

Aus dem Institut für Phytomedizin
Universität Hohenheim
Fachgebiet Phytomedizin
Prof. Dr. Heinrich Buchenauer

In Zusammenarbeit mit der
Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft,
Weinbau und Gartenbau, Neustadt an der Weinstraße
Fachbereich Phytomedizin

Untersuchungen zur Sensitivität von *Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis) Berl. & de Toni gegenüber Cymoxanil

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Agrarwissenschaften

der Fakultät Agrarwissenschaften

von

Marco Harms

aus Hamburg

2003

Aus dem Institut für Phytomedizin
Universität Hohenheim
Fachgebiet Phytomedizin
Prof. Dr. Heinrich Buchenauer

In Zusammenarbeit mit der
Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft,
Weinbau und Gartenbau, Neustadt an der Weinstraße
Fachbereich Phytomedizin

Untersuchungen zur Sensitivität von *Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis) Berl. & de Toni gegenüber Cymoxanil

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Agrarwissenschaften

der Fakultät Agrarwissenschaften

von

Marco Harms

aus Hamburg

2003

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2003
Zugl.: Hohenheim, Univ., Diss., 2003
ISBN 3-89873-950-3

D 100

Dissertation Universität Hohenheim

Die vorliegende Arbeit wurde am 05.02.2003 von der Fakultät Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften“ angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung: 09.04.2003

Dekan: Prof. Dr. Stahr

Berichterstatter, 1. Prüfer: Prof. Dr. Buchenauer

Mitberichterstatter, 2. Prüfer: Prof. Dr. Blaich

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2003
Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen
Telefon: 0551-54724-0
Telefax: 0551-54724-21
www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2003

Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-89873-950-3

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Material und Methoden.....	10
2.1	Material.....	10
2.1.1	Erreger.....	10
2.1.2	Testpflanzen.....	10
2.1.3	Nährmedien.....	10
2.1.4	Fungizide.....	10
2.1.4.1	Cymoxanil (96 % technisches Produkt).....	10
2.1.4.2	Formulierte Fungizide.....	11
2.2	Methoden.....	13
2.2.1	Anzucht und Pflege von Topfreben.....	13
2.2.2	Kultur und Erhaltung von <i>Plasmopara viticola</i>	14
2.2.2.1	Herstellung des Inokulums.....	14
2.2.2.2	Kultur von <i>Plasmopara viticola</i> auf Blattscheiben (leaf disc-Technik).....	15
2.2.2.3	Kultur von <i>Plasmopara viticola</i> auf abgeschnittenen Rebblättern.....	15
2.2.2.4	Kultur von <i>Plasmopara viticola</i> auf Topfreben.....	16
2.2.3	Sammlung von <i>Plasmopara</i> -Isolaten während der Vegetationsperiode.....	16
2.2.4	Lagerung der Isolate.....	17
2.2.5	Gewinnung von Einzelsporkulturen.....	18
2.2.6	Bestimmung der Inkubationszeit.....	19
2.2.7	Blattscheibentests zur Bestimmung der Cymoxanilsensitivität.....	20
2.2.7.1	Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK).....	20
2.2.7.2	Dosis-Wirkungsbeziehungen.....	21
2.2.8	Versuche zur Stabilität der Resistenz.....	22
2.2.8.1	Vererbung verminderter Cymoxanilsensitivität durch Oosporen.....	22
2.2.8.1.1	Erzeugung von Oosporen.....	23
2.2.8.1.2	Lagerung der Oosporen.....	23
2.2.8.1.3	Keimung der Oosporen.....	23
2.2.8.2	Stabilität im Freiland bei vegetativer Vermehrung.....	24
2.2.9	Kurative Wirkung von Cymoxanil in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt (leaf disk-Technik).....	25

2.2.10	Freilandversuche.....	27
2.2.10.1	Kurative Bekämpfung eines <i>Plasmopara</i> -Isolates mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil (artifizielle Inokulation).....	27
2.2.10.2	Einsatz verschiedener Fungizide gegen <i>Plasmopara viticola</i> in einer Rebfläche mit Isolaten verringerter Cymoxanilsensitivität (Niederhorbach 1999).....	28
2.2.10.3	Ermittlung der Häufigkeit des Auftretens verschiedener Sensivitätstypen in einer Population.....	34
2.2.11	Prüfung nicht-cymoxanilhaltiger Fungizide gegen <i>Plasmopara</i> -Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität.....	34
2.2.12	Verhalten von Mischpopulationen resistenter und sensitiver <i>Plasmopara</i> -Isolate.....	35
2.2.12.1	Verhalten der Mischungen mit Selektionsdruck.....	36
2.2.12.2	Verhalten der Mischungen ohne Selektionsdruck.....	37
2.2.13	Wachstum von ausgewählten <i>Plasmopara</i> -Isolaten auf unbehandeltem Blattmaterial.....	38
2.2.14	Auswertung.....	39
2.2.14.1	Boniturschema zur Schätzung des prozentualen Blattbefalls.....	39
2.2.14.2	Berechnung von Befallshäufigkeit, Befallsstärke und Wirkungsgrad.....	39
2.2.14.3	Berechnung von Resistenzfaktoren.....	40
2.2.14.4	Statistische Auswertung.....	40
3	Ergebnisse.....	42
3.1	Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration verschiedener <i>Plasmopara</i> -Isolate.....	42
3.2	Dosis-Wirkungsbeziehungen ausgewählter <i>Plasmopara</i> -Isolate.....	46
3.3	Variabilität der Cymoxanilsensitivität von Einzelsporisolaten.....	48
3.4	Stabilität der Resistenz.....	49
3.4.1	Vererbung durch Oosporen.....	49
3.4.1.1	Oosporenkeimung.....	49
3.4.1.2	Cymoxanilsensitivität der Oosporenisolate.....	51
3.4.2	Stabilität im Freiland bei vegetativer Vermehrung.....	51

3.5	Kurative Wirkung von Cymoxanil in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt...	53
3.6	Freilandversuche.....	56
3.6.1	Kurative Bekämpfung eines <i>Plasmopara</i> -Isolates mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil.....	56
3.6.2	Einsatz verschiedener Fungizide gegen <i>Plasmopara viticola</i> in einer Rebfläche mit Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität (Niederhorbach 1999).....	58
3.6.3	Ermittlung der Häufigkeit des Auftretens verschiedener Sensivitätstypen in der Versuchsfläche Niederhorbach (1999).....	65
3.7	Prüfung nicht-cymoxanilhaltiger Fungizide gegen <i>Plasmopara</i> -Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität.....	66
3.8	Verhalten von Mischpopulationen resistenter und sensitiver <i>Plasmopara</i> -Isolate.	67
3.8.1	Schadensausprägung.....	67
3.8.1.1	Protektive Behandlung mit Aktuan.....	68
3.8.1.2	Kurative Behandlung mit Aktuan.....	68
3.8.2	Sensitivitätsentwicklung der Mischungen unter Selektionsdruck.....	70
3.8.3	Sensitivitätsentwicklung der Mischungen ohne Selektionsdruck.....	76
3.9	Wachstum von ausgewählten <i>Plasmopara</i> -Isolaten auf unbehandeltem Blattmaterial.....	80
4	Diskussion.....	82
5	Zusammenfassung.....	110
6	Summary.....	114
7	Literaturverzeichnis.....	117
8	Anhang.....	133
8.1	Feldplan Freilandversuch Niederhorbach 1999.....	133
8.2	Wetterdaten Niederhorbach 1999.....	134
8.3	Befallsbonituren.....	141
8.4	Pflanzenschutzmittel.....	144

1 Einleitung

Plasmopara viticola (Berk. & Curtis) Berl. & de Toni, der Erreger des Falschen Mehltaus der Weinrebe (*Vitis vinifera* L.) auch Rebenperonospora genannt, stellt neben den Erregern des Echten Mehltaus (*Uncinula necator* (Schwein.) Burr.) und der Graufäule (*Botrytis cinerea* Pers.) den wichtigsten Verursacher von Pilzkrankheiten im Weinbau dar.

Ursprünglich war *P. viticola* nicht in Europa heimisch, sondern wurde 1878 im Zuge der Einführung von Rebmateriale aus Nordamerika, welches zur Bekämpfung der Reblaus (*Dactylospheera vitifolii* Shimer) benötigt wurde, nach Frankreich eingeschleppt. Bereits wenige Jahre später hatte sich die Krankheit in allen europäischen Weinbaugebieten verbreitet. Aufgrund des epidemiologischen Potentials der Krankheit und einer Schadwirkung, die zum Totalausfall beim Lesegut führen kann, sind jedes Jahr weltweit intensive Pflanzenschutzmaßnahmen zur Kontrolle von *P. viticola* nötig.

P. viticola gehört systematisch zur Familie der Peronosporaceae, in der eine Reihe weiterer gefährlicher Erreger von Pflanzenkrankheiten zu finden sind (z. B. *Bremia lactucae*, *Pseudoperonospora humuli*, *Peronospora tabaci* u. a.). Die Familie der Peronosporaceae gehört der Ordnung Peronosporales an, die wiederum in die Klasse der Oomycetes eingeordnet wird. Die Oomycetes unterscheiden sich durch eine Reihe morphologischer und physiologischer Eigenschaften von den übrigen Pilzen. Charakteristisch sind z. B. Cellulose, β -1,3- und β -1-6-Glucane als Bestandteile der Zellwand, heterokont begeißelte Zoosporen, coenocytisches Mycel, Diploidie und Oogamie (GRIFFITH et al. 1992).

Die systematische Stellung der Oomyceten wird nach wie vor diskutiert. AINSWORTH et al. (1973) und WEBSTER (1983) stellten die Oomyceten zusammen mit anderen Klassen als Unterabteilung Mastigomycotina in die Abteilung der Eumycota. Bereits WEBSTER (1983) bezeichnete die Mastigomycotina als eine polyphyletische Gruppe, die nur aufgrund der Ähnlichkeiten ihrer Planosporen willkürlich aufgestellt wurde. Aufgrund der genannten Unterschiede zu den echten Pilzen diskutieren verschiedene Autoren die besondere Stellung der Oomyceten. ERWIN und RIBEIRO (1996) erläutern ausführlich die verschiedenen Modelle der systematischen Einteilungen der Oomyceten. Sie kommen zu dem Schluß, dass die Oomyceten nicht länger zu den echten Pilzen gezählt werden dürfen und schlagen eine Klassifizierung in das von verschiedenen Autoren eingeführte Reich „Chromista“ vor (CAVALIER-SMITH 1986; BARR 1992; DICK 1995). Aus phytopathologischer Sicht und für die Durchführung der vorliegenden Arbeit war die Diskussion über die exakte

Klassifizierung der Oomyceten von eher untergeordneter Bedeutung. In der vorliegenden Arbeit wurde *P. viticola* deswegen im allgemeinen Sprachgebrauch weiterhin als „Pilz“ und die durch ihn hervorgerufene Krankheit als „Pilzkrankheit“ oder „Pilzerkrankung“ bezeichnet, auch wenn dies durch die neuesten Forschungsergebnisse nicht mehr als völlig exakt gelten kann.

1882 entdeckte MILLARDET in Bordeaux die vorbeugende Wirkung von Kupfervitriol und gelöschtem Kalk gegen die Rebenperonospora (AGRIOS 1988). Diese Mischung stellte ab 1885 in der Praxis als „Bordeaux-Brühe“ die Grundlage für die *Plasmopara*-Bekämpfung dar und war ein Meilenstein für die Entwicklung des chemischen Pflanzenschutzes auch in anderen Kulturen. Auch heute werden Fungizide auf Kupferbasis weiterhin verwendet. Vor allem im ökologischen Weinbau spielen sie eine sehr wichtige Rolle.

Mit dem Fortschritt der organischen Chemie wurden eine Reihe von Verbindungen entdeckt, die sich zur Bekämpfung von Pilzerkrankungen eigneten. Zwischen 1930 und 1950 kam es zur Entwicklung der Dithiocarbamate, Thiurame und Phthalimide, die in vielen Kulturen gegen pilzliche Pathogene zur Anwendung kamen. Im Weinbau werden heute noch die Dithiocarbamate Metiram, Mancozeb und Propineb zum Teil in Mischungen mit anderen Wirkstoffen aber auch allein gegen *P. viticola* verwendet. Weitere wichtige Kontaktfungizide gegen *P. viticola* sind das Phthalimidderivat Folpet, das Dithianon sowie die chemisch verwandten heterozyklischen Verbindungen Dichlo- und Tolyfluanid. Gemeinsam ist diesen Stoffen eine unspezifische Kontaktwirkung gegen die pilzlichen Pathogene.

Die Vorteile der neuen systemischen Fungizide konnten für die *Plasmopara*-Bekämpfung erst Ende der siebziger Jahre mit der nahezu gleichzeitigen Einführung der spezifischen Oomycetenwirkstoffe Metalaxyl aus der Gruppe der Phenylamide, Aluminium-Fosethyl (Al-Fosethyl) einem Alkyl-Phosphonat und dem Wirkstoff Cymoxanil genutzt werden. Die zuvor eingeführten Benzimidazole und Ergosterolbiosynthesehemmer verfügten gegen Erreger aus der Gruppe der Oomyceten über keine Wirksamkeit.

Mussten die Bekämpfungsmaßnahmen zuvor immer prophylaktisch durchgeführt werden, so ermöglichten die systemischen Wirkstoffe erstmals auch die kurative Bekämpfung von Pilzkrankheiten. Abhängig von den Eigenschaften des jeweiligen Wirkstoffes wurde auch der Neuzuwachs der Pflanze in einem gewissen Rahmen mitgeschützt und Pathogene, die sich im Xylem ausbreiteten, konnten jetzt bekämpft werden. Die Entdeckung und Entwicklung von

fungiziden Wirkstoffen mit systemischen oder teilsystemischen Eigenschaften stellte einen revolutionären Fortschritt im chemischen Pflanzenschutz dar.

Während die Phenylamide durch Interaktion mit dem RNA-Polymerase I-Template-Komplex die Synthese ribosomaler RNA verhindern (DAVIDSE 1995), vermutet man beim Al-Fosethyl eine Kombination von direkter fungizider Wirkung und der Aktivierung pflanzlicher Abwehrmechanismen (RAYNAL et al. 1980; BOMPEIX et al. 1980, 1981; GRIFFITH et al. 1992, COHEN und COFFEY 1986, FENN und COFFEY 1984).

Der dritte oomycetenspezifische Wirkstoff, der in diesem Zeitraum entwickelt wurde, ist das Cymoxanil (2-Cyano-N-(Ethylaminocarbonyl)-2-(methoxyimino)acetamid) aus der Gruppe der Cyano-Oxime. Er wird gegen *P. viticola* an Reben und *Phytophthora infestans* an Kartoffeln und Tomaten eingesetzt (DOUCHET et al. 1977; KLOPPING und DELP 1980). Weitere empfindliche Pilze aus der Gruppe der Peronosporales sind *Pseudoperonospora cubensis*, *Pseudoperonospora humuli* und *Peronospora tabacina* (SERRES und CARRARO 1976).

Cymoxanil wird zu den lokal- bzw. teilsystemischen Wirkstoffen gezählt. (DOUCHET et al. 1977, SCHWINN und STAUB 1995). Andere Autoren konnten jedoch auch einen akropetalen Transport in der Pflanze nachweisen. (KLOPPING und DELP 1980, SAMOUCCHA und GISI 1987a). Die Ergebnisse ihrer Versuche veranlassten SAMOUCCHA und GISI (1987) sogar dazu, Cymoxanil als echten systemischen Wirkstoff zu klassifizieren. Sie zeigten, dass der Neuzuwachs an Topfreben bis zu sieben Tage nach der Applikation von 80 mg/l Cymoxanil vollkommen gegen *P. viticola* geschützt wurde. In ihren Untersuchungen wurde ein guter akropetaler Transport von Wurzeln, Sprossen und Blättern zu neu gebildeten Blättern und ein sehr guter translaminarer Transport innerhalb eines Blattes nachgewiesen. Allerdings konnten auch Unterschiede beim Transport in Abhängigkeit der verwendeten Versuchspflanze (Rebe, Tomate) festgestellt werden (KLOPPING und DELP 1980, SAMOUCCHA und GISI 1987a). Trotz dieser Untersuchungen wird Cymoxanil weiterhin als teilsystemischer Wirkstoff angesehen. Aufgrund des schnellen Abbaus in der Pflanze geht man davon aus, dass kein ausreichender Transport des Wirkstoffes über längere Strecken stattfinden kann (SCHWINN und STAUB 1995).

Cymoxanil verfügt über eine protektive wie auch kurative Wirkung. Die protektive Wirkung wird jedoch durch den schnellen Abbau des Wirkstoffes im Boden und in der Pflanze (BELASCO et al. 1981) in ihrer Dauer begrenzt. KLOPPING und DELP (1980) nennen eine

Halbwertszeit von weniger als zwei Wochen für Cymoxanil im Boden. Für die protektive Wirkungsdauer werden einige Tage angegeben (SERRES und CARRARO 1976; KLOPPING und DELP 1980). Aus diesem Grund wird Cymoxanil immer in Kombination mit protektiven Mischpartnern wie Kupfer, Folpet, Mancozeb oder Dithianon verwendet, die die Dauerwirkung verstärken. Häufig konnten auch synergistische Effekte mit den Mischungen erzielt werden, die es erlaubten die Menge der eingesetzten Wirkstoffe zu reduzieren (GISI et al. 1985; GRABSKI und GISI 1987; SAMOUCHA und GISI 1987a).

Cymoxanil verfügt über eine starke kurative Wirkung, die in der Lage ist, *P. viticola* und *Ph. infestans* innerhalb ihrer Inkubationszeit zu kontrollieren (DOUCHET et al. 1977). Sie wird bis zu drei Tagen nach der Infektion für *P. viticola* angegeben (SERRES und CARRARO 1976; DOUCHET et al. 1977; KLOPPING und DELP 1980). Diese Ergebnisse stammen aus Gewächshausversuchen, die mit künstlichen Inokulationen und optimalen Entwicklungsbedingungen für den Pilz durchgeführt wurden (DOUCHET et al. 1977; KLOPPING und DELP 1980). Im Freiland war auch eine späterer Applikation noch erfolgreich (KLOPPING und DELP 1980). DOUCHET et al. (1977) erzielten mit einer Spritzung sieben Tagen nach der Infektion gute Bekämpfungsergebnisse, wobei die Inkubationszeit in diesen Versuchen 10 bis 14 Tage betrug.

KLOPPING und DELP (1980) sowie SERRES und CARRARO (1976) berichteten von einer Inaktivierung von sporulierenden Ölflecken durch Cymoxanil. Die Sporulation wurde durch die Behandlung reduziert, oder blieb völlig aus. Nach der Cymoxanilapplikation fand außerdem keine Vergrößerung der Ölflecke mehr statt. Auch gegen *Ph. infestans* wurde eine gute kurative Wirkung erzielt (SERRES und CARRARO 1976; DOUCHET et al. 1977; KLOPPING und DELP 1980).

Der Wirkstoff Cymoxanil führt bei *Ph. infestans* zu einer Hemmung des Mycelwachstums (EC_{50} 1 $\mu\text{g/ml}$) und der Keimschlauchbildung aus Sporangien und encystierten Zoosporen. Die Zoosporendifferenzierung, ihr Entlassen aus den Sporangien und ihre Beweglichkeit wurde nicht beeinflusst (ZIOGAS und DAVIDSE 1987). Auch bei *P. viticola* konnte eine Wirkung auf das Mycelwachstum beobachtet werden. Bereits entwickelte Haustorien und Vesikel kollabierten und starben nach Cymoxanileinwirkung ab (HOWARD et al. 2000). Im Gegensatz zu *Ph. infestans* wurde bei *P. viticola* eine Hemmung der Zoosporentlassung aus den Zoosporangien beobachtet. Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Verhinderung der Sporulation (HOWARD et al. 2000).

Der primäre Wirkungsmechanismus ist noch nicht geklärt. Die dazu durchgeführten Untersuchungen weisen auf verschiedene biochemische Prozesse hin, die durch den Wirkstoff

beeinträchtigt werden. ZIOGAS und DAVIDSE (1987) beobachteten einen verminderten Einbau von radioaktiv markierten Nukleinsäurebausteinen, wobei sich die DNA-Synthese empfindlicher erwies als die RNA-Synthese. Trotz dieser Beobachtungen hielten die Autoren die Nukleinsäuresynthese nicht für den primären Wirkungsort des Cymoxanils, da in ihren Untersuchungen das Mycelwachstum und die Keimschlauchbildung bereits bei Cymoxanilkonzentrationen völlig gehemmt wurden, die die DNA- und RNA-Synthese nur sehr gering beeinflussten.

LEROUX et al. (1985) konnten ebenfalls eine Hemmung der RNA-Synthese sowie eine Störung der Synthese der Aminosäuren Cystein, Glycin und Serin nachweisen. Die Autoren sehen im Cymoxanil ein „Pro-Fungizid“, das in der Zelle durch pilzliche Enzyme zunächst aktiviert werden muss, um seine Wirkung zu entfalten. Welche Abbauprodukte, die zum Teil Ähnlichkeiten mit Aminosäuren (Glycin) aufweisen, für die fungizide Wirkung verantwortlich sein könnten, ist unbekannt (LEROUX et al. 1985).

Neuere Untersuchungen gaben zudem Hinweise auf die Auslösung von pflanzeigenen Abwehrmechanismen (hypersensitive Reaktion) sowohl bei *P. viticola* als auch bei *Ph. infestans* durch Cymoxanil (HOWARD et al. 1996, 2000).

Ein Einfluss auf die Proteinbiosynthese, die Atmung sowie die Lipidbiosynthese konnte in keiner der durchgeführten Untersuchungen nachgewiesen werden (LEROUX et al. 1985; ZIOGAS und DAVIDSE 1987).

Der Wirkstoff Cymoxanil spielt bei der Bekämpfung von *P. viticola* vor allem im deutschen Weinbau eine bedeutende Rolle. Cymoxanilhaltige Fungizide wurden Anfang der achtziger Jahre in Deutschland eingeführt und seitdem vor allem in Mischung mit Dithianon intensiv verwendet. Die häufige Verwendung dieser Fungizide hatte mehrere Gründe. 1986 mussten aufgrund des Anwendungsverbotes der Phthalimide eine große Anzahl von Präparaten vom Markt genommen werden. Betroffen waren dabei aufgrund ihrer Mischung mit Folpet auch alle Fungizide, die Metalaxyl oder Al-Fosethyl (Ridomil Combi, Mikal) enthielten. Zu diesem Zeitpunkt waren die cymoxanilhaltigen Fungizide Aktuan (100 g/kg Cymoxanil + 250 g/kg Dithianon, Anwendungskonz. 0,125 %) bzw. Aktuan SC (200 g/l Cymoxanil + 333 g/l Dithianon, Anwendungskonz. 0,05 %) die einzigen Präparate mit systemischen und kurativen Eigenschaften, die gegen *P. viticola* eingesetzt werden konnten. Die gute Verträglichkeit der Produkte gegenüber den für den Weinbau wichtigen Raubmilben ermöglichte außerdem den Einsatz in raubmilbenschonenden Spritzfolgen. Erst mit der Zulassung des Wirkstoffes

Dimethomorph stand ab 1997 ein neues Fungizid mit systemischen Eigenschaften zur Verfügung.

Die Kombination von systemischen und kurativen Eigenschaften sowie die sehr gute Raubmilbenverträglichkeit führte zu einem bevorzugten Einsatz cymoxanilhaltiger Fungizide im Rahmen integrierter Systeme mit prognosegestützten Bekämpfungsstrategien sowie in Phasen mit hohem Befallsdruck. Die beschriebene Ausgangssituation zeigt die Bedeutung cymoxanilhaltiger Fungizide für die Bekämpfung von *P. viticola* in den vergangenen Jahren für den deutschen Weinbau, vor allem auch für das Anbaugebiet Pfalz.

Wie bei Insektiziden und Antibiotika kann es auch bei der Anwendung von Fungiziden mit spezifischen Wirkungsmechanismen zur Bildung von Resistenzen kommen. Unter dem Begriff Fungizidresistenz versteht man den Erwerb einer stabilen, vererbaren Eigenschaft bzw. Anpassung an einen fungiziden Wirkstoff durch einen Pilz. Dies äußert sich in einer reduzierten Sensitivität des Pathogens gegenüber dem entsprechenden Wirkstoff relativ zur Normalreaktion der Species. Die Fungizidresistenz ist in der Regel die Folge einer Mutation (HOFFMANN et al. 1994). Kommt es infolge eines starken Selektionsdrucks durch häufige Anwendungen eines Wirkstoffes mit spezifischer Wirkung zu einer Anreicherung von Individuen mit reduzierter Sensitivität in einer Pathogenpopulation, kann es bei der Anwendung des entsprechenden Wirkstoffes zu unzureichenden Bekämpfungserfolgen des Schaderregers und zu wirtschaftlichen Schäden kommen.

In der Zwischenzeit sind die meisten der wichtigen Fungizidgruppen mehr oder weniger stark von Resistenzerscheinungen der Zielorganismen betroffen. Dazu gehören die Phenylamide (MORTON und URECH 1988; DAVIDSE 1995), Dicarboximide (LORENZ 1988; POMMER und LORENZ 1995), Steroldemethylierungshemmer (SCHEINPFLUG 1988; BUCHENAUER 1995) und Strobilurine (STIERL et al. 2000; APPEL und FELSENSTEIN 2000).

Auch der Weinbau wurde von diesen Entwicklungen nicht verschont. Bei *B. cinerea* konnten relativ schnell Resistenzen gegen die Benzimidazole und Dicarboximide vor allem in den nördlichen Anbaugebieten Europas nachgewiesen werden (EHRENHARDT et al. 1973; LORENZ und EICHHORN 1975; FEHRMANN 1976; LORENZ und EICHHORN 1980). Beim Echten Mehltau der Rebe, *U. necator*, beobachtet man seit Anfang der neunziger Jahre verringerte Bekämpfungserfolge nach jahrelanger Anwendung von Präparaten mit Wirkstoffen aus der Gruppe der C14-Demethylierungshemmer (DMI), die auf verringerte Sensitivität zurückgeführt werden (STEVA und CLERJEAU 1990; GUBLER et al. 1994;

CLERJEAU 1994). Beim Erreger des Falschen Mehltaus der Weinrebe, *P. viticola*, wurde Resistenz erstmals nach Einführung der Gruppe der Phenylamide festgestellt (HERZOG und SCHÜEPP 1985; LEROUX und CLERJEAU 1985). Bereits zwei Jahre nach der Einführung von Metalaxyl wurden parallel in Südafrika und Frankreich Resistenzerscheinungen nachgewiesen. Neuere Arbeiten konnten außerdem eine Resistenzbildung bei Fungiziden aus der Gruppe der Strobilurine aufzeigen (GULLINO et al. 2001)

Die Gefahr der Resistenzbildung gegenüber einem Wirkstoff ist eng mit seiner Wirkungsweise verknüpft (BUCHENAUER 1984, ARP 1987). Die anorganischen Fungizide Kupfer und Schwefel sowie die älteren organischen Wirkstoffe (z. B. Dithiocarbamate, Phtalimide) sind gar nicht oder nur sehr gering von Resistenzbildungen betroffen. Der Grund dafür liegt in ihrer unspezifischen Wirkungsweise. Im Gegensatz dazu greifen die meisten systemischen Wirkstoffe sehr spezifisch in biochemische Vorgänge des Zielpathogens ein und haben häufig auch sehr spezielle Wirkorte, die sich von denen in der Kulturpflanze unterscheiden. Die spezifische Wirkungsweise macht diese Wirkstoffe jedoch gleichzeitig anfällig für die Entwicklung von Fungizidresistenzen, da häufig schon geringe mutative Änderungen am Wirkungsort des Pathogens zu einem totalen Wirkungsverlust führen können.

Aufgrund der statistischen Häufigkeit einer Fungizidresistenz geht man heute davon aus, dass bereits resistente Individuen eines Pathogens vorhanden sind, bevor ein neuer Wirkstoff überhaupt zur Anwendung kommt (FEHRMANN 1976; BUCHENAUER 1984). Ob und wie schnell sich diese Individuen in der Population vermehren und eventuell zu Bekämpfungsproblemen im Feld führen, hängt unter anderem von der Fitness der resistenten Individuen, der Stärke des Selektionsdrucks durch das Fungizid und dem epidemiologischen Potential des Pathogens (z. B. Generationszahl, Sporulationsstärke) ab (HOFFMANN et al. 1994; BRENT 1995).

1995 berichteten GULLINO et al. erstmals über Minderwirkungen von Cymoxanil gegenüber *P. viticola* in Weinbaugebieten Norditaliens, die zum einen auf einen besonders hohen Befallsdruck und eine unzureichende Terminierung der Spritzungen zurückgeführt wurden. Zum anderen konnten jedoch auch *Plasmopara*-Populationen mit einer verringerten Sensitivität gegenüber Cymoxanil nachgewiesen werden. HAAS et al. (1996) berichteten von Bekämpfungsproblemen in der Praxis mit cymoxanilhaltigen Fungiziden seit 1993 in den Weinanbaugebieten Südtirol und Trentino und demonstrierten Versuche mit artifiziellen

Infektionen, in denen die Anwendung von Cymoxanil nicht ausreichend war. GULLINO et al. (1997) konnten diese Beobachtungen durch Untersuchungen in verschiedenen norditalienischen Weinbaugebieten untermauern. In einem umfangreichen Sensitivitätsmonitoring in den Anbaugebieten Piemont und Trentino wurde in Betrieben mit unzureichenden Bekämpfungserfolgen eine hohe Anzahl an *Plasmopara*-Populationen entdeckt, die minimale Hemmkonzentrationen (MHK) von über 100 mg/l Cymoxanil aufwiesen. In Tests mit inokulierten Topfreben konnte eine Population mit einem MHK-Wert von über 200 mg/l durch 500 mg/l Cymoxanil nicht mehr ausreichend bekämpft werden. Aufgrund dieser Ergebnisse vermuteten die Autoren die Entwicklung einer Resistenz von *P. viticola* gegenüber Cymoxanil in den betroffenen Anbaugebieten. LEROUX (2000) wies auf die Entwicklung von schwach resistenten *Plasmopara*-Isolaten in Frankreich hin.

GENET und VINCENT (1999) ermittelten bei umfangreichen Sensitivitätsmonitoringstudien in verschiedenen europäischen Ländern MHK-Werte in einem breiten Bereich für Cymoxanil und *P. viticola*. Sie konnten in ihren Studien nur geringe Einflüsse auf die Sensitivität in Abhängigkeit von der Anzahl der Cymoxanilanwendungen pro Vegetationsperiode und der Anzahl der Jahre, in denen cymoxanilhaltige Fungizide verwendet wurden, feststellen. Außerdem konnte kein Zusammenhang zwischen den ermittelten Cymoxanilsensitivitäten im Labor und der Wirkung im Freiland ermittelt werden. Auch *Plasmopara*-Populationen, die in Blattscheibentests von höheren Cymoxanilkonzentrationen nicht erfasst wurden, konnten in Freilandversuchen mit cymoxanilhaltigen Mischfungiziden erfolgreich kontrolliert werden (GENET und VINCENT 1999).

In Deutschland berichteten 1997 FÜHR und LORENZ (1998) erstmals von unzureichendem Bekämpfungserfolg in der Praxis gegen *P. viticola* bei Anwendung eines cymoxanilhaltigen Fungizides im Weinbaugebiet Pfalz in Deutschland. Untersuchungen mit Topfreben ergaben eine unzureichende Wirkung von Cymoxanil bei kurativer Anwendung. Ähnliche Beobachtungen wurden auch im Weinbaugebiet Rheinhessen gemacht (HILL 1998). Die Autoren vermuteten die Existenz cymoxanilresistenter *Plasmopara*-Populationen im Anbaugebiet. Parallel dazu berichteten KLINKENBERG et al. (1998) sowie KLINKENBERG und DEHNE (1998) ebenfalls von unzureichender Wirkung und verringerter Sensitivität bei *P. viticola* gegenüber Cymoxanil in Deutschland

Aufgrund der aufgetretenen Bekämpfungsprobleme im Weinbaugebiet Pfalz im Zusammenhang mit cymoxanilhaltigen Fungiziden und der großen Bedeutung dieser

Präparate für die Bekämpfung, wurde 1997 ein Forschungsprojekt zur Untersuchung verschiedener Fragestellungen begonnen.

