

TECHNISCHES DATENBLATT



1

Bei diesem Datenblatt handelt es sich um eine reine Übersetzung. Die hier vorgestellten Ansätze zur Bekämpfung der GTDs sind lediglich eine Zusammenfassung aller Maßnahmen, die von den am WINETWORK- Projekt teilnehmenden Ländern durchgeführt bzw. getestet werden. Bitte beachten Sie, dass die nationalen und regionalen Vorgaben bzw. Empfehlungen einzuhalten sind.

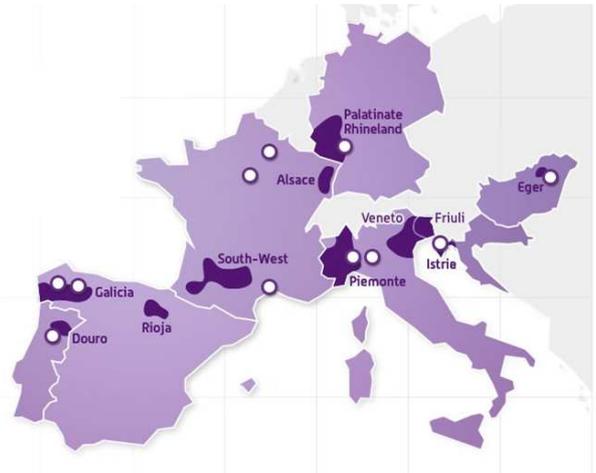
TRICHODERMA BEHANDLUNG

TRICHODERMA BEHANDLUNG ZUM SCHUTZ DER SCHNITTWUNDEN VON WEINREBEN

¹Behandlung von Schnittstellen mit Trichoderma (DLR Rheinpfalz)

BESCHREIBUNG

Während des Projekts WINETWORK wurden 219 Interviews mit Winzern in 10 europäischen Weinbauregionen durchgeführt. Die Projektkoordinatoren ermittelten, durch Interviews mit Winzern, mehrere Kulturpraktiken um die Holzkrankheiten der Weinrebe (GTDs) zu bekämpfen. Eine dieser «innovativen» Methoden ist die Verwendung von *Trichoderma spp.* Arten bei Schnittwunden, die in fast allen WINETWORK Regionen angewandt wird.

