor allem 1982, immer mehr ab.

Zwar waren auch an den letzten Untersuchungsterminen die jüngeren Reblätter generell botrytis anfälliger und produzierten weniger Stilbene als die älteren; bei einigen Sorten wie M.-Thurgau, Ga-49-22, *V. rupestris* SCHEELE lag jedoch die Produktion am 31. 8. 82 bei allen Blattstadien annähernd gleich hoch. Bei der Rebsorte Ga-54-14 produzierten an diesem Termin jüngere Blätter sogar mehr Stilbene als ältere.

Die bisherigen Untersuchungen reichen für eine gesicherte Aussage über die Ursachen dieser Effekte nicht aus. Möglicherweise spielen bestimmte Witterungsbedingungen sowie unterschiedliche Ernährungsverhältnisse der untersuchten Pflanzen eine Rolle.



Während ein Vergleich des Witterungsverlaufs mit den Meßergebnissen keine Hinweise auf eine Beeinflussung ergab, könnte der zweite Faktor hier von Bedeutung sein: Vorversuche mit unterschiedlich stickstoffgedüngten Topfreben, die freundlicherweise vom Institut für Obst-, Gemüse- und Weinbau der Universität Stuttgart-Hohenheim zur Verfügung gestellt wurden, ergaben eine höhere Stilbenproduktion — bei niedrigerem Botrytisbefall — der schwach bis mittel versorgten Varianten. Bei sehr

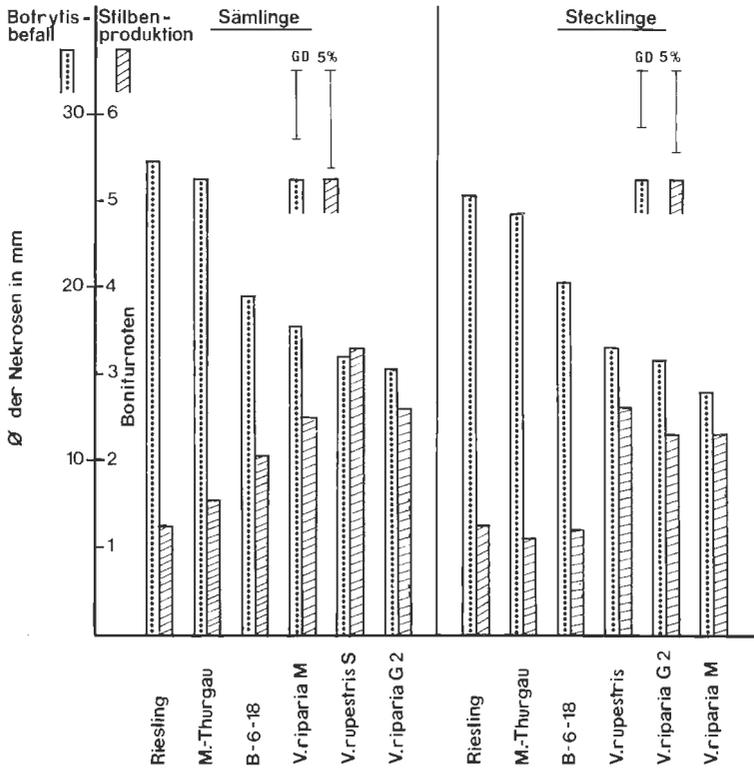


Abb. 4: Botrytis anfälligkeit und Stilbenproduktion der Blätter von Gewächshaus sämlingen und -stecklingen von 6 Rebsorten. Mittelwerte von 3 Blattstadien und 3 Entnahmetermen. Weitere Erläuterungen siehe Abb. 1 und 2.

