

In vitro-Wirkung von Fungiziden auf *Fomitiporia mediterranea* und *Phaeomoniella chlamydospora*, die Erreger der Esca-Krankheit der Rebe

VERENA PLATZER und WOLFGANG SCHWEIGKOFLER

Land- und Forstwirtschaftliches Versuchszentrum Laimburg
I-39040 Auer (BZ), Laimburg 6
E-mail: wolfgang.schweigkofler@provinz.bz.it

Die Wirkung von folgenden 17 Weinbau-Fungiziden auf das Myzelwachstum der Esca-Erreger *Fomitiporia mediterranea* und *Phaeomoniella chlamydospora* sowie auf die Sporenkeimung von *P. chlamydospora* wurde in vitro untersucht: Arius, Cantus, Elicio, Flint, Folpan 80 WDG, Forum 50 WP, Frupica, Kocide 2000, Prosper 300 CS, Rovral, Strobry WG, M 70, Talendo EC, Teldor, Tiovit Jet, Topas 10 EC und Zoxium 240 SC. Als die wirksamsten Präparate sowohl bei praxisüblicher Felddosis (FD) als auch bei zehnfach verdünnter Konzentration erwiesen sich M 70 (Wirkstoff: Mancozeb), Prosper (Spiroxamine) und Topas 10 EC (Penconazol). Tiovit (Schwefel) zeigte eine starke Hemmung der Konidienkeimung. Elicio (mit den beiden Wirkstoffen Aluminiumfosetyl und Fenamidon) bewirkte dagegen eine deutlich geringere Unterdrückung der Pathogene in vitro. Mit Aluminiumfosetyl wurden aber wiederholt vielversprechende Erfolge bei Versuchen in vivo erzielt. Rovral (Iprodion) übte eine relativ gute Hemmwirkung auf beide Esca-Erreger aus. Kocide 2000 (Kupferhydroxid) hemmte hauptsächlich *F. mediterranea*; *P. chlamydospora* wurde nur begrenzt beeinflusst. Folpan (Folpet) hingegen war gegen letzteren effizienter. Die Stobilurin-haltigen Mittel Flint (Trifloxystrobin) und Strobry (Kresoxim-methyl) zeigten eine geringe Wirkung. Zoxium 240 SC (Zoxamid) zeigte eine mäßige Wirkung gegen *F. mediterranea* und war gegen *P. chlamydospora* praktisch wirkungslos. Cantus (Boscalid), Teldor (Fenhexamid), Frupica (Mepanipyrim), Arius (Quinoxifen), Talendo EC (Proquinazid) und Forum WP 50 (Dimethomorph) beeinflussten die Entwicklung beider Pilzarten nur geringfügig, bzw. gar nicht.

Schlagwörter: Weinrebe, Esca, Fungizide, *Fomitiporia*, *Phaeomoniella*

In vitro-efficacy of fungicides on *Fomitiporia mediterranea* and *Phaeomoniella chlamydospora*, the causative pathogens of the Esca-disease of grapevines. The effect of the following 17 fungicides used in viticulture on the hyphal growth of the Esca-pathogens *Fomitiporia mediterranea* and *Phaeomoniella chlamydospora* and the spore germination of *P. chlamydospora* was tested in vitro: Arius, Cantus, Elicio, Flint, Folpan 80 WDG, Forum 50 WP, Frupica, Kocide 2000, Prosper 300 CS, Rovral, Strobry WG, M 70, Talendo EC, Teldor, Tiovit Jet, Topas 10 EC and Zoxium 240 SC. The most effective fungicides using both field doses (FD) and ten-fold diluted doses were M 70 (active ingredient: Mancozeb), Prosper (Spiroxamine) and Topas 10 EC (Penconazol). Tiovit (sulphur) strongly inhibited the germination of the conidia. Elicio (containing the two anti-fungal ingredients aluminium fosetyl and fenamidon) was less effective against the pathogens in vitro. Aluminium fosetyl, however, had shown promising results in vivo in other experiments. Rovral (iprodion) showed relatively good inhibition of both Esca-pathogens. Kocide 2000 (copper hydroxide) inhibited mainly *F. mediterranea*, but showed little effect on *P. chlamydospora*. Folpan (Folpet) was more effective against the latter fungus. Fungicides containing derivatives of strobilurin (Flint: trifloxystrobin; Strobry: kresoxim-methyl) were not very effective. Zoxium 240 SC (zoxamid) showed some inhibition of *F. mediterranea*, but not of *P. chlamydospora*. Cantus (Boscalid), Teldor (Fenhexamid), Frupica (Mepanipyrim), Arius (Quinoxifen), Talendo EC (Proquinazid) and Forum WP 50 (Dimethomorph) showed very little effect on the fungal growth if any at all.

Key words: grapevine, Esca, fungicides, *Fomitiporia*, *Phaeomoniella*

Effet in vitro de fongicides sur Fomitiporia mediterranea et Phaeomoniella chlamydospora, les agents pathogènes de l'esca, maladie de la vigne. L'effet des 17 fongicides suivants, utilisés dans la viticulture, sur la croissance mycélienne des agents pathogènes de l'esca Fomitiporia mediterranea et Phaeomoniella chlamydospora et sur la germination des spores de P. chlamydospora a été examiné in vitro : Arius, Cantus, Elicio, Flint, Folpan 80 WDG, Forum 50 WP, Frupica, Kocide 2000, Prosper 300 CS, Rovral, Strobry WG, M 70, Talendo EC, Teldor, Tiovit Jet, Topas 10 EC et Zoxium 240 SC. Les préparations suivantes se sont avérées être les plus efficaces, tant pour la dose d'utilisation courante que pour la concentration diluée dix fois: M 70 (substance active : mancozèbe), Prosper (spiroxamine) et Topas 10 EC (penconazole). Tiovit (soufre) a produit un fort effet inhibiteur sur la germination des conidies. En revanche, Elicio (avec les deux substances actives fosétyl-aluminium et fénamidone) a causé une suppression beaucoup moins importante des pathogènes in vitro. Le fosétyl aluminium a cependant permis d'obtenir à maintes reprises des résultats prometteurs dans des essais in vivo. Rovral (iprodione) a produit un effet inhibiteur relativement bon sur les deux agents pathogènes de l'esca. Kocide 2000 (hydroxide de cuivre) a inhibé notamment F. mediterranea; le produit n'a eu qu'un effet limité sur P. chlamydospora. En revanche, Folpan (folpet) a été plus efficace contre ce dernier. Les produits contenant de la stobilurine Flint (trifloxystrobine) et Strobry (krésoxim-méthyle) ont produit un effet faible. Zoxium 240 SC (zoxamide) a produit un effet modéré sur F. mediterranea, et son effet sur P. chlamydospora a été pratiquement nul. Cantus (boscalide), Teldor (fenhexamide), Frupica (mépanipyrimine), Arius (quinoxifène), Talendo EC (proquinazide) et Forum WP 50 (diméthomorphe) n'ont exercé qu'une faible, voire aucune influence, sur le développement des deux espèces de champignons.

