

Institut für Pflanzenkrankheiten
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

**Einfluss des Pathogenotyps auf die antagonistische Wirksamkeit
von *Ulocladium atrum* gegen *Botrytis cinerea***

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Agrarwissenschaften

(Dr. agr.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt am 2. Oktober 2003

von

Dipl.-Ing. agr. Claudia Metz

aus Köln

Referent:

Prof. Dr. H.-W. Dehne

Korreferent:

Prof. Dr. G. Noga

Tag der mündlichen Prüfung

19. Dezember 2003

Claudia Metz

Einfluss des Pathogengenotyps auf die antagonistische Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegen *Botrytis cinerea*

Der Pilz *Botrytis cinerea* (Pers.) ist ein weltweit verbreitetes nekrotrophes Pathogen mit einem großen Wirtsspektrum, verbunden mit hohen wirtschaftlichen Schäden. Wiederholte Anwendungen von Fungiziden mit dem gleichen Wirkmechanismus führen rasch zum Auftreten von resistenten Stämmen. Biologische Verfahren können daher eine Alternative bzw. Ergänzung zur chemischen Bekämpfung sein und ebenso zu einem Resistenzmanagement von Fungiziden genutzt werden. Der saprophytische Hyphomycet *Ulocladium atrum* wurde als Antagonist gegen den Erreger des Grauschimmels bereits an verschiedenen Kulturpflanzen beschrieben. Die antagonistische Wirksamkeit beruht auf der konkurrierenden Besiedlung von nekrotischem Pflanzengewebe, wodurch die epidemische Entwicklung von *B. cinerea* beeinflusst wird.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirksamkeit von *U. atrum* gegen verschiedene Genotypen von *B. cinerea* untersucht. Die verwendeten Pathogengenotypen wurden nach morphologischen und physiologischen Eigenschaften, sowie ihrer Sensitivität gegen Wirkstoffe verschiedener botrytizider Wirkstoffklassen differenziert. Die antagonistische Wirksamkeit von *U. atrum* konnte sowohl unter kontrollierten Bedingungen auf nekrotischen Rebenblättern, im Gewächshaus an Begonien-, Paprika- und Rebenjungpflanzen, sowie in mehrjährigen Erhebungen unter praktischen Anbaubedingungen an verschiedenen Standorten und Rebsorten im Weinbau nachgewiesen werden. Der Pathogengenotyp von *B. cinerea* hatte großen Einfluss auf die antagonistische Wirksamkeit von *U. atrum*. Dieser Einfluss stand jedoch nicht in Zusammenhang mit isolatspezifischen Eigenschaften, wie der Sporengröße, dem Wachstumsverhalten, der Aggressivität oder der Fungizidsensitivität. Desweiteren war eine geeignete Gestaltung von Ausbringungsparametern, wie dem Zeitpunkt, der Häufigkeit und der Sporendichte von *U. atrum* wichtig, aber auch das Anzuchtnährmedium war von erheblicher Bedeutung. Bei einer Etablierung des Antagonisten im Pflanzenbestand konnte weder ein negativer Einfluss auf die Entwicklung und Ertragsbildung der Kulturpflanze noch auf den Ausbau und die Qualität des Weines beobachtet werden. Durch eine befallsorientierte Staffelung von Anwendungen aus *U. atrum* und Fenhexamid konnte der Grauschimmelbefall der Trauben signifikant reduziert und zusätzlich der Botrytizideinsatz gemindert werden. Bei hohem Befallsdruck, wie im Jahr 2000, konnte mit *U. atrum* aufgrund der rasanten Entwicklung von *B. cinerea* an den Trauben keine signifikante Reduktion des Grauschimmels erzielt werden. Durch die geringe Sensitivität des Antagonisten gegen Pflanzenschutzmittel ist eine Integration in praxisübliche Pflanzenschutzmaßnahmen möglich.

Claudia Metz

Influence of pathogen genotype on the antagonistic efficacy of *Ulocladium atrum* in the control of *Botrytis cinerea*

The necrotrophic fungus *Botrytis cinerea* (Pers.) is a pathogen with a wide host range causing economical losses in many crops worldwide. Effective control of the pathogen using fungicides with the same mode of action is restricted by the fast development of resistant isolates. Biocontrol may offer a supplementary or alternative crop protection tool and also can be used for the management of fungicide resistance. The saprophytic hyphomycete *Ulocladium atrum* has been described for its antagonistic potential against gray mould in various crops. The efficacy of *U. atrum* depends on the saprophytical competition with *B. cinerea* during the colonization of necrotic plant tissue, affecting the epidemic spread of the multicyclic pathogen.

In this work the efficacy of *U. atrum* in the biocontrol of various genotypes of *B. cinerea* was investigated. The strains were differentiated for their morphological and physiological characteristics, as well as on their sensitivity against common botryticides from different chemical groups. The antagonistic potential of *U. atrum* has been proven under controlled conditions on necrotic grapevine leaves, in greenhouse crops such as begonia, sweat pepper and grapevine plantlings as well as under field conditions in grapes on different cultivars and at several locations over several years. The aggressiveness of *B. cinerea* strains differed in various crops indicating specific interactions between pathogen and host species. The efficacy of the antagonist *U. atrum* was also influenced by the genotype of the pathogen strain to be controlled. The differences in vulnerability to the antagonistic activity of *U. atrum* were neither correlation to strain specific characteristics like spore size, growth or aggressiveness nor to fungicide sensitivity. Furthermore, efficacy of disease control depended on the reasonable coordination of application parameters like spore concentration applied, timing and number of *U. atrum* applications, as well as the growth media used for spore production of the antagonist. Neither the crop development nor the quality of the wine fermentation was negatively affected by the application of *U. atrum*.

Alternate applications of *U. atrum* and the botryticide fenhexamid reduced the gray mould infection on berries significantly, whereby the number and dosage of fungicides decreased. However, at high disease pressure like in 2000, the efficacy of *U. atrum* was not able to reduce significantly the rapid spread of *B. cinerea* on the grapes, because the incidence of *U. atrum* on berries decreased before harvest and the antagonistic activity depending on nutrient competition became insufficient. The antagonist showed low sensitivity against pesticides and may be integrated in existing crop protection strategies in viticulture.

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG.....	1
2 MATERIAL UND METHODEN.....	8
2.1 Versuchsorganismen.....	8
2.1.1 Mikroorganismen.....	8
2.1.2 Pflanzen.....	8
2.2 Pflanzenschutzmittel.....	8
2.3 Pflanzenanzucht unter kontrollierten Bedingungen.....	10
2.4 Herstellung von Kulturmedien.....	10
2.5 Anzucht von Antagonist und Pathogen.....	11
2.5.1 Herkunft der Isolate.....	11
2.5.2 Erhaltung und Vermehrung.....	11
2.5.3 Herstellung der Sporensuspension und des Inokulums.....	13
2.6 Applikationsverfahren.....	13
2.6.1 Sprühapplikation von Blättern bzw. Blattscheiben.....	13
2.6.2 Sprühapplikation von Pflanzen unter kontrollierten Bedingungen.....	14
2.6.2 Spritzapplikation auf Rebstöcken im Freiland.....	14
2.7 Erfassung der Pilzentwicklung.....	14
2.7.1 Sporengröße.....	14
2.7.2 Keimung und Keimschlauchlängenwachstum.....	15
2.7.3 Makroskopische Charakteristika des Myzels und Sklerotienausbildung.....	16
2.7.4 Sporulationsrate.....	16
2.7.5 Ermittlung der Aggressivität.....	16
2.7.6 Bewertung des Pathogenbefalls.....	16
2.7.6.1.1 Erfassung unter kontrollierten Bedingungen.....	16
2.7.6.1.2 Erfassung im Freiland.....	17
2.8 Wirksamkeit von <i>Ulocladium atrum</i> gegen <i>Botrytis cinerea</i>	18
2.8.1 Mikroskopische Untersuchungen der frühen Entwicklung beider Pilze.....	18
2.8.2 Sporulation von <i>B. cinerea</i> in Abhängigkeit der Sporenkonzentration des Antagonisten.....	18
2.8.3 Wirksamkeit von <i>U. atrum</i> auf den Pathogenbefall an verschiedenen Kulturpflanzen.....	19
2.8.3.1 Zeitintervall zwischen der Applikation beider Pilze.....	19
2.8.3.2 Verschiedene Isolate von <i>B. cinerea</i>	19
2.9 Bestimmung der Fungizidsensitivität.....	19
2.9.1 <i>In vitro</i> - Untersuchungen.....	19
2.9.2 Prüfung des <i>Botrytis</i> -Befalls an Reben.....	20

2.10 Mikroskopische Untersuchungen.....	20
2.10.1 Lichtmikroskopie.....	20
2.10.1.1 Vitalpräparate.....	20
2.10.1.2 Fixierung.....	21
2.10.1.3 Färbetechniken.....	21
2.10.1.4 Mikroskopie.....	21
2.10.2 Transmissionselektronenmikroskopie.....	21
2.10.2.1 Präparation.....	21
2.10.2.2 Mikroskopie.....	22
2.10.3 Rasterelektronenmikroskop.....	22
2.11 Freilandversuche.....	22
2.11.1 Kirrweiler.....	23
2.11.1.1 Versuchsanlage.....	23
2.11.1.2 Versuchsdurchführung.....	23
2.11.2 Marienthal.....	24
2.11.2.1 Versuchsanlage.....	24
2.11.2.2 Versuchsdurchführung.....	24
2.11.3 Ertragsermittlung und Weinausbau.....	25
2.11.4 Meteorologische Datenerfassung.....	26
2.12 Statistische Auswertung.....	26
3 ERGEBNISSE.....	27
3.1 Charakterisierung verschiedener Isolate von <i>Botrytis cinerea</i>.....	27
3.1.1 Wachstum und vegetative Entwicklung auf unterschiedlichen Nährmedien.....	27
3.1.2 Untersuchungen zur Sporengröße.....	31
3.1.3 Keimung und Keimschlauchwachstum auf der Blattoberfläche.....	32
3.1.4 Sporulation auf nekrotischem Blattgewebe.....	34
3.1.5 Aggressivität an verschiedenen Kulturpflanzen.....	37
3.1.5.1 Einfluss des Isolats.....	37
3.1.5.2 Wechselwirkung mit der Inokulumdicht.....	38
3.1.5.3 Wechselwirkung mit der Wirtspflanze.....	39
3.1.6 Sensitivität gegenüber fungiziden Wirkstoffen	41
3.1.6.1 Einfluss auf das Myzelwachstum.....	41
3.1.6.2 Einfluss auf den Befall an Weinreben.....	43
3.2 Charakterisierung von <i>Ulocladium atrum</i>.....	44
3.2.1 Untersuchungen zur Morphologie.....	44
3.2.2 Etablierung und Entwicklung auf der Blattoberfläche.....	46

3.2.3	Sporulation auf nekrotischem Blattgewebe.....	49
3.2.3.1	Einfluss der Inkubationsdauer.....	49
3.2.3.2	Einfluss der Sporendichte.....	50
3.3	Einfluss von <i>Botrytis cinerea</i> auf die Wechselwirkungen mit	
	<i>Ulocladium atrum</i>.....	50
3.3.1	Bedeutung des Applikationszeitpunktes auf die Wirksamkeit von <i>U. atrum</i>	50
3.3.1.1	Einfluss auf die Sporulation von beiden Organismen.....	51
3.3.1.2	Einfluss auf den Befall mit <i>B. cinerea</i> an verschiedenen Kulturpflanzen.....	52
3.3.2	Untersuchungen zur Sporulation von <i>B. cinerea</i> und <i>U. atrum</i> bei gemeinsamer Besiedlung von Blättern.....	53
3.3.2.1	Sporulation von <i>B. cinerea</i> in Gegenwart von <i>U. atrum</i>	53
3.3.2.2	Sporulation von <i>U. atrum</i> in Gegenwart von <i>B. cinerea</i>	54
3.3.3	Einfluss von <i>U. atrum</i> auf die Sporulation verschiedener Isolate von <i>B. cinerea</i>	55
3.4	Wirksamkeit von <i>Ulocladium atrum</i> gegenüber verschiedenen Isolaten von	
	<i>Botrytis cinerea</i> unter praktischen Anbaubedingungen im Unterglasanbau..	57
3.4.1	Wechselwirkungen an Begonien.....	58
3.4.2	Wechselwirkungen an Weinreben.....	59
3.4.3	Wechselwirkungen an Paprika.....	61
3.5	Anwendung von <i>Ulocladium atrum</i> zur Bekämpfung von <i>Botrytis cinerea</i>	
	im Weinbau.....	62
3.5.1	Entwicklung von <i>B. cinerea</i> im Vegetationsverlauf.....	62
3.5.1.1	Standort Marienthal.....	62
3.5.1.2	Standort Kirrweiler.....	64
3.5.2	Besiedlung und Entwicklung von <i>U. atrum</i> im Vegetationsverlauf.....	67
3.5.2.1	Untersuchungen zum Anzuchtmedium und zur Sporendichte von <i>U. atrum</i>	67
3.5.2.2	Untersuchungen zur Terminierung von <i>U. atrum</i>	69
3.5.3	Einfluss von <i>U. atrum</i> auf die Entwicklung von <i>B. cinerea</i> im Vegetationsverlauf.....	70
3.5.3.1	Untersuchungen zum Anzuchtmedium und zur Sporendichte von <i>U. atrum</i>	71
3.5.3.2	Untersuchungen zur Terminierung von <i>U. atrum</i>	72
3.5.4	Wirksamkeit von <i>U. atrum</i> gegen den Grauschimmelbefall an Trauben.....	73
3.5.4.1	Untersuchungen zum Anzuchtmedium und zur Sporendichte von <i>U. atrum</i>	74
3.5.4.2	Untersuchungen zur Terminierung von <i>U. atrum</i>	76

3.5.5	Anwendung von <i>U. atrum</i> im integrierten Pflanzenschutz.....	77
3.5.5.1	Besiedlung und Entwicklung von <i>U. atrum</i> im Vegetationsverlauf.....	78
3.5.5.2	Einfluss von <i>U. atrum</i> auf die Entwicklung von <i>B. cinerea</i> im Vegetationsverlauf.....	80
3.5.5.3	Wirksamkeit von <i>U. atrum</i> auf den Grauschimmelbefall an Trauben.....	83
3.5.6	Integration von <i>U. atrum</i> in konventionelle Pflanzenschutzverfahren.....	86
3.5.6.1	<i>In vitro</i> - Sensitivität gegenüber Pflanzenschutzmitteln.....	86
3.5.6.2	Kombination von <i>U. atrum</i> mit konventionellen Pflanzenschutz- maßnahmen.....	88
3.5.7	Einfluss auf den Beerenertrag und den Ausbau des Weines.....	89
4	DISKUSSION.....	92
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	115
6	LITERATURVERZEICHNIS.....	117

1. EINLEITUNG

Die Ausdehnung der landwirtschaftlichen Flächen und die Intensivierung ihrer Bewirtschaftung haben zu einer deutlichen Steigerung der Erträge geführt, oft aber auch des Befallsdruckes durch Pathogene. In der Landwirtschaft konnten die Erträge durch den Einsatz von synthetischen Dünge- und Pflanzenschutzmitteln deutlich gesteigert werden. Die Chemikalien beeinträchtigten jedoch auch das mikrobiologische Gleichgewicht, wodurch auch weiterhin hohe Schäden durch Pathogene und Insekten auftreten können (LEWIS und PAPAVIDAS 1991). Es wird ständig nach neuen umweltfreundlicheren Alternativen in der landwirtschaftlichen Produktion und im Gartenbau gesucht, die die Anwendung von chemischen Pflanzenschutzmitteln reduzieren und die Anwendungslücken der chemischen Präparate füllen (BUTT et al. 2001). Biologische Verfahren können eine Alternative oder eine Ergänzung zur chemischen Bekämpfung sein, bzw. zu einem Management von Fungizidresistenzen genutzt werden.

Das Auftreten von Pflanzenkrankheiten wird, seitdem es die Landwirtschaft gibt, beschrieben. Die Gattung *Botrytis* ist eine der ersten Pilzgattungen, die in der Geschichte als Pflanzenpathogen beschrieben wurde, erstmals im Jahr 1729 von MICHELI. Diese Gattung umfasst 22 Arten, wovon eine große Anzahl wirtsspezifisch ist, wie *B. aclada*, *B. elliptica*, *B. fabae*, *B. squamosa* und *B. tulipae* (JARVIS 1980a). *B. cinerea* ist die am häufigsten auftretende Art der Gattung *Botrytis* mit einem sehr großen Wirtspflanzenkreis von über 200 verschiedenen Pflanzenarten; der Name *B. cinerea* stammt von Haller (1771). Der genetische bzw. biologische Zusammenhang zwischen *B. cinerea* und *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel., den asexuellen (anamorphen) und sexuellen (telomorphen) Entwicklungsstadien des selben Pilzes, wurde erstmals 1866 von de Bary aufgeklärt (FARETRA und ANTONACCI 1987, FARETRA und POLLASTRA 1988, ROSSLENBROICH und STUEBLER 1999a).

Botrytis cinerea ist ein weltweit verbreiteter Ascomycet, der eine Vielzahl unterschiedlicher Gewebe infiziert und dort sehr viele verschiedene Symptome verursachen kann (DAUGHTREY et al. 1995). Eine frühe Erkennung von *B. cinerea* kann durch eine latente Infektion des pflanzlichen Gewebes erschwert werden. Der Befall ist dann häufig erst kurz vor der Ernte sichtbar und schädigt die Früchte, wenn die Umweltbedingungen dies begünstigen (CHARDONNET et al. 2000, MCCLELLAN und HEWITT 1973). Der Erreger des Grauschimmels ist sowohl in Gewächshauskulturen als auch im Weinbau eines der am häufigsten auftretenden Pathogene. *B. cinerea* benötigt zu seiner Entwicklung eine rel. Luftfeuchte von über 95 %, exogene Nährstoffe sowie seneszenten Gewebe. Der Trend zu immer intensiveren Anbaumaßnahmen im Weinbau, zusammen mit den immer späteren Ernteterminen zur Steigerung des Zuckergehaltes der Trauben, verbunden mit

optimalen Klimabedingungen, fördert dabei den Pathogenbefall (ROSSLENBROICH und STUEBLER 1999a). An Weinreben kann ein Grauschimmelbefall zu Ertragsverlusten von bis zu 40 % und zu geminderter Qualität führen (EMMETT und NAIR 1991, FARETRA und POLLASTRO 2001, PEARSON und GOHEEN 1998). Nur in den seltensten Fällen ist ein Befall mit *B. cinerea* an weißen Weinreben, die so genannte Edelfäule, erwünscht. Ein später Befall durch das Pathogen verursacht ein Trocknen der Beeren und ein Aufkonzentrieren des Zuckergehaltes, jedoch keine Erhöhung des Säuregehalts. Aus diesen Trauben werden Weine, die als Spät- bzw. Beerenauslese bezeichnet werden, produziert. Dieses Phänomen der Edelfäule wurde erstmals 1888 von MÜLLER-THURGAU beschrieben (DITTRICH 1989).

Eine Bekämpfung von *B. cinerea* stellt eine Herausforderung dar, da das Pathogen die Fähigkeit besitzt, saprophytisch zu leben, Pflanzengewebe schnell zu besiedeln, sowie reichlich Sporen zu produzieren, die sich durch Luftbewegung im Bestand verbreiten können. Vorbeugende Maßnahmen stellen somit ein Hauptaugenmerk bei der Bekämpfung eines Grauschimmelbefalls dar. Es bestehen verschiedene Maßnahmen zur Kontrolle von *B. cinerea* in einem Pflanzenbestand. Dazu zählen unter anderem kulturtechnische Maßnahmen, die eine Entwicklung von *B. cinerea* in einem Bestand reduzieren können, wie die Klimaführung unter kontrollierten Bedingungen, die Verwendung von weniger anfälligen Sorten, die Düngung, die Anbauzeitpunkte, die verwendeten Produktionssysteme, sowie Hygienemaßnahmen (DAUGAARD 1999, HAUSBECK und MOORMAN 1996, MERTELY et al. 2000, RATTINK 1992). KÖHL et al. (1995c) zeigen, dass durch Entfernen von seneszenten Blättern in einem Zwiebelbestand der Sporengehalt in der Luft über der Kultur deutlich reduziert und somit die epidemische Entwicklung von *B. cinerea* verzögert werden konnte. Hygienemaßnahmen alleine können jedoch nicht ausreichend die Verbreitung von *B. cinerea* reduzieren. Die Züchtung von resistenten Pflanzen ist sehr kompliziert, in den verschiedenen Entwicklungsstadien der Pflanzen sind verschiedene Resistenzmechanismen beteiligt. Zwischen den Pflanzenarten wird eine unterschiedliche genetische Grundlage dieser Resistenzen gegen *B. cinerea* beobachtet (ELAD und EVENSEN 1995).

Die chemische Bekämpfung ist eine effektive Maßnahme um ein Auftreten von *B. cinerea* an einer Vielzahl von Kulturpflanzen zu verringern. Es stehen Fungizide aus verschiedenen Wirkstoffgruppen zur Verfügung, deren Wirksamkeit fortlaufend verbessert wurde (BRENT 1995). Trotzdem treten immer wieder Resistenzen gegen einzelne Wirkstoffe auf. Schon sehr schnell nach der Einführung von Benzimidazolen und Dicarboximiden traten in den 1960er und 1970er Jahren durch die intensive Ausbringung der Wirkstoffe resistente Isolate von *B. cinerea* auf, wodurch sich ihr Nutzen deutlich

schmälerte (SMITH 1988). Aufgrund der negativen Kreuz-Resistenz von Diethofencarb mit Benzimidazolen konnte *B. cinerea* aber auch weiterhin, z. B. mit Kombinationen aus Diethofencarb und Carbendazim, erfolgreich bekämpft werden. In den letzten Jahrzehnten wurden einige Botrytizide aus anderen Wirkstoffgruppen auf den Pflanzenschutzmarkt gebracht, die Anilinopyrimidine Cyprodinil und Pyrimethanil, das Hydroxyanilid Fenhexamid und das Phenylpyrrol Fludioxonil (ROSSLENBROICH und STUEBLER 1999a). Auch gegen diese Fungizide werden bereits Resistenzen aus verschiedenen Regionen und Kulturen verzeichnet (BIRCHMORE und FORTSTER 1996, BIRCHMORE et al. 1996, CHAPELAND et al. 1998, LEROUX et al. 1999). Resistenzen, wie sie für *B. cinerea* beschrieben werden, umfassen häufig mehrere Fungizide auch aus unterschiedlichen Wirkstoffgruppen (BRENT 1995). Dabei wird die Resistenz von *B. cinerea* gegen Wirkstoffe mit signifikanten genetischen Änderungen in Zusammenhang gebracht (Yourman et al. 2000), wobei die veränderte Fungizidsensitivität der Genotypen durch ein bzw. mehrere Gene codiert wird (YARDEN und KATAN 1993, FARETRA und POLLASTRO 1991, POLLASTRO et al. 1996). YOURMAN et al. (2000) beschrieben sogar die Entwicklung einer Resistenz gegen Vinclozolin in zuvor sensitiven Populationen, ohne dass der Wirkstoff zur Anwendung kam. Diese Beobachtung werden auf eine genetische Instabilität einiger Populationen von *B. cinerea* zurückgeführt (YOURMAN et al. 2001). All diese Beobachtungen betonen die Fähigkeit von *B. cinerea*, gegen fungizide Substanzen genetisch basierende Resistenzen auszubilden. Das im Jahr 1981 gegründete 'Fungicide Resistance Action Committee' (FRAC) erarbeitet Strategien zur Reduzierung von Fungizidresistenzen in der Praxis (BIRCHMORE und FORTSTER 1996). Zur Verringerung der Resistenzentwicklung von *B. cinerea* gegen fungizide Wirkstoffe wird nur eine einmalige Anwendung von Verbindungen mit gleichem Wirkmechanismus im Jahr empfohlen (LEROUX und MONCOMBLE 1994, LEROUX und SPOTTS 2003).

Durch die häufig auftretenden Resistenzen von *B. cinerea* gegen fungizide Wirkstoffe besteht ein zunehmender Bedarf nach Alternativen zur chemischen Bekämpfung. Natürlich auftretende antagonistische Mikroorganismen können eine mögliche Alternative darstellen. Der Marktanteil von biologischen Produkten im Pflanzenschutzsektor ist derzeit mit unter 2 % noch sehr niedrig (BIDOCHKA 2001, COPPING und MENN 2000). Die Zahl der pilzlichen Produkte auf dem Markt zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten hat sich in den letzten Jahren jedoch deutlich erhöht, momentan werden ca. 40 Produkte auf dem weltweiten Agrarmarkt angeboten (WHIPPS und LUMSDEN 2001).

Die Wirksamkeit von Mikroorganismen zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten oder von Insekten wird schon seit langer Zeit untersucht. Erstmals wurde 1879 von Metschnikoff die Anwendung des insektenpathogenen Pilzes *Metarhizium anisopliae*

gegen den Blatthornkäfer *Anisoplia austriaca* (Scarabaeidae) beschrieben (FERRON 1978). WOOD (1951) berichtet erstmals über die Nutzung von Antagonisten gegen *B. cinerea*. Er inokulierte senescente Salatblätter mit Antagonisten wie *Penicillium clavariaeforme*, *Fusarium* sp. und *Pseudomas* sp., um eine Primärinfektion mit *B. cinerea* zu unterdrücken. Eine ähnliche antagonistische Wirksamkeit von einigen Bakterien wie *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. und *Chromobacterium* sp., sowie Actinomyceten und anderen Pilzen wurde auch von NEWHOOK (1951a, b) gezeigt. WOOD (1951) beschrieb die saprophytische Aktivität auf totem Pflanzengewebe als einen Grund für die Kontrolle des Pathogenbefalls unter natürlichen Bedingungen. NEWHOOK (1957) applizierte Sporensuspensionen von *Cladosporium herbarum* und *Penicillium* sp. im späten Stadium der Blüte von Tomaten und verringerte so den Fruchtbefall mit *B. cinerea*. BHATT und VAUGHAN (1962) zeigten, dass Applikationen von *C. herbarum* bei abgehender Blüte unter kontrollierten Bedingungen den Fruchtbefall an Erdbeeren deutlich reduzierten. Die biologische Wirksamkeit einiger Bakterien gegen *B. cinerea* an Chrysanthemen und Roter Beete wurde von BLAKEMAN und FRASER (1971) und BLAKEMAN (1972) beschrieben. Jedoch verdeutlichten diese Autoren, dass der Einsatz nicht unter praktischen Bedingungen erfolgte. Seit den 1970er Jahren wurden die Studien mit Antagonisten gegen *B. cinerea* intensiviert. Dabei wurde die Wirksamkeit von Bakterien, Hefen und Pilzen gegen *B. cinerea* in verschiedenen Kulturen beschrieben (ELAD 1996, PAULITZ und BELANGER 2001). Zu den untersuchten Hefen zählen *Candida pulcherrima* (COOK 2002), *Exophiala jeanselmei* an Rosen (REDMOND et al. 1987), *Pichia guilliermondii* bei der Lagerung von Äpfeln (WISNIEWSKI et al. 1991) und *Klockera apiculata* (MCLAUGHLIN et al. 1992), sowie die Bakterien *Pseudomonas cepacia* an Äpfeln und Pfirsichen (JANISIEWICZ und ROITMAN 1988), *Serratia liquefaciens* an Weinreben (WHITEMAN und STEWARD 1998), *Bacillus brevis* an Chinakohl (SEDDON und EDWARDS 1993) und *Bacillus subtilis* an Weinreben (PAUL et al. 1997). Besonders viele Untersuchungen erfolgten zu *Trichoderma* spp. (ELAD 1995, ELAD und KIRSHNER 1993, HARMAN et al. 1996, TRONSMO und HJELJORD 1998). Jedoch wurde auch das Potenzial anderer Pilze, wie *Gliocladium roseum* und *Penicillium* sp. an Erdbeeren (SUTTON und PENG 1993b), *Gliocladium catenulatum* zur Nacherntebehandlung (COPPING und MENN 2000), *Pythium radiosum* an Tafeltrauben (PAUL 1999) und *Ulocladium atrum*, aufgeführt. Dabei basierte die biologische Wirksamkeit der Mikroorganismen auf unterschiedlichen Wirkmechanismen, wie Antibiose, Hyperparasitismus, induzierter Resistenz und der Konkurrenz um Raum und Nährstoffe (BLAKEMAN und FOKKEMA 1982, KÖHL and FOKKEMA 1998b)

Das antagonistische Potenzial des Hyphomyceten *U. atrum* wurde erstmals 1993 von KÖHL et al. (1993b) beschrieben. Der Pilz wird als ein potenzieller Mikroorganismus für die Anwendung im Gewächshaus und Freiland dargestellt (ELMER und KÖHL 1998, KÖHL et al.

1995a). Durch die ähnlichen Umweltansprüche eines Isolates von *U. atrum* (Ua 385) und des Pathogens *B. cinerea* konnte die Wirksamkeit von *U. atrum* gegen den Erreger des Grauschimmels an einer großen Zahl verschiedener Kulturpflanzen nachgewiesen werden (FRUIT 2001, BOFF 2001, KÖHL und FOKKEMA 1998a). Der saprophytische Pilz *U. atrum* besitzt das Potenzial mit *B. cinerea* während der Besiedlung von nekrotischem Pflanzengewebe zu konkurrieren (KÖHL et al. 1995c). Durch die antagonistische Wechselwirkung kann die epidemische Entwicklung des Pathogens beeinflusst werden, wobei es zu einer Reduktion der Sporulation von *B. cinerea* kommt (KÖHL et al. 1995b). Auch die gute Wirksamkeit anderer *Ulocladium* Arten gegen *B. cinerea* wird beschrieben. So wird *Ulocladium oudemansii* in Italien und Neuseeland als Handelsprodukt Botry-Zen[®] vertrieben (ANONYM 2003).

Eine Vielzahl von Antagonisten zur Bekämpfung von Bodenpathogenen wird aufgeführt, dagegen ist der Einsatz von Mikroorganismen gegen Blattpathogene noch selten (COPPING und MENN 2000). Dies liegt hauptsächlich an den relativ günstigen Umweltbedingungen in der Rhizosphäre, die besser für eine erfolgreiche Anwendung von biologischen Organismen manipuliert werden können. Dort herrschen wesentlich stabilere Bedingungen als in der Phyllosphäre, wo eine dynamische Umwelt mit zyklischen und nichtzyklischen Einflussfaktoren wie Temperatur, rel. Luftfeuchte, Taubildung, Regen, Wind und Strahlung eine Etablierung der Antagonisten deutlich erschweren. Ebenso wird die Besiedlung der Wurzel durch eine relativ glatte, konvexe Oberfläche erleichtert, im Gegensatz zur unebenen Blattoberfläche mit Blattadern, -haaren, Stromata und Wachsen. Viele der Antagonisten benötigen exogene Nährstoffe, um sich an der Pflanze zu etablieren, die in der Phyllosphäre im Gegensatz zur Rhizosphäre sehr limitiert sind (ANDREWS 1992).

Verschiedene Mikroorganismen wurden auf ihre Wirksamkeit als Gegenspieler von Pathogenen in der Phyllosphäre untersucht. Unter günstig gewählten Bedingungen konnten mehrfach gute Wirksamkeit erzielt werden. Bei einem großflächigen Einsatz im Gewächshaus oder unter Feldbedingungen war die Pathogenkontrolle jedoch meist nicht ausreichend (BUTT et al. 2001). Dieses kann durch viele Einflussfaktoren bedingt sein. Ähnlich der zuvor beschriebenen Entwicklung von Fungizidresistenzen ist *B. cinerea* ebenfalls in der Lage Resistenzen gegen Mikroorganismen, die Antibiotika produzieren, zu entwickeln. LI und LEIFERT (1994) berichteten als Erste über die Entstehung einer Resistenz von *B. cinerea* gegen den biologischen Mikroorganismus *Bacillus subtilis* CL 27. Die erfolgreiche Nutzung von nicht Antibiotika bildenden Mikroorganismen, wie *U. atrum*, unterliegt anderen Parametern. So kann ein Mikroorganismus nicht überleben und wirksam bleiben, wenn er sich nicht an die Pflanze und ihre Umwelt anpasst. Der

Antagonist muss ebenso mit anderen Mikroorganismen konkurrieren, sich an die wechselnden Umweltbedingungen anpassen und auf der Blattfläche eine aktive Population etablieren können, bis seine aktive Wirksamkeit gegen ein Pathogen notwendig wird (ELAD 1993, WHIPPS und LUMSDEN 2001). Gründe für die inkonsistente Wirksamkeit von Antagonisten unter Freilandbedingungen werden häufig im unzureichenden Wissen der Populationsdynamik der Antagonisten unter Freilandbedingungen gesucht (BIDOCHKA 2001). Aus diesem Grund, aber auch vor dem Hintergrund der ökologischen Folgeabschätzung der Ausbringung von Antagonisten in die Umwelt, wurden viele Untersuchungen zur Populationsdynamik von Antagonisten durchgeführt. Dabei wurden morphologische und immunologische Methoden, sowie molekulare Marker genutzt, um die Eigenschaften der Antagonisten zu charakterisieren (BIDOCHKA 2001, KARPOVICH-TATE und DEWEY 2001, ZIMAND et al. 1993). Kaum jedoch fanden Untersuchungen zum Einfluss des zu unterdrückenden Pathogengenotyps auf den Anwendungserfolg der Antagonisten statt.

Das Pathogen *B. cinerea* ist eine sehr variable Art, die die Fähigkeit besitzt, sich schnell wechselnden Umweltbedingungen anzupassen. Populationen, die sich sexuell reproduzieren, sind genetisch stärker verschieden als solche, die sich asexuell reproduzieren (BURDON und WOLFE 1985, GOODWIN et al. 1992). Durch die Rekombination kommt es zur Entwicklung von neuen Genotypen innerhalb einer Population (BRENT und HOLLOWAY 1998). Das Pathogen *B. cinerea* weist eine große genetische Diversität und morphologische Variabilität auf (CHARDONNET et al. 2000, DI LENNA et al. 1981, Moyano et al. 2003, YOURMAN et al. 2000, 2001). Mit Hilfe von RAPD-Primern konnte festgestellt werden, dass sich mit nur wenigen Ausnahmen fast alle Isolate aus einer Gewächshauspopulation genetisch unterscheiden (KERSSIES und BOSKER-VAN-ZESSEN 1997). Die somatische Variabilität zwischen Isolaten wird mit der mehrkernigen und heterokaryotischen Natur der Hyphen und Sporen und der Aneuploidie des Kernes beschrieben (BÜTTNER et al. 1994, VAN DER VLUGT-BERGMANS et al. 1993). Eine Ursache dieser Variation kann die Aktivität von transponierbaren genetischen Elementen sein (LEVIS et al. 1997). GIRAUD et al. (1997, 1999) beschreiben *B. cinerea* als einen Komplex aus Geschwister-Arten, die sympatrisch an vielen Wirtspflanzen auftreten. So wurden von Weinreben zwei sympatrische Subpopulationen von *B. cinerea* isoliert. Während eine Subpopulation häufiger an den Rebentrauben zu finden war, homogen und besser an die Gegebenheiten angepasst und somit lokaler Herkunft zu sein schien, wurde die Zweite als migrierte Subpopulation beschrieben. MARTINEZ et al. (2003) zeigten, dass phenotypische Charakteristika der beiden genannten Subpopulationen dazu genutzt werden können, epidemiologische Unterschiede zu untersuchen.

Diese Untersuchungen lassen die Variabilität der Populationen von *B. cinerea* deutlich werden. Solche Eigenschaften des Pathogens erklären sicherlich einen Teil seines Erfolges hinsichtlich seiner räumlichen Ausbreitung, des großen Wirtspflanzenkreises oder auch der Fähigkeit gegen viele chemische Wirkstoffe Resistenzen zu entwickeln. Umso wichtiger erscheint, dass Anwendungen von antagonistisch wirksamen Mikroorganismen gegen *B. cinerea* vor dem Hintergrund des Pathogengenotyps betrachtet werden. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Einflüsse verschiedener Genotypen von *B. cinerea* auf die Wirksamkeit von *U. atrum* gegen das Pathogen zu untersuchen und die Konsequenzen für die Anwendung des Antagonisten zu diskutieren. Unter kontrollierten Bedingungen wurde die antagonistische Wirksamkeit gegen verschiedene Isolate von *B. cinerea* an mehreren Wirtspflanzen untersucht. Die Integration des Antagonisten in konventionelle Anbauverfahren wurde beispielhaft für den Weinbau geprüft.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchsorganismen

2.1.1 Mikroorganismen

Die Untersuchungen wurden mit dem Antagonisten *Ulocladium atrum* (Pers.), sowie dem Pathogen *Botrytis cinerea* (Pers.) ex. Fr., dem Erreger des Grauschimmels mit einem weiten Wirtspflanzenkreis, durchgeführt.

2.1.2 Pflanzen

Als Wirtspflanzen wurden Jungpflanzen von Begonien (*Begonia-Elatior-Hybriden* Ilona Line) der Sorte 'Mariette', Paprika (*Capsicum annum* (L.)) cv. 'Yolo Wonder B' und Weinreben (*Vitis vinifera* (L.)) cv. 'Müller Thurgau' verwendet.

Die Freilanduntersuchungen erfolgten an etablierten Weinstöcken (*Vitis vinifera* (L.)) der Sorten 'Kerner' und 'Müller Thurgau'. Die Angabe der Entwicklungsstadien der Reben erfolgte nach der BBCH Skala von LANCASHIRE et al. (1991) bzw. LORENZ et al. (1994).

2.2 Pflanzenschutzmittel

Fungizide mit botrytizider Wirksamkeit

Für die Myzelwachstumsexperimente kamen Cyprodinil und Fludioxonil als technische Wirkstoffe, die in einem Wasser/ Aceton/ Emulgator-Gemisch angesetzt wurden, zum Einsatz. Dabei wurde Aqua demin., dass 1 % Aceton und 0,03 % Emulgator NP 15 enthielt, verwendet.

Tab. 1: Wirkstoffe der eingesetzten Pflanzenschutzpräparate bei den Untersuchungen des Myzelwachstums *in vitro* und des Befalls an Rebenjungpflanzen.

Wirkstoff(e)	a.i.	Präparat	Aufwand -menge	Wirkstoffklasse	Hersteller
Carbendazim + Diethofencarb	250 g/ kg + 250 g/ kg	Botrylon®	0,125 %	Benzimidazole + Carbamate	Bayer CropScience
Cyprodinil + Fludioxonil	375 g/ kg + 250 g/ kg	Switch®	0,06 %	Anilinopyrimidine + Phenylpyrole	Syngenta
Fenhexamid	510 g/ kg	Teldor®	0,1 %	Hydroxyanilide	Bayer CropScience
Pyrimethanil	400 g/ l	Scala®	0,125 %	Anilinopyrimidine	Bayer CropScience
Tolyfluanid	505 g/ kg	Euparen M WG®	0,25 %	Phenylsulfamide	Bayer CropScience
Vinclozolin	500 g/ kg	Ronilan WG®	0,1 %	Dicarboximide	BASF

Andere Wirkstoffe lagen in handelsüblichen Formulierungen vor und wurden mit Aqua demin. auf die gewünschte Anwendungskonzentration verdünnt. Zur Anwendung kamen die Handelspräparate Fenhexamid (Teldor[®]), Pyrimethanil (Scala[®]), Tolyfluanid (Euparen[®]), Vinclozolin (Ronilan[®]) und eine Kombination aus Carbendazim und Diethofencarb (Botrylon[®]). In den Befallsuntersuchungen an Rebenjungpflanzen wurden alle Wirkstoffe als formulierte Präparate, Cyprodinil und Fludioxonil als Switch[®], mit den praxisüblichen Aufwandsmengen wie in Tabelle 1 beschrieben, durchgeführt.

Andere Pflanzenschutzmittel unter Freilandbedingungen

Versuchsbegleitend wurden in den Freilanduntersuchungen konventionelle Spritzfolgen mit Pflanzenschutzmitteln, wie in Tabelle 2 aufgeführt, ausgebracht. Die formulierten Präparate wurden *in vitro* zur Untersuchung der Fungizidsensitivität von *U. atrum* und *B. cinerea* verwendet.

Tab. 2: Wirkstoffe der in den Freilandversuchen für die konventionellen Pflanzenschutzmaßnahmen eingesetzten Präparate.

Wirkstoff (e)	a.i.	Präparat	Hersteller
Azoxystrobin	250 g/l	Quadris [®]	Syngenta
Cymoxanil + Famoxadone	300 g/kg + 225 g/kg	Equation Pro [®]	DuPont de Nemours
Dimethomorph	150 g/l	Forum [®]	BASF
Dithianon	750 g/l	Delan [®]	BASF
Fenarimol	120 g/l	Rubigan [®]	Dow AgroScience
Fenarimol + Quinoxifen	59,8 g/l + 196,7 g/l	Vento [®]	Dow AgroScience
Folpet + Metalaxyl-M	400 g/kg + 50 g/kg	Ridomil Gold Combi [®]	Syngenta
Iprovalicarb + Tolyfluanid	60 g/kg + 375 g/kg	Melody M [®]	Bayer CropScience
Mancozeb	750 g/kg	Dithane Ultra [®]	Bayer CropScience
Metiram	700 g/kg	Polyram Combi [®]	BASF
Parathion-methyl	405 g/kg	ME 605 [®]	Bayer CropScience
Penconazol	100 g/l	Topas [®]	Syngenta
Propineb	705 g/kg	Antracol [®]	Bayer CropScience
Spiroxamin	499 g/l	Prosper [®]	Bayer CropScience
Schwefel	800 g/kg	Netzschwefel	Stähler Agrochemie
Triadimenol	52 g/kg	Bayfidan [®]	Bayer CropScience
Vinclozolin	500 g/kg	Ronilan [®]	BASF

2.3. Pflanzenanzucht unter kontrollierten Bedingungen

Alle Versuchspflanzen wurden im Gewächshaus bei Temperaturen von 20 ± 5 °C und relativer Luftfeuchte von 60 bis 80 % angezogen. Paprikapflanzen wurden nach Aussaat und Entfaltung der Keimblätter pikiert, Begonien als bewurzelte Stecklinge von der Fa. Dümmer (Reinberg, Deutschland) bezogen und getopft. Sprossstecklinge der Weinreben wurden 28 Tage in 'Oasis-growing-medium' (Fa. Agrimedia, Wachenheim) in Hydrokultur angezogen und nach dem Bewurzeln getopft. Die Pflanzen wurden in Plastiktöpfen (9 x 9 x 9 cm) mit Klassmann 'Spezialmischung' (70 % Vol. Weißtorf und 30 % Vol. Schwarztorf, pH 5,0 bis 5,5) kultiviert und zwei Mal wöchentlich mit Wasser durch eine Mattenbewässerung und einmal wöchentlich mit 0,2 %-igen Flori 2 Flüssigdünger (Fa. Euflo, München) versorgt. Um einem Befall mit Echten Mehltau vorzubeugen, wurde in der Rebenanzucht zusätzlich wöchentlich mit einem Kombi-Verdampfer (Fa. Paul Hückner GmbH & Co KG fleur ami, Deutschland) Netzschwefel ausgebracht. Eine Tageslänge von 16 Stunden wurde mit einer Zusatzbeleuchtung mit Hilfe von Natriumdampfleuchten (Philips SGR 140, Deutschland) Gewähr leistet. Für die Versuche wurden Jungpflanzen verwendet, bei denen vier Blätter vollständig entwickelt waren.

Für Untersuchungen auf nekrotischem Blattgewebe wurden Blattscheiben mit einem Korkbohrer (\varnothing 0,18 cm) aus voll entwickelten Rebenblättern gestanzt. Nach vierzehntägigem Pressen und Trocknen zwischen Papier wurden die Blattscheiben mit Gamma-Strahlen von 4 Mrad sterilisiert (γ Gramm STER B. V., Niederlande).

2.4 Herstellung von Kulturmedien

Die aufgeführten Kulturmedien wurden bei 121 ± 1 °C und 1 bar für 20 Minuten autoklaviert und anschließend mit je 17 ml in Petrischalen von 9 cm Durchmesser ausgegossen.

Potato-Dextrose-Agar (PDA)

Potato-Dextrose-Agar (Merck)	37 g
Aqua demin.	1 l

Hafermehl-Agar (Hafer)

Schmelzflocken (Kölln)	30 g
Agar agar (Sigma)	20 g
Aqua demin.	1 l

Malz-Extrakt-Agar (MEA)

Malz-Extrakt-Agar (Merck)	48 g
Aqua demin.	1 l

Wasseragar

Agar agar (Sigma)	20 g
Aqua demin.	1 l

2.5 Anzucht von Antagonist und Pathogen**2.5.1 Herkunft der Isolate**

Der Antagonist *U. atrum*, Isolat Ua385, wurde von nekrotischen Blättern der Lilie, das Pathogen *B. cinerea*, Isolat 0 (Bc 700), von Gerbera isoliert (KÖHL 1995a) und von Plant Research International (PRI, Wageningen, Niederlande) für die Untersuchungen bereit gestellt. Weitere 40 Isolate von *B. cinerea* wurden charakterisiert und auf ihre Wechselwirkung mit dem Antagonisten hin untersucht. Die Isolate 1 bis 57, sowie die Isolate 71 bis 74 wurden von der Fa. Bayer CropScience (Monheim, Deutschland), bzw. von der Bayerischen Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau (Veitshöchheim, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Aus Privatgärten wurden im Jahr 2002 die Isolate 105, 106 und 107 isoliert. In Tabelle 3 sind die Herkunft, die Wirtspflanzen, von denen die Isolate isoliert wurden, und weitere Informationen zu den Isolaten dargestellt.

2.5.2 Erhaltung und Vermehrung

Die Vermehrung von *U. atrum* und *B. cinerea* erfolgte durch Übertragen eines bewachsenen Myzelstücks auf Petrischalen mit Hafermehl-Agar bzw. PDA. Die überimpften Platten wurden bei 20 ± 1 °C (16 h Tag/ 8 h Nacht) inkubiert. Für die Untersuchungen wurden 7 bis 14 Tage alte Kulturen von *B. cinerea*, bzw. 28 Tage alte Kulturen von *U. atrum* verwendet.

Zur Erhaltung der Pathogenität der Pilze wurden Sporensuspensionen auf das Cryobank-System (Fa. Master Diagnostica, Reinfeld) gesetzt und bei – 80 °C eingefroren. Im Abstand von zwei Monaten wurden 'Cryobank-Perlen' mit Sporen auf Agar aufgetaut und neue Kulturen angelegt.

Tab.3: Herkunft der Isolate von *B. cinerea*.

Isolat	Herkunft ²	Wirtspflanze ²	Sensitivität gegenüber Fungizide ²
0 (700)	Niederlande	Gerbera	sensitiv
1			sensitiv
3	Italien		sensitiv gegen Fenhexamid
4			sensitiv
5			sensitiv
6			
9			Fenhexamid ¹
10			Tolyfluanid ¹
12			resistent gegen Vinclozolin, Rovral, BCM, Sumisclex
14	Italien		
17	Deutschland		Fenhexamid ¹
19	Deutschland	Erdbeere	Fenhexamid ¹
20	Deutschland	Erdbeere	
22	Deutschland	Erdbeere	
24	Deutschland	Erdbeere	sensitiv
27			
28			
29		Erdbeere	sensitiv
32		Erdbeere	
33	Italien		
34	Italien		
35	Italien		
37	Japan		
39		Salat	
43		Salat	Tolyfluanid ¹
46			resistent gegen Tolyfluanid
48			resistent gegen Benomyl, sensitiv gegen Sumisclex
49			sensitiv gegen Benomyl, resistent gegen Sumisclex
50			resistent gegenüber Benomyl und Sumisclex
52			resistent gegen Euparen
53		Erdbeere	
54		Erdbeere	
55			resistent gegen Benomyl, Sumisclex
56			Fenhexamid ¹
57		Erdbeere	Fenhexamid ¹
71	Deutschland	Rebe	
72	Deutschland	Rebe	
73	Deutschland	Rebe	
74	Deutschland	Rebe	ohne Fungizidbehandlung
105	Bonn	Rose	Fenhexamid ¹
106	Düsseldorf	Paeonien	Fenhexamid ¹
107	Düsseldorf	Paeonien	Fenhexamid ¹

¹ stammt aus Beständen, die mit den aufgeführten Fungiziden behandelt wurden² soweit bekannt

2.5.3 Herstellung der Sporensuspension und des Inokulums

Anzucht auf Potato-Dextrose-Agar (PDA) und Hafermehl-Agar

Bewachsene Nährmedium-Platten wurden mit 10 ml Leitungswasser und 0,01 % Tween 20 beschichtet, ehe die Sporen mit einem Spachtel abgekratzt und über ein vierfaches Mulltuch abgefiltert wurden. Die Sporenkonzentration wurde mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Kammer bestimmt und auf die benötigte Sporendichte zwischen 1×10^5 Sporen/ ml und 1×10^6 Sporen/ ml eingestellt.

Anzucht auf Getreide

Zur Herstellung von größeren Mengen der Sporensuspension von *U. atrum* wurden Sporen von *U. atrum* auf Körnern in Polypropylen-Beuteln mit Membran (3 LS, Sylvan, NL) angezogen. Ungebeizte Haferkörner (300 g) oder Bulger – geschälte Weizernkörner, gekocht, rückgetrocknet und geschrotet - (250 g) wurden über Nacht in Wasser gequollen und anschließend in Polypropylen-Beuteln bei einer Temperatur von 121 ± 1 °C und mit 1 bar Druck im Abstand von 24 Stunden zwei Mal für 20 Minuten autoklaviert. Nachdem die Körner abgekühlt waren, wurden diese unter sterilen Bedingungen mit jeweils 1 ml Sporensuspension von *U. atrum* (2×10^6 Sporen/ ml) angeimpft. Die Körnerbeutel wurden anschließend bei 20 ± 1 °C (16 h Licht/ 8 h Dunkelheit) für 2 Wochen (Bulger) bzw. vier Wochen (Haferkörner) inkubiert, wobei diese mindestens alle zwei Tage geschüttelt wurden, um ein Verklumpen der myzelbewachsenen Körner zu verhindern. Durch Abwaschen der Körner wurde eine Sporensuspension von *U. atrum* gewonnen. Dabei wurden die Körner in Baumwollbeutel gefüllt und zwei Mal mit 5 l Leitungswasser unter Zugabe von 0,01 % Tween 80 für jeweils 10 Minuten in einer Campingwaschmaschine (Nova MW super 2000 SR, Nova, Maastrich, Niederlande) gewaschen. Die Sporendichte der Suspension wurde mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Kammer bestimmt und auf die benötigte Sporendichte von 4×10^5 Sporen/ ml bzw. 2×10^6 Sporen/ ml eingestellt.

2.6 Applikationsverfahren

Inokulationen des Pathogens erfolgten, wenn nicht anders erwähnt, mit Sporensuspensionen des Referenzisolates 0.

2.6.1 Sprühapplikation von Blättern bzw. Blattscheiben

In vitro- Untersuchungen

Unter sterilen Bedingungen wurden Sporensuspensionen der Organismen mit Hilfe eines sehr feinen Pumpzerstäubers auf γ -bestrahlte nekrotische Blattscheiben (\varnothing 1 cm) von Reben ausgebracht. Die über Nacht auf Wasseragar ausgelegten Blattscheiben wurden

mit ca. 0,3 ml Sporensuspension von (1×10^5 Sporen/ ml) besprüht und in einer Zeitreihe von 3 bis 14 Tagen auf Wasseragar inkubiert.

Mikroskopische Untersuchungen

Für die mikroskopischen Untersuchungen wurden Suspensionen mit einer Sporendichte von 1×10^5 Sporen/ ml mit Hilfe eines Pumpzerstäubers auf lebendes Blattgewebe und γ -bestrahlte nekrotische Blattscheiben ausgebracht. Die Sporensuspensionen wurden auf lebende Rebenblätter mit und ohne Zugabe von Malz-Extrakt-Bouillon (Merck) appliziert. Anschließend wurden die Proben in durchsichtigen Feuchtekammern bis zu sechs Stunden inkubiert.

2.6.2 Sprühapplikation von Pflanzen unter kontrollierten Bedingungen

Jungpflanzen wurden mit ca. 20 ml Sporensuspension von *U. atrum* bzw. *B. cinerea* oder einem Gemisch beider Pilze unter Zugabe von 2 % Malz-Extrakt-Bouillon (MEB) tropfnass mit Hilfe eines Pumpzerstäubers besprüht. Um optimale Inkubationsbedingungen zu Gewähr leisten wurden die behandelten Pflanzen für 48 Stunden bei Dunkelheit und 100 % rel. Luftfeuchte aufgestellt.

2.6.3 Spritzapplikation auf Rebstöcke im Freiland

Kirrweiler

In Kirrweiler wurden in beiden Versuchsjahren Sporensuspensionen von *U. atrum*, die auf Haferkörner angezogen wurden, mit einer Basisaufwandmenge von 600 l/ ha und einer Sporendichte von 2×10^6 Sporen/ ml verwendet. Alle Applikationen, sowohl die Behandlungen mit *U. atrum*, als auch die konventionellen Pflanzenschutzmaßnahmen, wurden bei 4 bar mit einem Spritztunnel durchgeführt.

Marienthal

In Marienthal wurden die Sporensuspensionen von *U. atrum* mit einer Sporenkonzentration von 4×10^5 Sporen/ ml und 2×10^6 Sporen/ ml und die Spritzbrühe des Botrytizid Fenhexamid (Teldor®) mit einer Birchmeier M125 Motorrückenspritze bei 3 bar mit 600 l/ ha ausgebracht. Im gesamten Weinberg wurden versuchsbegleitend konventionelle Spritzfolgen mit Pflanzenschutzmitteln durch die Staatliche Weinbaudomäne Marienthal mit Feldspritzen durchgeführt.

2.7 Erfassung der Pilzentwicklung

2.7.1 Sporengröße

Sporen von 13 Tage alten auf PDA gewachsenen Kulturen ausgewählter Isolate von *B. cinerea* und von 28 Tage alten Kulturen von *U. atrum* wurden mikroskopisch untersucht.

Es wurden sowohl die Länge als auch die Breite einzelner Sporen vermessen und das Längen/ Breiten- Verhältnis bestimmt. Anschließend wurde das Volumen der Einzelsporen der Isolate von *B. cinerea* anhand der Formel nach SHIRANE et al. (1989) berechnet.

$$\text{Vol } [\mu\text{m}^3] = (\text{Länge} \times \text{Breite} \times \text{Breite} \times \pi) / 6$$

2.7.2 Keimung und Keimschlauchlängenwachstum

Untersuchungen ausgewählter Isolate von *B. cinerea*

Sporensuspensionen ausgewählter Isolate von *B. cinerea*, mit einer Inokulumdichte von 1×10^5 Sporen/ ml und Zugabe von Malz-Extrakt-Bouillon (MEB), wurden auf frische Rebenblätter ausgebracht und anschließend in durchsichtigen Feuchtekammern bei Raumtemperatur sechs Stunden inkubiert. Die Blattproben wurden mit dem Floureszenzfarbstoff Diethanol angefärbt und sofort mikroskopisch bei einer 40fachen Vergrößerung untersucht. Zur Charakterisierung der verschiedenen Isolate des Pathogens wurde die Keimrate von 100 Sporen mit drei Wiederholungen sowie die Länge und Anzahl der entwickelten Keimhyphen (n = 30) verglichen.

Untersuchung von *U. atrum*

Sporensuspensionen von *U. atrum* wurden mit einer Sporenkonzentration von 1×10^5 Sporen/ ml auf lebenden Blättern und nekrotische Blattscheiben mit und ohne Zugabe von Malz-Extrakt-Bouillon (MEB) appliziert und anschließend bei Raumtemperatur für drei bis fünf Stunden in durchsichtigen Feuchtekammern inkubiert. Die Blattproben wurden mit dem Floureszenzfarbstoff Diethanol angefärbt und sofort mikroskopisch bei einer 40fachen Vergrößerung untersucht. Die Keimrate von 3×100 Sporen des Antagonisten wurde nach einer Keimdauer von einer bis sechs Stunden bestimmt. Anschließend wurde die weitere Entwicklung des Pilzes anhand der Anzahl der ausgebildeten Keimhyphen von 100 Sporen, wie auch der Keimschlauchlänge (n = 30) drei bis fünf Stunden nach Applikation verglichen. Alle Untersuchungen wurden mit je drei Wiederholungen durchgeführt.

Untersuchung von *U. atrum* nach Applikation im Freiland

In den Freilanduntersuchungen wurden zur Überprüfung der Sporensuspension von *U. atrum* vor den Spritzungen Petrischalen (n = 8) mit Wasseragar im Bestand aufgehängt, auf denen nach 12-stündiger Inkubation die Keimrate von *U. atrum* ausgewertet wurde. Bei allen Spritzungen konnte eine Keimrate von über 95 % bestimmt werden.

2.7.3 Makroskopische Charakteristika des Myzels und Sklerotienausbildung

Das radiale Myzelwachstum von 41 Isolaten von *B. cinerea* wurde auf verschiedenen Nährmedien in Klimaschränken (16 h Tag/ 8 h Nacht) bei 20 ± 1 °C untersucht. Der tägliche Zuwachs des Myzels wurde wiederholt bis zum vierten Tag nach Überimpfung eines Myzelstückes auf Potato-Dextrose-Agar (PDA), Malz-Extrakt-Agar (MEA) und Hafermehl-Agar bestimmt. Makroskopisch wurde nach 14 Tagen das Aussehen des Myzels, hinsichtlich Färbung und Wuchsform bewertet. Die Anzahl und Größe der gebildeten Sklerotien wurde nach 21 Tagen ermittelt.

2.7.4 Sporulationsrate

Sowohl Sporensuspensionen von *U. atrum*, als auch ausgewählte Isolate von *B. cinerea* wurden mit einer Sporendichte von 1×10^5 Sporen/ ml auf sterile Blattscheiben von Weinreben appliziert und bei 100 % rel. Luftfeuchte inkubiert. Die Sporenausbildung wurde täglich über einen Zeitraum von 14 Tagen nach Applikation ermittelt.