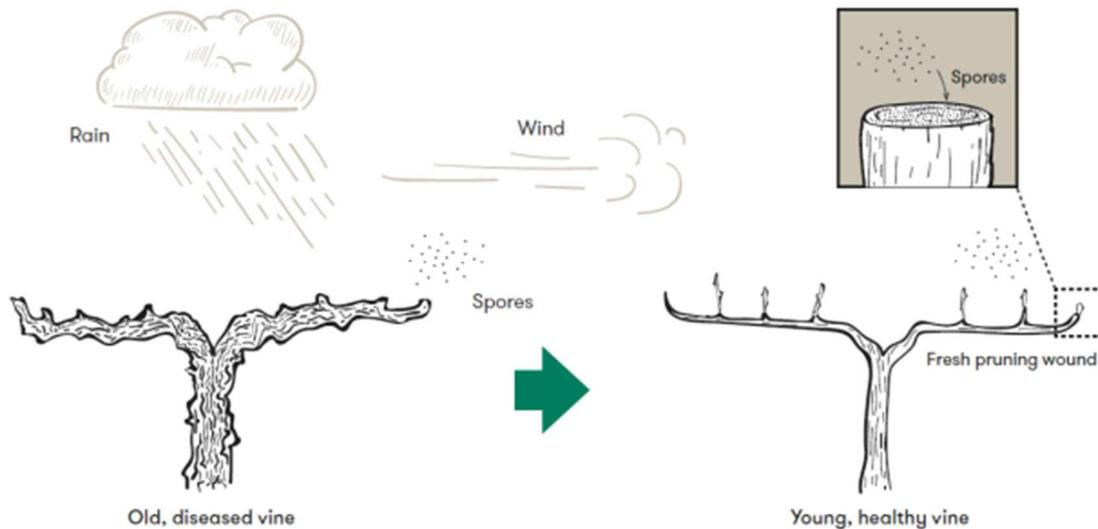


PRINZIP

Holzkrankheiten beschränken erheblich die Produktivität und die Lebensdauer eines Weinbergs in allen Weinbauregionen der Erde. Die Pathogene befallen das mehrjährige Holz der Weinrebe, einschließlich des Stammes, des Kordons und den Zapfen (Baumgartner, 2013). Die Pathogene - eine Reihe von taxonomisch nicht verwandten Schlauchpilzen (Ascomycota) – welche mit den Holzkrankheiten der Weinrebe in Verbindung gebracht werden, sind in der Lage gesunde Weinreben hauptsächlich über Schnittwunden zu infizieren. Diese Schnittwunden können über mehrere Monate anfällig bleiben. Es ist wichtig hervorzuheben, dass es keine kurativen Methoden gibt um die GTDs zu bekämpfen. Der einzige Weg ist über verschiedene Kulturpraktiken eine Infektion mit Holzkrankheiten vorzubeugen oder sie zu begrenzen. Eine alternative Möglichkeit um die Holzkrankheiten zu bekämpfen ist über die Anwendung von biologischen Pflanzenschutzmitteln einer Infektion von Wunden vorzubeugen. Einige Arten der Gattung *Trichoderma* (ein Schlauchpilz (Ascomycota), ursprünglich im Boden vorkommend) wurden mehrfach als ein mögliches biologisches Pflanzenschutzmittel untersucht. Sie wirken als Antagonisten und konkurrieren mit den Pathogenen um Raum und Nährstoffe.

PRAKTISCHE ANWENDUNG

Die verschiedenen Stämme von *Trichoderma spp.* sind in der Lage Schnittwunden (über 1-2 cm) zu kolonisieren und somit ein Eindringen der Pathogene (in das Holz), welche zu den GTDs gehören, vorzubeugen. Die Besiedlung der Schnittwunden durch *Trichoderma spp.*, ist abhängig von dem physiologischen Zustand der Reben, sowie wie von den Wetterbedingungen während des Schnitts. Der Schnittzeitpunkt überschneidet sich mit dem Zeitpunkt der Sporenfreisetzung, welche normalerweise von infiziertem Holz ausgeht. Die Wunden können über einen längeren Zeitraum anfällig sein (bis zu vier Monate und länger, je nach GTD). Aber die kritischste Zeit für eine Infektion ist zwei bis acht Wochen nach dem Schnitt (Eskalen et al. 2007, Van Niekerk et al. 2011b).



1. Abbildung Krankheitsverlauf von Eutypa dieback (Sosnowski, 2016.).

ZEIT: Aufgrund der Fähigkeit Wunden ab 10° C zu besiedeln, wird *Trichoderma* normalerweise nicht durch Klimabedingungen begrenzt. Durch die Wahl des Behandlungszeitpunktes könnte die Effizienz der Wundbesiedlung und somit auch die Schutzwirkung verbessert werden. Der richtige Zeitpunkt liegt über 0 °C, wobei einige *Trichoderma* Arten höhere Temperaturen benötigen (über 10 °C). Es ist wichtig hervorzuheben, dass *Trichoderma spp.*, da es sich um ein biologisches Pflanzenschutzmittel handelt, anfällig gegenüber Frost ist. Der beste Zeitpunkt für eine Behandlung ist daher so früh wie möglich nach dem Schnitt, um die Anfälligkeit der Wunden für neue Infektionen mit GTDs zu verringern. Verschiedene Studien bestätigten, dass bei Behandlungen innerhalb fünf bis sechs Stunden nach dem Schnitt höhere Besiedlungsraten erzielt werden (Harvey et al., 2006, Mutawila et al., 2016).

Einige Hersteller empfehlen *Trichoderma*-Produkte während des Blutens auszubringen, da der Saft den Antagonisten hilft die Wunden schneller zu besiedeln. Genauso wichtig ist es, die Wettervorhersage vor einer Behandlung zu prüfen, da starker Regen die Besiedlung beeinträchtigen und die Sporen wegspülen kann.