Mots clés: vigne, esca, fongicide, Fomitiporia, Phaeomoniella

Esca ist ein Krankheitskomplex der Rebe mit vielfältiger Symptomausprägung, die sowohl eine langsam vorschreitende chronische Phase mit typischen Blattverfärbungen („Tigermuster“) als auch eine sehr rasch verlaufende akute Phase mit Absterbeerscheinungen (sog. Apoplexie) umfassen kann. Die Identität der Esca-verursachenden Pathogene war lange Zeit umstritten, da symptomatisches, aber auch asymptomatisches Rebholz von zahlreichen endophytischen Pilzarten besiedelt wird (SCHWEIGKOFER und PRILLINGER, 1997). Neuere Arbeiten zeigen, dass die beiden Ascomyceten *Phaeomoniella chlamydospora* (*Pch*, Chaetothyriales) und *Phaeoacremonium aleophilum* (*Pal*, Diaporthales) sowie der Basidiomycet *Fomitiporia mediterranea* (*Fmed*, Hymenochaetales) maßgeblich an Esca beteiligt sind (SURICO, 2001; KASSEMAYER und FISCHER, 2004).

Aus Pflanzen mit Esca-Symptomen werden häufig auch andere pathogene Pilze isoliert, die aber nicht als die Ursache für die Erkrankung angesehen werden, z. B. die Ascomyceten *Eutypa lata* (Eutypiose), *Phomopsis viticola* (Schwarzfleckenkrankheit) und *Botryosphaeria* sp. (Erreger der „black dead arm“-Krankheit). Eine synergistische Wirkung zwischen diesen Krankheiten kann nicht ausgeschlossen werden (VIRET und SIEGFRIED, 2004; FISCHER, 2006). Eine mögliche Rolle der Basidiomyceten *Stereum hirsutum*, *Phellinus igniarius* und *Fomitiporia punctata* für die Symptomausprägung wurde früher diskutiert, diese Pilze dürften aber nach neueren Erkenntnissen – wenn überhaupt – nur eine untergeordnete Rolle spielen (VIRET und SIEGFRIED, 2004).

Ausgehend vom Mittelmeerraum, wo die Krankheit seit der Römerzeit bekannt ist, hat sich Esca in den meisten Weinbaugebieten der Erde verbreitet. Auf Grund der Qualitätsminderung der betroffenen Trauben, der Ernteverluste bzw. des Ausfalls ganzer Stöcke sind die ökonomischen Schäden durch Esca teilweise beträchtlich. In Südtirol sind hauptsächlich ältere Reben der Sorten 'Sauvignon blanc', 'Gewürztraminer' und 'Vernatsch' von Esca betroffen. Daneben werden aber ähnliche Symptome zunehmend auch von jüngeren Reben berichtet, dabei dürfte es sich um die sog. „Petri-disease“ handeln, an deren Entstehung *Pal* und *Pch* beteiligt sind, ohne dass die durch *Fmed* verursachte Weißfäule auftritt.

Die Bekämpfung von Esca erfolgt in erster Linie durch das Roden und Entfernen der betroffenen Reben und damit einer Verringerung des Inokulums in der Anlage. Großflächige, durch den Rebschnitt entstandene Wunden am Rebholz können mit einem wasserfesten Holzleim verstrichen werden, um die Eintrittspforten für Pilzsporen zu versiegeln (LIPPS, 2007). Trotz zahlreicher Untersuchungen im Gewächshaus und im Freiland gibt es derzeit kein zugelassenes wirksames biologisches oder chemisches Pflanzenschutzmittel bzw. keine befriedigende Strategie zur Lösung des Problems (SURICO et al., 2003 und 2006). Faktoren, die eine kurative Bekämpfung erschweren, sind das vorwiegend endophytische Wachstum der Pilze, das ungleichmäßige Auftreten der äußeren Symptome, die häufig fehlende Korrelation zwischen inneren und äußeren Symptomen und

die lange Latenzzeit bis zum Erscheinen der ersten Symptome (FISCHER, 2006).

Im Südtiroler Weinbau werden im Rahmen des integrierten Pflanzenschutzes gezielt chemische Pflanzenschutzmittel zur Bekämpfung der wichtigsten Pflanzenkrankheiten eingesetzt, v.a. von Echtem und Falschem Mehltau sowie Graufäule (verursachende Pathogene: *Plasmopara viticola*, *Uncinula necator* bzw. *Botrytis cinerea*). In der vorliegenden Arbeit wurden 17 dieser Pflanzenschutzmittel auf ihre in vitro-Wirkung gegen *F. mediterranea* und *P. chlamydospora* getestet, um eine mögliche Nebenwirkung dieser Präparate auf die Ausbreitung von Esca beurteilen zu können.

Material und Methoden

Pilzstämme

Die Pilzstämme wurden von Dr. MICHAEL FISCHER vom Staatlichen Weinbauinstitut Freiburg (Deutschland) erhalten.

Fomitiporia mediterranea Fischer (*Fmed*, Hymenochaetaceae, Hymenochaetales) Stamm 45/23, isoliert aus *Vitis vinifera*, cv. Müller Thurgau, im Kaiserstuhl (Baden-Württemberg), 2001. *Phaeoconiella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams (*Pch*, Herpotrichiellaceae, Chaetothiales) Stamm MT.Zi.12, isoliert aus *Vitis vinifera*,

cv. Müller Thurgau, im Kaiserstuhl (Baden-Württemberg), 2002.

Die Stammhaltung erfolgte auf Kartoffel-Dextrose-Agar (PDA; Fa. Becton, Dickinson & Co., USA) bei 4 °C. Die Vermehrung der Pilze erfolgte auf PDA bei Raumtemperatur.

Fungizide

Siebzehn Fungizide unterschiedlicher Wirkstoffklassen wurden getestet (Tab. 1). Die Präparate sind in Italien für den Weinbau registriert und werden für die Bekämpfung von unterschiedlichen Krankheiten (Falscher und Echter Mehltau, Graufäule) empfohlen (WALDNER, 2005).

Nährmedium

Die Anzucht der Pilze erfolgte auf PDA-Medium (39 g/l) mit jeweils 40 mg/l Streptomycinsulfat (Fa. Merck) und Tetracyclin-Hydrochlorid (Fa. Merck) sowie einer entsprechenden Menge der Fungizid-Stammlösungen bzw. deren Verdünnungen. Von jedem Fungizid wurden drei Konzentrationen bei dreimaliger Wiederholung in Petrischalen ($\varnothing = 60$ mm) getestet. Ausgehend von der Felddosis (die für den Praxiseinsatz empfohlene Dosis FD), wurden die zwei Verdünnungen 1/10 FD und 1/100 FD hergestellt. Die daraus resultierenden Wirkstoffkonzentrationen sind in Tabelle 1 angegeben.