An *U. atrum* wurde zudem der Einfluss der Sporendichte auf die Sporulationsrate untersucht. Dazu wurden Konzentrationen von 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 und 1×10^7 Sporen/ ml verwendet und die Proben nach fünf bzw. sechs Tagen Inkubation ausgewertet.

2.7.5 Ermittlung der Aggressivität

Aggressivität beschreibt die Fähigkeit eines Pathogens, eine Pflanze zu befallen und die Schwere der von dem Pilz verursachten Krankheit. Für 41 Isolate von *B. cinerea* wurde die Aggressivität an Rebenjungpflanzen verglichen. Dazu wurde die Stärke des Befalls nach Inokulation mit einer Sporenkonzentration von 1×10^6 Sporen/ ml ermittelt. Zudem wurde der Einfluss der Wirtspflanze und der Inokulumdichte auf die Aggressivität ausgewählter Isolate untersucht. Rebenpflanzen wurden mit Sporendichten von 4×10^5 Sporen/ ml und 1×10^6 Sporen/ ml inokuliert, Begonien- und Paprikapflanzen mit 1×10^6 Sporen/ ml. Zwei Tage nach Inkubation bei Dunkelheit und 100 % rel. Luftfeuchte erfolgte die optische Auswertung der befallenen Blattfläche.

2.7.6 Bewertung der Pilzentwicklung

2.7.6.1 Erfassung unter kontrollierten Bedingungen

Bewertung der Sporulation

Von je sechs Blattscheiben wurden die Sporen einzeln mit Tween-haltigem Wasser (0,01 % Tween 20) durch fünfminütiges Rühren auf einem Magnetrührer (300 rpm)

abgewaschen und mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Kammer die Dichte der Sporensuspension bestimmt. Anschließend wurde die Anzahl der Sporen auf die Fläche der Blattscheiben umgerechnet.

Bewertung des Pathogenbefalls

Zwei Tage nach Inokulation wurde der prozentuale Anteil nekrotisierter Blattfläche je Pflanze im Verhältnis zur gesunden Blattfläche optisch bewertet, jeweils mit fünf Wiederholungen.

Wirkungsgrades nach Abbott:

Der Wirkungsgrad von *U. atrum* bzw. der Fungizide auf das Pathogen wurde nach ABBOTT (1925) berechnet.

$$\text{Wirkungsgrad [\%]} = \frac{(\text{Kontrolle [\%]} - \text{Behandlung [\%]}) \times 100}{\text{Kontrolle [\%]}}$$

2.7.6.2 Erfassung im Freiland

Entwicklung und Etablierung von *U. atrum*

An den Standorten Kirrweiler und Marienthal wurde in beiden Vegetationsperioden die Etablierung und Entwicklung von *U. atrum* an Weinreben beobachtet. Dazu wurden in regelmäßigen Abständen Rindenstücke mit 9 mm Durchmesser, sowie Blüten- und Beerenproben genommen, 100 Proben je Behandlungsvariante. Alle Proben wurden sieben Tage bei Zimmertemperatur auf Haferagar inkubiert. Die Zahl der Proben, an denen *U. atrum* mikroskopisch nachgewiesen werden konnte, wurde bestimmt.

Entwicklung von *B. cinerea*

In beiden Vegetationsperioden wurde die Entwicklung und der Befall von *B. cinerea* an Rebenrinde von zweijährigem Holz, Blüten und Beeren beobachtet. Die Beprobung und Inkubation erfolgte wie bereits zuvor für den Antagonisten beschrieben.

Optische Bonitur des Grauschimmelbefalls der Trauben

Ab Entwicklungsstadium BBCH 81 wurde der prozentuale Anteil befallener Beeren je Traube geschätzt und die Anzahl der befallene Trauben je Behandlung erfasst. Je Behandlungsvariante wurde das Mittel der Befallswerte bzw. –häufigkeit aus vier Wiederholungen berechnet.

2.8 Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegen *Botrytis cinerea*

2.8.1 Mikroskopische Untersuchungen der frühen Entwicklung beider Pilze

Gleichzeitige Applikationen von *U. atrum* und Isolat 0 von *B. cinerea* erfolgten mit Sporendichten von je 1×10^5 Sporen/ ml auf lebenden Rebenblättern unter Zugabe von MEB und nekrotischen Blattscheiben ohne den Zusatzstoff. Die Inkubation der beiden Organismen erfolgte für 6 Stunden bei 100 % rel. Luftfeuchte, anschließend wurde die Keimrate und die Keimschlauchlänge beider Organismen bestimmt, sowie die Anzahl ausgebildeter Hyphen von *U. atrum*.

2.8.2 Sporulation von *B. cinerea* in Abhängigkeit der Sporenkonzentration des Antagonisten

Bei gemeinsamer Anwendung beider Pilze wurde *U. atrum* mit Sporenkonzentrationen von 1×10^4 Sporen/ ml bis 1×10^7 Sporen/ ml einen Tag vor oder gleichzeitig mit Isolat 0 von *B. cinerea*, 1×10^4 Sporen/ ml und 1×10^6 Sporen/ ml, auf nekrotischen Blattscheiben appliziert (Abb. 1). Die Auswertung erfolgte fünf Tage nach Inokulation, die Beeinflussung der Sporulationsrate beider Pilze wurde als Wirkungsgrad ausgedrückt. In gleicher Art wurde die Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Isolaten von *B. cinerea* überprüft. Die Applikationen von *U. atrum* erfolgten mit Sporenkonzentrationen von 1×10^5 Sporen/ ml und 1×10^6 Sporen/ ml, die von *B. cinerea* mit 1×10^6 Sporen/ ml.

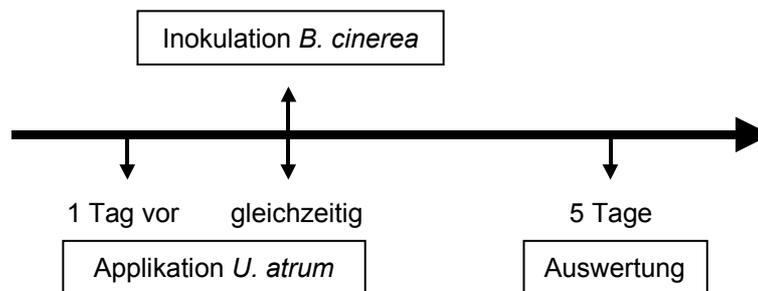


Abb. 1: Schematische Darstellung des Ablaufes der Untersuchungen zur Wirksamkeit von *U. atrum* gegen *B. cinerea* auf nekrotischen Rebenblättern.

2.8.3 Wirksamkeit von *U. atrum* auf den Pathogenbefall an verschiedenen Kulturpflanzen

2.8.3.1 Zeitintervalle zwischen der Applikation beider Pilze

An Begonien- und Rebenjungpflanzen wurde *U. atrum* mit Sporenkonzentration von 1×10^6 Sporen/ ml appliziert, *B. cinerea* (Isolat 0) mit 1×10^5 Sporen/ ml und 4×10^5 Sporen/ ml. Die Applikationen erfolgten gleichzeitig und mit zeitlichen Intervallen zwischen einem bis sieben Tagen von *U. atrum* vor *B. cinerea* (Abb. 2). Die Auswertung des Befalls erfolgte zwei Tage nach Inokulation des Pathogens und Inkubation bei Dunkelheit und 100 % rel. Luftfeuchte. Die Wirksamkeit des Antagonisten wurde nach Abbott berechnet.

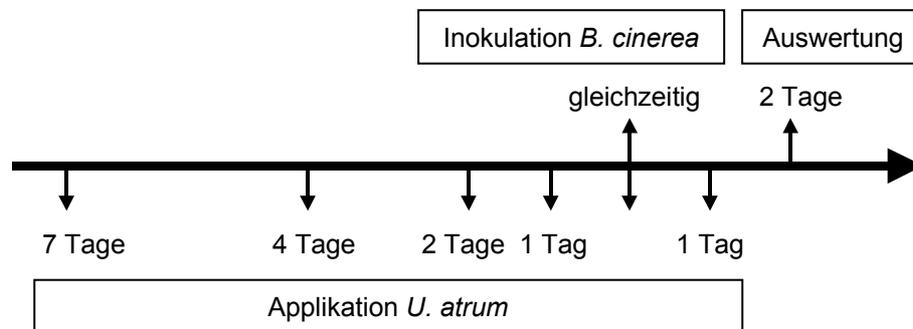


Abb. 2: Schematische Darstellung des Ablaufes der Untersuchungen zur Wirksamkeit von *U. atrum* gegen *B. cinerea* an Pflanzen.

2.8.3.2 Verschiedene Isolate von *B. cinerea*

Beide Organismen wurden gleichzeitig auf Jungpflanzen von Begonien, Weinreben und Paprika appliziert, sowie *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* (Abb. 2). Das Pathogen wurde dabei mit einer Inokulumdichte von 1×10^6 Sporen/ ml und der Antagonist mit zwei verschiedenen Sporenkonzentrationen von 4×10^5 Sporen/ ml und 1×10^6 Sporen/ ml ausgebracht. Die Auswertung der Pflanzen erfolgte zwei Tage nach Inokulation von *B. cinerea* und Inkubation bei Dunkelheit und 100 % rel. Luftfeuchte in Feuchteschränken.

2.9 Bestimmung der Fungizidsensitivität

2.9.1 *In vitro*- Untersuchungen

Myzelwachstumstest

In vitro wurde die hemmende Wirkung von Pflanzenschutzmitteln auf das radiale Myzelwachstum von *U. atrum* bzw. *B. cinerea* untersucht. Technische Wirkstoffe bzw. formulierte Präparate wurden dem Agar, nach Abkühlen auf 50 °C, in den Konzentrationen von 0,1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 50 ppm und 100 ppm a.i. zugesetzt.

Untersuchungen zur Sensitivität der 41 Isolate von *B. cinerea* gegen verschiedene botrytizide Wirkstoffe wurden auf PDA durchgeführt. In weiteren Myzelwachstumstests wurde die Wirksamkeit verschiedener Pflanzenschutzmittel auf *U. atrum* und Isolat 0 von *B. cinerea* auf Haferagar untersucht. Das Beimpfen erfolgte durch Aufsetzen eines Stückes mit Myzel bewachsenen Agars (\varnothing 0,5 cm) auf den mit Fungizid versetzten Agar und anschließender Inkubation bei Raumtemperatur. Die Auswertung des radialen Myzelwachstums erfolgte vier Tage nach dem Überimpfen des Myzelstückes auf Agar. Anschließend wurde der EC_{50} -Wert - die Konzentration des technischen Wirkstoffes, welche in Relation zur unbehandelten Kontrolle 50 % Hemmung verursacht - bestimmt.

Keimtest

Unter kontrollierten Bedingungen wurde die Wirkung verschiedener formulierter Pflanzenschutzmittel auf die Keimung von *U. atrum* und das Isolat 0 von *B. cinerea* untersucht. 10 ml einer Sporensuspension (1×10^5 Sporen/ ml) wurde auf den mit Fungizidlösung versehenen Hafermehl-Agar ausplattiert. 12 Stunden nach Inkubation bei Raumtemperatur und 100 % rel. Luftfeuchte wurde die Keimrate von 100 Sporen mit drei Wiederholungen mikroskopisch bestimmt.

2.9.2 Prüfung des *Botrytis*-Befalls an Reben

Protektive Applikationen von Fungiziden mit botrytizider Wirksamkeit erfolgten mit praxisüblichen Aufwandmengen. Die Präparate wurden mit Hilfe eines Pumpzerstäubers tropfnass auf die Rebenpflanzen gesprüht. Nach dem Abtrocknen des Spritzbelages über Nacht wurden die Pflanzen mit Sporensuspensionen verschiedener Isolate des Pathogens mit 1×10^6 Sporen/ ml inokuliert und für zwei Tage bei 100 % rel. Luftfeuchte inkubiert. Die Auswertung erfolgte durch optische Bonitur der geschädigten Blattfläche. Die Ergebnisse wurden als Wirkungsgrad nach Abbott dargestellt.

2.10 Mikroskopische Untersuchungen

2.10.1 Lichtmikroskopie

2.10.1.1 Vitalpräparate

Die frühen Entwicklungsstadien von *U. atrum* und *B. cinerea* wurde an Sporen untersucht, die *in vitro* auf Nährmedium aufgetragen und *in vivo* auf verschiedene Blattoberflächen appliziert wurden. Für die mikroskopischen Untersuchungen wurden die Proben sowohl im ungefärbten als auch gefärbten Zustand verwendet.

2.10.1.2 Fixierung

Myzelwachstum und Infektionsstrukturen der Pilze *U. atrum* und *B. cinerea* wurden an fixierten Präparaten untersucht. Dazu wurden zu verschiedenen Zeiten nach Applikation und Inkubation beider Organismen alleine bzw. in Gegenwart voneinander mit einem Korkbohrer (\varnothing 0,8 cm) Blattproben genommen. Die Blattscheiben wurden in ECM-Lösung (Ethanol- Chloroform- Milchsäure im Verhältnis 6:3:1) fixiert, wobei es zur Aufhellung des Blattgewebe kam. Die Präparation erfolgte über 28 Tage bei Raumtemperatur.

2.10.1.3 Färbetechniken

Vitalpräparate

Die Keimhyphenausbildung und das Myzelwachstum der Pilze wurde auf unterschiedlichen Blattgeweben an Vitalpräparaten untersucht. Blattscheiben mit einem Durchmesser von 0,8 cm wurden auf einen Objektträger gelegt und mit zwei Tropfen Diethanol (0,05 %) beschichtet. Der Fluoreszenzfarbstoff färbte die Sporen und Keimschläuche auf den Blättern sofort blau an.

Fixierte Präparate

Die Entwicklung beider Organismen auf und im Blattgewebe wurde an fixierten Präparaten nach Färbung mit Säurefuchsin-Lactophenol (Fluka, Buchs, CH) untersucht. Die Präparate wurden nach Fixierung für ein bis zwei Stunden in 0,01 prozentige Säurefuchsin-Lactophenol-Lösung gelegt. Der Farbstoff bindet an Kohlenhydrate und färbte die Pilzstrukturen pink an.

2.10.1.4 Mikroskopie

Untersuchungen zur pilzlichen Entwicklung wurden mit einem Leitz DMRB Fotomikroskop (Leika, Wetzlar), welches für die flureszenzmikroskopischen Untersuchungen mit einem Filterblock A (BP 340-380 nm, LP 425 nm) ausgestattet war, mit 40facher und 100facher Vergrößerung durchgeführt. Mit Hilfe einer digitalen Kamera (SONY, Japan) und Software (Discus Version 4.20, Hilgers, Königswinter) war eine Vermessung der Sporengröße und Keimschlauchlänge möglich.

2.10.2 Transmissionselektronenmikroskopie

2.10.2.1 Präparation

Agarstücke mit Sporen von *U. atrum*, die 28 Tage auf PDA gewachsen waren, sowie Proben von Rebenblättern zu verschiedenen Zeitintervallen nach Applikation und

Inkubation von *U. atrum* und *B. cinerea* wurden für zwei Stunden bei Raumtemperatur in einer Lösung aus 2 % Form- und Glutaraldehyd in 0,1 M Natriumcacodylat- Puffer nach KARNOVSKY (1965) fixiert. Nach fünfmaligem Waschen der Proben in 0,1 M Natriumcacodylat-Puffer erfolgte ein Nachfixieren in zwei prozentigem Osmiumtetroxid nach DALTON (1959). Anschließend wurden die Proben erneut vier Mal in 0,1 M Natriumcacodylat- Puffer gewaschen, bevor diese in einer aufsteigenden Ethanol-Reihe (30 %, 50 %, 70 %, 90 % und 100 %) für jeweils 20 Minuten dehydriert wurden. Zur Einbettung der Proben wurde ERL-Harz (10 g ERL 4206 (Vinylcyclohexandioxid), 6 g D.E.R. (Diglycidaminoethanol von Polypropylenglycol), 26 g NSA (Nonenylsuccinatanhydrid) und 0,4 g S-1 (Dimethylaminoethanol)) nach SPURR (1969) verwendet. Die Proben wurden in einer aufsteigenden ERL-Harz/ Propylenoxid Reihe (1:3 für 12 Stunden, 1:1 und 1:3 für jeweils 4 Stunden) bei 4 °C überführt, ehe die anschließende Polymerisation in 100 %igen ERL-Harz in Flachbettschalen für acht Stunden bei 70 °C erfolgte.

Zur Herstellung der Semidünnschnitte wurden die Harzblöcke mit 0,1 %igem Toluidinblau vorgefärbt und mit einem Diamantmesser Ultradünnschnitte (60 bis 100 µm) angefertigt und auf Nickelgrids platziert. Die Kontrastierung der Schnitte erfolgte mit zwei prozentigem Uranylacetat bei Dunkelheit.

2.10.2.2 Mikroskopie

Die Untersuchungen der Ultradünnschnitte erfolgte mit einem Transmissionselektronenmikroskop EM 109 (Fa. Zeiss, Jena). Für die Fotografie wurden Filme mit 25 ASA (Technical Pan, Fa. Kodak) verwendet.

2.10.3 Rasterelektronenmikroskopie

Die Oberfläche der Sporen von *U. atrum* sowie Wechselwirkungen der beiden Organismen auf der Blattoberfläche von Reben wurden mikroskopisch untersucht. Die Proben wurden ohne Fixierung und Beschichtung mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops XL 30 ESEM (Fei/ Philips, Kassel) betrachtet. Die Untersuchungen entstanden im Low-Vaccum-Modus bei 3,7 Torr und 4 °C unter Verwendung des Gaseous-Secondary-Electron- Detektors.

2.11 Freilandversuche

An zwei Standorten mit unterschiedlichen Klimabedingungen wurden in den Jahren 2000 und 2001 vier Freilandversuche an Weinreben *Vitis vinifera* angelegt. Die Untersuchungen wurden an etablierten Weinstöcken der Sorten 'Müller Thurgau' am

Standort Marienthal (Ahrtal) und 'Kerner' am Standort Kirrweiler (Pfalz) durchgeführt. Die Erziehung der Weinreben erfolgte als Rundbogen an Drähten.

2.11.1 Kirrweiler

2.11.1.1 Versuchsanlage

Kirrweiler liegt an der Südlichen Weinstraße in der Pfalz, im mit 23.000 ha Anbaufläche zweitgrößten Weinbaugebiet Deutschlands. Es herrscht fast mediterranes Klima, mit 9 °C im Jahresmittel und 1800 Sonnenstunden pro Jahr, und einer guten Verteilung der Niederschläge von 700 mm im Jahr. In Kirrweiler wurden die Versuche auf Versuchsfeldern der Fa. Bayer Cropscience Deutschland GmbH durchgeführt. Jede Variante wurde mit 12 bzw. 18 Pflanzen in einer Reihe mit jeweils vier nebeneinander liegenden Wiederholungen durchgeführt.

2.11.1.2. Versuchsdurchführung

Die Wirksamkeit von *U. atrum* alleine und alternierend mit dem Botrytizid Fenhexamid wurde an Reben untersucht. Die Behandlungen wurden anschließend mit einer unbehandelten Kontrolle, die ohne Botrytizidanwendung blieb, verglichen.

2000

In der Vegetationsperiode 2000 wurden fünf Varianten angelegt, wobei eine Variante mit dem Botrytizid Fenhexamid als Standard zu BBCH 61 und 77 behandelt wurde. Die Behandlungen der Parzellen mit Sporensuspensionen von *U. atrum* erfolgte zweimalig bzw. viermalig zu BBCH 55 und 68 bzw. BBCH 55, 61, 68 und 77. Eine alternierende Behandlung von *U. atrum* und Fenhexamid erfolgte zu den Entwicklungsstadien BBCH 55 und 68 bzw. BBCH 61 und 77 (Tab. 4).

Tab. 4: Versuchsanlage an Weinreben *Vitis vinifera* (cv. 'Kerner') in Kirrweiler (Pfalz) in der Vegetationsperiode 2000 und 2001.

Behandlung	Anzahl Behandlungen/ Entwicklungsstadium bei Applikation	
	2000	2001
ohne Botrytizid		
Botrytizid ¹	2 x BBCH 61 und 77	2 x BBCH 75 und 81
<i>U. atrum</i>	2 x BBCH 55 und 68 4 x BBCH 55, 61, 68 und 77	5 x BBCH 55, 61, 68, 75 und 81
Alternierend <i>U. atrum</i> und Botrytizid	2 x BBCH 55 und 68 2 x BBCH 61 und 77	3 x BBCH 55, 68 und 75 1 x BBCH 81

¹ 0,1 % Teldor® (Fenhexamid)

2001

In der Vegetationsperiode 2001 wurden vier Varianten angelegt, wobei eine Variante mit dem Botrytizid Fenhexamid als Standard zu BBCH 75 und 81 behandelt wurde. Die Behandlungen der Parzellen mit Sporensuspensionen von *U. atrum* erfolgte fünfmalig zu BBCH 55, 61, 68, 75 und 81. Bei der alternierenden Variante wurden drei Applikationen von *U. atrum* zu BBCH 55, 68 und 75 mit einer Fenhexamid- Behandlung zum Entwicklungsstadium BBCH 81 ergänzt (Tab. 4).

2.11.2 Marienthal

2.11.2.1 Versuchsanlage

Das Weinbaugebiet Ahr (115 – 240 m über NN) ist eines der nördlichsten Anbaugebiet Deutschlands mit ca. 520 ha, zu 85 % mit roten Rebsorten bestockt. Es ist ein Terrain mit kargen Grauwacke- und Schieferverwitterungsböden in steiler Terrassenlage mit günstiger Hangneigung, überdurchschnittlich hoher Sonneneinstrahlung und vorteilhafter Verteilung der Niederschläge von 600 - 650 mm im Jahr. Im engen Talbereich des Marienthaler Stiftsgarten, einem kommerziell genutzten Weinberg der Staatlichen Weinbaudomäne Marienthal, wurden Versuche an Weinreben der Sorte 'Müller Thurgau' in einer Blockanlage mit Kleinparzellen von 65 m², zu je drei Reihen mit jeweils 12 Pflanzen, durchgeführt. Der Pflanzabstand betrug 1 m in der Reihe und 1,8 m zwischen den Reihen. Für die Probennahme und Bonitur wurden jeweils nur die Mittelreihen verwendet.

2.11.2.2 Versuchsdurchführung

Tab. 5: Versuchsanlage an Weinreben *Vitis vinifera* (cv. 'Müller Thurgau') in Marienthal (Ahrtal) in der Vegetationsperiode 2000 (Applikationen erfolgten zu den Entwicklungsstadien BBCH 53, 61, 68 und 79 der Reben).

Behandlung	Anzuchtmedium von <i>U. atrum</i>	Sporenkonzentration
ohne Botrytizid		
Botrytizid ¹		
<i>Ulocladium atrum</i>	Haferkörner	2 x 10 ⁶ Sporen/ ml
<i>Ulocladium atrum</i>	Bulger	4 x 10 ⁵ Sporen/ ml
<i>Ulocladium atrum</i>	Bulger	2 x 10 ⁶ Sporen/ ml

¹ 0,1 % Teldor® (Fenhexamid)

Tab. 6: Versuchsanlage an Weinreben *Vitis vinifera* (cv. 'Müller Thurgau') in Marienthal (Ahrtal) in der Vegetationsperiode 2001.

Behandlung	Zahl der Behandlungen	Entwicklungsstadium bei Behandlung
ohne Botrytizid		
Botrytizid ¹	2 x	BBCH 79 und 85
Frühe Spritzfolge <i>Ulocladium atrum</i>	4 x	BBCH 55, 61, 68 und 79
Späte Spritzfolge <i>Ulocladium atrum</i>	4 x	BBCH 61, 68, 79 und 85

¹ 0,1 % Teldor® (Fenhexamid)

2000

In der Vegetationsperiode 2000 wurden fünf Varianten im Weinberg angelegt, wobei die Parzellen viermalig zu den Entwicklungsstadien BBCH 53, 57, 68 und 79 behandelt wurden. Zum Vergleich wurden Sporensuspensionen von *U. atrum* angezogen auf Haferkörnern mit 2×10^6 Sporen/ ml und Bulger- Anzuchtmedium mit 4×10^5 Sporen/ ml und 2×10^6 Sporen/ ml ausgebracht (Tab. 5).

2001

In der Vegetationsperiode 2001 wurden Spritzfolgen mit unterschiedlicher Terminierung ausgebracht, eine frühe Behandlung erfolgte zu den Entwicklungsstadien BBCH 55, 61, 68 und 79 und eine späte Behandlung zu BBCH 61, 68, 79 und 85. Zu den Behandlungsterminen wurde jeweils Sporensuspensionen von *U. atrum* mit einer Dichte von 2×10^6 Sporen/ ml ausgebracht (Tab. 6).

2.11.3 Ertragsermittlung und Weinausbau

Die Ernte der Trauben erfolgte an beiden Standorten durch Handlese. In Marienthal wurden nur die Trauben mit einem geringen Befall aus den Mittelreihen jeder Parzelle am 27. September 2000 bzw. am 04. Oktober 2001 geerntet. Anschließend wurde das Gewicht, der Alkohol- und der Zuckergehalt sowie der pH-Wert bestimmt. In Kirrweiler wurden die Trauben am 09. Oktober 2000 bzw. 11. Oktober 2001 geerntet. Aus dem Gemisch der Wiederholungen jeder Behandlung wurde der Zucker- und Säuregehalt bestimmt.

Der Weinausbau der Trauben der verschiedenen Behandlungen erfolgte an beiden Standorten durch die jeweiligen Versuchsansteller. Während des Gärverlaufs wurde der Einfluss der Behandlungen auf die Aktivität der Hefe bestimmt, indem 21 Tage lang die Gewichtsabnahme, Gesamtgewicht inklusive Glasballon, gewogen wurde. In Kirrweiler

wurden nach Beendigung des Ausbaues der Zucker-, Alkohol- und Restzuckergehalt sowie der Säuregehalt und die Weinqualität durch sensorische Prüfung bestimmt.

2.11.4 Meteorologische Datenerfassung

Marienthal

In Marienthal wurden Klimadaten mit Hilfe einer Wetterstation, die am Rand des Weinbergs aufgestellt war, erfasst. Die Blattnässe wurde mit Sensoren, die zwei Meter über dem Boden im Bestand positioniert waren, die rel. Feuchte und Temperatur mit Fühlern, die einen Meter über dem Bestand angebracht wurden, gemessen. Die Daten wurden in Intervallen von 10 Minuten mit Hilfe eines Opus II Datenloggers (Fa. Lufft Mess und Regeltechnik, Deutschland) und der Software SmartGraf 1.64-Opus (Fa. Lufft Mess und Regeltechnik, Deutschland) erfasst und gespeichert. Die Auswertung der Klimadaten erfolgte nach Bildung des täglichen Mittelwertes.

Kirrweiler

Die Wetterdaten für den Standort Kirrweiler wurden von der nahe gelegenen Wetterstation der SLFA Neustadt (Staatliche Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau, Neustadt an der Weinstraße, Deutschland) bezogen.

2.12 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software SPSS für Windows, Vers. 11.0 (Fa. SPSS, Chicago, USA). Die Daten wurden auf Normalverteilung geprüft und varianzanalytisch verrechnet. Es wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ angenommen. Unterschiede zwischen zwei Mittelwerten wurden mit t-Test verrechnet, beim multiplen Mittelwertsvergleich mit Tukey-Test bzw. Student-Newmann-Keul-Test. Der Dunnett-Test diente der Verrechnung von Unterschieden bei nur einer Bezugsvariante. Bei den Rindenprobenerhebungen im Freiland lagen die Daten häufig nicht als Normalverteilung vor und eine Verrechnung erfolgte mit dem rangvarianzanalytischen Test nach Kruskal-Wallis. Unterschiedliche Buchstaben in den Abbildungen und Tabellen kennzeichnen signifikante Unterschiede der Mittelwerte. In der Arbeit sind Ergebnisse einzelner, repräsentativer Versuche dargestellt.

Die Berechnung der EC_{50} -Werte erfolgte mit der Software SAS für Windows, Vers. 8.0 (SAS Institute, USA). Mit Hilfe einer Syntax von Prof. Haverkamp (Bonn, Deutschland) wurde eine nichtlineare Kurvenanpassung durchgeführt.

3. ERGEBNISSE

Das Isolat 385 des saprophytischen Hyphomyceten *Ulocladium atrum* wurde als Antagonist gegen das Pathogen *Botrytis cinerea* bereits an mehreren Kulturpflanzen beschrieben. Die antagonistische Wirksamkeit beruht auf Konkurrenz um Nährstoffe und der Besetzung von ökologischen Nischen und somit auf der Beeinflussung der epidemischen Entwicklung des Pathogens. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss des Pathogengenotyps auf die antagonistische Wirksamkeit von *U. atrum* gegen *B. cinerea* untersucht. Die Untersuchungen wurden sowohl unter kontrollierten Bedingungen in einem Biotestverfahren auf nekrotischen Rebenblättern, als auch an Begonien-, Paprika- und Rebenjungpflanzen durchgeführt. Eine Differenzierung der Isolate wurde anhand ihrer morphologischen und, physiologischen Charakteristika und ihrer Fungizid-Sensitivität gegen wichtige Botrytizide aus verschiedenen Wirkstoffklassen vorgenommen. Anschließend wurde die Konkurrenzwirkung von *U. atrum* gegen *B. cinerea* unter praktischen Anbaubedingungen im Weinbau untersucht, um die Möglichkeiten einer Anwendung des Antagonisten gegen den Erreger des Grauschimmels an Weinreben zu überprüfen.

3.1 Charakterisierung verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea*

Zur Differenzierung der verwendeten Isolate von *B. cinerea* wurden verschiedene Wachstumsparameter untersucht. Experimente wurden *in vitro* und *in vivo* durchgeführt, um mikro- und makroskopische Eigenschaften des Pathogens zu beschreiben.

3.1.1 Wachstum und vegetative Entwicklung auf unterschiedlichen Nährmedien

Auf den Nährmedien PDA (Potato-Dextrose-Agar), MEA (Malz-Extrakt-Agar) und Hafermehl-Agar wurden die Isolate von *B. cinerea* hinsichtlich ihrer Entwicklung makroskopisch charakterisiert. Das radiale Myzelwachstum der Isolate wurde täglich gemessen, sowie das Aussehen des Myzels und die Ausbildung von Sporen 14 Tage und die Sklerotienbildung 21 Tage nach dem Überimpfen der Isolate auf PDA Nährmedium bewertet (Bild 1).

Am ersten Tag nach dem Überimpfen konnte auf MEA und PDA bereits an drei Viertel bzw. einem Drittel der Isolate Myzelwachstum beobachtet werden, wohingegen auf Hafermehl-Agar das Wachstum erst am zweiten Tag einsetzte (Abb. 3). Ab dem zweiten Tag nach Überimpfen eines Myzelstücks auf PDA lag der tägliche Zuwachs im Durchschnitt der 41 Isolate bei 2,2 cm. Einige Isolate, wie 4 und 57, hatten bereits den Petrischalenrand (8 cm Wachstum) erreicht, andere Isolate zeigten ein deutlich

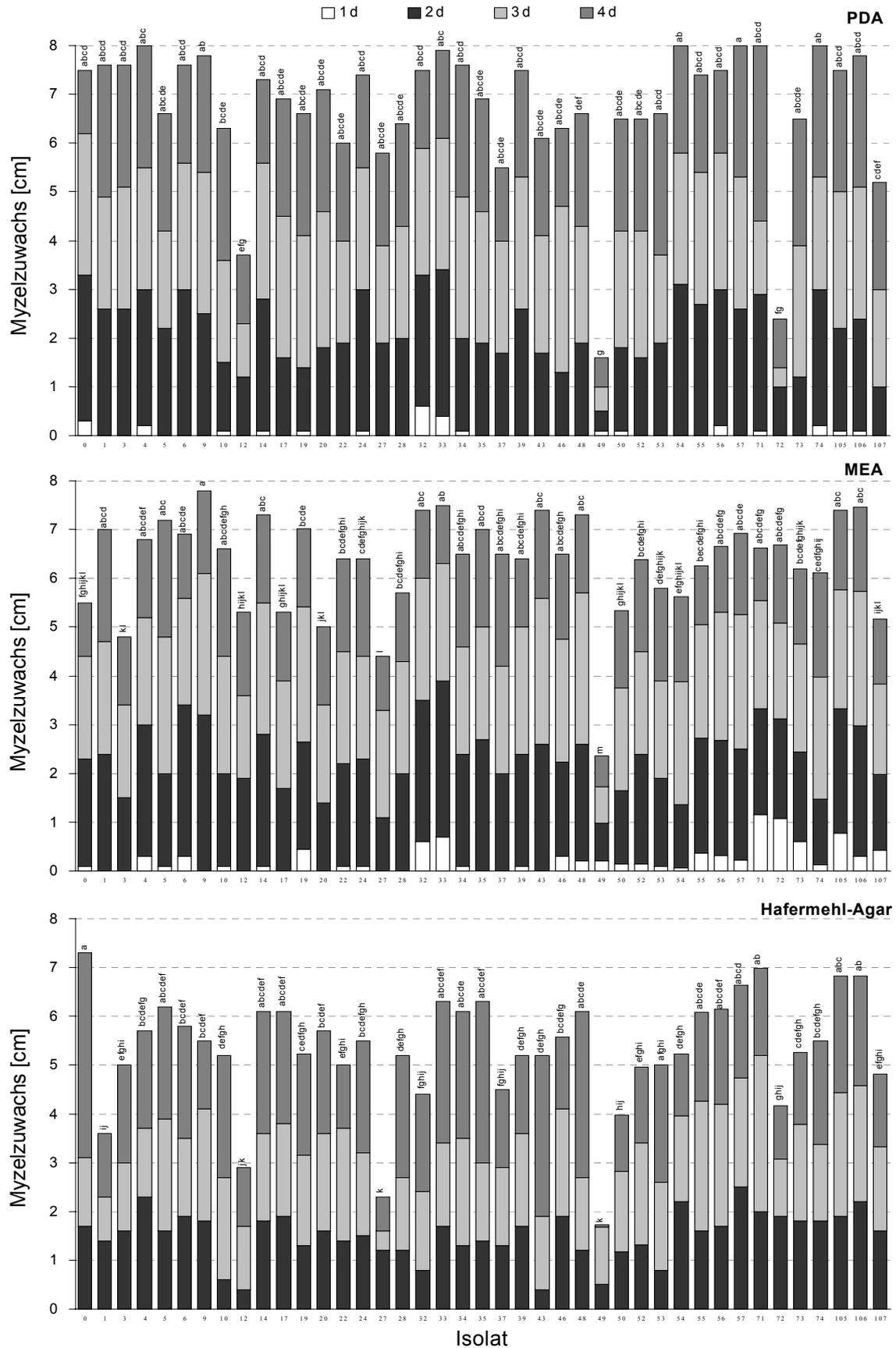


Abb. 3: Radiales Myzelwachstum verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* auf unterschiedlichen Nährmedien bei 20 ± 1 °C ($n = 5$; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$ am Tag 4).

langsameres Wachstum. Isolat 12 wuchs nur halb so schnell um 3,7 cm und die Isolate 49 und 72 noch langsamer, weniger als 2,4 cm der Petrischale wurden bewachsen.

Auf MEA und Hafermehl-Agar war der durchschnittliche tägliche Mycelzuwachs mit 2 cm bzw. 1,7 cm deutlich geringer als auf PDA. Zwischen den Isolaten konnten auch auf diesen Nährmedien Unterschiede im Myzelwachstum beobachtet werden. Einige der getesteten Isolate zeigten Auffälligkeiten in ihrem Wachstum. Das Isolat 49 wies auf allen Nährmedien einen gleich bleibend geringen Wuchs von unter 2,5 cm auf. Auf PDA und Hafermehl-Agar wuchs Isolat 12 deutlich langsamer als auf MEA. Isolat 1 wuchs auf Hafermehl-Agar mit 3,6 cm nach vier Tagen nur halb so schnell wie auf den beiden anderen Medien. Bei anderen Isolaten, wie z. B. 5, 33, 34 und 35, konnten keine Unterschiede im Wuchs zwischen den verwendeten Nährmedien festgestellt werden.

Das Myzel der Isolate, die nach 14 Tagen nur sehr schlecht bzw. überhaupt nicht auf PDA Nährmedium sporulierten, wurde hinsichtlich Färbung und der Wuchsform bewertet (Tab. 7). Es bildete sich flaches bis watteähnliches Myzel auf dem Nährmedium aus, das von weiß, beige bis hin zu grau gefärbt war.

Die Hälfte der verwendeten Isolate von *B. cinerea* sporulierte bereits nach vier bis sieben Tagen in erheblichem Umfang. Für Isolat 12 konnte sogar bereits nach drei Tagen eine sehr starke Sporulation festgestellt werden. An weiteren 25 % der Isolate konnten unter

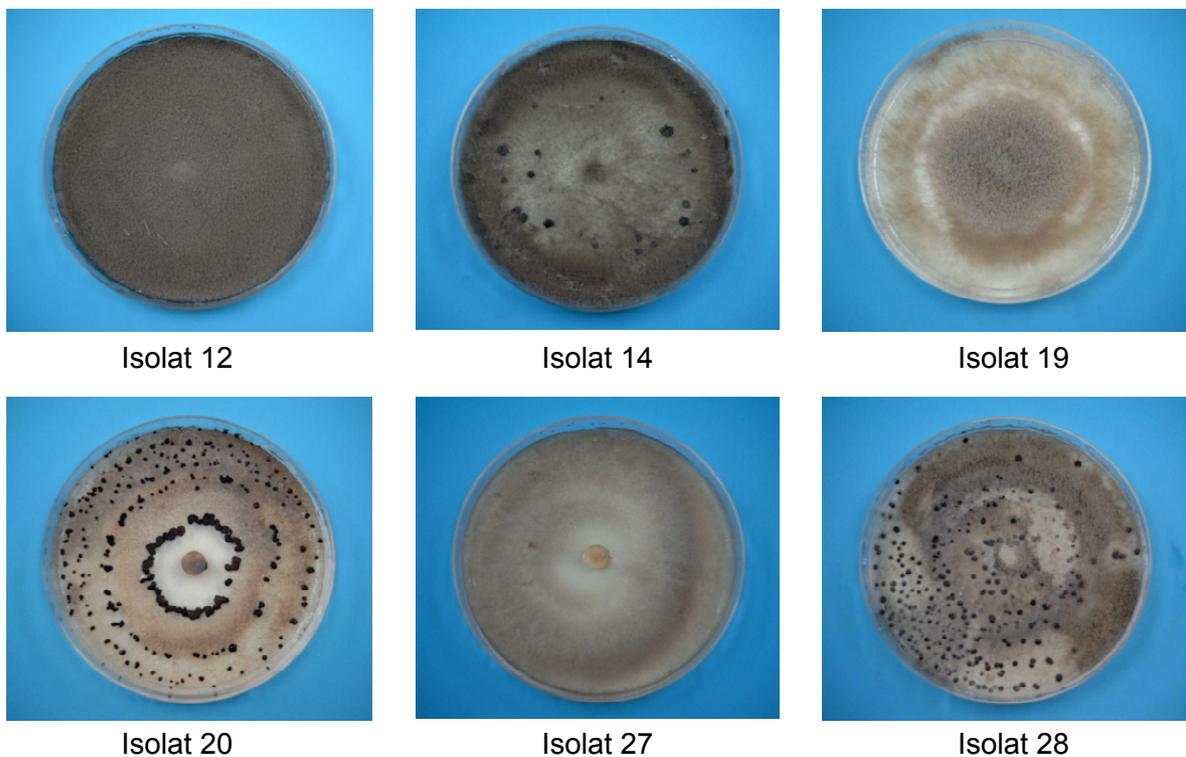


Bild 1: Vegetative Entwicklung verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* auf PDA.

Tab. 7: Makroskopische Charakteristika des Myzels verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* bei unterschiedlicher Belichtung (n = 5; 20 ± 1 °C; 16 h hell/ 8 h dunkel; visuelle Bonitur des Myzels und der Sporulation nach 14 Tagen bzw. der Sklerotienausbildung nach 21 Tagen; Wachstum auf PDA).

Isolate	Weißlicht				UV Licht	
	Myzelaussehen	Sporulation	Beginn [d]	Sklerotien	Größe	Sporulation
0		++	4	-	-	++
1		++	5	-	-	++
3		+	5	±	klein	++
4	weiß, flach	-	-	-	-	±
5		++	6	+	mittel	++
6	beige, flach	-	-	+	groß	++
9		+	6	+	mittel	++
10		++	4	-	-	++
12		+++	3	-	-	++
14		+	6	++	groß	++
17	weiß, flach	-	-	+++	klein	+
19		++	7	+	groß	++
20	hellgrau, flach	+	7	++	mittel	++
22	weiß, watteähnlich	±	7	++	klein	++
24	beige, flach	+	7	-	-	++
27	weiß, flach	±	7	++	klein	++
28	weiß, flach	±	7	+	groß	++
32	grau, watteähnlich	-	-	-	-	++
33		++	5	-	-	++
34		++	5	-	-	++
35		++	5	+	groß	++
37	weiß, flach	-	-	-	-	±
39	grau, watteähnlich	+	6	-	-	++
43		++	4	-	-	++
46		++	6	++	groß	++
48		++	6	++	groß	++
49	beige, flach	±	5	±	klein	++
50	hellgrau, flach	±	7	+++	klein	++
52	weiß, flach	-	-	+++	klein	+
53		++	5	-	-	++
54	weiß, flach	+	4	+	groß	+
55		++	6	++	klein	++
56		++	6	+	groß	++
57		+	7	-	-	++
71		++	7	-	-	++
72	hellgrau, watteähnlich	-	-	-	-	±
73	weiß watteähnlich	-	-	+	klein	+
74		++	7	+	groß	++
105		++	7	+	groß	++
106	grau, flach	-	-	++	klein	+
107		++	7	+	groß	++

+++ sehr stark ++ stark + gering ± vereinzelt - keine

klein: < 0,2 cm mittel: 0,2 cm ≥ 0,5 cm groß: >0,5 cm

Weißlicht keine oder nur sehr geringe Sporenbildung beobachtet werden, wie z. B. bei Isolat 4 und 72. Eine deutlich bessere Sporulation der Isolate konnte durch UV Licht erzielt werden. Lediglich Isolat 4 und 72 sporulierte dort sehr schwach.

Die Ausbildung von Sklerotien konnte an über der Hälfte der Isolate festgestellt werden. Isolate wie 5 und 35 bildeten nur wenige, dafür aber große Sklerotien aus, hingegen wurden von den Isolaten 50 und 52 sehr viele kleine Sklerotien gebildet.

3.1.2 Untersuchungen zur Sporengröße

Nach dreizehntägigem Wachstum auf PDA wurden Sporen von 12 Isolaten von *B. cinerea* vom Nährmedium abgewaschen und die entsprechenden Sporensuspensionen mikroskopisch untersucht (Bild 2a). Dabei wurden die Sporen hinsichtlich ihrer Länge und Breite ausgemessen (Tab. 8). Anschließend wurde das Verhältnis zwischen Länge und Breite und das durchschnittliche Sporenvolumen der einzelnen Isolate bestimmt (Abb. 4).

Die Isolate von *B. cinerea* unterschieden sich in ihrer Sporenlänge und -breite, die zwischen 9 und 12 μm bzw. 7 und 8 μm lag. Diese Unterschiede in der Größe der einzelnen Sporen spiegelte sich in dem Längen/ Breitenverhältnis der einzelnen Sporen wieder. Einige Isolate, wie die Isolate 12, 35 und 43, wiesen ein sehr großes Längen/ Breiten- Verhältnis von über 1,5 auf, bei Isolat 33 wiederum lag dieses deutlich niedriger bei unter 1,2.

Tab. 8: Sporengröße verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* (n = 80 Sporen; 13 Tage nach Überimpfen auf PDA; $20 \pm 1^\circ\text{C}$; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Säulengruppe kennzeichnen Signifikanz nach Student-Newman-Keuls bei $p \leq 0,05$).

Isolat	Länge [μm]	Breite [μm]	Verhältnis Länge/ Breite
0	10,3 \pm 1,1 cd	7,6 \pm 0,6 bc	1,36 \pm 0,15 b
1	10,9 \pm 1,1 b	8,0 \pm 0,7 a	1,36 \pm 0,16 b
5	10,5 \pm 1,3 c	8,0 \pm 0,9 a	1,32 \pm 0,18 bc
10	9,7 \pm 1,7 de	7,2 \pm 0,9 d	1,35 \pm 0,22 bc
12	11,2 \pm 1,6 b	7,2 \pm 0,9 d	1,57 \pm 0,25 a
24	9,8 \pm 1,1 de	7,6 \pm 0,9 bc	1,30 \pm 0,17 bcd
33	9,4 \pm 1,1 ef	7,9 \pm 0,7 a	1,19 \pm 0,13 e
34	10,3 \pm 1,0 cd	8,1 \pm 0,8 a	1,27 \pm 0,13 cd
35	12,0 \pm 1,8 a	8,0 \pm 0,9 a	1,52 \pm 0,23 a
43	9,9 \pm 1,5 de	6,6 \pm 0,6 e	1,51 \pm 0,24 a
48	9,9 \pm 1,0 de	7,8 \pm 0,7 ab	1,28 \pm 0,16 bcd
57	9,0 \pm 1,2 f	7,4 \pm 0,8 cd	1,23 \pm 0,18 de
Mittel \pm s *	10,2 \pm 0,8	7,6 \pm 0,5	1,34 \pm 0,12

* Mittel der 12 Isolate \pm Standardabweichung

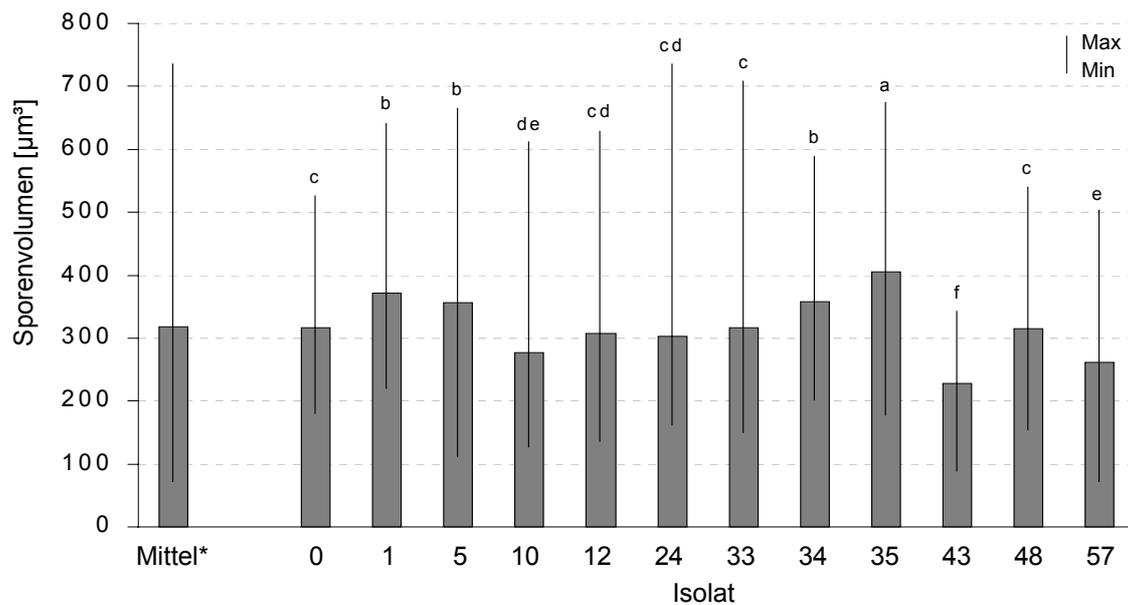


Abb. 4: Sporenvolumen verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* (n = 80 Sporen; 13 Tage nach Überimpfen auf PDA; 20 ± 1°C; * Mittel der 12 Isolate; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Säulengruppe kennzeichnen Signifikanz nach Student-Newman-Keuls bei p ≤ 0,05).

Das Sporenvolumen der Isolate von *B. cinerea* unterschied sich entsprechend deutlich voneinander (Abb. 4). Das größte Volumen wiesen die Sporen von Isolat 35 mit 400 µm³ auf, welches sich signifikant vom Volumen der Sporen von Isolat 43 unterschied. Dieses lag mit 230 µm³ um 45 % niedriger. Das Sporenvolumen der anderen Isolate lag dazwischen. Das Volumen einzelner Sporen innerhalb eines Isolates wich sehr stark voneinander ab. Bei Isolat 12 lag das durchschnittliche Volumen bei 300 µm³, wobei das Minimum um 45 % niedriger bei 140 µm³ und das Maximum doppelt so hoch bei 630 µm³ lag.

3.1.3 Keimung und Keimschlauchwachstum auf der Blattoberfläche

Auf lebenden Rebenblättern wurden Keimung und Keimschlauchwachstum ausgewählter Isolate von *B. cinerea* untersucht. Dazu wurden Sporensuspensionen, denen Malz-Extrakt-Bouillon (MEB) zu zwei Prozent zugesetzt wurde, auf Rebpflanzen aufgesprüht

Tab. 9: Keimrate verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* unter Zugabe von MEB (2 %) nach sechsstündiger Entwicklung auf lebenden Rebenblättern (n= 3 x 100 Sporen; 20 ± 1 °C; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei p ≤ 0,05).

Sporenkeimrate der Isolate von <i>B. cinerea</i> [%]											
0	1	5	10	12	24	33	34	35	43	48	57
98 a	99 a	99 a	91 bc	90 c	96 a	99 a	99 a	97 a	96 a	95 ab	100 a

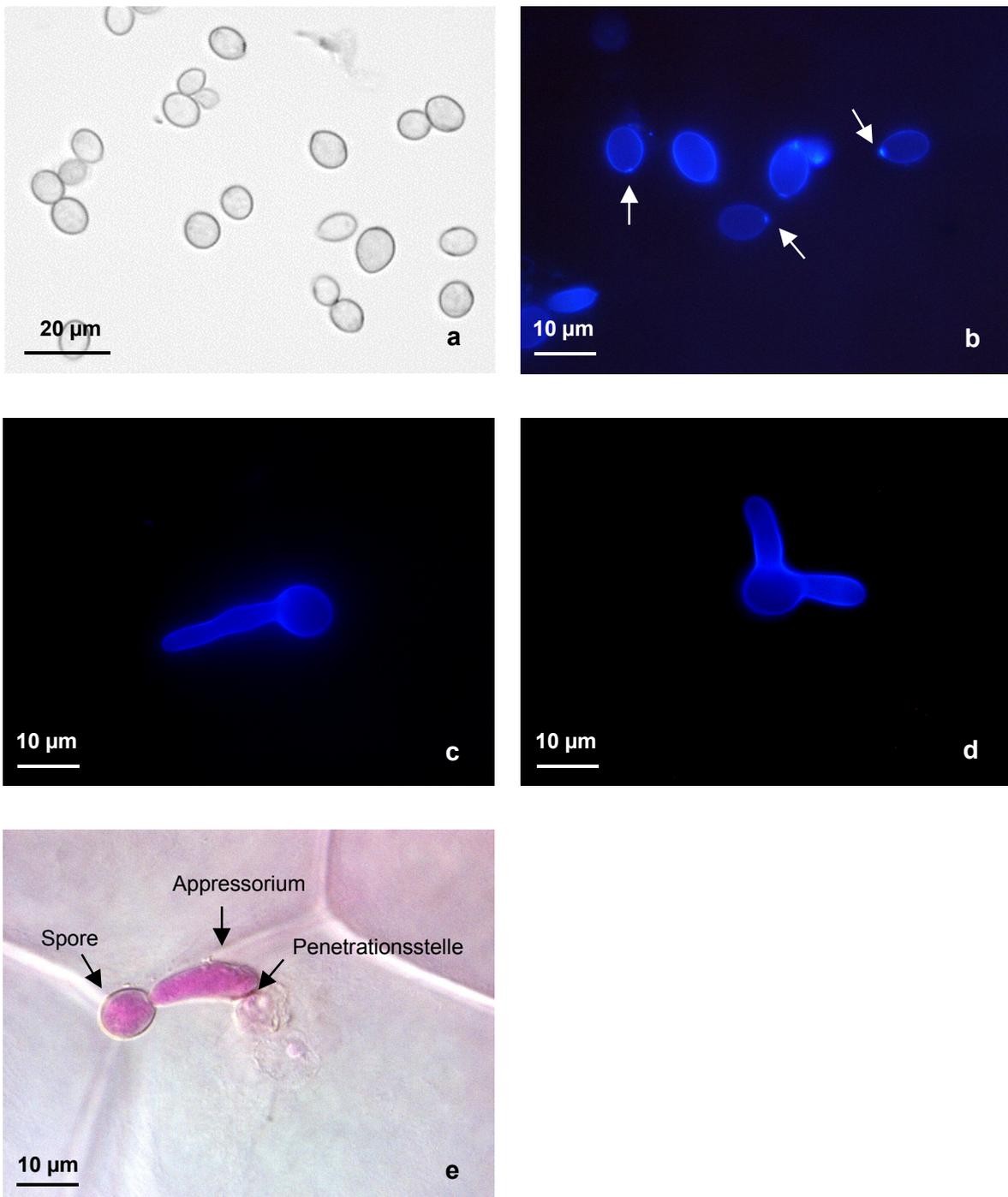


Bild 2:

- a: Hyaline Sporen; Durchlichtmikroskopie
- b: Bildung von Keimporen, Fluoreszenzmikroskopie; Diethanol-Färbung
- c: Keimende Spore mit einer Keimhhyphe; Fluoreszenzmikroskopie; Diethanol-Färbung
- d: Keimende Spore mit zwei Keimhhyphe; Fluoreszenzmikroskopie; Diethanol-Färbung
- e: Keimende Spore mit Appressorium über der Penetrationsstelle auf Begonienblatt; Durchlichtmikroskopie; Säurefuchsin-Färbung

und sechs Stunden bei Wasserdampf-gesättigter Luft inkubiert. Das Keimverhalten wurde nach Anfärben mit dem Farbstoff Diethanol an ausgestanzten Blattstücken beobachtet.

Die Keimrate der meisten Isolate von *B. cinerea* lag mit über 95 % gekeimten Sporen sehr hoch (Tab. 9). Lediglich die Keimung der Sporen von Isolat 10 und 12 war signifikant niedriger als die der anderen Isolate, lag aber dennoch bei 90 %. Ein Großteil der Isolate von *B. cinerea* bildete bei der Sporenkeimung nur einen Keimschlauch aus (Bild 2c). Dagegen konnte an bis zu 15 % der ausgezählten Sporen der Isolate 35 und 57 die Ausbildung von zwei Keimschläuchen, wie in Bild 2d dargestellt, beobachtet werden. Die durchschnittliche Länge der ausgebildeten Keimschläuche der Sporen von Isolat 12 war nach sechstündiger Inkubation mit 9 μm am niedrigsten (Abb. 5). Bei Isolat 35 entwickelten sich mit 21 μm fast doppelt so lange Keimschläuche. Die Streuung der Keimschlauchlängen bei den schwach wachsenden Isolaten war deutlich niedriger als bei den starkwachsenden.

3.1.4 Sporulation auf nekrotischem Blattgewebe

Auf nekrotischer Blattoberfläche wurde die Sporulation ausgewählter Isolate von *B. cinerea* untersucht. Runde Blattscheiben wurden auf Wasseragar ausgelegt und mit einer Sporensuspension der Isolate inokuliert und inkubiert. Über einen Zeitraum von 14 Tagen wurden in Intervallen die neu gebildeten Sporen von den Blattscheiben abgewaschen und die Sporulationsrate bestimmt (Tab. 10).

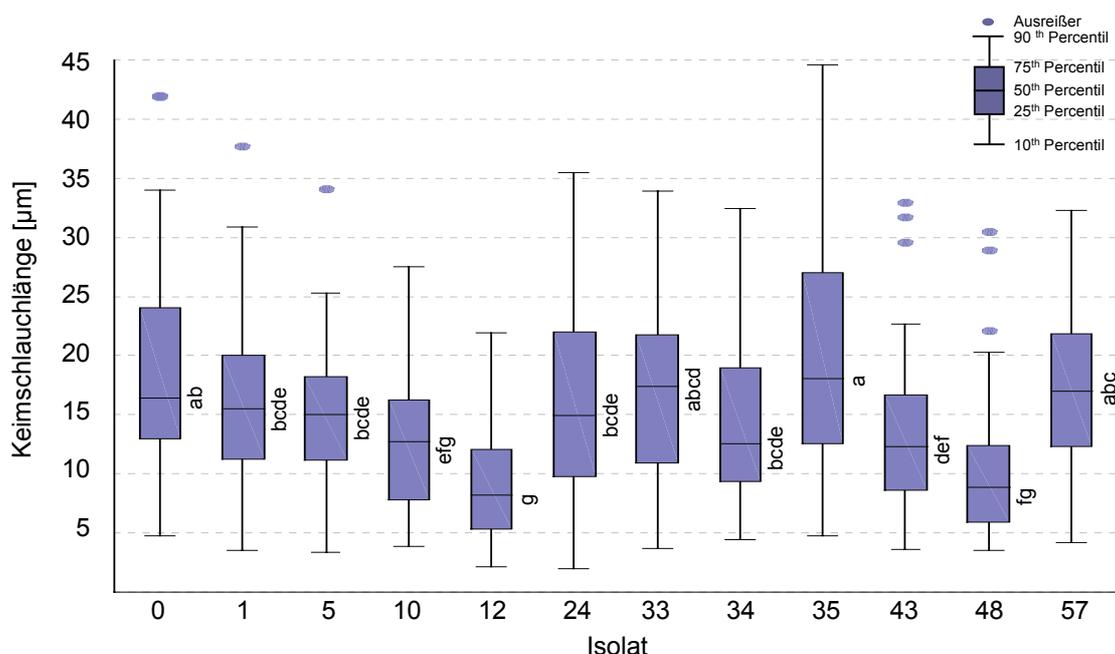


Abb. 5: Keimschlauchlängenwachstum verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* unter Zugabe von MEB (2 %) nach sechstündiger Entwicklung auf grünen Rebenblättern ($n = 60$ Keimschläuche; $20 \pm 1^\circ\text{C}$; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

Tab. 10: Sporulationsrate der Isolate von *Botrytis cinerea* auf nekrotischen Rebenblättern [1000 Sporen/ cm² Blattfläche] (n = 6; Inokulumkonzentration 1 x 10⁵ Sporen/ml; Auswertung 3 bis 14 Tagen nach Inokulation; 20 ± 1°C; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei p ≤ 0,05).