Zum einen sollte ein Überblick über die Situation der Cymoxanilsensitivität im Anbaugebiet Pfalz gewonnen werden. Dazu wurden *Plasmopara*-Proben gesammelt und im Labor mit Hilfe von Blattscheibentests die minimale Hemmkonzentration (MHK) ermittelt. Ein weiterer wichtiger Punkt der Untersuchungen war abzuklären, ob eine verringerte Cymoxanilsensitivität bei *P. viticola* als stabile Eigenschaft auf die Folgegeneration vererbt wird. Dazu wurden sowohl Versuche bei vegetativer als auch sexueller Fortpflanzung durchgeführt.

Weiter sollten Erkenntnisse gewonnen werden, inwieweit Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität Probleme bei der Bekämpfung mit cymoxanilhaltigen Fungiziden vor allem bei kurativer Anwendung verursachen können. Dazu wurden sowohl Labor-, als auch Gewächshaus- und Freilandversuche durchgeführt. Zusätzlich sollte durch Versuche mit Mischungen von Stämmen mit unterschiedlicher Cymoxanilsensitivität versucht werden, Informationen über das Verhalten unterschiedlich sensibler Isolate in ihrer Population zu erlangen und Hinweise über die Konkurrenzfähigkeit der Isolate jener mit verringerter Sensitivität zu erhalten. Als Bestandteil eines Resistenzmanagements wurden außerdem nicht-cymoxanilhaltige Fungizide auf ihre Wirkung gegenüber Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität überprüft. In diesen Untersuchungen sollten zusätzlich Erkenntnisse über mögliche Kreuzresistenzen mit anderen Wirkstoffen gewonnen werden.

Letztlich war es das Ziel der Arbeit, die Gefährdung durch Isolate von *P. viticola* mit reduzierter Cymoxanilsensitivität für die bestehenden Bekämpfungsstrategien mit cymoxanilhaltigen Fungiziden beurteilen zu können und auf dieser Grundlage einer Verschärfung der Resistenzsituation vorzubeugen.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Erreger

Während der Vegetationsperioden 1997 bis 2000 wurden im Bereich des Weinbaugebietes Pfalz Isolate von *Plasmopara viticola* gesammelt und im Labor in Kultur genommen. Das Isolat 35 stammte aus einer Versuchsanlage der Firma Cyanamid Agrar GmbH & Co. KG, die Isolate 36-38 wurden von Herrn Dr. G. Hill aus Oppenheim zur Verfügung gestellt. Zur Herkunft der einzelnen Isolate vgl. Tab. 11, Kap. 3.1.

2.1.2 Testpflanzen

Aufgrund der obligat biotrophen Lebensweise von *P. viticola* benötigt der Pilz lebendes Pflanzenmaterial zum Wachstum und zur Reproduktion. Für alle Labor- und Gewächshausversuche wurde *Vitis vinifera* L. var. 'Müller-Thurgau' als Wirtspflanze verwendet. Im Freiland kamen sowohl Reben der Sorte 'Müller-Thurgau' als auch der Sorte 'Kerner' und 'Huxelrebe' zum Einsatz. Die verwendeten Sorten weisen, wie alle Europäer-Reben, eine hohe Anfälligkeit gegen *P. viticola* auf.

2.1.3 Nährmedien

Zur Herstellung von Wasseragar (1 %) wurden 10 g Agar-Agar mit 1000 ml entionisiertem Wasser aufgefüllt und anschließend bei 121°C für 20 min autoklaviert.

2.1.4 Fungizide

Für die verschiedenen Bekämpfungsversuche wurden sowohl reine Wirksubstanzen als auch Fungizide in der praxisüblichen Formulierung verwendet.

2.1.4.1 Cymoxanil (96 % technisches Produkt)

Chemischer Name: 2-Cyano-N-(Ethylaminocarbonyl)-2-(methoxyimino)acetamid

Summenformel: $C_7H_{10}N_4O_3$

Strukturformel: siehe Abb. 1

Molekulargewicht: 198,18 g/mol

Wasserlöslichkeit: 1000 mg/l

Hersteller: Du Pont du Nemours & Co.

Lokalsystemisches Fungizid mit protektiver und kurativer Wirkung gegen Oomyceten

Bei den Tests zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration sowie zur Erstellung von Dosis-Wirkungsbeziehungen wurde Cymoxanil in der beschriebenen Form verwendet.

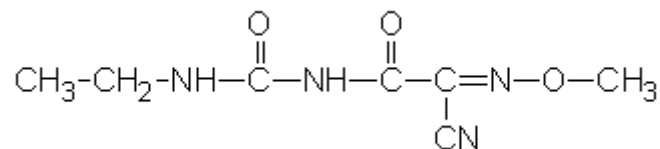


Abb.1: Strukturformel von Cymoxanil

2.1.4.2 Formuliert Fungizide

Für alle Versuche mit Topfreben sowie im Freiland wurden handelsübliche, formulierte Fungizide verwendet. Folgende Fungizide kamen zur Anwendung:

Cymoxanilhaltige Fungizide:

Aktuan:

Wirkstoffe: Dithianon (250 g/kg) + Cymoxanil (100 g/kg)

Anwendungskonzentration: 0,125 % bzw. 0,5 kg/ha Basisaufwand

Hersteller: Cyanamid

Wasserdispergierbares Pulver (WP) mit protektiver und kurativer Wirkung sowie lokalsystemischen Eigenschaften. Zur Bekämpfung von *Plasmopara viticola*, *Phomopsis viticola* und *Pseudopeziza tracheiphila* im Weinbau und *Pseudoperonospora humuli* im Hopfenanbau.

Versuchsprodukt:

Wirkstoffe: Azoxystrobin (187 g/kg) + Cymoxanil (120 g/kg)

Anwendungskonzentration: 0,1 %

Hersteller: Zeneca

Wasserdispergierbares Granulat mit protektiver und kurativer Wirkung sowie lokalsystemischen Eigenschaften.

Nicht-cymoxanilhaltige Fungizide:

Quadris:

Wirkstoff: Azoxystrobin (250 g/l)

Anwendungskonzentration: 0,1 % bzw. 0,4 l/ha Basisaufwand

Hersteller: Syngenta

Suspensionskonzentrat (SC) mit protektiver Wirkung und translaminaren Eigenschaften aus der Gruppe der Strobilurine. Zur Bekämpfung von *Plasmopara viticola* und *Uncinula necator* im Weinbau sowie Echten Mehltäupilzen in anderen Kulturen.

Forum:

Wirkstoff: Dimethomorph (150 g/l)

Anwendungskonzentration: 0,12 % bzw. 0,48 l/ha Basisaufwand

Hersteller: BASF AG

Dispersionskonzentrat (DC) mit protektiver, kurativer und antisporeulierender Wirkung sowie lokalsystemischen Eigenschaften zur Bekämpfung von *P. viticola*.

Delan SC 750:

Wirkstoff: Dithianon (750 g/l)

Anwendungskonzentration: 0,05 % bzw. 0,3 l/ha

Hersteller: BASF AG

Suspensionskonzentrat (SC) mit protektiver Kontaktwirkung. Zur Bekämpfung von *Plasmopara viticola*, *Phomopsis viticola* und *Pseudopeziza tracheiphila* im Weinbau sowie *Venturia inaequalis* an Kernobst und *Pseudoperonospora humuli* an Hopfen.

Ridomil Gold Combi:

Wirkstoffe: Metalaxyl-M (50 g/kg) + Folpet (400 g/kg)

Anwendungskonzentration: 0,15 % bzw. 0,6 kg/ha Basisaufwand

Hersteller: Syngenta

Wasserlösliches Pulver (WP) mit protektiver und kurativer Wirkung sowie systemischen Eigenschaften zur Bekämpfung von *Plasmopara viticola*.

2.2 Methoden

2.2.1 Anzucht und Pflege von Topfreben

Die Anzucht der Versuchspflanzen erfolgte in Form von Einaugensteckhölzern. Dazu wurden im Winter ausgereifte, gesunde Ruten im Weinberg geschnitten und zu Einaugensteckhölzern verarbeitet. Diese wurden über Nacht gewässert und für 8 Stunden in eine 0,5-prozentige Chinosollösung (Chinosol W, 67 % 8-Hydroxychinolinsulfat + 30 % Kaliumsulfat) eingelegt, um Mikroorganismen, die die Rinde besiedeln, speziell aber in der Rinde überwinterndes Mycel von *Botrytis cinerea*, abzutöten. Die so behandelten und in Plastikbeuteln verpackten Steckhölzer konnten bei 1°C im Kühlraum bis zu ihrer Verwendung gelagert werden. Anfang jeden Jahres wurden neue Steckhölzer auf diese Weise hergestellt und gegen die alten aus dem Vorjahr ausgetauscht.

Zur Anzucht der Reben wurden die Steckhölzer am basalen Ende frisch angeschnitten und die Köpfe mit den Augen in flüssiges Rebveredlungswachs (PP 140 F; Stähler) getaucht (ca. 60°C). Die Steckhölzer wurden nach der Parafinbeschichtung in mit Perlite gefüllte und gut gewässerte Pflanzschalen gesteckt. Die Kultivierung der Stecklinge erfolgte im Gewächshaus (25°C) auf einem Wärmebeet bzw. in einer Klimakammer bei 25° C und einem Licht/Dunkel-Rhythmus von 16:8 Stunden pro Tag.

Nach etwa zwei Wochen treiben die Stecklinge aus und es setzt Kallusbildung an der Schnittstelle ein, worauf Wurzelbildung folgt. Nach etwa sechs Wochen können die Stecklinge in Erde überführt werden. Die jungen Rebstecklinge wurden in einer Mischung (3:1) aus Floraton 1 (Fa. Floraguard) und Perlite getopft (Töpfe Ø 10 cm) und gut angegossen. Nach ca. drei Wochen Kultur im Gewächshaus hatten sich sechs bis sieben Blätter vollständig entfaltet und die Pflanzen konnten für Infektionsversuche verwendet werden. Die Kultivierung der Topfreben erfolgte bei ca. 21°C im Gewächshaus.

Im Abstand von 14 Tagen erfolgte eine Düngung durch Gießen einer 0,25-prozentigen Düngerlösung (Hakaphos-Nährsalz, Compo GmbH; N:P:K:Mg, 14:7:14:3). Im Abstand von 10-14 Tagen wurde eine Bekämpfung gegen *U. necator* wechselweise mit den Fungiziden Topas (0,015 %), Dorado (0,02 %), Castellan (0,02 %) oder Vento (0,025 %) durchgeführt. Um unkontrollierte Infektionen mit *P. viticola* zu vermeiden, erfolgte die Bewässerung der Pflanzen nur durch Staubewässerung, so dass kein tropfbares Wasser auf die Blätter gelangte.

In einigen Fällen war es nötig eine Bekämpfung gegen die Obstbaumspeckmilbe (*Panonychus ulmi*) und Thripse durchzuführen. Dazu fanden die Akarizide Vertimec (0,05 %), Kiron (0,15

%) und Ordoval (0,05 %) bzw. das Insektizid Tamaron (0,1 %) Verwendung. Trauermücken wurden durch das Aufhängen von Gelbtafeln reduziert.

2.2.2 Kultur und Erhaltung von *Plasmopara viticola*

Aufgrund der obligat biotrophen Lebensweise von *P. viticola* benötigt der Pilz lebendes Pflanzenmaterial zum Wachstum und zur Reproduktion. Je nach Fragestellung und Bedarf an Pilzmaterial wurde *P. viticola* auf Topfreben, abgeschnittenen Blättern oder ausgestanzten Blattscheiben kultiviert.

2.2.2.1 Herstellung des Inokulums

P. viticola wächst als Endoparasit im Intercellularraum des Reblattes. Nur zur Vermehrung und Verbreitung wachsen unter bestimmten Bedingungen Sporangienträger, die eine Vielzahl von Zoosporangien tragen, aus den Spaltöffnungen aus („Ausbruch“).

Um die Sporulation auszulösen, wurde infiziertes Blattmaterial, bei dem die Inkubationszeit bereits abgelaufen war (z. B. Ölflecke), in Petrischalen, die mit einem angefeuchteten Filterpapier ausgelegt waren, überführt, und über Nacht in der Klimakammer bei 21°C und Dunkelheit inkubiert. Unter diesen Bedingungen bildete sich ein dichter Sporangienträgerrasen an den infizierten Bereichen auf der Blattunterseite. Ganze Topfreben wurden zur Sporulation mit entionisiertem Wasser besprüht und in verschließbaren Plexiglaskammern (Höhe 95 cm, Breite 60 cm, Tiefe 91 cm), die auf angefeuchteten Steinwollematten standen, bei ca. 20°C über Nacht inkubiert. Um die nötige Dunkelheit zu gewährleisten, wurden die Kammern mit schwarzer, lichtundurchlässiger Plastikfolie verhüllt. Die Plexiglaskammern funktionierten nach dem Prinzip der „Feuchten Kammer“ und werden nachfolgend auch so bezeichnet.

Die so behandelten Blätter oder Blattstücke konnten mit entionisiertem Wasser abgespült werden, wodurch sich die Sporangien leicht von den Sporangienträgern ablösen. Es entstand eine Sporangiensuspension, deren Konzentration durch Auszählen der intakten Zoosporangien mit einer Zählkammer (Fuchs-Rosenthal-Kammer) bestimmt und danach mit entionisiertem Wasser auf die benötigte Konzentration eingestellt wurde.

Blattmaterial wurde grundsätzlich mit einer Dichte von 5×10^4 Sporangien/ml inokuliert. Für die Erhaltungszucht variierte die Inokulumkonzentration zwischen 2,5 und 5×10^4 Sporangien/ml.

2.2.2.2 Kultur von *Plasmopara viticola* auf Blattscheiben (leaf disc-Technik)

Die Verwendung von Blattscheiben bei der Kultivierung von *P. viticola* ist eine gängige Methode und wurde bereits zur Prüfung der Wirkung verschiedener Fungizide (HERZOG und SCHÜEPP 1985; WICKS und HALL 1990; BISSBORT 1992; GULLINO et al. 1997), der gezielten Erzeugung von Oosporen (LEHOCZKY 1956; GEHMANN 1987) und der Testung von Rebsorten auf *Plasmopara*-Resistenz verwendet (STEIN et al. 1985; BROWN et al. 1999). Sie ermöglicht bei geringem Platzbedarf eine schnelle Testung und vermindert die Schwankungen bei Inokulationsversuchen durch unterschiedliches Wirtspflanzenmaterial. Im Rahmen der durchgeführten Arbeit erfolgte die Kultur von *P. viticola* auf Blattscheiben, um Oosporen zu erzeugen, Einzelsporkulturen anzulegen und Sensitivitätstest durchzuführen.

Dazu wurden mittels eines abgeflamten Korkbohrers Blattscheiben aus Blättern ausgestanzt. Die Blattscheiben wurden mit der Oberseite auf entionisiertes Wasser oder auf feuchtes Filterpapier bzw. einprozentigen Wasseragar gelegt.

Die Inokulation der Blattscheiben erfolgte tropfenweise mit einer frischen Sporangiensuspension bzw. Einzelspore oder durch flächiges Ansprühen der gesamten Blattscheibe. Nach der Inkubation über Nacht wurde die Sporangiensuspension mit sterilen Filterpapiertüchern abgesaugt, die Gefäße mit Parafilm verschlossen und in der Klimakammer bzw. Klimahaube inkubiert. Genauere Ausführungen (z. B. Durchmesser, Art der Inokulation usw.) zur Verwendung der Blattscheiben sind unter den jeweiligen Kapiteln angegeben (s. Kap. 2.2.5; 2.2.7; 2.2.8.1).

2.2.2.3 Kultur von *Plasmopara viticola* auf abgeschnittenen Rebblättern

Die Kultur des Pilzes auf abgeschnittenen Rebblättern wurde in erster Linie dazu verwendet, Isolate unterschiedlicher Herkunft zu kultivieren. Dadurch konnte die Gefahr der Vermischung verschiedener Isolate ausgeschlossen werden. Der Platzbedarf bei dieser Form der Kultivierung bleibt außerdem gering.

Es wurden nur vollentwickelte, junge Blätter gesunder Topfreben verwendet. Vor der Inokulation der Blätter erfolgte eine Oberflächensterilisation mit 0,8-prozentiger Natriumhypochloritlösung für 5 min. Danach wurden die Blätter für 3 x 10 min in sterilem, entionisiertem Wasser gespült. Die sterilisierten Blätter wurden mit Zellstoff abgetrocknet und mit der Blattunterseite nach oben in Petrischalen (Ø 90 mm) gelegt, die mit einem feuchten Filterpapier ausgelegt waren.

Zur Inokulation wurden die Blätter entweder mit einer frischen Sporangiensuspension besprüht oder durch kleine Tropfen (5-8 μ l) einer Eppendorf-Pipette beimpft. Häufig wurden auch Blatteile mit Sporangienrasen mit einem Skalpell ausgeschnitten und auf ein mit entionisiertem Wasser angesprühtes Blatt „abgeklatscht“. Alle Petrischalen wurden mit Parafilm verschlossen und über Nacht im Dunkeln in einer Klimakammer bei 20°C inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Deckel der Petrischalen zum Abtrocknen der Blätter geöffnet. Danach wurden die Petrischalen erneut mit Parafilm verschlossen. Die weitere Kultivierung erfolgte in der Klimakammer bei 21°C und einem Licht-/Dunkel-Rhythmus von 16:8 Stunden pro Tag. Die hohe Luftfeuchtigkeit in den Petrischalen gewährleistete die Entwicklung neuer Sporangien nach Ablauf der Inkubationszeit, die dann als Inokulum verwendet werden konnten. Nach ca. 10 bis 14 Tagen mußten die Isolate auf ein neues Blatt überimpft werden. Alle Arbeiten mit abgeschnittenen Blättern und Isolaten verschiedener Herkunft wurden in einer sterilen Werkbank durchgeführt.

2.2.2.4 Kultur von *Plasmopara viticola* auf Topfreben

P. viticola wurde auf Topfreben kultiviert, wenn größere Sporangienmengen benötigt wurden (z. B. für Freilandversuche).

Dazu wurden Topfreben mit mindestens sechs bis sieben vollständig entwickelten Blättern mit einer Sporangiensuspension mittels eines Glasfeinzerstäubers unter dem Abzug inokuliert. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Unterseiten der Blätter gut mit der Sporangiensuspension benetzt wurden, da sich vorwiegend hier die Spaltöffnungen befinden. Die Blattoberseiten wurden zusätzlich mit entionisiertem Wasser eingesprüht. Die Pflanzen wurden über Nacht entweder eingetütet oder in der feuchten Kammer (s. Kap. 2.2.2.1) bei ca. 20°C inkubiert. Am nächsten Morgen wurden die feuchten Kammern entfernt und die Pflanzen bis zum Ablauf der Inkubationszeit im Gewächshaus bei 21°C kultiviert. Während dieser Zeit wurde die Wasserversorgung der Pflanzen ausschließlich durch eine Staubewässerung gewährleistet. Nach Ablauf der Inkubationszeit konnte, wie in Kap. 2.2.2.1 beschrieben, neues Inokulum für Versuche oder Vermehrung gewonnen werden.

2.2.3 Sammlung von *Plasmopara*-Isolaten während der Vegetationsperiode

Während der Vegetationsperioden 1997-2000 wurden im Bereich des Weinbaugebietes Pfalz Isolate von *P. viticola* gesammelt. Die Probennahme erfolgte in der Regel durch Entnahme von befallenem Blattmaterial aus den betroffenen Weinbergen.

Abhängig von der Stärke des Befalls wurden zum Teil größere Mischproben (ca. 30–100 Ölflecke) oder nur einzelne Ölflecke entnommen und in Plastiktüten verpackt ins Labor

überführt. Dort wurden die Ölflecke einzeln mit dem Skalpell aus den Blättern geschnitten und in Petrischalen mit feuchtem Filterpapier gelegt. Ölflecke, die bereits sporuliert hatten, wurden mit einem Pinsel von den alten, oft angetrockneten Sporangien befreit und über Nacht erneut zur Sporulation gebracht. Am nächsten Tag konnten die Isolate mit der „Abklatschtechnik“ oder durch Abspülen und Ansprühen, der über Nacht gebildeten Sporangien, auf neue Blätter übertragen werden.

2.2.4 Lagerung der Isolate

Die Pflege der verschiedenen *Plasmopara*-Kulturen ist aufwendig und zeitintensiv. Aus diesem Grund mußte eine Methode zur Lagerung von lebensfähigem Pilzmaterial über längere Zeit zur Verfügung stehen. In der Literatur sind verschiedene Lagermethoden zur Erhaltung von Pilzkulturen beschrieben (DAHMEN et al. 1983; KRUMM et al. 1994; KLODT-BUSSMANN 1995). Zur Lagerung von *P. viticola* eignen sich verschiedene Methoden. In allen Fällen wurden jeweils Sporangien eingelagert.

Lagerung bei -20°C, feucht

Blätter mit frischen Sporangien wurden in Plastikdosen oder Petrischalen bei -20°C eingefroren. Die Isolate sind so ca. 4-6 Monate lagerbar.

Lagerung bei -20°C, trocken (KRUMM et al. 1994)

Die Blätter mit frisch gebildeten Sporangien wurden an der Luft kurz getrocknet und abgesaugt. Die abgesaugten Sporangien lagerten ebenfalls bei -20°C in Reaktionsgefäßen (1,5 ml). In diesem Zustand sind die Sporangien mindestens 12 Monate lebensfähig. Das Absaugen der Sporangien erfolgte mit einem speziellen Sporenkollektor, der an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen wurde. Die Sporangien wurden in ein steriles Einbettungsgefäß auf eine sterile Gaze (Maschenweite 10 µm) gesaugt. Mitsamt der Gaze konnte die Sporangien und Sporangienträger in die Reaktionsgefäße überführt werden.

Um ein eingefrorenes Isolat wieder in Kultur zu nehmen, wurden die Sporangien von den Blättern mit entionisiertem Wasser abgespült, die Anzahl lebender Sporangien mit der Zählkammer bestimmt, eventuell verdünnt und auf neues Blattmaterial aufgesprüht. Die trockenen Sporangien wurden zunächst mit 1 ml entionisiertem Wasser angefeuchtet und danach wie beschrieben behandelt.

Lagerung in flüssigem Stickstoff (DAHMEN et al. 1983)

DAHMEN et al. (1983) lagerten Sporangien von *P. viticola* erfolgreich über neun Jahre in flüssigem Stickstoff mit verschiedenen Cryoprotektoren. Sie wiesen darauf hin, dass vor allem bei Oomyceten ein langsames Gefrieren der Proben wichtig ist.

Frisches Sporangienmaterial wurde mit 3 ml einer 15-prozentigen DMSO-Lösung abgepinselt und in Cryoröhrchen gefüllt. Mit Hilfe einer speziellen Cryogefrieranlage¹ (Messer Griesheim) wurden die Proben dann mit einer Temperaturabsenkung von 1°C/min auf -40°C abgekühlt. Danach konnten sie in flüssigen Stickstoff überführt werden

2.2.5 Gewinnung von Einzelsporkulturen

Die Herstellung genetisch reiner Linien erfordert das Anlegen von Einzelsporkulturen. Bei *P. viticola* wurden sowohl Einzelsporangien- als auch Einzoosporenkulturen angelegt. Einzelsporkulturen fanden bei verschiedenen Versuchen Anwendung, unter anderem bei den Mischungsversuchen (s. Kap. 2.2.12) und zur Fragestellung, ob Sporangien innerhalb eines Ölfleckes in ihrer Cymoxanilsensitivität variieren (s. Kap. 3.3).

Zur Herstellung von Einzelsporkulturen wurde eine frische Sporangiensuspension auf eine Konzentration von ca. 25000 Sporangien/ml eingestellt. Danach erfolgte eine Verdünnung von 1:10 mit entionisiertem Wasser. Von dieser Sporangiensuspension wurden 100 µl auf einen Hohlschliffobjektträger gegeben und bei 100-facher Vergrößerung mit einem Invertmikroskop mikroskopiert. Bei dieser Vergrößerung konnten mit einer fein ausgezogenen Glaskapillare einzelne Sporangien abgesammelt und in einem Tropfen demineralisiertem Wasser auf die Unterseite einer Blattscheibe (Ø 13 mm) übertragen werden. Die Blattscheiben schwammen auf 1 ml sterilem, demineralisiertem Wasser in Gewebekulturplatten (24 Kammern, Fa. Greiner). Am nächsten Tag wurden die Flüssigkeitstropfen entfernt und die Blattscheiben bei 21°C und einem Licht-/Dunkel-Rhythmus von 16:8 Stunden inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit konnten von den Blattscheiben, auf denen die Infektion erfolgreich war, die Sporangien für eine weitere Vermehrung auf neues Blattmaterial übertragen werden.

Bei der Herstellung der Monozoosporenkulturen wurde ebenso verfahren. Nach dem Schlupf der Zoosporen wurden die Verdünnungen angesetzt. Allerdings mußte wesentlich stärker verdünnt werden, da die Zoosporen beweglich sind und schwimmende Zoosporen leichter von den Kapillaren angesaugt werden als die Sporangien. Bei der Herstellung der Einzoosporenkulturen mußte deshalb mit größter Aufmerksamkeit vorgegangen werden.

¹ Für die Möglichkeit zur Nutzung der Cryogefrieranlage danke ich der Fa. Cyanamid GmbH in Schabenheim.

2.2.6 Bestimmung der Inkubationszeit

Den Zeitraum zwischen der Inokulation eines Blattes durch *P. viticola* und dem Sichtbarwerden der ersten Befallsstellen nennt man Inkubationszeit. Nach Ablauf der Inkubationszeit ist der Pilz in der Lage, sich beim Eintreten von Sporulationsbedingungen zu vermehren. Die Länge der Inkubationszeit ist abhängig von der Temperatur und wurde von MÜLLER (1936) in einen Inkubationskalender umgesetzt.

Zur Berechnung der Inkubationszeit wurden die Inkubationsfaktoren nach MÜLLER und SLEUMER (1934) verwendet. Dazu wird die Tagesdurchschnittstemperatur herangezogen und mit einem Inkubationsfaktor versehen (s. Tab. 1). Diese Inkubationsfaktoren werden vom Zeitpunkt der Infektion an summiert. Erreicht die Summe den Wert 100 oder überschreitet ihn, gilt die Inkubationszeit als abgelaufen und Befallssymptome werden sichtbar. Die erste Nachkommastelle der Temperaturen wird dabei gerundet.

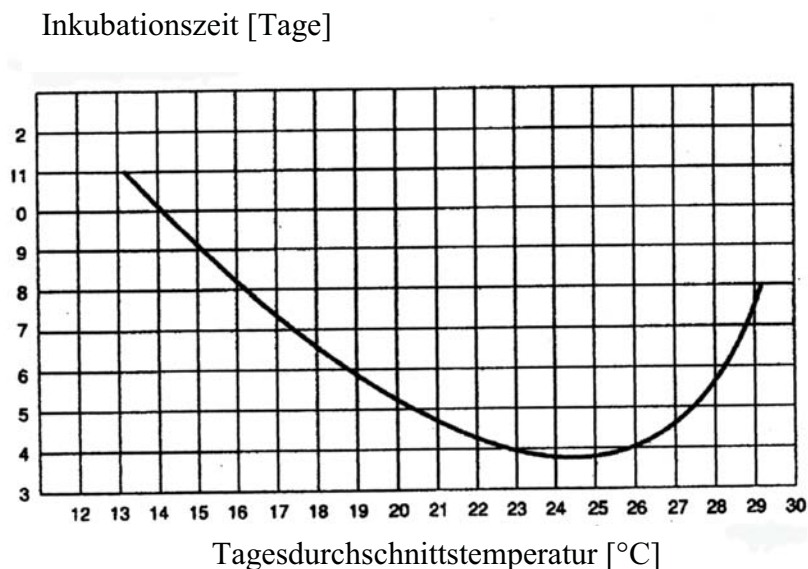


Abb. 2: Inkubationszeitkurve für *P. viticola* (aus HILLEBRAND et al . 1998)

Tab. 1: Inkubationsfaktoren der Tagesdurchschnittstemperaturen zur Berechnung der Inkubationszeit von *P. viticola* auf Rebblättern (MÜLLER und SLEUMER 1934)

Tages-durchschnitts-temperatur [°C]	Inkubations-faktor	Tages-durchschnitts-temperatur [°C]	Inkubations-faktor
5	4	16	13
6	4	17	14
7	5	18	16
8	5	19	18
9	6	20	20
10	6	21	21
11	7	22	24
12	8	23	25
13	9	24	25
14	10	25	25
15	11	26	25

Die angegebenen Werte gelten für junge Blätter.

2.2.7 Blattscheibentests zur Bestimmung der Cymoxanilsensitivität

2.2.7.1 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK)

Zur Ermittlung der Sensitivität von verschiedenen *Plasmopara*-Isolaten gegenüber Cymoxanil wurde ein Test mit schwimmenden Blattscheiben nach der Methode von GULLINO et al. (1997) verwendet (s. Abb. 3). Dazu fanden die Isolate, die in den Jahren 1997 bis 2000 gesammelt wurden, Verwendung.

Für den Test wurden Blattscheiben (Ø 15 mm) mit Hilfe eines abgeflamten Korkbohrers ausgestanzt. Nur gesunde, voll entwickelte Blätter aus dem oberen Bereich von wüchsigen Pflanzen fanden Verwendung.

Die Blattscheiben wurden für 30 Minuten in wässrige Cymoxanillösungen folgender Konzentrationen getaucht: 10, 50, 100, 250 und 500 mg/l Cymoxanil (96 %, technisches Produkt). Später kamen noch die Konzentrationen 600 und 800 mg/l hinzu. Unbehandelte Blattscheiben wurden in entionisiertem Wasser getaucht.

Nach der Behandlung trocknete die Fungizidsuspension ab und die Blattscheiben wurden in Petrischalen (Ø 50 mm) mit 10 ml derselben Cymoxanillösung, die auch für die Behandlung verwendet wurde, überführt. Die Blattscheiben schwammen dabei mit der Unterseite nach

oben auf der Flüssigkeit. Von jeder Konzentrationsstufe wurden zwei Petrischalen mit je fünf Blattscheiben verwendet.

Die Inokulation der Scheiben erfolgte mit einem Tropfen ($10\ \mu\text{l}$) einer frischen Sporangiensuspension (5×10^4 Sporangien/ml) in der Mitte der Blattscheibe. Am nächsten Tag wurden die Tropfen mit einem sterilen Papiertuch abgesaugt.

Der Test wurde für 10 Tage bei 21°C und einem Licht-/Dunkel-Rhythmus von 16:8 Stunden inkubiert. Nach acht und zehn Tagen erfolgte die Auswertung. Dabei wurde die Anzahl der Blattscheiben mit Sporulation ermittelt. Diejenige Cymoxanilkonzentration, bei der keine Sporulation mehr beobachtet werden konnte, wurde als die minimale Hemmkonzentration (MHK) registriert.

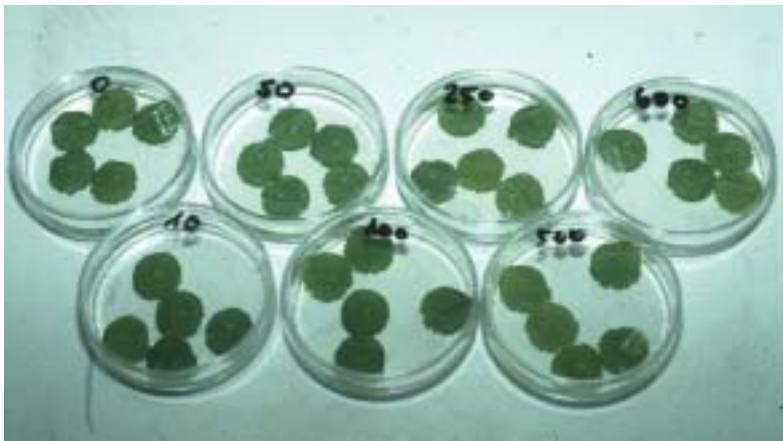


Abb. 3: Blattscheibentest zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

2.2.7.2 Dosis-Wirkungsbeziehungen

Die Ermittlung von MHK-Werten erlaubt keine Abschätzung über das Resistenzniveau der Isolate. Aussagen über die Größe des Wirkungsverlustes sind ebenfalls nicht möglich. Zur Charakterisierung wurden Dosis-Wirkungsbeziehungen für ausgewählte Isolate erstellt. Dabei wurden ebenfalls Blattscheibentests verwendet (s. Abb. 4). Im Gegensatz zum MHK-Test hatten die Blattscheiben für die Bestimmung der Dosis-Wirkungsbeziehungen einen Durchmesser von 18 mm. Die Fungizidbehandlung der Blattscheiben entsprach dem Verfahren zur MHK-Bestimmung.

Die Inokulation erfolgte abweichend dazu durch flächiges Ansprühen der gesamten Blattscheibenunterseite mit einer frischen Sporangiensuspension (1 ml/Petrischale; 5×10^4 Sporangien/ml).