Tab. 1: Liste der getesteten Fungizide (Handelsname und aktiver Wirkstoff). Die gewählte Konzentration ist die in Südtirol empfohlene Felddosis (FD) sowie zwei Verdünnungsstufen (1/10 FD und 1/100 FD)

Handelsname	Wirkstoff	Wirkstoffgehalt (%)	Felddosis/hl	Wirkstoffkonzentration pro ml Nährmedium (μg)		
				FD	1/10 FD	1/100 FD
Arius	Quinoxifen	22,6	30 ml	67,8	6,78	0,678
Cantus	Boscalid	50	100 g	500	50	5
Elicio	Fenamidon	4,4	insg. 250 g	110	11	1,1
	Aluminiumfosetyl	66,7		1667,5	166,75	16,675
Flint	Trifloxystrobin	50	14 g	70	7	0,7
Folpan 80WDG	Folpet	80	150 g	1200	120	12
Forum 50 WP	Dimethomorph	40	40 g	160	16	1,6
Frupica	Mepanipyrim	50	100 g	500	50	5
Kocide 2000	Kupferhydroxid	35	100 g	350	35	3,5
M 70	Mancozeb	80	200 g	1600	160	16
Stroby WG	Kresoxymethyl	50	14 g*	1000	100	10
Prosper 300CS	Spiroxamine	50	78 ml	390	39	3,9
Rovral	Iprodion	50	200 g	1000	100	10
Talendo EC	Proquinazid	20	25 ml	50	5	0,5
Teldor	Fenhexamid	50	120 g	600	60	6
Tiovit Jet	Schwefel	80	300 g	2400	240	24
Topas 10 EC	Penconazol	10,5	30 ml	31,5	3,15	0,315
Zoxium 240 SC	Zoxamid	24	93 ml	223,2	22,32	2,232

* Bei Stroby WG wurde eine erhöhte Konzentration getestet, welche einer FD von 200 g/hl entspricht.

Myzel-Wachstumsversuche

Die Myzel-Wachstumsversuche wurden in abgewandelter Form nach BRAND (2006) und MUNKVOLD und MAROIS (1993) mit *Pch* und *Fmed* durchgeführt. Aus den Pilzkulturen von *Pch* (Alter: 6 Tage) und *Fmed* (Alter: ca. 3 Wochen) wurden mittels Korkbohrer Agar-Plugs mit einem Durchmesser von 7 mm ausgestochen und mit dem Myzelbewuchs nach unten auf das fungizidhaltige Nährmedium übertragen. Das radiale Wachstum des Pilzmyzels von *Fmed* und *Pch* wurde nach drei Wochen bei Raumtemperatur gemessen. Der Mittelwert des Wachstums auf den Kontrollplatten wurde als 100 % definiert und das Pilzwachstum auf den Fungizidplatten in Relation dazu berechnet (100 %: Wachstum nicht von Kontrollplatten unterscheidbar, 0 %: kein Wachstum feststellbar) (Abb. 1).

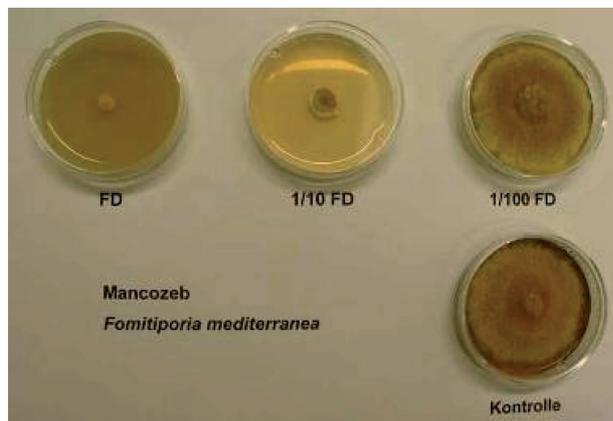


Abb. 1: Myzelwachstum von *Fmed* auf Nährmedium mit unterschiedlichem Gehalt an M 70 (Wirkstoff: Mancozeb).

Keimungsversuche

Die Keimungsversuche wurden in abgewandelter Form nach BRAND (2006) und JASPERS (2001b) nur mit *Pch* durchgeführt, da *Fmed* in Kultur nicht sporuliert. Zur Gewinnung der Sporensuspension wurde eine mit *Pch* bewachsene Petrischale mit 10 ml destilliertem Wasser überschichtet, und die Sporen wurden abgelöst. Die Sporendichte wurde mittels Fuchs-Rosenthal-Zählkammer bestimmt und auf eine Konzentration von 1×10^3 Sporen/ml eingestellt. Die Reinheit der Suspension bzw. das Vorkommen von Myzelfragmenten wurde mikroskopisch überprüft. Auf den Nährböden wurden je 50 μ l Inokulum (entsprechen 50 Sporen) ausplattiert und sechs Tage bei Raumtemperatur inkubiert. Die Wirkung der Fungizide wurde aus der Anzahl der ge-

bildeten Pilzkolonien (in cfu; colony forming units) im Vergleich zur Kontrollvariante berechnet (Abb. 2). Dabei bedeutet „cfu: 100 %“, dass keine Inhibition der Konidienkeimung erfolgte, während bei „cfu: 0 %“ keine Kolonien gebildet wurden.

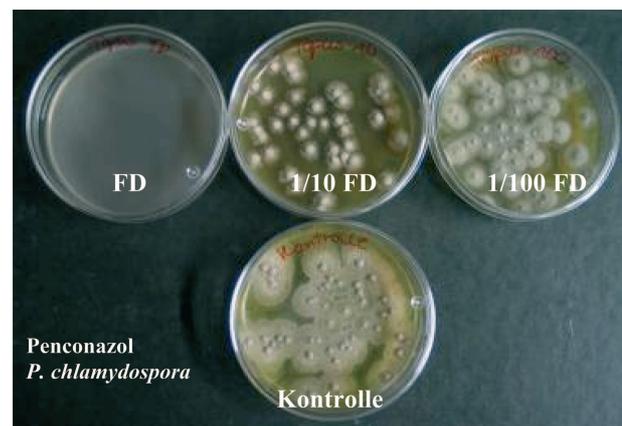


Abb. 2: Konidienkeimung von *Pch* auf Nährmedium mit unterschiedlichem Gehalt an Topas 10 EC (Wirkstoff: Penconazol).

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS 12.0 für Windows. Die Daten wurden auf ihre Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest; $P = 0,05$) bzw. auf Homogenität der Varianzen (Levene-Test; $P = 0,05$) geprüft. Anschließend wurde der T-Test für unabhängige Stichproben (Kontrolle und Testreihe) durchgeführt ($P \leq 0,05$). Bei Daten, die die Voraussetzungen für den T-Test nicht erfüllten (nicht normalverteilt), wurde der U-Test nach Mann und Whitney durchgeführt ($P \leq 0,10$).