Isolat	Sporulationsrate [1000 Sporen/ cm ² Blattfläche]						
	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 10	Tag 14
0	6,6 ab ± 0,3	135,3 a ± 3,4	496,7 a ± 9,3	620,7 a ± 18,1	663,8 a ± 15,0	721,5 a ± 25,4	977,5 abcd ± 17,4
1	1,3 ab ± 0,2	24,5 bc ± 1,3	187,0 cde ± 7,0	427,7 abc ± 14,2	479,9 abc ± 20,9	553,7 ab ± 20,2	610,1 bcdef ± 13,1
5	0,0 b ± 0,0	4,6 bc ± 0,3	32,5 ef ± 1,8	257,3 cde ± 3,9	314,3 bcd ± 12,6	327,6 b ± 7,6	437,7 ef ± 8,6
10	11,3 a ± 1,6	157,2 a ± 5,7	397,9 ab ± 13,5	590,2 ab ± 15,7	650,1 a ± 15,1	794,4 ab ± 45,1	818,3 abcde ± 23,3
12	1,3 ab ± 0,2	54,4 b ± 4,3	328,3 bc ± 7,6	485,4 abc ± 17,8	472,2 abc ± 19,6	459,6 ab ± 19,5	505,3 cdef ± 14,4
24	0,0 b ± 0,0	4,0 bc ± 0,6	139,9 def ± 7,9	160,5 de ± 3,7	242,7 cd ± 9,4	524,5 ab ± 13,3	716,9 abcde ± 30,1
33	4,6 ab ± 0,5	4,6 bc ± 0,6	163,8 cdef ± 11,7	350,1 cd ± 10,5	371,4 bc ± 11,0	399,9 b ± 9,0	407,8 ef ± 23,5
34	2,7 ab ± 0,2	11,3 bc ± 0,8	135,3 cdef ± 6,1	299,1 cd ± 9,9	586,2 ab ± 18,8	576,9 ab ± 16,9	1017,3 abc ± 46,0
35	0,0 b ± 0,0	170,4 a ± 3,5	319,0 bc ± 9,6	439,0 abc ± 6,3	553,1 ab ± 16,6	936,4 ab ± 26,8	1082,3 ab ± 34,0
43	0,7 b ± 0,2	23,9 bc ± 1,0	240,7 bcd ± 9,4	430,4 abc ± 11,3	713,5 a ± 9,1	763,9 ab ± 8,5	1226,2 a ± 53,8
48	1,3 ab ± 0,2	41,1 bc ± 2,1	298,4 bcd ± 10,7	371,4 bcd ± 15,7	443,6 abc ± 12,9	474,8 ab ± 13,3	472,8 def ± 11,6
57	0,0 b ± 0,0	3,8 bc ± 0,6	145,9 def ± 6,9	180,3 de ± 3,2	282,6 cd ± 5,6	432,7 ab ± 11,3	661,7 abcde ± 22,1
Mittel der Isolate	2,5 ± 3,5	52,6 ± 63,6	240,5 ± 131,3	384,3 ± 145,2	481,1 ± 156,6	580,5 ± 184,4	744,5 ± 277,1

Im Mittel der Isolate war am dritten Tag nach der Inokulation mit weniger als 3×10^3 Sporen/ cm^2 Blattfläche eine sehr niedrige Sporulationsrate festzustellen. Diese stieg innerhalb der folgenden vierundzwanzig Stunden sprunghaft um über das Zwanzigfache auf $5,3 \times 10^4$ Sporen/ cm^2 Blattfläche an und bis zum fünften Tag nach Inokulation nochmals um das Viereinhalbfach auf $2,4 \times 10^5$ Sporen/ cm^2 Blattfläche. Am sechsten und siebten Tag erhöhte sich die Sporenbildung weiterhin täglich um das 1,6 fache bzw. 1,25 fache und blieb daraufhin bis zum 14 Tag mit $7,5 \times 10^5$ Sporen/ cm^2 Blattfläche annähernd konstant. Bei Betrachtung der Einzelisolate wurde ein sehr unterschiedliches Sporulationsverhalten deutlich. Sowohl die tägliche Sporenbildung, als auch das Ausmaß der Sporulation lag bei einzelnen Isolaten deutlich unter bzw. über dem beschriebenen Durchschnittsverlauf der Isolate. Die Sporulationsrate der Isolate 12, 33 und 48 war in den ersten sieben Tagen vergleichbar mit dem Durchschnitt der Isolate, jedoch bildeten diese Isolate in den folgenden Tagen kaum noch neue Sporen aus. Nach 14 Tagen war die Sporulationsrate der Isolate 12 und 48 um ein Drittel niedriger, bei Isolat 33 war die Sporenbildung sogar fast nur halb so groß wie im Durchschnitt der Isolate (Abb. 6). Hingegen wurde bei Isolat 0 innerhalb der ersten sechs Tage ein über dem Durchschnitt liegender Anstieg der Sporenbildung auf $6,2 \times 10^5$ Sporen/ cm^2 Blattfläche festgestellt. Nach 14 Tagen erhöhte sich die Sporulationsrate um weitere 40 % auf fast

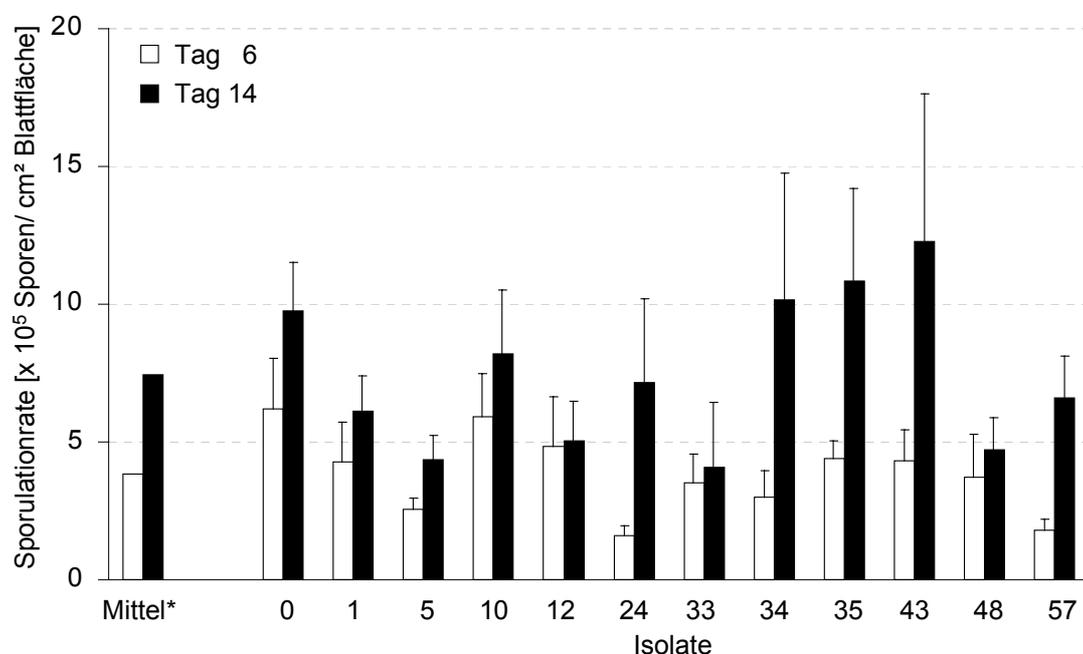


Abb. 6: Sporulationsrate der Isolate von *Botrytis cinerea* auf nekrotischen Rebenblättern (n = 6; Inokulumkonzentration 1×10^5 Sporen/ml; Auswertung 6 bzw. 14 Tage nach Inokulation; $20 \pm 1^\circ\text{C}$; * Mittel der 12 Isolate).

1×10^6 Sporen/ cm^2 Blattfläche und lag damit 25 % über dem Durchschnitt. Ähnlich verhielten sich die Isolate 10, 35 und 43. Die Sporulationsrate des Isolates 5 verlief durchgehend auf einem deutlich niedrigerem Niveau als der Durchschnitt der Isolate. Anfänglich konnte eine um ein Drittel geringere Sporulationsrate festgestellt werden, die nach 14 Tagen mit $4,4 \times 10^5$ Sporen/ cm^2 Blattfläche sogar um 40 % geringer als das Mittel der Isolate lag.

3.1.5 Aggressivität an verschiedenen Wirtspflanzen

An Jungpflanzen von Weinreben, Begonien und Paprika wurden Untersuchungen zur Aggressivität der Isolate von *B. cinerea* durchgeführt. Zunächst wurde die Befallsstärke für alle verwendeten Isolate einzeln an Rebenpflanzen ermittelt, um anschließend mit ausgewählten Isolaten den Einfluss der Wirtspflanze und der Inokulumdichte auf die Aggressivität zu untersuchen.

3.1.5.1 Einfluss des Isolates

Alle Isolate von *B. cinerea* wurden an Rebenjungpflanzen, die im Gewächshaus angezogen worden waren, auf ihre Aggressivität gegenüber der Wirtspflanze geprüft. Dazu wurden die Reben mit einer Sporensuspension der Isolate inokuliert und bei 100 % rel. Luftfeuchte inkubiert, um dann den prozentualen Anteil der befallenen Blattfläche zu ermitteln. Zwei Tage nach Inokulation mit Isolat 0 zeigten sich an den Weinreben die

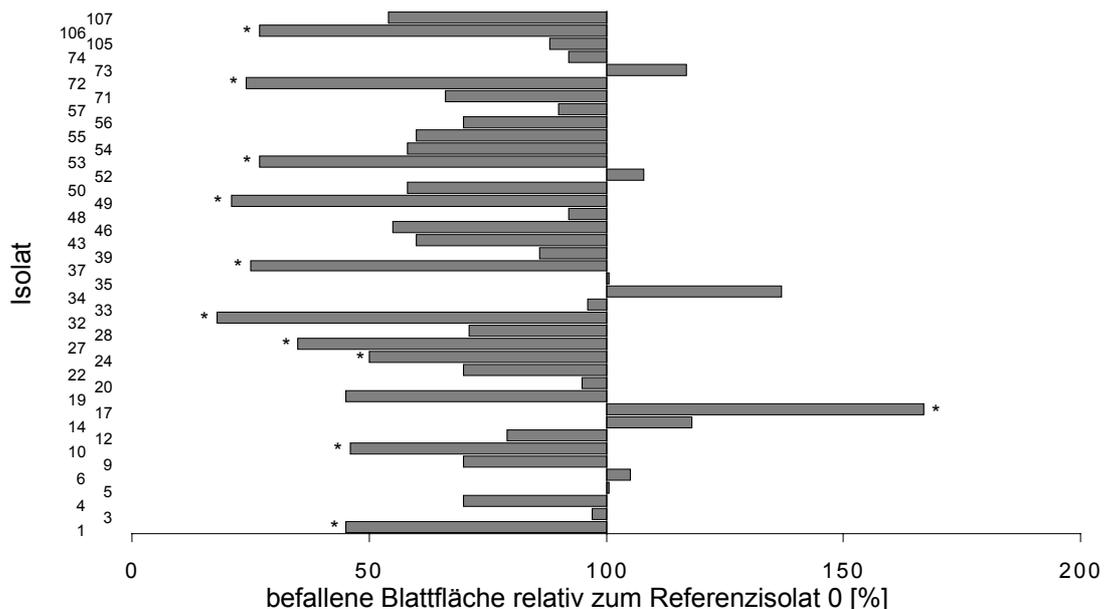


Abb. 7: Aggressivität der Isolate von *Botrytis cinerea* im Vergleich zum Referenzisolat 0 an Weinreben (n = 5; 2 Tage nach Inokulation; Inokulumkonzentration 1×10^6 Sporen/ ml; Signifikanz nach Dunnett bei $p \leq 0,05$).

typischen Symptome von *B. cinerea* mit recht hohen Befallsschäden von 50 % bis 70 % (Bild 3). Auf Grund der hohen Befallswerte von Isolat 0 und der großen Anzahl der zu testenden Isolate, die nicht alle gleichzeitig untersucht werden konnten, wurde Isolat 0 als Referenzisolat gewählt und der Befall der anderen Isolate darauf prozentual bezogen (Abb. 7).

Das Referenzisolat 0 erwies sich als sehr aggressiv an Rebenpflanzen, da nur sechs der verwendeten Isolate stärkere Symptomausprägungen an den Blättern der Testpflanzen verursachten. So verursachten nur die Isolate 34 und 17 deutlich höhere Schäden. Keine Unterschiede in ihrer Aggressivität im Vergleich zu Isolat 0 zeigten lediglich die fünf Isolate 3, 5, 20, 33 und 35. Die restlichen drei Viertel der Isolate verursachten zum Teil nur sehr geringe Blattsymptome an den Reben. Dabei wies ein Viertel der Isolate signifikant geringere Aggressivität als das Referenzisolat 0 auf, es konnte ein bis zu 80 % geringerer Befall beobachtet werden. Dies war z. B. für die Isolate 1, 10, 24 und 32 zu beobachten

3.1.5.2 Wechselwirkung mit der Inokulumdichte

Mit einer Auswahl von 12 Isolaten, die sich in den vorhergehenden Untersuchungen deutlich in ihrer Aggressivität an Reben unterschieden, wurde der Einfluss der Inokulumkonzentration auf die Befallsstärke ermittelt. Dazu wurden Jungpflanzen von

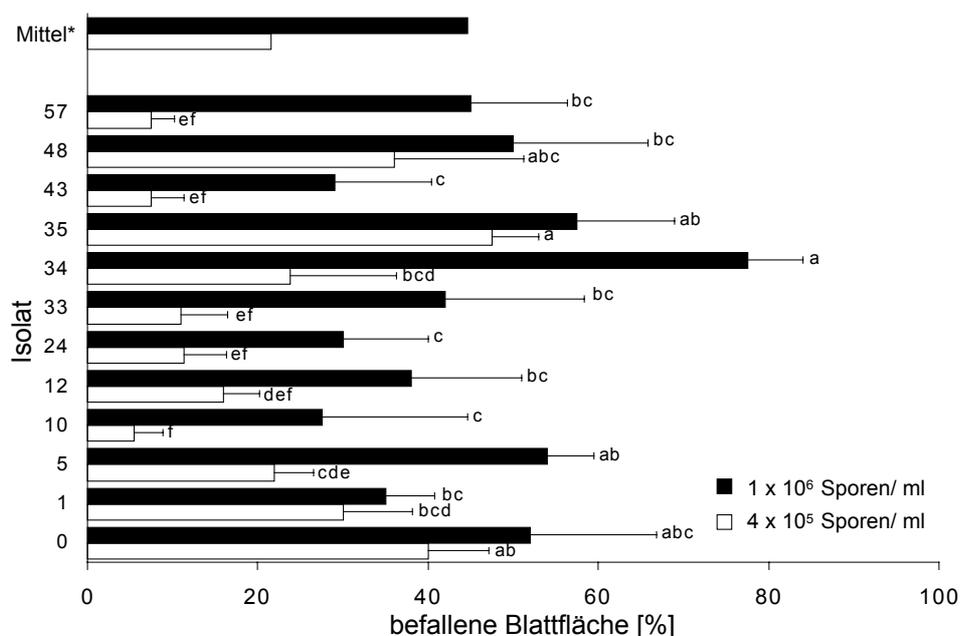


Abb. 8: Aggressivität ausgewählter Isolate von *Botrytis cinerea* bei unterschiedlicher Inokulumdichte an Weinreben (n = 5; 2 Tage nach Inokulation; * Mittel der 12 Isolate; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Säulengruppe kennzeichnen Signifikanz nach Student- Newman- Keuls bei $p \leq 0,05$).

Weinreben mit Sporensuspensionen von 4×10^5 Sporen/ ml und 1×10^6 Sporen/ ml inokuliert und zwei Tage bei 100 % rel. Luftfeuchte inkubiert, um dann den prozentualen Anteil der befallenen Blattfläche zu ermitteln.

Verwendete man eine um 40 % geringere Inokulumdichte von 4×10^5 Sporen/ ml, war der Befall im Durchschnitt der 12 Isolate an den Reben mit 22 % nur halb so groß wie bei der hohen Sporendichte (Abb. 8). An den Pflanzen verursachten über zwei Drittel der Isolate bei Inokulation mit 4×10^5 Sporen/ ml eine um über 60 % geringere Symptomausprägung als bei der hohen Inokulumdichte von 1×10^6 Sporen/ ml. Einen wesentlich geringeren Einfluss der verwendeten Konzentration konnte bei den Isolaten 1 und 35 festgestellt werden. Der Befall lag mit 30 % bzw. 48 % nur um ca. 15 % niedriger als bei der hohen Sporendichte.

3.1.5.3 Wechselwirkung mit der Wirtspflanze

Mit einer Auswahl von 12 Isolaten, die deutliche Unterschiede in ihrer Aggressivität gegenüber Reben aufwiesen, wurde die Wechselwirkung mit der Wirtspflanze auf die Aggressivität untersucht. Dazu wurden Jungpflanzen von Weinreben, Begonien und Paprika inokuliert und zwei Tage bei 100 % rel. Luftfeuchte inkubiert, um dann anschließend den prozentualen Anteil der befallenen Blattfläche zu ermitteln.

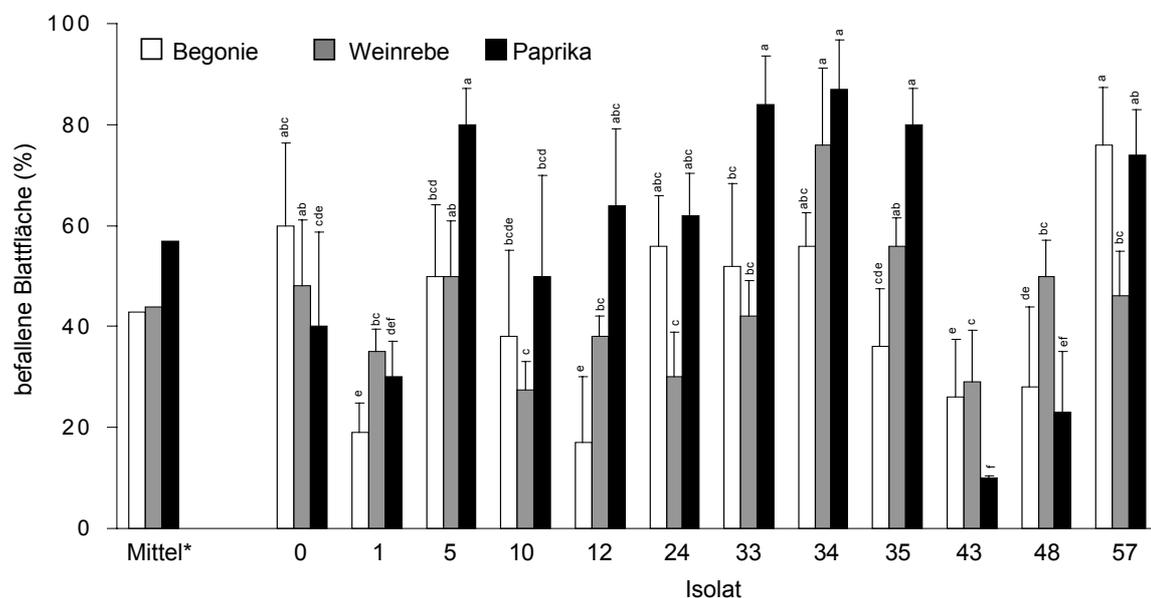


Abb. 9: Aggressivität ausgewählter Isolate von *Botrytis cinerea* an verschiedenen Kulturpflanzen (n = 5; 2 Tage nach Inokulation; Inokulumkonzentration 1×10^6 Sporen/ ml; * Mittel über 12 Isolate; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Säulengruppe kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

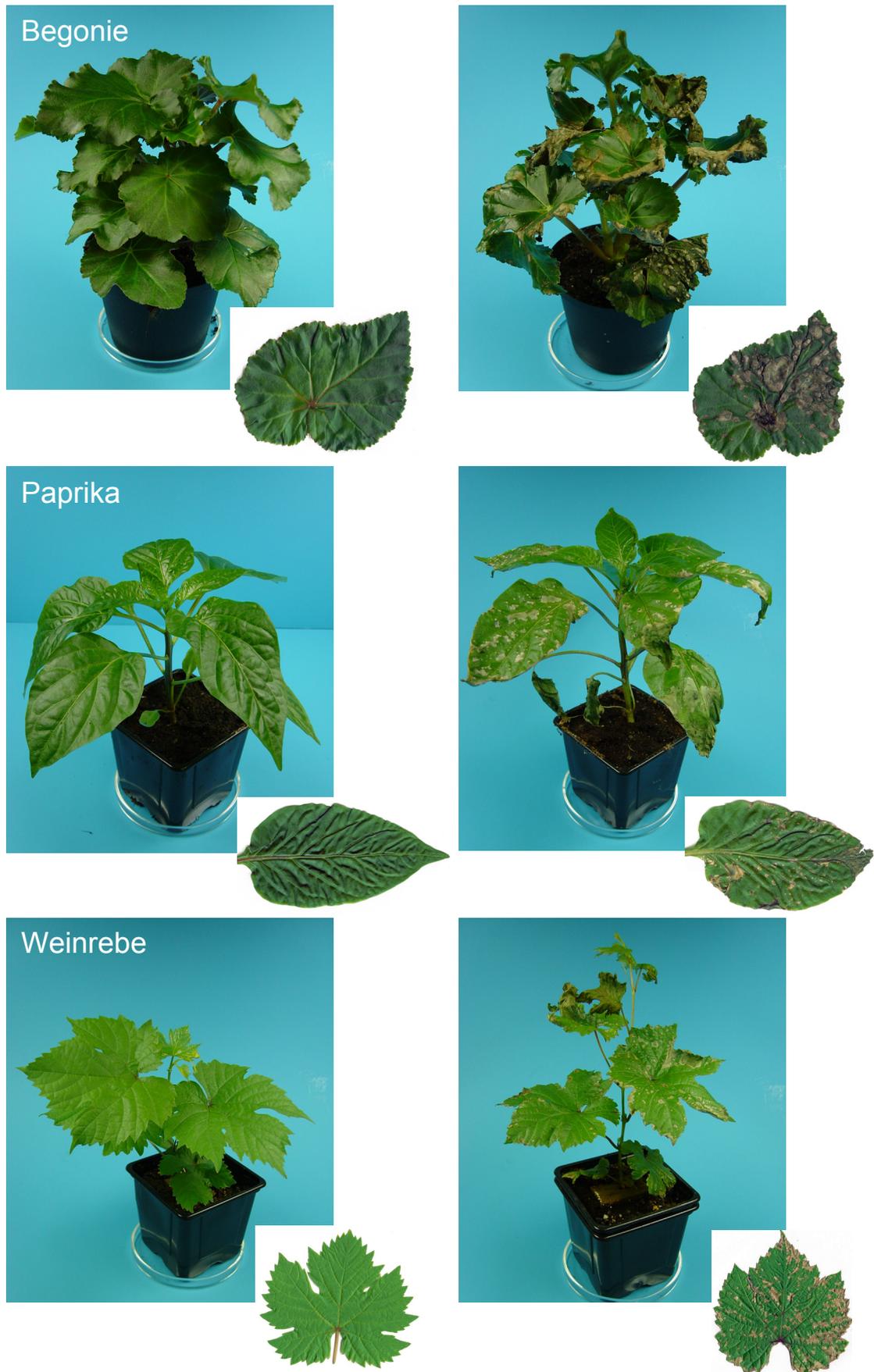


Bild 3: Symptomausprägung von *Botrytis cinerea* an verschiedenen Jungpflanzen bzw. Blättern (links unbehandelt, rechts mit *B. cinerea* inokuliert).

Alle getesteten Isolate konnten die drei Kulturpflanzen schädigen (Bild 3). Durchschnittlich kam es bei Reben und Begonien zu einem ähnlichem Schädigungsniveau von ca. 45 % (Abb. 9). Auffallend war der im Mittel der Isolate deutlich höhere Schädigungsgrad von 57 % der Paprikapflanzen. Die Aggressivität der 12 Isolate war deutlich abhängig von der Wirtspflanze. Während an den Reben Isolat 34 zur stärksten Schädigung führte, waren die Begonienpflanzen wesentlich geringer befallen. Andererseits schädigte Isolat 57 die Begonien am stärksten, konnte die Weinreben jedoch nicht stärker als das Mittel der Isolate schädigen. Andere Isolate, wie die Isolate 5, 33 und 35, die an Reben und Begonien nicht besonders auffällig waren, konnten zusätzlich zu den Isolaten 34 und 57 die Paprikapflanzen am stärksten schädigen.

3.1.6 Sensitivität gegenüber fungiziden Wirkstoffen

Die Sensitivität verschiedener Isolate von *B. cinerea* wurde gegenüber botrytiziden Substanzen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen untersucht. Dabei wurden sowohl der Einfluss technischer Wirkstoffe wie auch handelsübliche Produkte *in vitro* auf das Myzelwachstum als auch *in vivo* auf den Befall an Rebenjungpflanzen verwendet.

3.1.6.1 Einfluss auf das Myzelwachstum

Auf wirkstoffhaltigem PDA diente die Hemmung des Myzelwachstums vier Tage nach Überimpfen eines Myzelstücks zur Berechnung von EC_{50} -Werten der verschiedenen Fungizide (Tab. 11). Das Anilinopyrimidine Cyprodinil und das Phenylpyrol Fludioxonil wurden als technische Wirkstoffe verwendet. Ebenso kamen Fenhexamid (Teldor[®]), Pyrimethanil (Scala[®]), Tolyfluanid (Euparen[®]), Vinclozolin (Ronilan[®]) und eine Kombination aus Carbendazim und Diethofencarb (Botrylon[®]) als formulierte Produkte zur Anwendung.

Alle Isolate von *B. cinerea* waren gegen die Wirkstoffmischung von Carbendazim und Diethofencarb mit EC_{50} -Werten von $< 0,01$ ppm sehr sensitiv. Fludioxonil musste mit fast 1 ppm 100fach höher konzentriert werden, um ein ähnliches Ergebnis zu erzielen. Bei Vinclozolin und Pyrimethanil lagen die EC_{50} -Werte einiger Isolate mit ca. 4 ppm bzw. 50 ppm deutlich höher. Die Unterschiede in der Sensitivität der Isolate von *B. cinerea* gegenüber Fenhexamid und Cyprodinil waren im Wirkstoffvergleich am größten, mit weniger als 0,01 ppm bis über 100 ppm. Im Durchschnitt aller Isolate lagen die EC_{50} -Werte für Tolyfluanid am höchsten. Der Wirkstoff musste mit mehr als 0,1 ppm wenigstens 10fach höher konzentriert werden als andere Wirkstoffe. Auffallend war die hohe Empfindlichkeit von Isolaten wie z.B. Isolat 0, 1, 24, 39 und 71 gegenüber allen

Tab. 11 Einfluss botrytizider Wirkstoffe mit unterschiedlichem Wirkmechanismus auf das Myzelwachstums verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* (n = 5; 4 Tage nach Überimpfen eines Myzelstücks auf PDA).

Isolat	EC ₅₀ - Wert [ppm]						
	Carbendazim + Diethofencarb	Cyprodinil	Fenhexamid	Fludioxonil	Pyrimethanil	Tolyfluanid	Vinclozolin
0	<0,01	0,75	<0,01	0,08	0,61	1,55	0,37
1	<0,01	0,01	0,02	0,09	2,81	16,00	0,35
3	<0,01	0,13	0,08	0,06	1,42	>100 *	0,62
4	<0,01	0,03	0,09	0,12	0,33	>100 *	0,56
5	<0,01	11,28	0,02	0,78	1,44	>100 *	0,51
6	<0,01	0,10	0,07	0,07	1,88	73,91	0,49
9	<0,01	0,06	<0,01	<0,01	1,20	0,70	0,43
10	<0,01	<0,01	0,05	0,02	0,41	>100 *	3,74
12	<0,01	<0,01	0,07	<0,01	0,12	0,46	1,85
14	<0,01	0,42	0,43	0,04	13,02	5,81	0,19
17	<0,01	<0,01	>100 *	<0,01	0,45	1,26	0,17
19	<0,01	4,45	0,03	0,02	0,57	1,95	0,99
20	<0,01	0,04	>100 *	0,02	0,56	0,85	0,18
22	<0,01	0,06	0,17	0,05	0,14	4,51	0,08
24	<0,01	<0,01	0,07	0,02	0,04	1,45	0,12
27	<0,01	2,16	0,16	0,37	3,13	1,22	0,92
28	<0,01	0,05	0,09	0,08	0,62	4,76	0,09
32	<0,01	0,97	0,14	<0,01	5,32	13,76	0,12
33	<0,01	51,22	0,07	0,33	28,70	6,10	0,11
34	<0,01	0,02	0,07	<0,01	30,10	7,40	0,11
35	<0,01	<0,01	0,17	0,04	48,45	1,38	0,11
37	<0,01	14,10	0,10	0,03	25,22	3,49	1,92
39	<0,01	0,07	0,08	0,01	1,19	9,94	0,11
43	<0,01	<0,01	0,09	0,07	2,84	34,88	3,30
46	<0,01	1,48	0,02	0,04	0,61	41,36	0,06
48	<0,01	1,47	0,09	0,03	0,58	>100 *	0,11
49	<0,01	6,42	0,84	0,10	4,08	97,95	2,13
50	<0,01	<0,01	0,02	0,03	0,29	18,59	3,67
52	<0,01	>100 *	>100 *	0,02	24,42	1,86	0,73
53	<0,01	0,02	0,10	0,05	0,55	52,81	0,11
54	<0,01	0,10	0,60	0,39	0,80	5,73	0,09
55	<0,01	0,08	0,10	<0,01	0,58	>100 *	0,06
56	<0,01	15,25	0,08	0,03	16,94	4,88	0,06
57	<0,01	0,28	6,10	0,06	1,05	8,60	0,30
71	<0,01	0,38	0,09	0,04	0,74	2,31	0,40
72	<0,01	0,59	0,03	<0,01	0,52	18,38	0,28
73	<0,01	0,02	0,11	0,05	0,54	>100 *	0,30
74	<0,01	0,01	0,10	0,03	0,55	>100 *	0,37
105	<0,01	1,81	0,09	0,07	2,01	1,31	0,91
106	<0,01	45,32	0,06	0,08	4,77	0,70	0,12
107	<0,01	22,05	0,02	0,09	0,29	0,14	2,38

* EC₅₀-Wert außerhalb des getesteten Konzentrations-Bereiches (0 – 100 ppm)

untersuchten Wirkstoffen. Einige Isolate zeigten gegenüber einzelnen Aktivsubstanzen nur geringe Sensitivität. So lagen die EC_{50} -Werte der Isolate 3, 48 und 55 gegenüber Tolyfluanid und der Isolate 17 und 20 gegenüber Fenhexamid über 100 ppm. Dagegen waren die Isolate 34 und 35 gegenüber Pyrimethanil und Isolat 12 gegenüber Vinclozolin weniger sensitiv. An einzelnen Isolaten konnte eine geringere Wirksamkeit gegenüber mehreren Wirkstoffen festgestellt werden. Bei den Isolaten 10, 43, 49 und 50 war die Sensitivität sowohl gegen Tolyfluanid als auch Vinclozolin verringert. Höhere EC_{50} -Werte für Cyprodinil, Fludioxonil und Pyrimethanil konnten für die Isolate 5, 27 und 33 ermittelt werden.

3.1.6.2 Einfluss auf den Befall an Weinreben

An Weinreben wurden im Gewächshaus Inokulationsexperimente mit ausgewählten Isolaten von *B. cinerea* zur Bestimmung der Fungizidsensitivität durchgeführt. Dabei wurden die Rebenpflanzen mit praxisüblichen Aufwandmengen der Wirkstoffe behandelt und nach Abtrocknung mit einer Sporensuspension des Pathogens inokuliert. Nach zwei Tagen Inkubation bei 100 % rel. Luftfeuchte wurde der Befall der Pflanzen mit *B. cinerea* und die Wirksamkeit der Fungizide bewertet. Die Einzelwirkstoffe Fenhexamid (Teldor[®]), Pyrimethanil (Scala[®]), Tolyfluanid (Euparen[®]) und Vinclozolin (Ronilan[®]) wurden ebenso wie die Wirkstoffkombinationen Carbendazim und Diethofencarb (Botrylon[®]) sowie Cyprodinil und Fludioxonil (Switch[®]) als Handelsprodukte angewendet.

Alle Isolate erwiesen sich gegenüber der Wirkstoffmischung Carbendazim und Diethofencarb sowie den Wirkstoffen Tolyfluanid und Fenhexamid als sehr sensitiv (Tab. 12). Im Mittel der 12 Isolate von *B. cinerea* konnte eine Wirksamkeit von über 97 % ermittelt werden. Für die Fungizide Vinclozolin und Pyrimethanil, bzw. das Gemisch aus Cyprodinil und Fludioxonil lag der Wirkungsgrad niedriger, bei 80 % bis 90 %. Auffallend war die hohe Empfindlichkeit der Isolate 33, 48 und 57 gegenüber allen untersuchten Botrytiziden. Einige Isolate waren nur gegen ein Handelsprodukt unempfindlich. So lag die Wirksamkeit von Pyrimethanil für die Isolate 5 und 34 bzw. von dem Wirkstoffgemisch aus Cyprodinil und Fludioxonil für Isolat 1 deutlich unter dem Mittel aller Isolate. Bei einigen Isolaten konnte auch eine verminderte Wirksamkeit gegenüber mehreren Wirkstoffen beobachtet werden. Die Wirksamkeit von Vinclozolin und dem Wirkstoffgemisch aus Cyprodinil und Fludioxonil lag bei Isolat 12 deutlich unter dem Mittel aller 12 Isolate. Dagegen war die Empfindlichkeit von Isolat 24 gegenüber Pyrimethanil und dem Gemisch aus Cyprodinil und Fludioxonil verringert.

Tab. 12: Einfluss fungizider Handelsprodukte mit praxisüblichen Aufwandmengen auf den Befall ausgewählter Isolate von *Botrytis cinerea* an Weinreben (n = 5; 2 Tage nach Inokulation).

Isolat	Wirkungsgrad nach ABBOTT [%]					
	Carbendazim und Diethofencarb	Cyprodinil und Fludioxonil	Fenhexamid	Pyrimethanil	Tolyfluanid	Vinclozolin
0	97	92	92	99	100	100
1	100	74	100	98	96	98
5	100	88	96	59	89	100
10	98	88	100	84	100	65
12	100	79	97	100	91	45
24	96	51	96	56	100	96
33	98	91	100	88	100	99
34	99	91	98	63	100	97
35	92	100	100	100	97	100
43	94	87	100	78	95	100
48	100	100	100	99	97	100
57	100	98	98	100	100	100
Mittel*	98	87	98	85	97	83

* Mittel der 12 Isolate

3.2 Charakterisierung von *Ulocladium atrum*

Zur Charakterisierung des verwendeten Isolats 385 von *U. atrum* wurde die Morphologie und das Wachstum des Pilzes mikro- und makroskopische untersucht. Die Experimente erfolgten an lebendem bzw. nekrotischem Blattgewebe von Weinreben.

3.2.1 Untersuchungen zur Morphologie

Der Hyphomycet *U. atrum* bildet durchsichtiges, blass olive-braunes, septiertes Myzel aus (Bild 2a). Seitlich, meist rechtwinklig, aus dem Myzel bilden sich verzweigte, septierte Sporenträger, mit jeweils nur einer endständigen Spore. Die blass braunen bis dunkelbraunen, durchsichtig bis undurchsichtig gefärbten Sporen werden $16,3 \pm 2,4 \mu\text{m} \times 13,5 \pm 2,4 \mu\text{m}$ groß (Tab. 13). Diese sind dickwandigen, rund bis oval geformt und haben eine raue, 'himbeerartigen' Oberfläche mit einigen Einschnürungen (Bild 3b und 3d).

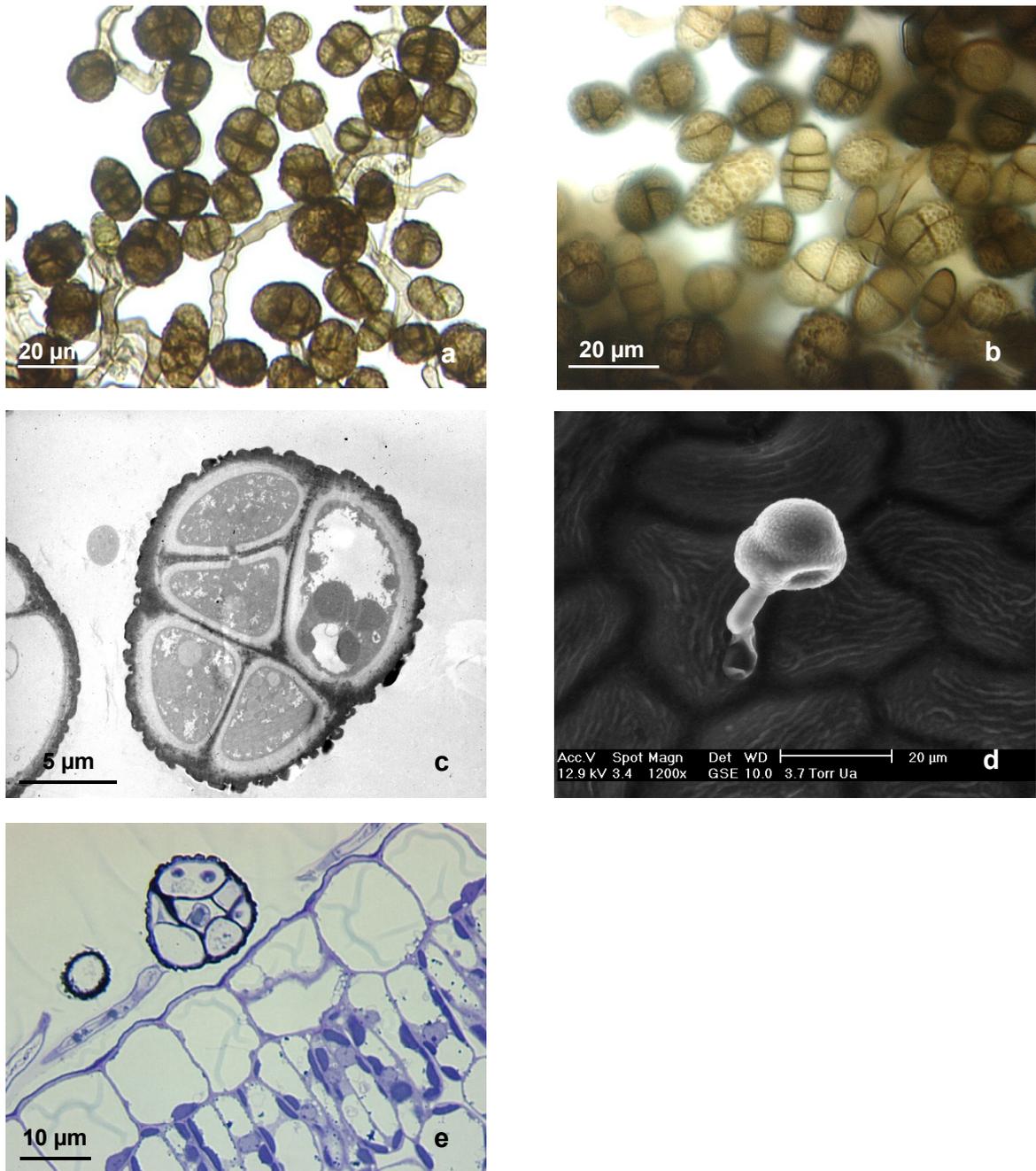


Bild 4: Sporen von *Ulocladium atrum*

- a: braune Sporen und hyalines Myzel; Durchlichtmikroskopie
- b: Sporen mit typischer Septierung und 'himbeerartiger' Oberfläche; Durchlichtmikroskopie
- c: Querschnitt durch ein Spore bestehend aus Kammern; Transmissionselektronenmikroskopie, Uranylacetat-Färbung
- d: Keimende Spore auf Rebengewebe mit typischer Septierung und 'himbeerartiger' Oberfläche; Rasterelektronenmikroskopie
- e: Querschnitt durch eine keimende Spore, die auf der Oberfläche eines Rebenblattes wächst; Durchlichtmikroskopie, Toluidinblau-Färbung

Tab. 13: Sporengroße von *Ulocladium atrum* (n = 60 Sporen; 30 Tage nach Überimpfen auf Hafermehl-Agar; 20 ± 1 °C; Durchschnitt \pm Standardabweichung).

Länge [μm]	Breite [μm]
16,3 \pm 2,4	13,5 \pm 2,4

Meist besitzen die Sporen eine Hauptsepte und mehrere rechtwinkelige, Y-förmige längsgerichtete oder schräge Septierungen mit bis zu acht Zellen je Spore (Bild 3c). Auf Agar bildet der Pilz schwarze Kolonien aus.

3.2.2 Etablierung und Entwicklung auf der Blattoberfläche

An der Blattoberfläche von Reben wurden die Keimung und das Keimschlauchwachstum von *U. atrum* nach Applikation einer Sporensuspension und Inkubation bei 100 % rel. Luftfeuchte untersucht. Der Einfluss von lebendem und nekrotischem Blattgewebe, sowie einer Zugabe von Malz-Extrakt-Bouillon (MEB) zur Sporensuspension wurde erfasst.

Die Geschwindigkeit der Keimung der Sporen auf den verschiedenen Oberflächen unterschied sich deutlich voneinander (Abb. 10). Auf nekrotischen Rebenblättern keimten zwei Stunden nach Inokulation bereits ein Viertel der Sporen von *U. atrum*, während auf lebenden Blättern die Keimung erst eine Stunde später einsetzte. Durch Zugabe von MEB zur Sporensuspension konnte die Keimgeschwindigkeit von *U. atrum* auf lebenden

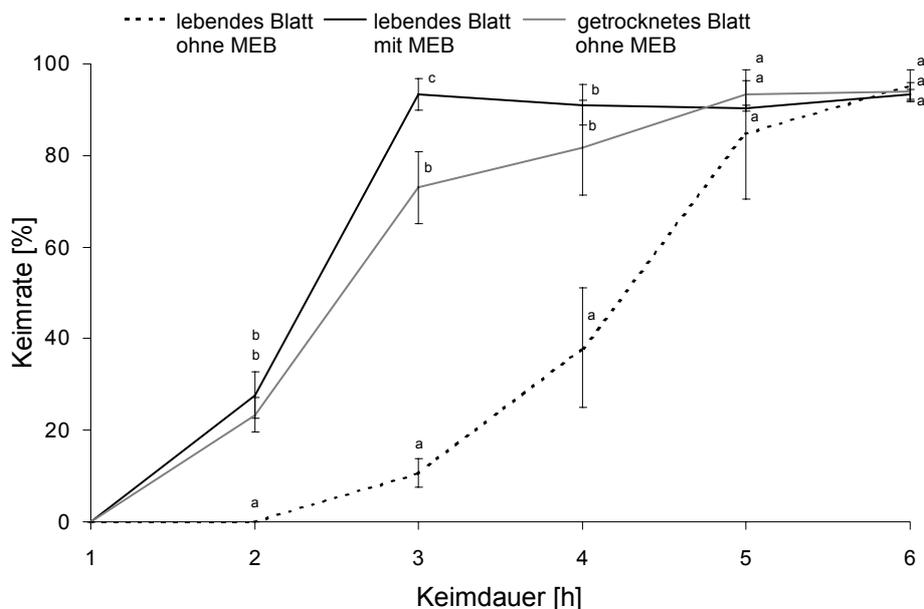


Abb. 10: Einfluss des Pflanzengewebes bzw. dem Zusatz von Malz-Extrakt-Bouillon zur Sporensuspension auf die Keimrate der Sporen von *Ulocladium atrum* auf Rebenblättern (n = 3 x 100 Sporen; 20 ± 1 °C; unterschiedlich Buchstaben zur jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey $p \leq 0,05$).

Blättern dem der auf nekrotischem Gewebe angehängen werden. Drei Stunden nach Applikation konnte ein starker Anstieg der Keimrate auf 94 % von *U. atrum* auf lebenden Blattgewebe unter Zugabe von MEB zur Sporensuspension festgestellt werden. Auf getrockneten Blättern verlief die Keimung etwas langsamer, nach drei Stunden erhöhte sich die Keimrate auf 73 %, erreichte nach fünf Stunden aber ebenfalls über 90 %. Auf frischen Blättern ohne Zugabe von MEB verlief die Keimung der Sporen von *U. atrum* dagegen deutlich langsamer. Nach drei Stunden waren ca. zehn Prozent und nach vier Stunden ca. 40 % der untersuchten Sporen gekeimt. Die Keimrate lag damit bei weniger als der Hälfte der auf nekrotischer Oberfläche. Erst nach über fünf Stunden glich sich die Keimrate der verschiedenen Varianten auf einem Niveau von ca. 94 % gekeimter Sporen an. Sechs Stunden nach Inokulation von *U. atrum* konnten keine signifikanten Unterschiede mehr auf den unterschiedlichen Pflanzengeweben festgestellt werden, 94 % der Sporen keimten aus.

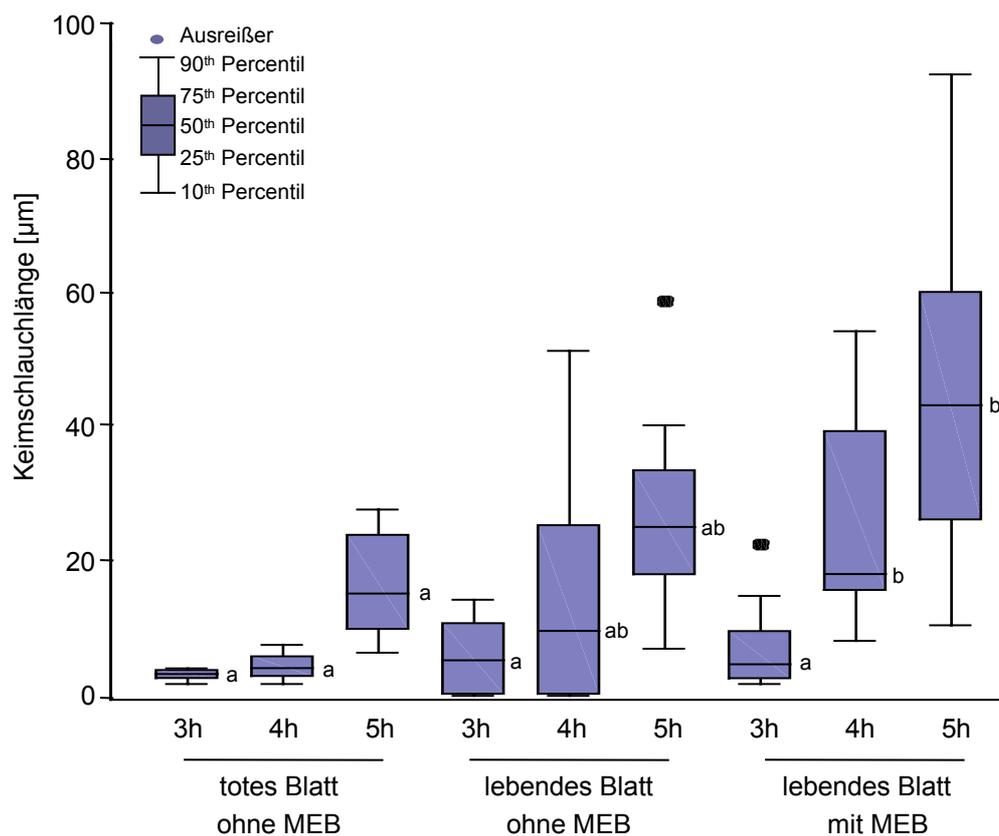


Abb. 11: Einfluss des Pflanzengewebes bzw. dem Zusatz von Malz-Extrakt-Bouillon zur Sporensuspension auf das Keimschlauchlängenwachstum der Sporen von *Ulocladium atrum* auf Rebenblättern (n = 30 Keimschläuche; 20 ± 1 °C; unterschiedlich Buchstaben zur jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey $p \leq 0,05$).

Die Keimschläuche der Sporen von *U. atrum* entwickelten sich sehr unterschiedlich auf den verwendeten Blattoberflächen (Abb. 11). Auf toten getrockneten Rebenblättern konnte zwar nach drei Stunden bereits die Ausbildung von Keimschläuchen festgestellt werden, jedoch setzte erst nach fünf Stunden das Längenwachstum ein, die Keimschlauchlänge betrug durchschnittlich 17 µm. Dagegen waren die auf frischen Rebenblättern ausgebildeten Keimschläuche bereits nach drei Stunden 8 µm lang. Innerhalb jeder weiteren Stunde nach Applikation konnte fast eine Verdopplung der Keimschläuche festgestellt werden, nach fünf Stunden lag diese bei 27 µm. Verwendete man zur Inokulation zusätzlich MEB, konnte das Wachstum noch weiter beschleunigt werden, nach fünf Stunden waren die Keimschläuche mit 46 µm um 41 % länger als ohne MEB.

Untersuchungen zur Keimhyphenzahl je Spore zeigten einen deutlichen Einfluss der Art der verwendeten Blattoberfläche und dem Zusatz von Malz-Extrakt-Bouillon zur Suspension von *U. atrum* (Tab. 14). Nach fünf Stunden konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede mehr bei den ausgebildeten Keimhyphen festgestellt werden.

Tab. 14: Einfluss des Pflanzengewebes bzw. dem Zusatz von Malz-Extrakt-Bouillon zur Sporensuspension auf die Anzahl ausgebildeter Keimhyphen je Spore von *Ulocladium atrum* (n = 3 x 100 Sporen; 20 ± 1 °C; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei p ≤ 0,05).

Gewebeart	Keim-dauer [h]	Anzahl der Keimhyphen je Spore [%]				
		1	2	3	4	Ø ± s *
tote Blätter ohne MEB	3	62,2 ± 20,2	28,8 ± 14,5	7,0 ± 5,8	0,0 ± 0,0	1,5 b ± 0,6
	4	48,6 ± 14,6	36,0 ± 8,7	13,5 ± 4,3	1,9 ± 1,7	1,7 b ± 0,8
	5	38,1 ± 14,3	38,5 ± 2,6	20,2 ± 10,7	3,2 ± 3,1	1,9 ab ± 0,8
lebende Blätter ohne MEB	3	83,6 ± 3,8	16,4 ± 3,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,2 a ± 0,4
	4	63,9 ± 7,9	28,8 ± 7,1	7,3 ± 3,3	0,0 ± 0,0	1,4 a ± 0,6
	5	43,3 ± 17,6	43,9 ± 5,6	11,5 ± 9,7	1,3 ± 2,3	1,7 a ± 0,4
lebende Blätter mit MEB	3	30,0 ± 1,2	49,4 ± 4,7	16,3 ± 5,0	4,3 ± 1,0	1,9 c ± 0,8
	4	31,8 ± 3,8	39,8 ± 6,9	24,7 ± 4,8	3,7 ± 1,9	2,0 c ± 0,9
	5	34,7 ± 8,5	41,7 ± 3,5	20,6 ± 12,1	3,0 ± 0,7	2,0 b ± 0,8

* Durchschnitt ± Standardabweichung

Auf den getrockneten Rebenblätter entwickelten nach drei Stunden Inkubation 60 % bzw. 30 % der Sporen eine bzw. zwei Keimhyphen. Nach weiteren zwei Stunden hatte jeweils ein Drittel der Sporen eine bzw. zwei Keimhyphen, und 20 % der Sporen drei Keimhyphen ausgebildet. Im Gegensatz dazu bildeten an lebenden Blättern anfänglich ca. 85 % der Sporen nur eine Keimhyphne aus. Zu einem späteren Zeitpunkt veränderte sich dies jedoch, so dass keine signifikanten Unterschiede mehr zum totem Blattgewebe festgestellt werden konnten. Nach fünf Stunden bildeten 45 % bzw. 10 % der Sporen auch zwei bzw. drei Keimhyphen aus. Es konnten maximal vier Hyphen je Spore beobachtet werden. Durch die Verwendung von Malz-Extrakt-Bouillon bei der Applikation von *U. atrum* auf lebende Rebenblätter stieg die Zahl ausgebildeter Keimhyphen je Spore deutlich gegenüber Applikationen ohne MEB. Bereits nach drei Stunden bildeten 50 % der Sporen zwei bzw. 16 % drei Keimhyphen aus. Bei vier Prozent der Sporen konnten zu diesem frühen Zeitpunkt vier Hyphen beobachtet werden. Diese Verteilung veränderte sich nur unwesentlich innerhalb der nächsten Stunden.

3.2.3 Sporulation auf nekrotischem Blattgewebe

Die Sporulation von *U. atrum* wurde auf nekrotischen Rebenblättern untersucht. Auf Wasseragar ausgelegte Blattscheiben wurden mit einer Sporensuspension behandelt und bei 100 % rel. Luftfeuchte inkubiert.

3.2.3.1 Einfluss der Inkubationsdauer

Zunächst wurde der Einfluss der Inkubationsdauer auf die Sporulationsrate in Zeitintervallen von drei bis 14 Tagen bestimmt (Tab. 15). Die Sporulation von *U. atrum* auf nekrotischen Rebenblättern setzte erst nach fünf Tage Entwicklung ein. Am sechsten Tag lag die Sporulationsrate bereits bei 58.000 Sporen/ cm² Blattfläche und verdoppelte sich bis zum zehnten Tag auf 126.000 Sporen/ cm².

Tab. 15: Sporulation von *Ulocladium atrum* auf nekrotischen Rebenblättern (n = 6; Sporendichte 1 x 10⁵ Sporen/ ml; 20 ± 1 °C; Durchschnitt ± Standardabweichung).

Sporulationsrate [1000 Sporen/ cm ² Blattfläche]					
Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 10	Tag 14
0,0 ± 0,0	8,0 ± 0,5	57,7 ± 2,4	87,5 ± 4,2	126,0 ± 4,2	104,1 ± 1,9

3.2.3.2 Einfluss der Sporendichte

In der folgenden Untersuchung wurde der Einfluss der Sporendichte von *U. atrum* auf die Sporulationsrate des Pilzes bestimmt. Auf Grund der deutlichen Unterschiede aus den vorhergehenden Untersuchungen wurden die Werte fünf und sechs Tage nach Applikation ermittelt (Abb. 12). Sporenkonzentrationen von 1×10^4 Sporen /ml bis 1×10^7 Sporen /ml führten nach fünftägiger Inkubation zu einem Anstieg der Sporulationsrate von ca. 17.000 auf 100.000 Sporen/ cm^2 Blattfläche. Wurde die Inkubationszeit um einen Tag verlängert, kam es zu einem überproportionalen Anstieg der Sporulationsrate. Die Werte stiegen von 83.000 auf 230.000 Sporen/ cm^2 Blattfläche an, wobei bei einer Sporenkonzentration von 1×10^6 Sporen /ml die maximale Sporulationsrate erreicht wurde. Diese konnte durch höhere Sporendichten nicht mehr gesteigert werden.

3.3 Einfluss von *Bortytis cinerea* auf die Wechselwirkung mit *Ulocladium atrum*

Anhand verschiedener Wachstumparameter wurde der Einfluss des verwendeten Isolats von *B. cinerea* auf die Wechselwirkungen mit *U. atrum* *in vitro* und *in vivo* untersucht.

3.3.1 Bedeutung des Applikationszeitpunktes auf die Wirksamkeit von *U. atrum*

Der Einfluss des Zeitpunktes der Applikation beider Organismen auf die Wirksamkeit von *U. atrum* wurde sowohl anhand der Sporulationsrate auf nekrotischen Rebenblättern wie auch dem Befall mit *B. cinerea* an unterschiedlichen Kulturpflanzen untersucht.

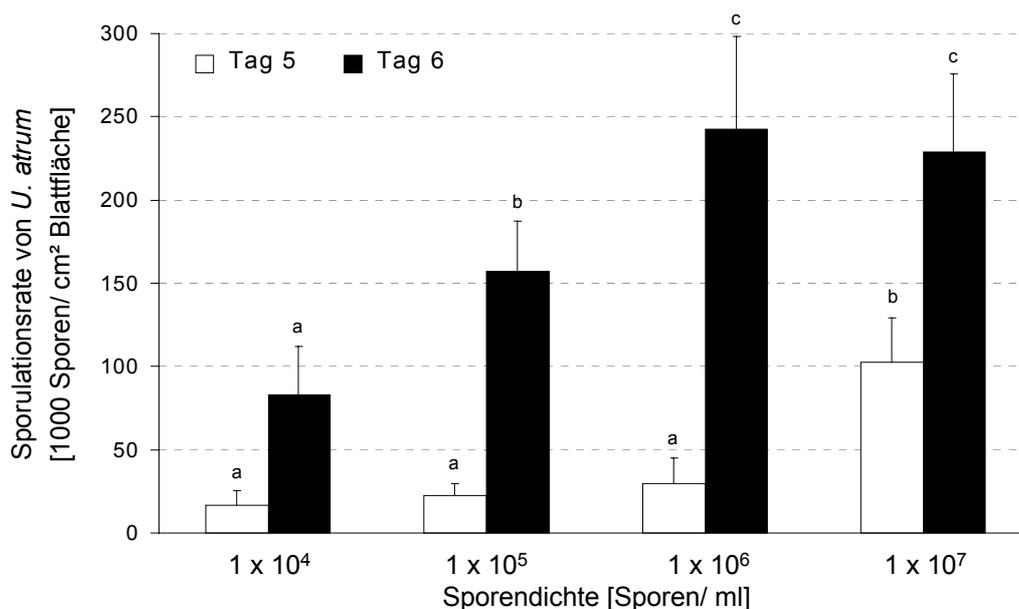


Abb. 12: Sporulationsrate von *Ulocladium atrum* auf nekrotischen Rebenblättern in Abhängigkeit der Sporendichte (n = 5; 20 ± 1 °C; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey $p \leq 0,05$).