Susceptibility to *Botrytis* and production of stilbenes of greenhouse plants (Sämlinge = seedlings, Stecklinge = cuttings). Averages of 3 leaf ages and 3 sampling dates. For further explanations see Figs. 1 and 2.

wenig und vor allem bei sehr stark mit N gedüngten Pflanzen nahm die Fähigkeit zur Stilbenproduktion ab, die Botrytis anfälligkeit dagegen zu. Diese Ergebnisse sind allerdings nur als Hinweis zu werten, da insgesamt nur 2 Sorten — M.-Thurgau und Riesling — mit jeweils 12 Topfreben untersucht wurden.

b) Versuche an Gewächshausmaterial

Das Verhältnis zwischen Stilbenproduktion und Botrytis anfälligkeit wurde außer an Freilandreben auch an Gewächshauspflanzen untersucht (Abb. 4). Die zur Aufzucht der Sämlinge verwendeten Traubenkerne entstammten geselbsteten Infloreszenzen, die Stecklinge wurden durch Austreiben von verholzten Rebtrieben gewonnen. Im Gegensatz zu Freilandreben traten bei Gewächshauspflanzen innerhalb der einzelnen Versuchsvarianten stärkere Abweichungen hinsichtlich Stilbenproduktion und Botrytis anfälligkeit auf. Zwar zeigten auch hier die hohen Stilbenproduzenten einen geringeren Botrytisbefall, die Unterschiede zwischen den einzelnen Rebsorten waren jedoch im allgemeinen weniger ausgeprägt.

c) Infektionsversuche an Beeren

Da *B. cinera* im Weinbau die größten Schäden durch den Befall der Trauben verursacht, stellt die Überprüfung möglicher Korrelationen zwischen Blatt- und Traubenbotrytis eine — vor allem für die rebzüchterische Praxis — relevante Frage dar.

Dazu wurde die im Labor festgestellte Botrytisanfälligkeit der Reblätter (und deren Fähigkeit zur Stilbenproduktion) mit der entsprechenden Anfälligkeit der einzelnen Rebsorten in Freiland und Labor verglichen (Abb. 5).

Da die Pilzanfälligkeit mit zunehmender Beerenreife ansteigt (STALDER 1953; GÄRTEL 1970; G. HILL 1977), ist bei der Bewertung der einzelnen Sorten das unterschiedliche Mostgewicht der zu einem gegebenen Zeitpunkt untersuchten Trauben zu berücksichtigen. Aufgrund der Ergebnisse von B. HILL (1979) wurde zunächst die Mostsäure