Ergebnisse

Die Wirkung von 17 Fungiziden auf das radiale Wachstum von *Fmed* und *Pch* sowie auf die Anzahl der aus den Sporen von *Pch* gebildeten Kolonien (cfu) ist in Tabelle 2 dargestellt.

Wirkung von Fungiziden auf das Myzelwachstum

Die stärkste Wirkung auf das Myzelwachstum von *Fmed* zeigten M 70, Prosper und Topas 10 EC mit den Wirkstoffen Mancozeb, Spiroxamine und Penconazol. Bei Topas 10 EC und M 70 war die Hemmung bei allen getesteten Konzentrationen statistisch signifikant (T-

Tab. 2: Myzelwachstum von *F.mediterranea* (Fmed) und *P.chlamydospora* (Pch) sowie Anzahl der cfu (%) von *P.chlamydospora* in Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration verschiedener Fungizide nach drei Wochen Inkubation bei Raumtemperatur: Felddosis (FD), zehnfache (1/10 FD) und hundertfache Verdünnung (1/100 FD). Die Fungizidwirkung wird in Relation zum Pilzwachstum auf Kontrollmedium angegeben (Wachstum der Kontrolle: 100%)

Fungizid	Konzentration	Fmed Wachstum (%)	Standard- abweichung	Pch Wachstum (%)	Standard- abweichung	Pch cfu (%)	Standard- abweichung
Arius	FD	93	4,3	88	3,2	92	0,6
	1/10 FD	99	4,8	94	3,8	87	4,3
	1/100 FD	100	4,3	97	3,8	68	0,0
Cantus	FD	75	3,7	75	5,8	79	6,7
	1/10 FD	74	4,7	77	2,3	87	1,8
	1/100 FD	87	0,6	83	0,6	82	1,0
Elicio	FD	25	4,2	31	6,6	41	10,7
	1/10 FD	50	0,9	70	0,3	78	1,0
	1/100 FD	81	2,7	94	3,2	92	4,6
Flint	FD	68	1,6	55	4,6	74	5,2
	1/10 FD	69	7,1	43	1,2	74	4,3
	1/100 FD	72	2,2	46	5,9	81	1,3
Folpan	FD	42	1,9	28	0,6	21	1,9
	1/10 FD	46	3,0	39	0,8	78	7,2
	1/100 FD	93	7,0	95	2,1	76	3,3
Forum WP 50	FD	84	3,0	92	0,3	81	1,4
	1/10 FD	87	1,1	95	0,7	87	1,9
	1/100 FD	95	3,8	100	0,8	87	7,0
Frupica	FD	103	6,5	59	1,3	76	5,1
	1/10 FD	103	6,5	79	2,2	69	2,3
	1/100 FD	105	4,7	92	1,6	85	2,4
Kocide 2000	FD	18	1,6	49	2,4	92	4,4
	1/10 FD	81	3,6	98	2,7	81	3,1
	1/100 FD	80	4,2	96	6,2	79	3,6
M 70	FD	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	1/10 FD	8	5,2	29	4,2	0	0,0
	1/100 FD	90	6,4	95	3,5	69	2,2
Prosper	FD	0	0,0	2	1,5	0	0,0
	1/10 FD	5	0,5	45	0,8	0	0,0
	1/100 FD	97	4,3	97	4,3	82	2,1
Rovral	FD	24	5,8	23	1,9	30	4,9
	1/10 FD	24	5,0	25	2,0	23	4,7
	1/100 FD	82	3,8	74	2,8	87	3,7
Stroby	FD	79	2,5	61	1,7	67	6,6
	1/10 FD	71	1,4	55	0,5	69	4,4
	1/100 FD	70	1,8	55	3,0	77	4,3
Talendo EC	FD	90	5,2	96	4,7	87	1,9
	1/10 FD	104	4,7	96	2,0	84	6,0
	1/100 FD	103	3,1	97	1,0	77	6,4
Teldor	FD	75	6,9	83	1,8	69	1,2
	1/10 FD	97	3,3	87	2,6	76	0,2
	1/100 FD	103	1,2	97	0,1	84	2,2
Tiovit	FD	29	1,1	67	0,2	1	1,7
	1/10 FD	70	3,1	89	1,0	0	0,0
	1/100 FD	69	0,5	89	5,2	75	7,4
Topas 10 EC	FD	0	0,5	1	0,8	0	0,0
	1/10 FD	4	3,6	33	3,0	75	6,1
	1/100 FD	39	6,4	84	3,2	87	5,8
Zoxium 240 SC	FD	43	2,6	91	2,4	95	6,4
	1/10 FD	66	5,2	93	4,1	84	1,5
	1/100 FD	96	5,1	100	0,0	81	3,6

Test $P \leq 0,05$ bzw. U-Test $P \leq 0,10$). Bei der Felddosis (FD) erfolgte eine vollständige bzw. sehr starke Unterdrückung des Wachstums. Auch bei einer Konzentration entsprechend 1/10 FD zeigten diese Wirkstoffe eine starke Hemmung (zwischen 4 und 8 % Wachstum im Vergleich zur Kontrolle). Topas 10 EC war auch bei einer Konzentration von 1/100 FD noch aktiv, während M 70 und Prosper bei dieser Verdünnung kaum einen Effekt zeigten.

Kocide 2000 (Kupferhydroxid) zeigte bei FD eine relativ starke Hemmung von *Fmed* (ca. 18 % Wachstum im Vergleich zur Kontrolle). Weitere Fungizide, die eine Wachstumsreduktion von über 50 % verursachten, waren: Elicio, Rovral, Tiovit, Folpan und Zoxium 240 SC. Die übrigen Präparate (Flint, Stroby, Cantus, Teldor, Forum WP 50, Arius und Talendo EC) zeigten nur eine geringfügige Wachstumsreduktion. Die schwächste Wirkung von allen getesteten Präparaten zeigten Frupica und Arius, die bei keiner getesteten Konzentration eine signifikante Hemmwirkung zeigten bzw. sogar zu einer leichten Wachstumsförderung führten.

Auch das Myzelwachstum von *Pcb* wurde von M 70, Topas 10 EC und Prosper am stärksten inhibiert. Die Hemmung war bei FD (beinahe) vollständig; bei 1/10 FD lag das Wachstum noch unter 50 % im Vergleich zur Kontrolle; Die Inhibition war statistisch signifikant. Bei 1/100 FD waren die Wirkstoffe mit einem Wachstum von über 80 % und 90 % nur mehr schwach bzw. nicht wirksam.