3.3.1.1 Einfluss auf die Sporulation von beiden Organismen

Der Einfluss des Applikationszeitpunktes von *U. atrum* und *B. cinerea* auf die Sporulation beider Organismen wurde auf nekrotischen Rebenblättern untersucht. Dabei wurden beide Pilze gleichzeitig bzw. zeitlich versetzt mit einer Sporendichte von 1×10^6 Sporen/ml appliziert und die Sporulationsrate nach fünf Tagen Inkubation bei gesättigter Luft durch Abwaschen der Sporen von den Blattscheiben bestimmt.

Je größer das Intervall zwischen den Applikationen von *U. atrum* und *B. cinerea* auf den Rebenblättern war, um so stärker konnte die Sporulation von *B. cinerea* beeinträchtigt werden (Abb. 13). Bei gleichzeitiger Applikation beider Organismen konnte die Sporulation von *B. cinerea* nur um 30 % reduziert werden, dagegen kam es bei *U. atrum* zu einer Reduktion um 90 %. Applikationen mit *U. atrum* einen Tag im Voraus verursachten bei beiden Pilzen eine Reduktion der Sporulation von ca. 70 %. Anwendungen mit zwei Tagen Differenz verringerten die Sporulation von *B. cinerea* schon um 90 %. Applikationen von *U. atrum* vier und sieben Tage vor dem Pathogen konnten die Sporulation von *B. cinerea* sogar vollständig unterdrücken, wobei zu diesem Zeitpunkt keine Beeinflussung der Sporulation von *U. atrum* festgestellt werden konnte.

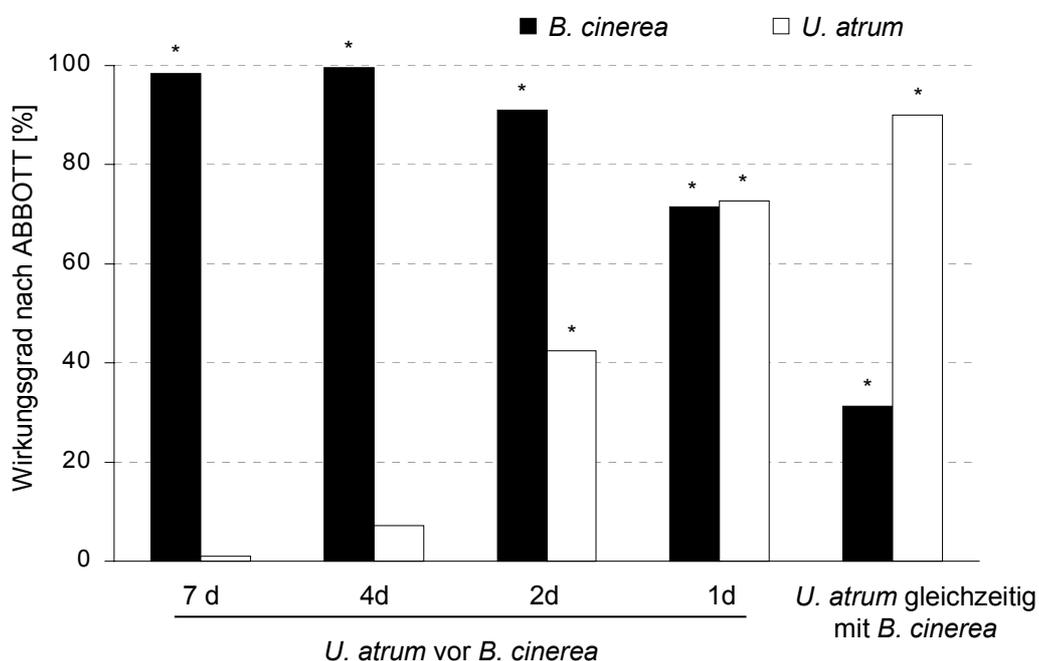


Abb. 13: Einfluss des Applikationszeitpunktes von *Ulocladium atrum* auf die Sporulation der beiden Organismen auf nekrotischen Rebenblättern (n = 6; 20 ± 1 °C; Sporendichte von 1×10^6 Sporen/ml; an jedem Pilz Signifikanz nach t - Test bei $p \leq 0,05$).

3.3.1.2 Einfluss auf den Befall mit *B. cinerea* an verschiedenen Kulturpflanzen

Der Einfluss des Applikationszeitpunktes beider Pilze auf die Wirksamkeit von *U. atrum* gegen einen Befall mit *B. cinerea* wurde an verschiedenen Kulturpflanzen untersucht. Begonien- und Rebenpflanzen wurden mit beiden Pilzen gleichzeitig bzw. mit Zeitintervallen von einem bis sieben Tagen Differenz inokuliert und anschließend bei 100 % rel. Luftfeuchte inkubiert. Dabei wurde *U. atrum* mit 1×10^6 Sporen/ ml ausgebracht, die Inokulumdichte von *B. cinerea* variierte zwischen 1×10^5 Sporen/ ml und 4×10^5 Sporen/ ml. Zwei Tage nach Applikation des Pathogens wurde die befallene Blattfläche jeder Pflanze bestimmt.

An Begonien führten Inokulumdichten von 1×10^5 Sporen/ ml zu ca. 50 % Blattschäden (Abb. 14). Eine um 40 % höhere Sporenkonzentration von 4×10^5 Sporen/ ml verursachte einen um 20 % höheren Befall. Gleichzeitige Applikationen von *U. atrum* und *B. cinerea* bei hoher Inokulumdichte von 4×10^5 Sporen/ ml führten zu einer Reduktion um 80 % des Blattbefalls auf 15 %. Geringere Wirkung zeigten dagegen Applikationen mit einem Zeitintervallen zwischen den Ausbringungen. Lediglich die Applikation von *U. atrum* einen und zwei Tage vor *B. cinerea* konnte eine signifikante Wirksamkeit von *U. atrum* auf den Pathogenbefall Gewähr leisten. Bei einem Tag Differenz zwischen den Applikationen

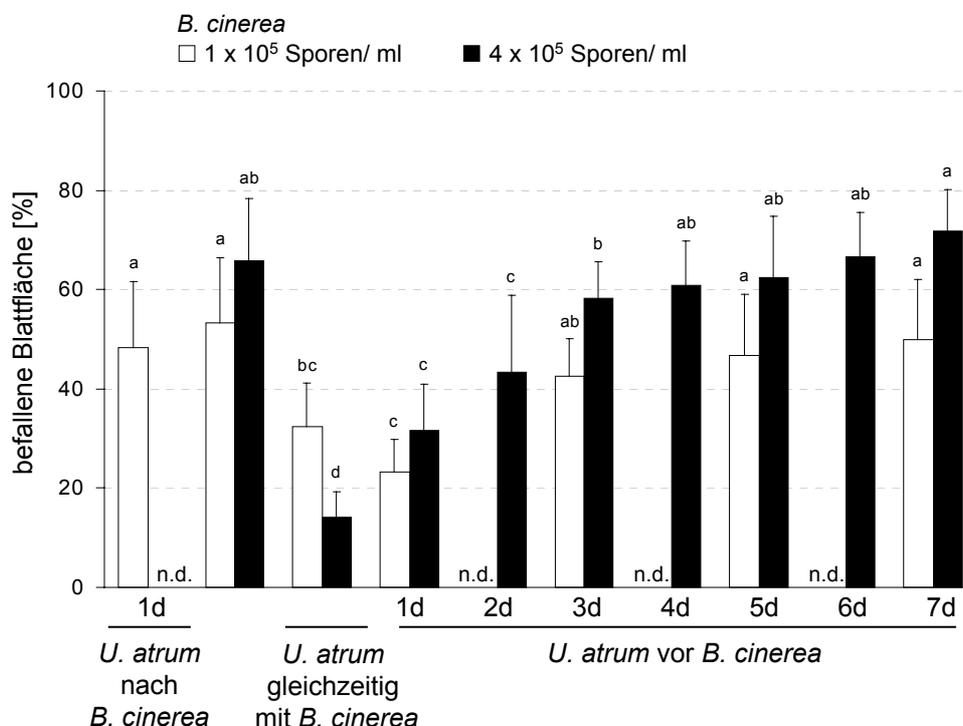


Abb. 14: Einfluss des Applikationszeitpunktes von *Ulocladium atrum* auf den Blattbefall mit *Botrytis cinerea* an Begonien ($n = 5$; *U. atrum* mit 1×10^6 Sporen/ ml; 20 ± 1 °C; n.d. – nicht durchgeführt; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Inokulumdichte von *B. cinerea* kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

konnte der Befall auf 30 % halbiert werden, wohingegen bei zwei Tagen Differenz zwischen den Applikationen der Befall um 43 % reduziert werden konnte. Dagegen zeigten Ausbringungen von *U. atrum* zwischen drei und sieben Tagen vor *B. cinerea* nur einen geringen bis keinen Einfluss auf die Befallsstärke.

Die Wirksamkeit von *U. atrum* gegen *B. cinerea* mit einer niedrigeren Inokulumdichte von mit 1×10^5 Sporen/ ml war ähnlich der hohen Sporenkonzentration des Pathogens. Signifikante Unterschiede in der Befallsstärke konnten bei der Ausbringung von *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* festgestellt werden, es kam zu einer Befallsreduktion von ca. 60 %. Längere Zeitintervalle brachten keine Vorteile. Bei gleichzeitiger Ausbringung beider Pilze war *U. atrum* zwar auch deutlich wirksam, konnte jedoch nicht die gute Wirksamkeit im Vergleich zu *U. atrum* einen Tag vor dem Pathogen appliziert erreichen.

3.3.2 Untersuchungen zur Sporulation von *B. cinerea* und *U. atrum* bei gemeinsamer Besiedlung von Blättern

Auf nekrotischen Rebenblättern wurde der Einfluss der Sporendichte und des Applikationszeitpunktes von *U. atrum* auf die Sporulationsrate von *B. cinerea* in Abhängigkeit der Inokuldichte des Pathogens untersucht. *U. atrum* wurde einen Tag vor bzw. gleichzeitig mit *B. cinerea* auf angefeuchtete Blätter gesprüht. Fünf Tage nach Inkubation der Blattscheiben auf Wasseragar bei 100 % rel. Luftfeuchte wurde die Sporulationsrate beider Organismen nach Abwaschen der Blätter mikroskopisch ausgezählt. Die gegenseitige Beeinflussung der Sporulation wurde anhand des Wirkungsgrad nach Abbott dargestellt.

3.3.2.1 Sporulation von *B. cinerea* in Gegenwart von *U. atrum*

Applikationen von *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* reduzierten die Sporulation des Pathogens signifikant um 60 % bei einer gleich hohen Sporenkonzentration beider Organismen von 1×10^4 Sporen/ ml (Abb. 15). Applikationen von *U. atrum* mit 1×10^6 Sporen/ ml zeigten eine deutlich größere Wirkung auf die Sporulationsrate von *B. cinerea*, es traten kaum noch Sporen auf den nekrotischen Rebenblättern auf. Bei der zehnfach höheren Sporendichte konnte die Sporulation von *B. cinerea* sogar vollständig unterdrückt werden. Bei Verwendung einer 100fach höheren Inokulumdichte von *B. cinerea* mit 1×10^6 Sporen/ ml konnte die niedrigste Sporendichte von *U. atrum* die Sporulation von *B. cinerea* nur halb so stark wie bei *B. cinerea* mit einer Konzentration von 1×10^4 Sporen/ ml unterdrücken mit 33 % Wirksamkeit. Ab einer Konzentration von 1×10^6 Sporen/ ml konnte *U. atrum* die Sporulation von *B. cinerea* signifikant reduzieren, der Wirkungsgrad lag bei über 87 %.

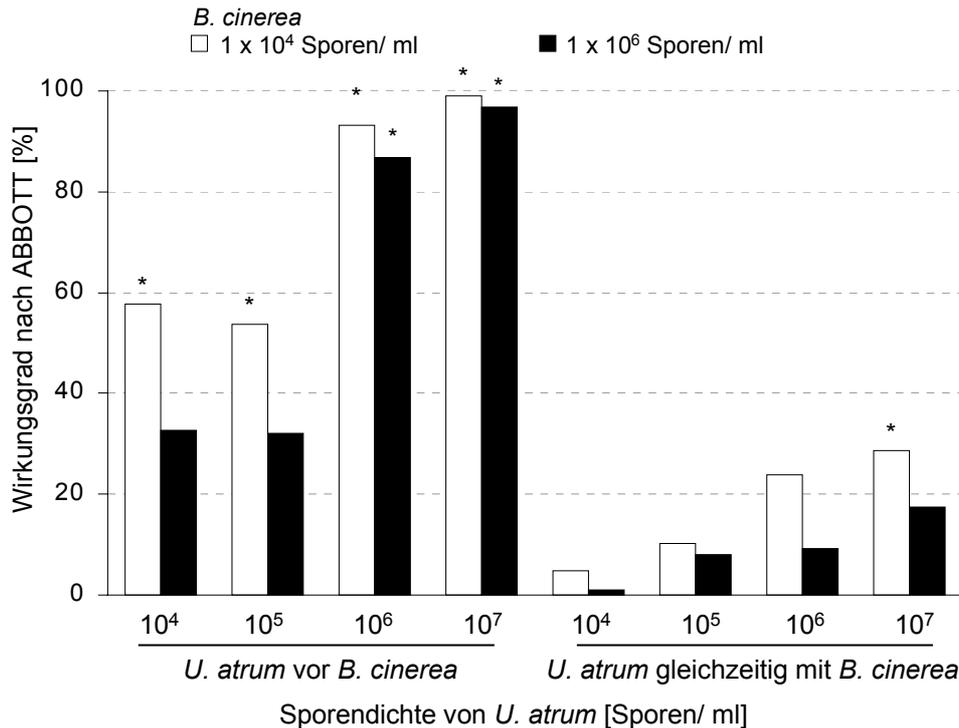


Abb. 15: Einfluss der Sporendichte und des Applikationszeitpunktes von *Ulocladium atrum* auf die Sporulation von *Botrytis cinerea* auf nekrotischen Rebenblättern (n = 6, 5 Tage nach Applikation, 20 ± 1 °C; Markierungen innerhalb einer Säulengruppe kennzeichnen Signifikanz nach Dunnett bei p ≤ 0,05).

Bei gleichzeitiger Applikation von Antagonist und Pathogen auf getrockneten Blattscheiben war die Wirkung von *U. atrum* deutlich geringer. Die höchste Sporenkonzentration des Antagonisten mit 1 x 10⁷ Sporen/ ml konnte die Sporulation von *B. cinerea* nur um 30 % reduzieren, bei der 100fach höheren Sporendichte von *B. cinerea* mit 1 x 10⁶ Sporen/ ml sogar nur um 18 %. Die anderen getesteten Konzentrationen von *U. atrum* zeigten deutlich geringere Wirksamkeit. Bei einer Sporendichte von 1 x 10⁴ Sporen/ ml konnte fast keine Beeinflussung der Sporenbildung von *B. cinerea* mehr festgestellt werden.

3.3.2.2 Sporulation von *U. atrum* in Gegenwart von *B. cinerea*

Die Sporulation von *U. atrum* wurde in Gegenwart von *B. cinerea* deutlich beeinflusst (Abb. 16). Applikationen von *B. cinerea* einen Tag nach *U. atrum* mit Sporendichte von 1 x 10⁷ Sporen/ ml verringerten die Sporulation von *U. atrum* um 50 %. Bei den niedrigeren Sporenkonzentrationen von *U. atrum* beeinflusste das Pathogen die Sporulation von *U. atrum* deutlich geringer, es konnte bei den Sporendichten mit 1 x 10⁵ Sporen/ ml bzw. 1 x 10⁴ Sporen/ ml von *U. atrum* ein Wirkungsgrad von 74 % bzw. sogar 90 % festgestellt werden. Applikationen von *B. cinerea* mit einer 100fach höheren Inokulumdichte beeinflussten die Sporulation von *U. atrum* deutlich stärker. Bei gleicher

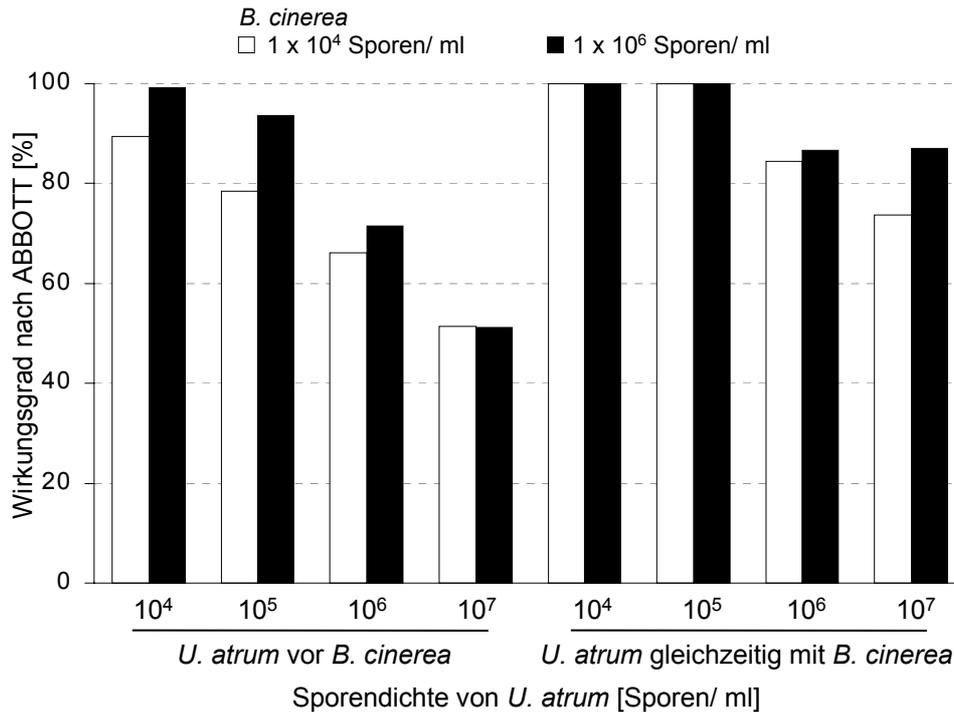


Abb. 16: Einfluss von *Botrytis cinerea* auf die Sporulation von *Ulocladium atrum* auf nekrotischen Rebenblättern in Abhängigkeit der Sporendichte und des Applikationszeitpunktes von *U. atrum* (n = 6, 5 Tage nach Inokulation, 20 ± 1 °C; keine Signifikanz nach Dunnett bei p ≤ 0,05).

Sporenkonzentration beider Organismen konnte drei Viertel der Sporulation von *U. atrum* unterdrückt werden. Applizierte man *U. atrum* mit einer 10fach geringeren Sporenkonzentration als *B. cinerea*, so konnte die Sporulation von *U. atrum* fast vollständig beeinflusst werden. Gleichzeitige Applikationen beider Organismen führten zu einer deutlichen Unterdrückung der Sporulation von *U. atrum*. Bei der höchsten getesteten Sporendichte von *U. atrum* unterdrückte *B. cinerea* bei einem tausendstel der Sporenkonzentration von *U. atrum* die Sporulationsrate um 74 %. Steigende Inokulumdichten von *B. cinerea* verstärkten die Sporulationshemmung von *U. atrum*, bis hin zur vollständigen Unterdrückung.

3.3.3 Einfluss von *U. atrum* auf die Sporulation verschiedener Isolate von *B. cinerea*

Die Wirksamkeit von *U. atrum* auf die Sporulationsrate ausgewählter Isolate von *B. cinerea* wurde auf nekrotischen Rebenblättern untersucht. Dabei wurde *U. atrum* mit der Sporendichte von 1 x 10⁵ Sporen/ ml bzw. von 1 x 10⁶ Sporen/ ml appliziert und *B. cinerea* mit 1 x 10⁵ Sporen/ ml. Beide Pilze wurden gleichzeitig und einen Tag versetzt auf Blattscheiben gesprüht. Nach fünf Tagen Inkubation auf Wasseragar bei 100 % rel. Luftfeuchte wurde die Sporulationsrate der Isolate von *B. cinerea* bestimmt. Die Wirksamkeit von *U. atrum* auf die Sporulation von *B. cinerea* wurde anhand des Wirkungsgrad nach Abbott dargestellt.

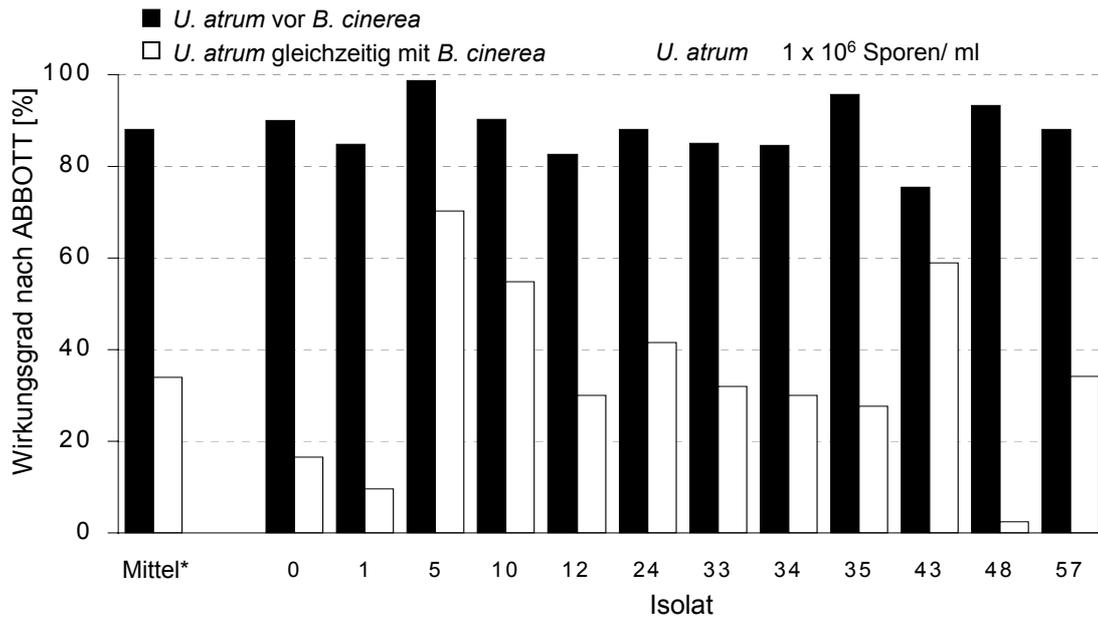


Abb. 17: Einfluss des Applikationszeitpunktes von *Ulocladium atrum* auf die Sporulationsrate verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* auf nekrotischen Rebengeweben (n = 6; Inokulumdichte von *B. cinerea* 1×10^5 Sporen/ ml; 20 ± 1 °C; * Mittel der Isolate).

Bei gleichzeitiger Applikation beider Pilze lag die Wirksamkeit von *U. atrum* bei einer Sporenkonzentration von 1×10^6 Sporen/ ml im Mittel der 12 Isolate bei 34 % (Abb. 17). Eine ähnliche Wirksamkeit konnte bei den Isolaten 12, 33, 34, 35 und 57 festgestellt werden. *U. atrum* beeinflusste die Sporulation von Isolat 5 deutlich stärker und wies 70 % Wirksamkeit auf, dagegen konnte bei Isolate 48 keine Beeinträchtigung der Sporulation beobachtet werden. Zeitversetzte Applikationen steigerten die Wirksamkeit von *U. atrum* im Durchschnitt der 12 Isolate auf 88 %. Dabei kam es zwischen den Isolaten nur zu kleineren Unterschieden. Die Sporulation von Isolat 43 konnte zu drei Viertel unterdrückt werden, bei den Isolaten 5 und 35 sogar fast vollständig.

Bei Applikationen von *U. atrum* mit einer geringeren Sporendichte von 1×10^5 Sporen/ ml lag die Wirksamkeit von *U. atrum* auf die Sporulation von *B. cinerea* deutlich niedriger (Abb. 18). Bei gleichzeitiger Applikation beider Pilze lag die Wirksamkeit mit 18 % nur halb so hoch wie bei der höheren Sporenkonzentration von *U. atrum*. Gegen die Isolate 24 und 57 konnte eine ähnliche, gegen Isolat 10, 35 und 43 eine etwas höhere Wirksamkeit bestimmt werden. Wie schon zuvor beobachtet konnte *U. atrum* die Sporulation von Isolat 5 mit fast 50 % deutlich stärker verringern, während Isolat 48 wiederum nicht beeinträchtigt wurde.

Bei Applikation von *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* konnten im Gegensatz zur höheren Sporenkonzentration deutliche Unterschiede im Wirkungsgrad gegenüber den

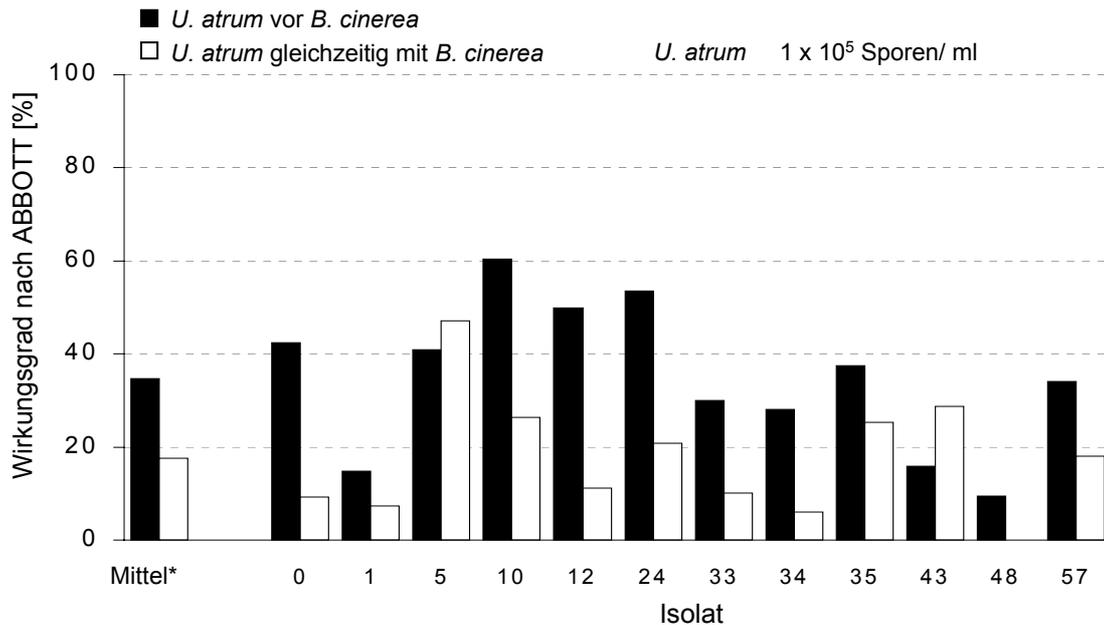


Abb. 18: Einfluss des Applikationszeitpunktes von *Ulocladium atrum* auf die Sporulationrate verschiedener Isolate von *Botrytis cinerea* auf nekrotischen Rebengewebe (n = 6; Inokulumdichte von *B. cinerea* 1×10^5 Sporen/ ml; 20 ± 1 °C; * Mittel der Isolate).

verschiedenen Isolaten festgestellt werden. Die Wirksamkeit des Antagonisten lag im Mittel der Isolate mit 35 % um zwei Drittel niedriger als bei der höheren Sporenkonzentration. Ein ähnliches Wirkniveau konnte bei den Isolaten 0, 5, 33, 34, 35 und 57 beobachtet werden. Die Sporulation von Isolat 10, 12 und 24 konnte nur bis zu 60 % unterdrückt werden und lag damit um ein Drittel niedriger als bei der hohen Sporendichte. Dagegen reduzierte *U. atrum* die Sporulation von Isolat 1 und 48 nur sehr wenig.

3.4 Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegenüber verschiedenen Isolaten von *Botrytis cinerea* unter praktischen Anbaubedingungen im Unterglasanbau

Anhand von Untersuchungen zur Ausbildung von Befallssymptomen von *B. cinerea* wurde der Einfluss ausgewählter Isolate von *B. cinerea* auf die Wirksamkeit von *U. atrum* an Jungpflanzen von Begonien und Paprika unter praktischen Anbaubedingungen im Gewächshaus untersucht. Unter gleichen Bedingungen wurde auch die Wechselwirkung der Pilze auf Weinrebenjungpflanzen beobachtet. Das Pathogen und der Antagonist wurden gleichzeitig sowie mit einem Tag Abstand auf die Pflanzen appliziert. Nach zweitägiger Inkubation bei 100 % rel. Luftfeuchte wurde der Befall mit *B. cinerea* an den Pflanzen bewertet.

3.4.1 Wechselwirkungen an Begonien

Sporensuspensionen von *U. atrum* und *B. cinerea* wurden mit 4×10^5 Sporen/ ml bzw. 1×10^6 Sporen/ ml an Begonienpflanzen appliziert (Abb. 19). Die gleichzeitige Applikation von *U. atrum* und *B. cinerea* führte im Durchschnitt der Isolate zu einer Befallsreduktion von 60 %, ähnlich wie sie bei den Isolate 12, 43 und 48 zu beobachten war. Der Wirkungsgrad gegen die Isolate 1, 10 und 35 lag deutlich niedriger, während die Isolate 0, 5, 24 und 34 wesentlich besser unterdrückt wurden. Die durchschnittliche Wirksamkeit von *U. atrum* gegen eine Folgeapplikation mit einem Intervall von einem Tag lag ca. 40 % höher als bei gleichzeitiger Ausbringung. Auffällig waren die nur geringen Abweichungen der Einzelisolate von diesem Mittel. Die Isolate 35 und 43 wurden schwächer, die Isolate 5 und 48 besser bekämpft.

In weiteren Untersuchungen wurde die Inokulumdichte von *B. cinerea* gesteigert, so dass beide Organismen mit gleicher Sporenkonzentration von 1×10^6 Sporen/ ml appliziert wurden (Abb. 20). Bei gleichzeitiger Ausbringung der Pilze wurde der Blattbefall mit *B. cinerea* im Mittel der Isolate um 44 % verringert, ähnlich wie bei den Isolaten 35, 43 und 48. Wie bereits zuvor beobachtet, lag der erzielte Wirkungsgrad gegen die Isolate 1, 10 und 33 mit unter 30 % deutlich niedriger. Ebenso ließ sich eine Reduktion der Isolate 0, 5 und 34 bei dieser Sporendichte erkennen.

Der durchschnittliche Wirkungsgrad von *U. atrum*, einen Tag vor *B. cinerea* appliziert, lag an Begonienpflanzen bei 77 % und damit um 75 % über dem Niveau der zuvor

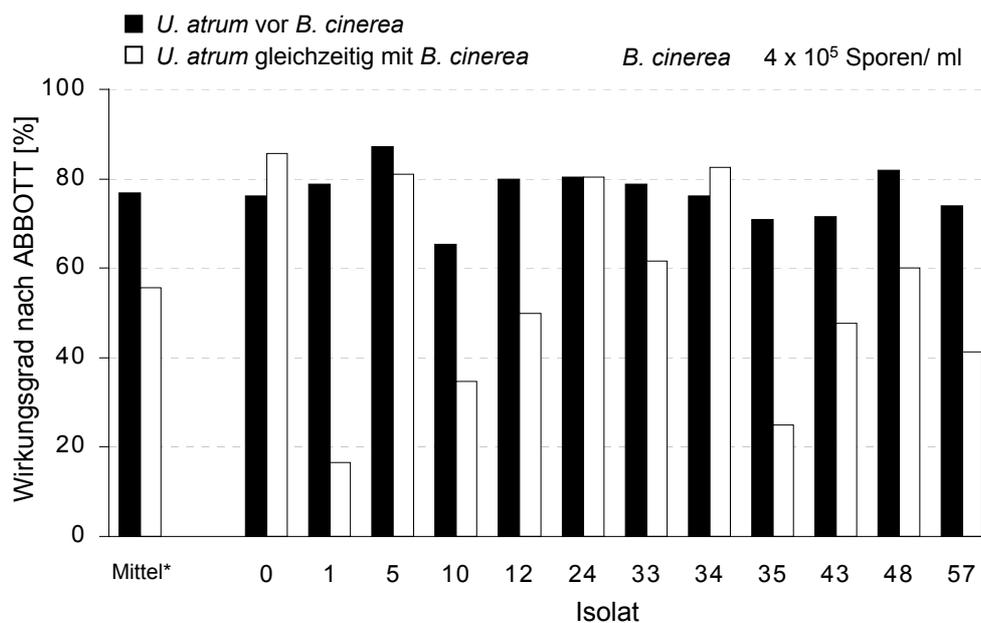


Abb. 19: Einfluss des Applikationszeitpunkts auf die Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegenüber ausgewählten Isolaten von *Botrytis cinerea* an Begonienjungpflanzen (n = 5; Sporendichte *U. atrum* 1×10^6 Sporen/ ml; * Mittel der Isolate).

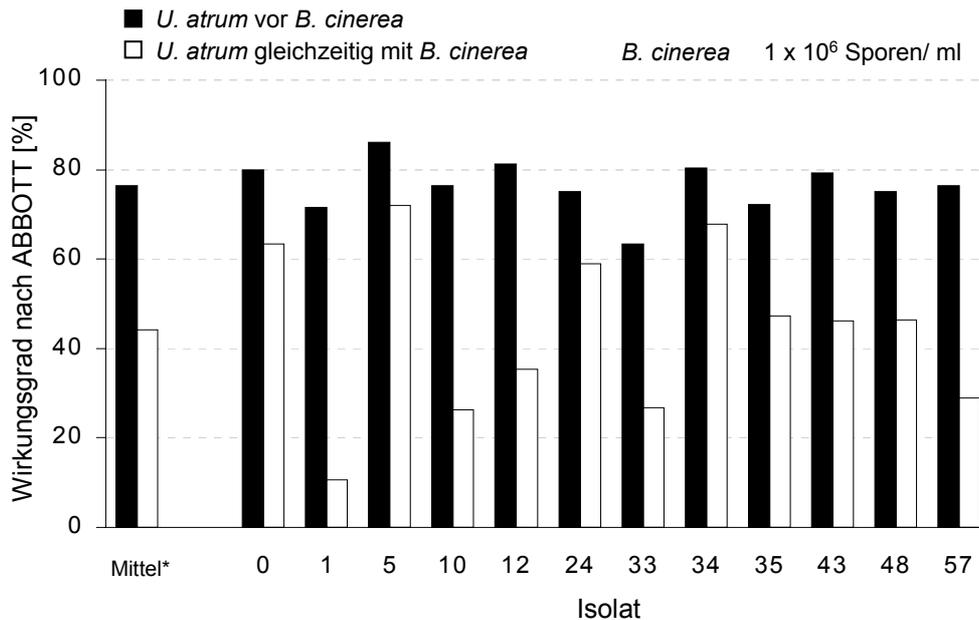


Abb. 20: Einfluss des Applikationszeitpunkts auf die Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegenüber ausgewählten Isolaten von *Botrytis cinerea* an Begonienjungpflanzen (n = 5; Sporendichte *U. atrum* 1×10^6 Sporen/ ml; * Mittel der Isolate).

betrachteten gleichzeitigen Applikation. Auffallend waren die wiederum nur kleinen Abweichungen der Einzelisolate von diesem Mittelwert. Wie zuvor ließ sich Isolat 33 weniger gut und Isolat 5 etwas stärker bekämpfen.

3.4.2 Wechselwirkungen an Weinreben

Rebenjungpflanzen wurden mit Sporensuspensionen von *B. cinerea* mit 4×10^5 Sporen/ml und 1×10^6 Sporen/ml und *U. atrum* mit der hohen Sporendichte appliziert und bei 100 % rel. Luftfeuchte zwei Tage inkubiert. Bei gleichzeitiger wie auch sequenzieller Ausbringungen von *U. atrum* gefolgt von *B. cinerea* mit einem Tag Abstand wurde im Durchschnitt der Isolate stets 44 % bzw. 47 % Wirksamkeit des Antagonisten gegen das Pathogen erzielt. Bei gleichzeitiger Applikation von Antagonist und Pathogen konnte der Befall der Pflanzen mit Isolat 34 gar nicht und bei den Isolaten 35 und 48 mit unter 20 % nur sehr gering bekämpft werden (Abb. 21). Dagegen erreichte *U. atrum* gegenüber den Isolaten 0, 5, 43 und 57 mit über 75 % fast doppelt so hohe Wirksamkeit wie der Durchschnitt der Isolate. Applikationen von *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* konnten einen Befall der Weinreben mit Isolat 10 gar nicht beeinflussen und zeigten bei Isolat 34 mit 11 % nur ein Viertel der Wirkung des Durchschnitts der Isolate. Dagegen konnte Isolat 57 mit 88 % fast doppelt so gut wie der Durchschnitt der Isolate bekämpft werden. Unabhängig vom Applikationszeitpunkt war auffällig, dass *U. atrum* bei Isolat 5 nur sehr

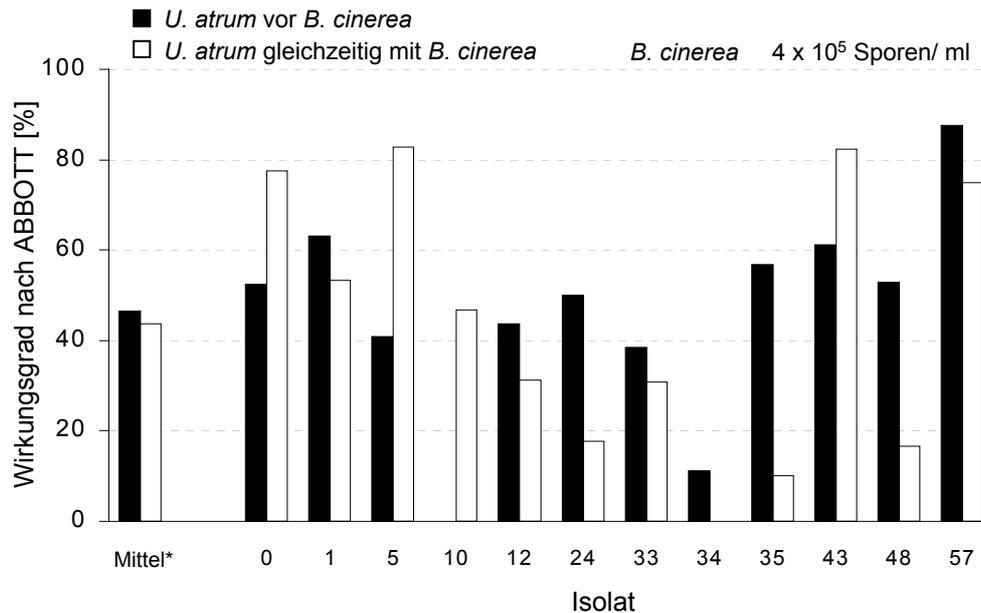


Abb. 21: Einfluss des Applikationszeitpunkts auf die Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegenüber ausgewählten Isolaten von *Botrytis cinerea* an Rebenjungpflanzen in (n = 5; Sporendichte *U. atrum* 1×10^6 Sporen/ ml; * Mittel der Isolate).

geringe Wirksamkeit zeigte, wohingegen durch den Einsatz des Antagonisten der Befall der Reben mit Isolat 57 deutlich verringert werden konnte.

Applikationen der Rebenpflanzen mit Suspensionskonzentrationen von jeweils 1×10^6 Sporen/ ml beider Pilze führte im Durchschnitt der Isolate zu ähnlichen Befallswerten wie zuvor bei verschiedenen Sporendichten beschrieben (Abb. 22). Im Mittel der Isolate reduzierte *U. atrum* bei gleichzeitiger Ausbringung 40 % des Befalls, während die Ausbringung von *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* die Wirkung des Antagonisten um 20 % steigern konnte. Die Isolate von *B. cinerea* unterschieden sich jedoch hinsichtlich ihrer Bekämpfbarkeit durch den Antagonisten in Abhängigkeit des Applikationszeitpunktes deutlich voneinander. Gleichzeitige Ausbringung beider Pilze konnte einen Befall mit Isolat 12 und 35 nicht reduzieren. Jedoch zeigte *U. atrum* bei den Isolaten 0, 5 und 43 eine um mindestens 80 % höhere Wirksamkeit als für den Durchschnitt der Isolate.

Applikationen von *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* konnten einen Befall der Reben bei Isolat 10 nur wenig reduzieren, während bei Isolat 43 der Wirkungsgrad mit 65 % um ein Drittel höher als der Durchschnitt lag. Die Wirksamkeit von *U. atrum* konnte bei den Isolaten 1 und 57 sogar um über 50 % gesteigert werden. Unabhängig vom Applikationszeitpunkt konnte auch bei gleich hoher Sporenkonzentration beider Pilze ein Befall der Reben mit Isolat 34 nur schlecht durch *U. atrum* bekämpft werden. Ähnlich schlechte Wirksamkeit des Antagonisten konnte auch bei Isolat 10 festgestellt werden. Dagegen zeigte *U. atrum* gute Bekämpfungserfolge bei den Isolaten 0 und 43.

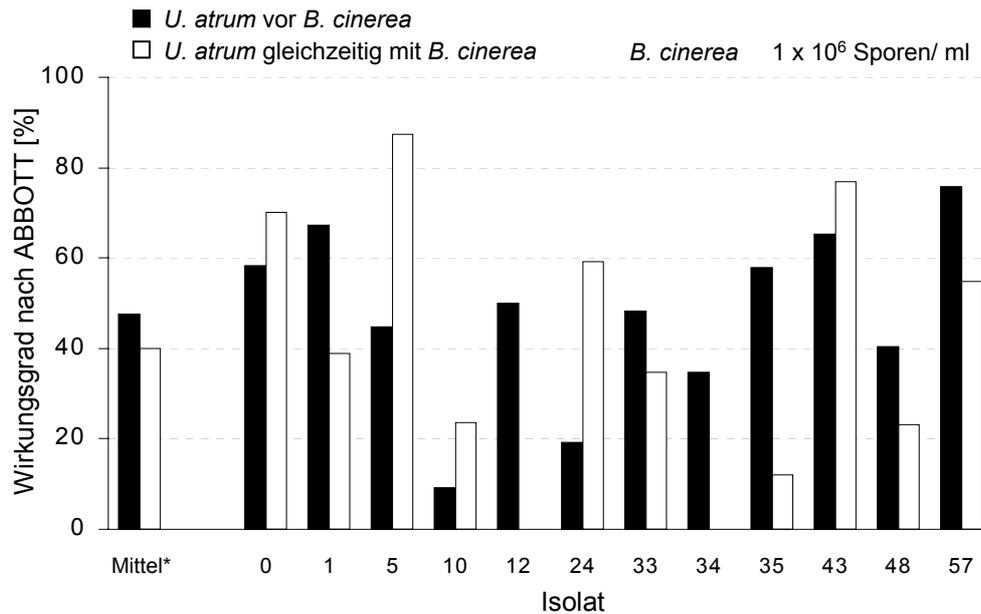


Abb. 22: Einfluss des Applikationszeitpunkts auf die Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegenüber ausgewählten Isolaten von *Botrytis cinerea* an Rebenjungpflanzen (n = 5; Sporendichte *U. atrum* 1×10^6 Sporen/ ml; * Mittel der Isolate).

3.4.3 Wechselwirkungen an Paprika

Paprikapflanzen wurden mit Suspensionkonzentrationen von 4×10^5 Sporen/ ml bzw. 1×10^6 Sporen/ ml der Pilze *U. atrum* und *B. cinerea* appliziert und bei 100 % rel. Luftfeuchte zwei Tage inkubiert. Im Mittel der ausgewählten Isolate von *B. cinerea* kam es bei gleichzeitiger Applikation beider Pilze zu einer Befallsreduktion an den Pflanzen von 39 % (Abb. 23). Das Ausbringen von *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* steigerte den Wirkungsgrad auf 63 %. Dabei konnten deutliche Unterschiede in der Wirksamkeit des Antagonisten gegen verschiedenen Isolate von *B. cinerea* festgestellt werden. Bei gleichzeitiger Applikation beider Pilze konnte *U. atrum* den Befall der Paprikapflanzen durch die Isolate 0 und 5 mit bis zu 20 % Wirkung nur wenig beeinflussen. Wohingegen die Wirksamkeit des Antagonisten bei Isolat 33 um 75 % über dem Mittel der Isolate lag, bei Isolat 43 konnte mit 82 % sogar eine doppelt so hohe Wirksamkeit erzielt werden. Applikationen von *U. atrum* einen Tag vor *B. cinerea* erreichten bei den Isolaten 5 und 12 mit 18 % bzw. 31 % die geringste Wirksamkeit auf den Befall an Paprikapflanzen. Dagegen konnte der Einsatz des Antagonisten den Befall der Pflanzen bei einigen Isolaten sehr gut unterdrücken. So lag die Wirkung von *U. atrum* gegen die Isolate 0, 10, 24 und 33 mit 20 % bis 30 % über dem durchschnittlichen Wirkungsgrad. Unabhängig vom Applikationszeitpunkt fielen die schlechte Wirksamkeit von *U. atrum* gegenüber Isolat 5, sowie die hohen Wirkungsgrade gegenüber Isolat 33 auf.

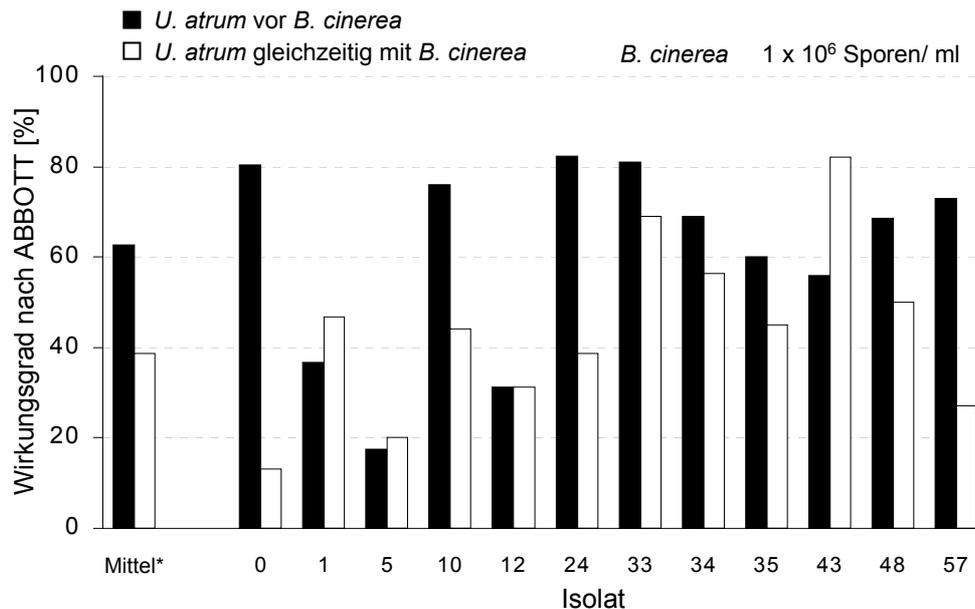


Abb. 23 Einfluss des Applikationszeitpunkts auf die Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegenüber ausgewählten Isolaten von *Botrytis cinerea* an Paprikajungpflanzen (n = 5; Sporendichte *U. atrum* 1×10^6 Sporen/ ml).

3.5 Anwendungen von *Ulocladium atrum* zur Bekämpfung von *Botrytis cinerea* im Weinbau

In den Vegetationsperioden 2000 und 2001 wurden an den Standorten Kirrweiler und Marienthal Applikationen mit dem Antagonisten *U. atrum* und dem Botrytizid Fenhexamid als Fungizidstandard an Weinreben durchgeführt. In Intervallen wurden Rindenproben, Blüten und Beeren der Reben auf eine Besiedlung und Entwicklung von *U. atrum* beprobt. Gleichzeitig wurde die Wirkung von *U. atrum* sowie des Fungizids Fenhexamid auf den Befallsverlauf von *B. cinerea* an Rinde, Blüten und Beeren der Reben untersucht.

3.5.1 Entwicklung von *Botrytis cinerea* im Vegetationsverlauf

An den beiden Standorten Kirrweiler und Marienthal konnte in beiden Vegetationsperioden sowohl ein Befall mit *Botrytis cinerea* an der Rebenrinde wie auch ein Grauschimmelbefall der Weintrauben nachgewiesen werden. Die Probennahme erfolgte in den Kontrollen ohne Botrytizid-Einsatz.

3.5.1.1 Standort Marienthal

Am Standort Marienthal wurde die Entwicklung von *B. cinerea* an Weinreben der Sorte 'Müller Thurgau' untersucht. In der Vegetationsperiode 2000 waren schon im Mai Phasen mit sommerlich hohen Temperaturen zu beobachten, gefolgt von starken Schwankungen der Temperatur und der rel. Luftfeuchte bis Anfang Juli (Abb. 24). Ab Mitte Juli herrschten

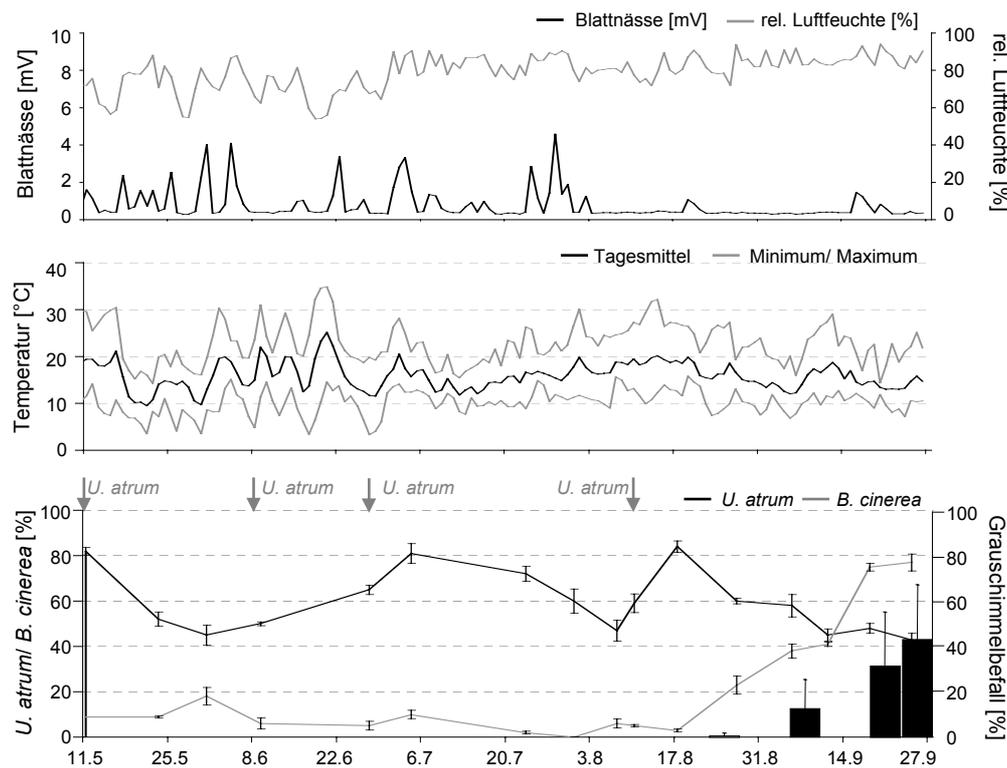


Abb. 24: Einfluss der Witterung auf die Entwicklung von *Ulocladium atrum* bzw. *Botrytis cinerea* auf der Rebenrinde und den Grauschimmelbefall der Trauben der Sorte 'Müller Thurgau' am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2000 (Pfeile kennzeichnen Applikationstermine von *U. atrum*, *B. cinerea* ohne Behandlung).

konstant niedrige Temperaturen, die sich bis zur Mitte August erhöhten, um danach wieder abzufallen. Ab Mitte September konnten wieder hohe Temperaturen festgestellt werden. Die rel. Luftfeuchte blieb ab Ende Juni relativ konstant hoch mit über 80 %.

Der Pathogenbefall an der Rebenrinde verlief in der Vegetationsperiode auf einem niedrigen Niveau und lag bis ca. sechs Wochen vor der Ernte (BBCH 81) bei unter 10 %. Lediglich zu BBCH 55 verdoppelte sich die Zahl der besiedelten Rindenstücke mit *B. cinerea* kurzzeitig von 10 % auf 20 %. Bis zur Ernte zu BBCH 89 kam es zu einer deutlichen Erhöhung der Befallsdichte der Rindenstücke auf 77 %. An den Trauben nahm der Grauschimmelbefall sehr stark in den letzten vier Wochen vor der Ernte zu. Ende August konnte der Beginn des Grauschimmelbefalls an den Trauben festgestellt werden. Die Entwicklung des Grauschimmels steigerte sich innerhalb von vier Wochen auf 43 %. Allein in der letzten Woche vor der Ernte konnte eine Befallszunahme um 42 % beobachtet werden.

Am Standort Marienthal herrschten über die gesamte Vegetationsperiode 2001 stetige Schwankungen der Temperatur und rel. Luftfeuchte (Abb. 25). Nach einem kühlen

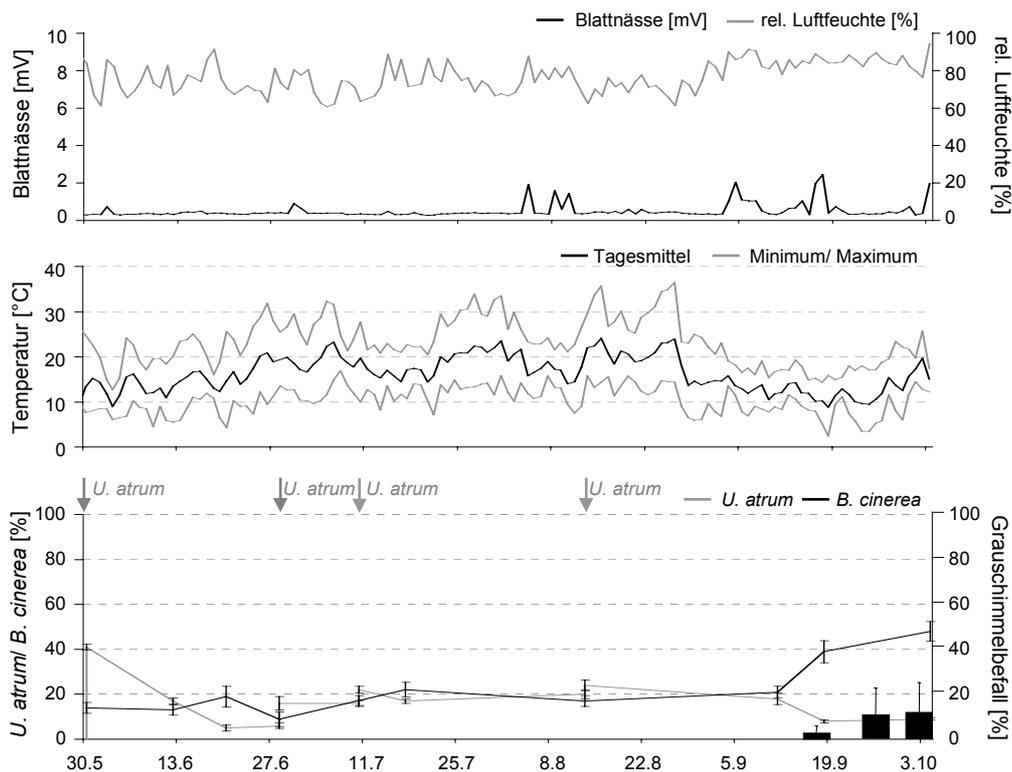


Abb. 25: Einfluss der Witterung auf die Entwicklung von *Ulocladium atrum* bzw. *Botrytis cinerea* auf der Rebenrinde und den Grauschimmelbefall der Trauben der Sorte 'Müller Thurgau' am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2001 (Pfeile kennzeichnen Applikationstermine von *U. atrum*, *B. cinerea* ohne Behandlung).

Frühjahr, folgte ein mäßig warmer Sommer, in dem einzelne Phasen zu Ende Juni, Ende Juli und Mitte August sehr hohen Temperaturen aufwiesen. Ab Anfang September konnte eine hohe rel. Luftfeuchte und gleichmäßig niedrige Temperaturen, vereinzelt traten schon Nachtfröste auf, festgestellt werden.

Wie im Jahr zuvor war ein niedriger Anfangsbefall mit *B. cinerea* an der Rinde zu beobachten, die Entwicklung der Rindenbesiedlung verlief konstant bei ca. 20 %. Erst zu BBCH 85 kam es zu einem Anstieg, der letztendlich zu einer Verdoppelung der Isolierungsrate auf 50 % führte. Der Befallsdruck zur Ernte lag deutlich unter dem des Vorjahres. Der Grauschimmelbefall an den Rebentrauben war deutlich niedriger als im Vorjahr. Bis zur Ernte stieg der Pathogenbefall der Trauben nur auf 11 % an.