Um ein Abrollen der Sporentropfen von der Blattunterseite und ein Übereinanderschleiben der Blattscheiben zu verhindern, schwammen diese in einer Petrischale (\varnothing 90 mm), die mit einem Filterpapier ausgelegt war, welches mit 8 ml der jeweiligen Cymoxanilsuspension getränkt wurde. Pro Petrischale wurden acht Blattscheiben verwendet.

Nach einer Inkubation über Nacht in der Klimakammer wurde die auf den Blattscheiben verbliebene Sporangiensuspension abgesaugt, um eine gute Sporulation zu gewährleisten. Anschließend wurden die Petrischalen mit Parafilm verschlossen. Danach erfolgte die Inkubation der Ansätze wie bereits beim MHK-Test beschrieben.

Nach acht und zehn Tagen wurde der prozentuale Anteil sporulierender Blattfläche pro Blattscheibe mit Hilfe eines sechs Klassen umfassenden Boniturschemas abgeschätzt. Mit den daraus resultierenden Befallsstärken konnte mittels Logit-Analyse (s. Kap. 2.2.14) ein EC_{50} -Wert für die ausgewählten *Plasmopara*-Isolate errechnet werden. Der EC_{50} -Wert ("effective concentration") ist diejenige Fungizidkonzentration, bei der die Pilzentwicklung um 50 % gehemmt wird (AUST et al. 1993).

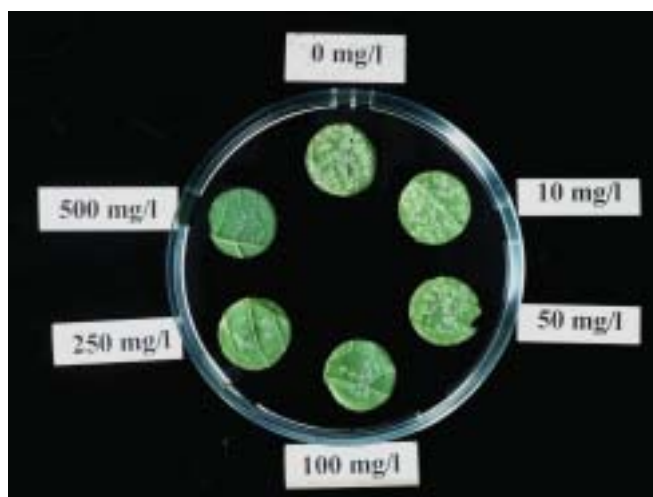


Abb. 4: Blattscheibentest zur Bestimmung von Dosis-Wirkungsbeziehungen

2.2.8 Versuche zur Stabilität der Resistenz

Eine stabile Vererbung stellt eine wichtige Eigenschaft von Fungizidresistenzen dar. Mit den beschriebenen Versuchen sollte geklärt werden, ob die Eigenschaft einer verringerten Cymoxanilsensitivität auf die nachfolgenden Generationen weitergegeben wird.

2.2.8.1 Vererbung verminderter Cymoxanilsensitivität durch Oosporen

Die Arbeiten mit Oosporen dienen der Klärung der Fragestellung, ob *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil in der Lage sind, diese Fähigkeit über die

Oosporen auf die Folgegeneration zu übertragen. Von Isolaten mit einer verminderten Cymoxanilsensitivität sollten Oosporen gewonnen und diese wieder zur Keimung gebracht werden, um die daraus hervorgehenden Isolate erneut auf ihre Cymoxanilsensitivität zu überprüfen. Für die Erzeugung und Keimung der Oosporen wurden veränderte Methoden nach LEHOCZKY (1956), RONZON et al. (1984) sowie RONZON-TRAN MANH SUNG und CLERJEAU (1988) verwendet.

2.2.8.1.1 Erzeugung von Oosporen

Für die Untersuchung wurde eine Mischpopulation von *P. viticola* vom Standort Niederhorbach eingesetzt, die im Spätsommer 1997 gesammelt wurde und eine MHK von >500 mg/l aufwies. Diese Population fand auch in den Arbeiten von FÜHR und LORENZ (1998) Verwendung.

Die Erzeugung der Oosporen erfolgte in Blattscheiben (Ø 18 mm), die mit der Blattunterseite nach oben auf entionisiertem Wasser schwammen. Zur Inokulation wurden fünf Tropfen (10 µl) einer frischen Sporangiensuspension (5×10^4 Sporangien/ml) auf jede Blattscheibe pipettiert. In jede Petrischale wurde 10 Blattscheiben gelegt. Am nächsten Tag wurden die Inokulationstropfen wieder abgesaugt, die Petrischalen mit Parafilm versiegelt und danach bei 18°C in einer Klimahaube unter natürlichen Lichtverhältnissen inkubiert. Nach vier Wochen erfolgte eine Auswertung der Oosporenbildung im Lichtmikroskop (100-fache Vergrößerung).

2.2.8.1.2 Lagerung der Oosporen

Blattscheiben mit Oosporen wurden in einen Steinwolleblock gelegt, in dessen Mitte sich ein Hohlraum befand und mit einem Zellstoffstopfen verschlossen. Der Block wurde in einen Plastiktopf (Ø 10 cm) gestellt, mit feuchtem Sand gefüllt und anschließend in einen Klimaschrank bei 10° C inkubiert. Nach einer Woche erfolgte ein Temperaturwechsel auf -5°C. Im wöchentlichen Wechsel zwischen 10° und -5°C wurden die Oosporen 16 Wochen gelagert. Regelmäßig wurde der Topf mit entionisiertem Wasser angefeuchtet.

2.2.8.1.3 Keimung der Oosporen

Zur besseren Beobachtung der Oosporenkeimung mußten diese vom umgebenen Blattgewebe befreit werden. Dazu wurden oosporenhaltige Blattbereiche mit etwas demineralisiertem Wasser in einen kleinen Glashomogenisator gegeben und mit einem dazu passenden Pistill

vorsichtig zermörsert. Das nach der Lagerung zum Teil bereits mazerierte Blattgewebe konnte leicht zerstört und die Oosporen freigesetzt werden.

Die so hergestellte Oosporensuspension wurde mit Wasser verdünnt, auf einen Hohlschliffobjektträger gegeben und die Oosporen mit Hilfe einer feinen Glaskapillare unter dem Invertmikroskop bei 100-facher Vergrößerung abgesammelt und auf Wasseragar (1 %) überführt. Es erfolgte danach eine Inkubation der Ansätze bei 21°C für 14 Tage in der Klimakammer. Täglich wurden die ausgelegten Oosporen auf die Ausbildung von Primärsporangien untersucht. Gekeimte Oosporen wurden mit einer feinen Pinzette in einen Wassertropfen auf einen Hohlschliffobjektträger überführt und dann mit einer Pipette in 10 µl entionisiertem Wasser aufgenommen. Dieser Tropfen wurde auf die Unterseite einer schwimmenden Blattscheibe pipettiert. Die so erhaltenen Isolate konnten auf ihre Cymoxanilsensitivität wie beschrieben untersucht werden.

2.2.8.2 Stabilität im Freiland bei vegetativer Vermehrung

Mit diesem Versuch sollte geklärt werden, ob ein *Plasmopara*-Isolat mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil diese Eigenschaft auch im Freiland beibehält oder ob dort Resensibilisierungerscheinungen auftreten.

Dazu wurden in der Vegetationsperiode 1999 mit einem *Plasmopara*-Isolat (Nh PS 3; MHK >500 mg/l) mit verringerter Cymoxanilsensitivität unbehandelte Triebspitzen der Sorte 'Müller-Thurgau' in einer Ertragsanlage inokuliert. Aus den daraus resultierenden Infektionen der zweiten Generation wurden Ölflecke entnommen und im Blattscheibentest die minimale Hemmkonzentration für Cymoxanil bestimmt.

Nach der gleichmäßigen Inokulation (mit Feinzerstäuber) der Blattunterseite mit einer frischen Sporangiensuspension (5×10^4 Sporangien/ml) wurden die Triebe zusätzlich auf der Blattoberseite mit Wasser eingesprüht und über Nacht eingetütet (Abb. 5), um ausreichende Infektionsbedingungen zu gewährleisten. Anschließend wurden die Triebe markiert. Die Inokulation erfolgte an einem bedeckten Tag am späten Nachmittag, um starke Sonneneinstrahlung und Wärme zu vermeiden. Am nächsten Morgen wurden die Tüten wieder entfernt.



Abb. 5: Eingtütete Rebtriebe zur Verbesserung des Infektionserfolges nach künstlicher Inokulation mit Sporangien von *P. viticola*

Nach dem Abnehmen der Tüten und dem Abtrocknen der Sporangiensuspension wurde zunächst das Ende der Inkubationszeit abgewartet. Während dieser Zeit wurden die infizierten Triebe regelmäßig auf das Erscheinen von Blattsymptomen bonitiert. Insgesamt wurden 34 Triebe an 17 Stöcken inokuliert.

Nach der Entwicklung eindeutiger Blattsymptome wurden zur Erzeugung von Sporulations- und Infektionsbedingungen die infizierten Triebe und die umgebene Laubwand gut mit Wasser besprüht. Das Wasser wurde dazu mit Schlauchleitungen zum Weinberg transportiert und mit Hilfe eines Gießstocks mit Brausenaufsatz appliziert. Die Benässung der Laubwand erfolgte um 22⁰⁰ und 5³⁰ Uhr des darauffolgenden Morgens. Bereits nach der ersten Wasserapplikation hatte auf der Blattunterseite der infizierten Blätter eine starke Sporulation stattgefunden. Die zweite Applikation diente vor allem der Verbesserung der Infektionsbedingungen.

Nach dem Ablauf einer erneuten Inkubationszeit wurden Ölflecken, die aus den Infektionen resultierten, gesammelt und im Labor auf ihre Cymoxanilsensitivität untersucht. Die ermittelten Werte wurden mit der Sensitivität des Ausgangsisolates verglichen. Insgesamt wurden 40 Ölflecken von 13 Rebstöcken untersucht.

2.2.9 Kurative Wirkung von Cymoxanil in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt (leaf-disk-Technik)

Eine erfolgreiche Bekämpfung mit kurativ wirkenden Fungiziden hängt unter anderem vom Anwendungszeitpunkt der Applikation ab. Liegt die Infektion bereits zu weit zurück, ist der Bekämpfungserfolg nicht mehr ausreichend. In der Literatur wird von einer kurativen

Wirkung von bis zu drei Tagen für Cymoxanil ausgegangen (SERRES und CARRARO 1976; DOUCHET et al. 1977; KLOPPING und DELP 1980).

Im Blattscheibentest wurde die kurative Wirkung von Cymoxanil zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Infektion untersucht. Dabei wurde ein *Plasmopara*-Isolat mit verringerter Cymoxanilsensitivität mit einem sensitiven Isolat verglichen.

Für den Versuch wurden Blattscheiben ausgestanzt (\varnothing 18 mm) und mit der Blattunterseite nach oben in Petrischalen gelegt, die mit Filterpapier ausgelegt waren. Das Filterpapier wurde zuvor mit jeweils 8 ml sterilem A. dest. pro Petrischale angefeuchtet. Jede Petrischale enthielt 10 Blattscheiben.

Die Inokulation erfolgte durch flächiges Ansprühen der Blattscheiben mit einer frischen Sporangiensuspension (5×10^4 Sporangien/ml). Bis zum Zeitpunkt der Fungizidapplikation wurden die Blattscheiben in der Klimakammer bei 21°C inkubiert. Nach Erreichen dieses Zeitpunktes wurde das Inokulum zunächst mit einem sterilen Papiertuch abgesaugt. Die Fungizidapplikation erfolgte mit Aktuan in der zugelassenen Anwendungskonzentration (0,125 %). Mit Hilfe eines Glasfeinzerstäuber wurde das Fungizid gleichmäßig auf die Unterseite der Blattscheiben aufgebracht und nach dem Antrocknen die Blattscheiben in neue Petrischalen gelegt, deren Filterpapier anstatt mit entionisiertem Wasser mit 8 ml Aktuan-Suspension getränkt war. Bei den unbehandelten Kontrollen wurde lediglich das Inokulum zum jeweiligen Zeitpunkt von den Blattscheiben abgesaugt und die Blattscheiben in neue Petrischalen überführt. Die Zeitpunkte nach der Inokulation, zu denen die kurative Wirkung von Cymoxanil geprüft wurde, sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Die Petrischalen wurden mit Parafilm verschlossen und in der Klimakammer bei 21°C und einen Licht-/Dunkel-Rhythmus von 16:8 Stunden inkubiert. Für die Untersuchung wurden ein Isolat mit verringerter Cymoxanilsensitivität der Herkunft Niederhorbach (MHK >800 mg/l; Isolat Nr. 14, Tab. 11) und das sensitive Isolat Eschbach (MHK 50 mg/l; Isolat Nr. 1, Tab. 11) verwendet. Nach acht Tagen erfolgte die Bonitur des Blattbefalls. Für jedes Isolat wurde der Test dreimal wiederholt.

Die Befallshäufigkeit und Befallsstärke zu den verschiedenen Behandlungszeitpunkten wurde zwischen Kontrolle und Aktuan-Variante sowie zwischen den beiden Isolaten verglichen.

Tab. 2: Zeitpunkte der Aktuan-Applikation nach der Inokulation

Variante	Zeitintervall nach Inokulation	Abgelaufene Inkubationszeit [%]
1	2 h	ca. 1,8
2	2,5 h	ca. 2,2
3	3 h	ca. 2,6
4	3,5 h	ca. 3,1
5	4 h	ca. 3,5
6	5 h	ca. 4,4
7	6 h	ca. 5,3
8	7 h	ca. 6,1
9	8 h	ca. 7,0
10	9 h	ca. 7,9
11	10 h	ca. 9,6
12	11 h	ca. 11
13	24 h	ca. 21
14	48 h	ca. 42

2.2.10 Freilandversuche

Laborergebnisse können nicht einfach auf die Bedingungen im Freiland übertragen werden. Um das Verhalten resistenter Isolate unter natürlichen Bedingungen zu untersuchen, wurden Freilandversuche mit künstlichen und natürlichen Infektionen durchgeführt.

2.2.10.1 Kurative Bekämpfung eines *Plasmopara*-Isolates mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil (artifizielle Inokulation)

Mit diesem Versuch sollte geklärt werden, wie sich die kurative Wirkung von Cymoxanil auf ein *Plasmopara*-Isolat mit verringerter Sensitivität im Freiland auswirkt.

In der Vegetationsperiode 1999 wurden wüchsige, gesunde Triebspitzen (ca. 12-15 Blätter/Trieb) einer unbehandelten 'Müller-Thurgau'-Anlage mit einem *Plasmopara*-Isolat (Nh PS 3; MHK > 500 mg/l) mit verringerter Cymoxanilsensitivität inokuliert und 24 h später

mit Aktuan (Cymoxanil) und Ridomil Gold Combi (Metalaxyl) kurativ behandelt. Der Ablauf der Inokulation entsprach dem Vorgehen von Kapitel 2.2.8.2. Die Inokulationen erfolgten ebenfalls an einem bedeckten Tag am späten Nachmittag, um starke Sonneneinstrahlung und Wärme zu vermeiden.

Am nächsten Morgen wurden die Tüten entfernt und nach dem Abtrocknen der Sporangiensuspension die Fungizidapplikation durchgeführt. Sie erfolgte wie bei der Inokulation mit einem Feinzerstäuber. Die Triebspitzen wurden tropfnaß gespritzt. Insgesamt wurden zehn Triebe pro Variante inokuliert. Die angelegten Varianten sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tab. 3: Angewendete Fungizide im Freilandversuch

Variante	Fungizid	Konzentration [%]	Anzahl Triebspitzen [n]
Cymoxanil kurativ	Aktuan	0,125	10
Metalaxyl-M kurativ	Ridomil Gold Combi	0,15	10
Kontrolle	Aqua dest.	-	10

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Triebe abgeschnitten und getrennt nach den Varianten in Plastikbeuteln verpackt ins Labor gebracht. Dort wurden die Triebe mit entionisiertem Wasser eingesprüht, erneut in Plastiktüten verpackt und über Nacht in der Klimakammer inkubiert. Am nächsten Morgen erfolgte die Bonitur des Blattbefalls nach Anzahl der befallenen Blätter pro Trieb und dem prozentualen Anteil sporulierender Blattfläche. Befallshäufigkeit, -stärke und Wirkungsgrade wurden berechnet.

2.2.10.2 Einsatz verschiedener Fungizide gegen *Plasmopara viticola* in einer Rebfläche mit Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität (Niederhorbach 1999)

Zur Abschätzung des Verhaltens von *Plasmopara*-Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität im Freiland wurde 1999 ein Bekämpfungsversuch mit verschiedenen Fungiziden in einer Rebfläche durchgeführt, in der bereits 1997 Probleme bei der Bekämpfung von *P. viticola* mit Aktuan aufgetreten waren (FÜHR und LORENZ 1998). Die Ermittlung der MHK für die *Plasmopara*-Populationen dieses Weinberges ergab in den Jahren 1997 >500 mg/l und 1999 >800 mg/l. Im Jahr 1998 war aufgrund der Witterungsbedingungen kein Befall festzustellen.

Die Anlage des Versuches erfolgte als randomisierte Blockanlage mit jeweils vier Wiederholungen (a-d) pro Fungizidvariante. Zwei Wiederholungen jeder Variante umfassten

jeweils eine Länge von 15 m Rebzeile (3 Stickellängen) mit in der Regel 12 Rebstöcken. Die anderen zwei Wiederholungen wiesen jeweils eine Länge von 20 m (4 Stickellängen) mit jeweils 16 Rebstöcken auf. Da die Anlage zu einem Drittel mit der Sorte 'Huxelrebe' und zu zwei Dritteln mit der Sorte 'Kerner' bepflanzt war, wurde der Versuch so angelegt, dass von jeder Variante eine Wiederholung im Bereich der 'Huxelrebe' lag (s. Feldplan Kap. 8.1, Anhang). Während die Wirksamkeit von allen Fungiziden zunächst bei protektiver Anwendung getestet wurde, wurde bei Fungiziden, die Wirkstoffe mit entsprechenden Eigenschaften enthielten, auch die kurative Wirkung untersucht. Folgende Varianten kamen zur Anwendung (Tab. 4):

Tab. 4: Verwendete Fungizide und Anwendungsart zur Bekämpfung von *P. viticola*, (Freilandversuch Niederhorbach 1999)

Wirkstoffe	Name	Anwendung	Basis- konzentration
Wasser	Kontrolle	-	-
Dithianon	Delan SC 750	Protektiv	0,05 %
Cymoxanil + Dithianon	Aktuan	Protektiv	0,125 %
Cymoxanil + Azoxystrobin	Versuchsprodukt	Protektiv	0,1 %
Dimethomorph	Forum	Protektiv	0,12 %
Metalaxyl-M + Folpet	Ridomil Gold Combi	Protektiv	0,15 %
Cymoxanil + Dithianon	Aktuan	Kurativ	0,125 %
Cymoxanil + Azoxystrobin	Versuchsprodukt	Kurativ	0,1 %
Dimethomorph	Forum	Kurativ	0,12 %
Metalaxyl-M + Folpet	Ridomil Gold Combi	Kurativ	0,15 %

Die Mittelaufwandmengen und verwendeten Wassermengen wurden dem Entwicklungszustand der Reben im Verlauf des Versuches angepaßt (Tab. 5). Um Abtropfverluste zu vermeiden, betrug die maximale Wasseraufwandmenge bis hin zur Abschluss-spritzung 800 l/ha.

Terminierung der Spritzungen

Die protektiven Behandlungen wurden in regelmäßigen Abständen von etwa 12 Tagen mit einem Parzellentunnelspritzgerät (Typ NW 1) durchgeführt. Durch diese Spritzungen sollte

ein möglichst lückenloser Fungizidbelag mit wenig Befall gewährleistet („sichere Spritzfolge“) werden.

Die kurativen Spritzungen sollten gezielt nach einer Infektion ausgebracht werden. Dazu wurde vor Ort im Weinberg eine automatische Wetterstation der Firma Lufft (Typ HP100; Abb. 6) aufgebaut, die die relevanten Klimadaten Niederschlag, relative Luftfeuchte, Temperatur und Blattnässedauer erfasste (s. Kap. 8.2, Anhang). Anhand der Klimadaten wurden die Sporulationsereignisse bestimmt. Bei Eintreten von Sporulationsbedingungen wurde auch von einer erfolgreichen Infektion ausgegangen.



Abb. 6: Elektronische Wetterstation zur Erfassung der Klimadaten (HP 100 Fa. Lufft)

Die erste kurative Fungizidapplikation erfolgte nach dem Auftreten der ersten Ölflecke und deren erster Sporulation. Da alle kurativ eingesetzten Fungizide auch über eine vorbeugende Kontaktwirkung verfügen, wurde für die nächsten zehn Tage von einem protektiven Schutz der Laubwand ausgegangen. In diesem Zeitraum stattfindende Infektionen wurden nicht extra bekämpft. Die nächste kurative Spritzung erfolgte dann frühestens nach Ablauf der zehn Tage beim erneuten Eintreten der festgelegten Sporulationsbedingungen.

Um die verschiedenen Präparate in ihrer kurativen Leistung vergleichen zu können, wurden die kurativen Applikationen noch an demselben spätestens jedoch am folgenden Tag nach der Infektion durchgeführt. Die Spritzungen erfolgten mit einer Motorrückenspritze der Firma Solo (Typ Solo Port 40123).

Als begleitender Pflanzenschutz wurde zur Bekämpfung des Echten Mehltaus, *U. necator*, Topas (0,015 %) ausgebracht, da die DMI-Fungizide keine Wirkung auf *P. viticola* besitzen.

Festlegung der Infektionsbedingungen

Bedingungen für Primär- bzw. Bodeninfektionen

Die Bestimmung der Primär- bzw. Bodeninfektionen erfolgte nach der „Zehnerregel“ (HILL 1994). Für die Annahme einer solchen Infektion mußten folgende Bedingungen gegeben sein:

- mindestens 10 mm Niederschlag innerhalb von 2-3 Tagen
- Tagesdurchschnittstemperatur ca. 10°C
- mindestens 10 cm Triebblänge

Die Temperatur und die Mindesttrieblänge sind vor allem für die Primärinfektion im Frühjahr von Bedeutung. Unter einer mittleren Bodentemperatur von 8°C keimen die Oosporen im Boden nicht (HILL 1989; GEHMANN 1991). Die angegebenen 10°C bezogen sich auf die Messung in einer Wetterhütte, deren Sensoren in Höhe der Laubwand montiert werden (HILLEBRAND und EICHHORN 1984). Die Mindesttrieblänge gewährleistet das Vorhandensein vollständig entwickelter Stomata an den Blättern

Der Niederschlag muss eine ausreichende Bodenfeuchte zur Keimung der Oosporen gewährleisten und die infektiösen Stadien des Erregers durch Spritzwasser auf die grünen Rebteile verfrachten. Bei fortgeschrittener Vegetationsperiode sind die Bedingungen für Triebblänge und Bodentemperatur in der Regel immer erfüllt. Vom Boden ausgehende Infektionen hängen dann nur noch von der Niederschlagsmenge und -intensität ab. Nach Eintreten der angenommenen Bedingungen für eine Bodeninfektion wurde die Inkubationszeit berechnet (s. Kap. 2.2.6) und nach deren Ablauf die Rebanlage auf das Erscheinen von Ölflecken überprüft.

Die „Zehnerregel“ ermöglicht relativ zuverlässig die Bestimmung des Primärinfektionstermins (HILL 1994). Sie wird standardmäßig im Weinbaugebiet Pfalz zur Ermittlung der Primärinfektion verwendet (FÜHR 1999). Die „Zehnerregel“ gilt als sicher, prognostiziert den Termin der Primärinfektion jedoch häufig zu früh (HILL 1994). Leider verfügt man momentan über keine besseren Systeme. Methoden, die auch die Beobachtung der Keimungsaktivität der Oosporen mit einbeziehen oder diese simulieren können, werden zur Zeit entwickelt, sind jedoch noch nicht praxisreif.

Infektionsbedingungen für Sekundärinfektionen

Nach dem Auftreten der ersten Ölflecke in der Versuchsanlage wurden folgende Bedingungen für eine Sporulation und damit verbunden für eine Infektion angenommen:

- Blattnässe oder eine relative Luftfeuchte >94 % für mindestens vier Stunden in der Zeit zwischen 22⁰⁰ und 4⁰⁰ MEZ (Dunkelheit)
- Mindesttemperatur von 12,5°C zu Beginn der Feucht/Dunkelphase
- Mindestdurchschnittstemperatur von 11°C in den ersten vier Stunden der Feucht/Dunkelphase.

Nach Eintreten dieser Mindestbedingungen wurde automatisch von einer erfolgreichen Infektion ausgegangen.

In Tabelle 5 sind die Termine und Bedingungen unter denen die Spritzungen durchgeführt wurden, dargestellt.

Tab. 5: Datum, Wassermenge, Mittelkonzentration und Entwicklungsstadium der Reben bei den durchgeführten Fungizidapplikationen des Freilandversuches (Niederhorbach 1999)

Datum	Wassermenge [l/ha]	Konzentration	Entwicklungsstadium nach Lorenz et al. (1994)
Variante 1-6; protektiv; 8 Applikationen			
14.05.99	400	1 x	13
25.05.99	600	1 x	17
09.06.99	800	1 x	57
23.06.99	800	1,25 x	68
07.07.99	800	1,5 x	73-75
19.07.99	800	1,75 x	77
02.08.99	800	2 x	79
12.08.99	800	2 x	81
Variante 9-12; kurativ; 7 Applikationen			
04.06.99	800	1 x	55-57
22.06.99	800	1,25 x	68
03.07.99	800	1,5 x	71-73
13.07.99	800	2 x	75
21.07.99	800	2 x	77
05.08.99	800	2 x	79
15.08.99	800	2 x	81

Wassermenge und Fungizidkonzentration müssen aufgrund des Zuwachses der Laubwand im Verlauf der Vegetationsperiode mehrfach angepasst werden. Die maximal ausbringbare Wassermenge beträgt 800 l/ha. Ansonsten muss mit Abtropfverlusten gerechnet werden. Aus diesem Grund muss spätestens ab dem Entwicklungsstadium ES 68 mit der Aufkonzentrierung der Spritzbrühe begonnen werden, um die notwendige Mittelmenge auszubringen. Die aufgeführten Faktoren in der Spalte Konzentration beziehen sich auf die genannte Basiskonzentration der Mittel in Tabelle 4.

Ermittlung des Befalls

Die Ermittlung des Schadens wurde in Anlehnung an die EPPO-Richtlinie (ANONYM, 1981) und die BBA-Richtlinie Nr. 22-1.1 (FLICK et al. 1988) sowie den hausüblichen Methoden zur Bonitur von Fungizidversuchen gegen *P. viticola* durchgeführt. Bei den durchgeführten Bonituren wurde jeweils der erste und der letzte Stock jeder Wiederholung nicht ausgewertet.

Blattbefall

Für die Ermittlung des Blattbefalls wurde in jeder Wiederholung der Varianten jeweils 400 Blätter zufällig ausgewählt und die Anzahl befallener Blätter bestimmt. Auf jeder Seite der Rebzeile wurden 200 Blätter bonitiert.

Aus den ermittelten Werten ließen sich die Befallshäufigkeiten der Fungizidvarianten im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle errechnen.

Traubenbefall

Für die Bestimmung der Befallshäufigkeit an Trauben wurden pro Wiederholung 100 Trauben auf Befall durch *P. viticola* bonitiert. Neben der Befallshäufigkeit wurde bei den geschädigten Trauben auch die Befallsstärke ermittelt. Dazu erfolgte eine Einteilung der befallenen Trauben in fünf Schadensklassen.

Tab. 6: Schadensklassen für die Bonitur von Traubenbefall

Boniturklasse	Traubenbefall [% pro Traube]
1	0 (gesund)
2	bis 5
3	>5 – 25
4	>25 – 50
5	> 50

Mit Hilfe der Klassenmitten wurden die Befallsstärken errechnet. Insgesamt wurde der Versuch zu drei Terminen bonitiert (17.7.; 4.8.; 15.9.).

2.2.10.3 Ermittlung der Häufigkeit des Auftretens verschiedener Sensivitätstypen in einer Population

Die Häufigkeit von resistenten Isolaten in einer Population ist ein wichtiger Faktor bei der Beurteilung einer Resistenzsituation. Ihre Kenntnis ermöglicht eine bessere Abschätzung der Gefährdung des Bekämpfungserfolges.

Aus dem Fungizidversuch in Niederhorbach wurden aus den Kontrollparzellen einzelne Ölflecke gesammelt und im Labor in Kultur genommen. Für die so vermehrten Isolate wurde mit der beschriebenen Methode die minimale Hemmkonzentration gegenüber Cymoxanil ermittelt. Insgesamt wurden für 40 Isolate die MHK festgestellt und der Anteil mit verringerter Cymoxanilsensitivität bestimmt.

2.2.11 Prüfung nicht-cymoxanilhaltiger Fungizide gegen *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität

Für ein erfolgreiches Anti-Resistenzmanagement und zur Eindämmung von Fungizidresistenzen ist der Wirkstoffwechsel eines der wichtigsten Instrumente. Dazu benötigt man alternative Fungizide mit unterschiedlichen Wirkmechanismen. Das Vorkommen von Kreuzresistenzen oder multiplen Resistenzen kann die Auswahl an geeigneten Fungiziden einschränken. So herrscht zwischen allen Wirkstoffen aus der Gruppe der Phenylamide (MORTON und URECH 1988) und der DMI-Fungizide (SCHEINPFLUG 1988) Kreuzresistenz. Zwar ist Cymoxanil der einzige Wirkstoff aus der Klasse der Cyano-Oxime. Trotzdem kann auch die Existenz von multiplen Resistenzen nicht ausgeschlossen werden. Das gleichzeitige Auftreten von Resistenz gegen Fungizide verschiedener Wirkstoffklassen konnte unter anderem bei *Botrytis cinerea* beobachtet werden (BUCHENAUER 1984; LORENZ 1988).

Um die Wirkung alternativer *Plasmopara*-Fungizide gegenüber Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität zu überprüfen, wurden Tests mit Topfreben durchgeführt. Die verwendeten Fungizide sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tab. 7: Nicht-cymoxanilhaltige Fungizide zur Kontrolle von *Plasmopara*-Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität

Wirkstoffe	Handelsname	Wirkung	Konzentration
Dithianon	Delan SC 750	protektiv	0,05 %
Azoxystrobin	Quadris	protektiv	0,1 %
Dimethomorph	Forum	protektiv/kurativ	0,12 %
Metalaxyl-M Folpet	Ridomil Gold Combi	protektiv/kurativ	0,15 %

Die aufgeführten Fungizide wurden in der handelsüblichen Formulierung verwendet. Jedes Präparat wurde protektiv, die Präparate Forum und Ridomil Gold Combi zusätzlich auch in ihrer kurativen Wirkung getestet.

Die Fungizidbehandlung der Topfreben erfolgte mit einem Glasfeinzerstäuber. Pro Variante wurden vier Topfreben gleichmäßig auf Blattober- und Unterseite tropfnaß besprüht. Bei den protektiven Varianten erfolgte die Inokulation nach vollständigem Antrocknen des Spritzbelages mit 5×10^4 Sporangien/ml. Bei den kurativen Varianten wurde die Inokulation vor der Fungizidapplikation durchgeführt. Diese fand 24 Stunden nach der Inokulation statt. Die Kontrollpflanzen wurden mit A. dest. behandelt. Nach der vollständigen Antrocknung des Fungizidbelages bzw. der Sporangiensuspension wurden die Pflanzen während der Inkubationszeit im Gewächshaus (21°C) kultiviert.

Nach 10 Tagen wurden die Pflanzen mit entionisiertem Wasser eingesprüht und über Nacht in der feuchten Kammer inkubiert. Am nächsten Morgen erfolgte die Bonitur des Blattbefalls. Dazu wurde die Anzahl sowie der prozentuale Anteil der sporulierenden Blattfläche der befallenen Blätter bestimmt und aus den ermittelten Daten die Befallshäufigkeit und Befallsstärke errechnet. Jeder Versuch wurde zweimal wiederholt.

Da Metalaxyl auch über die Gasphase wirkt (HERZOG 1984), erfolgte die Kultivierung und Inkubation in der feuchten Kammer der Varianten, die mit Ridomil Gold Combi behandelt wurden, getrennt von den übrigen Pflanzen des Versuches, um Beeinflussungen ausschließen zu können.