Weitere Fungizide, die das Wachstum um mehr als die Hälfte verminderten, waren: Flint, Elicio, Kocide 2000, Folpan und Rovral. Die übrigen Präparate (Stroby, Frupica, Tiovit, Cantus, Teldor, Arius, Forum WP 50, Zoxium 240 SC und Talendo EC) zeigten eine geringere Wirkung (Wachstum im Vergleich zur Kontrolle über 50 %). Kocide 2000 (Kupferhydroxid) verminderte in der FD das Wachstum um ungefähr die Hälfte. Im Vergleich zu *Fmed* war die Wirkung um einiges schwächer: Bei FD wurde ein Wachstum von ca. 18 % erreicht; die niedrigen Konzentrationen zeigten eine nur minimale Wirkung.

Wirkung von Fungiziden auf die Konidienkeimung von *P.chlamyospora*

Die Keimungsrate der Konidien auf den Kontrollplatten lag bei knapp 100 %; die Kolonien waren nach zwei Tagen mit freiem Auge sichtbar. Die Kulturen auf den Fungizidnährböden zeigten häufig eine Wachstumsverzögerung und waren erst einen Tag später sicht-

bar. Die stärkste Inhibition zeigten M 70, Tiovit, Prosper und Topas 10 EC. Die ersten drei angeführten Präparate unterdrückten die Konidienkeimung von *Pcb* sowohl bei FD als auch bei zehnfacher Verdünnung vollständig bzw. weitgehend. Bei der hundertfachen Verdünnung wurde eine Keimung von mehr als 60 % im Vergleich zur Kontrolle ermittelt. Bei M 70 war die Hemmung bei allen getesteten Konzentrationen statistisch signifikant. Topas 10 EC verhinderte die Keimung nur bei FD und zeigte bereits ab 1/10 FD nur mehr eine schwache Wirkung. Auch bei einer Nachkontrolle nach 11 bzw. 14 Wochen hatten sich bei M 70 und Tiovit bei FD und 1/10 FD keine Kolonien gebildet. Bei Topas 10 EC in der praxisüblichen Konzentration waren nach acht Wochen einzelne *Pcb*-Kulturen angewachsen. Bei Prosper bildeten sich bei 1/10 FD nach elf Wochen einige Kolonien. Folpan, Rovral und Elicio konnten die Koloniebildung bei FD im Vergleich zur Kontrolle um mehr als die Hälfte reduzieren. Bei den restlichen Präparaten (Stroby, Teldor, Frupica, Arius, Flint, Cantus, Talendo EC, Forum WP 50, Kocide 2000 und Zoxium 240 SC) lag die Keimungsrate bei über 60 %. Bei Rovral und Frupica war die zeitlich verzögerte Kolonieentwicklung auffällig: Die Kulturen bildeten sich bei Präsenz von Frupica drei Tage bis sechs Tage und bei Rovral zehn bis elf Tage später als bei den anderen Fungiziden. Die Wirkung der vier effizientesten Pflanzenschutzmittel (Topas, Prosper, Tiovit und M 70) auf Myzelwachstum und Keimungsraten von *Fmed* und *Pcb* ist zusammenfassend in Abbildung 3 dargestellt.

Diskussion

Die Wirkung von 17 Fungiziden auf das Myzelwachstum von *Fmed* und *Pcb* sowie auf die Keimungsrate von *Pcb* wurde in vitro getestet. Als Wirkstoffkonzentrationen wurden die im Südtiroler Weinbau empfohlenen Felddosen sowie die zehn- und hundertfache Verdünnungsstufe gewählt (WALDNER, 2005).

Die stärkste Wachstumshemmung gegen beide Pilze zeigten das Kontaktfungizid M 70 (Wirkstoff: Mancozeb), die systemisch wirkenden Mittel Prosper (Spiroxamine) und Topas 10 EC (Penconazol) sowie Tiovit mit dem nicht-systemischen Wirkstoff Schwefel. M 70, Tiovit und Prosper zeigten außerdem eine gute Wirkung auf die Konidienkeimung von *Pcb*. Es war also kein eindeutiges Muster erkennbar, ob systemische oder nicht-systemische Mittel bzw. Kontaktfungizide insgesamt eine bessere Wirkung aufweisen. In Tests