3.5.1.2 Standort Kirrweiler

Am Standort Kirrweiler wurde die Entwicklung von *B. cinerea* an Weinreben der Sorte 'Kerner' bestimmt. In der Vegetationsperiode 2000 folgte einem kühlem feuchten Mai ein trockener, wechselhaft warmer Juni mit stark abfallender rel. Luftfeuchte zur Mitte des Monats (Abb. 26). Lediglich am 3. Juni trat ein starker Regenschauer mit 50 mm auf. Im

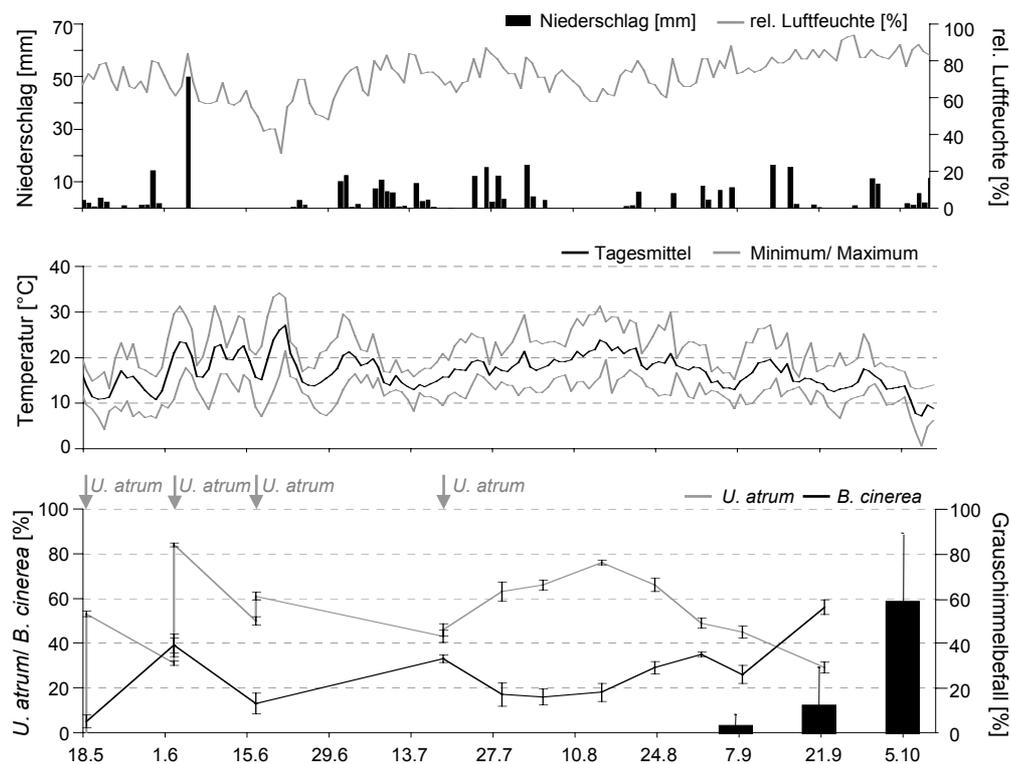


Abb. 26: Einfluss der Witterung auf die Entwicklung von *Ulocladium atrum* bzw. *Botrytis cinerea* auf der Rebenrinde und den Grauschimmelbefall der Trauben der Sorte 'Kerner' am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2000 (Pfeile kennzeichnen Applikationstermine von *U. atrum*, *B. cinerea* ohne Behandlung).

Juli gab es eine kühlere Phase mit verstärkter Niederschlagstätigkeit und erhöhter rel. Luftfeuchte, der ein wärmerer August mit nur noch vereinzelt Niederschlägen folgte. Bis zur Ernte im Herbst kam es zu einer Temperaturabnahme und die Niederschläge nahmen erneut zu.

Zu Beginn der Vegetationsperiode konnte an ca. 20 % der untersuchten Rindenproben *B. cinerea* nachgewiesen werden. Es kam zu einem kurzzeitigem Anstieg vor der Blüte zu BBCH 61 auf 40 %, gefolgt von einer Verringerung bis zu BBCH 68 um zwei Drittel auf 13 %. Bis zu BBCH 77 stieg der Rindenbefall von *B. cinerea* gleichmäßig erneut auf 35 % an, gefolgt von einer erneuten Reduktion des Auftretens des Pathogens. Ab dem Rebenstadium BBCH 81 erhöhte sich die Isolierungsrate des Pathogens stetig auf 56 %. Ein sehr starker Befall mit dem Erreger des Grauschimmels konnte in der Vegetationsperiode 2000 an den Rebentrauben zur Ernte, wie auch schon in Marienthal, festgestellt werden. Durch eine sehr starke Pathogenentwicklung stieg der Befall der Trauben von einem anfänglich niedrigen Niveau von 12 % innerhalb von 15 Tagen bis zur Ernte auf 60 % an.

In der Vegetationsperiode 2001 folgte nach einem sehr warmen Mai ein Temperaturabfall zu Beginn des Junis (Abb. 27). Anschließend stiegen die Temperaturen bis zur Mitte des Sommers gleichmäßig an. Mitte Juli und Mitte August folgten zwei vierzehntägige Phasen mit sehr hohen Temperaturen und niedriger rel. Luftfeuchte. Ab Ende August kam es zu einem deutlichen Temperaturabfall bis zum Herbst hin. Über die gesamte Vegetationsperiode konnten meist gleichmäßig verteilte Niederschläge mit einer deutlichen Zunahme ab September festgestellt werden.

Die Pathogenentwicklung an der Rebenrinde verlief auf einem ähnlichen Niveau wie im Vorjahr. Der Befall entwickelte sich etwas gleichmäßiger und blieb bis zu BBCH 81 konstant zwischen 10 % und 20 %. Bis zur Ernte zu BBCH 89 erhöhte sich die Befallsdichte kontinuierlich auf 50 %. Ähnlich wie im Vorjahr kam es erst ca. drei Wochen vor der Ernte zu einem starken Anstieg des Grauschimmelbefalls der Trauben auf 34 %. Das absolute Befallsniveau erreichte damit nur zwei Drittel des Vorjahres.

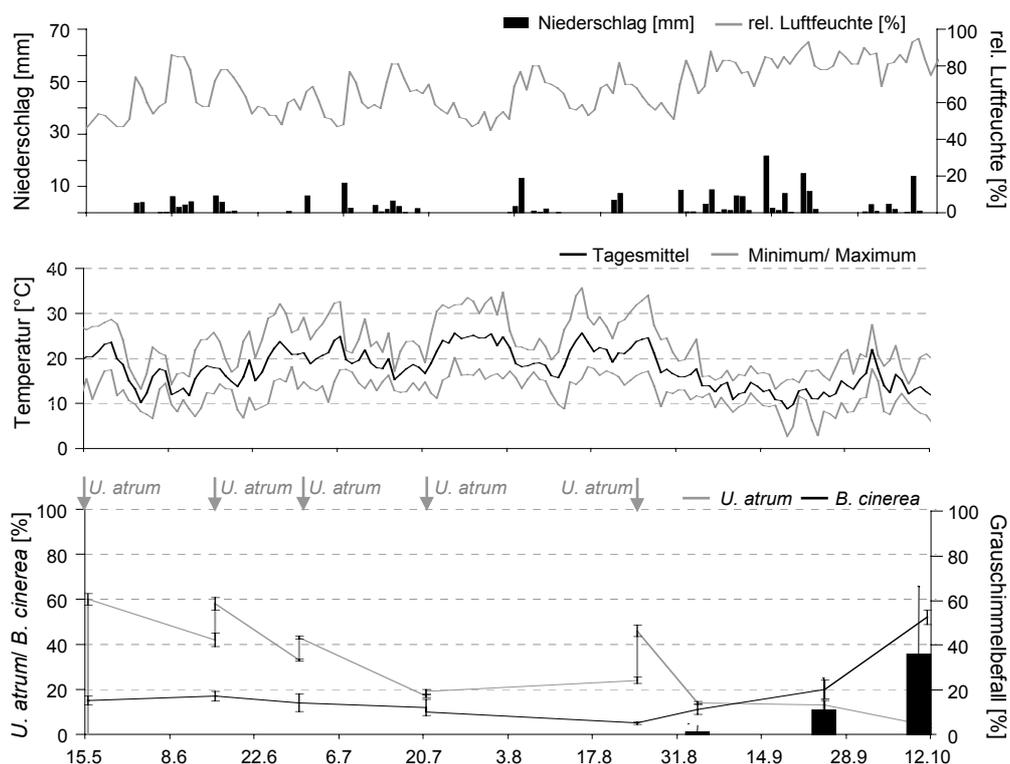


Abb. 27: Einfluss der Witterung auf die Entwicklung von *Ulocladium atrum* bzw. *Botrytis cinerea* auf der Rebenrinde und den Grauschimmelbefall der Trauben der Sorte 'Kerner' am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2001 (Pfeile kennzeichnen Applikationstermine von *U. atrum*, *B. cinerea* ohne Behandlung).

3.5.2 Besiedlung und Entwicklung von *U. atrum* im Vegetationsverlauf

Am Standort Marienthal konnte *Ulocladium atrum* über die gesamte Vegetationsperiode der beiden Versuchsjahre 2000 und 2001 sowohl die Rinde, wie auch die Blüten und Beeren besiedeln und sich auf den verschiedenen Pflanzenteilen entwickeln.

3.5.2.1 Untersuchungen zum Anzuchtmedium und zur Sporendichte von *U. atrum*

Im Jahr 2000 wurde am Standort Marienthal der Besiedlungserfolg von *U. atrum* an Rinde, Blüten und Beeren von Weinreben in Abhängigkeit des verwendeten Anzuchtmediums, sowie der Sporenkonzentration untersucht. Nach der ersten Applikation des Antagonisten zu Beginn der Vegetationsperiode konnte *U. atrum* an bis zu 90 % der beprobten Rindenstücke nachgewiesen werden (Abb. 28). Innerhalb von zehn Tagen fand eine Reduktion auf 40 % bis 50 % statt. Jede weitere Ausbringung des Antagonisten im Bestand führte zu erneutem Anstieg der Besiedlung der Rebenrinde mit *U. atrum*, jedoch war die Rückisolierung nach jeder Applikation rückläufig.

Mit zunehmender Sporendichte erhöhte sich die Wiederfindungsrate von *U. atrum*. Durch die Verwendung einer Sporenkonzentration von 2×10^6 Sporen/ ml konnte der Besiedlungsverlauf auf ein deutlich höheres Niveau gehoben werden, so dass zum Erntetermin die Isolierungsrate von *U. atrum* bei 43 % der Rindenstücke lag, während bei der geringeren Sporenkonzentration von 4×10^5 Sporen/ ml nur 21 % der Rindenproben

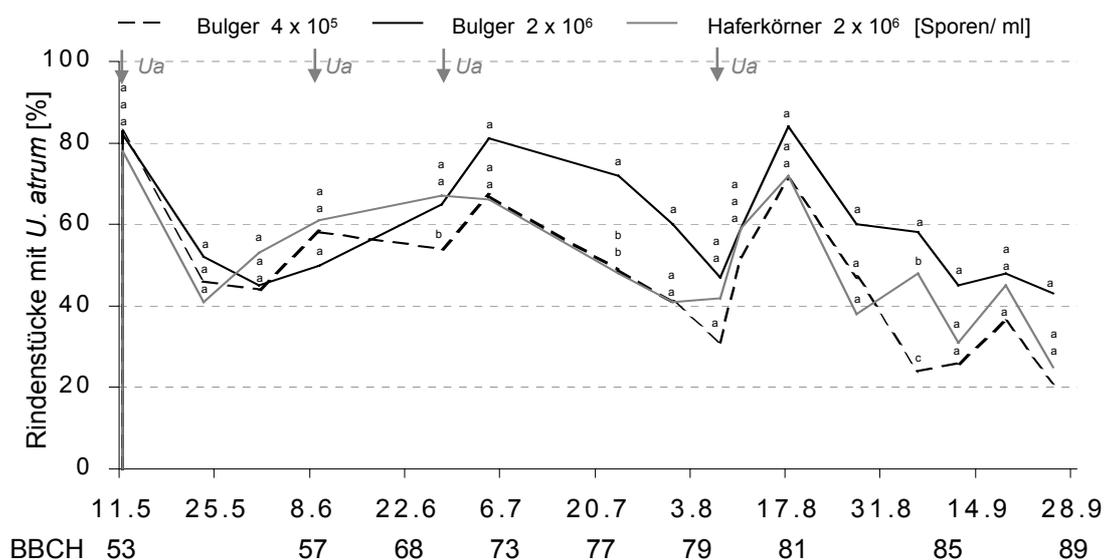


Abb. 28: Einfluss der ausgebrachten Sporenkonzentration und des Anzuchtmediums von *Ulocladium atrum* auf die Rindenbesiedlung an der Rebsorte 'Müller Thurgau' am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen die Applikationszeitpunkte von *U. atrum*; unterschiedliche Buchstaben zu einem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

besiedelt waren. Die Anzucht von *U. atrum* auf dem Nährmedium Bulgar im Vergleich zu Haferkörnern erhöhte die Besiedlung der Rinde nach der Blüte um 15 % bis 30 %. Um eine gleiche Besiedlungsdichte zu erlangen, musste für das Haferkornnährmedium eine fünfmal höhere Sporendichte verwendet werden.

Zu Beginn der Vegetationsperiode konnte *U. atrum* 98 % der Blüten besiedeln (Tab. 16). Nach BBCH 75 bis zu BBCH 89 verlief die Besiedlung der Beeren rückläufig. Zum Erntetermin konnte eine Reduktion um zwei Drittel auf 32 % festgestellt werden. Eine erneute Applikation des Antagonisten zu BBCH 79 erhöhte kurzzeitig das Auftreten von *U. atrum* an den Beeren um ein Viertel von 68 % auf 88 %.

Die Konzentration der Sporensuspension hatte zu Beginn der Vegetation keinen Einfluss auf die Etablierung des Antagonisten auf den Blüten, es wurden bei allen Behandlungen mindestens 92 % bis 98 % der Blüten besiedelt. Jedoch verlief die Abnahme des Beerenbefalls bei einer niedrigeren Sporendichte von 4×10^5 Sporen/ml deutlich schneller. Bereits zu BBCH 81 konnten nur noch von 39 % der beprobten Beeren *U. atrum* isoliert werden. Zu BBCH 85 konnte sich der Antagonist bei allen Behandlungen lediglich an einem Drittel der Beeren etablieren. Unterschiede in der Besiedlungsdichte, hervorgerufen durch die verschiedenen Sporendichten, konnten fast durchgehend statistisch abgesichert werden. Ähnlich wie an der Rinde musste eine fünfmal höhere

Tab. 16: Einfluss der ausgebrachten Sporenkonzentration und des Anzuchtmediums von *Ulocladium atrum* auf die Besiedlung und Etablierung des Antagonisten auf Blüten und Beeren von Reben (cv. 'Müller Thurgau') am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 30; Ausbringung von *U. atrum* zu BBCH 53, 57, 68 und 79; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Behandlung	Anzucht- medium von <i>U. atrum</i>	Sporen- konzentration [Sporen/ ml]	Besiedlung und Etablierung von <i>U. atrum</i> [%] zu Entwicklungsstadium BBCH							
			57*	68*	73	75	77	79*	81	85
ohne Botrytizid			0 b	0 c	0 c	0 b	0 c	0 c	0 c	0 b
Botrytizid			0 b	0 c	0 c	0 b	0 c	0 c	0 c	0 b
<i>U. atrum</i>	Haferkörner	2×10^6	92 a	95 a	100 a	78 a	57 b	76 b	54 ab	35 a
<i>U. atrum</i>	Bulgar	4×10^5	96 a	86 a	91 b	72 a	54 ab	69 b	39 c	37 a
<i>U. atrum</i>	Bulgar	2×10^6	98 a	91 ab	100 a	78 a	68 a	88 a	71 a	32 a

* nach Applikationen von *U. atrum*

Sporenkonzentration des Antagonisten, angezogen auf dem Nährmedium Haferkörner im Vergleich zu Bulgar, ausgebracht werden, um vergleichbar hohe Wiederfindungsraten von *U. atrum* an den Blüten und Beeren zu erlangen.

3.5.2.2 Untersuchungen zur Terminierung von *U. atrum*

Im Jahr 2001 wurde am Standort Marienthal für die Applikationen von *U. atrum* an den Weinreben eine frühe Ausbringungsfolge zu BBCH 55, 61, 68 und 79 mit einer späten zu BBCH 61, 68, 79 und 85 verglichen (Abb. 29). Das Niveau der Besiedlung von *U. atrum* an der Rinde lag im Jahr 2001 bei der frühen Spritzfolge deutlich unter dem des vorangegangenen Jahres. Nach der ersten Applikation zu Beginn der Vegetationsperiode waren lediglich 41 % der Proben mit dem Antagonisten besiedelt. Bis zur nächsten Applikation zu BBCH 61 war die Entwicklung des Antagonisten auf sechs Prozent rückläufig. Nach jeder weiteren Applikation konnte ein leichter Anstieg der Rindenbesiedlung festgestellt werden, die Besiedlungsdichte lag konstant zwischen 15 % und 25 %. Bei einer späteren Ausbringungsfolge erzielte die erste Applikation von *U. atrum* einen deutlich niedrigeren Besiedlungsanstieg an der Rinde, auf 20 %. Bis zu BBCH 79 verlief die Entwicklung ähnlich der frühen Applikationsfolge, danach führten die beiden Ausbringungen des Antagonisten zu BBCH 79 und BBCH 85 jeweils zu einer

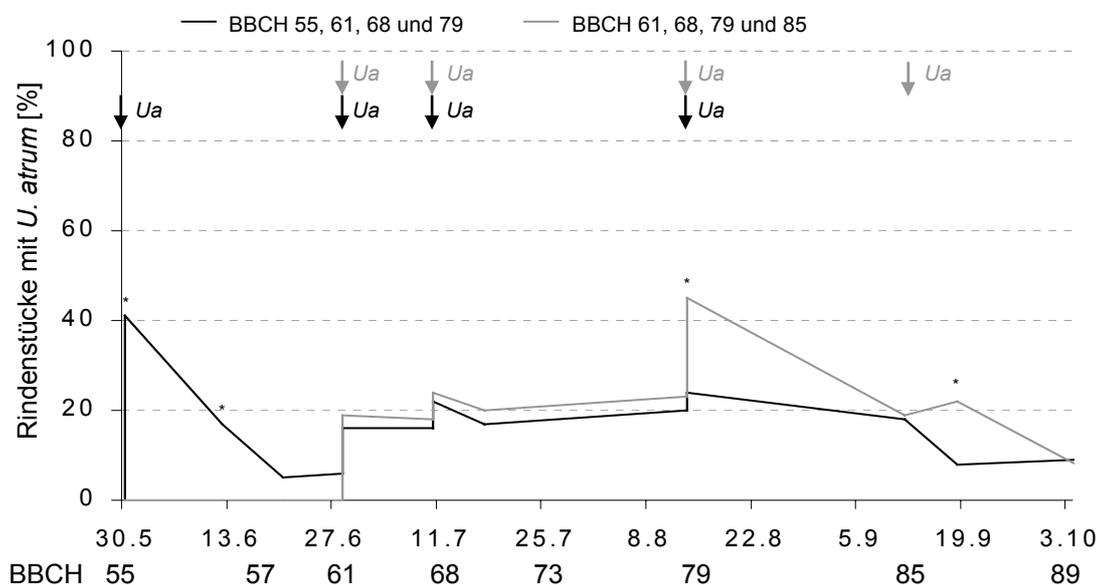


Abb. 29: Einfluss der Terminierung von *Ulocladium atrum* auf die Rindenbesiedlung (cv. 'Müller Thurgau') am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2001 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen Applikationszeitpunkte von *U. atrum*; Markierungen zu einem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Tab. 17: Einfluss der Terminierung von *Ulocladium atrum* auf die Besiedlung und Etablierung des Antagonisten auf Blüten und Beeren (cv. 'Müller Thurgau') am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2001 (n = 4 x 30, unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Behandlung	Entwicklungsstadium zum Applikationszeitpunkt [BBCH]	Besiedlung und Etablierung von <i>U. atrum</i> [%] zu Entwicklungsstadium BBCH					
		57	61	61*	68*	79*	85
ohne Botrytizid		0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0 a
Botrytizid	79 und 85	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0 a
früh <i>U. atrum</i> (4 x)	55, 61, 68 und 79	56 a	36 a	72 a	70 a	25 a	0 a
spät <i>U. atrum</i> (4 x)	61, 68, 79 und 85	0 b	0 b	74 a	57 a	33 a	0* a

* nach Applikationen von *U. atrum*

kurzzeitigen Verdopplung der Besiedlungsdichte. Zum Erntetermin lag die Wiederfindungsrate von *U. atrum* an der Rebenrinde bei beiden Ausbringungsfolgen auf einem niedrigen Niveau von unter zehn Prozent.

Die Besiedlungsdichte von *U. atrum* an den Blüten und Beeren lag im Jahr 2001 auf einem deutlich niedrigeren Niveau als im Vorjahr (Tab. 17). Direkt nach der Applikation konnte *U. atrum* mit hohen Rückisolationsraten von Blüten und Beeren bestimmt werden. Diese lagen zu BBCH 61 bei über 70 %. Im weiteren Vegetationsverlauf nahm die Etablierungsrate jedoch stetig ab. Auch wiederholte Ausbringungen des Antagonisten zu BBCH 68 und BBCH 79 konnten die negative Entwicklung nicht aufhalten, so dass zu BBCH 85 keine Besiedlung mit *U. atrum* mehr an den Beeren nachgewiesen werden konnte. Die frühe und die späte Ausbringungsfolge unterschieden sich hinsichtlich des Besiedlungsverlaufs nicht voneinander. Die anfängliche Besiedlung mit *U. atrum* zu BBCH 57 und BBCH 61 mit 56 % bzw. 36 % auf Grund der frühen Applikationsfolge hatte kaum Einfluss auf den weiteren Verlauf der Besiedlung der Blüten und Beeren mit *U. atrum*.

3.5.3 Einfluss von *U. atrum* auf die Entwicklung von *B. cinerea* im Vegetationsverlauf

Am Standort Marienthal konnte ein Befall mit *Botrytis cinerea* sowohl an der Rebenrinde wie auch den Blüten bzw. Beeren der Weinrebensorte 'Müller Thurgau' nachgewiesen werden. Die Entwicklung des Pathogens wurde durch Applikationen von *U. atrum* bzw. das Botrytizid Fenhexamid beeinflusst.

3.5.3.1 Untersuchungen zum Anzuchtmedium und zur Sporendichte von *U. atrum*

Im Jahr 2000 wurde am Standort Marienthal die Wirksamkeit von *U. atrum* in Abhängigkeit des Anzuchtmediums sowie der Sporendichte auf die Entwicklung von *B. cinerea* an der Rebenrinde untersucht (Abb. 30). Fenhexamid- Anwendungen konnten den Befallsanstieg bis drei Wochen vor der Ernte verzögern und das Befallsniveau bis zu BBCH 89 deutlich reduzieren. In der letzten Woche vor der Ernte lag der Befall der Rinde ohne Behandlungen bei 80 %. Applikationen mit dem Botrytizid verringerten das Pathogenaufkommen um 30 % bis 50 %. Ähnlich dem Fungizid konnte eine Anwendung von *U. atrum* den Anstieg des Rindenbefalls um ca. 10 Tag verzögern, die Unterdrückung der Pathogenentwicklung verlief jedoch auf einem wesentlich niedrigeren Niveau. Die *U. atrum* Applikationen führten zu einem 15 % bis 25 % niedrigerem Aufkommen von *B. cinerea* an der Rebenrinde. Dabei konnte weder ein signifikanter Einfluss der Sporenkonzentration noch des Anzuchtnährmediums von *U. atrum* festgestellt werden.

Untersuchungen an Blüten und Beeren der Weinreben zeigten einen ähnlichen Befallsverlauf wie an der Rinde (Tab. 18). Nach zunächst sehr niedrigem Befallsdruck erhöhte sich zu einem früheren Zeitpunkt (BBCH 79) die Isolierungsrate des Pathogens von den Beeren um das Fünffache. Der Blüten- und Beerenbefall setzte somit einen

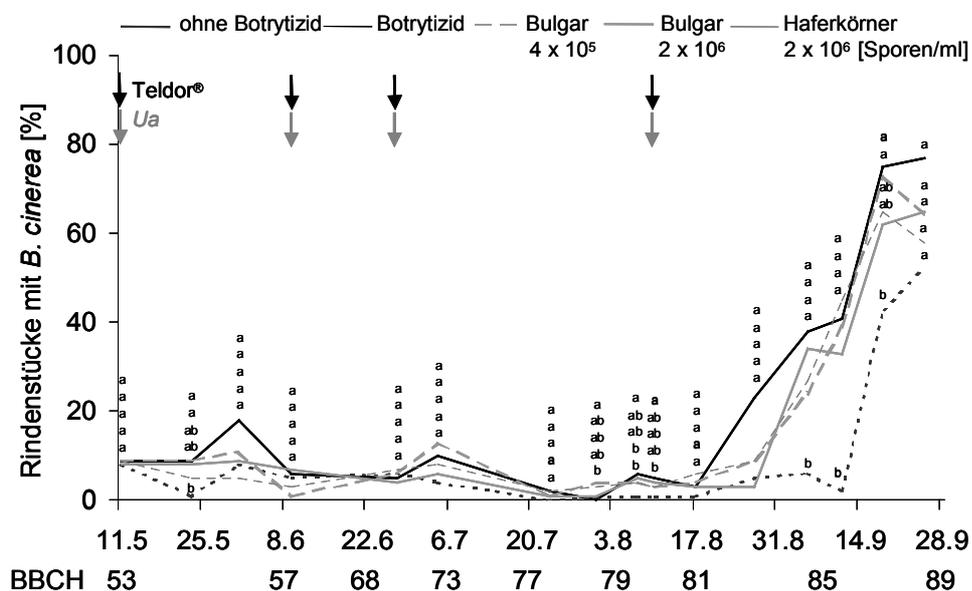


Abb. 30: Einfluss des Anzuchtmediums und der ausgebrachten Sporenkonzentration von *Ulocladium atrum* auf die Entwicklung von *Botrytis cinerea* auf der Rebenrinde (cv. 'Müller Thurgau') am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen Applikationszeitpunkt von *U. atrum* bzw. des Botrytizids Fenhexamid; Markierungen zu einem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Tab. 18: Einfluss des Anzuchtmediums und der ausgebrachten Sporenkonzentration von *Ulocladium atrum* auf die Entwicklung von *Botrytis cinerea* an Blüten und Beeren der Reben (cv. 'Müller Thurgau') am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 30; Applikationen zu BBCH 53, 57, 68 und 79; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei p ≤ 0,05).

Behandlung	Anzuchtmedium von <i>U. atrum</i>	Sporenkonzentration [Sporen/ml]	Befall mit <i>B. cinerea</i> [%] zu Entwicklungsstadium BBCH							
			57*	68*	73	75	77	79*	81	85
ohne Botrytizid			6 a	7 ac	3 a	3 ab	13 a	61 a	67 a	68 a
Botrytizid			1 a	1 ab	1 a	0 b	18 a	7 b	26 b	53 b
<i>U. atrum</i>	Haferkörner	2 x 10 ⁶	4 a	0 b	1 a	8 a	22 a	49 a	63 ab	69 a
<i>U. atrum</i>	Bulgar	4 x 10 ⁵	3 a	2 bc	2 a	3 ab	17 a	50 ac	70 a	68 a
<i>U. atrum</i>	Bulgar	2 x 10 ⁶	1 a	0 b	1 a	8 a	14 a	28 c	52 ab	72 a

* nach Applikation von *U. atrum* bzw. Botrytizid

Monat früher ein als der Rindenbefall. Applikationen von Fenhexamid und *U. atrum*, angezogen auf Bulgarnährmedium mit einer Sporendichte von 2 x 10⁶ Sporen/ml, zeigten kurzzeitig eine deutliche Reduktion des Pathogenbefalls. Während das Fungizid den Befall von 60 % auf sieben Prozent reduzierte, halbierte *U. atrum* die Wiederfindungsrate von *B. cinerea*. Die Unterdrückung von *B. cinerea* war nur kurzzeitig und es kam an den Beeren mit Applikationen von *U. atrum* zu einem stärkeren Anstieg als an den Rebenbeeren mit Botrytizideinsatz. Zum Erntezeitpunkt konnte nur für die Fenhexamid-Anwendungen ein signifikanter Befallsrückgang nachgewiesen werden.

3.5.3.2 Untersuchungen zur Terminierung von *U. atrum*

In der Vegetationsperiode 2001 wurde am Standort Marienthal die Wirksamkeit einer frühen und späten Spritzfolge von *U. atrum* auf den Pathogenbefall an Rebenrinde, Blüten und Beeren untersucht. Die Applikationen mit Fenhexamid reduzierten den Rindenbefall zu BBCH 79, einem befallsschwachen Zeitpunkt, nur geringfügig von 17 % auf 12 %, wohingegen zu einem stärkeren Befallsstadium zu BBCH 85 eine signifikante Reduktion von 48 % auf fünf Prozent festzustellen war (Abb. 31). Neben den Fungizid-Applikationen wurde eine frühe (BBCH 55, 61, 68 und 79) und eine späte Spritzfolge (BBCH 61, 68, 79 und 85) mit *U. atrum* durchgeführt. Die frühe Behandlung mit *U. atrum* reduzierte den

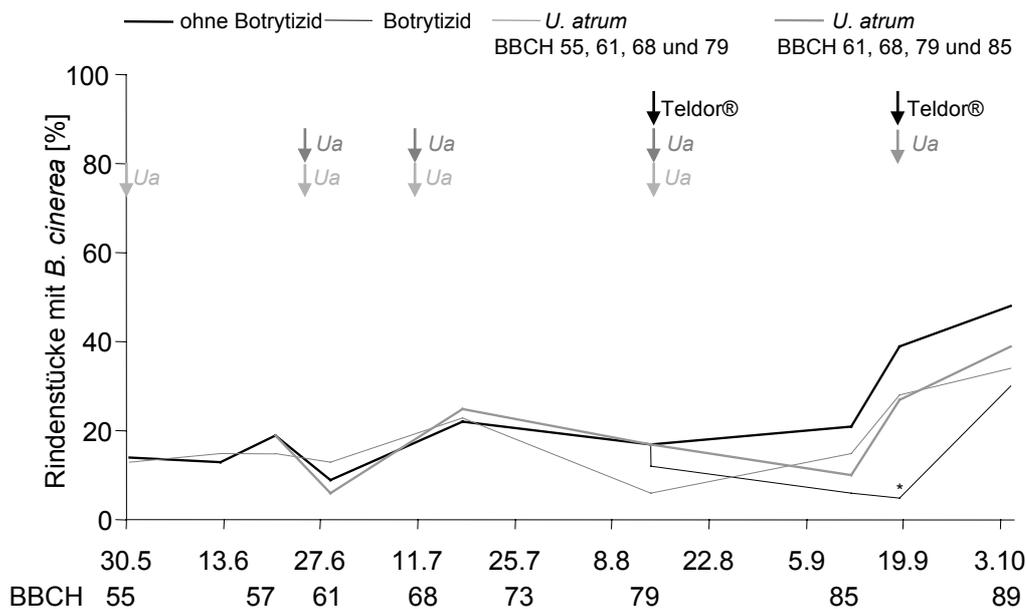


Abb. 31: Einfluss der Terminierung von *U. atrum* auf die Entwicklung von *B. cinerea* an der Rebenrinde (cv. 'Müller Thurgau') am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2001 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen die Applikationszeitpunkte von *U. atrum* bzw. des Botrytizids Fenhexamid; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Rindenbefall um 30 %. Dagegen bewirkte die späte Applikation kurzzeitig eine Reduktion um 65 %, die sich jedoch bei ansteigendem Befallsdruck deutlich auf 20 % verringerte.

Ähnlich den Untersuchungen an der Rinde erhöhte sich das Vorkommen von *B. cinerea* an den Blüten und Beeren erst zu einem späteren Zeitpunkt in der Vegetationsperiode 2001 (Tab. 19). Der Befall stieg ab BBCH 79 von weniger als 10 % auf 45 % zu BBCH 85 an. Die Pathogendichte lag um ein Drittel niedriger als im Vorjahr. Weder eine Behandlung mit dem Botrytizid noch mit *U. atrum* führte zu signifikanten Befallsunterschieden.

3.5.4 Wirksamkeit von *U. atrum* gegen den Grauschimmelbefall an Trauben

Ein Grauschimmelbefall der Weintrauben durch *Botrytis cinerea* konnte am Standort Marienthal in beiden Vegetationsperioden beobachtet werden. Zur Bewertung des Befalls mit *B. cinerea* wurden als Indikatoren die Befallsstärke, als befallene Traubenfläche, und die Befallshäufigkeit, als Anzahl der Traubenproben mit Befallssymptomen, herangezogen.

Tab. 19: Einfluss der Terminierung von *U. atrum* auf die Entwicklung von *B. cinerea* an Blüten und Beeren von Reben ('Müller Thurgau') am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2001 (n = 4 x 30; keine Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Behandlung	Entwicklungsstadium zum Applikationszeitpunkt [BBCH]	Befall mit <i>B. cinerea</i> [%] zu Entwicklungsstadium BBCH				
		57	61	68	79	85
ohne Botrytizid		6	1	8	13	45
Botrytizid	79 und 85	7	2	8	8*	48*
<i>U. atrum</i> (4 x) früh	55, 61, 68 und 79	7*	2*	3*	13*	54
<i>U. atrum</i> (4 x) spät	61, 68, 79 und 85	6	1*	2*	10*	46*

* nach Applikation von *U. atrum* bzw. Botrytizid

3.5.4.1 Untersuchungen zum Anzuchtmedium und zur Sporendichte von *U. atrum*

Im Jahr 2000 wurde am Standort Marienthal die Befallsentwicklung von *B. cinerea* an Trauben der Rebsorte 'Müller Thurgau' bei unterschiedlicher Applikationen von *U. atrum* verglichen. Die Behandlungen unterschieden sich in der ausgebrachten Sporendichte und dem verwendeten Anzuchtmedium von *U. atrum*. In den letzten vier Wochen vor der Ernte kam es zu einer sehr starken Zunahme des Befalls mit *B. cinerea* an den Trauben, auf 43 % (Abb. 32). Das Botrytizid Fenhexamid verringerte den Grauschimmelbefall der Trauben signifikant, zum Erntezeitpunkt konnte eine Befallsreduktion um 70 % festgestellt werden. Behandlungen mit einer Sporendichte von 2×10^6 Sporen/ml von *U. atrum* führten bei der Verwendung des Anzuchtmediums Bulgar zu einer deutlich niedrigeren Befallsentwicklung von *B. cinerea* an den Trauben. Bei anfänglich leichtem Befall konnte eine signifikante Befallsreduktion um die Hälfte bis zu einem Drittel erzielt werden. Die Wirksamkeit ließ mit steigendem Befallsdruck nach. Dagegen erzielten Behandlungen mit geringeren Sporendichte von 4×10^5 Sporen/ml deutlich schwächere Wirksamkeit gegen das Pathogen. Der Befall lag nur fünf bis zwölf Prozent unter dem der unbehandelten Kontrolle. Neben den Sporensuspensionen von *U. atrum*, angezogen auf dem Nährmedium Bulgar, wurden auch Sporensuspensionen von *U. atrum*, angezogen auf Haferkörnern, appliziert. Bei gleich hoher Sporenkonzentrationen von 2×10^6 Sporen/ml lag die Grauschimmelreduktion der Trauben der Variante Haferkörner niedriger als bei der Variante Bulgar. Eine Woche vor der Ernte konnte eine um zehn Prozent schwächere Wirksamkeit festgestellt werden, der Befall lag bei 28 %.

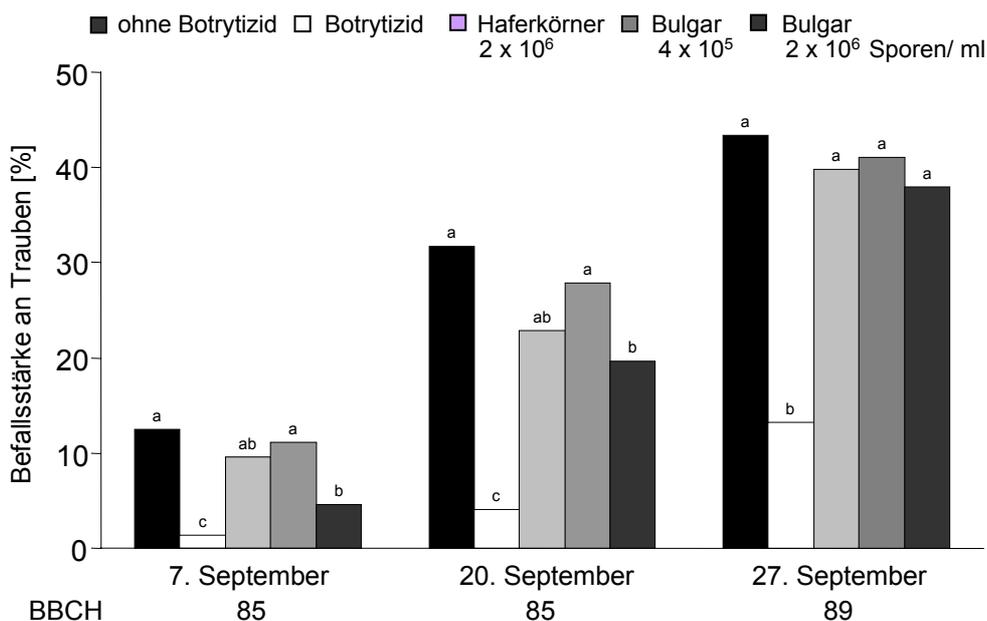


Abb. 32: Einfluss des Anzuchtnährmediums und der Sporenkonzentration von *Ulocladium atrum* auf die Entwicklung des Grauschimmelbefalls an Trauben cv. 'Müller Thurgau' am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 25; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei p ≤ 0,05).

Tab. 20: Einfluss des Anzuchtnährmediums und der Sporenkonzentration von *Ulocladium atrum* auf die Befallshäufigkeit der Trauben cv. 'Müller Thurgau' mit dem Erreger des Grauschimmels *Botrytis cinerea* am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 25; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei p ≤ 0,05).

	Befallshäufigkeit der Trauben mit <i>Botrytis cinerea</i> [%]			
	August		September	
	27	7	20	27
	BBCH 81	BBCH 85	BBCH 85	BBCH 89
ohne Botrytizid	54 a	86 a	100 a	99 a
Botrytizid	49 a	50 b	59 b	89 b
<i>U. atrum</i> (Haferkörner) 2 x 10 ⁶ Sporen/ ml	51 a	84 a	98 a	100 a
<i>U. atrum</i> (Bulgar) 4 x 10 ⁵ Sporen/ ml	49 a	86 a	95 a	98 a
<i>U. atrum</i> (Bulgar) 2 x 10 ⁶ Sporen/ ml	44 a	79 a	89 a	99 a

Bereits Ende August 2000 konnte an über 50 % der beprobten Trauben ein Befall mit *B. cinerea* festgestellt werden (Tab. 20). Bis zur Ernte stieg die Pathogenentwicklung stark an, es waren nur noch wenige Trauben befallsfrei. Durch Fenhexamid- Anwendungen konnte die Befallshäufigkeit der Trauben deutlich gesenkt werden, bis zum 20. September (BBCH 85) waren stets weniger als 60 % befallen. In den letzten Wochen konnte jedoch ein sprunghafter Anstieg auf fast 90 % festgestellt werden. Behandlungen von *U. atrum* mit einer Sporenkonzentration von 2×10^6 Sporen/ ml wiesen sieben bis zehn Prozent mehr befallsfreie Trauben auf als unbehandelte Trauben. Unterschiede konnten bis eine Woche vor der Ernte beobachtet werden, waren jedoch nicht statistisch absicherbar. Diese Befallsunterschiede konnten an den Trauben mit der fünffach niedrigeren Sporendichte von 4×10^5 Sporen/ ml und auch bei *U. atrum* angezogen auf Haferkörnern nicht mehr nachgewiesen werden. Es wurden ähnliche Befallsraten mit *B. cinerea* wie an den Trauben ohne Behandlung festgestellt.

3.5.4.2 Untersuchungen zur Terminierung von *U. atrum*

Im Jahr 2001 wurde am Standort Marienthal ein frühe mit einer späten Spritzfolge von *U. atrum* verglichen. Bei einer geringen Befallsniveau der Trauben von 11 % konnte der Pathogenbefall durch Fenhexamid- Anwendungen signifikant auf drei Prozent gehalten werden (Abb. 33). Ausbringungen von *U. atrum* verringerten die Stärke des Grauschimmelbefalls auf ein Niveau von unter acht Prozent. Die frühe und späte Applikationsfolge von *U. atrum* unterschieden sich kaum voneinander.

Tab. 21: Einfluss unterschiedlicher Spritzfolgen von *Ulocladium atrum* auf die Befallshäufigkeit der Trauben (cv. 'Müller Thurgau') mit dem Erreger des Grauschimmels *Botrytis cinerea* am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2001 (n = 4 x 25; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

	Befallshäufigkeit der Trauben mit <i>Botrytis cinerea</i> [%]		
	September		Oktober
	18	28	3
	BBCH 85	BBCH 85	BBCH 89
ohne Botrytizid	56 a	84 a	83 a
Botrytizid	38 a	43 b	56 b
<i>U. atrum</i> früh BBCH 55, 61, 68 und 79	60 a	72 a	78 a
<i>U. atrum</i> spät BBCH 61, 68, 79 und 85	54 a	68 a	81 a

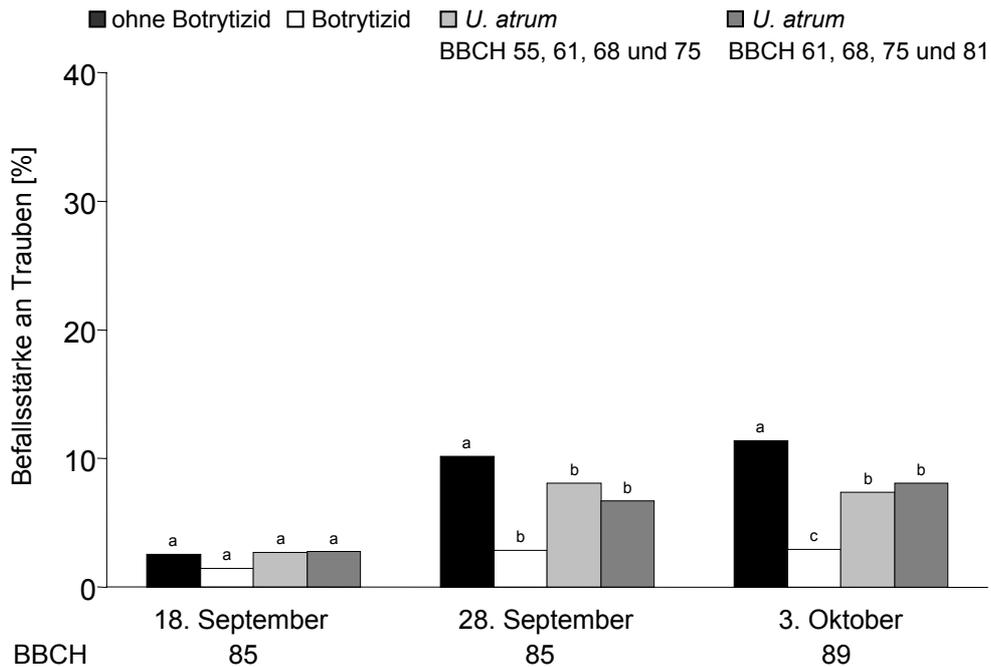


Abb. 33: Einfluss unterschiedlicher Teminierung der Applikationsfolgen von *U. atrum* auf die Entwicklung des Grauschimmelbefalls an Trauben cv. 'Müller Thurgau' am Standort Marienthal in der Vegetationsperiode 2001 (n = 4 x 25; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

Ähnlich wie im Vorjahr konnte im Jahr 2001 zum Entwicklungsstadium BBCH 85 an über 50 % der Trauben ein Grauschimmelbefall festgestellt werden (Tab. 21). Bis zum 28. September konnte ein Anstieg der Befallshäufigkeit auf 84 % beobachtet werden, die sich bis zur Ernte konstant hielt. Fenhexamid- Anwendungen senkten die Befallshäufigkeit der Trauben deutlich. Bis zu BBCH 85 waren nur ca. 40 % der beprobten Trauben mit *B. cinerea* befallen, jedoch konnte zu BBCH 85 ein Anstieg auf 56 % beobachtet werden. Dagegen hatten Applikationen von *U. atrum* nur einen geringen Einfluss auf den Grauschimmelbefall der Trauben. Zu BBCH 85 konnte an bis zu 20 % weniger Trauben Symptome festgestellt werden. Die Wirksamkeit hob sich bis zu BBCH 89 auf, da keine Unterschiede mehr zu Trauben ohne Behandlung festgestellt werden konnten. Die beiden Applikationsfolgen von *U. atrum* unterschieden sich kaum voneinander.

3.5.5 Anwendung von *U. atrum* im integrierten Pflanzenschutz

Am Standort Kirrweiler wurde in den Vegetationsperioden 2000 und 2001 der Einfluss der Applikationen von *U. atrum* und dem Botrytizid Fenhexamid alleine mit einer alternierenden Behandlung von *U. atrum* mit dem Fungizid an Rinde, Blüte und Beeren von Weinreben der Sorte 'Kerner' untersucht. Zusätzlich wurde im ersten Jahr der Einfluss der Anzahl der Applikationen von *U. atrum* auf die Entwicklung von *B. cinerea* bestimmt.

3.5.5.1 Besiedlung und Entwicklung von *U. atrum* im Vegetationsverlauf

In der Vegetationsperiode 2000 konnte nach der ersten Applikation von *U. atrum* zu BBCH 55 eine Besiedlung von 53 % der beprobten Rindenstücke festgestellt werden (Abb. 34). Die Besiedlungsdichte reduzierte sich bis BBCH 68 auf 40 %. Durch eine erneute Applikationen zu diesem Entwicklungsstadium konnte die Rindenbesiedlung auf ihr altes Niveau von 50 % gehoben werden und blieb bis BBCH 85 konstant, um dann kurz vor der Ernte auf ca. 30 % zu fallen. In der alternierenden Applikationsfolge wurden zu BBCH 61 und BBCH 77 zusätzlich zwei Fenhexamid-Applikationen durchgeführt. Diese hatten keinen Einfluss auf die Entwicklung des Antagonisten an der Rebenrinde. Zwei zusätzliche Ausbringungen von *U. atrum* führten zu einer höheren Besiedlungsrate mit dem Antagonisten an der Rinde. Zu BBCH 61 kam es zu einem nur kurzzeitigen Anstieg auf 85 %, während eine erneute Applikation zu BBCH 77 zu einer Niveauverschiebung der Besiedlung von 43 % auf 76 % führte. Erst zur Ernte verlor sich der Einfluss der beiden zusätzlichen Ausbringungen von *U. atrum*.

An Blüten und Beeren konnte in Kirrweiler im Jahr 2000 unabhängig der verschiedenen Applikationsfolgen des Antagonisten zu BBCH 68 von über 90 % der Proben *U. atrum* reisoliert werden (Tab. 22). Bis BBCH 79 verringerte sich die Besiedlungsdichte deutlich auf 12 % bis 27 %. Dieses Niveau wurde für eine längere Periode gehalten. Sechs Wochen vor der Ernte zu BBCH 85 konnte eine erneute Reduktion der Besiedlungsrate

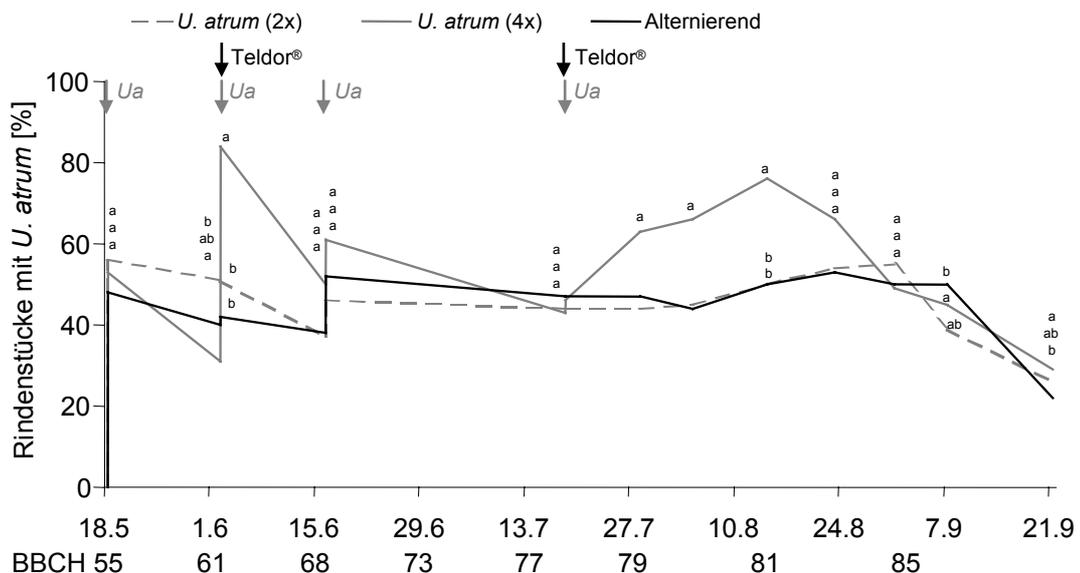


Abb. 34: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Besiedlung und Etablierung des Antagonisten auf der Rinde der Rebsorte 'Kerner' am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen Inokulationszeitpunkte von *U. atrum* bzw. des Botrytizids Fenhexamid; unterschiedliche Buchstaben zu einem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Tab. 22: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Besiedlung und Etablierung des Antagonisten auf Blüten bzw. Beeren von Reben (cv. 'Kerner') am Standort Kirweiler in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 30, unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rank Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Behandlung	Entwicklungsstadium zum Applikationszeitpunkt [BBCH]		Besiedlung und Etablierung von <i>U. atrum</i> [%] zu Entwicklungsstadium BBCH					
	<i>U. atrum</i>	Botrytizid	68	77	79	81	81	85
ohne Botrytizid			0 c	0 c	0 c	0 b	0 b	0 c
Botrytizid		61 und 77	0 c	0 c	0 c	0 b	0 b	0 c
<i>U. atrum</i> (4 x)	55, 61, 68 und 77		90* ab	66* a	12 b	23 a	27 a	3 b
<i>U. atrum</i> (2 x)	55 und 68		90* b	53 b	27 a	26 a	21 a	9 a
Alternierend	55 und 68	61 und 77	96* a	51 ab	26 a	24 a	26 a	7 b

* nach Applikation von *U. atrum*

festgestellt werden. Nur noch an drei Prozent der beprobten Beeren konnte *U. atrum* gefunden werden. Diese Entwicklung von *U. atrum* war für die unterschiedlichen Ausbringungen ähnlich, vier Behandlungen oder alternierende Applikation mit zwei Fenhexamid-Anwendungen führten nur zu sehr geringen Unterschieden.

In der Vegetationsperiode 2001 wurden am Standort Kirweiler erneut Applikationen von *U. atrum* und dem Botrytizid Fenhexamid alleine mit einer alternierenden Behandlung, bei der eine Ausbringung des Antagonisten vor der Blüte zu BBCH 61 ausgesetzt und die letzte Applikation durch eine Fungizidspritzung ersetzt wurde, verglichen. Ähnlich wie im Vorjahr konnte *U. atrum* zu Beginn der Vegetationsperiode 2001 nach der ersten Applikation des Antagonisten von 60 % der beprobten Rindenstücke reisoliert werden (Abb. 35). Die Besiedlungsrate reduzierte sich bis zu BBCH 75 schnell auf 17 %. Dieses Niveau blieb konstant und verringerte sich erst zur Ernte erneut. Die Überlebensrate an der Rinde lag zu BBCH 89 mit nur vier Prozent sehr niedrig. Direkt nach den Applikationen von *U. atrum* kam es stets nur kurzzeitig zu einem sprunghaften Anstieg der Besiedlung der Rinde um 30 % bis 50 %, gefolgt von deutlichen Reduktionen. Im Vergleich zu fünfmaliger Ausbringung des Antagonisten zeigte sich nach BBCH 61 bei der alternierenden Applikation über die gesamte Vegetationsperiode ein niedriges Besiedlungsniveau von *U. atrum*, dabei zeigten die Fenhexamid-Applikationen keinen Einfluss auf die Entwicklung von *U. atrum*.

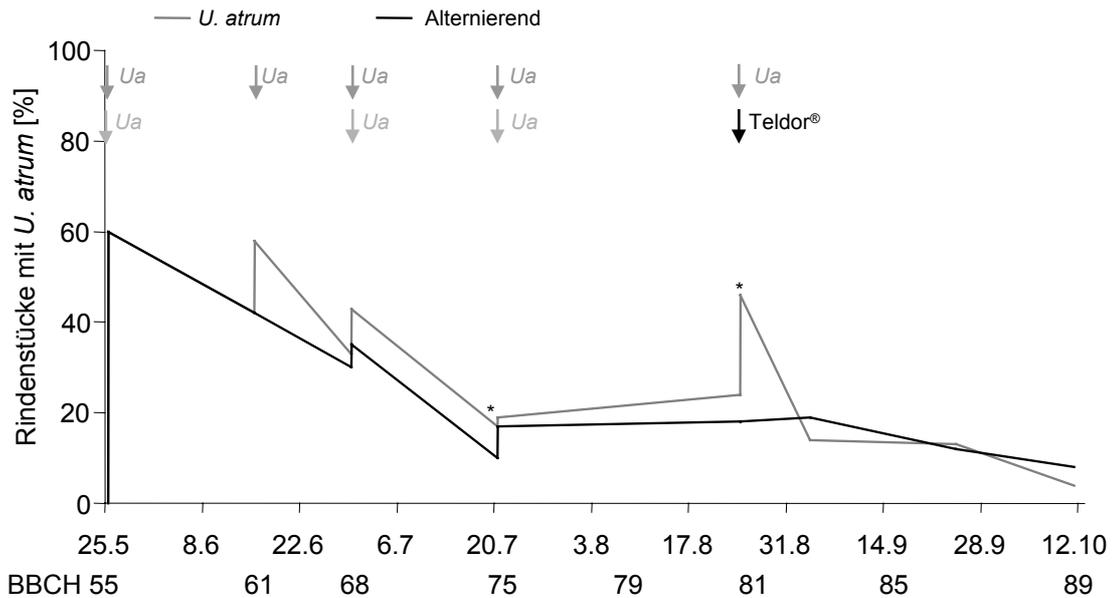


Abb. 35: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Besiedlung und Etablierung des Antagonisten auf der Rinde der Rebsorte 'Kerner' am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2001 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen Inokulationszeitpunkt von *U. atrum* bzw. des Botrytizids Fenhexamid; unterschiedliche Buchstaben zu einem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

3.5.5.2 Einfluss von *U. atrum* auf die Entwicklung von *B. cinerea* im Vegetationsverlauf

Vegetationsperiode 2000

Am Standort Kirrweiler wurde im Jahr 2000 der Einfluss der Anzahl der Applikationen von *U. atrum* auf die Entwicklung von *B. cinerea* an der Rinde der Weinrebe der Sorte 'Kerner' bestimmt. Gleichzeitig wurde die Wirkung einer alternierenden Spritzfolge mit dem Botrytizid Fenhexamid untersucht. Die Anwendungen von Fenhexamid konnten *B. cinerea* an den untersuchten Rindenproben deutlich um bis zu 95 % unterdrücken (Abb. 36). In den letzten drei Wochen vor der Ernte konnte ein stetiger Anstieg des Pathogens auf 56 % nachgewiesen werden. In dieser Phase ließ jedoch die Wirkung des Fungizids nach.

Zur Ernte konnte eine fungizide Wirksamkeit von 60 % ermittelt werden. Ähnlich der Fungizidvariante konnten die Anwendungen von *U. atrum* das Pathogen deutlich um bis zu 95 % unterdrücken. Die Wirksamkeit des Antagonisten ließ ebenso drei Wochen vor der Ernte nach, so dass noch eine Reduktion der Rindenbesiedlung mit *B. cinerea* von 30 % bestimmt werden konnte. Bei der alternierenden Applikation, in der zwei Applikationen des Antagonisten durch Fenhexamid ersetzt wurden, konnte ein additiver Effekt

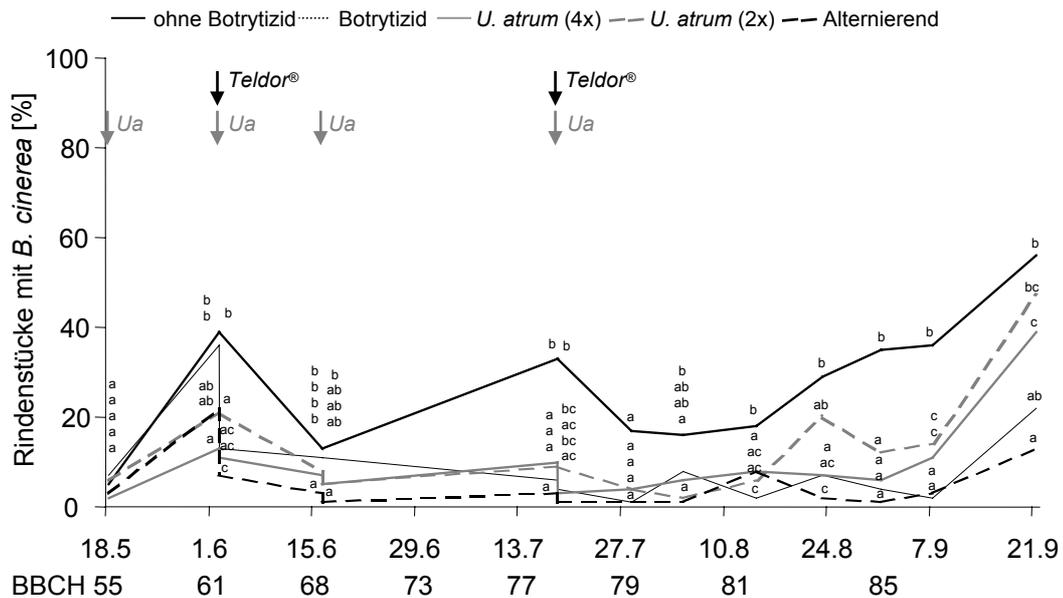


Abb. 36: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Entwicklung von *Botrytis cinerea* auf der Rebenrinde (cv. 'Kerner') am Standort Kirweiler in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen Applikationszeitpunkt von *U. atrum* bzw. des Botrytizids Fenhexamid; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rank Sum Test bei $p \leq 0,05$).

festgestellt werden. Bis zur Ernte konnte nur ein geringer Anstieg des Rindenbefalls mit *B. cinerea* verzeichnet werden, was eine deutliche Reduktion des Pathogenbefalls um 77 % bewirkte.