2.2.12 Verhalten von Mischpopulationen resistenter und sensibler *Plasmopara*-Isolate

Resistente Isolate verfügen über einen Selektionsvorteil, wenn das Fungizid, gegen das sie eine Resistenz besitzen, zur Anwendung kommt. Unter diesen Bedingungen können sich resistente Individuen in der Population stark anreichern. Wird der Selektionsdruck ausgesetzt,

so sind die resistenten Individuen nur konkurrenzfähig, wenn sie durch die Resistenzeigenschaft keinen Fitnessnachteil haben. Häufig benötigt die Expression der neuen Eigenschaft viel Energie oder andere Abläufe werden behindert (z. B. geringere Sporulation). Weisen die resistenten Isolate eine verringerte Fitness im Vergleich zum sensiblen Wildtyp auf, werden sie in der Regel mit der Zeit aus der Population ausgedünnt.

Um das Verhalten der Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität in einer Population besser abschätzen zu können, wurden Versuche mit definierten Mischungen resistenter und sensitiver Isolate durchgeführt. Dabei wurde das Verhalten sowohl mit als auch ohne Selektionsdruck geprüft. Für die Versuche fanden ein sensibles (Esch E5; MHK 50 mg/l) und ein Monosporangienisolat mit verringerter Cymoxanilsensitivität (App E2; MHK > 500 mg/l) Verwendung.

2.2.12.1 Verhalten der Mischungen mit Selektionsdruck

Für die Herstellung der Mischungen wurde das Inokulum für jedes Isolat getrennt, wie in Kap. 2.2.1 beschrieben, hergestellt und auf 5×10^4 Sporangien/ml verdünnt. Folgende Mischungen wurden aus den beiden Sporangien suspensionen angesetzt (Tab. 8):

Tab. 8: Verwendete Mischungen bei Kultivierung mit Selektionsdruck

Mischung	Anteil an Resistenten [%]
Esch E5	0
App E2	100
1	0,1
2	1
3	5
4	10
5	25

Von jeder Variante wurden jeweils acht Topfreben inokuliert und über Nacht in der feuchten Kammer inkubiert. Am nächsten Morgen wurden die inokulierten Reben an der Luft abgetrocknet.

Für die Selektion der resistenten Individuen erfolgte unmittelbar nach dem Abtrocknen eine kurative Fungizidbehandlung mit Aktuan (0,125 %, entspricht einer Menge von 125 mg/l

Cymoxanil). Die Hälfte der inokulierten Reben (vier) jeder Mischung wurden gleichmäßig auf Blattober- und Unterseite tropfnaß mit einem Glasfeinzerstäuber unter dem Abzug gespritzt. Nach Antrocknen des Fungizidbelages wurden die Pflanzen im Gewächshaus aufgestellt. Die Kontrollpflanzen wurden lediglich mit entionisiertem Wasser behandelt und ebenfalls ins Gewächshaus überführt.

Nach dem Erscheinen von Blattsymptomen an den Kontrollpflanzen wurden die Versuchspflanzen mit entionisiertem Wasser eingesprüht und über Nacht in der Feuchten Kammer inkubiert. Die Inkubation der mit Aktuan behandelten und der Kontrollpflanzen fand dabei in getrennten Kammern statt. Es wurde außerdem darauf geachtet, dass sich die Pflanzen verschiedener Mischungen nicht berühren konnten.

Anschließend wurde die Anzahl befallender Blätter pro Topfrebe sowie der prozentuale Anteil sporulierender Blattfläche jedes Blattes bestimmt (Boniturschema s. Kap. 2.2.14.1). Aus den ermittelten Daten ließen sich die Befallshäufigkeit und Befallsstärke errechnen. Der Versuch wurde zweimal wiederholt. Der ermittelte Befall ermöglicht eine Abschätzung des Schadpotentials der Mischungen.

Zum Vergleich wurde der Versuch mit denselben Mischungen auch auf vorbeugend mit Aktuan (0,125 %) behandelten Topfreben durchgeführt. Dazu wurde die Hälfte der Versuchspflanzen bereits am Vortag der Inokulation mit Fungizidsuspension tropfnass gespritzt. Am nächsten Tag erfolgte die Inokulation der behandelten sowie der Kontrollpflanzen wie bereits beschrieben. Pro Versuchsglied wurden bei der protektiven Variante jeweils drei behandelte und drei Kontrollpflanzen inokuliert.

Zu Beginn jedes Versuches wurde die Cymoxanilsensitivität jeder Mischung und der Ausgangs isolate im Blattscheibentest ermittelt. Am Ende des Versuches wurde dies erneut durchgeführt. Dabei erfolgte die Ermittlung sowohl soweit vorhanden an den behandelten wie auch an den Kontrollpflanzen. Von jeder zu untersuchenden Variante wurden soweit möglich zwei Sensitivitätstest angesetzt. Der Vergleich der Cymoxanilsensitivitäten zu Beginn und am Ende des Versuches sollte eine Aussage über die Selektion der resistenten Individuen in der Mischung ermöglichen

2.2.12.2 Verhalten der Mischungen ohne Selektionsdruck

Die Sporangiensuspensionen und Mischungen wurden, wie bereits im Versuch mit Selektionsdruck beschrieben, hergestellt.

Folgende Mischungen wurden aus den beiden Sporangiensuspensionen angesetzt (Tab. 9):

Tab. 9: Verwendete Mischungen bei Kultivierung ohne Selektionsdruck

Mischung	Anteil an Resistenten [%]
Esch E5	0
App E2	100
1	0,1
2	1
3	10

Jede Mischung wurde in zweifacher Wiederholung angesetzt und von jeder Mischung sowie von beiden Ausgangsisolaten die Anfangssensitivität bestimmt (s. Kap. 2.2.7).

Mit jeder Mischung wurden dann jeweils drei Topfreben nach der beschriebenen Methode inokuliert und über Nacht in der feuchten Kammer inkubiert. Bis zum Erscheinen von Blattsymptomen erfolgte die Kultivierung der infizierten Pflanzen im Gewächshaus (21°C). Für die Sporulation wurden Blätter mit Symptomen in Petrischalen überführt, die mit einem feuchten Filterpapier ausgelegt waren, und über Nacht in der Klimakammer gelagert. Die entstehenden Sporangien wurden ab gespült und neue Topfreben damit beimpft. Von jeder Mischung wurde ein Aliquot entnommen und davon die Cymoxanilsensitivität im Blattscheibentest ermittelt (Kap. 2.2.7) und mit der Ausgangssensitivität verglichen. Jeder Sensitivitätstest erfolgte wenn möglich in zweifacher Wiederholung. Insgesamt betrug der Beobachtungszeitraum für die Entwicklung der Cymoxanilsensitivität zehn Generationen ohne Selektionsdruck.

2.2.13 Wachstum von ausgewählten *Plasmopara*-Isolaten auf unbehandeltem

Blattmaterial

Von ausgewählten *Plasmopara*-Isolaten (s. Tab 12), die in verschiedenen Versuchen Verwendung fanden, wurde sowohl in Blattscheibentests als auch in Versuchen mit Topfreben die besiedelte Fläche unbehandelter Blätter bestimmt.

Dazu wurde mit dem bekannten Boniturschema (s. Kap. 2.2.14.1) der prozentuale Anteil der Blattfläche mit Sporulation durch das jeweilige Pilzisolat geschätzt und in Befallsstärken umgerechnet. Der Vergleich dieser Befallsstärke konnte zur Abschätzung der Fitness und Aggressivität verschiedener *Plasmopara*-Isolate verwendet werden (KAST 2001).

Die Durchführung erfolgte wie bereits bei den Versuchen mit Blattscheiben und Topfrieben beschrieben.

2.2.14 Auswertung

2.2.14.1 Boniturschema zur Schätzung des prozentualen Blattbefalls

Zur Bestimmung der Befallsstärke wurde der prozentuale Anteil sporulierender Blattfläche bei den infizierten Blättern und Blattscheiben abgeschätzt. Die Bonitur erfolgte mit einem sechs Klassen umfassenden Boniturschema nach der EPPO-Richtlinie (ANONYM 1981). Folgende Klassen wurden verwendet:

Tab. 10: Boniturstufen zur Abschätzung des prozentualen Anteils sporulierender Blattfläche

Boniturstufe	Anteil sporulierender Blattfläche [%]
1	0 (gesund)
2	bis 5
3	>5-25
4	>25-50
5	>50-75
6	>75-100

2.2.14.2 Berechnung von Befallshäufigkeit, Befallsstärke und Wirkungsgrad

Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurden die Boniturstufen des Befalls aus den Versuchen in Befallshäufigkeit, Befallsstärke und Wirkungsgrade umgerechnet.

Befallshäufigkeit (BH):

Anteil befallener oder erkrankter Pflanzen bzw. Pflanzenteile in einer Stichprobe.

$$BH [\%] = \left(\frac{\text{Summe der befallenen Pflanzenteile}}{\text{Stichprobenumfang } N} \right) * 100$$

Befallsstärke (BS):

Anteil des von einer Schaderregerart oder Krankheit befallenen Gewebe.

$$BS [\%] = \left(\frac{[(Km_1 * N_1) + (Km_2 * N_2) + \dots + (Km_n * N_n)]}{\text{Stichprobenumfang } N} \right) * 100$$

Km = Klassenmitte

N_{1-n} = Anzahl pro Befallsklasse

Wirkungsgrad (WG):

Maßzahl für die Bewertung der Befallsreduktion oder der Schadensminderung einer Pflanzenschutzmaßnahme. Die Berechnung des Wirkungsgrades erfolgte nach ABBOTT (1925).

$$WG [\%] = \left(\frac{BS_{\text{unbehandelt}} - BS_{\text{behandelt}}}{BS_{\text{unbehandelt}}} \right) * 100$$

2.2.14.3 Berechnung von Resistenzfaktoren

Die Berechnung der Resistenzfaktoren (RF) erfolgte nach der Formel (DELP und DEKKER 1985):

$$RF = \frac{EC_{50} \text{ resistentes Isolat}}{EC_{50} \text{ sensibles Isolat}}$$

2.2.14.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programmpaket SAS vers. 8.2 unter Win NT 4.0. Die ermittelten Daten wurden einer Prüfung auf Normalverteilung und Varianzhomogenität unterzogen und gegebenenfalls transformiert. Danach erfolgte eine varianzanalytische Verrechnung (GLM-Procedure).

Die paarweisen Mittelwertsvergleiche zwischen Kontrolle und Variante wurden mit dem Test nach DUNNETT (DUNNETT 1955; HARTUNG und SCHMITZ 1978) durchgeführt. Bei zwei oder mehr zu vergleichenden Varianten fand der Test nach TUKEY (gleiche Anzahl von Wiederholungen in allen Gruppen) oder SCHEFFE (ungleiche Anzahl von Wiederholungen in allen Gruppen) Verwendung (HARTUNG et al. 1989).

Signifikante Unterschiede in den Daten wurden in den Graphiken und Tabellen durch Buchstaben hervorgehoben. Die Irrtumswahrscheinlichkeit betrug 5 % ($p \leq 0,05$), wenn nicht anders angegeben.

Da ein Großteil der Daten nicht normalverteilt war, wurde vor der Varianzanalyse für diese eine Transformation durchgeführt. Die Transformation erfolgte für den Großteil der Daten gemäß (HARTUNG et al. 1989):

$$y \quad y_t = \arcsin \sqrt{y/100} \text{ (Winkeltransformation)}$$

Die Boniturwerte für Blattbefall und Traubenbefall (Befallshäufigkeit) des Freilandversuches in Niederhorbach wurden entsprechend der Wurzeltransformation transformiert (HARTUNG et al. 1989):

$$y \quad y_t = \sqrt{y + \frac{3}{8}} \text{ (Wurzeltransformation)}$$

Für die Auswertung der Dosis-Wirkungsbeziehungen wurde die Güte der Anpassung der Meßwerte an die Logit-, Probit- und Weibull-Verteilung (CHRISTENSEN und NYHOLM 1984; HARTUNG und EPELT 1995; MICHEL et al. 1999) überprüft. Für die ermittelten Daten erwies sich die Verwendung der Logit-Verteilung am günstigsten. Die Logit-Analyse wurde mit Hilfe des Programmes ToxRat vers. 1.8 durchgeführt und die EC_{50} -Werte für die verschiedenen *Plasmopara*-Isolate berechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration verschiedener *Plasmopara*-Isolate

Mit Hilfe von Blattscheibentests wurde die minimale Hemmkonzentration (MHK), das heißt diejenige Cymoxanilkonzentration, bei der keine Sporulation mehr festgestellt werden konnte, für die gesammelten *Plasmopara*-Isolate ermittelt.

In Tabelle 11 sind der Ort, die Rebsorte, das Jahr und der jeweilige MHK-Wert für die untersuchten Isolate aufgeführt. Insgesamt wurden 38 verschiedene Isolate untersucht. Die Proben stammten aus unterschiedlichen Weinbergen, die mit verschiedenen Weiß- oder Rotweinsorten bestockt waren.

Tab. 11: Minimale Hemmkonzentration (MHK) von *Plasmopara viticola* gegenüber Cymoxanil von unterschiedlichen Standorten in der Pfalz

Isolat Nr.	Ort	Jahr	Rebsorte	MHK [mg/l]
1	Eschbach	1997	Spätburgunder	50
2	Wachenheim	1997	Kerner	50
3	Dackenheim	1997	Riesling	100
4	Ungstein	1997	Dornfelder	100
5	Appenhofen	1997	Riesling	250
6	Bad Dürkheim	1997	Dornfelder	250
7	Dackenheim	1997	Riesling	250
8	NW-Mußbach	1997	Spätburgunder	250
9	Rohrbach	1997	Kerner	500
10	NW-Mußbach	1997	Riesling	> 500
11	St. Martin	1997	Orion	> 500
12	Mörzheim	1997	Spätburgunder	> 500
13	Appenhofen	1997	Riesling	> 500
14	Niederhorbach	1997	Kerner	> 500
15	Albersweiler	1998	Müller-Thurgau	50
16	Bockenheim	1998	Silvaner	50
17	Gönnheim	1998	Dornfelder	50

Isolat Nr.	Ort	Jahr	Rebsorte	MHK [mg/l]
18	NW-Haardt	1998	Riesling	50
19	NW-Mußbach	1998	Silvaner	50
20	Niederkirchen	1998	Riesling	250
21	Bad Bergzabern	1998	Morio-Muskat	500
22	Niederkirchen	1998	Huxelrebe	500
23	Ottersheim	1998	Scheurebe	500
24	Friedelsheim	1998	Riesling	> 500
25	Klingenmünster	1999	Ruländer	100
26	Ruppertsberg	1999	Dornfelder	100
27	Göcklingen	1999	Müller-Thurgau	500
28	NW-Lachen	1999	Dornfelder	500
29	Ottersheim	1999	Riesling	500
30	Insheim	1999	Kerner	800
31	Niederhorbach	1999	Kerner	> 800
32	NW-Hambach	2000	Portugieser	600
Andere Anbauggebiete				
33	Boppard (Mittelrhein)	1997	Riesling	50
34	Trier (Mosel)	1997	Weißer Burgunder	50
35	Schwabenheim (RH)	1997	Müller-Thurgau	100
36	Monzernheim (RH)	1998	n.b.	100
37	Bechtheim (RH)	1998	n.b.	250
38	Dittelsheim (RH)	1998	n.b.	800

n.b. = nicht bekannt; NW = Neustadt/Weinstraße, RH = Rheinhessen

Die Proben aus Niederhorbach (Nr. 14 bzw. 31) stammten aus der gleichen Parzelle, während es sich bei anderen Proben aus gleichen Ortschaften um unterschiedliche Weinberge handelte. Die ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen bewegten sich in einem Bereich zwischen 50 und >800 mg/l. Die Häufigkeit der verschiedenen MHK-Werte ist in Abbildung 7 dargestellt.

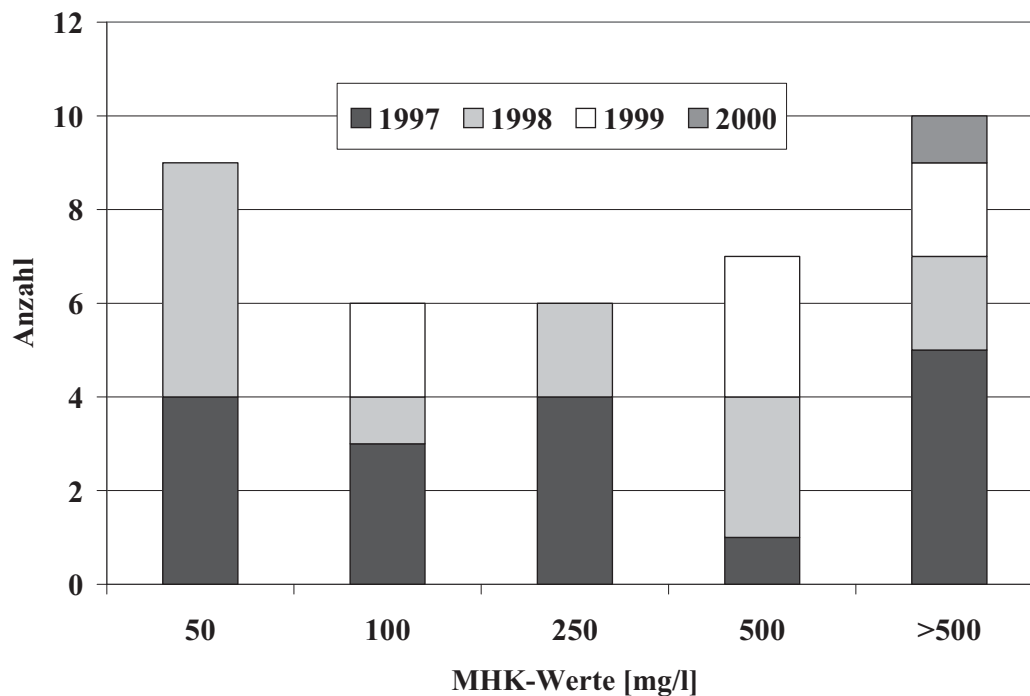


Abb. 7: Häufigkeit der MHK-Werte gesammelter *Plasmopara*-Isolate von verschiedenen Standorten im Freiland

Für neun Isolate wurde eine minimale Hemmkonzentration von 50 mg/l festgestellt. Bei jeweils sechs Isolaten war bei 100 bzw. 250 mg/l keine Sporulation mehr festzustellen. Sieben Isolate wurden von 500 mg/l vollständig gehemmt, während zehn Isolate einen MHK-Wert von über 500 mg/l aufwiesen.

Die geographische Verteilung der getesteten Isolate aus dem gesamten Anbaubereich Pfalz ist in Abbildung 8 dargestellt. Im Bereich Mittelhaardt lag der Schwerpunkt der untersuchten Proben in der Region zwischen Neustadt und Bad Dürkheim und im Bereich Südliche Weinstraße zwischen Landau und Bad Bergzabern. Sowohl im nördlichen als auch im südlichen Bereich des Anbaubereiches konnten *Plasmopara*-Isolate mit niedrigen und hohen minimalen Hemmkonzentrationen nachgewiesen werden. Die Zuordnung eines Sensivitätstyps zu einer abgegrenzten lokalen Region war nicht möglich.

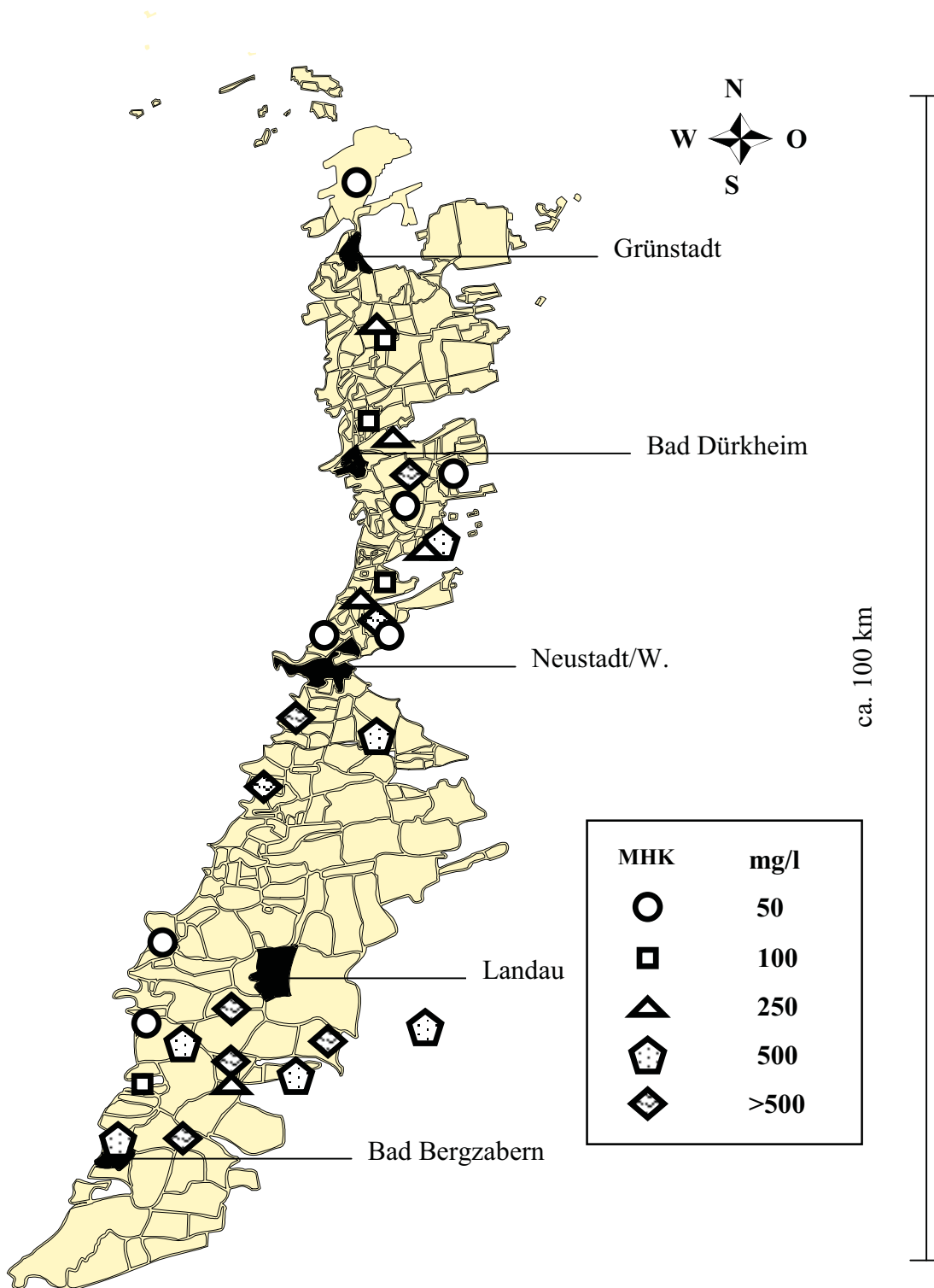


Abb. 8: Geographische Herkunft der untersuchten *Plasmopara*-Isolate und ihre MHK-Werte

3.2 Dosis-Wirkungsbeziehungen ausgewählter *Plasmopara*-Isolate

Von ausgewählten *Plasmopara*-Isolaten wurden mit Hilfe des Blattscheibentests Dosis-Wirkungsbeziehungen erstellt, um diese genauer zu charakterisieren (Kap. 2.2.7.2). Dabei handelte es sich, mit Ausnahme des aus einer Oosporen-Nachkommenschaft gewonnenen Isolates Nh PS3, um Einzelsporangienisolate aus einzelnen Ölflecken (s. Kap. 2.2.5). In Tabelle 12 sind die untersuchten Isolate aufgeführt.

Tab. 12: EC₅₀- und MHK-Werte ausgewählter *Plasmopara*-Isolate

Isolat	Herkunft	EC ₅₀ [mg/l]	MHK [mg/l]
Esch E5	Mspi. von Isolat Nr. 1	1,24	50
App E2	Mspi. von Isolat Nr. 13	34	> 500
LSp E1	Mspi. von Isolat Nr. 28	38	500
Muß E4	Mspi. von Isolat Nr. 8	55	>500
RH E12	Mspi. von Isolat Nr. 38	53	> 500
Nh PS 3	Oosporenisolat	47	> 500

Mspi. = Monosporangienisolat; MHK = minimale Hemmkonzentration;

EC₅₀ = effektive Konzentration (50 % Hemmung)

(Zur Herkunft der Isolate s. auch Tab. 11)

Um den genauen Wirkungsverlauf nachvollziehen zu können, wurde dieser unter dem Einfluss verschiedener Cymoxanilkonzentrationen untersucht. Der Verlauf der Wirkungsgradkurven ist in Abbildung 9 dargestellt. Daraus wird ersichtlich, dass das Isolat Esch E5 deutlich sensibler auf die Fungizidbehandlung reagiert. Bei 10 mg/l Cymoxanil wurden bereits über 90 % Wirkungsgrad bei der Befallsstärke erreicht. Der niedrige EC₅₀- und MHK-Wert spiegeln sich auch im Verlauf der Dosis-Wirkungsbeziehung wider. Bei den Isolaten mit höheren MHK-Werten verlief die Kurve der Wirkungsgrade deutlich flacher, was sich auch in den höheren EC₅₀-Werten niederschlug. Hohe Wirkungsgrade wurden erst zwischen 250 und 500 mg/l Cymoxanil erreicht.

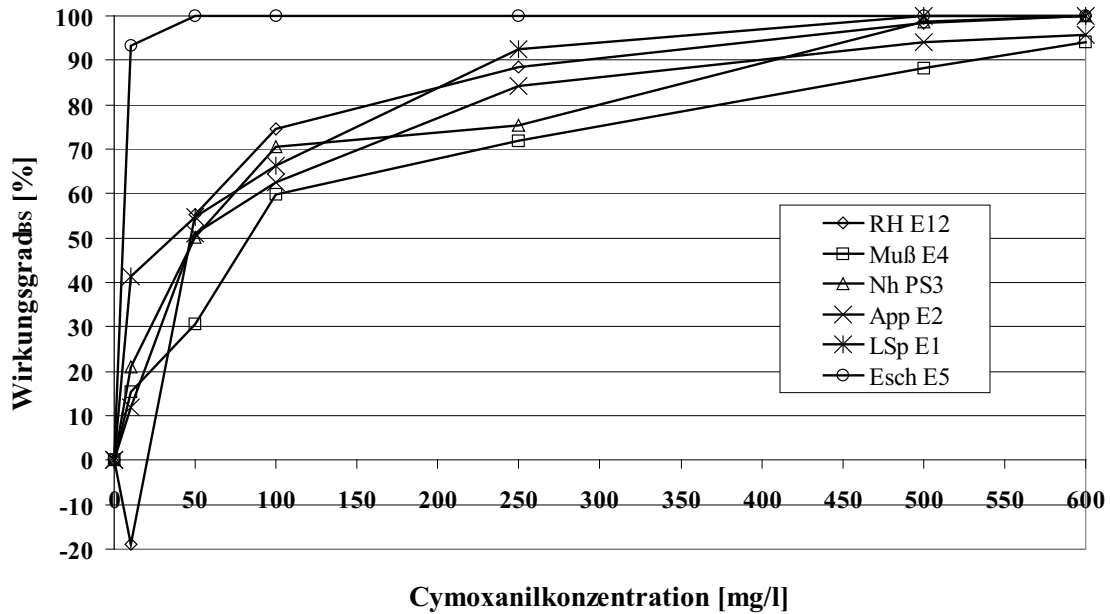


Abb. 9: Wirkung verschiedener Cymoxanilkonzentrationen auf die Befallsstärke von ausgewählten *Plasmopara*-Isolaten im Blattscheibentest

Mit der Annahme von Isolat Esch E5 als sensitivem Vergleichsisolat ließen sich aus den ermittelten Fungizidsensitivitäten Resistenzfaktoren berechnen (Tab. 13). Diese lagen zwischen 27,4 und 44,4 für die *Plasmopara*-Isolate mit hohen MHK-Werten. Sie bedeuten eine 27- bis 44-fach verringerte Cymoxanilsensitivität bei den untersuchten Isolaten gegenüber dem sensitiven Vergleichsisolat Esch E5.

Tab. 13: Resistenzfaktoren ausgewählter *Plasmopara*-Isolate

Isolat	RF _{EC50}
Esch E5	1
App E2	27,4
LSp E1	30,6
Muß E4	44,4
RH E12	42,7
Nh PS 3	37,9

RF_{EC50} = Resistenzfaktor auf der Basis der EC₅₀-Werte

3.3 Variabilität der Cymoxanilsensitivität von Einzelsporisolaten

Um mögliche Schwankungen in den Ergebnissen durch heterogene Populationen zu vermeiden, sollten für einige Versuche Einzelsporlinien verwendet werden. Von verschiedenen Isolaten wurden Einzelsporisolate hergestellt und die minimale Hemmkonzentration für Cymoxanil bestimmt. In diesen Versuchen sollte festgestellt werden, ob es eine Variabilität in der Cymoxanilsensitivität zwischen Einzelsporen eines Ursprungsisolates gibt. Die ermittelten Ergebnisse sind in Tabelle 14 dargestellt.

Tab. 14: MHK-Werte von Monosporangienisolaten

Nr.	Isolat	MHK [mg/l]	Nr.	Isolat	MHK [mg/l]	Nr.	Isolat	MHK [mg/l]
Rheinhessen								
1	RH E3	>500	2	RH E4	>500	3	RH E5	>500
4	RH E6	>500	5	RH E7	>500	6	RH E8	>500
7	RH E9	>500	8	RH E11	>500	9	RH E12	>500
10	RH E13	>500	11	RH E15	>500	12	RH E20	>500
13	RH E21	>500	14	RH E23	>500	15	RH E25	>500
Appenhofen								
16	App E2	>500	App 17	App E3	>500	18	App E7	>500
19	App E9	>500	App 20	App E10	>500	21	App E11	>500
22	App E14	>500	App 23	App E16	>500	24	App E17	>500
25	App E18	>500	App 26	App E20	>500	27	App E23	>500
Niederhorbach								
30	Nh E3	>500	31	Nh E5	>500	32	Nh E7	>500
33	Nh E9	>500	29	Nh E11	>500			
NW-Mußbach								
34	Muß E1	>500	35	Muß E2	>500	36	Muß E3	>500
37	Muß E4	>500						
St. Martin								
38	StM E2	>500	39	StM E4	>500	40	StM E5	>500
41	StM E6	>500						

Nr.	Isolat	MHK [mg/l]	Nr.	Isolat	MHK [mg/l]	Nr.	Isolat	MHK [mg/l]
Eschbach								
42	Esch E2	50	43	Esch E3	50	44	Esch E4	50
45	Esch E5	50	46	Esch E6	50	47	Esch E7	50
48	Esch E10	50	49	Esch E22	50	50	Esch E24	50
51	Esch E28	50						

App = Appenhofen; Esch = Eschbach; MHK = minimale Hemmkonzentration; Muß = Mußbach; Nh = Niederhorbach; Nr. = Isolatenummer; RH = Rheinhessen; StM = St. Martin

Insgesamt wurden Monosporangienisolate von sechs verschiedenen Ursprungsisolaten (einzelne Ölflecke) untersucht. Die bisher getesteten Einzelsporlinien wiesen keine Variabilität in der Cymoxanilsensitivität auf. Sie wichen auch nicht von den MHK-Werten ihrer Ausgangsisolate ab. Darüber hinaus wurden auch einige Monozoosporenisolate untersucht. Auch hier wurde keine Variabilität in der Cymoxanilsensitivität festgestellt. Aufgrund der besseren Anwachsrate bei der Erzeugung von Monosporangienisolaten und der besseren Handhabbarkeit wurde der größte Teil der Versuche mit Monosporangienisolaten durchgeführt.

3.4 Stabilität der Resistenz

Da die Vererbung an nachfolgende Generationen ein wichtiges Kriterium für eine Fungizidresistenz darstellt, wurde die Stabilität der Eigenschaft bei generativer (durch Oosporen) wie auch bei vegetativer (durch Sporangien) Fortpflanzung untersucht. Die Versuche zur Stabilität der Cymoxanilresistenz bei vegetativer Fortpflanzung wurde im Freiland durchgeführt.

3.4.1 Vererbung durch Oosporen

3.4.1.1 Oosporenkeimung

Die Versuche mit Oosporen dienten der Klärung, ob die Eigenschaft einer verringerten Sensitivität gegenüber Cymoxanil über die Oosporen auf die nächste Generation vererbt wird und so in der Population stabil verbleibt.