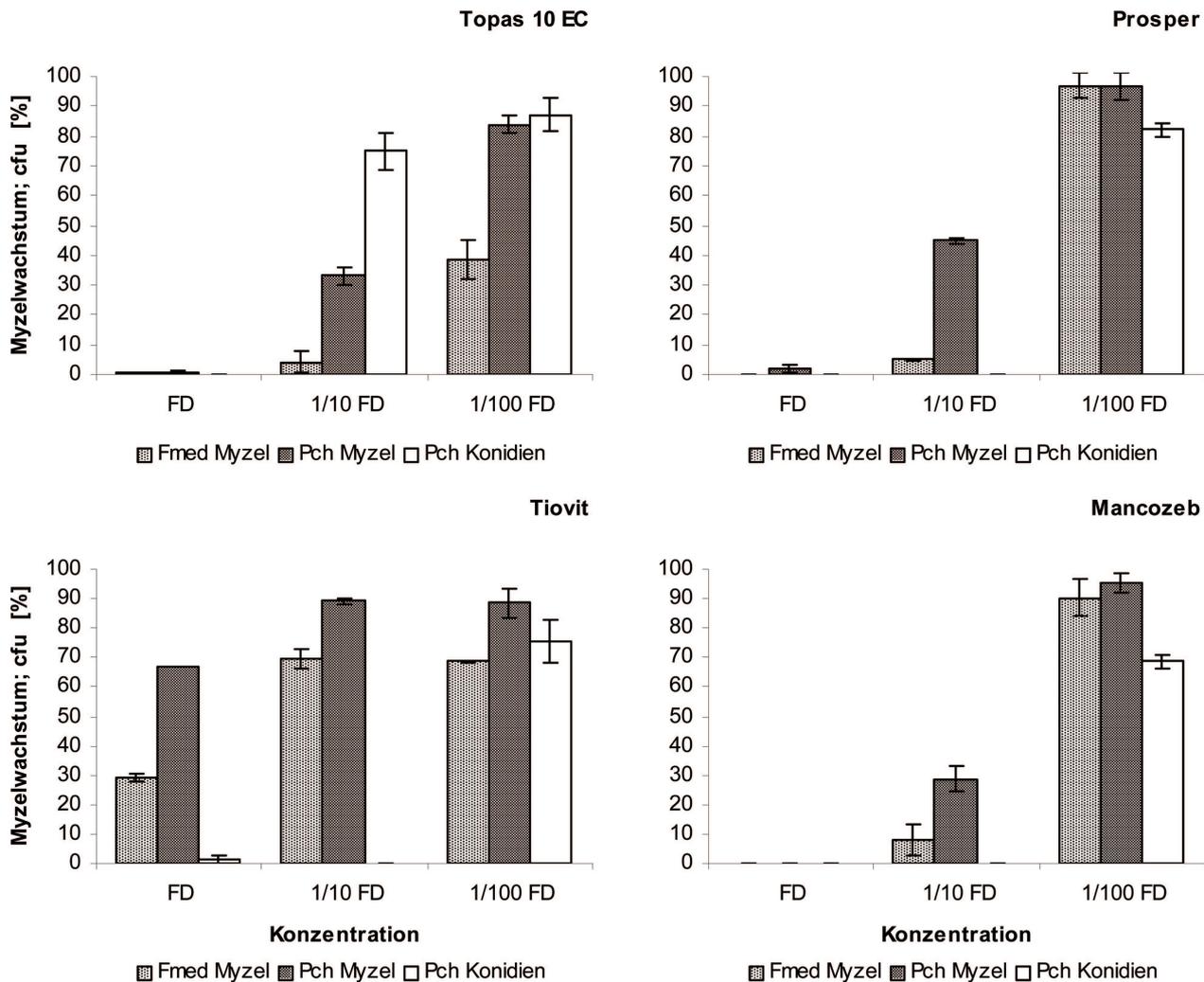


Abb. 3: Wirkung der Pflanzenschutzmittel Topas (Penconazol), Prosper (Spiroxamine), Tiovit (Schwefel) und M 70 (Mancozeb) auf das Myzelwachstum von *F.mediterranea* (*Fmed*) sowie auf das Myzelwachstum und die Anzahl der cfu [%] von *P.chlamydospora* (*Pch*). Getestet wurde die empfohlene Felddosis (FD) sowie die zehnfache (1/10 FD) und hundertfache Verdünnung (1/100 FD). Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Testvarianten im Verhältnis zum Wachstum auf Kontrollmedium.

von JASPERS (2001a und 2001b) zeigten Kontaktfungizide oft eine starke Verminderung der Konidienkeimung von *Pch*, jedoch nur eine geringe Hemmung des Myzelwachstums.

Mancozeb besitzt ein breites Wirkspektrum und wird gegen viele Pilzkrankheiten eingesetzt (BCPC, 1995). Bei einer Konzentration von 1600 µg/ml (das entspricht der empfohlenen FD gegen *P.viticola*) erreichte Mancozeb eine vollständige Unterdrückung des Wachstums der Esca-Pilze, bei einer Konzentration von 160 µg/ml (1/10 FD) eine vollständige Unterdrückung der Konidienkeimung. ähnliche Ergebnisse waren für verschie-

dene Esca-Pilze schon beschrieben worden (GROENEWALD et al., 2000; PARKER und SUTTON, 1993). Schwefel wirkt gegen Pilze durch Hemmung der Konidienkeimung (HEWITT, 1998). Da Schwefel hauptsächlich über die Dampfphase wirkt und nur eine kurze Wirkungs-dauer aufweist (DORAN, 1922), ist dieser Wirkstoff als Wundverschlussmittel wahrscheinlich ungeeignet.

Systemische Fungizide könnten in der Lage sein, die Ausbreitung der Pilze innerhalb der Rebstöcke zu unterdrücken und dadurch die Symptomentwicklung zu reduzieren (JASPERS, 2001a und 2001b; SURICO et al., 2006). Die Anwendung systemischer Fungizide bei

Mutterpflanzen in Vermehrungsbetrieben könnte die Gefahr von infiziertem Pflanzgut vermindern (JASPERS, 2001a und 2001b). Derzeit erfolgt die Desinfektion von Pflanzmaterial in Rebschulen häufig durch Eintauchen in eine 8-Hydroxychinolin-Lösung („Chinosol“); die Wirksamkeit dieses Mittels gegen Erreger von Rebholzerkrankungen ist aber nicht gesichert (FOURIE und HALLEEN, 2006).

Spiroxamine und Penconazol greifen in die Ergosterolsynthese ein. Ergosterole spielen eine wichtige Rolle in der Zellwand von Pilzen; sie werden von den meisten Ascomyceten und Basidiomyceten, nicht aber den Oomyceten synthetisiert (LATIJNHOUWERS et al., 2003). Sterol-Biosynthesehemmer blockieren nicht die Sporenkeimung, da diese durch Reservestoffe ermöglicht wird und keine de novo-Biosynthese notwendig ist (HEWITT, 1998). Spiroxamine und Penconazol verminderten aber nicht nur das Myzelwachstum, sondern verhinderten auch die Koloniebildung durch die Konidien. Dies deutet darauf hin, dass die Sporen möglicherweise zwar auskeimten, ein weiteres Wachstum jedoch verhindert wurde.

Penconazol gehört zur Gruppe der Triazole (HEWITT, 1998), die sowohl präventiv als auch kurativ wirken. Die Inhibition der Ergosterolbiosynthese durch Triazole führt zu Fehlbildungen in den Pilzzellen und der Zellwand. Es kommt zu einer Anhäufung von Sterolvorläufern, die toxisch auf die Pathogene wirken (MICHELON et al., 2007). Laut SURICO et al. (2006) zeigen verschiedene Triazolverbindungen eine sehr gute Mobilität innerhalb der Pflanzen, ein breites Wirkungsspektrum und in vitro eine gute Wirksamkeit gegenüber den Esca-Erregern. Kranke Reben wurden mit Penconazol und anderen Triazolen, wie Cyperonazol, Diniconazol, Flusilazol, Propiconazol und Tetraconazol, durch Zufuhr über die Wurzeln, durch Injektion in den Stamm und durch Anstreichen der Reben behandelt. Bei einigen Versuchen wurde eine, allerdings nur zeitlich begrenzte, Reduktion der Blattsymptome erzielt.

Rovral (Kontaktfungizid mit dem Wirkstoff Iprodion) zeigte ebenfalls eine relativ gute Wirkung gegen beide Esca-Pilze. Iprodion minderte in einer Konzentration von 100 µg/ml die Konidienkeimung und das Myzelwachstum der Esca-Erreger um ca. 75 %. Bei Groenewald et al. (2000) erwies sich Iprodion (Rovral Flo) mit einem EC₅₀-Wert von 5,13 µg/ml als wirksamer Inhibitor des Myzelwachstum von *Pch*. Jaspers (2001a und 2001b) ermittelte für Iprodion (Rovral WG) für die Konidienkeimung dieses Pilzes einen EC₅₀-Wert

von 57,9 µg/ml und für das Myzelwachstum einen EC₅₀-Wert von 10,1 µg/ml. Dieser war höher als bei anderen Studien mit verwandten Pilzen, wie dem Ascomyceten *Sclerotinia homoeocarpa* (Erreger der Dollarfleckenkrankheit von Rasen) mit 0,5 bis 0,8 µg/ml beim Myzelwachstum (BURPEE, 1997). JASPERS (2001a) interpretierte dies als einen Hinweis, dass *Pch* gegenüber Kontaktfungiziden weniger sensitiv ist als andere Pilze. Iprodion wird gegen *B.cinerea*, *Sclerotinia*-Arten, gegen *Alternaria* bei Apfelbäumen sowie gegen eine Reihe weiterer Pilze in verschiedenen Kulturen eingesetzt (BCPC, 1995; WALDNER, 2005).