METHODE: Mit einem vorbeugenden Wundschutz sollte bei einjährigen Weinreben nach dem ersten Schnitt begonnen werden und anschließend jedes Jahr wiederholt werden (Sosnowski, 2016). Sowohl kleine, als auch große Wunden sollten mit den biologischen Pflanzenschutzmitteln behandelt werden, unter Verwendung eines Spritzgerätes, dessen Spritzdüse auf den Kordon gerichtet ist (Sosnowski, 2016). Bei der Verwendung eines Spritzgerätes kann eine maximale Abdeckung der Wunden erreicht werden, über das Ausschalten des Gebläses (keine Luft), durch die Verwendung von hohen Wassermengen bei geringem Druck, durch die Wahl der Spritzdüsen mit großer Tropfengröße und

durch das Ausrichten der Spritzdüse in Richtung der Schnittwundzone. Vor der Behandlung wird unbedingt empfohlen den Tank sorgfältig von Fungizid Rückständen zu reinigen, um *Trichoderma* nicht zu inaktivieren.

Die wichtigsten Hinderungsgründe für die Anwendung und Verbreitung von *Trichoderma* sind verbunden mit den unterschiedlichen Ergebnissen, die von Winzern beobachtet wurden. Tatsächlich können zahlreiche Faktoren die biologische Wirksamkeit von *Trichoderma*-Produkten beeinflussen, wie die verwendeten *Trichoderma*-Arten, die verwendete Ausbringungsmethode, das phänologische Stadium der Rebe, die Zeit zwischen dem Schnitt und der *Trichoderma*-Behandlung, die Interaktion des Antagonisten mit der Wirtspflanze und nicht zuletzt die Umweltfaktoren (Di Marco et al., 2004). Des Weiteren kann die biologische Wirksamkeit je nach Sorte variieren (Mutawila et al. 2011a). All diese Faktoren können zu unbefriedigenden Ergebnissen führen, wenn sie nicht ordnungsgemäß durchgeführt oder berücksichtigt werden. Daher ist es wichtig eine *Trichoderma*-Behandlung nicht mit einer chemischen Behandlung gleichzusetzen.



2. Abbildung Behandlung von Schnittstellen an Reben im Versuchsweinberg und ein von Esca-Pilzen geschädigter Rebstock der Sorte Dornfelder (DLR)

Wenn die Behandlung korrekt durchgeführt wird, ist *Trichoderma* spp. in der Lage einen wirksamen Langzeitschutz gegen ein breites Spektrum an GTD-Pathogenen zu bieten. Im Gegensatz dazu gewährleistet eine chemische Bekämpfung nur eine kurzfristige protektive Wirkung (maximal 15 Tage) gegen eine eingeschränkte Anzahl an GTD-Pathogene (Mugnai, 2012).

ERGEBNISSE

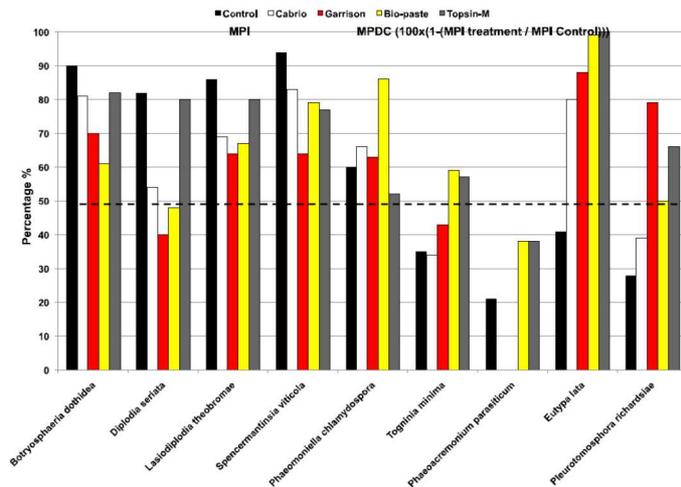
Trichoderma atroviride SC1 wurde aus totem Haselnussholz isoliert und wegen seiner hohen Besiedlungsfähigkeit und Produktivität von lytischen Enzymen (Chitinasen, Proteasen und Cellulasen) ausgewählt. *Trichoderma atroviride* SC1 ist sehr konkurrenzfähig und bekämpft wirksam *Phaeoacremonium aleophilum* (PAL, vor kurzem umbenannt in *P. minimum*) und *Phaeoconiella chlamydospora* (PCH) und ist somit in der Lage die jährlichen Infektionen mit Pathogenen, welche zur Esca-Krankheit gehören, zu reduzieren (D'Enjoy et al., 2016.)