649 in Blattscheiben gebildete Oosporen wurden isoliert und zur Keimung auf Wasseragar ausgelegt. Davon bildeten 15 % ein gestieltes Primärsporangium aus (s. Abb. 10). Insgesamt

konnten von diesen 95 gekeimten Oosporen sechs Isolate auf Blattscheiben gewonnen werden. Aus Abbildung 11 geht der zeitliche Verlauf der Keimung hervor.

Bereits 24 h nach der Überführung der Oosporen auf Wasseragar wurden die ersten Primärsporangien ausgebildet. Das Keimungsmaximum konnte nach sechs Tagen festgestellt werden. Nach 10 Tagen wurden keine weiteren Primärsporangien mehr beobachtet.



Abb. 10: Oospore mit Primärsporangium

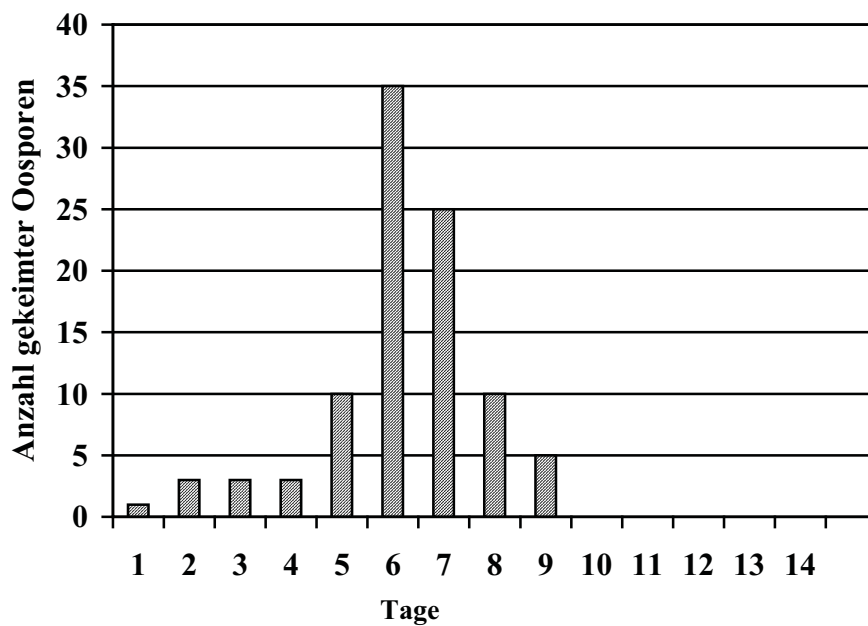


Abb. 11: Ausbildung von Primärsporangien in Abhängigkeit von der Zeit
(Herkunft Niederhorbach)

3.4.1.2 Cymoxanilsensitivität der Oosporenisolate

Die hergestellten Isolate wurden wie in Kap. 2.2.7.1 beschrieben auf ihre Cymoxanilsensitivität hin überprüft. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 15 dargestellt.

Die ermittelten Werte aller Oosporen-Isolate zeigten, dass die MHK-Werte der Ausgangspopulation und der daraus hervorgegangenen Tochtergeneration gleich bleiben. Damit konnte der Nachweis geführt werden, dass das Merkmal für Cymoxanilresistenz stabil vererbt wird, was als Grundvoraussetzung für Stabilität in der Erregerpopulation gilt.

Tab. 15: Minimale Hemmkonzentration (MHK) der aus Oosporen gewonnenen *Plasmopara*-Isolate

Isolat	MHK [mg/l]
Nh PS1	>500
Nh PS2	>500
Nh PS 3	>500
Nh PS 4	>500
Nh PS 5	>500
Nh PS 6	>500

3.4.2 Stabilität im Freiland bei vegetativer Vermehrung

Zur Überprüfung der Stabilität der Resistenz im Freiland wurden Triebe mit einem Isolat (Nh PS3), das einen hohen MHK-Wert aufwies, inokuliert und der Infektionserfolg kontrolliert. Von der zweiten Folgegeneration wurden von 13 verschiedenen Rebstöcken 40 einzelne Ölflecken entnommen, im Labor zur Sporulation gebracht und die MHK im Blattscheibentest bestimmt.

In Tabelle 16 sind die ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen der untersuchten Ölflecke dargestellt.

Tab. 16: MHK-Werte der 2. Freilandgeneration von Isolat Nh PS3

Nr.	Isolat	MHK [mg/l]	Nr.	Isolat	MHK [mg/l]
1	1 A	600	21	7 D	>600
2	1 B	600	22	7 E	600
3	1 C	600	23	7 F	>600
4	1 D	600	24	8 A	600
5	2 A	600	25	8 B	500
6	2 B	500	26	8 C	>600
7	2 C	600	27	8 D	600
8	2 D	>600	28	9 A	600
9	3 A	>600	29	9 B	500
10	3 B	600	30	9 C	>600
11	3 C	500	31	9 D	600
12	4 A	>600	32	10 A	600
13	5 A	>600	33	11 A	>600
14	5 B	600	34	11 B	500
15	5 C	>600	35	12 A	500
16	6 A	500	36	12 B	>600
17	6 B	>600	37	13 A	500
18	7 A	600	38	13 B	600
19	7 B	600	39	13 C	600
20	7 C	500	40	13 D	>600

Die ermittelten MHK-Werte schwankten zwischen 500 und >600 mg/l. Bei neun Ölflecken wurde eine minimale Hemmkonzentration von 500 mg/l, bei 18 Ölflecke von 600 mg/l festgestellt. Dreizehn Isolate wurden auch von 600 mg/l Cymoxanil nicht vollständig gehemmt.

Die meisten Isolate zeigten Übereinstimmung mit der MHK des Ausgangsisolates (>500 mg/l). Nur bei den neun Isolaten mit 500 mg/l konnte eine Verringerung der minimalen Hemmkonzentration gegenüber der Ausgangssensitivität festgestellt werden. Stichprobenweise wurde auch die MHK der ersten Generation im Freiland ermittelt. Sie lag zwischen 500 und 600 mg/l. Insgesamt zeigten die Ergebnisse, dass die Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität diese Eigenschaft auch im Freiland beibehalten und zumindest nach

zwei Generationen im Freiland ohne Probleme reisoliert werden konnten. Eine Resensibilisierung im Freiland fand während dieses Zeitraumes nicht statt.

3.5 Kurative Wirkung von Cymoxanil in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt

Der Einsatzzeitpunkt einer Spritzung ist von großer Bedeutung für den Erfolg bei der Bekämpfung von Pilzkrankheiten. Dies gilt insbesondere beim kurativen Einsatz von Fungiziden. Ist die Infektion zu weit fortgeschritten, ist die Bekämpfung meist unzureichend.

Um eine mögliche Beziehung zwischen Anwendungszeitpunkt und Wirkung cymoxanilhaltiger Fungizide bei kurativen Anwendungen herstellen zu können, wurden *Plasmopara*-Isolate mit unterschiedlicher Cymoxanilsensitivität im Blattscheibentest untersucht

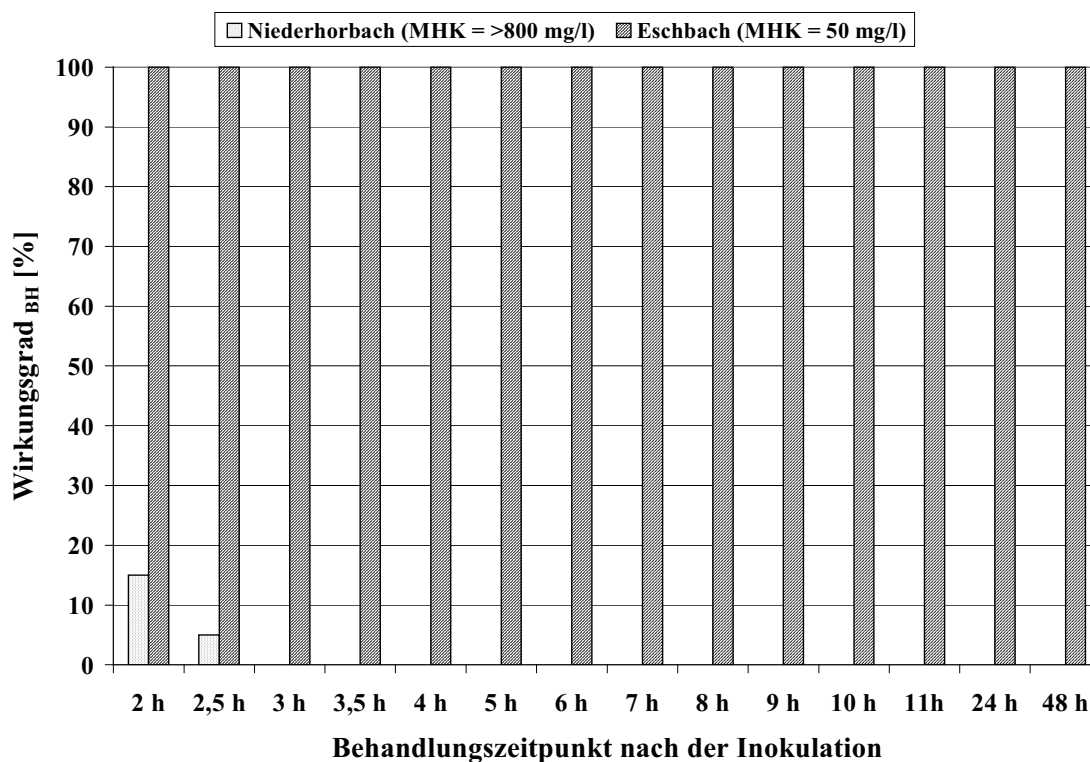


Abb. 12: Wirkungsgrad einer Cymoxanilbehandlung (125 mg/l) auf die Befallshäufigkeit (BH) von Blattscheiben durch *Plasmopara*-Isolate unterschiedlicher Sensitivität (Isolat Niederhorbach MHK > 800 mg/l; Isolat Eschbach MHK 50 mg/l) gegenüber Cymoxanil in Abhängigkeit vom Anwendungszeitpunkt nach der Inokulation

Bei dem Isolat aus Eschbach (MHK 50 mg/l) war die Wirkung zu jedem der geprüften Anwendungstermine gegeben (100 % WG). Bei dem Isolat aus Niederhorbach (MHK > 800 mg/l) hingegen konnte selbst nach einer Applikation von nur 2 h nach der Inokulation keine signifikante Wirkung auf die Befallshäufigkeit erzielt werden ($p \leq 0,05$). Die Befallshäufigkeit schwankte zwischen 85 % und 100 %, was einem Wirkungsgrad von 0 % bis 15 % entspricht (s. Abb. 12).

Die Befallsstärke schwankte zwischen 5,7 % und 36,5 %, was einem Wirkungsgrad zwischen 46,4 % und 86,6 % entspricht (s. Abb. 13). Die Cymoxanilanwendung zwei Stunden nach der Inokulation erreichte den besten Wirkungsgrad bei der Befallsstärke (WG = 86,6 %), während nach 24 h der schlechteste Wirkungsgrad ermittelt wurde (46,4 %).

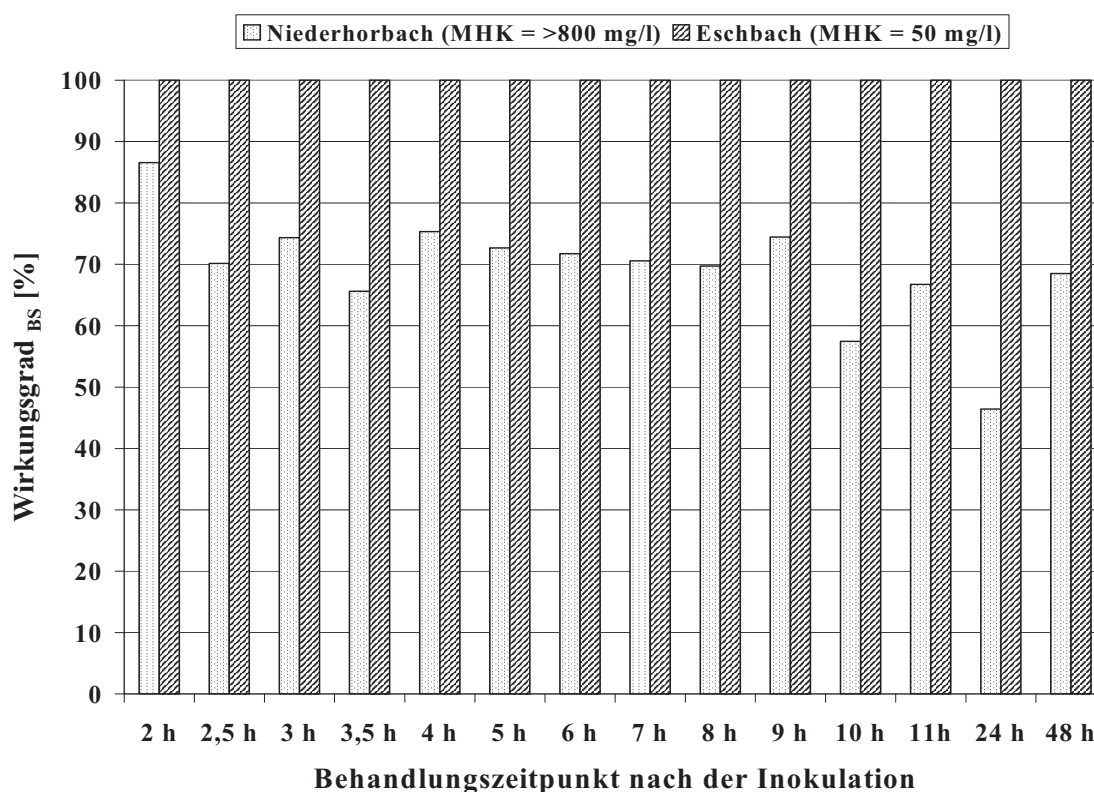


Abb. 13: Wirkungsgrad einer Cymoxanilbehandlung (125 mg/l) auf die Befallsstärke (BS) von Blattscheiben durch *Plasmopara*-Isolate unterschiedlicher Sensitivität (Isolat Niederhorbach MHK > 800 mg/l; Isolat Eschbach MHK 50 mg/l) gegenüber Cymoxanil in Abhängigkeit vom Anwendungszeitpunkt nach der Inokulation

Aus Abbildung 13 ist ersichtlich, dass die Wirkung des Cymoxanils zu keinem Applikationszeitpunkt nach der Inokulation im untersuchten Zeitraum negativ beeinträchtigt wird, wenn es gegen ein cymoxanilsensibles Isolat verwendet wurde. Bei einem



Abb. 14: Kurative Wirkung von Cymoxanil (125 mg/l) auf *Plasmopara*-Isolate mit unterschiedlicher Cymoxanilsensitivität (Isolat Niederhorbach MHK > 800 mg/l; Isolat Eschbach MHK 50 mg/l) zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Inokulation (8 h, 10 h, 24 h)

Isolat mit hoher minimaler Hemmkonzentration konnte zu keinem Zeitpunkt ein vollständiger Bekämpfungserfolg erreicht werden. Die dabei ermittelten Befallsstärken unterschieden sich dabei bis auf die Werte nach zwei und 24 h nicht signifikant voneinander ($p \leq 0,05$). Dies zeigt deutlich, dass der kurative Bekämpfungserfolg in erster Linie von der Empfindlichkeit des jeweiligen *Plasmopara*-Isolates gegenüber Cymoxanil und nicht vom Anwendungszeitpunkt abhängig ist. Auch in Abbildung 14, in der exemplarisch zu drei verschiedenen Applikationszeitpunkten das Ergebnis des Blattscheibentests dargestellt wurde, wird der Effekt des jeweiligen Isolates auf die Wirkung nochmals deutlich.

3.6 Freilandversuche

3.6.1 Kurative Bekämpfung eines *Plasmopara*-Isolates mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil

Da sich die Ergebnisse aus Labor- und Freilanduntersuchungen häufig unterscheiden, wurde das Verhalten von Isolaten mit verringerter Sensitivität im Freiland untersucht. Dazu wurden Triebspitzen einer Ertragsanlage 24 h nach der Inokulation mit Aktuan (Cymoxanil + Dithianon) und zum Vergleich mit Ridomil Gold Combi (Metalaxyl-M + Folpet) kurativ behandelt und der Blattbefall durch *P. viticola* bestimmt.

In Abbildung 16 sind die ermittelte Befallshäufigkeit, Befallsstärke und der Wirkungsgrad der beiden Fungizidbehandlungen sowie die Befallshäufigkeit und die Befallsstärke der unbehandelten Kontrolle dargestellt.

Die unbehandelte Kontrolle erreichte in diesem Versuch eine Befallshäufigkeit von 72,8 % und eine Befallsstärke von 15,9 %. Vergleicht man dazu die Ergebnisse der Cymoxanilvariante so wurden ähnliche Ergebnisse ermittelt (89,3 % bzw. 17,5 %). Sie lagen sogar noch leicht darüber. Insgesamt konnte festgestellt werden, dass die kurative Cymoxanilbehandlung keine Eindämmung des Befalls im Vergleich zur Kontrolle bewirkte. Demgegenüber erreichte Metalaxyl-M Wirkungsgrade von 82,8 % für die Befallshäufigkeit und 92,8 % für die Befallsstärke.

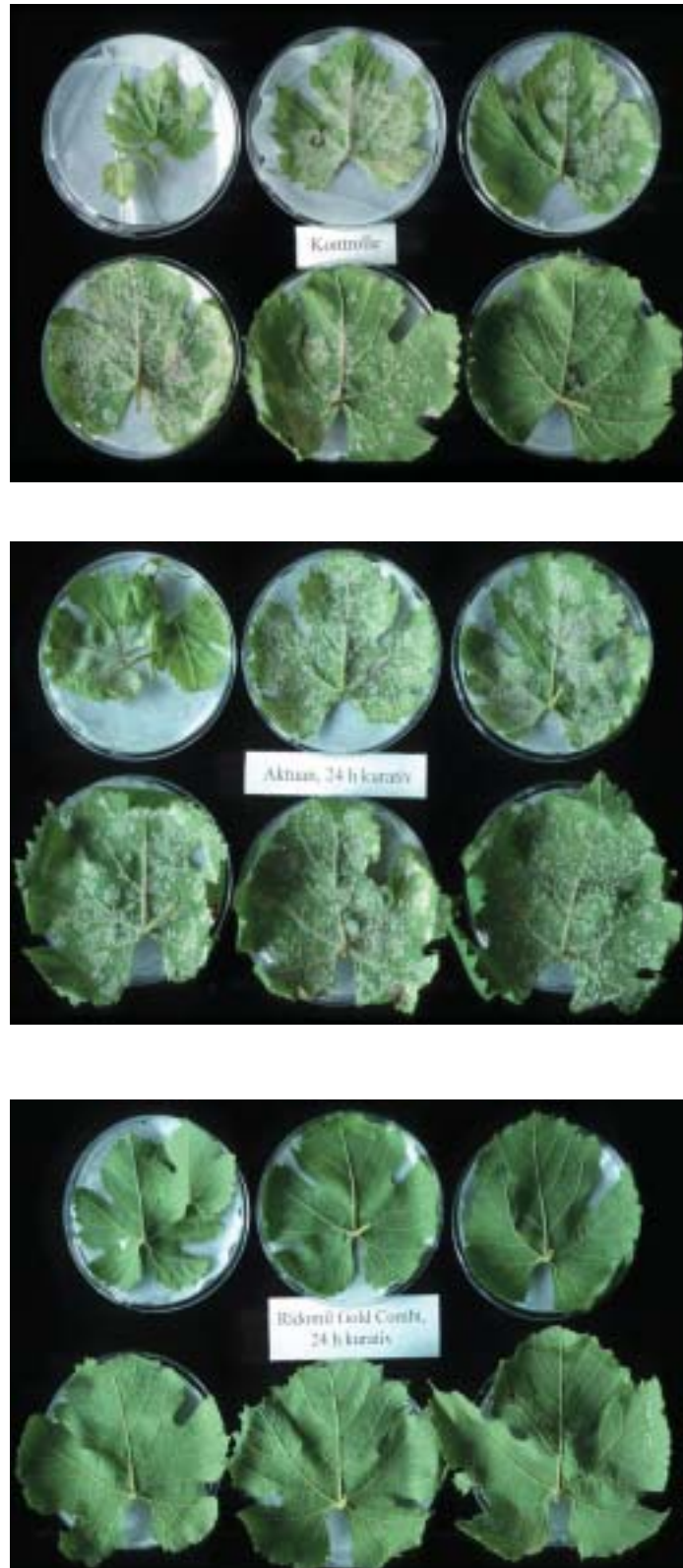


Abb. 15: Wirkung einer kurativen Aktuan- bzw. kurativen Ridomil Gold Combi-Behandlung auf ein *Plasmopara*-Isolat (Nh PS3) mit hoher minimaler Hemmkonzentration gegenüber Cymoxanil (MHK >500 mg/l) im Freiland nach artifizierter Inokulation

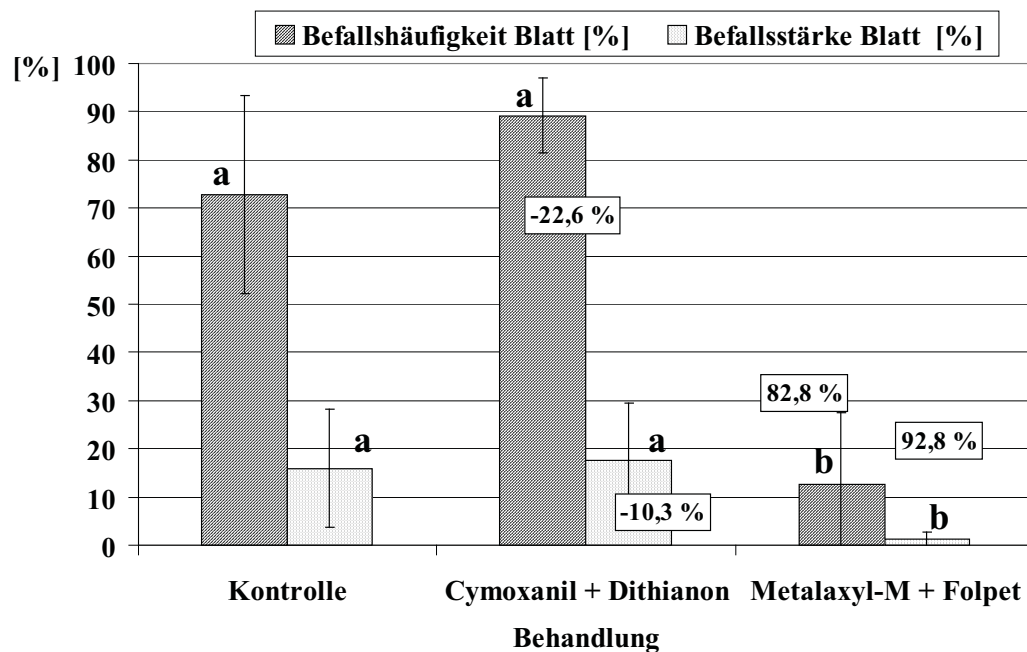


Abb. 16: Blattbefall durch ein *Plasmopara*-Isolate (Nh PS3) mit hoher minimaler Hemmkonzentration (MHK > 500 mg/l) gegenüber Cymoxanil nach kurativer Bekämpfung mit Cymoxanil und Metalaxyl-M im Freiland nach artifizierter Inokulation (n=10; Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung; Zahlen in Kästchen = Wirkungsgrad; Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant innerhalb eines Parameters; Tukey-Test $p \leq 0,05$)

3.6.2 Einsatz verschiedener Fungizide gegen *Plasmopara viticola* in einer Rebfläche mit Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität (Niederhorbach 1999)

In einer Rebfläche, in der bereits Bekämpfungsprobleme aufgetreten waren und in der *Plasmopara*-Isolate mit einer verringerten Cymoxanilsensitivität nachgewiesen werden konnten, wurde ein Versuch zur Wirkung verschiedener Fungizide bei protektiver und kurativer Anwendung angelegt.

Während des Behandlungszeitraumes wurden an den nachfolgend beschriebenen drei Terminen die Befallshäufigkeit und die Befallsstärke an den Trauben sowie die Befallshäufigkeit an den Blättern für die verschiedenen Fungizide ermittelt. In Kapitel 8.3 (Anhang Tab. 23-25) sind diese Werte tabellarisch und mit den jeweiligen Signifikanzen der statistischen Tests aufgeführt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf eine Darstellung der Signifikanzen in den Abbildungen verzichtet. In den Abbildungen 17 bis 19 wurden die Wirkungsgrade der Fungizide für die genannten Parameter dargestellt. Folgende Ergebnisse wurden ermittelt:

Bonitur am 17.7.1999:

Zum ersten Boniturtermin (ES 77) wurde in der unbehandelten Kontrolle am Blatt eine Befallshäufigkeit (BH) von 29,5 % ermittelt. Die Befallshäufigkeit bei den verschiedenen protektiven Fungizidvarianten unterschied sich in allen Fällen signifikant von der Kontrolle. Metalaxyl-M + Folpet erreichte den geringsten Befall mit einer BH von 0,69 %. Die übrigen Varianten wiesen Befallshäufigkeiten zwischen 3,31 % (Dimethomorph, DMM) und 7,5 % (Cymoxanil + Azoxystrobin) auf, die sich jedoch nicht signifikant voneinander unterschieden (Abb. 17a).

Die kurativen Varianten erreichten alle nur geringere Wirkungsgrade als bei protektiver Anwendung desselben Produktes. Auch hier wies die Variante Metalaxyl-M + Folpet den geringsten Blattbefall auf. Die Variante Cymoxanil + Dithianon erreichte bei 12,6 % BH lediglich einen Wirkungsgrad von 57,3 %, der sich jedoch signifikant von der Kontrolle unterschied (Abb. 17 b).

Die Befallshäufigkeit an den Trauben in der Kontrolle betrug 26,8 % und lag damit in einem vergleichbaren Bereich wie die Befallshäufigkeit an den Blättern. Für die verschiedenen Fungizidanwendungen ergaben sich an den Trauben fast durchweg bessere Wirkungen als an den Blättern. In den Varianten Metalaxyl-M + Folpet, Dithianon und Cymoxanil + Dithianon wurde völlige Befallsfreiheit bei vorbeugender Anwendung erzielt (Abb. 17a). Der Befall nach Cymoxanil + Azoxystrobin (BH 2,5 %) sowie nach Dimethomorph-Behandlung (3,25 %) unterschied sich nicht signifikant von den befallsfreien Varianten.

In den kurativen Varianten konnte lediglich Metalaxyl-M die Trauben vollkommen befallsfrei halten. Während die BH in den Varianten Cymoxanil + Azoxystrobin sowie DMM zwischen 4 % und 4,5 % betrug, lag sie bei Cymoxanil + Dithianon bereits viermal so hoch (16 %) und unterschied sich nicht mehr signifikant von der Kontrolle. Dies spiegelt sich auch im niedrigen Wirkungsgrad von nur 40,2 % wider (Abb. 17b).

Ein ähnliches Bild zeigte sich auch bei der Befallsstärke an den Trauben. Auch hier schnitt die kurative Variante von Cymoxanil + Dithianon mit einem Wirkungsgrad von 57,8 % am schlechtesten ab und unterschied sich nicht mehr von der unbehandelten Kontrolle. Bei den übrigen Varianten, die Traubenbefall aufwiesen, verlief die Befallsstärke auf einem niedrigen Niveau und zwar unabhängig davon, ob die Mittel protektiv oder kurativ angewendet wurden. Die Befallsstärken von Cymoxanil + Azoxystrobin sowie DMM lagen zwischen 0,91 % und 1,09 %.

Bonitur vom 4.8.1999:

Zum zweiten Boniturtermin (ES 79) konnte in der unbehandelten Kontrolle ein starker Anstieg des *Plasmopara*-Befalls festgestellt werden. Zu diesem Zeitpunkt zeigten bereits 80,5 % der Blätter und 64 % der Trauben Krankheitssymptome. Auch die Befallstärke an den Trauben nahm im Zeitraum zwischen den beiden Boniturterminen um etwa das Zweieinhalbfache zu (BS 24,3 %).

Beim Blattbefall konnten für die protektive Anwendung der Fungizide ähnliche Wirkungsgrade wie beim ersten Boniturtermin ermittelt werden (Abb. 18a). Lediglich für Cymoxanil + Azoxystrobin nahm der Blattbefall etwas geringer zu. Bei kurativer Anwendung wurde aufgrund der großen Befallszunahme in der Kontrolle für alle Produkte ein starker Anstieg der Wirkungsgrade verzeichnet. Insgesamt nahm der Befall jedoch in allen Varianten, ausgenommen Metalaxyl-M + Folpet, absolut zwischen 2,9 % (DMM) und 6,1 % (Cymoxanil + Dithianon) zu (Abb. 18b).

Die Wirkungsgrade für den Traubenbefall bei vorbeugender Anwendung veränderten sich im Vergleich zur ersten Bonitur nur gering. Auch hier konnte in allen Varianten eine Zunahme der Befallshäufigkeit sowie der Befallsstärke festgestellt werden. Insgesamt verläuft die BS immer noch auf niedrigem Niveau (Abb. 18a).

Bei kurativer Anwendung betrug die Zunahme der BH zwischen 0,5 % (Metalaxyl-M + Folpet) und 8,75 % (Cymoxanil + Dithianon). Bei der Befallsstärke wurde für Cymoxanil + Dithianon bereits ein Wert von 9,7 % ermittelt. Die daraus resultierenden Wirkungsgrade (61,3 % BH; 60 % BS) bleiben trotz Steigerung gegenüber der ersten Bonitur ungenügend. Die übrigen Befallsstärken bleiben auf geringem Niveau und unterscheiden sich nicht signifikant.

Bonitur vom 15.9.1999:

Die dritte Bonitur (ES 89) erfolgte vier Wochen nach der letzten Fungizidapplikation. Die Befallshäufigkeit am Blatt belief sich zu diesem Zeitpunkt in der unbehandelten Kontrolle auf 92,3 %. An den Trauben wurde eine Befallshäufigkeit von 84,8 % und eine Befallsstärke von 46,6 % ermittelt.

Bei der Befallshäufigkeit an den Blättern lagen die Wirkungsgrade bei protektiver Anwendung zwischen 83,5 % (Cymoxanil + Azoxystrobin) und 93,7 % (Metalaxyl-M + Folpet). Während bei allen anderen Varianten der Befall gering zunahm, konnte beim Dithianon eine Verringerung zur vorherigen Bonitur festgestellt werden (Abb. 19a). Bei den

kurativen Anwendungen veränderte sich der Befall nur noch wenig. Metalaxyl-M erreichte erneut den geringsten Blattbefall mit 5,25 % BH.

In den protektiven Varianten bewegten sich die Wirkungsgrade an Trauben sowohl für die Befallshäufigkeit (WG = 90 % - 99,7 %) als auch die Befallsstärke (WG = 95 % - 99,9 %) auf hohem Niveau und veränderten sich nur noch gering gegenüber der vorherigen Bonitur (Abb. 19a).

Bei allen kurativen Varianten kam es zum dritten Boniturtermin zu einer Verbesserung der Wirkungsgrade. Sie variierten zwischen 76,4 % (Cymoxanil + Dithianon) und 100 % (Metalaxyl-M + Folpet) für die Befallshäufigkeit sowie 81,7 % (Cymoxanil + Dithianon) und 100 % (Metalaxyl-M + Folpet) für die Befallsstärke. Die Befallshäufigkeiten und Befallsstärken gingen im Vergleich zur vorherigen Bonitur absolut ebenfalls zurück (Abb. 19b).

Die Steigerungen bei den Wirkungsgraden waren vor allem auf die erneuten Befallszunahmen in der Kontrolle zurückzuführen. Bei den späteren Boniturterminen konnte außerdem festgestellt werden, dass Befallssymptome, die in der frühen Phase des Versuches entstanden waren, zum Teil nicht mehr beobachtet werden konnten, da befallene Beeren und Traubenäste in der Zwischenzeit stark zusammengetrocknet waren und abfielen. Der Hauptteil des Befallsrückgangs vor allem bei den kurativen Varianten lässt sich damit sicherlich erklären. Auch durch Laubschnittarbeiten waren Veränderungen vor allem beim Blattbefall möglich.