Elicio enthält neben dem systemischen Wirkstoff Aluminiumfosetyl (einem Salz der Phosphonsäure) zusätzlich den Wirkstoff Fenamidon. Durch diese Kombination erhält das Präparat seine protektive und systemische Wirkung (PERKOW und PLOSS, 2004). Elicio zeigte eine mäßige Wirkung auf *Fmed* und *Pch*, wobei das Myzelwachstum stärker gehemmt wurde als die Keimung. FERREIRA (1998) stellte in Untersuchungen im Labor und im Gewächshaus mit künstlich infizierten Reben eine wirksame Hemmung des Pilzwachstums durch Aluminiumfosetyl fest. Aluminiumfosetyl besitzt nur eine schwache kurative Aktivität; es wirkt hauptsächlich als Induktor der pflanzlichen Resistenz (GROENEWALD et al., 2000). DI MARCO et al. (1999) wiesen in vitro und in vivo eine synergistische Wirkung von Phosphonsäure und Resveratrol nach, durch die das Wachstum von *Pch* inhibiert wurde. Resveratrol wird von den Reben zur Abwehr von Pathogenen produziert. Wenn auch Aluminiumfosetyl in unserer Untersuchung eine relativ schwache direkte Aktivität zeigte, so sollte dieser Wirkstoff doch auf Grund der viel versprechenden Ergebnisse einiger Autoren (DI MARCO et al., 2000; DI MARCO und OSTI, 2005; CESARI et al., 2005) in vivo bei der Esca-Bekämpfung im Freiland berücksichtigt werden.

Kocide 2000 (Kupferhydroxid) zeigte bei sämtlichen Konzentrationen nur eine sehr geringe Keimungshemmung. Das Myzelwachstum von *Pch* wurde bei FD um ca. 50 % verringert; bei *Fmed* war die Wirkung geringfügig stärker (Wachstum von 18 % im Vergleich zur Kontrolle). Die schwache Wirkung von Kupfer überrascht um so mehr, da dieser Wirkstoff häufig gegen Esca empfohlen wird, vor allem als Zusatz zu Wundverschlussmitteln. Die Praxiserfahrungen bei Kupfereinsatz sind widersprüchlich: BOUBALS (2002) berichtet von guten Ergebnissen des Pflanzenschutzmittels Vifolcuivre mit den Wirkstoffen Kupfersulfat (15 %) und Folpet (25 %) gegen Eutypiose und Esca.

Demgegenüber stehen Praxiserfahrungen in Italien, wo Folpet häufig eingesetzt wird, ohne dass sich sekundär positive Wirkungen auf Esca und/oder Eutypiose gezeigt haben (SURICO et al., 2003). Kupfer wird, gemeinsam mit Schwefel, verstärkt auch im biologischen Anbau eingesetzt. Dennoch ist Esca auch in biologisch bewirtschafteten Weinbergen zu finden. Auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen nur auf eine geringe Praxistauglichkeit von Kupferpräparaten schließen.

Die mesostemischen Wirkstoffe Trifloxystrobin (Flint) und Kresoxim-methyl (Stroby) zeigten nur eine geringe Hemmung der getesteten Esca-Erreger in vitro. Laut LAUKART et al. (2001) konnte Kresoxim-methyl *Pch* und die vom Pilz verursachten Symptome bei einjährigen, natürlich infizierten Reben reduzieren. Die Häufigkeit des Erregers sank von 30 % auf 20 %, jene der Streifensymptome von 95 % auf 75 % und die Häufigkeit der Fleckensymptome von 95 % auf 35 %. Trifloxystrobin (Flint) wirkt gegen viele pilzliche Krankheitserreger, die zu den Basidiomyceten, Ascomyceten (z.B. *U. necator*) und Oomyceten (z.B. *P. viticola*) gehören.

GROENEWALD et al. (2000) und JASPERS (2001a und 2001b) fanden eine geringfügig stärkere Wirkung von Mancozeb, Iprodion, Kresoxim-methyl, Kupferhydroxid und Folpet gegen *Pch* als in der vorliegenden Arbeit. Nur die Keimungshemmung durch Folpet ist bei JASPERS (2001b) erheblich größer. Womöglich könnten verschiedene Pilzstämme unterschiedlich stark auf die Wirkstoffe reagieren. Einen gewissen Einfluss könnten auch das Alter der Kulturen und das Nährmedium aufweisen: In diesen Punkten gibt es Unterschiede zu den genannten Autoren (Alter der Kulturen bei JASPERS (2001a und 2001b): zwei Wochen; Medium bei GROENEWALD et al. (2000): Malzextrakt-Agar).

Arius (Quinoxifen), Talendo EC (Proquinazid) und Forum WP 50 (Dimethomorph) gehörten zu den Präparaten mit der schwächsten Wirkung gegen *Fmed* und *Pch*. Quinoxifen wirkt sehr spezifisch gegen Echte Mehltaupilze (METZ et al., 2004), während Dimethomorph gegen Oomyceten eingesetzt wird. Die schwache Wirkung könnte also mit der Wirtsspezifität zusammenhängen. Proquinazid (eingesetzt gegen den Echten Mehltau) und Boscalid (Cantus; ein Botrytis-Mittel) unterbinden die Sporenkeimung und die Bildung von Keimschläuchen ihrer Zielorganismen (PERKOW und PLOSS, 2004); diese Präparate zeigten jedoch in unseren Untersuchungen kaum eine Wirkung auf die cfu-Zahl von *Pch*.

Einige der getesteten Fungizide können im Labor das Myzelwachstum und die Konidienkeimung von *Fmed* und *Pch* verhindern. Aus Erwerbsanlagen, in welchen diese Wirkstoffe zur Bekämpfung anderer Rebkrankheiten eingesetzt werden, lassen sich derzeit noch keine eindeutigen Schlussfolgerungen ziehen, ob sie die Ausbreitung von Esca hemmen (eigene Beobachtung). Allerdings sind in der weinbaulichen Pflanzenschutzstrategie sowohl Applikationszeitpunkte als auch Applikationsmethoden zur Bekämpfung luftbürtiger Pilze (*P. viticola*, *U. necator*, *B. cinerea*) optimiert, sodass sich eine mögliche Nebenwirkung auf die endophytisch wachsenden Esca-Pilze nur schwer einschätzen lässt. Um die Wirkung der Pflanzenschutzmittel im Rebholz auf die Esca-Pilze und damit eine eventuelle Möglichkeit zur Krankheitsbekämpfung zu klären, bedarf es weiterführender Freilandversuche.