Für zukünftige praktische Anwendungen sollten experimentelle Versuche mit einer breiten Auswahl an Kombinationen von Anwendungsbedingungen durchgeführt werden, um eine sichere Wirkung zu erzielen. Bei *Trichoderma atroviride* SC1 (Vintec, Belchim Crop Protection; 2×10^{10} Konidien g^{-1} formuliertes Produkt) handelt es sich um einen starken, robusten und anpassungsfähigen Konkurrenten für andere Mikroorganismen, da er ein sehr schnell wachsender Stamm bei einem Temperaturbereich von 5-37 °C und ein guter Holzbesiedler ist (Longa et al., 2008).

“Die Wirksamkeit des Schutzes durch Behandlungen mit *Trichoderma spp.* hängt von der Fähigkeit dieser Pilze ab, Schnittwunden von Weinreben zu besiedeln (John et al., 2008). Sie benötigen normalerweise eine gewisse Zeit um diese vollständig zu besiedeln, während der die geschnittene Rebe anfällig für Infektionen ist und/oder Gefahr besteht, dass die Pilze vom Regen abgewaschen werden. Jedoch benötigen diese Ansätze mit *Trichoderma* weitere Versuche im Weinberg, um genauer bewertet und möglicherweise optimiert werden zu können, zum Beispiel über eine Kombination mit anderen Bewirtschaftungsstrategien (wie eine Kombination mit anderen biologischen oder chemischen Produkten, heilende Eingriffe, Reduktion von Anzahl und Größe der Schnittwunden und die Durchführung von Hygienemaßnahmen)“ (Bertsch et al., 2013).

EINIGE WISSENSCHAFTLICHE ERKENNTNISSE

Eine Möglichkeit um die Holzkrankheiten zu bekämpfen ist es, die Schnittwunden mit Fungiziden zu schützen. Dies kann schwierig sein, da: Es nur eine limitierte Anzahl von registrierten Produkten gibt; es schwierig ist mit diesen Produkten unterschiedliche taxonomisch nicht verwandte Organismen zu bekämpfen und für den gesamten Zeitraum der Anfälligkeit der Wunden einen Schutz zu gewährleisten sowie den Schwierigkeiten und Kosten einer Handapplikation (Rolshausen et al., 2010.).



“...die Ergebnisse belegen auch die Probleme, mit chemischen Behandlungen, ein breites Spektrum von taxonomisch nicht verwandten Pilzen mit gleicher Wirksamkeit zu bekämpfen.”

(Rolshausen et al., 2010.)

3. Abbildung Bewertung der Anfälligkeit der Schnittwunden und dem Schutz vor Pilzen in Verbindung mit den Holzkrankheiten der Weinrebe (Rolshausen et al., 2010.)

Die Kombination von Fungiziden und biologischen Wundschutzmitteln könnte zu einem besseren Bekämpfungserfolg führen, dieser wird aber durch die Empfindlichkeit der biologischen Mittel gegenüber den Fungiziden begrenzt. In einer aktuellen Studie wurden stabile Benzimidazol-resistente Mutanten, mit einer natürlichen Resistenz gegenüber Thiophanatmethyl, aus drei wild-Typ *Trichoderma*-Isolaten generiert, deren Mycelwachstum durch Benomyl und Carbendazim allerdings vollständig gehemmt wurde (Mutawila et al., 2015.). Die in der Studie entwickelten *Trichoderma*-Mutanten können in Kombination mit Benzimidiazol-Fungiziden angewandt werden, um eine bessere Wirkung und einen nachhaltigen Wundschutz zu erhalten (Mutawila et al., 2015.).