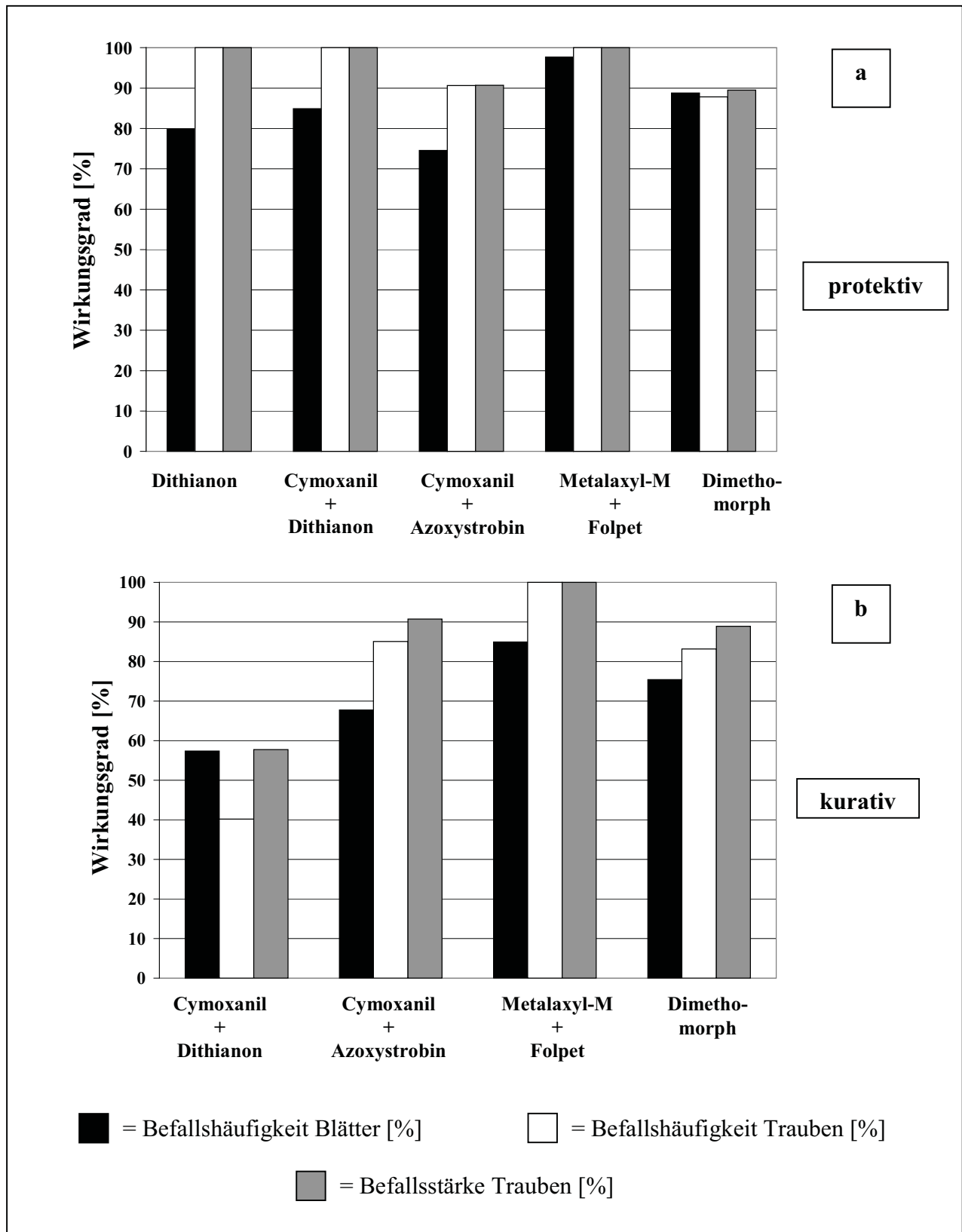


Abb. 17: Wirkungsgrad verschiedener Fungizide gegen *Plasmopara viticola* in einer Rebfläche in Niederhorbach bei protektiver (Abb. 17a) und kurativer Applikation (Abb. 17b) (Bonitur 17.07.1999, ES 77; Kontrolle: $BH_{\text{Blatt}} = 29,5\%$, $BH_{\text{Trauben}} = 26,8\%$, $BS_{\text{Trauben}} = 9,8\%$; für absolute Befallswerte und Signifikanzen s. Tab 23, Anhang)

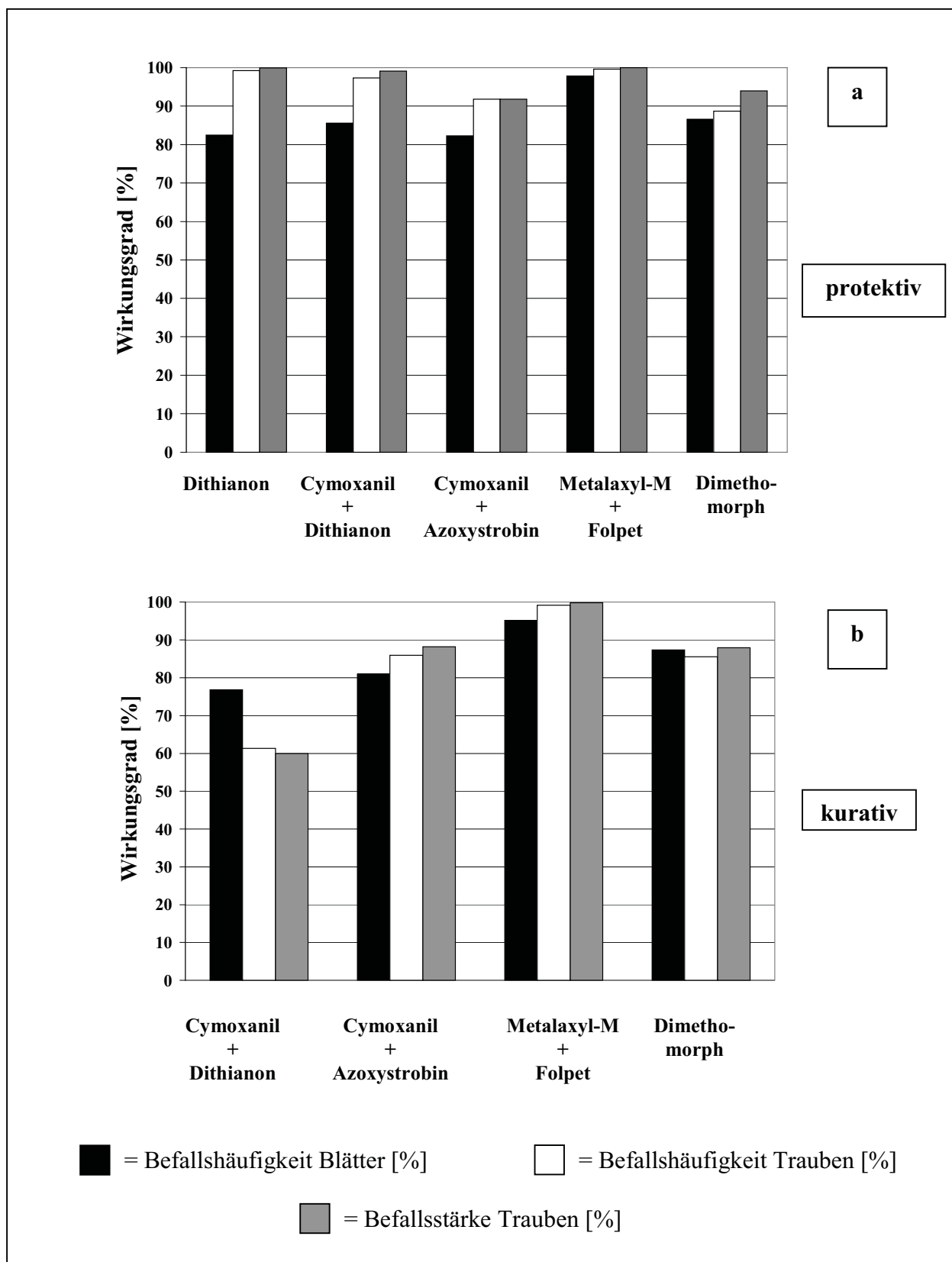


Abb. 18: Wirkungsgrad verschiedener Fungizide gegen *Plasmopara viticola* in einer Rebfläche in Niederhorbach bei protektiver (Abb. 18a) und kurativer Applikation (Abb. 18b) (Bonitur 4.8.1999, ES 79; Kontrolle: $BH_{\text{Blatt}} = 80,5\%$, $BH_{\text{Trauben}} = 64\%$, $BS_{\text{Trauben}} = 24,3\%$; für absolute Befallswerte und Signifikanzen s. Tab 24, Anhang)

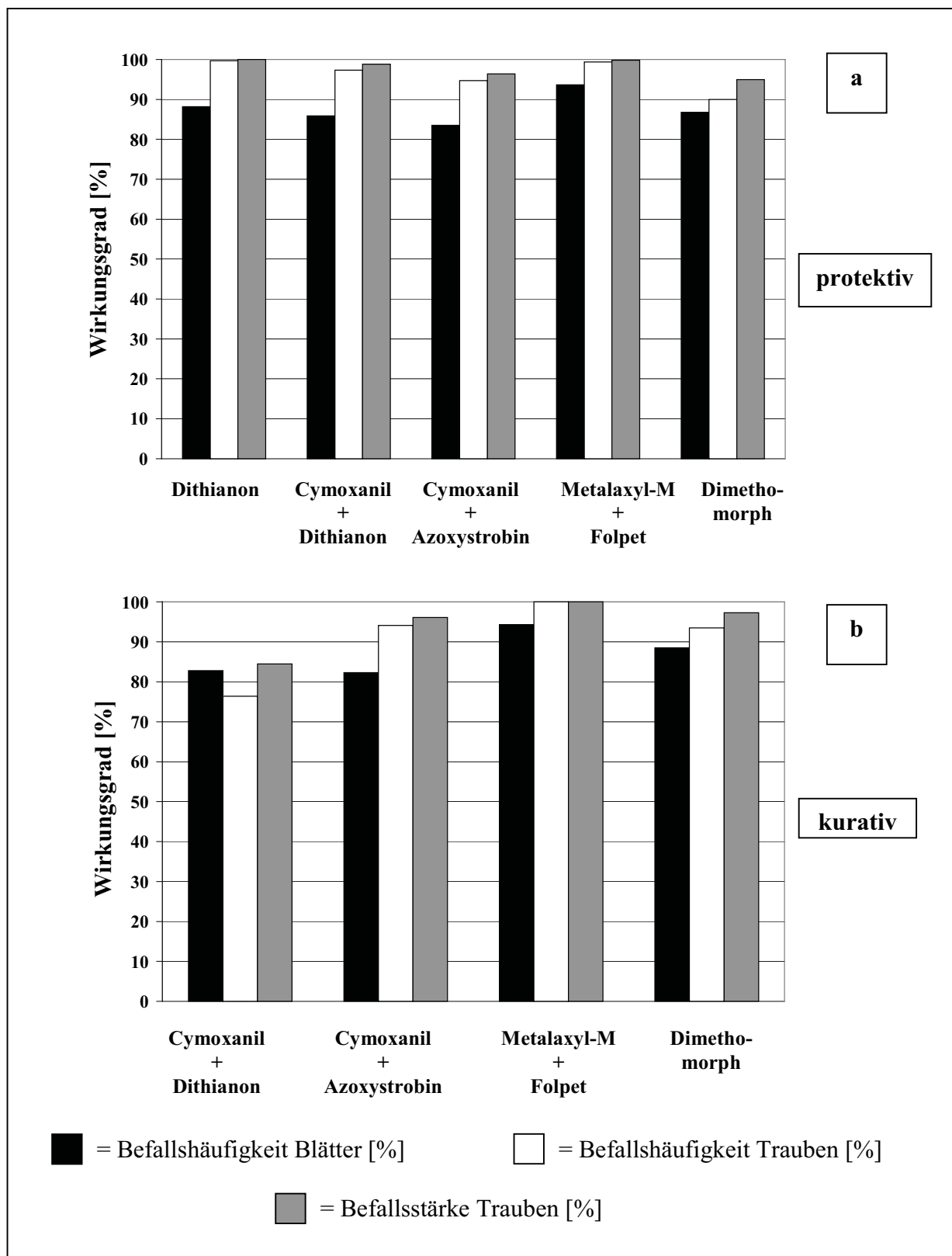


Abb. 19: Wirkungsgrad verschiedener Fungizide gegen *Plasmopara viticola* in einer Rebfläche in Niederhorbach bei protektiver (Abb. 19a) und kurativer Applikation (Abb. 19b) (Bonitur 15.09.1999, ES 89; Kontrolle: $BH_{\text{Blatt}} = 92,25\%$, $BH_{\text{Trauben}} = 84,75\%$, $BS_{\text{Trauben}} = 46,55\%$; für absolute Befallswerte und Signifikanzen s. Tab 25, Anhang)

3.6.3 Ermittlung der Häufigkeit des Auftretens verschiedener Sensivitätstypen in der Versuchsfläche Niederhorbach (1999)

Aufgrund der beschriebenen Ergebnisse (Kap. 3.6.2) war es von besonderem Interesse festzustellen, wie hoch der Anteil von Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität in der Population in dieser Versuchsfläche war. Dazu wurden während des Freilandversuches aus den unbehandelten Kontrollparzellen (A-D) einzelne Ölflecke entnommen und die davon gewonnenen Isolate auf die minimale Hemmkonzentration getestet. In Tabelle 17 sind die ermittelten MHK-Werte zusammengestellt.

Tab. 17: MHK-Werte von *Plasmopara*-Isolaten (einzelne Ölflecke) aus den Kontrollparzellen des Freilandversuches Niederhorbach (1999)

Nr.	Isolat	MHK [mg/l]	Nr.	Isolat	MHK [mg/l]
1	A1	>800	21	C7	500
2	A2	800	22	C8	800
3	A3	800	23	D1	500
4	A4	>800	24	D2	500
5	A5	500	25	D3	500
6	A6	500	26	D4	600
7	B1	600	27	D5	600
8	B2	>800	28	D6	800
9	B3	500	29	D7	250
10	B4	600	30	D8	800
11	B5	600	31	D9	>800
12	B6	>800	32	D10	500
13	B7	500	33	D11	250
14	B8	>800	34	D12	250
15	C1	50	35	D13	500
16	C2	800	36	D14	500
17	C3	800	37	D15	500
18	C4	800	38	D16	500
19	C5	800	39	D17	600
20	C6	800	40	D18	800

Insgesamt wurden 40 Ölflecke untersucht. Die ermittelten MHK-Werte lagen dabei zwischen 50 und >800 mg/l. Ein Anteil von 92,5 % der Isolate erreichte einen Wert über 250 mg/l. Dies bedeutet, dass sich die *Plasmopara*-Population am Versuchsstandort Niederhorbach zum vorliegenden Zeitpunkt in erster Linie aus Isolaten mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil zusammensetzte.

3.7 Prüfung nicht-cymoxanilhaltiger Fungizide gegen *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität

Zur Prüfung von Bekämpfungsalternativen wurden mehrere nicht-cymoxanilhaltige Fungizide in ihrer Wirkung auf sechs ausgewählte *Plasmopara*-Isolate (s. Kap. 3.2) im Topfpflanzentest in protektiver (24 h vor der Inokulation) wie auch kurativer (24 h nach der Inokulation) Anwendung untersucht. Die ermittelten Wirkungsgrade für Befallshäufigkeit und Befallsstärke der verschiedenen Fungizid-Isolat-Kombinationen sind in Tabelle 18 dargestellt.

Tab. 18: Wirkung verschiedener Fungizide auf die Befallshäufigkeit und die Befallsstärke ausgewählter *Plasmopara*-Isolaten an Topfreben

Wirkungsgrade verschiedener Fungizide [%]												
Fungizide	<i>Plasmopara</i> -Isolate											
	Esch E5		App E2		Muß E4		Nh PS3		LSp E1		RH E12	
<i>Protektiv</i>	WG _{BH}	WG _{BS}	WG _{BH}	WG _{BS}	WG _{BH}	WG _{BS}	WG _{BH}	WG _{BS}	WG _{BH}	WG _{BS}	WG _{BH}	WG _{BS}
Delan	70,3 b	97,4 b	54,5 b	94 b	77,7 b	96 b	75,8 b	98,1 b	78,2 b	96,7 c	99,2 b	99,9 b
Quadris	100 c	100 c	100 d	100 c	99,1 c	99,9 b	75,4 b	98,1 b	98,5 c	99,8 c	100 b	100 b
Forum	100 c	100 c	100 d	100 c	100 c	100 b	98,5 c	99,9 b	98,9 c	99,9 c	100 b	100 b
RGC	100 c	100 c	100 d	100 c	100 c	100 b	100 c	100 b	100 c	100 c	100 b	100 b
<i>Kurativ</i>												
Forum	73,7 b	98,6 b	93,6 c	99,6 c	93,4 c	99,3 b	60,1 b	95,2 b	89,7 c	98,9 c	95,4 b	99,4 b
RGC	100 c	100 c	100 d	100 c	100 c	100 b	100 c	100 b	5,7 a	66,9 b	100 b	100 b

BH = Befallshäufigkeit; BS = Befallsstärke; RGC = Ridomil Gold Combi; WG = Wirkungsgrad (Werte mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant innerhalb einer Spalte $p \leq 0,05$)

Die ermittelten Wirkungsgrade für die Befallshäufigkeit lagen zwischen 5,7 und 100 %. Der Wirkungsgrad bei der Befallsstärke schwankte zwischen 66,9 und 100 %. Außer beim Isolat LSp E1 unterschieden sich die durch die verschiedenen Fungizide hervorgerufenen Befallshäufigkeiten und Befallsstärken signifikant von den Werten der Kontrollen.

Während die Wirkungsgrade bei der Befallshäufigkeit mit dem reinen Kontaktmittel Delan SC 750 erwartungsgemäß etwas schwächer ausfielen, erreichten die übrigen protektiv angewendeten Präparate in der Regel gute Wirkungsgrade von über 98 %. Lediglich beim Isolat Nh PS3 ergab sich für das Fungizid Quadris ein geringerer Wirkungsgrad für die Befallshäufigkeit (75,4 %). Allerdings bedeckten in diesem Fall die ermittelten Befallstellen nur einen sehr geringen Anteil der Blattfläche, was durch den Wirkungsgrad der Befallsstärke (98,1 %) deutlich wird. Bei der Befallsstärke erreichten alle Fungizide bei protektiver Anwendung mindestens 94 % Wirkungsgrad, Fungizide mit systemischen oder teilsystemischen Eigenschaften sogar über 98 %.

Bei den Ergebnissen der kurativen Anwendung schwankten die Wirkungsgrade bei Forum zwischen 60,1 und 95,4 %. Allerdings verlief auch hier der Befall auf nur sehr niedrigem Niveau (WG_{BS} : 95,2 bis 99,6 %), während die Kontrollen durchgehend gut bewachsen waren (35 % BS im Durchschnitt der Isolate). Auf den behandelten Blättern konnten nur einzelne Sporangienbüschel beobachtet werden, so dass sie alle in die Boniturklasse 2 eingeordnet wurden. Lediglich bei Isolat Nh PS3 wurden wenige Blätter in die Schadensklasse 3 eingeordnet. Ridomil Gold Combi verhinderte bei kurativer Anwendung, bis auf Isolat LSp E1, jeglichen Befall bei den übrigen *Plasmopara*-Isolaten. Bei Isolat LSp E1 fielen die Wirkungsgrade sowohl für die Befallshäufigkeit als auch für die Befallsstärke sehr stark ab. Die Befallshäufigkeit unterschied sich nicht mehr signifikant von der Kontrolle ($p \leq 0,05$). Dieses Ergebnis deutet neben einer verringerten Cymoxanilsensitivität auf das Vorhandensein einer Metalaxylresistenz bei dem Isolat LSp E1 hin.

3.8 Verhalten von Mischpopulationen resistenter und sensitiver *Plasmopara*-Isolate

3.8.1 Schadensausprägung

Mit definierten Mischungen eines resistenten und eines sensitiven Monosporangienisolates wurde sowohl die protektive als auch kurative Wirkung von Aktuan im Topfpflanzentest untersucht. Es sollte festgestellt werden, ob mit steigendem Anteil resistenter Individuen in den Mischungen der Bekämpfungserfolg mit einem cymoxanilhaltigen Fungizid beeinflusst wird.

3.8.1.1 Protektive Behandlung mit Aktuan

Die protektive Wirkung von Aktuan auf die Befallshäufigkeit und die Befallsstärke der Ausgangsisolate und der verschiedenen Mischungen und wurde in Tabelle 19 dargestellt.

Tab. 19 : Protektive Wirkung von Aktuan auf die Befallshäufigkeit und die Befallsstärke von *Plasmopara*-Mischungen mit steigendem resistenten Anteil (0,1 % bis 25 %) sowie der Ausgangsisolate (App E2, Esch E5)

Mischung	WG _{Befallshäufigkeit} [%]	WG _{Befallsstärke} [%]
0,1 % Res.	100	100
1 % Res.	100	100
5 % Res.	100	100
10 % Res.	100	100
25 % Res.	100	100
Ausgangsisolate		
Esch E5 (sensitiv)	100	100
App E2 (resistent)	100	100

Res. = Anteil des resistenten Isolates an der Mischung; WG = Wirkungsgrad

Bei allen untersuchten Mischungen sowie den Ausgangsisolaten wurden keine *Plasmopara*-Infektionen an den behandelten Topfreben festgestellt. Das entspricht einem Wirkungsgrad von jeweils 100 %. Die Schadensausprägung wurde durch einen steigenden Anteil von Isolat App E2 in den Mischungen nicht beeinflusst.

3.8.1.2 Kurative Behandlung mit Aktuan

In diesem Versuch wurden dieselben Mischungen wie in Kapitel 3.8.1.1 untersucht. Allerdings erfolgte die Fungizidapplikation erst 24 Stunden nach der Inokulation. In den Abbildungen 20 und 21 ist der Einfluss des steigenden Anteils des resistenten Isolates (App E2) auf die Wirkung der Fungizidbehandlung dargestellt.

Sowohl in Bezug auf die Befallshäufigkeit als auch auf die Befallsstärke nimmt der Wirkungsgrad der kurativen Aktuan-Anwendung (Cymoxanil + Dithianon) auf den Blattbefall mit steigendem Anteil von Isolat App E2 an der Mischung ab, was eine Zunahme des Blattschadens bedeutet. Dieser Verlauf ist bei der Befallshäufigkeit noch ausgeprägter als bei der Befallsstärke. Der Verlauf der Kurven in den Abbildungen 20 und 21 weist deutlich

eine negative Korrelation zwischen dem Anteil resistenter Individuen an der Mischung und der Wirkung einer kurativen Cymoxanilanwendung auf.

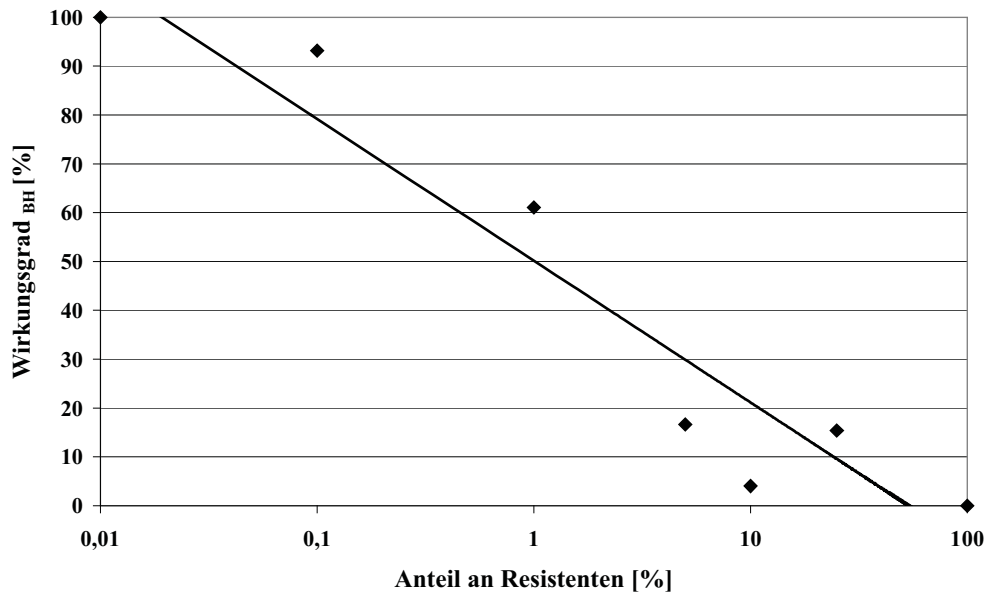


Abb. 20: Wirkungsgrad nach kurativer Aktuan-Anwendung auf die Befallshäufigkeit (BH) in Abhängigkeit vom Anteil des *Plasmopara*-Isolats App E2 an der Mischung

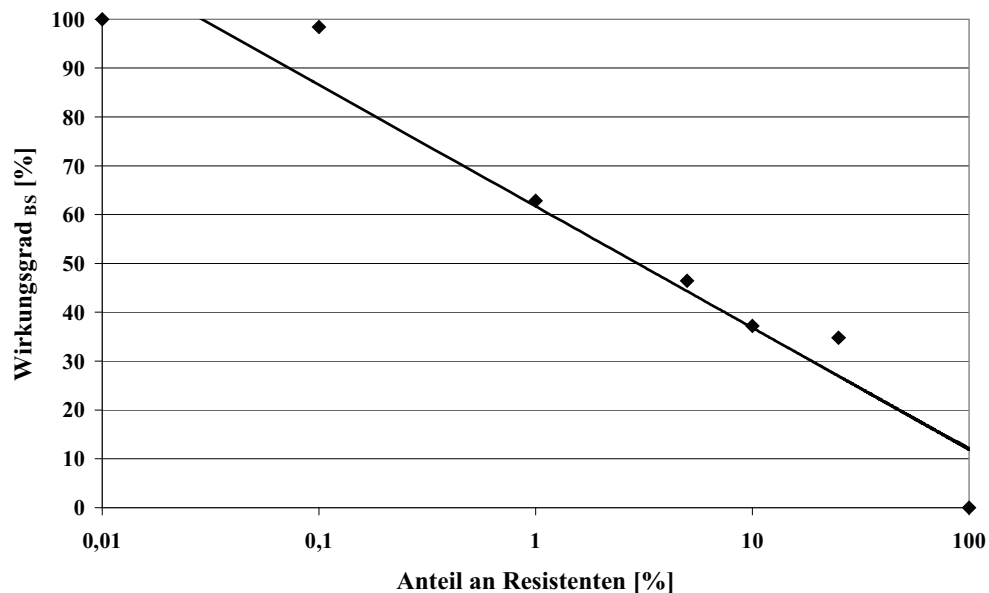


Abb. 21: Wirkungsgrad nach kurativer Aktuan-Anwendung auf die Befallsstärke (BS) in Abhängigkeit vom Anteil des *Plasmopara*-Isolats App E2 an der Mischung

Bei den Mischungen mit einem Anteil von 0,1 % und 1 % des resistenten Ausgangsisolates sowie dem sensitiven Ausgangsisolates konnten noch signifikante Unterschiede in der Befallshäufigkeit sowie der Befallsstärke durch die kurative Aktuan-Behandlung gegenüber der unbehandelten Kontrolle festgestellt werden ($p \leq 0,05$). Ab einem Anteil von 5 % des resistenten Ausgangsisolates an der Mischung und darüber war dies nicht mehr der Fall.

3.8.2 Sensitivitätsentwicklung der Mischungen unter Selektionsdruck

Der Versuch wurde unter Verwendung desselben Inokulums parallel mit der Ermittlung der Schadensausprägung der Mischungen durchgeführt.

Um das Verhalten von resistenten und sensitiven Isolaten unter Selektionsdruck zu beobachten, wurde die Sensitivität der Mischungen gegenüber Cymoxanil zu Versuchsbeginn und nach einer kurativen Behandlung mit Aktuan im Blattscheibentest bestimmt. In Tabelle 20 sind die Werte für die minimale Hemmkonzentration der verschiedenen Mischungen vor Versuchsbeginn und nach der kurativen Aktuan-Behandlung aufgeführt.

Tab. 20: Minimale Hemmkonzentration von *Plasmopara*-Mischungen für Cymoxanil vor und nach einer kurativen Aktuan-Behandlung

Isolat/Mischung	MHK [mg/l] vor Versuchsbeginn	MHK [mg/l] nach kurativer Behandlung
Esch E5 (sensitiv)	50	k. Inok.
0,1 % Res.	50	250
1 % Res.	250	500
5 % Res.	500	500
10 % Res.	500	600
25 % Res.	500	600
App E2 (resistent)	500	500

Res. = Anteil des resistenten Isolates an der Mischung; k. Inok. = kein Inokulum

Wie aus Tabelle 20 ersichtlich, weisen die Ausgangsmischungen vor Versuchsbeginn MHK-Werte zwischen 50 und 500 mg/l auf. Die Mischung 0,1 % weist dieselbe minimale Hemmkonzentration auf wie das sensitive Ausgangsisolat (Esch E5). Ab einem Anteil von 5 % resistenter Individuen unterscheidet sich die minimale Hemmkonzentration nicht mehr vom Wert des resistenten Ausgangsisolates.

Nach einer kurativen Anwendung von Aktuan nimmt die MHK bei den Mischungen mit 0,1 % und 1 % zu (Tab. 20). Bei den übrigen Mischungen und dem resistenten Ausgangsisolat App E2 hat die Behandlung keinen Einfluss auf die minimale Hemmkonzentration. Sie verläuft wie bei Versuchsbeginn weiterhin auf hohem Niveau.

Die kurative Fungizidapplikation führte somit zu einer Erhöhung des Resistenzniveaus bei den beiden Mischungen mit geringem resistenten Anteil. Beim Isolat Esch E5 konnten erwartungsgemäß keine Sporangien für einen Test nach der Spritzung gewonnen werden.

Die sich aufgrund der MHK-Veränderungen ergebenden Sensitivitätsverschiebungen werden auch durch die Verläufe der Dosis-Wirkungskurven bestätigt (Abb. 22 und 23). Zu Versuchsbeginn zeigten die Dosis-Wirkungskurven eine klare Reihenfolge in Abhängigkeit ihres Anteils resistenter Individuen (Abb. 22a bzw. Abb. 23 a). Je höher der Anteil des resistenten Ausgangsisolates an der Mischung, desto flacher wurde der Kurvenverlauf. Sowohl bei der Befallshäufigkeit (Abb. 22b) als auch bei der Befallsstärke (Abb. 23b) kommt es durch die kurative Fungizidapplikation zu einer Verschiebung des Verlaufs der Dosis-Wirkungskurven in Richtung eines Wirkungsverlustes. Dies wird aus der starken Annäherung der Verläufe der verschiedenen Dosis-Wirkungskurven mit dem Verlauf des resistenten Ausgangsisolates (App E2) deutlich (Abb. 23b).

Um diese Entwicklung zu verdeutlichen und übersichtlicher zu gestalten, wurden für jede Mischung und die beiden Ausgangsisolate App E2 und Esch E5 die Ergebnisse der Sensitivitätsuntersuchungen einzeln in Abbildung 24 (a-g) dargestellt. In den Abbildungen erkennt man den Sensitivitätsverlauf zu Versuchsbeginn (Test 1) sowie nach einer Generation mit (Test 2-1) und ohne Selektionsdruck (Test 2-2). Während sich der Verlauf der Dosis-Wirkungskurve ohne Selektionsdruck (Test 2-2) kaum von dem zu Versuchsbeginn (Test 1) unterscheiden lässt, ist die Veränderung des Sensitivitätsverlaufs unter Selektionsdruck (Test 2-1) durch Cymoxanil für alle Mischungen deutlich zu erkennen (Abb. 24 a-g). Lediglich beim sensitiven Ausgangsisolat konnten für den Test nach Einwirkung des Fungizides erwartungsgemäß keine Sporangien gewonnen werden.

Insgesamt kann sowohl aus dem Verlauf der Dosis-Wirkungskurven als auch aus den Veränderungen der minimalen Hemmkonzentrationen eine Erhöhung des Resistenzniveaus durch die kurative Aktuan-Behandlung und damit durch die Wirkung des Cymoxanils belegt werden.