Im Vergleich zur Rinde konnte an den Blüten und Beeren der Weinrebe der Sorte 'Kerner' eine ähnliche Pathogenentwicklung festgestellt werden, jedoch lag das Befallsniveau deutlich über dem an der Rinde (Tab. 23). Nach zunächst niedrigem Befall konnte zu BBCH 79 sechs mal häufiger *B. cinerea* von den Beeren (52 %) isoliert werden als nach dem letzten Applikationstermin zu BBCH 77, der Befall steigerte sich bis zur Ernte auf 90 %. Damit setzte der Befall an den Beeren, wie auch in Marienthal, bereits einen Monat vor dem an der Rinde ein. Der Einsatz des Botrytizids führte während der gesamte Vegetationsperiode zu einer signifikanten Verringerung des Pathogenbefalls an Blüten und Beeren. Bei einem Befallsdruck von über 50 % zu BBCH 79 konnte kurzzeitig eine Reduktion um 70 % erzielt werden, diese fungizide Wirksamkeit verringerte sich im Laufe der Vegetation auf 42 Prozent. Sowohl der Antagonist alleine oder alternierend mit Fenhexamid zeigten eine geringere Wirksamkeit gegen *B. cinerea* an den Beeren als die reine Botrytizid-Anwendung. Eine alternierende Behandlung wirkte nur halb so gut wie das Fungizid. Die Entwicklung des Pathogens konnte anfänglich zu BBCH 79 um 40 %

Tab. 23: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Entwicklung von *Botrytis cinerea* an Blüten und Beeren von Reben (cv. 'Kerner') am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 30, unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rank Sum Test bei $p \leq 0,05$).

Behandlung	Entwicklungsstadium zum Applikationszeitpunkt [BBCH]		Befall mit <i>B. cinerea</i> [%] zu Entwicklungsstadium BBCH					
	<i>U. atrum</i>	Botrytizid	68 *	77 *	79	81	85	85
ohne Botrytizid			1 a	8 ab	52 a	70 a	70 a	92 a
Botrytizid		61 und 77	2 a	24 a	16 b	40 b	35 b	50 b
<i>U. atrum</i> (4 x)	55, 61, 68 und 77		4 a	3 b	43 a	67 a	56 a	88 a
<i>U. atrum</i> (2 x)	55 und 68		2 a	9 ab	63 a	79 c	56 ab	90 a
Alternierend	55 und 68	61 und 77	2 a	11 a	32 ab	53 b	50 ab	79 a

* nach Applikation von *U. atrum* bzw. Botrytizid

reduziert werden, jedoch bei einem hohen Befallsdruck zu BBCH 85 nur noch um 15 %. Die Unterdrückung von *B. cinerea* in den Parzellen mit vier Ausbringungen des Antagonisten lag deutlich niedriger bei vier bis 20 Prozent.

Vegetationsperiode 2001

Am Standort Kirrweiler wurde in der Vegetationsperiode 2001 die Wirksamkeit von *U. atrum* alleine und alternierend mit dem Botrytizid Fenhexamid auf die Entwicklung von *B. cinerea* auf der Rebenrinde der Sorte 'Kerner' untersucht. Bei einer gleichmäßigen Pathogenentwicklung von unter 20 % an der Rebenrinde führten zwei Behandlungen mit dem Wirkstoff Fenhexamid zu einer signifikanten Befallsreduktion, die zwischen 80 % und 98 % lag (Abb. 37). Zum Erntetermin zu BBCH 89 konnten bei den Fungizid-Behandlungen nur auf zehn Prozent der Rindenproben *B. cinerea* nachgewiesen werden. Behandlungen mit *U. atrum* führten mehrmals kurzzeitig zu einer Reduktion des Pathogenbefalls an der Rinde. Bei aufgehender Blüte zu BBCH 61 konnte der Befall signifikant um 76 % reduziert werden. Durch wiederholte Anwendung des Antagonisten konnte eine Besiedlung mit *B. cinerea* zu BBCH 75 erneut um 50 % gesenkt werden. Nach den Applikationen ließ die Wirkung von *U. atrum* jedoch schnell nach, so dass die Pathogenentwicklung im Vergleich zu Rindenstücken ohne Botrytizid-Behandlung nur geringfügig beeinflusst wurde. Deutlichere Unterschiede entwickelten sich ab BBCH 85 bis zu BBCH 89. Das Pathogen wurde weniger häufig von der Rebenrinde isoliert. Der Befall war um ein Drittel auf 35 % verringert. Bei der alternierenden Behandlung wurde im Vergleich zur fünfmaligen Ausbringung von *U. atrum* die Vorblüte-Behandlung zu BBCH

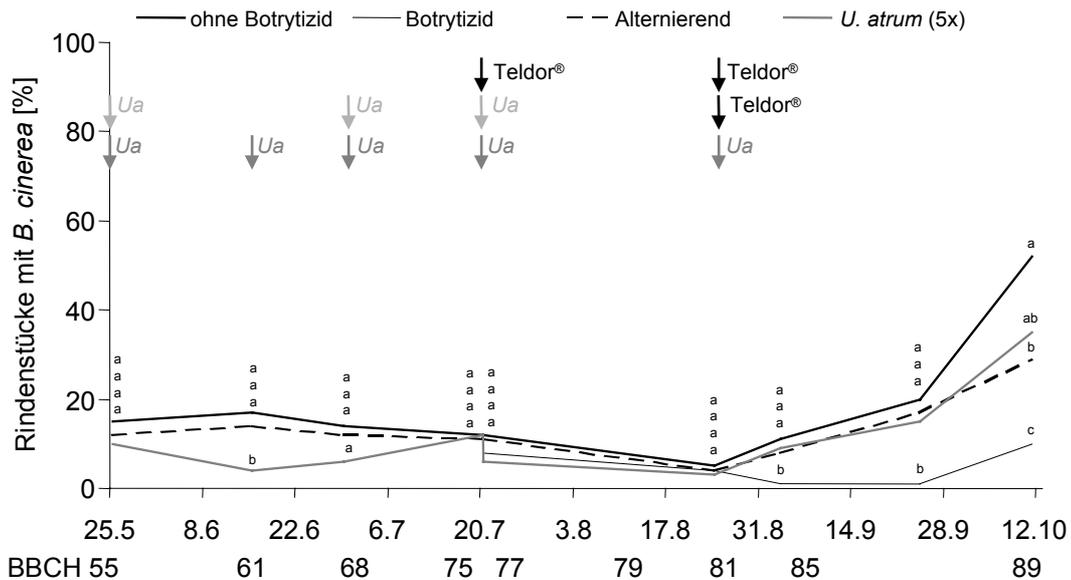


Abb. 37: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Entwicklung von *Botrytis cinerea* auf der Rebenrinde (cv. 'Kerner') am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2001 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen die Applikationszeitpunkte von *U. atrum* bzw. des Botrytizids Fenhexamid; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Mann-Whitney Rang Sum Test bei $p \leq 0,05$).

61 ausgelassen und eine Applikation zu BBCH 81 durch Fenhexamid ersetzt. Es konnte im Vergleich zur Variante mit *U. atrum* alleine ein ähnlicher Befallsverlauf von *B. cinerea* festgestellt werden. Zur Ernte stellte sich eine höhere Wirksamkeit gegen das Pathogen ein. Es wurde mit 29 % Befall eine Halbierung des Auftretens von *B. cinerea* an der Rebenrinde im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen beobachtet.

3.5.5.3 Wirksamkeit von *U. atrum* auf den Grauschimmelbefall an Trauben

Vegetationsperiode 2000

In Kirrweiler wurde im Jahr 2000 die Befallsentwicklung von *B. cinerea* an Trauben der Rebsorte 'Kerner' in Abhängigkeit der Häufigkeit der Behandlungen von *U. atrum* untersucht. Gleichzeitig wurde der Einfluss einer alternierenden Spritzfolge mit dem Botrytizid Fenhexamid erfasst. Fenhexamid-Anwendungen reduzierten den Befall der Trauben mit *B. cinerea* signifikant (Abb. 38). Nach fast vollständiger Kontrolle des Pathogens bei anfänglich geringem Befall von 12 % bis zu BBCH 85, wurde zur Ernte lediglich eine Reduktion des Befalls von 60 % auf 24 % durch die Fungizid-Applikationen ermittelt. Vier Behandlungen mit *U. atrum* führten bei dem anfänglich schwachen Befall zu einer Wirksamkeit von 13 %. Zur Ernte konnte der Grauschimmelbefall hingegen um 20 % reduziert werden. Die zwei Applikationen von *U. atrum* zeigten im Vergleich zu vier Behandlungen eine deutlich verringerte Wirksamkeit, Unterschiede zur Variante ohne

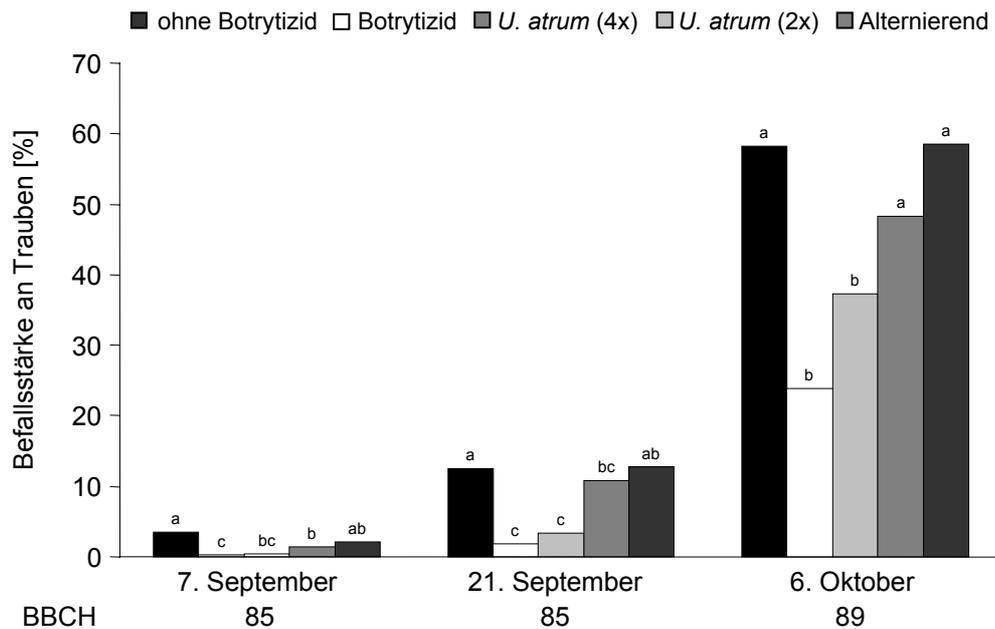


Abb. 38: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Entwicklung des Grauschimmelbefall an Trauben (cv. 'Kerner') am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode (n = 4 x 25; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

Botrytizid waren kaum mehr erkennbar. Bis zu BBCH 85 zeigte die alternierende Applikationsfolge, bei der Applikationen von *U. atrum* zu BBCH 55 und 68 alternierend mit Fenhexamid zu BBCH 61 und BBCH 78 ausgebracht wurden, ähnliche Effekte auf den Pathogenbefall der Trauben wie die Fungizid-Applikationen und zwar deutlich wirksamer als die Variante mit *U. atrum* alleine. Zur Ernte konnte jedoch eine deutlich schwächere Wirksamkeit der alternierenden gegenüber der reinen Fungizidspritzfolge ermittelt werden. 37 % der Trauben zeigten einen Befall mit Grauschimmel.

Im Jahr 2000 wurde in Kirrweiler die Anzahl der befallenen Traubenproben mit Schadsymptomen von *B. cinerea* als Befallshäufigkeit bestimmt. Bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt in der Vegetationsperiode, Anfang August, konnte ein Befall mit *B. cinerea* nachgewiesen werden (Tab. 24). Die Anzahl befallener Trauben mit Symptomen stieg gleichmäßig bis zu BBCH 89 an, so dass zur Ernte kaum noch Trauben befallsfrei waren. Durch Fungizidspritzungen konnte die Befallsrate der Trauben bis Ende August auf fünf Prozent reduziert werden. In den folgenden drei Wochen erhöhte sich der Grauschimmelbefall an den Trauben auf 34 %, und stieg bis zum Erntetermin auf über 80 % an. Vier Applikationen von *U. atrum* verringerten die Befallshäufigkeit bis Ende August um über 50 %, verloren jedoch in den drei folgenden Wochen deutlich an Wirksamkeit.

Tab. 24: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Befallshäufigkeit der Trauben (cv. 'Kerner') mit dem Erreger des Grauschimmels *Botrytis cinerea* am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 25; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

	Befallshäufigkeit der Trauben mit <i>Botrytis cinerea</i> [%]					
	August			September		Oktober
	4	23	31	7	21	6
BBCH	79	81	85	85	85	89
ohne Botrytizid	18 a	20 a	40 a	67 a	77 a	96 a
Botrytizid	1 b	1 c	5 b	23 c	34 c	86 a
Alternierend	3 b	3 c	6 b	29 bc	53 b	95 a
<i>U. atrum</i> (4x)	1 b	13 a	13 b	48 ab	75 a	97 a
<i>U. atrum</i> (2x)	6 b	14 a	27 a	52 a	83 a	97 a

Zur Ernte waren keine signifikanten Unterschiede zu den Trauben ohne Botrytizid-Einsatz mehr festzustellen. Zwei Behandlungen von *U. atrum* führten an den Rebentrauben zu einer verringerten Wirksamkeit. Eine alternierende Behandlung brachte keine Steigerung der Wirksamkeit, diese war niedriger als bei der reinen Fenhexamid- Anwendung.

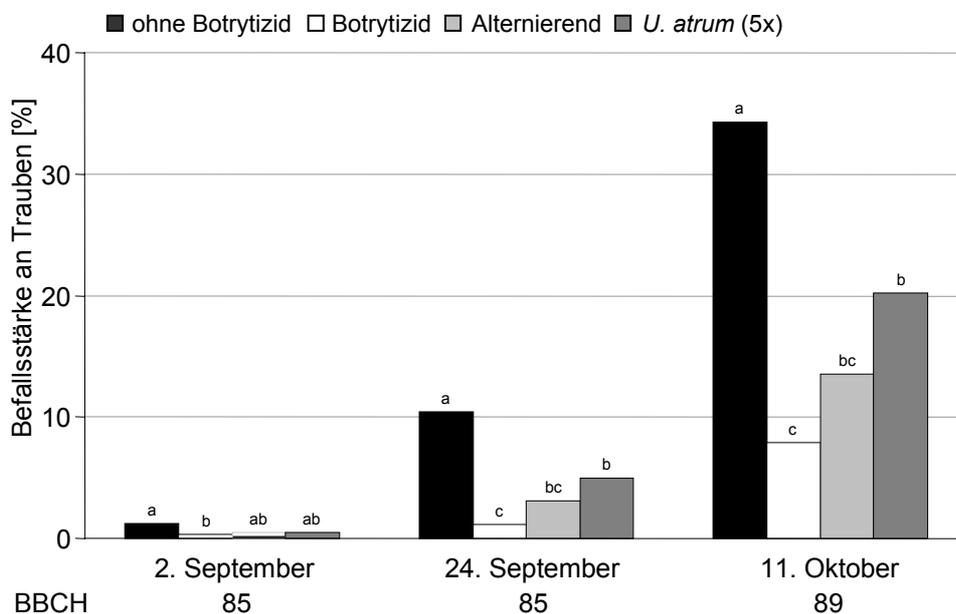


Abb. 39: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf die Entwicklung des Grauschimmelbefalls an Trauben (cv. 'Kerner') am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode Jahr 2001 (n = 4 x 25; unterschiedliche Buchstaben zu jedem Boniturtermin kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

Vegetationsperiode 2001

Im Jahr 2001 wurden am Standort Kirrweiler Applikationsfolgen mit *U. atrum* und dem Fungizid Fenhexamid alleine mit einer alternierenden Behandlung verglichen. Bei der alternierenden Ausbringung wurde die Inokulation des Antagonisten vor der Blüte zu BBCH 61 ausgesetzt und die letzte Applikation durch eine Botrytizidspritzung ersetzt. Durch die alleinige Fenhexamid- Anwendungen zu BBCH 75 und BBCH 81 konnte der Traubenbefall mit *B. cinerea* unter zehn Prozent gehalten werden, trotz starkem Befallsanstieg auf 34 % an den unbehandelten Trauben (Abb. 39). Fünfmalige Applikationen von *U. atrum* verringerten den Traubenbefall deutlich, bis zur Ernte konnte eine Wirksamkeit von über 40 % ermittelt werden. 20 % der Rebentrauben zeigten Symptome. Bei der alternierenden Behandlung lag die Wirksamkeit gegen den Grauschimmelbefall zwischen den Effekten der beiden anderen Behandlungen bei 60 %.

3.5.6 Integration von *U. atrum* in konventionelle Pflanzenschutzverfahren

Im konventionellen Weinbau werden Spritzfolgen mit Pflanzenschutzmittel ausgebracht, um die Pflanzen vor Befall durch pilzliche und tierische Schadorganismen zu schützen. Nachfolgend wurde die Nutzung von Applikationen mit *U. atrum* als Bestandteil solcher konventioneller Maßnahmen untersucht. Dazu wurde der Einfluss der an den beiden Standorten Marienthal und Kirrweiler in den Versuchsjahren 2000 und 2001 für versuchsbegleitende konventionelle Spritzfolgen verwendeter Präparate *in vitro* und im Freiland auf *U. atrum* untersucht.

3.5.6.1 *In vitro*- Sensitivität gegenüber Pflanzenschutzmitteln

An den Standorten Marienthal und Kirrweiler wurden in den Jahren 2000 und 2001 konventionelle Pflanzenschutzmaßnahmen mit Fungiziden und Insektiziden durchgeführt. In begleitenden Laborversuchen wurde die Sensitivität von *U. atrum* und *B. cinerea* auf diese Produkte anhand der Sporenkeimung und des Myzelwachstums untersucht (Tab. 25). Dabei wurden die Handelspräparate mit 0, 0,1, 1, 10, 50 und 100 ppm aktive Substanz Wirkstoff getestet. Die *Botrytis*-Standardprodukte Fenhexamid und Vinclozolin zeigten gegen die Sporenkeimung von *B. cinerea* einen EC₅₀-Wert von 0,3 bzw. 1,8 ppm a.i. und gegen das Myzelwachstum sogar von weniger als 0,1 ppm a.i.. Spezialfungizide zur Bekämpfung von u. a. Echten und Falschen Mehltau zeigten weniger als ein fünfzigstel bis keinen nachweisbaren Einfluss auf die Sporenkeimung von *U. atrum* und *B. cinerea*. Die Sterolbiosynthesehemmer Fenarimol, Penconazol und Triadimenol verringerten jedoch deutlich das Myzelwachstum beider Organismen. Für Fenarimol wurde ein EC₅₀-Wert von 0,5 ppm a. i. gegen *U. atrum*, für Penconazol ein EC₅₀-Wert von 1,0 ppm a. i. gegen *B. cinerea* als höchste Wirksamkeit bestimmt. Diese Werte

beschreiben ein Fünftel bis ein Zehntel der Wirksamkeit von Fenhexamid bzw. Vinclozolin gegen *B. cinerea*. Protektiv wirksame Fungizide mit breitem Wirkungsspektrum hatten eine Verringerung der Sporenkeimung und des Myzelwachstums zur Folge. Das Wirkniveau gegen die Sporenkeimung lag deutlich unter einem Fünftel, gegen das Myzelwachstum unter einem Hunderstel der Wirksamkeit der Botrytizide. Lediglich Mancozeb zeigte eine höhere Sporenkeimhemmung von *B. cinerea* als der Standard Fenhexamid. Auffallend war die deutliche Wirksamkeit des Insektizids Parathion-methyl gegen *B. cinerea*. Mit EC₅₀-Werten von 1,5 und 6 ppm a. i. gegen die Sporenkeimung bzw. das Myzelwachstum des Pathogens glich die Wirksamkeit der eines Basisfungizids. Eine Wirkung gegen *U. atrum* konnte hingegen nicht beobachtet werden.

Tab. 25: *In vitro*- Sensitivität von *Ulocladium atrum* bzw. *Botrytis cinerea* gegenüber Fungiziden aus unterschiedlichen Wirkstoffklassen, verwendet für die konventionellen Pflanzenschutzmaßnahmen an Reben während der Freilandversuche an den Standorten Marienthal und Kirrweiler in den Vegetationsperioden 2000 und 2001 (n = 4; Auswertung nach 7d; 20 °C; Hafer - Nährmedium).

Wirkstoff	Handelspräparat	EC ₅₀ [ppm a. i.]			
		<i>Ulocladium atrum</i>		<i>Botrytis cinerea</i>	
		Sporen- keimung	Myzel- wachstum	Sporen- keimung	Myzel- wachstum
Fenhexamid	Teldor®	> 100	81,5	0,3	0,1
Vinclozolin	Ronilan W®	> 100	> 100	1,8	0,1
Azoxystrobin	Quadris®	> 100	> 100	16,0	> 100
Dimethomorph	Forum®	> 100	97,7	> 100	> 100
Dithianon	Delan®	19,5	43,2	2,6	19,0
Fenarimol	Rubigan®	> 100	0,5	> 100	12,7
Fenarimol + Quinoxifen	Vento®	> 100	5,6	> 100	> 100
Folpet + Metalaxyl-M	Ridomil Gold Combi®	1,7	8,3	1,6	70,3
Iprovalicarb + Tolyfluanid	Melody M®	> 100	> 100	> 100	2,7
Mancozeb	Dithane Ultra®	6,2	16,9	0,1	12,1
Metiram	Polyram Combi®	11,9	69,3	11,7	71,0
Netzschwefel	Sulphur	> 100	> 100	> 100	> 100
Parathion-methyl*	ME 605®	> 100	> 100	1,5	6,3
Penconazol	Topas®	> 100	1,4	51,5	1,0
Propineb	Antracol WG®	46,4	34,9	11,3	> 100
Spiroxamine	Prosper®	> 100	6,6	> 100	10,8
Triadimenol	Bayfidan®	> 100	7,2	> 100	12,5

* insektizider Wirkstoff mit fungizider Nebenwirkung

3.5.5.2 Kombination von *U. atrum* mit konventionellen Pflanzenschutzmaßnahmen

Der Einfluss der konventionellen Pflanzenschutzmaßnahmen auf den Entwicklungsverlauf von *B. cinerea* an den ansonsten unbehandelten Weinreben und auf die Besiedlung von *U. atrum* an Rebstöcken mit viermaliger Applikationsfolge des Antagonisten wurde in den Vegetationsperioden 2000 und 2001 an den Standorten Marienthal und Kirrweiler verfolgt. Die Untersuchungen wurden durch Beprobungen der Rebenrinde durchgeführt. Am Standort Marienthal konnte in beiden Vegetationsperioden keine Beeinflussung der Rindenbesiedlung mit beiden Pilze durch die Fungizidmaßnahmen festgestellt werden. In Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2000 stieg vor der Blüte zu BBCH 61 die Anzahl der Rindenstücke, von denen *B. cinerea* isoliert werden konnte, zunächst auf 40 % an und verringerte sich dann bis BBCH 68 um zwei Drittel auf 13 % (Abb. 40). Bis zum Entwicklungsstadium BBCH 77 stieg der Rindenbefall von *B. cinerea*, an Weinreben ohne sonstige Behandlung, gleichmäßig, wenn auch langsam, wieder auf 35 % an, jedoch kam es bis zu BBCH 79 zu einer erneuten Halbierung des Auftretens des Pathogens an den Rindenstücken. Auffällig war, dass der deutliche Rückgang der Rindenbesiedlung von *B. cinerea* mit Tankmixapplikationen des Fungizides Spiroxamine und dem Insektizid Parathion-methyl einherging. Weitere Spritzungen von Fungiziden in der Vegetation zeigten keinen Einfluss auf die Entwicklung. Ebenso konnte keine Beeinflussung von

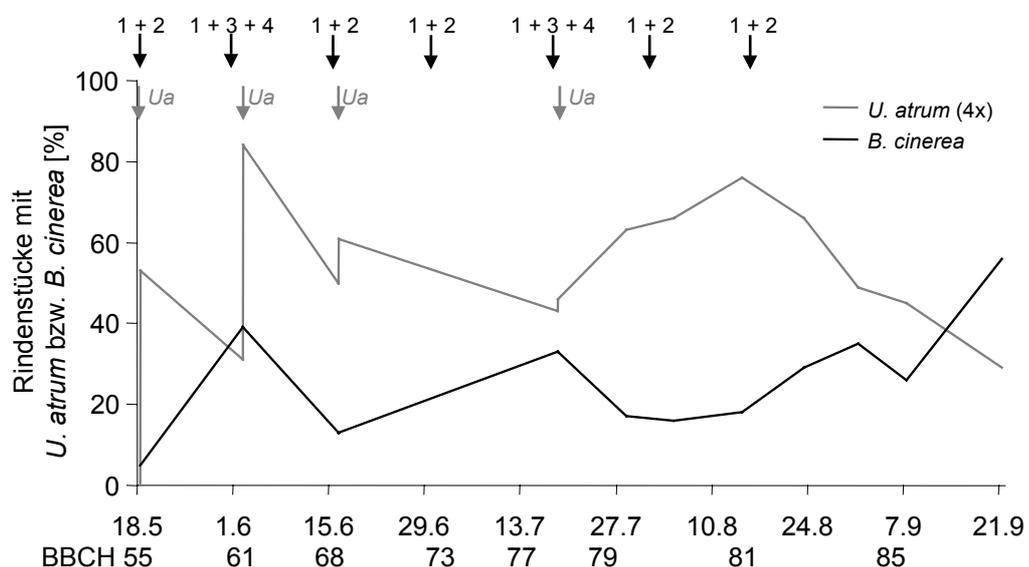


Abb. 40: Einfluss konventioneller Pflanzenschutzmaßnahmen auf die Besiedlung und Etablierung von *U. atrum* sowie die Entwicklung von *Botrytis cinerea* auf der Rebenrinde (cv. 'Kerner') am Standort Kirrweiler in der Vegetationsperiode 2000 (n = 4 x 25; Pfeile kennzeichnen Applikation konventioneller Pflanzenschutzmaßnahmen (ohne Botrytizid) und Ausbringung des Antagonisten; 1 – Propineb, 2 – Triadimenol, 3 – Spiroxamine und 4 – Parathion-methyl).

U. atrum festgestellt werden. Dagegen konnte in der Vegetationsperiode 2001 in Kirrweiler *B. cinerea* bis zu BBCH 81 konstant mit einer Häufigkeit von 10 % bis 20 % an der Rebenrinde nachgewiesen werden, obwohl gleichzeitig Tankspritzungen mit Spiroxamine und Parathion-methyl durchgeführt wurden.

3.5.6 Einfluss auf den Beerenertrag und den Ausbau des Weines

An den Standorten Marienthal und Kirrweiler wurden die Weintrauben durch Handlese geerntet und der Ertrag je Pflanze sowie der Zuckergehalt bestimmt. Anschließend wurde von allen Behandlungen Wein in Glasballons ausgebaut und der Gärverlauf beobachtet. In Kirrweiler wurde der gewonnene Wein auf seinen Alkohol-, Restzucker- und Säuregehalt, wie auch den pH Wert untersucht. Zudem wurde eine sensorische Prüfung und Bewertung des ausgebauten Weins durchgeführt.

In Marienthal konnte der Traubenertrag in beiden Vegetationsperioden durch Applikationen des Botrytizid im Vergleich zu ohne Botrytizid- Anwendungen gesteigert werden. Der Ertrag im Jahr 2000 lag bei den Fungizid-Behandlungen drei Mal so hoch mit 2,4 kg pro Pflanze (Tab. 26), während er im Folgejahr nur um 13% auf 2,7 kg je Pflanze gesteigert werden konnte (Tab. 27). Die Anwendungen von *U. atrum* führten in beiden Vegetationsperioden kaum zu Veränderungen des Traubenertrags. Dabei zeigten die unterschiedlichen Anwendungen des Antagonisten, wie das verwendete Anzuchtmedium, die Inokulumdichte oder auch unterschiedlich terminierte Spritzfolgen von *U. atrum*, keinen Einfluss. In Marienthal wurden die Rebentrauben cv. 'Müller Thurgau' in beiden Vegetationsperioden mit einem relativ niedrigen Zuckergehalt von 62 bis 65 °Oechsle

Tab. 26: Einfluss der Sporendichte und des Anzuchtnährmediums von *Ulocladium atrum* auf den Ertrag, Alkohol-, Zuckergehalt und pH Wert der Rebentrauben Sorte 'Müller Thurgau' am Standort Marienthal zum Erntetermin am 27. September 2000 (n = 4; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

	Konzentration [Sporen/ ml]	Ertrag pro Pflanze [kg]	Alkoholgehalt [° oo]	Zuckergehalt [°Oechsle]	pH Wert
ohne Botrytizid		0,9 b	9,33 ab	63 a	3,6 a
Botrytizid		2,4 a	8,85 b	65 a	3,6 a
<i>U. atrum</i> Haferkörner	2×10^6	1,1 b	8,95 ab	64 a	3,7 a
<i>U. atrum</i> Bulgar	4×10^5	0,9 b	9,65 a	63 a	3,6 a
<i>U. atrum</i> Bulgar	2×10^6	1,1 b	9,58 ab	64 a	3,7 a

Tab. 27: Einfluss des Applikationszeitpunktes von *Ulocladium atrum* auf den Ertrag, Alkohol-, Zuckergehalt und pH Wert der Rebsorte 'Müller Thurgau' am Standort Marienthal zum Erntetermin am 4. Oktober 2001 (n = 4; keine Signifikanz nach Tukey bei $p \leq 0,05$).

	Ertrag pro Pflanze [kg]	Alkoholgehalt [°/ oo]	Zuckergehalt [°Oechsle]	pH Wert
ohne Botrytizid	2,4	8,15	62	3,3
Botrytizid	2,7	7,93	63	3,1
<i>U. atrum</i> früh BBCH 55, 61, 68 und 79	2,1	7,90	63	3,1
<i>U. atrum</i> spät BBCH 61, 68, 79 und 85	2,1	8,63	64	3,2

geerntet. Im Vergleich dazu lag der Zuckergehalt der Trauben der Rebsorte 'Kerner' in Kirrweiler deutlich höher, in den Anwendungen mit Fenhexamid bei 80 bzw. 85 °Oechsle (Abb. 28). Bei den Varianten mit *U. atrum* lag der Zuckergehalt noch um weitere 5 bis 10 °Oechsle höher.

Tab. 28: Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf den Zuckergehalt der Rebsorte 'Kerner' am Standort Kirrweiler zum Erntetermin am 10. Oktober 2000 und den Alkohol-, Restzucker- und Säuregehalt des Weines nach Ausbau im Glasballon mit anschließender sensorischer Prüfung (Analyse 12. Januar 2001).

	Ernte		Weinausbau			
	Zuckergehalt [°Oechsle]	Alkoholgehalt [Vol. %]	Restzucker [g/ l]	Säure [g/ l]	sensorische Prüfung*	
					Note	Bemerkung
ohne Botrytizid	85	11,7	10,9	7,5	1,0	harmonisch, feine Süsse, fruchtig
Botrytizid	80	11,7	11,6	9,1	1,0	sauber, schöne Frucht
Alternierend	89	12,1	15,6	7,0	1,0	sauber, streng, nicht rund
<i>U. atrum</i> (4x)	88	11,5	16,5	7,3	1,0	sauber, fruchtig, saftig, schön
<i>U. atrum</i> (2x)	91	11,9	10,2	6,9	1,0	sauber, fruchtig, schön, Bukett

* sensorische Prüfung: 1 - sehr gut 3 – befriedigend 5 – mangelhaft

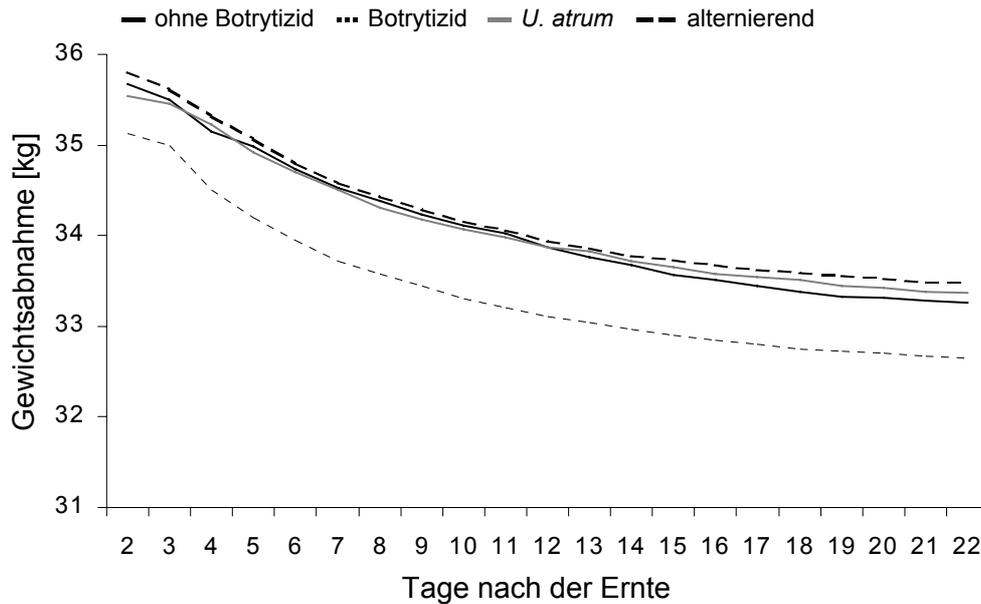


Abb. 41 Einfluss von *Ulocladium atrum* in alternierenden Applikationen mit Fenhexamid auf den Gärverlauf beim Ausbau des Weines (cv. 'Kerner') am Standort Kirrweiler (Ballonabfüllung am 17. Oktober 2001).

Während des Ausbaues des Weines konnte kein Einfluss der Behandlungen auf den Gärverlauf der Rebsorte 'Kerner' festgestellt werden (Abb. 41). Nachdem die Weine der verschiedenen Varianten ausgebauten waren konnten keine Unterschiede im Alkoholgehalt nachgewiesen werden. Auffallend war hingegen der deutlich höhere Säuregehalt der mit Fenhexamid behandelten Parzellen im Jahr 2000, dieser lag um 2 g/l über dem der übrigen. Spritzfolgen mit viermaliger Behandlung von *U. atrum* sowie Applikationen alternierend mit *U. atrum* und Botrytizid hatten einen höheren Restzuckergehalt zur Folge (Abb. 28).

4. DISKUSSION

Das Pathogen *B. cinerea* ist weltweit verbreitet mit einem weiten Wirtskreis und verursacht hohe wirtschaftliche Schäden. Eine Bekämpfung kann mit einer Reihe von Fungiziden erfolgen, ist jedoch nicht immer erfolgreich. Daher werden auch andere Bekämpfungsmöglichkeiten, wie biologische Präparate, in Erwägung gezogen. Antagonisten können direkt auf das Pathogen wirken bzw. die epidemische Entwicklung im Bestand beeinträchtigen. Der pilzliche Organismus *U. atrum* besitzt das Potenzial das Pathogen *B. cinerea* erfolgreich zu bekämpfen (BOFF 2001, FRUIT 2001, KESSEL 1999, KÖHL et al. 1998, 2000). In dieser Arbeit wurde der Einfluss des Pathogengenotyps auf die antagonistische Wirksamkeit von *U. atrum* gegen *B. cinerea* auf unterschiedlichen Geweben verschiedener Kulturpflanzen, sowohl unter kontrollierten Bedingungen, als auch im Freiland untersucht.

B. cinerea besitzt von den *Botrytis*-Arten den größten Wirtskreis und verursacht hohe wirtschaftliche Schäden an wichtigen Kulturen, sowohl in der Produktionsphase als auch bei der Lagerung und dem Transport. *B. cinerea* kann an fast allen Pflanzenteilen, wie Blättern, Stängeln, Blüten und Früchten, Schäden verursachen sowie saprophytisch auf nekrotischem Gewebe leben. In der vorliegenden Arbeit wurden Isolate von *B. cinerea* an Begonien- und Paprikapflanzen sowie an Weinreben untersucht, wobei es stets zu hohen Befallswerten an den Pflanzen kam. Dagegen sind andere *Botrytis*-Arten wirtsspezifisch und verursachen deutlich geringere wirtschaftliche Schäden (JARVIS 1980a).

Die Hyphenzellen verschiedener Isolate der *Botrytis*-Arten sind mehrkernig und vereinzelt heterokaryotisch. Die sexuelle Rekombination und Heterokaryose ermöglichen eine hohe Variabilität und damit die Fähigkeit sich an die wechselnden Umweltbedingungen anzupassen und ermöglichen z. B. das Auftreten von wirtsspezifischen Populationen innerhalb einer Art und unterschiedlicher Fungizidsensitivität einzelner Phenotypen (FARETRA und GRINDLE 1992, LORBEER 1980). Es konnte auch in den eigenen Untersuchungen gezeigt werden, dass die Aggressivität von *B. cinerea* gegen ein Wirtsgewebe isolatspezifisch war. Nach VON TIEDEMANN et al. (2000) ermöglichen verschiedene wirtsunspezifischen Pathogenitätsfaktoren *B. cinerea* einen so großen Wirtspflanzenkreis zu infizieren und zu besiedeln.

Der Hyphomycet *Ulocladium atrum* Preuss (*Stemphylium atrum* (Pr.) Sacc.) wurde erstmalig 1852 von Preuss beschrieben (SIMMONS, 1967). Wie von DAVID und KELLEY (1995) und SIMMONS (1998) gezeigt, konnten in den eigenen Untersuchungen überwiegend dunkelbraune, stark septierte, fast ballförmige Sporen beobachtet werden, die in ihrer Morphologie einigen *Alternaria* Gattungen ähneln (BARNETT und HUNTER 1998, PRYOR und GILBERTSON 2000). Der saprophytische Pilz ist weltweit an Pflanzenmaterial

und im Boden verbreitet (FARR et al. 1989), wo er am Abbau von organischem Material beteiligt ist (ALMENDROS et al. 1985a, b). Das Isolat Ua385 wurde vor einigen Jahren von nekrotischen Lilienblattspitzen isoliert und als wirksames 'biological control agent' (BCA) gegen *Botrytis* spp. beschrieben (KÖHL et al. 1995a). Ähnlich, wie bereits an verschiedenen Kulturpflanzen beobachtet, verursachte das Isolat Ua385 in eigenen Untersuchungen an Jungpflanzen von Begonien, Paprika und Reben keine Symptome am Pflanzengewebe. In einigen wenigen Literaturquellen wird der Saprophyt *U. atrum* als unbedeutendes Pathogen an Pflanzen aufgeführt, der Blattflecken z. B. an Gurken (Großbritannien, BUTLER et al. 1979), an Kartoffeln (Peru und Türkei, TURKENSTEEN 1979, DEMIRCI und DÖKEN 1979), sowie Doldenabsterben (Achene blemish syndrom) an Sonnenblumen (Israel, SHITIENBERG 1994) hervorruft. Weiter wird die Wirkung von *U. atrum* als mögliches Bioherbizid gegen *Orobanch*e spp. in Bohnen (LINKE et al. 1992) beschrieben. Nach DOSTER und MICHAILIDES (1999) führte die Besiedlung der Schalen von Pistazien mit *U. atrum*, der damit verbundenen Verfärbung und dem frühzeitigen Aufbrechen der Nuss, zu einer deutlichen Qualitätsminderung der Nüsse. In der Literatur werden anderen *Ulocladium*-Arten, wie *U. charatarum*, *U. consortiale* und *U. curcubitae*, als Pflanzenpathogene beschrieben (BEDLAN 1999, FARR et al. 1989, REIMERS et al. 1993, VANNINI et al. 2000, ZITTER und HSU 1990, 1992).

Die Kontrolle von *B. cinerea* in Pflanzenkulturen kann auf verschiedenen Wegen erfolgen. Vorbeugende Maßnahmen schließen die Kulturführung wie Düngung, Bewässerung oder Pflanzweiten und somit die Steuerung des Bestandsklimas ein. Hygiene in der Kulturführung stellt ebenso einen wichtigen Faktor dar. Die in dieser Arbeit gewählten Inokulations- und Inkubationsbedingungen beschreiben die Bedeutung dieser Faktoren. Die höchsten Befallswerte wurden bei 100 % rel. Luftfeuchte an gut ernährten Pflanzen mit hoher Inokulumdichte von *B. cinerea* erzielt. Chemische Pflanzenschutzmaßnahmen konzentrieren sich auf Anwendungen von synthetischen Fungiziden, die nach ihren Wirkmechanismen (Target im pilzlichen Stoffwechsel) in sechs Klassen unterteilt werden können: (I) Hemmung der Mikrotubulibiosynthese (Carbendazim, Diethofencarb), (II) Hemmung der Signaltransduktion (Fludioxonil), (III) Hemmung der Lipidsynthese (Vinclozolin), (IV) Hemmung der Aminosäurebiosynthese (Cyprodinil und Pyrimethanil), (V) Hemmung der Sterolbiosynthese (SBI) in der Membran (C4-Demethylierung, Fenhexamid) und (VI) solche mit einem breiten Wirkmechanismus ('Multi site' Inhibitoren, Tolyfluanid) (GULLINO et al. 2000b, LEROUX 1995, LEROUX et al. 2002). Auf Grund der hohen Generationsfolge des Pilzes ist die Gefahr der Ausbildung von Resistenzen sehr hoch einzuschätzen (GULLINO 1992, MAUDE 1980).

Es wird deutlich, dass zur effizienten Gestaltung von Kulturverfahren zur Bekämpfung eines Pathogen wie *B. cinerea* fortlaufend nach innovativen Methoden gesucht wird. Die

Ausbringung von antagonistischen Mikroorganismen ist ein solches Verfahren. Heute ist es praxisüblich, eine Kombination oder eine wechselnde Folge von Fungiziden aus unterschiedlichen Wirkstoffklassen zur Vermeidung von Resistenzen zu verwenden (LEROUX 1995, LEROUX und DESCOTES 1996, LEROUX et al. 2002). Trotz einer Vielzahl verfügbarer Wirkstoffe aus unterschiedlichen Wirkstoffklassen und verbesserten Applikationstechniken ist eine effektive Bekämpfung von *B. cinerea* meist kompliziert und unvollständig (GULLINO 1992). In den eigenen Feldversuchen an Weinreben wurde dies am Standort Kirrweiler deutlich. Konventionelle Spritzfolgen, die übliche Botrytizidanwendungen einschlossen, führten zu keiner ausreichenden Bekämpfung des Grauschimmels an den Trauben im Jahr 2000.

Die Anwendung von Antagonisten an oberirdischen Pflanzenteilen ist im Vergleich zur Bekämpfung von Bodenpathogenen nur wenig untersucht. Vor allem werden Antagonisten gegen Pathogene wie *B. cinerea* gesucht, die zur Resistenzbildung gegen konventionelle Fungizide neigen (KÖHL et al. 1997). Die biologische Bekämpfung von Pathogenen beruht u. a. auf der vorbeugenden Applikation von Mikroorganismen als Gegenspieler, die als 'biological control agents' (BCA) bezeichnet werden. In den eigenen Untersuchungen erwies sich die vorbeugende Ausbringung von *U. atrum* wirksamer als die gleichzeitige Applikation von Antagonist und Pathogen. Aber auch die Anwendung von *U. atrum* auf bereits von *B. cinerea* befallenen Geweben zeigte noch eine, wenn auch niedrigere Wirksamkeit. Die Wechselwirkung zwischen Antagonist und Pathogen kann über einen längeren Zeitraum stattfinden und beeinträchtigt den Stoffwechsel und das Überleben des Pathogens und bewirkt damit einen indirekten Schutz der Pflanze (KÖHL et al. 1995b). Dies ist bei Pathogenen wie *B. cinerea*, mit mehreren Entwicklungszyklen in der Saison bzw. nur kurzer Generationszeit, wichtig. Der Befallsdruck wird dadurch verringert. Auch COOK (2002) beschreibt diesen Einfluss späterer Anwendung auf Zielflächen mit bereits sporulierenden Pathogenen auf deren epidemische Entwicklung.

Ein Antagonist kann auf verschiedene Entwicklungsstadien eines nekrotrophen Pathogens wie *B. cinerea* wirken. Als wichtige Stadien werden die Infektion des Wirtes, die weitere Befallsentwicklung und die Überdauerung genannt (FOKKEMA 1993, FOKKEMA et al. 1994, KESSEL 1999, KÖHL und FOKKEMA 1998b). Dabei können verschiedene Wirkmechanismen wie die Antibiose (KNUDSEN und SPURR 1987), Hyperparasitismus (PAUL 1999), Konkurrenz um Raum und Nährstoff (BLAKEMAN 1993, ELAD 1996), aber auch induzierte Resistenz der Wirtspflanze (ELAD et al. 1994a, b, TERRY und JOYCE 2000) zum Tragen kommen.

Die wirkungsvollsten Mechanismen von Antagonisten, die ein Pathogen direkt unterdrücken, sind die Produktion von Antibiotika oder lytischer Enzyme. Ein Antibiotika

produzierendes Isolat des Bakteriums *Bacillus subtilis* war im Stande Astilben vor einer Infektion mit *B. cinerea* zu schützen, solange keine Resistenz der *Botrytis*- Population gegenüber den Antibiotika auftrat (LEIFERT et al. 1995, LI und LEIFERT 1994). In den eigenen Untersuchungen enthielten Kulturfiltrate von *U. atrum* keine Stoffe, die die Entwicklung von *B. cinerea* hemmten. Ebenso bildeten sich keine Hemmhöfe zwischen dem Myzel von *U. atrum* und *B. cinerea* auf Nährmedien aus. Der Wirkmechanismus des Pilzes *Trichoderma harzianum* T39 (Trichodex®) beruht auf der Konkurrenz um Raum und Nährstoffe, der Inaktivierung hydrolytischer Enzyme, die auf der Blattoberfläche von *B. cinerea* in der ersten Phase von Wirt- Pathogen- Interaktion gebildet werden, und induzierter Wirtsresistenz (ELAD und KIRSHNER 1993, ELAD et al. 1994c, ELAD et al. 1998, KAPAT et al. 1998, ZIMAND et al. 1996). Das Bakterium *Bacillus brevis* verhindert eine Infektion mit *B. cinerea* durch Produktion einer oberflächenaktiven Substanz, welche die Blattnässe und Wasserverfügbarkeit für die Keimung reduziert, sowie durch Produktion des Metaboliten Granicidin S, der die Keimung und das Myzelwachstum des Pathogens hemmt (EDWARD und SEDDON 1992, SEDDON und SCHMITT 1998).

Blattpathogene wie *B. cinerea* sind in der Lage an der Rinde und im Pflanzengewebe von Reben Sklerotien zuzubilden, womit das Pathogen über mehrere Jahre überdauern kann. Sklerotien stellen meist neue Inokulumquellen dar und führen zu einem neuen Populationsaufbau in der folgenden Vegetationsperiode (FOKKEMA 1993). In der Literatur ist jedoch nur wenig über die Wirkung von Mikroorganismen auf die Überdauersformen von *B. cinerea* bekannt. SCHOENE (2002) zeigte, dass *U. atrum* zwar die Sklerotien von *B. cinerea* überwachsen, jedoch diese nicht abtöten konnte. Dagegen beschrieben KÖHL und SCHLÖSSER (1989) *Trichoderma*- Arten, die Sklerotien von *B. cinerea* abtöten konnten. Ebenso wird eine gute Wirksamkeit des Mykoparasiten *Coniothyrium minitans* (Contans®) gegen die Sklerotien einiger *Sclerotinia*-Arten beschrieben (GERLAGH et al 1993, WHIPPS 1993).

Nährstoffe in der Phyllosphäre, wie Pollenkörner, Honigtau von Insekten und Ausscheidungen der Pflanzen, regen eine Infektion mit nekrotrophen Pathogenen auf der Blattoberfläche an (BLAKEMAN und FOKKEMA 1982, DIK et al. 1991). Dieser stimulierende Effekt kann jedoch durch die natürlich vorkommenden Mikroorganismen, welche die Nährstoffe in der Phyllosphäre reduzieren, neutralisiert werden und führt somit zu einer natürlichen Befallskontrolle von nekrotrophen Pathogenen (FOKKEMA und LORBEER 1974). Antagonisten können auch mit *B. cinerea* um Raum und Nährstoffe konkurrieren. Die Wirksamkeit von *Trichoderma viride* und *Gliocladium roseum* (*Clonostachys roseum*) auf die Sporulation von *B. cinerea* beruht auf der Besiedlung des Gewebes und der Konkurrenz um Nährstoffe, wobei *G. roseum* ebenfalls als Mykoparasit der Hyphen,

Sporen und Sklerotien des Pathogens beschrieben wird (MORANDI et al. 2000, 2001, PENG und SUTTON 1991, SUTTON et al. 1997). Die Hefen *Rhodotorula glutinis* und *Cryptococcus albidus* zeigen die Fähigkeit, die Sporulation von *B. cinerea* zu unterdrücken, indem diese die austretenden Nährstoffe des geschädigten Wirtsgewebes aufnehmen, und damit den Infektionsbefall an Tomaten und Bohnen reduzieren. Die Hefen konkurrieren um Nährstoffe und induzieren wahrscheinlich eine Steigerung der intrinsischen Resistenzen der Wirtspflanzen gegenüber dem Pathogen (ELAD et al. 1994a, b).

Der Wirkmechanismus des Mikroorganismus *U. atrum* wurde von verschiedenen Forschergruppen untersucht. Dabei konnte wie in den eigenen Untersuchungen an *U. atrum* anhand von Biotestverfahren auf nekrotischen Pflanzengewebe ein deutlicher Einfluss des saprophytischen Pilzes auf die Sporulation von *B. cinerea* festgestellt werden, wie auch an Erdbeeren (PENG und Sutton 1991), Zwiebeln (KÖHL et al. 1992), Cyclamen und Hortensien (KÖHL et al. 1998a) gezeigt werden konnte.

BERTO et al. (2000, 2001) untersuchten die enzymatische Aktivität von *U. atrum* während der Besiedlungsphase von nekrotischen Erdbeergewebe und stellten fest, dass das Isolat Ua385 pflanzliche und pilzliche Zellwand abbauende Enzyme, besonders β -1-3-Glucanase, produziert, die bei der konkurrierenden Besiedlung mit *B. cinerea* von nekrotischen Erdbeerblättern von großer Bedeutung sind. Eine Kombination mit anderen Mechanismen, die bei der Interaktion beider Pilze eine Rolle spielen könnten, wie die Bildung von Toxinen und anderen sekundären Metaboliten von *B. cinerea*, wurde in diesen Untersuchungen jedoch nicht ausgeschlossen.

Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zielten u. a. darauf ab, die Wirksamkeit eines Antagonisten gegen verschiedene Isolate von *B. cinerea* zu prüfen. Zu dieser Fragestellung ist nur sehr wenig Literatur vorhanden. Verschiedene saprophytische Pilze wurden auf ihre Fähigkeit mit *Botrytis* spp. bei der Besiedlung von nekrotischen Gewebe zu konkurrieren untersucht (ELAD et al. 1994b, FOKKEMA et al. 1994, KÖHL et al. 1995a, YOHALEM 2001). In Biotestverfahren wurden teilweise zwar verschiedene Isolate der Antagonisten verwendet, jedoch die antagonistische Wirksamkeit gegenüber nur einem Isolat von *B. cinerea* untersucht. Lediglich WHITEMAN und STEWART (1998) verwendeten bei den Untersuchungen der Wirksamkeit des Bakteriums *Serratia liquefaciens* ein Sporengemisch aus drei verschiedenen Isolaten von *B. cinerea*. Die eigenen Ergebnisse zeigen deutliche Unterschiede der Wirksamkeit von *U. atrum* gegen verschiedene Isolate von *B. cinerea*. Konnte die Sporulation einiger Isolate wie z.B. Isolat 48, nicht verringert werden, lag die Wirkung für andere bei bis zu 70 %. Diese

Isolatunterschiede bestimmen folglich den Erfolg der Anwendungen von *U. atrum* gegen einen Grauschimmelbefall mit.

Eine Reihe von Labor- und Gewächshausuntersuchungen wurden durchgeführt, um die morphologische und physiologische Variation von 41 untersuchten Isolaten von *B. cinerea* in Abhängigkeit von Umwelt und Kulturbedingungen zu bestimmen. Das radiale Myzelwachstum der verschiedenen Isolate von *B. cinerea* auf drei Nährmedien unterschied sich deutlich voneinander, dabei wuchsen die Isolate im Durchschnitt schneller auf Potato-Dextrose-Agar als auf Malz-Extrakt-Agar und Hafermehl-Agar. Auffällig verhielt sich Isolat 12, das deutlich langsamer, wie auch Isolate 0, das deutlich schneller auf zwei der drei Nährmedien wuchs. LORBEER (1980) beschreibt, dass Variationen von *B. cinerea* vom Wirt, Nährstoff und Umweltfaktoren abhängen.

Bei makroskopischer Betrachtung der vegetativen Entwicklung konnten die Isolate in die drei Gruppen Myzel-bildende, sporulierende und Sklerotien-bildende Isolate eingeteilt werden, wobei die Sporulationsrate sowie die Größe und Anzahl der Sklerotien isolatspezifisch waren. Ähnliches fanden auch FARETRA und POLLASTRO (1988) in Untersuchungen an Isolaten von *B. cinerea*, die auf unterschiedlichen Nährmedien Sklerotien mit unterschiedlicher Anzahl und Größe ausbildeten. Die Isolate, die unter Weisslicht keine Sporen ausbildeten, konnten jedoch unter UV-Licht zur Sporulation gebracht werden, ähnliches wurde von DOSS et al. (1984) berichtet. Ebenso stellten NICOT et al. (1996) unterschiedliche Sporulationsraten verschiedener Isolate von *B. cinerea* in Abhängigkeit des Lichtspektrums fest.

Auf nekrotischem Pflanzengewebe verhielt sich die Sporulation der verschiedenen Isolate z. T. jedoch deutlich anders als auf den künstlichen Nährmedien. Nur bei vier der 41 untersuchten Isolate konnte eine geringere Sporulationsrate festgestellt werden. Ein Zusammenhang zwischen der antagonistischen Wirksamkeit von *U. atrum* und der Sporulationsrate der verschiedenen Isolate auf nekrotischen Rebenblättern konnte nicht festgestellt werden.

Die Sporengröße der verschiedenen Isolate von *B. cinerea* wurde zur weiteren Charakterisierung untersucht. Die Sporen waren durchschnittlich zwischen 9 – 12 µm lang und 6 – 8 µm breit und hatten ein Volumen von 228 – 406 µm. Ähnliche Sporenmaße von *B. cinerea* wurden von SHIRANE et al. (1989) beschrieben. PHILLIPS et al. (1987) berichteten, dass auf glucosehaltigem Nährmedium gebildete Sporen ein signifikant größeres Volumen und deutlich höhere Aggressivität besaßen als Sporen, die auf glucosearmem Nährmedium gebildet worden waren. Das Sporenvolumen könnte somit ein Kriterium für die Abschätzung der Aggressivität sein. Ein solcher Zusammenhang wurde auch für *Monilia fructiicola* berichtet (PHILLIPS und MARGOSAN, 1985). In den eigenen

Untersuchungen konnte kein Zusammenhang zwischen dem Sporenvolumen und der Aggressivität festgestellt werden, lediglich für Isolat 43 ließ sich ein solcher Zusammenhang vermuten. Somit kamen diese Untersuchungen zum gleichen Ergebnis, wie die von WEEDS et al. (1999), der keinen Zusammenhang zwischen den morphologischen Charakteristika verschiedener Isolate von *B. cinerea* und der Aggressivität an Wirtspflanzen beobachten konnte.

Die Empfindlichkeit eines Pathogens gegen Fungizide ist ein weiteres Merkmal zur Differenzierung verschiedener Pathogengenotypen (GIRAUD et al. 1999, LEROUX et al. 2002). Die eigenen Untersuchungen zur Sensitivität von *B. cinerea* gegen fungizide Wirkstoffe zeigten deutliche Unterschiede zwischen den Isolaten. BAROFFIO et al. (2003) konnte bei einem langjährigen Resistenzmonitoring in der Schweiz eine hohe Sensitivität der *Botrytis*-Population gegenüber Fludioxonil feststellen, dagegen nahm die Sensitivität gegenüber Cyprodinil und Fenhexamid deutlich ab. Ähnliches beobachtete auch LEROUX und GREDT (1995) UND GULLINO et al. (2000a). HILBER und SCHÜEPPE (1994) stufen das Resistenzrisiko von Fludioxonil als mittel ein. In eigenen Untersuchungen zeigten die verschiedenen Isolate von *B. cinerea* erhebliche Unterschiede in ihrer Sensitivität gegenüber Fenhexamid, Tolyfluanid und den Anilinopyrimidinen Cyprodinil und Pyrimethanil. Einzelne Isolate zeigten hohe Empfindlichkeit gegenüber allen Wirkstoffen, andere Isolate zeigten nur ein geringe Sensitivität gegenüber mehreren Wirkstoffen. Ähnliches wird auch von CHAPELAND et al. (1999) und GULLINO et al. (1998) beschrieben. Dagegen verhielten sich alle Isolate in den eigenen Untersuchungen sensitiv gegenüber Fludioxonil, als auch gegenüber dem Gemisch aus Carbendazim und Diethofencarb. In den Untersuchungen konnte *in vitro* und *in vivo* nicht die gleiche Fungizidsensitivität der Isolate von *B. cinerea* festgestellt werden. Dies lässt sich damit erklären, dass *in vitro* die Wirkstoffe das radiale Myzelwachstum beeinflussten, dagegen bei protektiver Applikation der Fungizide an Weinreben auch die Sporenkeimung und damit die Infektion gehemmt wurde.

WHITEMAN und STEWART (1998) beschrieben eine gute Wirksamkeit des Bakteriums *Serratia liquefaciens* gegen ein Sporengemisch aus drei verschiedenen Isolaten von *B. cinerea*, mit Unterschieden in der Sensitivität gegen das Dicarboximid Iprodion. Auch in den eigenen Untersuchungen konnte kein Zusammenhang zwischen Fungizidsensitivität und antagonistischer Wirksamkeit von *U. atrum* festgestellt werden. Im Rahmen der Vermeidung von Fungizidresistenzen ist diese Tatsache von besonderer Bedeutung.