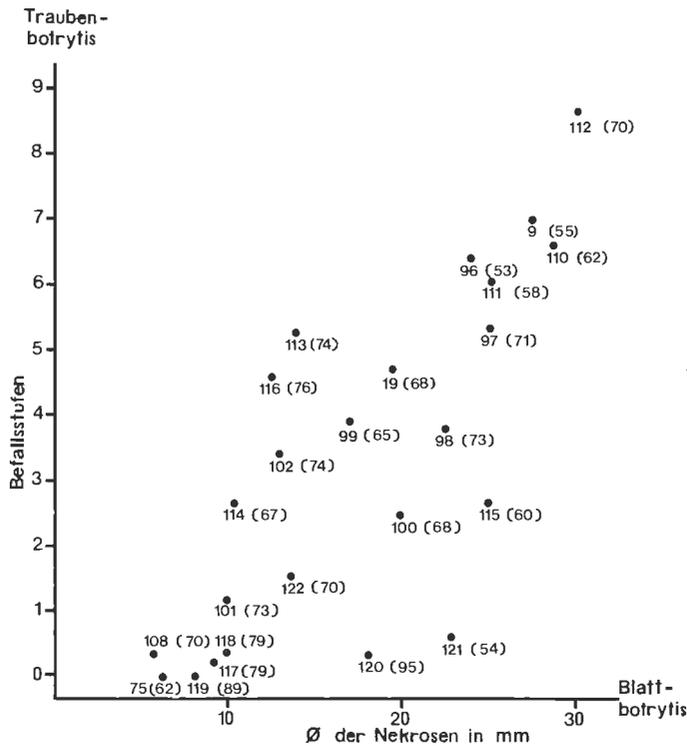


Abb. 5: Beziehung zwischen der Botrytisanfälligkeit von Blättern (Labordaten des 4. bzw. 7. Blattes an 2 Terminen) und Beeren (Freilandbonitur der Trauben am 16.—18. 10. 1982) von 24 Rebsorten. — 9: Baroque Blanche; 19: Foster's White Seedling; 75: *V. riparia* Kl. Barret 75; 96: Morio Muskat; 97: Ehrenfelser; 98: Bacchus; 99: Müller-Thurgau; 100: Riesling; 101: Pollux (B-6-18); 102: Ga-49-22; 108: *V. tiliaefolia*; 110: Huxelrebe; 111: Elbling; 112: Gf 30-9-35; 113: Ga-54-14; 114: Castor (B-7-2); 115: Gf III-28-45; 116: Optima; 117: Vidal; 118: N.Y. 15305; 119: M.G. 143 A; 120: Maréchal Joffre; 121: Guttedel; 122: A-100-3. Zahlen in Klammern: °Oe.

Correlations between the susceptibility to *Botrytis cinerea* of leaves (laboratory data of leaves no. 4 and 7, averages of 2 sampling dates) and of berries (field estimations on 16-18/10/1982) of 24 grapevine cultivars. For explanation of cultivar numbers see German text. Figures in parentheses are degrees Oechsle.

als Reifeparameter miterfaßt, sie brachte allerdings hinsichtlich der Beziehung Reifegrad — Botrytisbefall keine Vorteile.

Da Freilanduntersuchungen wegen der Vergleichbarkeit von Witterungs- und damit Infektionsbedingungen zum gleichen Zeitpunkt erfolgen müssen, die einzelnen Rebsorten jedoch wegen des unterschiedlichen Reifeverlaufs jeweils ein entsprechend unterschiedliches Mostgewicht aufweisen, besitzt die bei der Untersuchung von 24 Rebsorten ermittelte Korrelation zwischen Blatt- und Beerenbotrytis trotz hoher Signifikanz nur eine begrenzte Aussagekraft.

Die verletzungsfreie Bestimmung des Mostgewichtes von Weinbeeren und deren Klassifizierung nach Dichte- bzw. Mostgewichtsklassen (STEIN *et al.* 1983) ermöglichte hingegen vergleichende Untersuchungen bei einem einheitlichen Mostgewicht.

Bei 9 Sorten wurde die Blattbotrytisanfälligkeit der 4. und 7. Blätter an 2 Terminen bei Beginn der Vegetationsperiode 1982 zu dem unterschiedlichen Botrytisbefall (Befallshäufigkeit und Befallsstärke) der Beeren einzelner Reifeklassen (40, 50, 60 und 70 °Oe) in Beziehung gesetzt.

Die gegebenen Versuchsbedingungen beeinflussten die — generell positive — Korrelation zwischen Blatt- und Beerenbotrytis vor allem durch zwei Faktoren: Während sich bei jungen Rebblättern (bei einer insgesamt erhöhten Botrytisanfälligkeit vor allem zu Beginn der Vegetationsperiode) Rebsortenunterschiede nicht mehr so stark auswirkten, wurde dies bei unreifen Beeren durch die allgemein niedrigere Anfälligkeit verursacht.