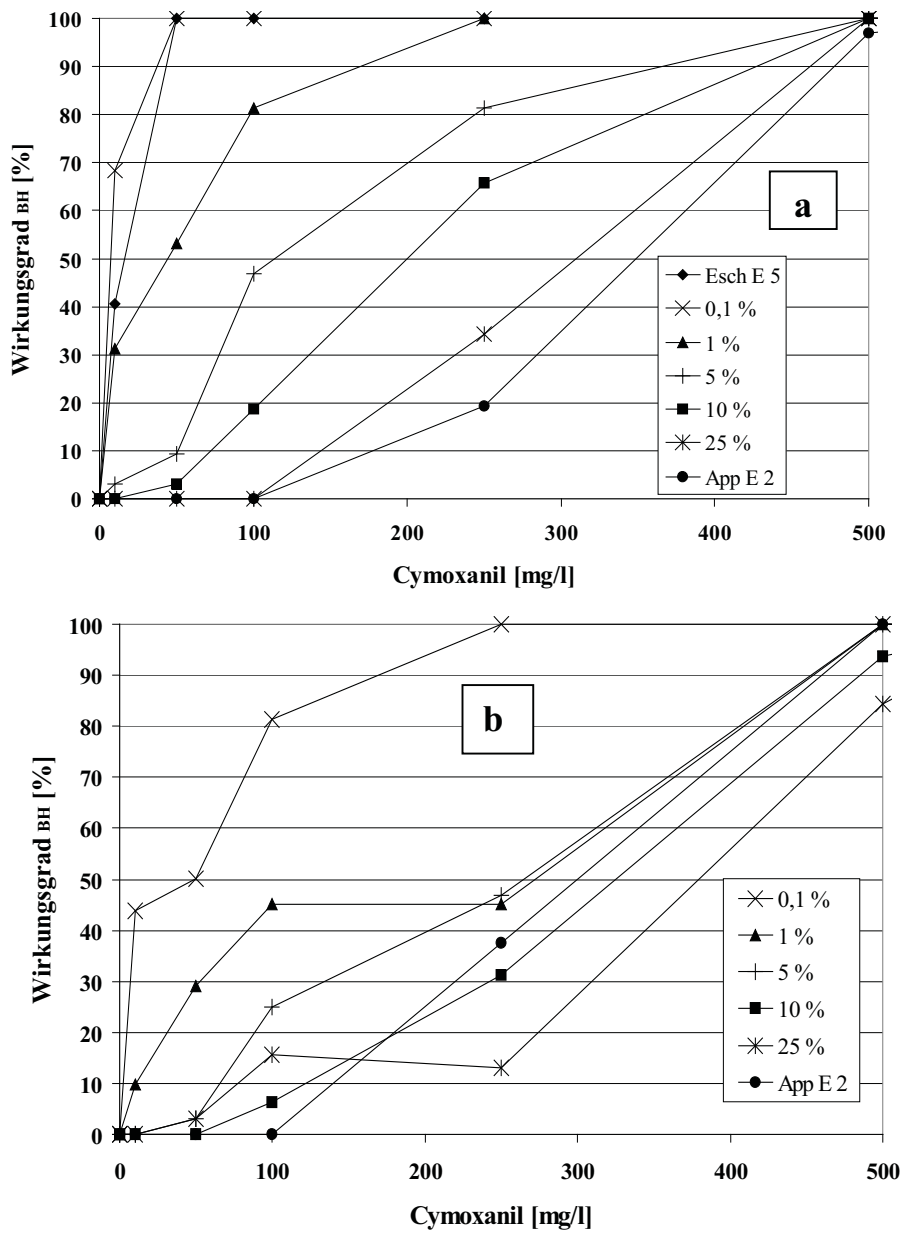


Abb. 22: Wirkungsgrad verschiedener Cymoxanilkonzentrationen auf die Befallshäufigkeit verursacht durch *Plasmopara*-Mischungen mit steigendem Anteil resistenter Isolate sowie die Ausgangsisolate Esch E5 und App E2 im Blattscheibentest (Abb. 22a: Sensitivitätsverlauf zu Versuchsbeginn; Abb. 22b: Sensitivitätsverlauf nach Cymoxanilbehandlung)

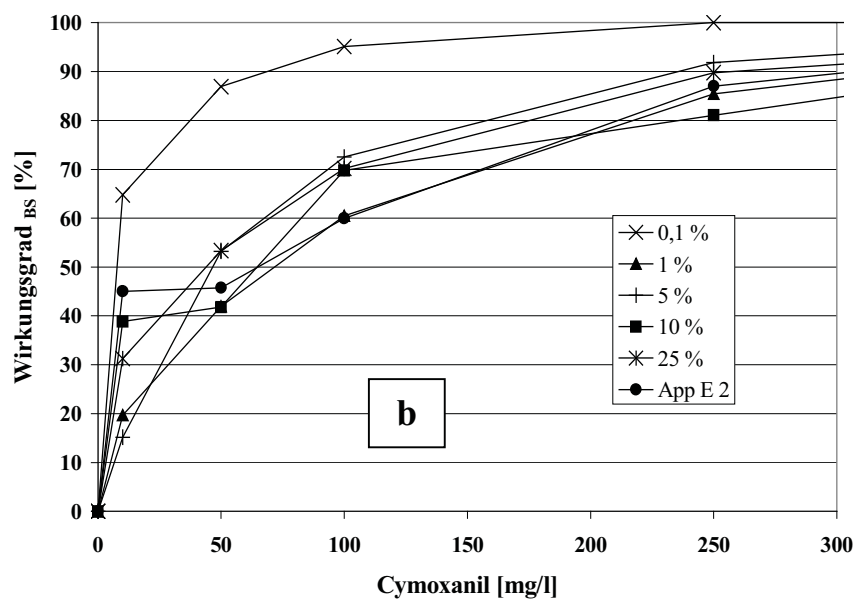
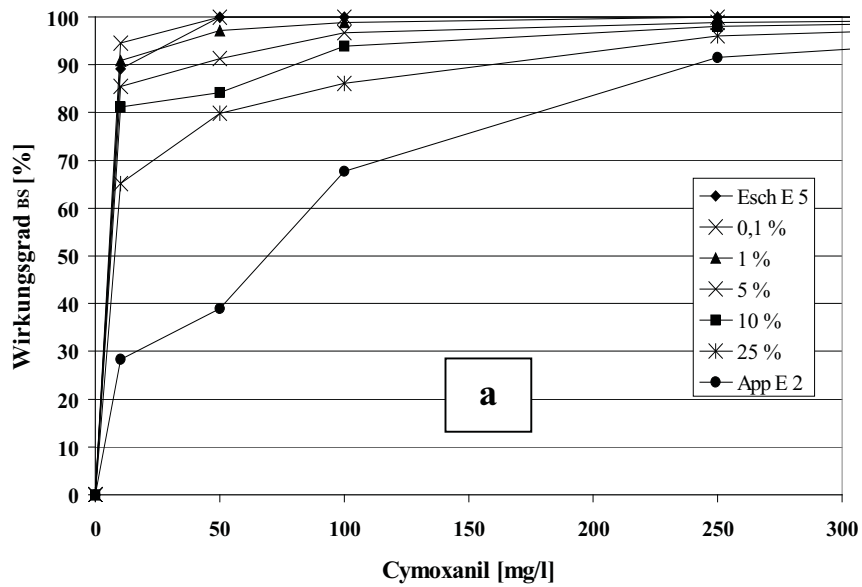
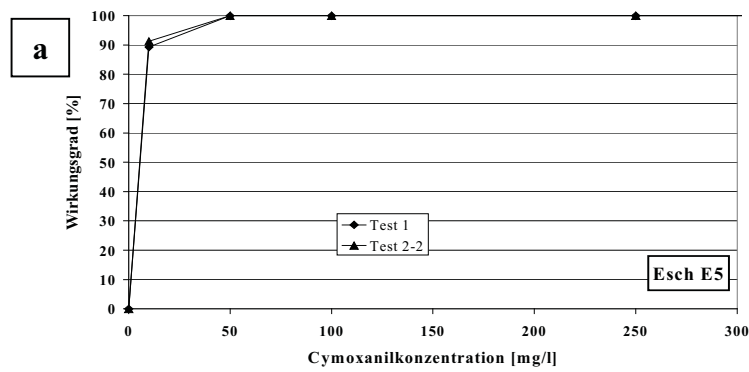
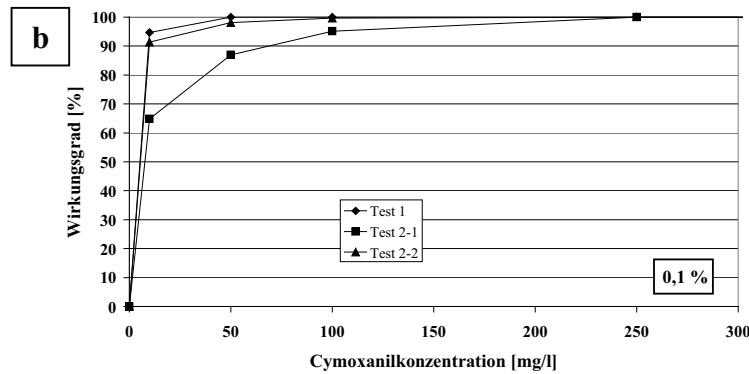


Abb. 23: Wirkungsgrad verschiedener Cymoxanilkonzentrationen auf die Befallsstärke verursacht durch *Plasmopara*-Mischungen mit steigendem Anteil resistenter Isolate sowie die Ausgangsisolate Esch E5 und App E2 im Blattscheibentest (Abb. 23a: Sensitivitätsverlauf zu Versuchsbeginn; Abb. 23b: Sensitivitätsverlauf nach Cymoxanilbehandlung)



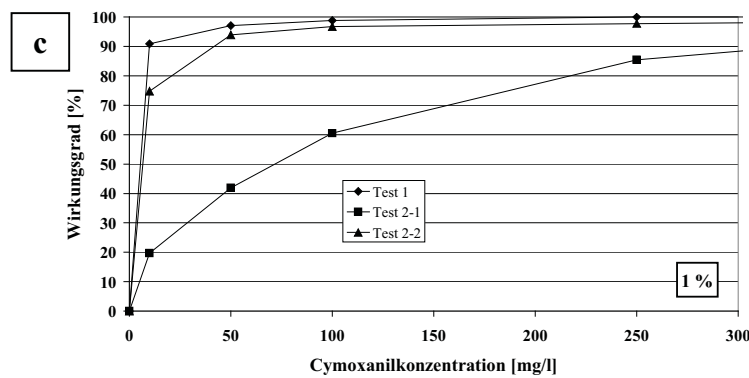
Isolat Esch E5

Test 1: vor Versuchsbeginn
 Test 2-2: ohne Selektionsdruck



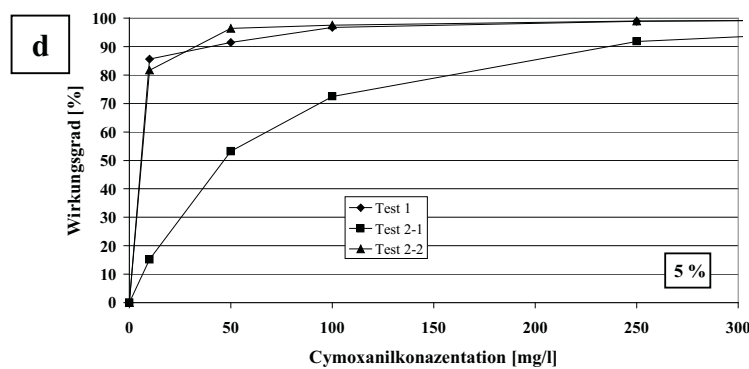
Mischung 0,1 % Res.

Test 1: vor Versuchsbeginn
 Test 2-1: mit Selektionsdruck
 Test 2-2: ohne Selektionsdruck



Mischung 1 % Res.

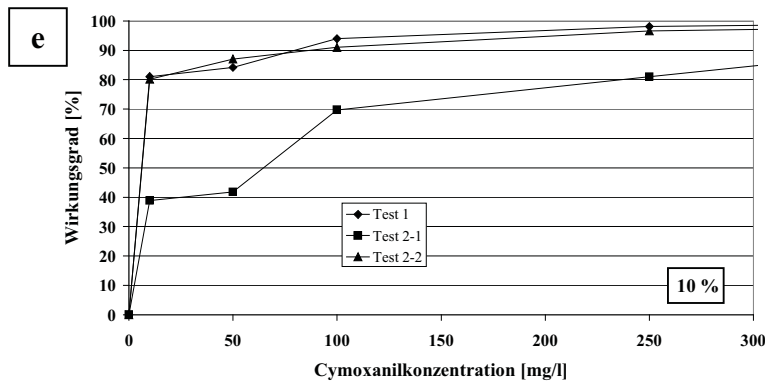
Test 1: vor Versuchsbeginn
 Test 2-1: mit Selektionsdruck
 Test 2-2: ohne Selektionsdruck



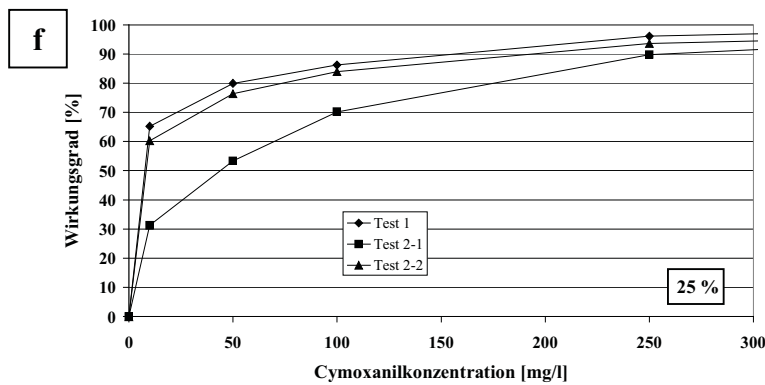
Mischung 5 % Res.

Test 1: vor Versuchsbeginn
 Test 2-1: mit Selektionsdruck
 Test 2-2: ohne Selektionsdruck

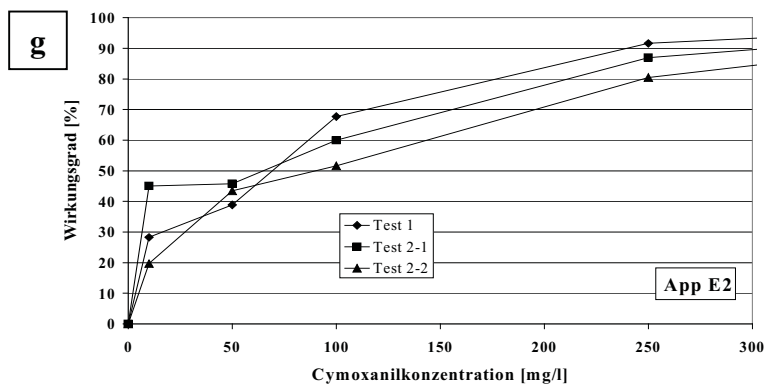
Abb. 24 a-d: Wirkungsgrad verschiedener Cymoxanilkonzentrationen auf die Befallsstärke verursacht durch *Plasmopara*-Mischungen mit steigendem Anteil resistenter Isolate (0,1 % bis 5 %, b-d) sowie des Ausgangsisolates Esch E5 (a) im Blattscheibentest vor (Test 1) und nach (Test 2-1) einer kurativen Aktuan-Behandlung, sowie einer Generation ohne Fungizidselektion (Test 2-2)



Mischung 10 % Res.
 Test 1: vor Versuchsbeginn
 Test 2-1: mit Selektionsdruck
 Test 2-2: ohne Selektionsdruck



Mischung 25 % Res.
 Test 1: vor Versuchsbeginn
 Test 2-1: mit Selektionsdruck
 Test 2-2: ohne Selektionsdruck



Isolat App E2
 Test 1: vor Versuchsbeginn
 Test 2-1: mit Selektionsdruck
 Test 2-2: ohne Selektionsdruck

Abb. 24 e-g: Wirkungsgrad verschiedener Cymoxanilkonzentrationen auf die Befallsstärke verursacht durch *Plasmopara*-Mischungen mit steigendem Anteil resistenter Isolate (10 % bis 25 %, e-f) sowie des Ausgangsisolates App E2 (g) im Blattscheibentest vor (Test 1) und nach (Test 2-1) einer kurativen Aktuan-Behandlung, sowie einer Generation ohne Fungizidselektion (Test 2-2)

3.8.3 Sensitivitätsentwicklung der Mischungen ohne Selektionsdruck

Um das Verhalten der Mischungen ohne Selektionsdruck zu beobachten, wurden drei verschiedene Mischungen (0,1 %; 1 %; 10 % Anteil des resistenten Isolates App E2) in zwei parallelen Ansätzen (I und II) über 10 Generationen auf Topfreben kultiviert und die jeweiligen Reaktionen im Blattscheibentest untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 (MHK-Werte) und Abbildung 25 (Dosis-Wirkungsverlauf) dargestellt.

Tab. 21: Minimale Hemmkonzentration verschiedener Mischungen resistenter (App E2) und sensitiver (Esch E5) *Plasmopara*-Isolate nach Kultivierung mehrerer Generationen ohne Selektionsdruck durch Cymoxanil

Gene- ration	Minimale Hemmkonzentration [mg/l]					
	Res. 0,1 %-I	Res. 0,1 %-II	Res. 1 %-I	Res. 1 %-II	Res. 10 %-I	Res. 10 %-II
1	50	50	500	250	500	600
2	10	50	500	250	500	600
3	50	50	500	500	500	500
4	100	100	500	500	>600	500
5	50	50	50	500	500	500
6	50	100	50	500	>600	100
7	50	50	600	500	500	500
8	100	50	100	500	600	500
9	250	250	100	500	100	500
10	250	250	250	500	50	250

Res. = Anteil des resistenten Isolates (App E2) an der Mischung; I = Whd. 1; II = Whd. 2

In den ersten Generationen waren die MHK-Werte der *Plasmopara*-Mischungen stabil. Erst zum Ende der Untersuchung konnten größere Schwankungen festgestellt werden.

Bei den Mischungen mit dem 0,1-prozentigen Anteil resistenter Sporen variierte die minimale Hemmkonzentration in den Generationen 1 bis 7 bzw. 8 in der Regel zwischen 50 und 100 mg/l. Am Ende der Untersuchung kam es bei beiden Versuchsansätzen zu einem Anstieg der MHK-Werte auf 250 mg/l. Dieser Anstieg konnte auch als eine Veränderung im Verlauf der Dosis-Wirkungskurven beobachtet werden (Abb. 25 a bzw. b), wobei die Verlaufsänderung der Dosis-Wirkungskurve bei Mischung 0,1 %-I (Abb. 25a) stärker ausgeprägt war als bei Mischung 0,1 %-II (Abb. 25b). Dieser Unterschied ist jedoch anhand der minimalen Hemmkonzentrationen nicht sichtbar.

Bei den Ansätzen mit einprozentigen Anteilen resistenter Sporangien wurde ein Rückgang der minimalen Hemmkonzentration bei Mischung I festgestellt. Dieser fand bereits in der fünften Generation statt. Die MHK fiel von 500 auf 50 mg/l ab und stieg dann wieder bis zur zehnten Generation auf 250 mg/l an. Bei Mischung II konnte über den beobachteten Versuchszeitraum keine Abnahme der MHK festgestellt werden. Die minimale Hemmkonzentration stieg in der dritten Generation auf 500 mg/l an und blieb danach bis zur zehnten Generation konstant. Die beobachteten Schwankungen im MHK-Wert bei Mischung 1 %-I machten sich im Verlauf der Dosis-Wirkungskurven nicht bemerkbar, während bei Mischung 1 %-II ein deutlicher Wirkungsverlust in der zehnten Generation festzustellen ist, der durch die Registrierung der minimalen Hemmkonzentration nicht sichtbar wurde (s. Abb. 25d), so dass hier von einer Zunahme der resistenten Isolate in der Mischung auszugehen ist.

Die Ansätze mit ursprünglich zehnprozentigem Anteil resistenter Sporangien zeigten bis zur achten Generation relativ konstante MHK-Werte. Danach kam es zu einer Abnahme der MHK, die sich bei Mischung I bis auf 50 mg/l in der zehnten Generation reduzierte. Beim zweiten Ansatz (10%-II) ging die MHK lediglich auf 250 mg/l zurück.

Diese Erhöhung der Sensitivität der Mischungen 10%-I und 10 %-II in den letzten untersuchten Generationen konnte auch im Verlauf der Dosis-Wirkungskurven (s. Abb. 25e bzw. 25f) nachvollzogen werden, was eine Verringerung des resistenten Anteils an der Mischung bedeutet.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es bei den verwendeten Mischungen im untersuchten Zeitraum sowohl zu Zunahmen als auch Abnahmen bei der minimalen Hemmkonzentration und den Wirkungsgraden gegenüber Cymoxanil im Blattscheibentest kam, wenn kein Selektionsdruck durch cymoxanilhaltige Fungizide bestand. Dies lässt sowohl den Schluss der Erhaltung des Anteils resistenter Individuen in der Mischung als auch der Abnahme und einer damit verbundenen Resensibilisierung der Population zu.

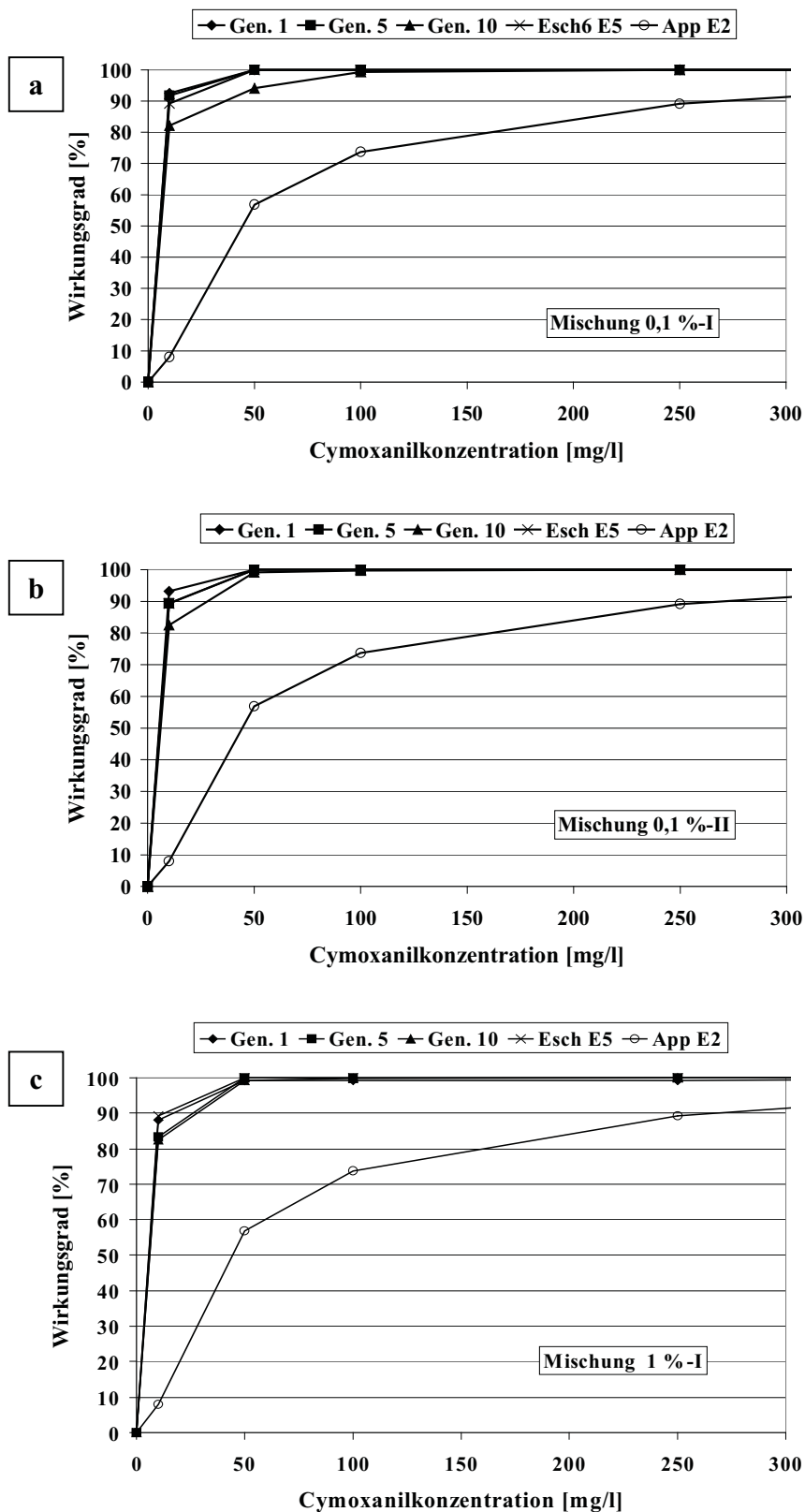


Abb. 25a-c: Wirkungsgrad verschiedener Cymoxanilkonzentrationen im Blattscheibentest auf die Befallsstärke verursacht durch *Plasmopara*-Mischungen mit unterschiedlichem Anteil resistenter Individuen (0,1 %; 1 %) sowie der Ausgangsisolate (Esch E5, App E2) nach Kultivierung über mehrere Generationen (Gen. 1, 5, 10) ohne Selektionsdruck durch Cymoxanil

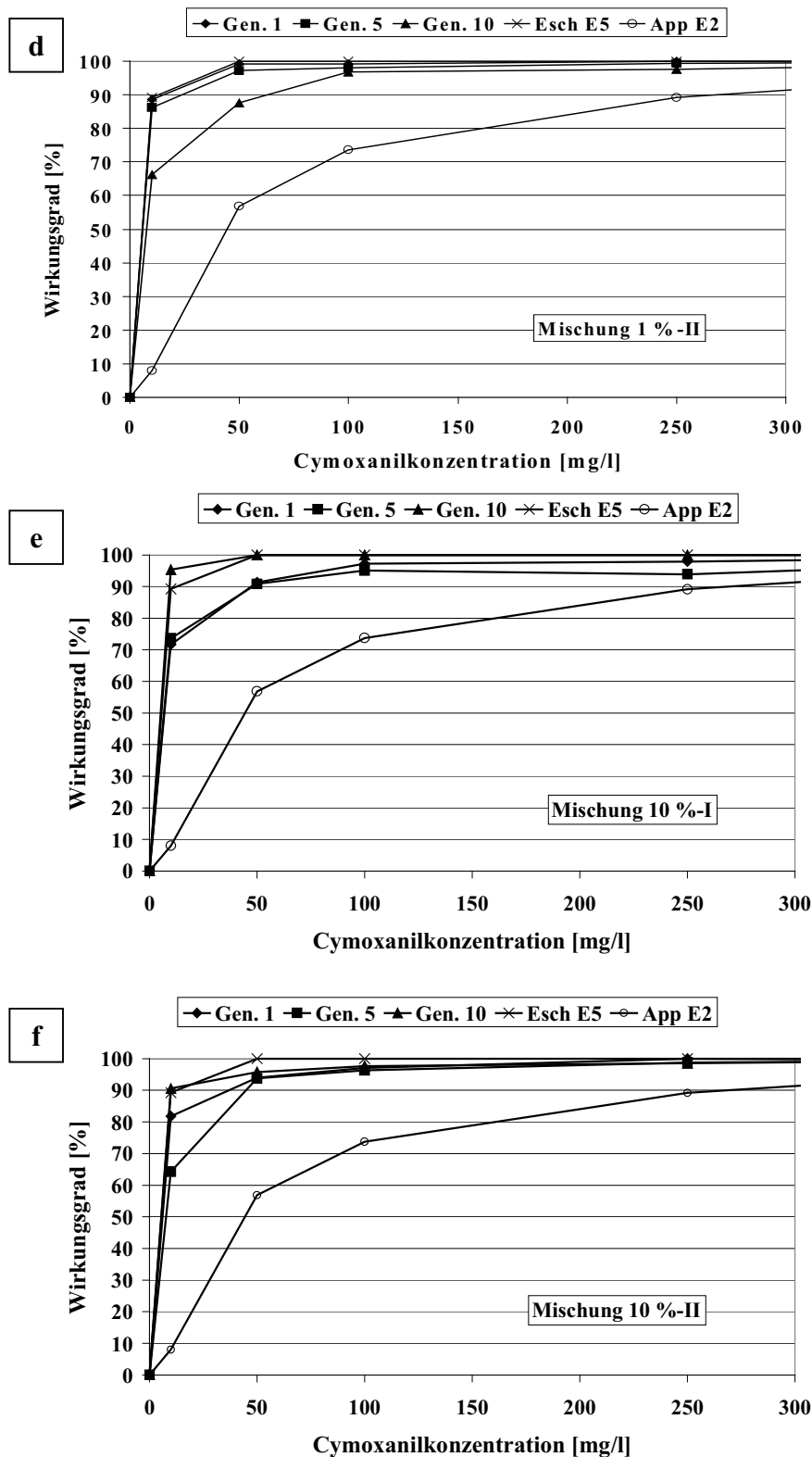


Abb. 25d-f: Wirkungsgrad verschiedener Cymoxanilkonzentrationen im Blattscheibentest auf die Befallsstärke verursacht durch *Plasmopara*-Mischungen mit unterschiedlichem Anteil resistenter Individuen (1 %, 10 %) sowie der Ausgangsisolate (Esch E5, App E2) nach Kultivierung über mehrere Generationen (Gen. 1, 5, 10) ohne Selektionsdruck durch Cymoxanil

3.9 Wachstum von ausgewählten *Plasmopara*-Isolaten auf unbehandeltem Blattmaterial

Um Aussagen über die Pathogenität und Fitness machen zu können, wurden von den ausgewählten Isolaten (s. Kap. 3.2) an unbehandelten Blattscheiben und Topfreben die Befallsstärke ermittelt. Diese Daten wurden anschließend mit den jeweiligen Cymoxanilsensitivitäten in Verbindung gesetzt.

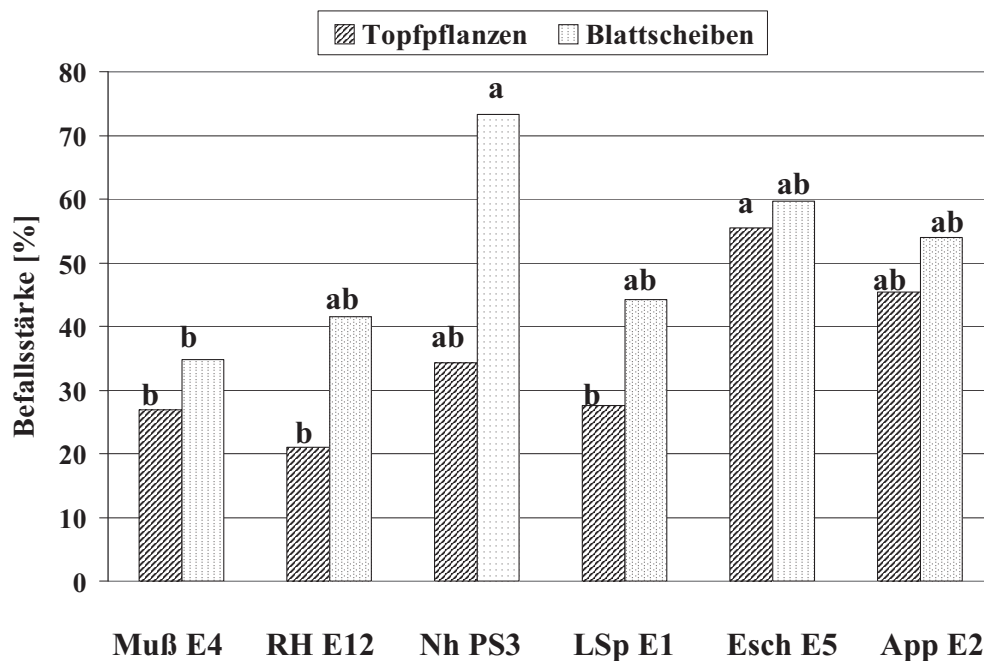


Abb. 26: Befallsstärke ausgewählter *Plasmopara*-Isolate an unbehandelten Blattscheiben bzw. Topfreben (Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant innerhalb einer Variante; $p \leq 0,05$)

In Abbildung 26 sind die Befallsstärken der verschiedenen Isolate aus dem Blattscheiben- und aus dem Topfpflanzentest dargestellt. Alle Isolate erreichten im Blattscheibentest eine höhere Befallsstärke als an ganzen Pflanzen. Während bei den Isolaten Muß E4, App E2 und Esch E5 die Unterschiede zwischen den beiden Testverfahren gering waren, wurden bei RH E12, LSp E1 und Nh PS3 wesentlich größere Unterschiede zwischen den Befallsstärken der Blattscheibentests und den Topfpflanzenversuchen festgestellt. Vor allem das Isolat Nh PS3 zeigte im Blattscheibentest eine besonders starke Abweichung im Vergleich zu den Ergebnissen des Topfpflanzentests.

Vergleicht man die Befallsstärken der Isolate untereinander, so fällt auf, dass die Isolate Muß E4 und RH E12 in beiden Ansätzen die geringste Blattfläche besiedelten. Das

cymoxanilsensitive Isolat Esch E5 erreichte in beiden Verfahren den höchsten Befall, wenn das Ergebnis des Isolates Nh PS3 aus dem Blattscheibentest nicht berücksichtigt wird.