Das Verhältniss der Sporendichten der beiden Pilze *U. atrum* und *B. cinerea* zueinander hatte in den eigenen Untersuchungen eine besondere Bedeutung. 10fach höhere Sporenkonzentrationen von *U. atrum* gegenüber *B. cinerea* zeigten bei allen Isolaten eine

deutliche Reduktion der Sporulationsrate des Pathogens von über 80 %, die Sporulation von Isolat 5 konnte sogar fast vollständig unterdrückt werden. An Zwiebeln und Cyclamen beobachteten KÖHL et al. (1999a) ähnliche Einflüsse. Mit einer 100fach höheren Sporendichte von *U. atrum* als *B. cinerea* konnte so eine Reduktion der Sporulation erzielt werden. Ähnliche Wirksamkeit konnte auch für den Antagonisten *Gliocladium roseum* gezeigt werden, der mit 10fach höherer Sporenaufwandmenge als *B. cinerea* die Sporulation des Pathogens auf nekrotischen Blattscheiben von Cyclamen deutlich unterdrücken konnte, niedrigere Konzentrationen bewirkten eine erhebliche geringere antagonistische Wirkung (LI et al. 1996). Auch in den eigenen Untersuchungen führte ein geringer Unterschied in der Sporendichte von Antagonist und Pathogen zu Minderwirkung, die bei den Isolaten 1 und 48 am wenigsten ausgeprägt war. Dagegen konnten ELAD et al. (1994b) bei gleich hoher Sporenkonzentration von *U. atrum* und *B. cinerea* (jeweils 10^4 Sporen/ml) die Sporulation des Pathogens auf nekrotischen Bohnen- und Tomatenblättern reduzierten. In den eigenen Untersuchungen konnte deutlich gezeigt werden, dass mit steigendem Pathogendruck die Wirksamkeit des Antagonisten abnahm. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch EDEN et al. (1996) für andere Antagonisten. Die eigenen Untersuchungen zeigten, dass neben dem Verhältnis der Sporendichten beider Pilze auch die absolute Sporenmenge des Antagonisten einen Einfluss auf die Wirksamkeit von *U. atrum* hat.

Experimente und Simulationsmodelle zur konkurrierenden Besiedlung von *U. atrum* und *B. cinerea* zeigten, dass eine geringere Sporendichte durch einen früheren Applikationstermin kompensiert werden kann (KESSEL 1999). Dagegen fanden KÖHL et al. (1999a) hohe Wirksamkeit von *U. atrum*, wenn das Pathogen 24 Stunden zuvor auf das tote Pflanzengewebe ausgebracht wurde. Mit dem verwendeten Biotestverfahren an getrockneten Rebenblattscheiben wurde in eigenen Untersuchungen die Wirksamkeit von *U. atrum* gegen das Referenzisolat 0 von *B. cinerea* ermittelt. Dabei führte das Zeitintervall zwischen den Applikationen beider Pilze zu unterschiedlicher Wirksamkeit des Antagonisten gegen das Pathogen. Wurde *U. atrum* zwei bzw. einen Tag vor dem Pathogen ausgebracht, reduzierte sich die Sporulationsrate von *B. cinerea* um über 90 % bzw. 70 %. Bei gleichzeitiger Anwendung beider Pilze lag der antagonistische Effekt nur noch bei 30 %. Ähnliches konnte auch SCHOENE (2002) an Rebenblättern sowie KESSEL (1999) an Cyclamenblättern beobachten. Es zeigte sich jedoch ebenfalls eine isolatspezifische Abhängigkeit der Wirksamkeit vom zeitlichen Anwendungsfenster von *U. atrum* gegen *B. cinerea*. Bei gleichzeitiger Applikation von Antagonist und Pathogen kam es bei Isolat 48 zu fast keiner und bei Isolat 5 zu einer deutlichen Unterdrückung der Sporulation um 70 %. Diese deutlichen Wirkungsunterschiede konnten bei zeitversetzter Applikation beider Pilze jedoch nicht festgestellt werden, die Wirksamkeit des

Antagonisten gegen die unterschiedlichen Isolate war mit über 75 % Wirkung sehr homogen. Die Bedeutung einer vorbeugenden Ausbringung des Antagonisten wird auch für andere Gegenspieler von *B. cinerea* beschrieben. WHITEMAN und STEWART (1998) konnten an sterilen Rebenblättern feststellen, dass der Applikationszeitpunkt des antagonistischen Bakteriums *Serratia liquefaciens* die Wirksamkeit gegen *B. cinerea* beeinflusste. Beste Wirkung wurde erzielt, wenn das Bakterium acht Stunden vor dem Pathogen appliziert wurde und sich auf dem Gewebe etablieren konnte, bevor das Pathogen die Blätter besiedelte. Wohingegen MORANDI et al. (2001) eine sehr hohe Wirksamkeit von *Clonostachys rosea* unabhängig von Applikationstermin an Rosenblättern beschreiben.

Zur Anwendung von *U. atrum* im Unterglasanbau wurden bereits Untersuchungen an verschiedenen Pflanzenkulturen durchgeführt. Die antagonistische Wirksamkeit des Isolates Ua385 konnte sowohl unter kontrollierten Bedingungen an Cyclamen (KÖHL et al. 2000, SCHOENE und KÖHL 1999), Topfrosen (KÖHL und GERLAGH 1999, KÖHL 2000, YOHALEM 2001), Geranien (GERLAGH et al. 2001), Tomaten (FRUIT 2001, FRUIT und NICOT 1999, 2000a,b) wie auch im Freiland an Lilien (FOKKEMA et al. 1994), Zwiebeln (KÖHL et al. 1993b, 1997), Erdbeeren (BERTO et al. 2000, BOFF et al. 2002a, b) und Weinreben (LENNARTZ et al. 1998, SCHOENE 2002) gezeigt werden. Eine antagonistische Wirksamkeit von anderen *Ulocladium* spp. wird ebenso an Kiwi (BOYD-WILSON et al. 1998), Topfrosen (YOHALEM 2001), Salat (CARD et al. 2002), Gurken (DIK et al. 1999), und Weinreben (ANONYM 2003, FOWLER et al. 1999) beschrieben. Auffallend ist die große Zahl verschiedener Kulturen und damit verschiedener Kulturbedingungen unter denen die Wirksamkeit von *U. atrum* beschrieben wurde. Die eigenen Untersuchungen zeigen einen deutlichen Einfluss der Kulturpflanze auf die Wirksamkeit des Antagonisten. Im Mittel der Isolate lag die antagonistische Wirksamkeit an Begonien deutlich höher als an Paprika und Weinreben. Ein ähnlicher Einfluss des Wirtsgewebes auf die Wirksamkeit von *U. atrum* wurde auch von KÖHL et al. (1999) beschrieben.

Ein differenzierteres Bild zeigte sich bei Betrachtung des Pflanzeneinflusses bei der Wirksamkeit von *U. atrum* gegen verschiedene Isolate von *B. cinerea*. An allen drei Kulturpflanzen konnte der Befall mit Isolat 0 und 43 gut durch *U. atrum* unterdrückt werden. Der Befall mit Isolat 5 konnte nur an Begonien und Reben deutlich reduziert werden, jedoch nicht an Paprika. Isolat 34 konnte an Begonien und Paprika gut, an Reben jedoch kaum unterdrückt werden. Bei Isolat 1 waren die Ergebnisse umgekehrt, während Reben gut geschützt wurden, waren Begonien- und Paprikapflanzen trotz Anwendung von *U. atrum* stark befallen. Diese inkonsistente Wirksamkeit konnte bereits bei einer Vielzahl von Antagonisten in unterschiedlichen Kulturen und Regionen festgestellt werden (DUBOS

1992, ELAD und ZIMAND 1992). Somit ist die Wirksamkeit des Antagonisten stets in Abhängigkeit der Kulturpflanze, aber auch des Isolates von *B. cinerea* zu betrachten. Je nach Zusammensetzung der *B. cinerea*- Population sind unterschiedliche Bekämpfungserfolge zu erwarten.

Bei der Anwendung von *U. atrum* im Unterglasanbau war das Zeitintervall zwischen den Applikationen von Antagonist und Pathogen von Bedeutung. Auch hier ergab sich ein differenzierteres Bild bei der Betrachtung einzelner Isolate von *B. cinerea*. Bei gleichzeitiger Applikation beider Pilze lag die Wirksamkeit von *U. atrum* gegenüber dem Mittel der Isolate von *B. cinerea* deutlich unter der der zeitversetzten Ausbringungen. An allen drei Kulturen war die antagonistische Wirksamkeit in Abhängigkeit des verwendeten Isolates bei gleichzeitiger Applikation sehr heterogen. An Reben wurden die Isolate 0, 5 und 43 gut, die Isolate 10, 12, 34 und 35 nur schlecht unterdrückt. Dagegen wurde an Paprikapflanzen der Befall der Isolate 33, 34 und 43 durch Applikationen von *U. atrum* reduziert.

Die Applikation des Antagonisten mit einem Tag Vorsprung vor dem Pathogen erzielte an Begonienpflanzen mit ca. 80 % eine hohe Wirksamkeit, diese war bei den einzelnen Isolaten von *B. cinerea* sehr ähnlich. Dagegen war die antagonistische Wirksamkeit an den beiden anderen Wirtspflanzen isolatspezifisch. So konnte der Befall durch Isolat 10 an Rebenpflanzen fast gar nicht verringert werden, im Gegensatz dazu durch Isolat 57 fast vollständig. An Paprikapflanzen konnten wiederum andere Isolate besser bzw. schlechter durch den Antagonisten bekämpft werden. Im Gegensatz zu Untersuchungen der Sporulation auf nekrotischen Blattscheiben waren über zwei Tage hinausgehende Intervalle zwischen den Applikationen negativ zu bewerten. Im Gegensatz zu nekrotischem Blattgewebe, auf dem sich *U. atrum* bedingt durch seine saprophytische Lebensweise besser etablieren kann, fehlen dem Antagonisten bei einer längerfristigen Besiedlung von lebendem Pflanzengewebe exogene Nährstoffe.

Bei den beiden untersuchten Inokulumdichten des Pathogens zeigte der Antagonist im Mittel der 12 getesteten Isolate an Rebenpflanzen ähnliche Befallswerte. Die Wirksamkeit von *U. atrum* war bei gleicher Sporenkonzentration beider Pilze an Begonienpflanzen deutlich niedriger als bei einer um einfüntel geringeren Sporendichte des Pathogens. An Schnittwunden von Tomaten konnte nach Applikation beider Pilze bei gleich hoher Sporendichte eine ausreichende Wirksamkeit von *U. atrum* erzielt werden, dagegen konnte der Befall durch *B. cinerea* bei einer 10fach höheren Sporendichte des Antagonisten vollständig unterdrückt werden (FRUIT et al. 2000a).

Die Entwicklung von *B. cinerea* ist abhängig von der Art des Wirtsgewebes. Inokulation von gesundem Liliengewebe mit *B. elliptica* führen zur Ausbildung von Läsionen, dagegen

konnte an gesunden Cyclamenblättern nach Inokulationen mit *B. cinerea* keine Läsionsausbildung festgestellt werden (KESSEL et al. 2001). Auch in eigenen Inokulationsversuchen mit *B. cinerea* konnten keine Symptomausbildungen an den drei Wirtspflanzen beobachtet werden. Mikroskopische Untersuchungen zeigten, dass die Sporen nicht in der Lage waren auf gesundem Blattgewebe zu keimen, nur die Ausbildung einer Keimpore konnte beobachtet werden. In den eigenen Gewächshausversuchen erwies sich die Zugabe von Malz-Extrakt-Bouillon als vorteilhaft für eine Infektion der Pflanzen. Dies bestätigten auch Ergebnisse von ELAD et al. (1994b) und LEONE und TOMEIUCK (1990), die Glucose den Sporensuspensionen beimischten.

Die Anfälligkeit des Blattgewebes gegenüber einer Infektion von *B. cinerea* hängt neben der Wirtspflanze auch vom Entwicklungsstadium der Blätter ab. In diesem Zusammenhang ist zu beachten, dass lebende Blätter von Erdbeeren infiziert werden konnten, jedoch symptomlos blieben. Der Pilz blieb quieszent in den Epidermiszellen, bis das Blatt seneszent wurde und das Pathogen zu schädigen begann (BRAUN und SUTTON 1988, KESSEL et al. 1999). In eigenen Untersuchungen konnte eine Wirksamkeit mit bis zu 90 % Wirkung von *U. atrum* gegen *B. cinerea* auf grünem Blattgewebe von Begonien, Paprika und Reben beobachtet werden, obwohl KESSEL et al. (2001) berichteten, dass die Wechselwirkung von Antagonist und Pathogen ausschliesslich auf nekrotischem Gewebe stattfindet. Die Wirksamkeit von *U. atrum* gegen verschiedene Isolate von *B. cinerea* zeigte deutliche Unterschiede hinsichtlich der Sporulation im zuvor beschriebenen Biotestverfahren und der Infektion an den Jungpflanzen.

Die Wirksamkeit vieler Antagonisten im Freiland ist deutlich geringer als unter kontrollierten Bedingungen (BUTT und COPPING 2000), da die Antagonist-Pathogen-Wechselwirkungen komplexeren Einflussfaktoren ausgesetzt sind als unter kontrollierten Laborexperimenten oder im geschützten Unterglasanbau. Neben klimatischen Einflüssen, wie wechselnde Temperaturen, rel. Luftfeuchte, UV-Licht, sowie speziellen Formen des Anbaus und der Kulturführung, die besonderen Einfluss auf die Beschaffenheit des Pflanzengewebes haben, sind sicherlich auch die Besonderheiten eines natürlichen Befallsdruckes mit verschiedenen Pathogenen im Freilandanbau zu nennen.

Klimafaktoren, wie Feuchtigkeit, Temperatur und Sonneneinstrahlung, können beim Überleben der Pilzsporen eine große Rolle spielen. Um optimale Wirkung des Antagonisten *U. oudemansii* zu erzielen, werden vom Hersteller des biologischen Präparates BOTRY-Zen die Applikationen des Präparates für die frühen Morgenstunden mit ausreichender Feuchtigkeit und Temperaturen zwischen 12 und 25 °C empfohlen (ANONYM 2003).

Auf kurzwellige UV-Strahlen reagieren die hyalinen, dünnwandigen Sporen von *B. cinerea* sehr empfindlich, im Gegensatz dazu ermöglicht die dunkle Pigmentierung und die in den schwarzen, dickwandigen Zellen enthaltenen Melanine der Sporen von *U. atrum* einen Schutz gegenüber UV-Strahlung (BOYD-WILSON et al. 1998). Eine ähnlich geringe Sensitivität der Sporen von *Ulocladium* spp. gegenüber UV-B konnte von MOODY et al. (1999) beobachtet werden. ROTEM et al. (1985) stellten dagegen fest, dass die Sporen von *Alternaria solani*, die den Sporen von *U. atrum* sehr ähneln, innerhalb von nur 5 Tagen bei direkter Sonneneinstrahlung abstarben. Die eigenen Untersuchungen zeigten aber auch, dass es bei einigen Isolaten von *B. cinerea* erst nach UV-Bestrahlung zur Sporulation kam, je nach Entwicklung des Pathogens wirkten sich UV-Strahlen unterschiedlich aus.

Regenabwaschungen werden als ein Kriterium für die Reduktion der Sporendichte an Erdbeeren (BOFF et al. 2002b) wie auch am Weizen (LENNARTZ 2001) genannt. Dagegen konnte in den eigenen Untersuchungen kein Zusammenhang zwischen der Abnahme der Sporendichte von *U. atrum* an Rindenstücken bzw. Beeren und den gefallen Niederschlägen ausgemacht werden. Sicherlich ist hier jedoch das zeitliche Intervall zwischen der Ausbringung des Antagonisten und dem Niederschlagsbeginn von Bedeutung. Weiter optimierte Suspensionsformulierungen sollten die Anwendung von *U. atrum* in dieser Hinsicht verbessern. Tenside, Nährstoffe und Puffer werden als mögliche Zusatzstoffe für Mikroorganismen gegen Blattpathogene genannt, jedoch liegen kaum Studien über eine erhöhte Wirksamkeit der Antagonisten durch diese Hilfsstoffe vor (SUTTON und PENG 1993a). Durch eine schnelle Keimung und bessere Haftung des Pilzes auf der Blattoberfläche, bedingt durch die Verwendung von Adjuvantien, kann einer Regenabwaschung vorgebeugt werden. Dieses wird bei der Formulierung von Mikroorganismen für die biologische Bekämpfung von Unkräutern bereits von GREEN et al. (1998) beschrieben.

Das Klima und die Kulturführung nehmen Einfluss auf die Beschaffenheit des Pflanzengewebes. Der Anteil nekrotischen Blattgewebes im Pflanzenbestand kann eine Folge dieser Faktoren sein. In einer gut gepflegten Rebenkultur wird sich ein Großteil der Applikation der Sporensuspension eines Antagonisten auf gesundem Pflanzengewebe ablagern. Nur wenn diese Sporen überleben und sich auf dem Gewebe etablieren können, stehen diese bei der Besiedlung von nekrotischem Gewebe zur Verfügung und können somit die Sporulation von *B. cinerea* unterdrücken.

In den eigenen Untersuchungen wurde gezeigt, dass über 90 % der Sporen von *U. atrum* in der Lage waren, sowohl auf nekrotischem als auch auf lebendem, grünem Rebengewebe zu keimen und Hyphen auszubilden. Eine ähnlich hohe Keimrate wurde

von KÖHL et al. (1998a) auf grünem, lebendem Cyclamengewebe nach Inkubation in Feuchtekammern beobachten. Die eigenen Ergebnisse machten jedoch deutlich, dass der Pilz schneller auf nekrotischen Blattgeweben keimte als auf grünen Blättern. Fügte man der Sporensuspension einen geringen Anteil Glucose zu, so war die Keimgeschwindigkeit auf lebendem Gewebe vergleichbar mit nekrotischem. Dies macht deutlich, dass die Nährstoffversorgung des Antagonisten in dieser frühen Entwicklungsphase eine Grundvoraussetzung für den Besiedlungs- und späteren Etablierungserfolg ist. Für eine dauerhafte Etablierung erscheint daher ein gewisser Anteil nekrotischer Blattfläche sehr sinnvoll zu sein.

Die Rebenrinde ist ein Bereich der Pflanze, an dem diese Bedingungen erfüllt sind. Durch das sekundäre Dickenwachstum der Rinde werden äußere Rindenteile als Borke abgestoßen, die als nekrotisches Pflanzenmaterial vorhanden sind (HILLEBRAND et al. 1997). In den durchgeführten Feldversuchen war es somit möglich, *U. atrum* über die gesamte Vegetationsperiode an der Rebenrinde zu etablieren. Die Blütenknospen der Weinreben werden vor dem Aufblühen von einem Käppchen umgeben, das sich beim Öffnen der Blüte vom Fruchtknoten trennt und abfällt (PEARSON und GOHEEN 1998). Bei der Blütenöffnung kann jedoch ein Großteil der zuvor applizierten Sporen von *U. atrum* mit dem Käppchen abgeworfen werden. Anschließend können sich die Staubgefäße ausbreiten und der Pollen auf die Narbe des Stempels gelangen. Am Blütenkelch befinden sich auch Nektarien (PEARSON und GOHEEN 1998). Pollen und Nektar sind Nährstoffquellen, die auch von saprophytischen Pilzen genutzt werden (FOKKEMA 1971). Mit dem Verblühen entsteht eine Phase, in der größere Mengen nekrotischen Gewebes in diesem Pflanzenbereich anfallen. Der Saprophyt *U. atrum* konnte die Blüten in dieser Entwicklungsphase sehr gut besiedeln. Gesunde Rebenbeeren besitzen eine abgeschlossene Epidermis, die von einer Wachsschicht überzogen ist (PERCIVAL et al. 1993). An dieser Oberfläche ist kein nekrotisches Gewebe zu finden (HILLEBRAND et al. 1997). Dies erklärt die nur kurzfristige Etablierung von *U. atrum* an den Beeren in den durchgeführten Untersuchungen, die auch DUGAN et al. (2002) beschrieb.

Für eine effektive Wirksamkeit von *U. atrum* ist es sehr wichtig, dass sich der Antagonist auf dem gleichen Gewebe etablieren kann, das auch das Pathogen besiedelt. Daher ist die Verbreitung der Sporen von *U. atrum* im Rebenbestand von großer Bedeutung. Für eine Vielzahl von Pathogenen wird die Verbreitung von großen Mengen an Inokulum durch Regen und Wind beschrieben (FITT et al. 1989). Auch bei dem Antagonisten *U. atrum* scheint die Regen- und Windverbreitung ein wichtiger Mechanismus zu sein (ELMER und KÖHL 1998). Untersuchungen zum Verbreitungsmechanismus von Antagonisten im Freilandbeständen wurden jedoch bis jetzt noch nicht durchgeführt.

Für Sporen von *U. atrum* ist es von besonderer Bedeutung, auf welches Pflanzenteil diese bei der Applikation gelangen und in welchem Zustand sich das Gewebe befindet. Angaben über die Dauer der Keimfähigkeit der Sporen von *U. atrum* nach einer Applikation im Bestand reichen von sieben Tagen bis zu 16 Wochen (BOFF 2001, BOYD-WILSON et al. 1998, KÖHL et al. 1998). Je länger die Keimfähigkeit anhält, umso wahrscheinlicher ist es, dass das Gewebe einen nekrotischen Zustand erreicht. Wird jedoch eine unverzügliche Keimung und Etablierung angestrebt, sollte direkt auf nekrotisches Gewebe appliziert werden.

Weniger stark als die Keimung wurde das Keimschlauchlängenwachstum und die Anzahl ausgebildeter Keimhyphen je Spore von *U. atrum* durch die Beschaffenheit des Pflanzengewebes beeinflusst. Fünf Stunden nach Inkubation konnten keine Unterschiede in Abhängigkeit des Pflanzengewebes beobachtet werden. ZITTER und HSU (1992) konnten bei dem Pathogen *U. curcubitae* eine Beeinflussung der Morphologie der Sporen und der Anzahl ausgebildeter Keimhyphen je Spore in Abhängigkeit der Temperatur feststellen. FREY und MAGAN (1998a, 2001) zeigten, dass in Abhängigkeit der Stresssituation der Sporen von *U. atrum* die Länge und die Anzahl der Keimhyphen variierte. Dies lässt vermuten, dass die Sporen des Antagonisten auch auf grünem Rebengewebe, wo nur wenige Nährstoffe dem Pilz zur freien Verfügung stehen, in dieser Entwicklungsphase keiner Stresssituation ausgesetzt sind.

In der Phyllosphäre wird die Populationsdynamik von Mikroorganismen stark durch die ständig wechselnden Bedingungen, wie Temperatur, Feuchtigkeit und Nährstoffverfügbarkeit beeinflusst. Häufig herrschen schnelle Wechsel der Wasserverfügbarkeit und Temperatur (KÖHL et al. 1999). KÖHL et al. (1995a) berichten, dass nekrotisches Gewebe schon innerhalb von einer Stunde abtrocknen und die Phase der Blattfeuchtigkeit für mehrere Stunden sehr gering sein kann. Trotz der nicht immer optimalen Bedingungen für das Wachstum von *U. atrum* im Rebenbestand konnte *U. atrum* in den eigenen Untersuchungen ohne Probleme nekrotisches Gewebe besiedeln und die Sporulation von *B. cinerea* beeinflussen. Auch bei konstant niedriger rel. Luftfeuchte und periodisch unterbrochener Blattfeuchte konnte eine hohe Keimrate der Sporen von *U. atrum* nachgewiesen werden und auch keine Beeinflussung der Wirksamkeit des Antagonisten bei der konkurrierenden Besiedlung. KÖHL (1993a) und KÖHL und MOLHOEK (2001) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Natürliche Besiedler der Phyllosphäre, wie saprophytische Bakterien, Hefen und Pilze besitzen nur kurze Phasen des Wachstums und sind stark an ungünstige Bedingungen adaptiert (ANDREWS 1992).

Durch die relativ gute Anpassung von *U. atrum* an die Bedingungen in der Phyllosphäre kann der Pilz sein antagonistisches Potenzial voll entfalten. Die für den Antagonisten

günstigen Temperaturen stimmen mit dem optimalen Temperaturbereich für die Pathogenentwicklung überein. KÖHL und FOKKEMA (1998b) beschreiben einem Temperaturbereich von 6 bis 24 °C in dem *U. atrum* eine deutliche Wirksamkeit gegen die Sporulation von *B. cinerea* zeigt. In den eigenen Untersuchungen konnte lediglich bei langen Phasen mit hohen Temperaturen, verbunden mit niedriger rel. Luftfeuchte, eine geringe Beeinflussung der Entwicklung von *U. atrum* beobachtet werden.

Die Ausbringung von Antagonisten in einem Pflanzenbestand lässt sich im Gegensatz zu den zuvor betrachteten Umweltfaktoren durch den Anwender gut gestalten. Dieser bestimmt die Ausbringungsfrequenz, die Sporendichte, die Zielfläche und die Zubereitung der Sporensuspensionen. Für eine effektive Unterdrückung der Sporulation von Pathogenen wie z. B. *B. cinerea*, die eine hohe Generationsfolge je Vegetationsperiode besitzen, ist die Etablierung eines Antagonisten über einen langen Zeitraum im Bestand notwendig, damit eine möglichst lange anhaltende Wechselwirkung zwischen Antagonist und Pathogen Gewähr leisten kann (FOKKEMA 1993). Daher ist eine günstige Gestaltung der Ausbringungsparameter für eine wirksame Befallsreduktion von großer Bedeutung.

Um eine effektive Wirkung von *U. atrum* zu erzielen, stellte sich der Applikationszeitpunkt des Antagonisten als wichtig heraus. Wie zuvor dargestellt waren Blütenspritzungen mit *U. atrum* sehr effektiv gegenüber einem späteren Blütenbefall mit *B. cinerea*. Ähnliches konnten auch SCHOENE (2002) an Weinreben und BOFF et al. (2002b) an Erdbeeren beobachten. Applikationen zu bestimmten Entwicklungsstadien von Weinreben sind somit wichtig. In den eigenen Untersuchungen wurden ebenso frühe und späte Ausbringungsfolgen von *U. atrum* mit jeweils vierfacher Applikation verglichen. Entscheidend für einen guten Besiedlungserfolg von *U. atrum* zur Ernte erwies sich dabei nicht der Beginn der Spritzfolge, sondern der späte Zeitpunkt der letzten Applikation von *U. atrum* zu BBCH 85, jedoch konnten zur Ernte keine Unterschiede zwischen den Applikationsfolgen mehr festgestellt werden. Die Applikationen von *U. atrum* zeigten signifikante Wirkung auf den Grauschimmelbefall der Trauben, jedoch unterschieden sich die unterschiedlich zeitlich gestalteten Applikationsfolgen nicht voneinander, was wahrscheinlich durch das sehr geringe Niveau des Befallsdrucks zur Ernte im Jahr 2001 zu erklären ist.

BOFF et al. (2002b) zeigten, dass häufige Applikationen von *U. atrum* es dem Antagonisten ermöglichen das Pflanzengewebe von Erdbeeren vor bzw. gleichzeitig mit dem Pathogen zu besiedeln. Die Anzahl der Applikationen in einer Vegetationsperiode hängt von der Überlebensrate der Sporen von *U. atrum* im Bestand, den Witterungsbedingungen und der Wirtspflanzen ab. Beim Einsatz des biologischen

Präparates BOTRY-Zen® (*U. oudemansii*) an Weinreben werden vom Hersteller zwei Applikationen zu Beginn und nach der Blüte an Weinreben empfohlen, je nach Witterung und Standort sollte der Antagonist zusätzlich im Erbsenstadium und zum Beerenschluss der Trauben ausgebracht werden (ANONYM 2003). In den eigenen Felduntersuchungen liess sich Ähnliches beobachten. Vier Applikationen von *U. atrum* im Vergleich zu zwei erhöhten die Besiedlungsdichte der Rebenrinde mit dem Antagonisten signifikant über die gesamte Vegetationsperiode, lediglich zur Ernte verlor sich der Einfluss der beiden zusätzlichen Ausbringungen von *U. atrum*. Es zeigte sich somit, dass die Anwendungsfrequenz als ein Erfolgsfaktor für die Besiedlung und die Wirksamkeit von *U. atrum* hervorzuheben ist.

Varianten mit zwei Applikationen von *U. atrum* zeigten zu Beginn der Vegetationsperiode eine schwache antagonistische Wirksamkeit. Vier- und fünffache Applikationen der Sporensuspensionen von *U. atrum* erhöhten und verlängerten die Wirksamkeit gegen *B. cinerea* bis zur Ernte. Jedoch konnte auf Grund der rasanten Entwicklung von *B. cinerea* an den Trauben zur Ernte auch mit mehrfachen Applikationen von *U. atrum* nur 20 % bis 40 % Wirksamkeit erzielt werden. Ähnliches wurde von SCHOENE (2002) beschrieben, wonach zwei Applikationen des Antagonisten vor und nach der Blüte eine ausreichende Populationsdichte im Rebenbestand sicherten, jedoch jede zusätzliche Applikation die Wirksamkeit des Antagonisten weiter erhöhte. AUCH BOFF et al. (2002b) zeigten an Erdbeeren, dass eine ausreichende Besiedlungsdichte und antagonistische Wirksamkeit durch einmalige Applikationen von *U. atrum* an Erdbeeren nicht erzielt werden konnte.

In den durchgeführten Feldversuchen konnte nach jeder Applikation eine kontinuierliche Abnahme der Besiedlungsrate im Bestand beobachtet werden. Ähnliches wurde für andere Kulturen wie Kiwi (BOYD-WILSON et al. 1998), Lilien (ELMER und KÖHL 1998), Erdbeeren (KESSEL 1999) und Weizen (LENNARTZ 2001) beschrieben. Hier stellt sich die Frage nach den Ursachen für die kontinuierliche Abnahme während der Initialbesiedlung.

Sicherlich sind die Bedingungen an den applizierten Flächen nicht ausreichend, um die anfänglich hohen Besiedlungsrate aufrecht zu erhalten. Hier könnte eine selektive Auswahl von Zielflächen, an denen eine hohe Initialbesiedlungsrate aufrechterhalten werden kann, von Vorteil sein. Als gute Zielflächen erwiesen sich in den eigenen Untersuchungen die Rinde, Blüte oder nekrotisches Blattgewebe. Aber auch eine bessere Gestaltung der Lebensbedingungen für *U. atrum* an der Zielfläche durch die gleichzeitige Applikation von Nährstoffen könnte sich positiv auswirken. In Gewächshausversuchen erwiesen sich Zumischungen von Malz-Extrakt-Bouillon zur Sporensuspension als günstig. Ein erhöhtes Vorkommen von antagonistischen Hefepilzen auf Weizenblättern konnte auch FOKKEMA et al. (1979) nach Zugabe von Saccharose zur Suspension bei der

Applikation von Hefen feststellen. Jedoch muss bei dem Einsatz von zusätzlichen Nährstoffen immer beachtet werden, dass diese ebenfalls ein Pathogen wie *B. cinerea* stimulieren können, da das saprophytisch lebende Pathogen Nährstoffe für seine Entwicklung benötigt (PAPAVIZAS 1985).

Ein wichtiger Einflussfaktor bei der Besiedlung von grünem Gewebe ist eine ausreichende Sporendichte von *U. atrum*, die zur erfolgreichen Unterdrückung von natürlich vorhandener Saprophytenflora, wie *Alternaria* spp. und *Cladosporium* spp. benötigt wird (ELMER und KÖHL 1998). Ebenso ist eine durchgehende Besiedlung des Gewebes notwendig, um eine schnelle Biodegradation der Nährstoffe zu Gewähr leisten, die bei der Pathogenentwicklung benötigt werden (SCHOENE 2002). In den eigenen Untersuchungen konnte eine Etablierung und Besiedlung sowohl der Rebenrinde als auch der Beeren an beiden Standorten über die Vegetationsperiode nachgewiesen werden, die mit zunehmender Dichte der Sporensuspension von *U. atrum* stieg.

Die Konzentration der Sporensuspension von *U. atrum* hatte deutlichen Einfluss auf die Wirksamkeit des Antagonisten gegen *B. cinerea*. Bei anfänglich geringerem Traubenbefall konnte durch die Behandlung von *U. atrum* mit einer Sporendichte von 2×10^6 Sporen/ ml eine signifikante Befallsreduktion um ein Drittel erzielt werden. Dagegen zeigten Behandlungen mit niedrigerer Sporendichte von 4×10^5 Sporen/ ml deutlich schwächere Wirksamkeit gegen das Pathogen. Mehrmalige Applikationen von *U. atrum* in der Vegetationsperiode mit einer Sporendichte von 2×10^6 Sporen/ ml konnte einen Grauschimmelbefall an Erdbeeren bei niedrigem Infektionsdruck signifikant reduzieren. Dagegen konnten Sporendichten von $0,5 \times 10^6$ Sporen/ ml einen Grauschimmelbefall nicht verringern (BOFF et al. 2002b).

Vom Hersteller des biologischen Präparates BOTRY-Zen® (*U. oudemansii*) werden für den Einsatz im Weinbau zwei bis vier Applikationen mit Aufwandmengen 500 bis 800 l/ ha und einer Sporenkonzentration von 2×10^6 Sporen/ ml für die Bekämpfung eines Befalls mit *B. cinerea* empfohlen (ANONYM 2003). In den Untersuchungen konnte der Grauschimmelbefall der Trauben durch ähnliche Aufwandmengen von *U. atrum* deutlich reduziert werden.

Untersuchungen im Weinbau im Jahr 2000 zeigten, dass Applikationen von *U. atrum*, die im Vergleich zu Haferkörnern auf dem Nährmedium Bulgar angezogen wurden, die Besiedlung der Rinde und Beeren erhöhte und die verwendete Sporenkonzentration von 2×10^6 Sporen/ ml auf ein Fünftel reduziert werden konnte, um gleich hohe Besiedlungsdichten zu erzielen. Dabei führte die hohe Besiedlungsdichte mit *U. atrum* zu einer Verzögerung der Rindenbesiedlung mit dem Pathogen um 10 Tage. Dies könnte darauf beruhen, dass die Sporen angezogen auf dem Nährmedium Bulgar während der

Inkubationszeit vermehrt Nährstoffe aufnehmen konnten, die nach der Applikation im Rebenbestand bei der Etablierung der Sporen an der Pflanze zur Verfügung standen. FREY and MAGAN (1998b) vermuteten ebenfalls, dass höhere Mengen an endogenen Nährstoffenreserven der Sporen von *U. atrum* zu einer besseren Besiedlung von ökologischen Nischen wie dem Blattgewebe führen können.

Populationen des Pathogens *B. cinerea* entwickelten sich im Laufe jeder Vegetationsperiode in Abhängigkeit von äußeren Einflussfaktoren. Die eigenen Untersuchungen im Labor und Gewächshaus zeigten, dass diese Entwicklungsverläufe einen deutlichen Einfluss auf die Wirksamkeit von *U. atrum* haben. Diese pathogenspezifischen Einflüsse wurden in den durchgeführten Freilandversuchen sichtbar. Im Laufe der Vegetationsperioden 2000 und 2001 entwickelte sich der Befallsdruck von *B. cinerea* an der Rinde und den Beeren an den Standorten Marienthal und Kirrweiler zunächst auf niedrigem Niveau. Erst ca. 10 Tage vor der Ernte waren deutlich höhere Befallswerte auch an den Trauben zu verzeichnen. Als Ausnahme war der Standort Marienthal im Jahr 2001 zu sehen. Hier blieb das Befallsniveau auch bis zur Ernte niedrig. Ähnlich wie SCHOENE (2002) feststellte, konnte *U. atrum* in den eigenen Untersuchungen bei niedrigem Befallsdruck die Entwicklung von *B. cinerea* unterdrücken. Die antagonistische Wirksamkeit von *U. atrum* war hingegen in Phasen mit hohem Pathogendruck, wie es häufig kurz vor der Ernte zu beobachten war, nicht mehr ausreichend, um die schnelle Vermehrung und Ausbreitung von *B. cinerea* an fast reifen Beeren zu bekämpfen. Zusätzlich lieferten die Beeren dem Pathogen für dessen Entwicklung ein hohes Nährstoffangebot. Auch ROUDET und DUBOS (2000) beschreiben diese verringerte Wirksamkeit des Antagonisten bei explosionsartigem Anstieg von *B. cinerea*. Eine ähnlich geringe Wirksamkeit von *U. atrum* gegen die Besiedlung von Blüten und Früchten durch *B. cinerea* wurde an Erdbeeren festgestellt. BOFF (2001) erklärte diesen fehlenden antagonistischen Effekt mit dem zeitlichen Vorsprung von *B. cinerea* während der Konkurrenz bei der Substratbesiedlung.

Die Anfälligkeit von Weinreben ist abhängig von der Sorte, den Umweltbedingungen und den Kulturmaßnahmen. Dabei wird die Sortenanfälligkeit der Reben durch die Kompaktheit der Trauben (VAIL et al. 1998, VAIL and MAROIS 1991), die Kutikula und die epikutikulare Wachsschicht (ELAD und EVENSEN 1995, PERCIVAL et al. 1993) sowie der Bildung von Phytoalexinen beeinflusst. In den eigenen Untersuchungen wurde am Standort Marienthal die Sorte 'Müller Thurgau' und am Standort Kirrweiler die Sorte 'Kerner' verwendet, die als mittel bzw. hoch anfällige Sorten eingestuft werden (ANONYM 2000). Schnittmaßnahmen im Traubenbereich führen zu einer besseren Belichtung der Beeren und damit zu einer geringeren Infektion mit *B. cinerea* (ZOECKLEIN et al. 1992). Die

epidemiologische Entwicklung von *B. cinerea* wird von mikroklimatischen Parametern, wie einer hohen Luftfeuchte von > 97 % und einer Blattfeuchtedauer von mind. sieben Stunden, beeinflusst. Aussagen über den notwendigen Temperaturbereich für eine Infektion variieren deutlich zwischen 11 - 16 °C und 18 - 22°C (HUNTER et al. 1972, JAVIS 1980b, RAPOSO et al. 2001, THOMAS et al. 1988, YUNIS et al. 1994). Die Befallsentwicklung von *B. cinerea* wurde besonders am Standort Kirrweiler in beiden Vegetationsperioden durch das feucht-warme Klima in den letzten Wochen vor der Ernte gefördert.

Durch Sklerotien, die an Rebenholz überdauert haben, kann eine Erstinfektion des Pathogens ausgehen (NAIR und NADTOTCHEI 1987). Ebenso kann eine Infektion mit *B. cinerea* schon während der Blüte erfolgen. Pollen fördern die Keimung und das Keimschlauchwachstum des Pilzes auf der Stempeloberfläche, wobei das Pathogen über den Stempel und den Griffel eindringt und anschließend latent im nekrotischen Gewebe verweilt (McCLELLAN und HEWITT 1973, NAIR und ALLEN 1993, WOLF et al. 1997). Latente Infektion mit *B. cinerea* wurden in eigenen Untersuchungen durch Auslegen von gesund erscheinenden Blüten und Beeren nachgewiesen. Ähnlich wie auch von NAIR und PARKER (1985) beschrieben, erfolgte der Nachweis in den eigenen Untersuchungen deutlich häufiger in einer späten Phase der Fruchtentwicklung als direkt nach der Blüte. Diese latenten Infektionen der sich entwickelnden Beeren sind durch *U. atrum*, der mit dem Pathogen an der Oberfläche konkurriert, nicht zu unterdrücken.

Die typischen Symptome des Befalls mit *B. cinerea* erscheinen erst nach dem Entwicklungsstadium *Véraison*, wenn die Beeren zu reifen beginnen (PEARSON und GOHEEN 1998). In dieser Phase können die Beeren auch direkt durch die intakte Epidermis oder durch Wunden befallen werden, jedoch wird eine erhöhte Anfälligkeit durch verwundete Beeren berichtet (NELSON 1951). Zwischen den Entwicklungsstadien abgehender Blüte und *Véraison* wird eine natürlich auftretende Resistenz der Trauben gegenüber einer Infektion mit *B. cinerea* beschrieben (GOETZ et al. 1999). Anhand von Extrakten aus gesunden Beeren wurde festgestellt, dass Inhaltsstoffe der Trauben die Keimung von *B. cinerea* reduzieren (PEZET und PONT 1984). In eigenen Untersuchungen konnten die Befallssymptome an den Trauben frühestens Ende August festgestellt werden. Dabei verfärbten sich die Beeren erst rötlich und es bildete sich anschließend ein grauer Pilzrasen aus. Durch die Kompaktheit der Trauben konnte der Befall schnell auf andere Beeren übergreifen, ähnliches wird auch von PERCIVAL et al. (1993) beschrieben. Der Zuckergehalt der Beeren ist beim Auftreten eines Grauschimmelbefalls relativ unbedeutend (NAIR und PARKER 1985), auch in eigenen Untersuchungen konnte sowohl

bei geringem Zuckergehalt der Trauben zur Ernte von 60 °Oechsle in Marienthal, als auch bei über 80 °Oechsle in Kirrweiler ein Grauschimmelbefall festgestellt werden.

Antagonisten wirken meist spezifische nur gegen sehr wenige Pathogene (COPPING und MENN 2000, ELAD et al. 1996). Um einen gesunden Pflanzenbestand erhalten zu können, werden begleitende Pflanzenschutzmaßnahmen durchgeführt. Der Antagonist muss daher eine geringe Sensitivität gegenüber konventionellen Pflanzenschutzmitteln besitzen. So werden allein zur Bekämpfung des Echten und Falschen Mehltau im Weinbau jährlich ca. 10 Applikationen mit synthetischen Fungiziden durchgeführt. Die in den Feldversuchen für konventionelle Maßnahmen verwendeten Fungizide wurden *in vitro* auf ihre fungizide Wirkung gegenüber *U. atrum* untersucht. Dabei zeigte der Antagonist gegenüber einem Großteil der untersuchten Fungizide eine geringe Sensitivität. Lediglich von den protektiven Fungiziden mit einem breitem Wirkungsspektrum ('Multi site' Inhibitoren) wie Mancozeb, Metiram, Folpet und Dithianon wurde die Sporenkeimung als auch das Myzelwachstum von *U. atrum* gehemmt. ZITTER und HSU (1992) stellten fest, dass die Sporenkeimung des Pathogens *U. curcubitae* deutlich durch Chlorothalonil und Iprodion gehemmt wurde. Auch einige Sterolbiosyntheseshemmer, wie Triadimenol, Penconazol und Fenarimol, verringerten deutlich das Myzelwachstum des Antagonisten. LI et al. (2002) und ZITTER und HSU (1992) zeigten, dass das Benzimidazol Benomyl keinen Einfluss auf die Pilzentwicklung hatte. In eigenen Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass *U. atrum* im Vergleich zu *B. cinerea* eine größere Toleranz gegenüber den untersuchten Fungiziden aufwies. Eine ähnlich geringe Sensitivität von *U. atrum* gegenüber Pflanzenschutzmitteln wird auch von SCHOENE et al. (1998, 2000) beschrieben. Dies ermöglicht eine Integration des Antagonisten in herkömmliche Pflanzenschutzmaßnahmen.

Die *in vitro* ermittelten Fungizidsensitivitäten von *U. atrum* waren nur schlecht in Freiland wiederzufinden. In eigenen Untersuchungen konnte weder eine Beeinflussung der Reben- noch der Beerenbesiedlung mit *U. atrum* durch die konventionellen Pflanzenschutzmaßnahmen festgestellt werden. Eine deutliche Reduktion des Rindenbefalls mit *B. cinerea* konnte dagegen im Jahr 2000 nach Applikation von Spiroxamine und dem Insektizid Parathion-methyl, das für seine fungizide Nebenwirkung bekannt ist, beobachtet werden (KEES und OBST 1972).

In den eigenen Freilanduntersuchungen im Weinbau waren Spritzfolgen mit dem Botrytizid Fenhexamid in allen vier Untersuchungen deutlich wirksamer als wiederholte Applikationen von *U. atrum*, selbst als bei extrem hohem Befallsdruck die fungizide Wirkung nachließ. Auch ELAD et al. (1996) beschreiben, dass einige biologische Mikroorganismen weniger effektiv als chemische Präparate sind und ihre Wirksamkeit

gegenüber dem Pathogen nicht immer ausreichend ist. Dagegen beschreiben SCHOENE et al. (2000) eine meist vergleichbare oder nur geringfügig höhere Wirksamkeit der Fungizidbehandlungen gegenüber den Applikationen von *U. atrum* bei geringem Befallsdruck. Ähnliches wurde auch bei Gewächshausuntersuchungen an Rosen beschrieben (KÖHL und GERLAGH 1999).

Erst durch den Einbau von Fenhexamid in die Spritzfolge von *U. atrum* liess sich das Wirkniveau deutlich anheben. Dabei kommt der zeitlichen Staffelung der Antagonisten- und Botrytizidanwendung besondere Bedeutung zu. Wie schon in den Blattscheibenuntersuchungen im Labor und in Gewächshausexperimenten zu sehen war, ist *U. atrum* auch im Freiland fähig, einen niedrigen Befallsdruck durch *B. cinerea* an Weinreben zu unterdrücken. Steigt der Befallsdruck stärker an, wie es in den beiden Versuchsjahren 2000 und 2001 stets zur Ernte der Fall war, reicht die antagonistische Wirksamkeit nicht mehr aus. Eine Botrytizidanwendung drückt zu diesem Zeitpunkt das Befallsniveau auf einen deutlich niedrigeren Wert.

Alternierende Behandlungen mit drei Applikationen von *U. atrum* und einer zusätzlichen Behandlung mit Fenhexamid am Ende der Spritzfolge führten zu einer signifikanten Reduktion des Grauschimmelbefalls der Trauben. Bei nachlassender Wirkung des Antagonisten bzw. extrem hohem Befallsdruck kurz vor der Ernte kann eine kombinierte Applikation von biologischem und chemischen Pflanzenschutzmittel den Grauschimmelbefall der Reben ausreichend unterdrücken. Ähnliches konnte auch für kombinierte Anwendungen von Trichodex[®] mit Fungiziden beobachtet werden (ELAD und ZIMAND 1992, O'NEILL et al. 1996). Durch eine befallsorientierte Staffelung von Antagonist- und Fungizidanwendungen könnte somit die Anzahl der Botrytizidanwendungen reduziert werden. Im Unterglasanbau zeigten ELAD et al. (1993) und SHTIEMBERG und ELAD (1997), dass alternierende Behandlungen von Trichodex[®] (*Trichoderma harzerianum*) mit Fungiziden zur Halbierung des Fungizideinsatzes bei gleich guten Bekämpfungserfolgen gegen *B. cinerea* führten. Die optimale Terminierung von zusätzlichen Behandlungen von Antagonisten unterscheidet sich deutlich zu den üblichen Spritzplänen von Fungiziden (SUTTON und PENG 1993b).

TRONSOMT und HJELJORD (1998) betonten, dass eine verringerte Zahl an Fungizidanwendungen durch die Ausbringung biologischer Gegenspieler die Gefahr der Resistenzbildung verringern kann. Die eigenen Untersuchungen im Labor und Gewächshaus zeigten darüber hinaus, dass mit *U. atrum* auch resistente Stämme von *B. cinerea* unterdrückt werden konnten, da die Wirksamkeit des Antagonisten unabhängig von der Fungizidsensitivität verschiedener Isolate war. Zu einem ähnlichem Ergebnis kamen auch WHITEMAN und STEWART (1998) in ihren Studien zur Wirksamkeit des

Bakteriums *Serratia liquefaciens* gegen ein Gemisch aus unterschiedlich fungizidsensitiven Isolaten von *B. cinerea*. Als nicht sinnvoll erscheint es hingegen, an Stelle der Anzahl die Dosierungshöhe von Botrytiziden zu verringern. Dies würde durch eine höhere Überlebensrate fungizidtoleranter Populationen von *B. cinerea* zu gesteigerter Resistenzgefahr führen. KÖHL et al. (1999) konnten mit einer Kombination von *U. atrum* und einem Zehntel der empfohlenen Aufwandmenge von Fenhexamid die Sporulation in einem Rosenbestand unterdrücken, es konnten jedoch nicht die Befallsherde an den Pflanzen verringert werden.

Die Kombination von *U. atrum* mit Botrytiziden setzt wie für andere konventionell verwendete Fungizide eine möglichst niedrige Sensitivität des Antagonisten voraus. Es konnte keine *in vitro*-Sensitivität des Antagonisten *U. atrum* gegenüber den beiden Botrytiziden Fenhexamid und Vinclozolin beobachtet werden, dagegen war die Entwicklung von *B. cinerea* jedoch deutlich gehemmt. Eine ähnlich geringe Sensitivität von *U. atrum* gegen im Weinbau verwendete Botrytizide wurde auch von SCHOENE et al. (1998) festgestellt. Im Gegensatz dazu fanden LI et al. (2002) jedoch eine deutliche Beeinflussung der Keimschlauchausbildung von *U. atrum* durch das Botrytizid Vinclozolin.

Im Weinbau kann der Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln zu Rückständen der Wirkstoffe in den Trauben führen und somit den Ausbau des Weines beeinflussen (CARBRAS et al. 1999, MILIKOTA et al. 1996, NAVARRO et al. 2001). Ebenso kann ein starker Grauschimmelbefall an den Trauben zur qualitativen Beeinträchtigung des Mostes führen. Die befallenen Beeren ändern die chemische Zusammensetzung des Mostes, indem der Pilz einfachen Zucker (Glukose und Fruktose) zu Glycerol und Gluconsäure umwandelt, sowie Enzyme produziert, die die Oxidation von Phenol- Verbindungen katalysieren. Das Pathogen *B. cinerea* kann ebenso Polysaccharide, wie β -Glucane, abgeben, die das Klären des Weines beeinträchtigen. Weine aus stark befallenen Trauben können Fehltöne aufweisen und ein Altern stören (MARCHAL et al. 2000). Für die Einführung eines biologischen Organismus ist es von großer Bedeutung, dass der pilzliche Organismus bzw. von ihm produzierte Stoffe keinen Einfluss auf die Gärung des Mostes bzw. die sensorischen Eigenschaften des Weines haben. TOPOLOVEC-PINTARIC et al. (1999) zeigen, dass der Antagonist *Trichoderma harzianum* keinen Einfluss auf den Gärverlauf hat. In den eigenen Untersuchungen erfolgte der Ausbau des Weines nach den Kriterien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln (ENGLERT et al. 1988). Es konnte kein Einfluss von *U. atrum* bzw. des Botrytizides Fenhexamid auf den Traubensaft, den Gärprozess sowie die Qualität des Weines nach sensorischer Prüfung festgestellt werden. Dies bestätigen auch die Ergebnisse von ROUDET und DUBOS (2000)

sowie SCHOENE (2002) für *U. atrum* und von ROSSLENBROICH (1999b) für das Fungizid Fenhexamid.

Bei der Produktion von biologischen Organismen wird die Optimierung der lebensfähigen Biomasse mit gleich bleibender Qualität, Keimfähigkeit und besiedelnden Eigenschaften, wie auch eine schnelle, hohe und kostengünstige Vermehrung angestrebt (ANDREW 1992). Die Anzucht von *Gliocladium roseum* auf Getreidekörnern erfolgte einfach und preiswert (PENG et al. 1992), ähnliches konnte auch bei *U. atrum* beobachtet werden. Im Vergleich zu den bisher verwendeten Haferkörnern bei der Anzucht der Sporen von *U. atrum*, wurde auch das Nährmedium Bulgar verwendet, worauf eine schnellere und erhöhte Sporenproduktion stattfindet (FREY, persönliche Mitteilung). Die Sporenausbeute des Antagonisten konnte auf Bulgar-Nährmedium im Vergleich zu Haferkörnern in geringem Umfang erhöht werden bei gleichzeitiger Halbierung der Inkubationsdauer auf zwei Wochen (METZ, nicht veröffentlicht).

Innerhalb eines Pflanzenbestandes findet man meist eine sehr heterogene *B. cinerea*-Populationen (GIRAUD et al. 1999, MOYANO et al. 2003). Die Zusammensetzung der Population aus vielen verschiedenen Genotypen hat große Auswirkungen auf die Bekämpfbarkeit, wie es für Fungizide beschrieben wird. Ähnlich wie für Botrytizide beschrieben, konnte eine unterschiedliche Wirksamkeit von *U. atrum* gegen verschiedene Genotypen von *B. cinerea* festgestellt werden. Ein Zusammenhang zwischen den morphologischen und physiologischen Merkmalen der Pathogenisolate sowie deren Fungizidsensitivität gegen verschiedene Botrytizide konnte nicht festgestellt werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass der Erfolg eines Einsatzes von *U. atrum* deutlich von der im Pflanzenbestand anzutreffenden Pathogenpopulation abhängt. Im weiteren Verlauf können sich schwer bekämpfbaren Isolate im Bestand durchsetzen, wodurch sich die antagonistische Wirksamkeit weiter verringert. Die sich bildenden hohen Befälle mit *B. cinerea* führen die antagonistische Wirksamkeit von *U. atrum* schnell an seine Grenzen. Die Selektion schwer zu unterdrückender Genotypen und der Aufbau kaum zu kontrollierender hoher Befallsdrücke gehen miteinander einher.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die antagonistische Wirksamkeit von *Ulocladium atrum* gegen *Botrytis cinerea* wurde an verschiedenen Kulturpflanzen sowohl unter kontrollierten Bedingungen als auch im Freiland untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals der Einfluss des Pathogengenotyps auf die Wirksamkeit des pilzlichen Antagonisten erfasst. Die verwendeten Genotypen von *B. cinerea* wurden nach morphologischen und physiologischen Eigenschaften sowie ihrer Sensitivität gegen Wirkstoffe verschiedener botrytizider Stoffklassen differenziert. Deutliche Unterschiede in der Wirksamkeit des Antagonisten gegen verschiedene Isolate von *B. cinerea* konnten sowohl auf nekrotischen Rebenblättern als auch an Begonien-, Paprika- und Rebenjungpflanzen unter kontrollierten Bedingungen nachgewiesen werden.

- Auf nekrotischen Rebenblättern konnte die Sporulation von *B. cinerea* deutlich durch die Anwendung von *U. atrum* reduziert werden. Je höher die Sporendichte von *U. atrum* gewählt wurde, umso stärker war die Reduktion der Sporulation des Pathogens. Mit steigendem Pathogendruck ließ die Wirksamkeit des Antagonisten jedoch nach.
- Das Zeitintervall zwischen den Applikationen beider Pilze beeinflusste die Wirksamkeit des Antagonisten. Etablierte sich der Antagonist vor dem Pathogen auf dem nekrotischen Blattgewebe, so wurde die Sporulation von *B. cinerea* deutlich stärker reduziert als bei gleichzeitiger Besiedlung des Gewebes. Es zeigte sich bei gleichzeitiger Applikation beider Pilze auf nekrotischem Blattgewebe eine deutliche Abhängigkeit der Wirksamkeit von *U. atrum* vom Genotyp des Pathogens.
- Im Unterglasanbau hatten die verwendeten Kulturpflanzen einen Einfluss auf die Wirksamkeit von *U. atrum*. An Begonien konnte das Pathogen deutlich stärker als an Paprika- und Rebenjungpflanzen unterdrückt werden. Auch an den verschiedenen Kulturpflanzen konnte eine Abhängigkeit der Wirksamkeit des Antagonisten vom Isolat des Pathogens festgestellt werden.
- Das Zeitintervall zwischen den Applikationen beider Pilze hatte erheblichen Einfluss auf die Wirksamkeit des Antagonisten. Bei gleichzeitiger Applikation beider Pilze lag die Wirksamkeit deutlich unter der bei zeitversetzter Ausbringung. Dabei war die Wirksamkeit des Antagonisten abhängig vom Genotyp des Pathogens. Die quantifizierte Pathogenität der Isolate von *B. cinerea* war wiederum abhängig von der Wirtspflanze. Lediglich bei Applikationen mit einem Tag Intervall konnte an Begonien bei allen Isolaten eine sehr ähnliche Wirksamkeit des Antagonisten erzielt werden.

- In Freilandversuchen im Weinbau erfolgten mehrjährigen Erhebungen an verschiedenen Standorten und Rebsorten. Eine erfolgreiche Besiedlung und Etablierung des ausgebrachten Antagonisten an Rebengewebe konnte nachgewiesen und mit zunehmender Sporendichte gesteigert werden. Dabei war der Antagonist wechselnden Umweltbedingungen ausgesetzt, die seine Entwicklung im Rebenbestand jedoch kaum beeinflussten.
- Zwei Applikationen des Antagonisten sicherten die Populationsdichte des Antagonisten über die gesamte Vegetationsperiode im Bestand, jedoch erhöhte jede weitere Applikation signifikant die Besiedlungsdichte auf der Rebenrinde. Häufigere Applikationen von *U. atrum* erhöhten und verlängerten die antagonistische Wirksamkeit bis zur Ernte.
- Die Ausbringung steigender Sporendichten von *U. atrum* hatte einen positiven Einfluss auf die antagonistische Wirksamkeit gegen einen Grauschimmelbefall der Trauben. Ebenso beeinflusste die Art des Anzuchtmediums der Sporen von *U. atrum* den späteren Besiedlungserfolg an der Rinde und den Beeren der Weinreben. Ein auf Bulgar basierendes Nährmedium hatte deutliche Vorteile gegenüber einem Anzuchtmedium auf Haferkornbasis.
- *U. atrum* konnte bei niedrigem Befallsdruck die Entwicklung von *B. cinerea* an den Trauben unterdrücken. Die antagonistische Wirksamkeit war jedoch bei steigendem Befallsdruck nicht mehr ausreichend. In solchen Fällen war eine Kombination von *U. atrum* und dem Botrytizid Fenhexamid sehr gut geeignet den Grauschimmelbefall an Trauben deutlich zu reduzieren.
- Der Antagonist zeigte eine geringe Sensitivität gegenüber Pflanzenschutzmitteln, die unter Freilandbedingungen bei versuchsbegleitenden konventionellen Pflanzenschutzmaßnahmen verwendet wurden. Eine Integration des Antagonisten in herkömmliche Pflanzenschutzmaßnahmen erscheint daher möglich.
- Bei einer Etablierung des Antagonisten auf allen Pflanzenteilen der Reben konnte kein negativer Einfluss auf die Entwicklung und die Ertragsbildung der Kulturpflanze, noch auf den Ausbau und die Qualität des Weines beobachtet werden.