Der wichtigste Bekämpfungsschutz gegen Holzkrankheiten im Weinberg ist, einer Infektion der Schnittwunden mit Pathogenen vorzubeugen. Wundschutzmittel sollten gegen das gesamte Spektrum an Holzpathogenen wirksam sein und auch die Wunden für die gesamte Zeit der Wundenanfälligkeit schützen. Grundsätzlich zielen Wundbehandlungen darauf ab, das Mycelwachstum auf der Wunde zu verhindern und/oder das Holz physikalisch zu versiegeln, um Infektionen zu unterbinden (Newsome, 2012.). *Trichoderma* ist bekannt als ein Pilz, der eine antagonistische Aktivität und ein Hyperparasitismus gegen andere Mikroorganismen aufweist und zur biologischen Bekämpfung mehrerer Krankheiten eingesetzt wird. Nach Untersuchungen von Larignon zeigten Versuche mit *T. harzianum* und *T. atroviride* vielversprechende Ergebnisse bei der Kontrolle von Esca, *Botryosphaeria dieback* und anderen verbreiteten Pathogenen der Holzkrankheiten (Larignon, 2004). Allerdings ist ihre Wirkungsweise noch nicht vollständig verstanden, sie scheinen mit Mycoparasitismus, der Produktion von Hemmstoffen, der Konkurrenz mit pathogenen Pilzen um Nährstoffe und Raum, der Förderung des Pflanzenwachstums und einer verbesserten Wirtsresistenz in Verbindung zu stehen (Di Marco et al., 2004). Nach einer aktuellen Studie (Aloi et al., 2014) konnte durch Aufbringen von *Trichoderma*

gamsii+*Trichoderma asperellum* als Wundschutzmittel das Auftreten von Esca-Symptomen verringert werden.

Unterschiedliche Stämme von *Trichoderma* Arten (*T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. longibrachiatum*, *T. asperellum*, *T. gamsii*) wurden als biologische Pflanzenschutzmittel getestet (BCAs):

Botryosphaeria dieback	Eutypa dieback	Esca disease
<i>Trichoderma</i> spp <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , und Benzimidazole-resistenter mutierter Stamm GETESTET: Schutz von Schnittwunden	<i>Trichoderma</i> spp <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , Benzimidazole- resistenter mutierter Stamm GETESTET: Abbau toxischer Eutypa-Metabolite Zum Schutz von Schnittwunden	<i>Trichoderma</i> spp <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , <i>T. longibrachiatum</i> und Benzimidazole- resistenter mutierter Stamm GETESTET: Schutz von Schnittwunden
<i>Bacillus subtilis</i> EE isolate GETESTET: Schutz von Schnittwunden	<i>Bacillus subtilis</i> EE Isolat GETESTET: Schutz von Schnittwunden	<i>Bacillus subtilis</i> EE Isolat GETESTET: Schutz von Schnittwunden
		<i>Pythium oligandrum</i> GETESTET: induzierte Resistenz durch Wurzelbesiedlung

4. Abbildung Einsatz von BCAs (biologische Pflanzenschutzmittel) zur Bekämpfung von GTDs (Esca, Botryosphaeria und Eutypa dieback)



« Die weißen Bereiche enthalten keine Sporen, während die grünen Bereiche mit einer dichten Masse an Sporen (Konidien) bedeckt sind. »

(G. E. Harman, Cornell University, Geneva, NY 14456)

<https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>

5. Abbildung Kulturen des *Trichoderma harzianum* Stammes T-22 (KRL-AG2) auf Kartoffeldextrose Agar (G. E. Harman, Cornell University, Geneva, NY 14456)

INFORMATIONSQUELLEN

- Aloï C., G. Bigot G., P.P. Bortolotti P.P., M. Cotromino M., S. Di Marco S., F. Faccini F., A. Montermini A., L. Mugnai L., R. Nannini R., F. Osti F., F. Reggiori F., 2014. Remedier® (*Trichoderma Asperellum* e *Trichoderma Gamsii*): nuova opportunità di contenimento del complesso del mal dell'Esca della vite. Risultati di quattro anni di sperimentazione in Italia. Atti Giornate Fitopatologiche. (2014), 2, 363-372
- Baumgratner K. Development of early-detection technologies for trunk diseases of grape. (2013) OECD Theme 2. Sustainability in Practice.