Danksagung

Wir danken Dr. MICHAEL FISCHER, Staatliches Weinbauinstitut Freiburg, Deutschland, für die Überlassung der Pilzstämme und die hilfreiche Diskussion und der Autonomen Provinz Bozen/Bolzano, Italien, für die finanzielle Unterstützung. Die Daten wurden im Rahmen der Diplomarbeit von VERENA PLATZER erhoben; diese wurde eingereicht bei Prof. FRIEDRICH SCHINNER (Universität Innsbruck, Institut für Mikrobiologie).

Literatur

- BCPC (1995): The pesticide manual, a world compendium. (ed. Tomlin, C.). 10. ed., reprint. - The British Crop Protection Council and The Royal Society of Chemistry. - Farnham: Crop Protection Publ., 1995
- BOUBALS, D. 2002: Comment sauver les vignes de Cabernet Sauvignon, de Sauvignon blanc et des autres cépages attaquées par les champignons parasites du bois. Progr. Agric. Vitic. 119(18): 387-390
- BRAND, T. 2006: *In vitro*-Wirkung fungizider Wirkstoffe auf Konidienkeimung und Myzelwachstum von *Cylindrocladium buxicola*. Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzd. 58(5): 117-121
- BURPEE, L.L. 1997: Control of dollar spot of creeping bentgrass caused by an isolate of *Sclerotinia homoeocarpa* resistant to benzimidazole and demethylation-inhibitor fungicides. Plant Disease 81: 1259-1263
- CESARI, A., DI MARCO, S. e CALZARANO, F. (2005): Presenza del "Mal dell'Esca" nell'area viticola della provincia di Teramo, strategie sperimentali di difesa a basso impatto ambientale. - Mosciano Sant'Angelo (TE): Media Edizioni, 2005
- DI MARCO, S. and OSTI, F. 2005: Effect of fosetyl Al foliar application towards esca fungi in grapevine. Phytopathol. Mediterranea 44: 114-115
- DI MARCO, S., MAZZULLO, A., CALZARANO, F. and CESARI, A. (1999): *In vitro* studies on the phosphorous acid - Vitis

- stilbenes interaction, and *in vivo* phosetyl Al activity towards *Phaeoacremonium* spp. grapevine wood decay agents. In: LYR, H., RUSSELL, P.E., DEHNE, H.-W. and SISLER, H.D. (eds.): Modern selective fungicides and antifungal compounds, II. p. 171-177. - Andover, UK: Intercept, 1999
- DI MARCO, S., MAZZULLO, A., CALZARANO, F. and CESARI, A. 2000: The control of esca: Status and perspectives. *Phytopathol. Mediterranea* 39: 232-240
- DORAN, W.L. 1922: Laboratory studies of the toxicity of some sulphur fungicides. New Hampshire State Agric. Exp. Station Tech. Bull. 19: 3-11
- FERREIRA, J.H.S. 1998: *Phialophora terugsterwing* - 'n Algemene probleem by jong wingerde. *Wynboer Tegmies* 104(3): 6-8
- FISCHER, M. 2006: Esca der Weinrebe - eine Krankheit auf dem Vormarsch? *Dt. Weinbau-Jahrb.* 57: 87-94
- FOURIE, P.H. and HALLEEN, F. 2006: Chemical and biological protection of grapevine propagation material from trunk disease pathogens. *Europ. J. Plant Pathol.* 116: 255-265
- GROENEWALD, M., DENMAN, S. and CROUS, P.W. 2000: Fungicide sensitivity of *Phaeomoniella chlamydospora*, the causal organism of Petri grapevine decline. *S.A. J. Enol. Vitic.* 21(2): 59-61
- HEWITT, H.G. (1998): Fungicides in crop protection. - Wallington, Oxon: CAB Int., 1998
- JASPERS, M.V. 2001a: Sensitivity of *Phaeomoniella chlamydospora* to fungicides *in vitro*. *NZ Plant Prot.* 54: 225-228
- JASPERS, M.V. 2001b: Effect of fungicides, *in vitro*, on germination and growth of *Phaeomoniella chlamydospora*. *Phytopathol. Mediterranea* 40(Suppl.): 453-458
- KASSEMAYER, H.-H. und FISCHER, M. 2004: Esca - Vorkommen und Symptomatik. *Dt. Weinbau* (3): 26-29
- LATIJNHOUWERS, M., DE WIT, P.J.G.M. and GOVERS, F. 2003: Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants. *Trends in Microbiol.* 11(10): 462-469
- LAUKART, N., EDWARDS, J., PASCOE, I.G. and NGUYEN, N.K. 2001: Curative treatments trialed on young grapevines infected with *Phaeomoniella chlamydospora*. *Phytopathol. Mediterranea* 40(Suppl.): 459-463
- LIPPS, H.-P. 2007: Escabefall: Vorbeugen und minimieren. *Dt. Weinmagazin* (1): 12-15
- METZ, N., TRAUTH, B. und ZOTZ, A. 2004: Quinoxifenhaltige Produkte zur Bekämpfung von Echtem Mehltau in Sonderkulturen. *Mitt. BBA Land- und Forstwirtschaft* 396: 305.
- MICHELON, L., PELLEGRINE, C. e PERTOT, I. (2007): Il mal dell'esca della vite. - Trento: Litotipografia Alcione, 2007
- MUNKVOLD, G.P. and MAROIS, J.J. 1993: The effects of fungicides on *Eutypa lata*: germination, growth, and infection of grapevines. *Plant Disease* 77(1): 50-55
- PARKER, K.C. and SUTTON, T.B. 1993: Effect of temperature and wetness duration on apple fruit infection and eradicator activity of fungicides against *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Disease* 77: 181-185
- PERKOW, W. und PLOSS, H. (2004): Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, 2. Aufl. - Stuttgart: Parey, 2004
- SCHWEIGKOFER, W. und PRILLINGER, H. 1997: Untersuchung von endophytischen und latent pathogenen Pilzen aus Rebholz in Österreich und Südtirol. *Mitt. Klosterneuburg* 47: 149-158
- SURICO, G. 2001: Towards commonly agreed answers to some basic questions on esca. *Phytopathol. Mediterranea* 40(Suppl.): 487-490
- SURICO, G., DI MARCO, S., MUGNAI, L. e MARCHI, G. 2006: La lotta contro il mal dell'esca: ancora buio ma con quale promettente schiarita. *Inform. Fitopatol.* 56(4): 18-25
- SURICO, G., MUGNAI, L. e MARCHI, G. 2003: Il punto sul mal dell'esca della vite. *Inform. Fitopatol.* 53(4): 22-27
- VIRET, O. et SIEGFRIED, W. 2004: Fiche technique des maladies de la vigne: Esca. *Rev. Suisse Vitic., Arboric. Hortic.* 36(5): 2.
- WALDNER, W. 2005: Integrierter Pflanzenschutz, Fruchtausdünnung, Bodenpflege, Frostschutz, Laubarbeiten, Düngung. Südtiroler Beratungsring für Obst- und Weinbau - Leitfaden 2005: 70-79

Manuskript eingelangt am 12. Juni 2009