Signifikante bzw. nahe an der Signifikanzschwelle liegende Korrelationen zwischen Blatt- und Beerenbotrytisanfälligkeit ergaben sich — sowohl für Befallsstärke wie für Befallshäufigkeit — ab einem Mostgewicht der Beeren von 50 °Oe, d. h. bei einem Reifegrad, bei dem *B. cinerea* auch im Freiland allgemein die größten Schäden verursacht.

d) Versuche zur Hemmung des Pilzwachstums mit Stilbenen

Die Frage, inwieweit Phytoalexine unmittelbar zur Resistenz von Pflanzen bzw. Reben gegenüber pilzlichen Krankheiten beitragen und somit als Abwehrstoffe zu bezeichnen sind, hängt u. a. von ihren antimikrobiellen Eigenschaften ab (INGHAM 1972; VANETTEN und PUEPPKE 1976; KUČ 1978; STOESSL 1980; LANGCAKE 1981; POOL *et al.* 1981). Diese werden meist in entsprechenden Biotests *in vitro* als Hemmung der verschiedensten pilzlichen Entwicklungsstadien bestimmt (CRUICKSHANK und PERRIN 1971; VANETTEN 1976; LANGCAKE 1981). Andererseits wäre auch denkbar, daß Stilbene eine gesteigerte Widerstandsfähigkeit nur anzeigen und in Wirklichkeit andere Substanzen die eigentlichen Resistenzfaktoren darstellen.

Da die *in vitro* gemessene Hemmwirkung in Abhängigkeit vom Versuchsansatz mehr oder weniger großen Schwankungen unterliegt und die natürlichen Gegebenheiten im pflanzlichen Gewebe stets nur unzureichend kopiert werden können, sind Rückschlüsse auf Verhältnisse *in vivo* nur mit großen Einschränkungen möglich. Dies gilt auch für die eigenen Hemmversuche, in denen die relativ große Variabilität innerhalb der einzelnen Versuchsansätze sowie die geringe Löslichkeit der zu testenden Substanzen die Angabe eines genauen ED₅₀-Wertes erschwerte und nur eine ungefähre Eingrenzung der dazu benötigten Stilbenmenge zuließ. Demnach wird eine 50%ige Hemmung der Sporenkeimung durch eine Resveratrolkonzentration von 138 µg/ml ($s = 44,4$) und eine ϵ -Viniferinkonzentration von 127 µg/ml ($s = 39,5$) verursacht.

Bezieht man die Konzentration der beiden Komponenten auf ihr Molekulargewicht, so führt ϵ -Viniferin gegenüber Resveratrol bei einer deutlich geringeren Molartät zu einer vergleichbaren Hemmung.

Das Mycelwachstum von *B. cinerea* wurde von beiden Substanzen in einem Konzentrationsbereich von 100—200 µg/ml gehemmt.

Inwieweit die in den durchgeführten Versuchen beobachtete und mit zunehmender Inkubationsdauer abnehmende Wirkung der Stilbene gegenüber dem Pilzwachstum auf einer von HOOS (1983) festgestellten Metabolisierung durch *B. cinerea* beruht, oder auf einer abnehmenden Löslichkeit bzw. Aktivität der Substanzen im Agar zurückzuführen ist, kann derzeit noch nicht beurteilt werden.

e) Schlußbetrachtung

Obwohl die Frage, inwieweit es sich bei den nachgewiesenen Stilbenen um Phytoalexine (PAXTON 1981) handelt, noch nicht eindeutig geklärt ist, bleibt festzuhalten, daß die Fähigkeit von Rebblättern, auf einen definierten Reiz hin diese Stoffe möglichst schnell und in größerer Menge zu produzieren, mit deren Botrytisanfälligkeit negativ korreliert ist. Die daraufhin untersuchten Rebsorten lassen sich — mit Ausnahme einiger Varianten mit sowohl schwacher Stilbenproduktion als auch niedrigem Befall — danach als gering, mittel und hoch anfällig klassifizieren. Dies stellt, in Verbindung mit der Korrelation zur Beerenbotrytis, eine erste Grundlage für die frühe Selektion botrytisfester Rebsorten dar.

Dies gilt allerdings nur für Freilandpflanzen. Rückschlüsse aus Untersuchungen an Gewächshausreben auf das Verhalten von Freilandpflanzen sind zur Zeit nur mit großen Einschränkungen möglich.