- Bertsch C., M. Ramírez-Suero, M. Magnin-Robert, P. Larignon, J. Chong, E. Abou-Mansour, A. Spagnolo, C. Clément and F. Fontaine Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood (review) *Plant Pathology* (2013) 62, 243–265.
- D’Enjoy G., Nesler A., Frati S., *Trichoderma atroviridae* SC1 is a tool for life-long protection of grape against trunk diseases *Natural Products & Biocontrol* (2016)
- Di Marco S., F. Osti, A. Cesari Experiments on the control of esca by *Trichoderma* *Phytopathol. Mediterr.* (2004) 43, 108–115
- Eskalen A., A.J. Feliciano, and W.D. Gubler. Susceptibility of grapevine pruning wounds and symptom development in response to infection by *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora* (2007) *Plant Dis.* 91:1100-1104
- Harvey I.C., J.S. Hunt Penetration of *Trichoderma harzianum* into grapevine wood from treated pruning wounds, *New Zealand Plant Protection*(2006) 59:343-347
- John S., Wicks TJ, Hunt JS, Scott ES, Colonisation of grapevine wood by *Trichoderma harzianum* and *Eutypa lata*. *Australian Journal of Grape and Wine Research* (2008) 14, 18–24.
- Larignon P. La constitution d’un groupe international de travail sur les maladies du bois et les premiers résultats des expérimentations menées par l’ITV en laboratoire et en pépinières *Les Maladies du Bois en Midi-Pyrénées.* (2004) 24-27.
- Longa C.M.O., Pertot I., Tosi S. Ecophysiological requirements and survival of a *Trichoderma atroviride* isolate with biocontrol potential. *J Basic Microbiol* (2008) 48:269–277
- Mondello V. BCAs used to control GTDs (Esca, Botryosphaeria and Eutypa dieback) Winetwork project SWG meeting minutes (2016)
- Mugnai L. What preventative measures could growers take to prevent the entry of GTD agents into a vineyard? –Presentation at Wineskills Masterclass on Grapevine Trunk Disease (2012)
- Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert Development of benzimidazole resistant *Trichoderma* strains for the integration of chemical and biocontrol methods of grapevine pruning wound protection *BioControl* (2015) 60:387-399
- Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert Optimisation of time of application of *Trichoderma* biocontrol agents for protection of grapevine pruning wounds *Australian Journal of Grape and Wine Research* 22, (2016) 279–287
- Mutawila C., P.H. Fourie, F. Halleen, L. Mostert Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens *Phytopathol. Mediterr.* (2011) 50 (Supplement), S264–S276
- Newsome J. Grapevine Trunk Disease, A review (2012)
- Rolshausen P. E., J. R. Úrbez-Torres, S. Rooney-Latham, A. Eskalen, R. J. Smith, W. D. Gubler Evaluation of pruning wound susceptibility and protection against fungi associated with grapevine trunk diseases *Am. J. Enol. Vitic.* (2010) 61:1
- Sosnowski M., D. Mundy, P. Vanga, M. Ayres Practical management of grapevine trunk diseases *NZ wine project outcome* (2016)
- Van Niekerk J., W. Bester, F. Halleen, P. Crous, and P. Fourie, The distribution and symptomatology of grapevine trunk disease pathogens are influenced by climate. *Phytopathologia Mediterranea* 50 (4) (2011), 98–111
- Forscher testen Mittel gegen "Rebenkiller"-Pilz Esca
<http://www.rheinpfalz.de/lokal/aus-dem-suedwesten/artikel/forscher-testen-mittel-gegen-rebenkiller-pilz-esca/>
- G. E. Harman, Cornell University, Geneva, NY 14456
<https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>