Der Hyphomycet *Ulocladium atrum* erwies sich in den Untersuchungen als geeigneter Antagonist gegen *Botrytis cinerea*. Jedoch konnte häufig eine nicht ausreichende antagonistische Wirksamkeit festgestellt werden, die zum einen durch die hohe Variabilität der Population von *B. cinerea*, zum anderen durch den stark ansteigenden Befallsdruck erklärt werden kann.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- ABBOTT, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, **18**, 265-267.
- ALMENDROS, G., MARTÍNEZ, A.T. and DORADO, E. (1985a). Production of brown and green humic-like substances by *Ulocladium atrum*. *Soil Biology and Biochemistry*, **17** (2), 257- 259.
- ALMENDROS, G., MARTÍNEZ, A.T., MARTÍN, F. and GONZÁLEZ-VILA, F.J. (1985b). Degradative oxidation products of the melanin of *Ulocladium atrum*. *Soil Biology and Biochemistry*, **17** (5), 723-726.
- ANDREWS, J.H. (1992). Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology*, **30**, 603-635.
- ANONYM (2003). BOTRY-Zen®. LTD Dunedin, Neuseeland. Via internet: <http://www.botryzen.co.nz>.
- ANONYM (2000). Bundessortenamt - Beschreibende Sortenliste Reben. Landbuch Verlagsgesellschaft, Hannover, Deutschland.
- BARNETT, H.L. and HUNTER, B.B. (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 4. Edition, pp.132-133.
- BAROFFIO, C.A., SIEGFRIED, W. and HILBER, U.W. (2003). Long-term monitoring for resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilinopyrimidine, phenylpyrrole and hydroxyanilide fungicides in Switzerland. *Plant Disease*, **87** (6), 662-666.
- BEDLAN, G. (1999). *Gemüsekrankheiten*. Österreichischer Agrarverlag, Klosterneuburg, Österreich, 3. Auflage, pp.179.
- BERTO, P., JIJAKLI, M.H. and LEPOIVRE, P. (2001). Possible role of colonization and cell wall-degrading enzymes in the differential ability of three *Ulocladium atrum* strains to control *Botrytis cinerea* on necrotic strawberry leaves. *Phytopathology*, **91** (11), 1030-1036.
- BERTO, P., JIJAKLI, M.H. and LEPOIVRE, P. (2000). Competitive colonisation is involved in *Ulocladium atrum* antagonism against *Botrytis cinerea* on necrotic strawberry leaves. XIIth International *Botrytis* Symposium, July, 3-7, 2000, Reims, Frankreich, P55.
- BHATT, D.D. and VAUGHAN, E.K. (1962). Preliminary investigations on biological control of grey mould (*Botrytis cinerea*) of strawberries. *Plant Disease Reporter*, **46** (5), 342-345.
- BIDOCHKA, M.J. (2001) Monitoring the fate of biocontrol fungi. In: *Fungi as biocontrol agents: Progress, Problems and Potential*. BUTT, T.M., JACKSON, C. and MAGAN N. (eds). CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 193-218.
- BIRCHMORE, R.J. and FORTSTER, B. (1996). FRAC methods for monitoring the sensitivity of *Botrytis cinerea* to anilinopyrimidine fungicides. *Bulletin OEPP/EPPO, Bulletin*, **26**, 181-197.
- BIRCHMORE, R.J., WILLIAMS, R.J., RUSSELL, P.E. and LAGOUARDE, P. (1996). A baseline for the sensitivity of *Botrytis cinerea* to pyrimethanil. *Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference: Pest & Diseases-1996*, Brighton, UK., **6D-5**, British Crop Protection Council, Farnham, UK., pp. 713-718.
- BLAKEMAN, J.P. (1993). Pathogens in the foliar environment. *Plant Pathology*, **42**, 479-493.
- BLAKEMAN, J.P. and FOKKEMA, N.J. (1982). Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annual Review of Phytopathology*, **20**, 167-192.

- BLAKEMAN, J.P. (1972). Effect of plantage on on inhibition of *Botrytis cinerea* spores by bacteria on beet root leaves. *Physiological Plant Pathology*, **1**, 45-46.
- BLAKEMAN, J.P. and FRASER, A.K. (1971). Inhibition of *Botrytis cinerea* spores by bacteria on the surface of chrysanthemum leaves. *Physiological Plant Pathology*, **1**, 45-46.
- BOFF, P. (2001). Epidemiology and biological of grey mould in annual strawberry crops. PhD Thesis, Landbouwniversiteit, Wageningen, Niederlande.
- BOFF, P., KÖHL, J., JANSEN, M., HORSTEN, P.J.F.M., LOMBAERS-VAN DER PLAS, C. and GERLAGH, M. (2002a). Biological control of gray mold with *Ulocladium atrum* in annual strawberry crops. *Plant Disease*, **86** (3), 220-224.
- BOFF, P., KÖHL, J., GERLAGH, M. and DE KRAKER, J. (2002b). Biocontrol of grey mould by *Ulocladium atrum* applied at different flower and fruit stages of strawberry. *BioControl*, **47**, 193-206.
- BOYD-WILSON, K.H.S., PERRY, J.H. and WALTER, M. (1998). Persistence and survival of saprophytic fungi antagonistic to *Botrytis cinerea* kiwifruit leaves. In: Proc. 51st New Zealand Plant Protection Conference, Hastings, Neuseeland. M. O'CALLAGHAN (eds). Vol: 51. New Zealand Plant Protection Society, Rotorua, Neuseeland, pp. 96-101.
- BRAUN, P.G. and SUTTON, J.C. (1988). Infection cycles and population dynamics of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **10**, 133-141.
- BRENT, K.J. (1995). Fungicides Resistance in crop pathogens: how can it be managed? FRAC Monograph No.1, GCPF – Group of National Associations of Manufactureres of Agrochemical Products (Bruessels), UK.
- BRENT, K.J. and Hollomon (1998). Fungicides Resistance: the assessment of risk. FRAC Monograph No.2, GCPF – Group of National Associations of Manufactureres of Agrochemical Products (Bruessels), UK.
- BÜTTNER, P., KOCH, F., VOIGT, K., QUIDDE T., RISCH, S., BLAICH R., BRUCKNER, B. and TUDZYNSKI, P. (1994). Variation in ploidy among isolates of *Botrytis cinerea*: Implication for genetic and molecular analyses. *Current Genetics*, **25**, 445- 450.
- BURDON, J.J. and WOLFE, M.S. (1985). The effect of sexual and asexual reproduction on the isoenzyme strukture of populations of *Puccinia graminis*. *Phytopathology*, **75** (9), 1068-1073.
- BUTLER, D., GRIFFIN, M.J., and Fletcher, J.T. (1979). Leaf spot on cucumber by *Ulocladium atrum*. *Plant Pathology*, **28**, 96-97.
- BUTT, T.M., JACKSON, C. and MAGAN N. (2001). Introduction – Fungal biological control agents: Progress, Problems and Potential. In: Fungi as biocontrol agents: Progress, Problems and Potential. BUTT, T.M., JACKSON, C. and MAGAN N. (eds). CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 1-8.
- BUTT, T.M. and COPPING, L.G. (2000). Fungal biological control agents. *Pesticide Outlook*, 186-191.
- CABRAS, P., ANGIIONI, A., GARAU, V.I., PIRIST, F.M., FARRIS, G.A., MADAU, G. and EMONTI, G. (1999). Pesticides in fermentative processes of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 3854-3857.
- CARD, S., JASPERS, M.V., WALTER, M. and STEWART, A. (2002). Evaluation of micro-organisms for biocontrol of grey mould on lettuce. In: Proc. 55st New Zealand Plant Protection Conference, Hastings, Neuseeland. M. O'CALLAGHAN (eds). Vol: 55. New Zealand Plant Protection Society, Rotorua, Neuseeland, **55**, pp. 197-201.

- CHAPELAND, F., FRITZ, R., LANEN, C., GRETT, M. and LEROUX, P. (1999). Inheritance and mechanisms of resistance to anilinopyrimidine fungicides in *Botrytis cinerea* (*Botryotinia fuckeliana*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **64** (2), 85-100.
- CHAPELAND, F., FRITZ, R., LEROUX, P. (1998). Multidrug resistance in natural populations of *Botrytis cinerea*. *ICPP 98*, 5.5.16.
- CHARDONNET, C.O., SAMS, C.E., TREGIANO, R.N. and CONWAY, W.S. (2000). Variability of three isolates of *Botrytis cinerea* affects the inhibitory effects of calcium on this fungus. *Phytopathology*, **90** (6), 769-774.
- COOK, D.W.M. (2002). Effect of formulated yeast in suppressing the liberation of *Botrytis cinerea* conidia. *Plant Disease*, **86** (11), 1265-1270.
- COPPING, L.G. and MENN, J.J. (2000). Biopesticides: a review of their action, application and efficacy. *Pesticide Management Science*, **56**, 651-676.
- DALTON, A.J. (1955): A chrome-osmium fixative for electron microscopy. *Anatomic records*, **121**, 281.
- DAUGAARD, H. (1999). Cultural methods for controlling *Botrytis cinerea* Pers. in strawberries. *Biological Agriculture and Horticulture*, **16** (4), 351-361.
- DAUGHTREY, M.L., WICK, R.L. and PETERSON, J.L. (1995). Compendium of flowering potted plant diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, US, pp. 11-14.
- DAVID, J.C. and KELLEY, J. (1995). IMI descriptions of fungi and bacteria. *Mycopathologia*, **129**, 47-48.
- DE BARY, A. (1866). *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Mycomyceten*. Engelmann, Leipzig.
- DELP, C.J. (1988). Resistance management strategies for benzimidazoles. In: *Fungicide Resistance in North America*. C.J. DELP (eds). APS Press, St. Paul, USA, pp. 41-43.
- DEMİRCİ, E. and DÖKEN, M.T. (1979). Studies on the determination and identification of fungal agent of the diseases isolated from the roots, stems and leaves of potatoes in Erzurum region. *Journal of Turkish Phytopathology*, **18** (1-2), 51-60.
- DI LENNA, P., MARCIANO, P. and MAGRO, P. (1981). Comparative investigation on morphological and physiological features of three isolates of *Botrytis cinerea*. *Phytopathologische Zeitschrift*, **100**, 203-211.
- DIK, A.J., KONING, G. and KÖHL, J. (1999). Evaluation of microbial antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* stem infection in cucumber and tomato. *European Journal of Plant Pathology*, **105**, 115-122.
- DIK, A.J., FOKKEMA, N.J. and VAN PELT, J.A. (1991). Consumption of applied honeydew, a wheat yield reduction factor, by phyllophere yeasts under field conditions. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **97**, 209-232.
- Dittrich, H.H. (1989). Die Veränderung der Beereninhaltsstoffe und der Weinqualität durch *Botrytis cinerea* – Übersichtsreferat. *Die Weinbauwissenschaft*, **44**, 105-131.
- DOSS, R.P., CHASTAGNER, G. A. and RILEY, K.L. (1984). Techniques for inoculum production and inoculation of lily leaves with *Botrytis elliptica*. *Plant Disease*, **68** (19), 854-856.
- DOSTER, M.A. and MICHAILIDES, T.J. (1999). Relationship between shell discoloration of pistachio nuts and incidence of fungal decay and insect infestation. *Plant Disease*, **83** (3), 259-264.

- DUBOS, B. (1992). Biological control of *Botrytis*: state-of-the-art. In: Recent Advances in *Botrytis* Research. K. VERHOEFF, N.E. MALATHRAKIS and B. WILLIAMSON (eds). Pudoc Scientific Publisher, Wageningen, Niederlande, pp. 169-178.
- DUGAN, F.M., LUPIEN, S.L. and GROVE, G.G. (2002). Incidence, aggressiveness and *in planta* interactions of *Botrytis cinerea* and other filamentous fungi quiescent in grape berries and dormant buds in central Washington State. *Journal of Phytopathology*, **150**, 375-381.
- EDEN, M.A., HILL, R.A. BERESFORD, R. and STEWARDT, A. (1996). The influence of inoculum concentration, relative humidity, and temperature on infection of greenhouse tomatoes by *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*, **45**, 795-806.
- EDWARDS, S.G. and SEDDON, B. (1992). *Bacillus brevis* as biocontrolagent against *Botrytis cinerea* on protected chinese cabbage. In: Recent Advances in *Botrytis* Research. K. VERHOEFF, N.E. MALATHRAKIS and B. WILLIAMSON (eds). Pudoc Scientific Publisher, Wageningen, Niederlande, pp. 267-271.
- ELAD, Y., DAVID, D.R., LEVI, T., KAPAT, A. KIRSHNER, B., GUVVIN, E. and LEVINE, A. (1998). *Trichoderma harzianum* T 39 – Mechanisms of biocontrol of foliar pathogens. In: H. LYR et al. (eds). Modern fungicides and antifungal compounds II. Intercept Limited, Andover, UK., pp. 459-468.
- ELAD, Y. (1996). Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited disease. *European Journal of Plant Pathology*, **102**, 719-732.
- ELAD, Y., MALATHRAKIS, N.E. and DIK, A.J. (1996). Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. *Crop Protection*, **15** (3), 229-240.
- ELAD, Y. (1995). Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. *Crop Protection*, **13** (1), 35-38.
- ELAD, Y. and EVENSEN, K. (1995). Physiological aspects of resistance to *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, **85** (6), 637-643.
- ELAD, Y., KÖHL, J. and FOKKEMA, N.J. (1994a). Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. *Phytopathology*, **84** (10), 1193-1200.
- ELAD, Y., KÖHL, J. and FOKKEMA, N.J. (1994b). Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. *European Journal of Plant Pathology*, **100**, 315-336.
- ELAD Y, SHTIENBERG, D. and NIV. A. (1994c). *Trichoderma harzianum* T39 intergrated with fungicides: improved biocontrol of grey mould. Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference: Pest & Diseases-1994, Brighton, UK., **8D-1**, British Crop Protection Council, Farnham, UK., pp. 1109-1114.
- ELAD, Y. (1993). Implementation of biological control of foliar diseases. In: Biological Control of Foliar and Post-Harvest Diseases. N.J. FOKKEMA, J. KÖHL and Y. ELAD (eds). IOBC/WPRS Bulletin, **16** (3), pp. 229-233.
- ELAD, Y. and KIRSHNER, B. (1993). Survival in the phylloplane of an introduced biocontrol agent (*Trichoderme harzianum*) and populations of the plant pathogen *Botrytis cinerea* as modified by abiotic conditions. *Phytoparasitica*, **21** (4), 303-313.
- ELAD, Y., ZIMAND, G., ZAQS, Y., ZURIEL, S. and CHET, I. (1993). Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. *Plant Pathology*, **42**, 324-332.

- ELAD, Y. and ZIMAND, G. (1992). Integration of biological and chemical control for grey mould. In: Recent Advances in *Botrytis* Research. K. VERHOEFF, N.E. MALATHRAKIS and B. WILLIAMSON (eds). Pudoc Scientific Publisher, Wageningen, Niederlande, pp. 272-276.
- ELMER, P.A.G. and KÖHL, J. (1998). The survival and saprophytic competitive ability of the *Botrytis* spp. antagonist *Ulocladium atrum* in lily canopies. European Journal of Plant Pathology, **104**, 435-447.
- EMMETT, R.W. and NAIR, N.G. (1991). Botrytis rot of grapes in Australia. The Australian Grapegrower and Winemaker, **333**, 19-21.
- ENGLERT, W.D., FLICK, G., HUBER, W., IPACH, R., KAST, W. K., RAPP, A., VORNBERGER, T. and WOHLFARTH, P. (1988). Prüfungen des Einflusses von Pflanzenschutzmitteln auf die Gärung von Traubenmost und die sensorisch wahrnehmbaren Eigenschaften bei Wein. Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln - Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, **22-9**, pp. 1-9.
- FARETRA, F. and POLLASTRO, S. (2001). Grey mould and other berry rots. Informatore Fitopatologico, **51** (6), 12-14.
- FARETRA, F. and GRINDL, M. (1992). Genetic studies of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*). In: Recent Advances in *Botrytis* Research. K. VERHOEFF, N.E. MALATHRAKIS and B. WILLIAMSON (eds). Pudoc Scientific Publisher, Wageningen, Niederlande, pp. 25-29.
- FARETRA, F. and POLLASTRO, S. (1991). Genetic basis of resistance to benzimidazoles and dicarboximide fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*). Mycological Research, **95**, 943-951.
- FARETRA, F. and POLLASTRO, S. (1988). Effect of the substrate on the formation of sclerotia of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) and their ability to germinate carpogenically. Phytopath. medit., **27**, 99-102.
- FARETRA, F. and ANTONACCI, E. (1987). Production of apothecia of *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetz. under controlled environmental conditions. Phytopath. medit., **26**, 29-35.
- FARR, D.F., BILLS, G.F; CHAMURIS, G.P. and ROSSMANN, A.Y. (1989). Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press, St Paul, Minnesota, USA, pp. 1006.
- FERRON, P. (1978). Biological control of insect pests by entomophagenous fungi. Annual Review of Entomology, **139**, 2075-2081.
- FITT, B.D.L., MCCARTNEY, H.A. and WALKLATE, P.J (1989). The role of rain in dispersal of pathogen inoculum. Annual Review of Phytopathology, **27**, 241-270.
- FOKKEMA, N.J., GERLAGH, M., KÖHL, J., JONGEBLOED P.H.J and KESSEL, G.J.T. (1994). Prospects for biological control of foliar pathogens. Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference: Pest & Diseases-1994, Brighton, UK., **9B-1**, British Crop Protection Council, Farnham, UK., pp. 1249-1258.
- FOKKEMA, N.J (1993). Opportunities and problems in control of foliar pathogens with micro-organisms. Pesticide Science, **37**, 411-416.
- FOKKEMA, N.J., DEN HOUTER, J.G., KOSTERMAN, Y.J.L. and NELIS, A.L. (1979). Manipulation of yeasts on fieldgrown wheat leaves and their antagonistic effect on *Cochliobolus sativus* and *Septoria nodorum*. Trans Br. Mycol. Soc., **72**, 19-29.
- FOKKEMA, N.J. and LORBEER, J.W. (1974). Interactions between *Alternaria porri* and the saprophytic mycoflora of onion leaves. Phytopathology, **64**, 1129-1133.

- FOKKEMA, N.J. (1971). The effect of pollen in the phyllosphere of rye on colonization by saprophytic fungi and on infection by *Helminthosporium sativum* and other leaf pathogens. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **77** (Suppl. 1), 1.
- FOWLER, S.R., JAPERS, M.V., WALTER, M. and STEWART, A. (1999). Suppression of overwintering *Botrytis cinerea* inoculum on grape rachii using antagonistic fungi. In: Proc. 52st New Zealand Plant Protection Conference, Hastings, Neuseeland. M. O'CALLAGHAN (eds). Vol: 52. New Zealand Plant Protection Society, Rotorua, Neuseeland, pp. 141-147.
- FREY, S. and MAGAN, N. (2001). Production of the fungal biocontrol agent *Ulocladium atrum* by submerged fermentation: accumulation of endogenous reserves and shelf-life studies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **56**, 372-377.
- FREY, S. and MAGAN, N. (1998a). Improving quality and quantity of the biopesticide *Ulocladium atrum* to enhance biological control of *Botrytis cinerea*. Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference: Pests & Diseases-1998, Brighton, UK., **4D-4** British Crop Protection Council, Farnham, UK., pp. 305-306.
- FREY, S. and MAGAN, N. (1998b). Ecophysiology, growth and spore germination of *Ulocladium atrum*, a biological control agent of *Botrytis cinerea*. In: Proceeding of the 7th International Congress of Plant Pathology, Edinburgh, Scotland. M. JOHNSON (eds). British Society of Plant Pathology, Birmingham, UK, 2.10.20
- FRUIT, L. (2001). Etude des facteurs d'efficacité d'un agent de lutte biologique (*Ulocladium atrum*) pour la protection des plaies d'effeuillage sur tomate contre *Botrytis cinerea*. PhD Thesis, Université Claude Bernard, Lyon, Frankreich.
- FRUIT, L. and NICOT, P. (2000a). Use of *Ulocladium atrum* for biological control of *Botrytis cinerea* stem infections in greenhouse tomatoes. XIIth International *Botrytis* Symposium, July, 3-7, 2000, Reims, Frankreich, P56.
- FRUIT, L. and NICOT, P. (2000b). Effects of temperature and relative humidity on control of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* on tomato stem wounds. XIIth International *Botrytis* Symposium, July, 3-7, 2000, Reims, Frankreich, P57.
- FRUIT, L. and NICOT, P. (1999). Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato stem wounds with *Ulocladium atrum*. IOBC/WPRS Bulletin, Integrated Control in Glasshouses, **22** (1), 81- 84.
- GERLAGH, M., AMSING, J.J., MOLHOEK, W.M.L., BOSKER-VAN ZESSEN, A.I., LOMBAERS-VAN DER PLAS, C.H. and KÖHL, J. (2001). The effect of treatment with *Ulocladium atrum* on *Botrytis cinerea*-attack of geranium (*Pelargonium zonale*) stock plants and cuttings. *European Journal of Plant Pathology*, **107**, 377-386.
- GERLAGH, M., VAN DE GEIJN, H.M. and VERDAM, B. (1993). Microbial suppression of viable sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* and white mould disease in field crops. In: Biological Control of Foliar and Post-Harvest Diseases. N.J. FOKKEMA, J. KÖHL and Y. ELAD (eds). IOBC/WPRS Bulletin, **16** (11), pp. 64-68.
- GOETZ, G., FKYERAT, A., METAIS, N., KUNZ, M., TABACCHI, R., PEZET, R. and PONT, V. (1999). Resistance factors to grey mould in grape berries: identification of some phenols inhibitors of *Botrytis cinerea* stilbene oxidase. *Phytochemistry*, **52**, 759-767.
- GIRAUD, T., FORTINI, D., LEVIS, C., LAMARQUE, C.; LEROUX, P., LOBUGLIO, K. and BRYGOO, Y. (1999). Two sibling species of the *Botrytis cinerea* complex, *transposa* and *vacuma*, are found in sympatry on numerous host plants. *Phytopathology*, **89** (10) 967-973.

- GIRAUD, T., FORTINI, D., LEVIS, C. LEROUX, P. and BRYGOO, Y. (1997). RFLP markers show genetic recombination in *Botrytinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) and transposable elements reveal two sympatric species. *Molecular Biology and Evolution*, **14**, 1177-1185.
- GOODWIN, S.B., SPIELMAN, L.J., MATUSZAK, J.M., BERGERON S.N. and FRY, W.E. (1992). Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestance* poulations in northern and central Mexico. *Phytopathology*, **85** (9), 955-961
- GREEN, S., STEWART-WADE, S.M., BOLAND, G.J., TESHLE, M.P. and LIU, S.H. (1998). Formulating microorganisms of biological control of weeds. In: Plant- microbe interactions and biological control. G.J. ROLAND and L.D. KUYKENDALL (eds). Marcel Dekker Inc, New York, USA, pp. 249-282.
- GULLINO, M.L., BERTETTI, D., GILARDI, G. and GARIBALDI, A. (2000a). Sensitivity of *Botrytis cinerea* Pers. to new fungicides in north-italian vineyards: Recent results. *Integrated Control in Viticulture*. C. LOZZIA (eds). IOBC/WPRS Bulletin, **23** (4), pp. 37-40.
- GULLINO, M.L., LEROUX, P. and SMITH, C.M. (2000b). Use and chalanges of novel compounds for plant disease control. *Crop Protection*, **19**, 1-11.
- GULLINO, M.L., BERTETTI, D. MOCIONI, M. and GARIBALDI, A. (1998). Sensitivity of population of *Botrytis cinerea* Pers. to new fungicides. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, **63/3b**, 1047-1050.
- GULLINO, M.L. (1992). Chemical control of *Botrytis* spp.. In: *Recent Advances in Botrytis Research*. K. VERHOEFF, N.E. MALATHRAKIS and B. WILLIAMSON (eds). Pudoc Scientific Publisher, Wageningen, Nederlande, pp. 217-222.
- VON HALLER , A. (1771). *Biblioteca botanico qua scripta ad rem herbarium facienta a rerum initiis arccensenturum*. Vol.1 Zürich.
- HARMAN, G.E., LATORRE, B., AGOSIN, E. SANMARTIN, R., RIEGEL, D.G. NIELSEN, P.A., TRONSMO, A. and PEARSON, R.C. (1996). Biological and integrated control of *Botrytis* bunch rot of grape using *Trichoderma* spp.. *Biological Control*, **7** (3), 259-266.
- HAUSBECK, M.K. and MOORMAN, G.W. (1996). Managing *Botrytis* in greenhouse-grown flower crops. *Plant Diseases*, **80** (11). 1212-1219.
- HILBER, U.W. and SCHÜEPPE, H. (1994). Resistance risk evaluation of fludioxonil, a new phenylpyrole fungicide. In: *Fungicide Resistance*. HEANEY, S., SLAWSON, D., HOLLOWOMON, D.W., SMITH, M., RUSSEL, P.E. and PARRY, D.W. (eds). British Crop Protection council, Farnham, UK, pp. 397-402.
- HILLEBRAND, W., LOTT, H. und PFAFF, F. (1997). *Taschenbuch der Rebsorten*. 11. Aufl., Fachverlag. Fraund, Mainz, Deutschland.
- HUNTER, J.E., ROHRBACH, K.G. and KUMIMOTO, R.K. (1972). Epidemiology of botrytis blight of *Macademia vaceme*. *Phytopathology*, **62** (3), 316-319.
- JANISIEWICZ, W.J. and ROITMAN, J. (1988), Biological control of blue mould and grey mould of apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology*, **78** (12), 1697-1700.
- JARVIS, W.R. (1980a). Toxonomy. In: *The Biology of Botrytis*. J.R. COLEY-SMITH, K. VERHOEFF, and W.R. JAVIS (eds). Academic Press Inc, London, UK, pp. 1-18.
- Jarvis, W.R. (1980b). Epidemiology. In: J.R. COLEY-SMITH, K. VERHOEFF, and W.R. JAVIS (eds). *The Biology of Botrytis*. Academic Press Inc, London, UK, pp. 219-250.
- KAPAT, A., ZIMAND, G. and ELAD, Y. (1998). Effect of two isolates of *Trichoderma harzianum* on the activity of hydrolytic enzymes produced by *Botrytis cinerea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **52**, 127-137.

- KARNOVSKY, M.J. (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cellular Biology*, **27**, 137-138.
- KARPOVICH-TATE, N. and DEWEY, F.M. (2001). Quantification of *Ulocladium atrum* in necrotic plant tissues by monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Mycological Research*, **105** (5), 567-574.
- KEES, H. und OBST, A. (1972). Zur Bekämpfung der Spelzenbräune des Weizen mit ®E 605. Kritische Bilanz zweijähriger Versuche. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, **25** (1), 113-122.
- KERSSIES, A. and BOSKER-VAN ZESSEN, A.I. (1997). Variation in pathogenicity and DANN polymorphism among *Botrytis cinerea* isolates sampled inside and outside a glasshouse. *Plant Disease*, **81** (7), 781-786.
- KESSEL, G.J.T., DE HAAS, B.H., LOMBAERS-VAN DER PLAS, C.H., VAN DEN ENDE, J.E., PENNOCK-VOS, M.G., VAN DER WERT, W. and KÖHL, J. (2001). Comparative analysis of the role of substrate specificity in biological control of *Botrytis elliptica* in lily and *B. cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum*. *European Journal of Plant Pathology*, **107**, 273-284.
- KESSEL, G.J.T. (1999). Biological control of *Botrytis* spp. by *Ulocladium atrum*, an ecological analysis, Landbouwniversiteit, Wageningen, NL.
- KESSEL, G.J.T., DE HAAS, B.H., LOMBAERS-VAN DER PLAS, C.H., MEIJER, E.M.J., DEWEY, F.M., GOUDRIAAN, J., VAN DER WERT, W. and KÖHL, J. (1999). Quantification of mycelium of *Botrytis* spp. and the antagonist *Ulocladium atrum* in Necrotic leaf tissue of cyclamen and lily by fluorescence microscopy and image analysis. *Phytopathology*, **89** (10), 868-876.
- KÖHL, J. and MOLHOEK, W.M.L. (2001). Effect of water potential on conidial germination and antagonism of *Ulocladium atrum* against *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, **91** (5), 485-491.
- KÖHL, J. (2000). *Ulocladium atrum*: A promising candidate for the development of a biocontrol agent against *Botrytis* spp. XIIth International *Botrytis* Symposium, July, 3-7, 2000, Reims, Frankreich, L29.
- KÖHL, J., GERLAGH, M. and GRIT, G. (2000). Biocontrol of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* in different production systems of cyclamen. *Plant Diseases*, **84** (5), 569-573.
- KÖHL, J. and GERLAGH, M. (1999). Biological control of *Botrytis cinerea* in roses by the antagonist *Ulocladium atrum*. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent, Belgium*, **64/3b**, 441-445.
- KÖHL, J., LOMBAERS-VAN DER PLAS, C.H., MOLHOEK, W.M.L., KESSEL, G.J.T. and GOOSSEN-VAN DER GEIJN, H.M. (1999). Competitive ability of the antagonists *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* at temperatures favourable for *Botrytis* spp. development. *BioControl*, **44**, 329-346.
- KÖHL, J. and FOKKEMA, N.J. (1998a). Biological control of *Botrytis cinerea* by suppression of sporulation. In: *Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference: Pests & Diseases-1998*, Brighton, UK., **7C-6**. British Crop Protection Council, Farnham, UK., pp. 681-686.
- Köhl, J. and Fokkema, N.J. (1998b). Strategies for biological control of necrotrophic fungal foliar pathogens. In: *Plant- microbe interactions and biological control*. G.J. BOLAND and L.D. KUYKENDALL (eds). Marcel Dekker Inc, New York, USA, pp. 49-88.
- KÖHL, J., GERLAGH, M., DE HAAS, B.H. and KRIJGER, M.C. (1998). Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. *Phytopathology*, **88** (6), 568-575.

- KÖHL, J., BÉLANGER, R.R. and FOKKEMA, N.J. (1997). Interaction of four antagonist fungi with *Botrytis aclada* in dead onion leaves: a comparative microscopic and ultrastructural study. *Phytopathology*, **87** (6), 634-642.
- KÖHL, J., VAN DER PLAS, C.H., MOLHOEK, W.M.L. and FOKKEMA, N.J. (1995a). Effect of interrupted leaf wetness periods on suppression of sporulation of *Botrytis allii* and *B. cinerea* by antagonists on dead onion leaves. *European Journal of Plant Pathology*, **101**, 627-637.
- KÖHL, J., MOLHOEK, W.M.L. VAN DER PLAS, C.H., and FOKKEMA, N.J. (1995b). Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology*, **85** (4), 393-401.
- KÖHL, J., MOLHOEK, W.M.L. VAN DER PLAS, C.H., and FOKKEMA, N.J. (1995c). Suppression of sporulation of *Botrytis* spp. as valid biocontrol strategy. *European Journal of Plant Pathology*, **101**, 251-259.
- KÖHL, J., VAN DER PLAS, C.H., MOLHOEK W.M.L. and FOKKEMA, N.J. (1993a). Drought tolerance as major selection criterium for antagonists of *Botrytis* spp. In: Biological control of foliar and postharvest diseases. N.J. FOKKEMA, J. KÖHL and Y. ELAD (eds). IOBC/WPRS Bulletin, **16** (11), pp. 169-172.
- KÖHL, J., WILMA, M.L., MOLHOEK, C.H. VAN DER PLAS, N. and FOKKEMA, J. (1993b). Biological control of Botrytis leaf blight of onions. In: Biological Control of Foliar and Post-Harvest Diseases. N.J. FOKKEMA, J. KÖHL and Y. ELAD (eds). IOBC/WPRS Bulletin, **16** (11), pp. 53-56.
- KÖHL, J., MOLHOEK, W.M.L. VAN DER PLAS, C.H., KESSEL, G.J.T. and FOKKEMA, N.J. (1992). Biological control of *Botrytis* leaf blight in onions: Significance of sporulation suppression, In: Recent Advances in *Botrytis* Research. K. VERHOEFF, N.E. MALATHRAKIS and B. WILLIAMSON (eds). Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, Nederlande, pp. 192-196.
- KÖHL, J. and SCHLÖSSER, E. (1989). Decay of sclerotia of *Botrytis cinerea* by *Trichoderma* spp. at low temperatures. *Journal of Phytopathology*, **125**, 320-326.
- KNUDSEN, G.R. and SPURR, H.W. (1987). Field persistence and efficacy of five bacterial preparation for control of peanut leaf spot. *Plant Disease*, **71** (5), 442-445.
- LANCASHIRE, P.D., BLEICHLER, H., VAN DEN BOOM, T., LANGELÜDEKE, P., STRAUSS, R. WEBER, E. and WITZENBERGER, A. (1991). A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology*, **119** (3), 561-601.
- LEIFERT, C., LI H. CHIDBUREE, S., HAMPSON, S., WORKMAN, S., SIGEE, D. EPTON H.A.S. and HARBOUR, A. (1995). Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. *Journal of Applied Bacteriology*, **78**, 97.
- LENNARTZ, B. (2001). Biologische Bekämpfung von *Septoria* spp. an Weizen mit *Chaetomium cochliodes* und *Ulocladium atrum* durch Einschränkung der epidemischen Entwicklung des Erregers. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelm Universität, Bonn, Deutschland.
- LENNARTZ, B., SCHOENE, P. and OERKE, E-C. (1998). Biocontrol of *Botrytis cinerea* on grapevine and *Septoria* spp. on wheat. *Med. Fac. Landbouwic. Univ. Gent*, **63/3b**, 963-670.
- LEONE G. and TOMEIJCK A.E.G. (1990). Arapid procedure for screeing the resistance of bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Euphytica*, **48**, 87-90.
- LEROUX, C.L. and SPOTTS, R.A. (2003) Sensitivity of populations of *Botrytis cinerea* from Pear-Relates Sources to Benzimidazole and Dicarboximide Fungicides. *Plant Diseases*, **87** (6), 645-649.

- LEROUX, P., FRITZ, R., DEBIEU, D., ALBERTINI, C., LANEN, C., BACH, J., GREDT, M. and CHAPELAND, F. (2002). Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science*, **58**, 876-888.
- LEROUX, P., CHAPELAND, F., DESBROSSES, D. and GREDT, M. (1999). Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botrytinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from french vineyards. *Crop Protection*, **18**, 687-697.
- LEROUX, P. and DESCOTES, A. (1996). Resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides and strategies for its control in the champagne vineyards. Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference: Pest & Diseases-1996, Brighton, UK., **3B-3**, British Crop Protection Council, Farnham, UK., pp. 131-136.
- LEROUX, P. and GREDT, M. (1995). *In-vitro* study of resistance to anilinopyrimidine fungicides in *Botrytis cinerea*. *Agronomie*, **15** (6), 367-370.
- LEROUX, P. (1995). Progress and problems in the control of *Botrytis cinerea* in grapevine. *Pesticide Outlook*, **6** (5), 13- 19.
- LEROUX, C.L. and Moncomble, D. (1994). Resistance of *Botrytis cinerea* to dicarboximides, benzimidazoles and phenylcarbarnates in the Champagne vineyards. In: *Fungicide Resistance*. HEANEY, S., SLAWSON, D., HOLLOMON, D.W., SMITH, M., RUSSEL, P.E. and PARRY, D.W. (eds). British Crop Protection council, Farnham, UK, pp. 267-270.
- LEVIS, C., FORTINI, D. and BRYGOO, Y.(1997). Flipper, a mobile Fot 1-like transposable element in *Botrytis cinerea*. *Molecular and General Genetics*, **254**, 674-680.
- LEWIS, J.A. and PAPAIVIZAS, G.C. (1991). Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. *Crop Protection*, **10**, 95-105.
- LI, G.Q., HUANG, H.C. and ACHARYA, S.N. (2002). Sensitivity of *Ulocladium atrum*, *Coniothyrium minitans* and *Sclerotinia sclerotiorum* to benomyl and vinclozolin. *Canadian Journal of Botany*, **80** (8), 892-898.
- LI, D.-W., SUTTON, J.C. and PENG, G. (1996). Effective suppression of *Botrytis cinerea* in greenhousegrown cyclamen by *Gliocladium roseum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **18**, 93-94.
- LI, H. and LEIFFERT, C. (1994). Development of resistance in *Botryotinia fuckeliana* (de Bary). Whetzel against the biological control agent *Bacillus subtilis*. *Journal of Plant Disease Protection*, **101**, 414-418.
- LINKE, K.H.C., SCHEIBEL C., SAXENA, M.C. and SAUERBORN, J. (1992). Fungi occurring on *Orobanche* spp. and their preliminary evaluation for *Orobanche* control. *Tropical Pest Management*, **38** (2), 141-144.
- LORBEER, J.W. (1980). Variation in *Botrytis* and *Botryotinia*. In: J.R. COLEY-SMITH, K. VERHOEFF, and W.R. JAVIS (eds). *The Biology of Botrytis*. Academic Press Inc, London, UK, pp. 19-39.
- LORENZ, D.H., EICHORN, K.W., BLEI-HOLDER, H., KLOSE, R. MEIER, U. und WEBER, E. (1994). Phänologische Entwicklungsstadien der Weinrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). *Vitic. Enol. Sci.*, **49**, 66-70.
- MARCHAL, R. VALADE, M., MONCOMBLE, D., TABARY, I., VIAUX, L., ROBILLARD, B. and JEANDT, P. (2000). Effects of *Botrytis cinerea* infection on champagne wine foaming properties. XIIth International Botrytis Symposium, July, 3-7, 2000, Reims, Frankreich, P19.
- MARTINEZ, F., BLANCARD, D., LECOMTE, P., LEVIS, C., DUBOS, B. and FERMAUD, M. (2003). Phenotypic differences between *vacuina* and *transposa*. *European Journal of Plant Pathology*, **109**, 479- 488.

- MAUDE R.B. (1980). Disease control. In: J.R. COLEY-SMITH, K. VERHOEFF, and W.R. JAVIS (eds). The Biology of *Botrytis*. Academic Press Inc, London, UK, pp. 275-308.
- MCCLELLAN, W.D. and HEWITT, W. B. (1973). Early botrytis rot of grapes: Time of infection and latency of *Botrytis cinerea* Pers. in *Vitis vinifera* L.. Phytopathology, **63** (9), 1151-1157.
- MCLAUGHLIN, R.J., WILSON, C.L., DROBY, S. BEN-ARIE, R. and CHALUTZ, E. (1992). Biological control of postharvest diseases of grapes, peach, and apple with the yeast *Kllockera apiculata* and *Candida guilliermondii*. Plant Diseases, **76** (5), 470-473.
- MERTELY, J.C., CHANDLER, C.K., XIAO, C.L. and LEGARD, D.E. (2000). Comparison of sanitation and fungicides for management of *Botrytis* fruit rot of strawberries. Plant Disease, **84** (11), 1197-1202.
- MILIKOTA, F., MALES, P. and CVJETKOVIC, B (1996). Effectiveness of five fungicides on grapevine grey mould and their effects on must fermentation. Journal of Wine Research, **7** (2), 103-110.
- MÜLLER-THURGAU, H. (1888). Landw. Jbr., **17**, 83.
- MOODY, S.A., NEWSHAM, K.K., AYRES, P.G. and PAUL, N.D. (1999). Variation in the responses of litter and phylloplane fungi to UV-B radiation (290-315 nm). Mycological Research, **103** (11), 1469-1477.
- MORANDI, M.A.B., MAFFIA, L. A. and SUTTON, J.C. (2001). Development of *Clonostachys rosea* and interactions with *Botrytis cinerea* in rose leaves and residues. Phytoparasitica, **29** (2), 103-113.
- MORANDI, M.A.B., SUTTON, J.C and MAFFIA, L.A. (2000). Effects of host and microbial factors on development of *Clonostachys rosea* and control of *Botrytis cinerea* in rose. European Journal of Plant Pathology, **106**, 439-448.
- MOYANO, C., ALFONSO, C., GALLEGO, J., RAPSOS, R. and MELGAREJO, P. (2003). Comparison of RAPD and AFLP marker analysis as a means to study the genetic structure of *Botrytis cinerea* population. European Journal of Plant Pathology, **109**, 515-522.
- NAIR, N.G. and ALLEN, R.N. (1993). Infection of grape flowers and berries by botrytis cinerea as a function of time and temperature. Mycological Research, **97**, 1012-1014.
- NAIR, N.G. and NADTOTCHEI, A. (1987). Sclerotia of *Botrytis* as a source of primary inoculum for bunch rot grapes in New South Wales, Australian Journal of Phytopathology, **119**, 42-51.
- NAIR, N.G and PARKER, F. (1985). Midseason bunch rot of grapes: an unusual disease phenomenon in the Hunter Valley, Australia. Plant Pathology, **34**, 302-305.
- NAVARRO, S., OLIVA, J., NARARRO, G. and BARBA, A. (2001). Dissipation of chlorpyrifos, fenarimol, mancozeb, metalaxyl, penconazole, and vinclozolin in grapes. American Journal of Enology and Viticulture, **52** (1), 35-40.
- NELSON, K.E. (1951). Factors influencing the infection of table grapes by *Botrytis cinerea* (Pers.). Phytopathology, **41**, 319-326.
- NEWHOOK, F.J. (1957). Th relationship of saprophytic antagonism to control of *Botrytis cinerea* Pers.. II. Antagonism by fungi and actinomycetes. New Zealand Journal of Science and Technology, **38**, 473-481.
- NEWHOOK, F.J. (1951a). Microbiological control of *Botrytis cinerea* Pers.. I. The role of pH changes and bacterial antagonism. Annals of Applied Biology, **38**, 169-184.

- NEWHOOK, F.J. (1951b). Microbiological control of *Botrytis cinerea* Pers.. II. Antagonism by fungi and actinomycetes. *Annals of Applied Biology*, **38**, 185-202.
- NICOT, P. MERMIER, M. and VAISSIÈRE, B.E. (1996). Differential spore production by *Botrytis cinerea* on agar medium and plant tissue under near-ultraviolet light-absorbing polyethylene film. *Plant Disease*, **80** (5), 555-558.
- O'NEILL, T.M., ELAD, Y., SHTIENBERG, D. and COHEN, A. (1996). Control of grapevine grey mould with *Trichoderma harzianum* T 39. *Biocontrol Science and Technology*, **6**, 139-146.
- PAPAVIZAS, G.C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, **23**, 23-54.
- PAUL, B. (1999). *Pythium periplocum*, an aggressive mycoparasite of *Botrytis cinerea* causing the gray mould disease of grape-vine. *FEMS Microbiology Letters*, **181**, 277-280.
- PAUL, B., GIRARAD, I., BHATNAGAR, T. and BOUCHET, P. (1997) Suppression of *Botrytis cinerea* causing grey mould disease of grape vine (*Vitis vinifera*) and its pectinolytic activities by a soil bacterium. *Microbiological Research*, **152** (4), 413-420.
- PAULITZ, T.C. and BELANGER, R.R. (2001). Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology*, **39**, 103-133.
- PENG, G., SUTTON, J.C. and KEVAN, P.G. (1992). Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **14**, 117-129.
- PENG, G. and SUTTON, J.C. (1991). Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **13**, 247- 257.
- PEARSON, R.C. and GOHEEN, A.C. (1998). *Compendium of grape diseases*. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 4. Auflage.
- PERCIVAL, D.C., SULLIVAN, J.A. und FISHER, K.H. (1993). Effect of cluster exposure, berry contact and cultivar on cuticular membrane formation and occurrence of bunch rot (*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.) with 3 *Vitis vinifera* L. cultivars. *Vitis*, **32**, 87-97.
- PEZET and PONT (1984). *Botrytis cinerea*: activité antifongique dans les jeunes grappes de *Vitis vinifera*, variété Gamay. *Phytopathologische Zeitung*, **111**, 73-81.
- PHILLIPS, D.J., MARGOSAN, D.A. and MACKEY, B.E. (1987). Size, nuclear number and aggressiveness of *Botrytis cinerea* spores produced on media of varied glucose concentrations. *Phytopathology*, **77** (12), 1606-1608.
- PHILLIPS, D.J. and MARGOSAN, D.A. (1985). Glucose concentrations in growth media affects spore quality on *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, **75** (11), 1285.
- PRYOR, B.M. and GILBERTSON, R.L. (2000). Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. *Mycological Research*, **104** (11), 1312-1321.
- POLLASTRO, S., FARETRA, F., DI CANIO, V. and DE GUIDO, A. (1996). Characterization and genetic analysis of field isolates of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) resistant to Dichlofluanid. *European Journal of Plant Pathology*, **102**, 607- 613.
- RAPOSO, R., GOMEZ, V., URRUTIA, T. and MELGAREJO, P. (2001). Survival of *Botrytis cinerea* in southeastern spanish greenhouses. *European Journal of Plant Pathology*, **107**, 229-236.
- RATTINK, H. (1992). Target for pathology research in protected crops. *Pesticide Science*, **36** (4), 385-388.

- REDOMD, J.C., MAROIS, J.J. and MACDONALD, J.D. (1987). Biological control of *Botrytis cinerea* with epiphytic microorganisms. *Plant Diseases*, **71** (9), 799- 802.
- REIMERS, F., SMOLKA, S.E., WERRES, S. BLANKE-SCHUMACHER, K. and WAGNER, G. (1993) Effect of ajoene, a compound derived from *Allium sativum*, on phytopathogenic and epiphytic micro-organisms. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **100** (6), 622-633.
- ROSSLENBROICH, H.-J. und STUEBLER, D. (1999a). *Botrytis cinerea* – history of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop Protection*, **19**, 557-561.
- ROSSLENBROICH, H.-J. (1999b). Efficacy of fenhexamid (KBR 738) against *Botrytis cinerea* and related fungal pathogens. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, **52** (2), 127-144.
- ROTEM, J., WOODING, B. and AYLOR, D.E. (1985). The role of solar radiation especially ultraviolet, in the mortality of fungal spores. *Phytopathology*, **75** (5), 510-514.
- ROUDET, J. and DUBOS, B. (2000). Evaluation of three years study of *Ulocladium atrum* (strain 385) as a biological control agent of vine grey rot in the Bordeaux region. XIIth International *Botrytis* Symposium, July, 3-7 2000, Reims, Frankreich, P58.
- SEDDON, B. and SCHMITT, A. (1998). Integrated biological control of fungal plant pathogens using natural products. In: *Modern fungicides and antifungal compounds II*. H. LYR, P.E. RUSSEL, H.-W. DEHNE and H.D. SISLER (eds). Intercept Limited, Andover, UK., pp. 423-428.
- SEDDON, B. and EDWARDS, S.G. (1993). Analysis of and strategies for the biocontrol of *Botrytis cinerea* by *Bacillus brevis* on protected chinese cabbage. In: *Biological Control of Foliar and Post-Harvest Diseases*. N.J. FOKKEMA, J. KÖHL and Y. ELAD (eds). IOBC/WPRS Bulletin, **16** (11), pp. 38-41
- SCHOENE, P. (2002). *Ulocladium atrum* as an antagonist of grey mould (*Botrytis cinerea*) in grapevine. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelm Universität, Bonn, Deutschland.
- SCHOENE, P., OERKE, E-C. and DEHNE, H-W. (2000). A new concept for integrated control of grey mould (*Botrytis cinerea*) in grapevine. *Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference: Pest & Diseases-2000*, Brighton, UK., **8C-5**, British Crop Protection Council, Farnham, UK., pp. 1031-1036.
- SCHOENE, P. and KÖHL, J. (1999). Biologische Bekämpfung von *Botrytis cinerea* mit *Ulocladium atrum* in Reben und Cyclamen. *Gesunde Pflanzen*, **51** (3), 81-85.
- SCHOENE, P., Lennartz, B. and OERKE, E-C. (1998). Fungicide sensitivity of fungi used for biocontrol of oerthotrophic pathogens. In: *Modern fungicides and antifungal compounds II*. H. LYR, P.E. RUSSEL, H.-W. DEHNE and H.D. SISLER (eds). Intercept Limited, Andover, UK., pp. 477-482.
- SHIRANE, N., MASUKO, M. and HAYASHI, Y. (1989). Light microscopic observation of nuclei and mitotic chromosomes of *Botrytis* species. *Phytopathology*, **79** (7), 728-730.
- SHITIENBERG, D. and ELAD, Y. (1997). Incorporation of weather forecasting in integrated, biological-chemical management of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, **87** (3), 332-340.
- SHITIENBERG, D. (1994). Achene blemish syndrome: a new disease of sunflower in Israel. *Plant Diseases*, **78** (11), 1112-1116.
- SIMMONS, E.G. (1967). Typification of *Alternaria*, *Stemphylium*, and *Ulocladium*. *Mycologia*, **59**, 67-92.
- SIMMONS, E.G. (1998). Multiplex conidium morphology in species of the *Ulocladium atrum* group. *Canadian Journal of Botany*, **76**, 1533-1539.

- SMITH, C.M. (1988). History of benzimidazole use and resistance. In: Fungicide Resistance in North America. , C.J. DELP (eds). American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, US, pp. 23-24.
- SUTTON, J.C., LI D.-W., PENG, G., YU, H. ZHANG, P. and VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. (1997). *Gliocladium roseum*, a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. Plant Disease, **81** (4), 316-328.
- SUTTON, J.C. and PENG, G. (1993a). Manipulation and vectoring of biocontrol organisms to manage foliage and fruit diseases in cropping systems. Annual Review of Phytopathology, **31**, 473-493.
- SUTTON, J.C. and PENG, G. (1993b) Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. Phytopathology, **83**,(6), 615- 621.
- TERRY, L.A. and JOYCE, D.C. (2000). Suppression of grey mould on strawberry fruit with the chemical plant activator acibenzolar. Pesticide Management Science, **56**, 989-992.
- VON TIEDEMANN, A. HEDKE, K. and UNGER, C. (2000). Variability and differentiation of pathogenity types in *Botrytis cinerea*. XIIth International Botrytis Symposium, July, 3-7, 2000, Reims, Frankreich, L3.
- THOMAS, C.S., MAROIS, J.J. and ENGLISH, J.T. (1988). The effects of wind, temperature, and relative humidity on development of aerial mycelium and conidia of *Botrytis cinerea* on grape. Phytopathology, **78** (3), 260-265.
- TURKENSTEEN L.J. (1979). *Ulocladium atrum*, causal agent of Kasahui, a leaf disease of potatoe on the Peruvian plateau. Fitopatologia, **14** (2) 85-86.
- TOPOLOVEC-PINTARIC, S., CVJETKOVIVIC, B. and JURJEVIC, Ž. (1999). Experience in integrated chemical-biological control of grey mould (*Botrytis cinerea*) on grapevines in Croatia. Journal of Wine Research, **10** (1), 33-41.
- TROSMO, A. and HJELJORD, L.G. (1998). Biological control with *Trichoderma* species. In: Plant-microbe interactions and biological control. G.J. BOLAND and L.D. KUYKENDALL (eds). Marcel Dekker Inc, New York, USA, pp. 111-126.
- VANNINI, A., MAGRO, P. and VETTRAINO, A.M. (2000). *Ulocladium chartarum* as the causal agent of a leaf necrosis on *Quercus pubescens*. Forest Pathology , **30** (6), 297-303.
- VAIL, M.E., WOLPERT, J.A., GUBLER, W.D. and RADEMACHER, M.R. (1998). Effect of cluster tightness on botrytis bunch rot in six Chardonnay clones. Plant Diseases, **82** (1), 107-109.
- VAIL, M.E. and MAROIS, J.J. (1991). Grape cluster architecture and the susceptibility of berries to *Botrytis cinerea*. Phytopathology, **81** (2), 188-191.
- VAN DER VLUGT-BERGMANS, C.J.B., BRANDWAGT, B.F., VANT'T KLOSSTER, J.W., WAGEMAKERS, C.A.M. and VAN KANN, J.A.L. (1993). Genetic variation and segregation of DNA polymorphism in *Botrytis cinerea*. Mycological Research, **97**, 1193-1200.
- WEEDS, P.I., BEEVER, R.E. ,SHARROCK, K.R. and LONG, P.G. (1999). A major gene controlling pathogenicity in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*). Physiological and Molecular Plant Pathology, **54**, 13-35.
- WHIPPS, J.M. und LUMSDEN, R.D. (2001). Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: Status and prospects. In: Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. BUTT, T.M., JACKSON, C. and MAGAN N. (eds). CAB International, Wallingford, UK, pp. 9-22.

- WHIPPS, J.M. (1993). Aspects of selection and use of fungal antagonists for biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse celery and lettuce. In: Biological Control of Foliar and Post-Harvest Diseases. N.J. FOKKEMA, J. KÖHL and Y. ELAD (eds). IOBC/WPRS Bulletin, **16** (11), pp. 60-63.
- WHITEMAN, S.A. and STEWART, A. (1998). Suppression of *Botrytis cinerea* sporulation on irradiated grape leaf tissue by the antagonistic bacterium *Serratia liquefaciens*. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, **26**, 325-330.
- WISNIEWSKI, M. BILES, C. DROBY, S., MCLAUGHLIN, R., WILSON, C. and CHALUTZ, E. (1991). Mode of action of the postharvest yeast, *Pichia guilliermondii*. I. Characterisation of attachment to *Botrytis cinerea*. Physiological and Molecular Plant Pathology, **39**, 245-258.
- WOLF, T.K., BAUDOIN, A.B.A.M. and MARTINEZ-OCHOA, N. (1997). Effect of floral debris removal fruit cluster on botrytis bunch rot of Chardonnay grapes. Vitis, **36** (1), 27-33.
- WOOD, R.K.S. (1951). The control of diseases of lettuce by the use of antagonistic organisms. Annals of Applied Biology, **38**, 203-216.
- YARDEN, O. and KATAN, T. (1993). Mutations leading to substitutions at amino acid 198 and 200 of beta-tubulin that correlate with benomyl-resistance phenotypes of field strains of *Botrytis cinerea*. Phytopathology, **83** (12), 1478-1483.
- YOHALEM, D.S. (2001). Microbiological management of foliar pathogens in glasshouses. DJF-Rapport, **49**, 65-70.
- YOURMAN, L.F., JEFFERS, S.N. and DEAN R.A. (2001). Phenotype instability in *Botrytis cinerea* in the absence of benzimidazol and dicarboximide fungicides. Phytopathology, **91** (3), 307-315.
- YOURMAN, L.F., JEFFERS, S.N. and DEAN R.A. (2000). Genetic analysis of isolates of *Botrytis cinerea* sensitive and resistant to benzimidazole and dicarboximide fungicides. Phytopathology, **90** (8), 851-859.
- YUNIS, H., SHTIENBERG, Y.E., ELAD Y. and MAHRER, Y. (1994). Qualitative approach for modelling outbreaks of grey mould epidemics in non-heated cucumber greenhouses. Crop Protection, **13** (2), 99-104.
- ZIMAND, G., ELAD, Y. and CHET, I. (1996). Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. Phytopathology, **86** (11), 1255-1260.
- ZIMAND, G., VALINSKY, L., ELAD, Y., CHET, I. and MANULIS, S. (1993). DNA fingerprinting of a *Trichoderma* isolate by the RAPD procedure. In: Biological Control of Foliar and Post-Harvest Diseases. N.J. FOKKEMA, J. KÖHL and Y. ELAD (eds). IOBC/WPRS Bulletin, **16** (11), pp. 173-176.
- ZITTER, T.A. and HSU, L.W. (1992). Influence of temperature and fungicide on germination, growth, and virulence of *Ulocladium cucurbitae* on cucumber. Phytopathology, **82** (3), 358-362.
- ZITTER, T.A. and HSU, L.W. (1990). A leaf spot of cucumber caused by *Ulocladium cucurbitae* in New York. Plant Disease, **74** (10), 824-827.
- ZOECKLEIN, B.W., WOLF, T.K., DUCAN, N.W. JUDGE, J.M. and COOK, M.K. (1992). Effects of fruit zone leaf removal on yield, fruit composition and fruit rot incidence of Chardonnay and White Riesling (*Vitis vinifera* L.) grapes. American Journal of Enology and Viticulture, **43**, 139-148.

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mir während der Erstellung meiner Dissertation mit Rat und Tat zur Seite gestanden haben; sei es durch fachliche Hilfestellungen, konstruktive Kritik oder auch durch Offenheit und Freundschaft.

Mein herzlichster Dank gilt Herrn Prof. Dr. H.-W. Dehne, der mir die Möglichkeit gegeben hat an der Thematik zu arbeiten und das Projekt zu einem Ende zu bringen. Besonders bedanke ich mich für die mir gewährte Selbständigkeit und das mir entgegengebrachte Vertrauen.

Danken möchte ich Herrn Prof. G. Noga vom Institut für Gartenbauwissenschaft der Universität Bonn für die Übernahme des Korreferates.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. E.-C. Oerke für die freundliche Betreuung, seine immer währende, z. T. zeitaufwendige Bereitschaft der Anregungen, Hilfestellungen, Diskussionen und Kritik waren mir immer eine große Unterstützung.

Desweiteren danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn für die angenehme Arbeitsatmosphäre, besonders Frau Dr. U. Steiner und Herrn Dr. J. Hamacher für die stets vorhandene Hilfsbereitschaft.

Dieses Projekt wurde im Rahmen des EU-Projektes BIOSPORESUPPRESS (Fair3-CT96-1898) durchgeführt. Für die Koordination des Projektes und die Bereitstellung der Pilzisolat Ua385 (*Ulocladium atrum*) und Bc700 (*Botrytis cinerea*) danke ich Herrn Dr. J. Köhl, PRI, Wageningen, Niederlande.

Weiter danke ich Herrn W. Ziegler, Bayer CropScience, und Herrn S. Lavnik, Staatliche Weinbaudomäne Marienthal, für die Anregungen und die praktischen Hilfen bei der Durchführung der Feldversuche im Weinbau.