Für die praktische Anwendung führte die Verwendung junger Rebblätter (Insertionshöhe zwischen dem 4. und 7. Blatt) und Untersuchungen zu einem möglichst frühen Zeitpunkt (Termin zwischen dem 1. 6. und 1. 8.) sowie die Verrechnung der Botrytiswerte nach 6tägiger Inkubation und der Stilbenwerte nach 48stündiger Induktion der Blätter zu den am besten abgesicherten Ergebnissen. Junge Blätter sollten vor allem deshalb genommen werden, weil die zunächst gute Korrelation zwischen Stilbenproduktion und Botrytisresistenz mit zunehmendem Blattalter abnimmt.

Zur Überprüfung der auf dieser Basis ausgearbeiteten Frühdiagnosekriterien sind weiterführende Untersuchungen notwendig — insbesondere im Hinblick auf Unterschiede in der Reaktion verschiedener Rebsorten gegenüber pilzlichen Stoffwechselprodukten (z. B. Elicitorwirkung: STEIN 1984), die Beeinflussung der Stilbenproduktion durch exogene Faktoren, die Vererbbarkeit einzelner Reaktionsmechanismen und schließlich die Überprüfung der Selektionsschärfe der angewandten Methoden an entsprechend ausgelesenen traubentragenden Rebstöcken.

Zusammenfassung

Sowohl die Intensität wie auch die Geschwindigkeit der Stilbenproduktion (Resveratrol und ϵ -Viniferin) in Rebblättern nach Stimulierung mit Induktorsubstanzen ist mit der Botrytisresistenz der Blätter positiv korreliert.

Botrytis anfälligkeit und Stilbenproduktion der Blätter werden von verschiedenen Faktoren, wie Blattalter und Versuchstermin beeinflusst.

Die günstigsten Untersuchungsbedingungen resultieren bei der Verwendung junger Blätter (4.—7. Blatt von der Sproßspitze) während der Monate Juni und Juli und der Auswertung von Infektionsversuchen nach 6tägiger Inkubation bzw. von Stilbeninduktionsversuchen nach 48 h.

Die besten Korrelationen zwischen Blatt- und Beerenbotrytisanfälligkeit wurden bei einem Vergleich der oben angegebenen Blätter mit Beeren ab einem Mostgewicht von 50 °Oe gefunden.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Stilbenanalyse als grobes Ausleseverfahren für resistente Sorten aus Sämlingspopulationen von interspezifischen Kreuzungen benutzt werden kann.

Wir danken dem Forschungsring des Deutschen Weinbaues für finanzielle Unterstützung. Unser Dank gilt auch allen Mitarbeitern der BFAR, die direkt oder indirekt an diesen Untersuchungen mitgewirkt haben und den Herren Dr. P. LANGCAKE (SHELL Research, Sittingborne, Großbritannien) und Prof. Dr. K. MUSSO (Universität Karlsruhe) für die großzügige Überlassung von Resveratrol und Viniferin.

Literatur

- BLAKEMAN, J. P.; 1980: Behaviour of conidia on aerial plant surfaces. In: COLEY-SMITH, J. R.; VERHOEFF, K.; JARVIS, W. R. (Eds.): *The Biology of Botrytis*, 115—151. Academic Press, London, New York.
- CLARK, C. A.; LORBEER, J. W.; 1976: Comparative histopathology of *Botrytis squamosa* and *Botrytis cinerea* on onion leaves. *Phytopathology* **66**, 1279—1289.
- CRUICKSANK, I. A. M.; PERRIN, D. R.; 1971: Studies on phytoalexins. XI. The induction, antimicrobial spectrum and chemical assay of phaseollin. *Phytopathology Z.* **70**, 209—227.
- GARTEL, W.; 1970: Über die Eigenschaften der *Botrytis cinerea* PERS. als Rebenparasit unter besonderer Berücksichtigung von Infektion und Inkubation. *Weinberg und Keller* **17**, 15—52.
- HILL, B.; 1979: Untersuchungen zur Resistenz von Reben gegenüber *Botrytis cinerea* PERS.: Entwicklung einer Methode zur Resistenzprüfung. Diss., Univ. Hohenheim.
- HILL, G.; 1977: Frühphase der Pathogenese von *Botrytis cinerea* auf unterschiedlichen Entwicklungsstadien vegetativer und generativer Organe von *Vitis vinifera* L. Diss., Univ. Gießen.
- HOOS, G.; 1983: Untersuchungen über Induktions- und Nachweismethoden für Resveratrol und ϵ -Viniferin bei Reben. Diplomarb., Univ. Kaiserslautern.
- INGHAM, J.; 1972: Phytoalexins and other natural products as factors in plant disease resistance. *Bot. Rev.* **38**, 343—424.
- KUČ, J. A.; 1978: Phytoalexins. In: HEITEFUSS, R.; WILLIAMS, P. H. (Eds.): *Physiological Plant Pathology*, 632—652. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- LANGCAKE, P.; 1976: the production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol. Plant Pathol.* **9**, 77—86.
- — ; 1981: Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol, ϵ -viniferin, α -viniferin and pterostilbene. *Physiol. Plant Pathol.* **18**, 213—226.
- — ; CORNFORD, C. A.; PRYCE, R. J.; 1979: Identification of pterostilbene as a phytoalexin from *Vitis vinifera* leaves. *Phytochemistry* **18**, 1025—1027.
- LUCZKA, C. J.; 1982: Stilbene phytoalexins and susceptibility to *Botrytis cinerea* in *Vitis*. Thesis, Cornell Univ., Ithaca, N.Y.
- MUDRA, A.; 1958: *Statistische Methoden für landwirtschaftliche Versuche*. Paul Parey, Berlin, Hamburg.
- PAXTON, J. D.; 1981: Phytoalexins — a working redefinition. *Phytopathol. Z.* **101**, 106—109.
- POOL, R. M.; CREASY, L. L.; FRACKELTON, A. S.; 1981: Resveratrol and the viniferins, their application to screening for disease resistance in grape breeding programs. *Vitis* **20**, 136—145.
- STALDER, L.; 1953: Untersuchungen über die Graufäule (*Botrytis cinerea* PERS.) an Trauben. I. Mitteilung. *Phytopathol. Z.* **20**, 315—344.
- STEIN, U.; 1984: Untersuchungen über biochemische und morphologische Merkmale der Botrytisresistenz bei Vitaceen. Diss., Univ. Karlsruhe.
- — ; 1985: Standardisierung von Inokulation und Inkubation bei der Prüfung neuer Rebsorten auf Botrytisresistenz. *Angew. Bot.* (im Druck).
- — ; BLAICH, R.; WIND, R.; 1983: Eine neue Methode zur Mostgewichtsbestimmung und Klassifizierung unverletzter Weinbeeren. *Vitis* **22**, 15—22.
- — ; HOOS, G.; 1984: Induktions- und Nachweismethoden für Stilbene bei Vitaceen. *Vitis* **23**, 179—194.

- STOESSL, A.; 1980: Phytoalexins — a biogenetic perspective. *Phytopathol. Z.* **99**, 251—272.
- VANETTEN, H. D.; 1976: Antifungal activity of pterocarpan and other selected isoflavonoids. *Phytochemistry* **15**, 655—659.
- — ; PUEPKKE, S. G.; 1976: Isoflavonoid phytoalexins. In: FRIEND, J.; THRELFALL, D. R. (Eds.): *Biochemical Aspects of Plant-Parasite Relationships*, 239—289. Academic Press, London, New York, San Francisco.

Eingegangen am 28. 11. 1984

Dr. U. STEIN
Prof. Dr. R. BLAICH
BFA für Rebenzüchtung
Geilweilerhof
D 6741 Siebeldingen