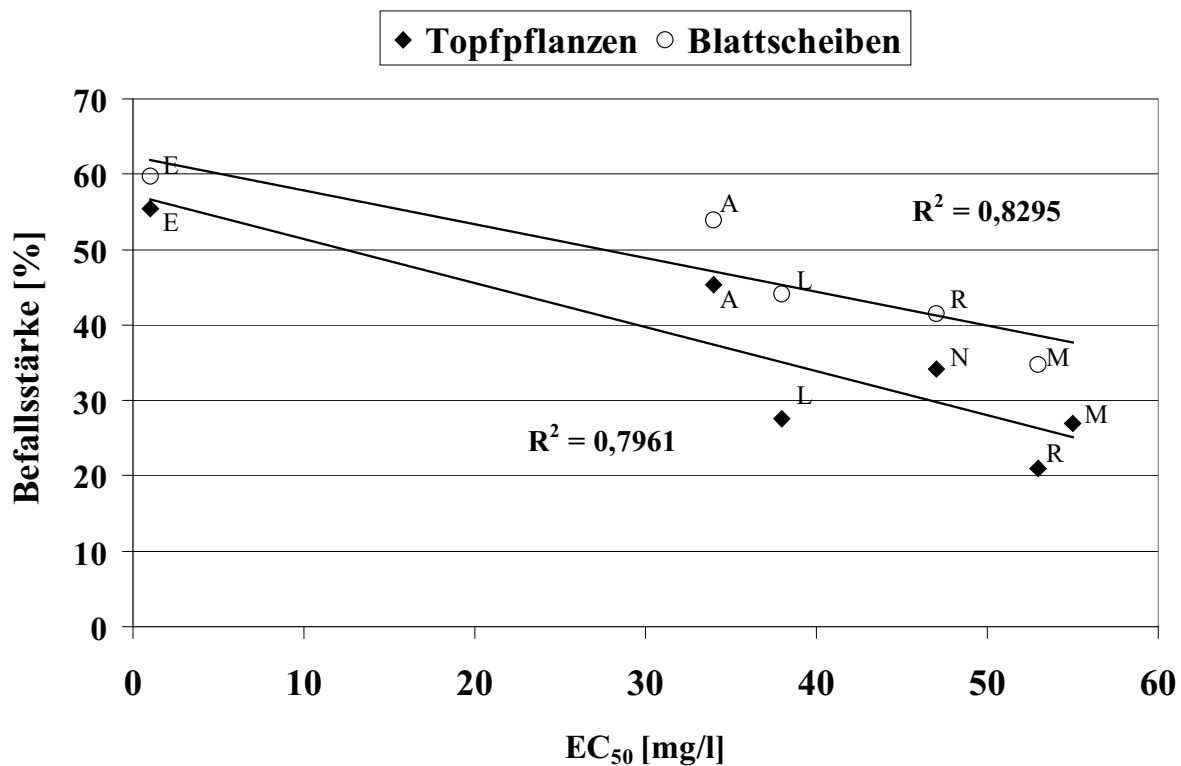


Abb. 27: Befallsstärke ausgewählter *Plasmopara*-Isolate auf unbehandelten Blattscheiben bzw. Topfreben in Abhängigkeit von der Cymoxanilsensitivität (A = App E2, E = Esch E5; L = LSp E1; M = Muß E4; N = Nh PS3; R = RH E12)

In Abbildung 27 wurden die ermittelten Befallsstärken (s. Abb. 26), getrennt nach Testverfahren, in Abhängigkeit der Cymoxanilsensitivität (EC₅₀-Werte s. Tab. 12) der verwendeten *Plasmopara*-Isolate aufgetragen. Die Befallsstärke von Isolat Nh PS3 aus den Blattscheibentests wurde dabei jedoch nicht berücksichtigt. Die Befallsstärken nehmen sowohl bei den Blattscheiben als auch bei den Topfpflanzen mit steigenden EC₅₀-Werten ab. Es scheint eine negative Korrelation zwischen der Befallsstärke und der Empfindlichkeit gegenüber Cymoxanil zu bestehen. Dies deutet auf eine reduzierte Fitness von Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität hin.

4 Diskussion

Der Wirkstoff Cymoxanil stellt eine wichtige Komponente bei der Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten, die durch Erreger aus der Gruppe der Oomyceten verursacht werden, dar. Vor allem obligat biotrophe Parasiten aus der Familie der Peronosporaceae können erfolgreich mit Cymoxanil bekämpft werden (ARP 1987). Bodenbürtige Oomyceten aus den Gattungen *Phytium* und *Phytophthora* erwiesen sich als weniger empfindlich (SERRES und CARRARO 1976; KLOPPING und DELP 1980). Eine Ausnahme bildet der Erreger der Kraut- und Knollenfäule, *Phytophthora infestans*, der mit Cymoxanil erfolgreich bekämpft werden kann.

Seit ihrer Einführung Anfang der achtziger Jahre spielen cymoxanilhaltige Fungizide auch bei der Bekämpfung von *Plasmopara viticola*, dem Erreger des Falschen Mehltaus der Weinrebe, eine wichtige Rolle. Während dieser Periode wurden neben Cymoxanil, auch die neu entwickelten Wirkstoffe Metalaxyl und Aluminium-Fosetyl (Al-Fosetyl) in die Praxis eingeführt. Durch ihre Einführung konnten die Vorteile systemisch wirkender Fungizide erstmals auch bei der Bekämpfung von *P. viticola* genutzt werden. In Mischung mit verschiedenen Kontaktfungiziden (Dithianon, Folpet, Mancozeb) standen mehrere Präparate zur Verfügung (HILLEBRAND und EICHHORN 1984). Die systemischen und kurativen Eigenschaften der neuen Wirkstoffe bedeuteten einen großen Fortschritt für den Pflanzenschutz und ermöglichten die Entwicklung völlig neuer Bekämpfungsstrategien aufgrund von Prognosesystemen und zielgerichteten Spritzungen. Große Erwartungen wurden an diese Präparate geknüpft (COHEN und COFFEY 1986, GULLINO et al. 1997).

In den vergangenen Jahren kam es im Weinbaugebiet Pfalz wiederholt zu Problemen bei der Bekämpfung von *P. viticola*. Die Analyse dieser Fälle ergab zum Teil eine falsche Terminierung der Spritzungen, zu lange Abstände zwischen den Behandlungsterminen oder eine schlechte Applikationsqualität. Für einen Teil der Fälle stellten diese Faktoren jedoch nicht den Grund für die Bekämpfungsprobleme dar. Untersuchungen von FÜHR und LORENZ (1998) ergaben schon frühzeitig Hinweise auf eine Minderwirkung nach kurativem Einsatz des Fungizids Aktuan, einer Mischung aus Cymoxanil (100 g/kg) und Dithianon (250 g/kg). Sie vermuteten eine mögliche Resistenzbildung des Pilzes gegen den Wirkstoff Cymoxanil. Ähnliche Beobachtungen wurden auch in anderen Weinbaugebieten gemacht. Vor allem aus Regionen Norditaliens wurde von unzureichenden Bekämpfungserfolgen mit

cymoxanilhaltigen Fungiziden gegen *P. viticola* berichtet, die auf die Entwicklung von resistenten Populationen zurückgeführt wurden (HAAS et al. 1996; GULLINO et al. 1997).

Um die Gefahr für die bestehenden Bekämpfungsstrategien durch *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil besser einschätzen zu können und einen Überblick über die Situation im Anbaugebiet zu erhalten, wurden die vorliegenden Untersuchungen durchgeführt.

Im Anbaugebiet Pfalz kamen cymoxanilhaltige Fungizide seit ihrer Zulassung regelmäßig und häufig zum Einsatz und spielten eine sehr wichtige Rolle vor allem bei den prognosegestützten Bekämpfungsstrategien. Standen zunächst Mischungen aus Cymoxanil und Folpet zur Verfügung, so übernahm später das Fungizid Aktuan (WP) eine herausragende Position in den Spritzfolgen. Später erfolgte die Zulassung von Aktuan SC, einer flüssigen Formulierung, die eine verringerte Aufwandmenge der beiden Wirkstoffe hatte (200 g/l Cymoxanil, 333g/l Dithianon; Anwendungskonzentration 0,05 %). Die Verstärkung der Bedeutung von Aktuan bzw. Aktuan SC lagen vor allem an der Zurücknahme der Zulassung für phtalimidhaltige Fungizide in Deutschland (1986). Von dem Wegfall aller Fungizide, die Folpet, Captan oder Captafol enthielten, war auch der größte Teil der gegen *P. viticola* zugelassenen Fungizide betroffen. Es standen danach als Kontaktwirkstoffe nur noch Mancozeb, Metiram, Dichlofluanid und Kupfer zur Verfügung. Als einziges Fungizid mit lokalsystemischen Eigenschaften verblieb das Aktuan (s. Tab. 26, Anhang).

Ein zweiter wichtiger Faktor, der die Bedeutung der cymoxanilhaltigen Fungizide erhöhte, war das schnelle Auftreten von Resistenzen gegen die Wirkstoffe aus der Gruppe der Phenylamide. Bereits zwei Jahre nach der Einführung wurden Resistenzen gegen Metalaxyl bei *P. viticola* in Südafrika und Europa festgestellt (STAUB und SOZZI 1981; HERZOG und SCHÜEPP 1985). Die Ausbildung der Phenylamidresistenz führte in einigen Weinbaugebieten zur verstärkten Anwendung von Fungiziden mit anderen Wirkstoffen, darunter vor allem cymoxanilhaltige, da diese in ihren systemischen Eigenschaften und ihrer kurativen Wirkung den phenylamidhaltigen am nächsten kommen (GULLINO et al. 1997).

Die erhebliche Einschränkung der Mittelpalette führte natürlich zwangsläufig zu einer verstärkten Anwendung von Aktuan in den folgenden Jahren, da es zu diesem Zeitpunkt das einzig zugelassene Produkt mit systemischen und kurativen Eigenschaften darstellte. Besonders zu kritischen Terminen rund um die Blüte und in Phasen mit starkem

Infektionsdruck wurde das Mittel häufig eingesetzt. Selbst als 1989 das Al-Fosethyl in Mischung mit Mancozeb erneut zugelassen wurde, entspannte sich die Lage im Weinbau nicht, da dieses Mittel eine starke Raubmilbenschädigung aufweist (RM III).

Seit Mitte der achtziger Jahre stellt die Raubmilbenschonung bei der Erstellung von Spritzfolgen und der Mittelauswahl im Weinbau eine wichtige Komponente dar. Im Zuge der Entwicklung des integrierten Pflanzenschutzes wurde die Bedeutung der Raubmilben, vor allem *Typhlodromus pyri* (Scheuten), für die erfolgreiche Kontrolle von Spinnmilben erkannt. Um eine Schädigung der natürlichen Populationen im Weinberg zu verhindern, wurden Insektizide und Fungizide in ihrer Verträglichkeit gegenüber Raubmilben untersucht. Diese Ergebnisse fanden in Form von raubmilbenschonenden Spritzfolgen Eingang in die Praxis (SCHROPP 1986; LOUIS 1986; HOOS 1989; WEGNER-KISS und HUBER 2000).

Im Gegensatz zum Al-Fosethyl + Mancozeb (Mikal MZ) schnitt die Mischung Cymoxanil + Dithianon bei diesen Prüfungen sehr gut ab (RM I). Die hohe Priorität der Raubmilbenschonung führte zu einer verstärkten Empfehlung von Aktuan durch die Beratung aufgrund seiner guten Raubmilbenverträglichkeit. Im Zeitraum zwischen 1986 und 1994 war Aktuan das einzige Fungizid, das aufgrund seiner raubmilbenschonenden Eigenschaften uneingeschränkt im integrierten Weinbau eingesetzt werden konnte. Alle anderen Wirkstoffe schädigten die Raubmilbenpopulationen stärker. Erst danach wurde die Auswahl an raubmilbenschonenden Produkten durch Neuzulassungen vergrößert. Ein anderes Fungizid mit systemischen und kurativen Eigenschaften, das auch den veränderten Anforderungen in Hinsicht der Raubmilbenschonung gerecht wurde, stand erst ab 1997 mit der Zulassung von Dimethomorph zur Verfügung.

In Folge der Ausweitung des integrierten Anbaus gewann auch die Verwendung von Prognosemodellen und die schadschwellengestützte Bekämpfung von *P. viticola* mit gezielten Spritzungen immer mehr an Bedeutung. Eine Reihe von Prognosemodellen wurde in dieser Zeit entwickelt und erprobt (HILL 1991a, b; KASSEMAYER 1991; KAST 1991; HAAS et al. 1991; BLEYER und HUBER 1996). Dabei spielte vor allem der gezielte Einsatz kurativer Spritzungen eine wichtige Rolle. Im Anbaugbiet Pfalz und Rheinhessen wurde zwischen 1989 und 1994 das Peronospora-Risikomodell Oppenheim (P.R.O.) auf ca. 6800 ha (1994) (FÜHR mündl. Mitteilung) bzw. 5000 ha (HILL 1991b) großflächig getestet. Bei diesem Modell wurde ein Befall bis zu einer bestimmten Schadschwelle (5000 Ölflecke/ha) toleriert und entweder bei Erreichen mit systemischen und kurativen Fungiziden bekämpft

(„Stoppsspritzungen“) oder vorher eine Behandlung mit einem protektiven Kontaktfungizid durchgeführt (HILL 1991a, b). HILL (1991b) nennt Aktuan als geeignetes Produkt für das P.R.O.-Modell aufgrund seiner absolut zuverlässigen protektiven Wirkung für 10 Tage und seiner kurativen „Stoppwirkung“ von zwei Tagen. KAST (1991) weist im Zusammenhang mit *Plasmopara*-Prognosesystemen darauf hin, dass für kurative Bekämpfungsmaßnahmen in der genannten Zeitspanne lediglich Aktuan zur Verfügung steht. Die aufgeführten Arbeiten belegen die Bedeutung gezielter kurativer Spritzungen gegen *P. viticola* im Rahmen von Prognosesystemen, die in diesem Zusammenhang auch großflächig durchgeführt wurden.

Die aufgeführten Punkte zeigen die Bedeutung und besondere Position von cymoxanilhaltigen Fungiziden, bei der *Plasmopara*-Bekämpfung zwischen 1986 und 1997. Das Anwendungsverbot der Pthalimiderivate, die sehr gute Raubmilbenverträglichkeit sowie die systemischen und kurativen Eigenschaften des Cymoxanils führten zu einer starken Anwendung von Aktuan im Weinbaugebiet Pfalz, zum Teil ausschließlich in kurativer Anwendung. Der starke Einsatz wird anhand einer Auswertung der Aufzeichnungen der verwendeten Pflanzenschutzmittel von integriert wirtschaftenden Betrieben im Anbaugebiet sichtbar. So setzten 49 % der Betriebe 1997 Aktuan mindestens dreimal oder häufiger in der Vegetationsperiode ein. Die durchschnittliche Anzahl der Peronosporabekämpfungen lag in diesem Jahr bei sechs Behandlungen. In 24 % der Betriebe lag die Anwendungshäufigkeit sogar zwischen vier und sechs Spritzungen mit Aktuan.

Die im Anbaugebiet Pfalz in der Praxis aufgetretenen Probleme bei der *Plasmopara*-Bekämpfung im Zusammenhang mit dem kurativen Einsatz von Aktuan machten es notwendig einen Überblick über das Sensitivitätsniveau zu ermitteln. Für die untersuchten Isolate ergaben sich in Bezug auf die minimale Hemmkonzentration (MHK) enorme Schwankungen, die sich im Bereich von 50 mg/l bis >800 mg/l bewegten. Dabei erreichten 24 % der Isolate einen MHK-Wert von 50 mg/l. Jeweils 16 % wiesen MHK-Werte von 100 und 250 mg/l auf. 18 % der Isolate wurden von 500 mg/l Cymoxanil vollständig gehemmt, während 26 % der Isolate auch von 500 mg/l nicht vollständig gehemmt wurden.

Der Cymoxanilgehalt bei der zugelassenen Anwendungskonzentration von Aktuan (WP), liegt bei 125 mg/l. 44 % der getesteten Isolate lagen mit ihrer minimalen Hemmkonzentration deutlich über dieser Konzentration. Es muss deshalb davon ausgegangen werden, dass sie von der applizierten Wirkstoffmenge nicht mehr vollständig erfasst werden. Rechnet man den Anteil der Isolate mit MHK-Werten von 250 mg/l noch hinzu, werden sogar 60 % erreicht.

40 % der untersuchten Isolate liegen mit ihrer minimalen Hemmkonzentration deutlich unter der Anwendungskonzentration.

Die EC_{50} -Werte der ausgewählten *Plasmopara*-Isolate mit hohen MHK-Werten variierten zwischen 34 und 55 mg/l Cymoxanil. Mit Hilfe des sensiblen Vergleichsisolates (Esch E5, $EC_{50} = 1,2$, Tab. 12) konnten Resistenzfaktoren zwischen 27 und 44 (Mittelwert 37) errechnet werden.

Betrachtet man die Herkunft der verschiedenen *Plasmopara*-Isolate, so lässt sich die Problematik nicht auf eine lokale Region eingrenzen. Sowohl im Bereich der Mittelhaardt, wo der Infektionsdruck aufgrund der geringeren Niederschläge in der Regel wesentlich geringer ausfällt, als auch in der Südpfalz ließen sich Isolate mit hohen MHK-Werten nachweisen. Außerdem wies auch ein Isolat aus Rheinhessen eine verminderte Cymoxanilsensitivität auf.

Unterschiede zwischen den Versuchsjahren oder den Rebsorten in Hinblick auf die Cymoxanilsensitivität der untersuchten Isolate konnten nicht beobachtet werden. In den Probejahren 1997 und 1998 wurden für alle Sensitivitätsstufen Isolate nachgewiesen. Lediglich im Jahr 1999 fehlen die Abstufungen im Bereich 50 und 250 mg/l, was jedoch auf die geringe Anzahl getesteter Isolate zurückzuführen sein könnte. Auch bei den Rebsorten, von denen die untersuchten Isolate stammten, gab es keine Zusammenhänge mit der ermittelten Cymoxanilsensitivität. Isolate mit hohen MHK-Werten konnten von zehn verschiedenen Rebsorten gewonnen werden. Alle Hauptsorten waren inbegriffen.

In anderen Gebieten durchgeführte Sensitivitätsmonitorings ergaben ähnlich breite Sensitivitätsbereiche wie in den eigenen Untersuchungen. GULLINO et al. (1997) ermittelten in Weinbaugebieten Norditaliens minimale Hemmkonzentrationen für Cymoxanil zwischen 10 und >300 mg/l. GENET und VINCENT (1999) stellten bei ihren Untersuchungen von *Plasmopara*-Populationen aus verschiedenen europäischen Ländern MHK-Werte zwischen 10 und >800 mg/l fest. Insgesamt scheint die Sensitivität von *P. viticola*-Isolaten gegenüber Cymoxanil in verschiedenen Ländern auf breiter Ebene zu variieren.

Obwohl vor der Markteinführung des Wirkstoffes keine Sensitivitätsstudien durchgeführt wurden und damit das Sensitivitätsniveau zu diesem Zeitpunkt („base line“) unbekannt ist, scheinen die beschriebenen Sensitivitätsschwankungen natürlichen Ursprungs zu sein. Bei der Untersuchung von *Plasmopara*-Isolaten aus Ländern, in denen Cymoxanil noch nie zuvor

angewendet wurde, konnten MHK-Werte zwischen 10 mg/l und 800 mg/l nachgewiesen werden (GENET und VINCENT 1999). Die Autoren berechneten eine 12,5-fache Sensitivitätsverringering gegenüber Cymoxanil anhand von Isolaten aus Neuseeland, Japan und Australien, im Vergleich zu den europäischen Herkünften. Jedoch wiesen 53 % dieser untersuchten Populationen MHK-Werte zwischen 10 und 100 mg/l auf, während bei den *Plasmopara*-Populationen aus Europa dieser Anteil auf 13 % verringert war. Auch bei den EC₅₀-Werten unterschieden sich die Herkünfte aus Übersee in der Sensitivität deutlich von denen aus Europa. Der mittlere EC₅₀-Wert lag für die europäischen Isolate bei 125 mg/l, während für die Übersee-Isolate ein Wert von 10 mg/l festgestellt wurde (GENET und VINCENT 1999). Die ermittelten Werte zeigten klare Unterschiede in der Sensitivität zwischen *Plasmopara*-Populationen aus Ländern mit (Frankreich, Italien, Portugal) und ohne (Neuseeland, Japan, Australien) Cymoxanilbehandlungen. Diese Veränderungen geben Hinweise auf eine Verschiebung der Sensitivitäten durch die Behandlung in Richtung geringerer Sensitivität.

GULLINO et al. (1997) ermittelten an Hand eines sensiblen Vergleichsisolates (MHK 3 mg/l) höhere Resistenzfaktoren bis zu 30. Bei 43 % der untersuchten Populationen lagen die minimalen Hemmkonzentrationen zwischen 10 und 100 mg/l. Der Anteil mit MHK-Werten über 100 mg/l erreichte 57 %. Die dabei maximal ermittelten MHK-Werte erreichten >250 mg/l. Höhere Cymoxanilkonzentrationen als 250 mg/l wurden in dieser Untersuchung nicht geprüft.

Die Anteile von resistenten und sensitiven Isolaten in norditalienischen Anbaugebieten und in der Pfalz scheinen in etwa vergleichbar zu sein. Auch die Resistenzfaktoren bewegten sich auf einem ähnlichen Niveau. GENET und VINCENT (1999) ermittelten einen höheren Anteil an Populationen mit MHK-Werten über 100 mg/l (87 %). Allerdings fielen die Resistenzfaktoren deutlich niedriger aus als bei den eigenen Untersuchungen und den Untersuchungen von GULLINO et al. (1997). Ein Grund dafür ist sicherlich in der Herkunft der einzelnen Isolate zu suchen. So konnten GENET und VINCENT (1999) in ihren Untersuchungen Unterschiede in der Häufigkeit von sensitiven und Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität in *Plasmopara*-Populationen aus Portugal, Italien und Frankreich feststellen. Die beiden Autoren gehen davon aus, dass *Plasmopara*-Isolate mit hohen MHK-Werten nicht zu Bekämpfungsproblemen und Schäden in den Weinbergen führen, wenn Cymoxanil in Mischung mit Kontaktfungiziden in protektiven Spritzfolgen verwendet wird.

Im Gegensatz dazu ergaben Sensitivitätsmonitorings gegenüber *Ph. infestans* einen wesentlich engeren Sensitivitätsbereich gegenüber Cymoxanil (HAMLEN und POWER 1998). Die ermittelten EC₅₀-Werte variierten lediglich zwischen 0,02 und 1,48 mg/l. Zwischen der Sensitivität behandelter und unbehandelter Populationen konnte nur eine geringe Differenz festgestellt werden (maximal 2,2-facher Sensitivitätsshift). Ein möglicher Grund für den engen Sensitivitätsbereich könnte in der fehlenden genetischen Rekombination an verschiedenen Probestandorten liegen, da in der Erregerpopulation weltweit in den letzten 100 Jahren eine monoklonale Linie vorherrschend war (FRY und GODWIN 1995).

Die Fähigkeit ins Pflanzengewebe einzudringen und dort spezifisch gegen bereits vorhandene Infektionen von Krankheitserregern wie *P. viticola* oder *Ph. infestans* seine Wirkung zu entfalten, ist eine der wichtigsten Eigenschaften des Wirkstoffes Cymoxanil. Diese kurative Wirkung beläuft sich auf zwei bis drei Tagen (SERRES und CARRARO 1976; DOUCHET et al. 1977; KLOPPING und DELP 1980; KAST 1997; BLEYER und HUBER 1997). Entsprechende Daten wurden im Rahmen von Gewächshausversuchen unter für den Erreger optimalen Entwicklungsbedingungen ermittelt (DOUCHET et al. 1977; KLOPPING und DELP 1980). Im Freiland war sogar eine spätere Applikation noch erfolgreich (KLOPPING und DELP 1980). DOUCHET et al. (1977) erzielten mit einer Spritzung sieben Tagen nach der Infektion gute Bekämpfungsergebnisse, wobei die Inkubationszeit in diesen Versuchen 10 bis 14 Tage betrug. Sie gingen davon aus, dass *P. viticola* und *Ph. infestans* innerhalb der Inkubationszeit von Cymoxanil erfolgreich kontrolliert werden.

Diese Aussage wird durch Versuche von GENET und JAWORSKA (1998) relativiert. Sie untersuchten den Einfluss der Temperatur auf die kurative Wirkung von Cymoxanil auf *P. viticola* im Blattscheibentest. Bei 17°C wurde eine kurative Wirkung von drei Tagen ermittelt. Bei 22°C reduzierte sich die Wirkung auf zwei Tage. Dieser Einfluß hängt mit der temperaturabhängigen Inkubationszeit des Erregers zusammen. In dem untersuchten Temperaturbereich verkürzte sich diese mit steigender Temperatur. Die Autoren gehen von einer kurativen Wirkung bis zum Ablauf von 50 % der Inkubationszeit aus. Ähnliche Ergebnisse ermittelten auch BLEYER und HUBER (1997). Bei ihren Untersuchungen an Topfreben betrug die kurative Wirkung bei Temperaturen über 24°C einen Tag, während sich die Wirkung bei Temperaturen unter 20°C auf drei Tage verlängerte. Insgesamt gaben sie als Grenze für einen erfolgreichen kurativen Einsatz von Cymoxanil ein Intervall von 30 % der Inkubationszeit an. Diese Unterschiede könnten durchaus konzentrationsabhängig sein, denn BLEYER und HUBER (1997) setzten 100 mg/l Cymoxanil (zugelassene

Anwendungskonzentration von Aktuan SC) ein, während GENET und JAWORSKA (1998) mit 500 mg/l arbeiteten. Ähnliche Untersuchungen, die zum Zeitpunkt der Zulassung von Aktuan an der SLFA Neustadt durchgeführt wurden, belegten eine kurative Wirkung von Cymoxanil von 2 bis 3 Tagen (LORENZ mündliche Mitteilung). Sowohl GENET und JAWORSKA (1998) als auch BLEYER und HUBER (1997) machten bei ihren Untersuchungen keine Angaben zur Sensitivität der verwendeten *Plasmopara*-Isolate gegenüber Cymoxanil.

Bei *Plasmopara*-Isolaten mit hoher Sensitivität gegenüber Cymoxanil konnte die kurative Wirkung sowohl im Blattscheibentest als auch an Topfreben im Gewächshaus in den vorliegenden Untersuchungen nachvollzogen werden. Bei Blattscheibentests mit verschiedenen kurativen Applikationszeitpunkten wurde für ein *Plasmopara*-Isolat mit einer MHK von 50 mg/l im Zeitraum von 2 bis 48 Stunden nach der Inokulation für alle Termine jeweils ein Wirkungsgrad von 100 % mit der zugelassenen Anwendungskonzentration (125 mg/l Cymoxanil) erreicht. Dies entsprach einer maximal abgelaufenen Inkubationszeit von etwa 42 %. Auch an Topfreben betrug der Wirkungsgrad am Blatt mit derselben Wirkstoffmenge zu einem Applikationszeitpunkt von 24 Stunden nach der Inokulation 100 % (abgelaufene Inkubationszeit 20 %).

Anders sah es bei Isolaten mit hohen minimalen Hemmkonzentrationen aus. Hier war die kurative Wirkung von Cymoxanil sowohl im Blattscheibentest, mit Topfreben sowie im Freiland nicht zufriedenstellend. Im Blattscheibentest wurde ein *Plasmopara*-Isolat (Isolat Niederhorbach) mit einem MHK-Wert von >800 mg/l zu den oben genannten Applikationszeitpunkten kurativ behandelt. Bereits bei einer Applikation drei Stunden nach der Inokulation erfolgte auf allen Blattscheiben eine Sporangienbildung (s. Abb. 12). Selbst nach zwei Stunden wurde bereits kein vollständiger Bekämpfungserfolg mehr erzielt. Der Wirkungsgrad bezogen auf die Befallshäufigkeit betrug zu diesem Zeitpunkt lediglich noch 15 %. Für die Befallsstärke konnte zu diesem Applikationszeitpunkt ein Wirkungsgrad von 86,6 % erzielt werden. Bei späteren Behandlungsterminen schwankten die Wirkungsgrade nur noch zwischen 46,4 % und 75,3 %.

Die schlechten Wirkungsgrade bei der Bekämpfung des Isolates mit hoher minimaler Hemmkonzentration (Isolat Niederhorbach) kann nicht auf eine zu weit fortgeschrittene Inkubationszeit zurückgeführt werden. Sie lag im vorliegenden Versuch nach 48 h Inkubation und 21°C bei maximal 42 %. Zu diesem Zeitpunkt wurde das empfindliche Isolat jedoch noch vollständig bekämpft. Beim Isolat mit verringerter Sensitivität konnten die unzureichenden

Bekämpfungserfolge jedoch bereits schon drei Stunden nach der Inokulation beobachtet werden (entspricht ca. 3 % der Inkubationszeit).

Nach den Angaben von BLEYER und HUBER (1997) bzw. GENET und JAWORSKA (1998) hätte im vorliegenden Versuch die kurative Wirkung von Cymoxanil bis zu 24 Stunden bzw. 48 Stunden nach Inokulation gewährleistet sein müssen. Aus den vorliegenden Ergebnissen läßt sich deutlich ableiten, dass nicht nur die Temperatur bzw. der Anteil der bereits verstrichenen Inkubationszeit einen Einfluss auf die kurative Wirkung des Cymoxanils hat, sondern vor allem eine enge Korrelation mit der ermittelten Cymoxanilsensitivität des Isolates besteht.

Weiterhin wird aus den Ergebnissen sowohl für das sensitive als auch das resistente Isolat deutlich, dass sich die unterschiedlichen Phasen der Pathogenese des Pilzes im dokumentierten Versuchszeitraum nur gering in ihrer Empfindlichkeit gegenüber Cymoxanil unterscheiden. Lediglich wenn die Applikation zwei Stunden nach der Inokulation erfolgte, wurde noch ein signifikant besserer Wirkungsgrad im Vergleich zu den übrigen Applikationszeitpunkten erreicht ($p \leq 0,05$). Eine Nutzung dieses Wirkungsvorteils spielt jedoch in der Praxis keine Rolle, da eine entsprechend exakte Bestimmung der Infektion und des Applikationstermins für den Praktiker nicht durchführbar ist und der kurze Zeitraum keinen Handlungsspielraum lässt. Zu einem späteren Termin unterschieden sich die Befallshäufigkeiten und Befallsstärken für jedes Isolat nur noch tendenziell voneinander.

Eine weitere Bestätigung der Abhängigkeit des Bekämpfungserfolges von der Cymoxanilsensitivität der verwendeten *Plasmopara*-Isolate konnte durch die Anwendung von definierten Mischungen von Isolaten mit unterschiedlicher Cymoxanilsensitivität erbracht werden. Wurde ein sensibles und ein resistentes Isolat gemischt, so nahm die kurative Wirkung mit steigendem Anteil des Isolates mit geringerer Sensitivität kontinuierlich ab (Abb. 20 und 21).

Dieser Wirkungsverlust ließ sich in Versuchen im Freiland ebenfalls bestätigen. So wurde bei einer Anwendung 24 Stunden nach der Inokulation gegen ein Einzelsporisolat (MHK >500 mg/l) keine Wirkung mehr erzielt, während eine Anwendung von Metalaxyl-M zu demselben Zeitpunkt den Blattbefall signifikant reduzierte (s. Abb. 16). Die Behandlung erfolgte zu einem Zeitpunkt, zu dem in Versuchen mit Topfreben 20 % und im Freiland 16 % der Inkubationszeit verstrichen waren.

Ähnliche Ergebnisse konnten in einem weiteren Freilandversuch erzielt werden, der an einem Standort durchgeführt wurde, an dem Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität

nachgewiesen wurden. Auch hier erreichte die Variante, in der Cymoxanil+ Dithianon kurativ eingesetzt wurde, unzureichende Wirksamkeit unter natürlichen Infektionsbedingungen. Der Wirkungsverlust gegenüber den anderen Präparaten wird zum Beispiel an den Ergebnissen der Bonitur vom 17.7. (ES 77) deutlich (s. Abb. 17). An den Blättern wurde lediglich noch ein Wirkungsgrad von 57,3 % erreicht. An den Trauben betrug der Wirkungsgrad 40,2 % (BH) bzw. 57,8 % (BS). Damit unterschied sich der Traubenbefall zum genannten Zeitpunkt nicht mehr signifikant vom Befall in der unbehandelten Kontrolle ($p \leq 0,05$). Die stärkere Wirkung der Mischung von Cymoxanil und Azoxystrobin ist auf eine kurative Wirkung des Azoxystrobins zurückzuführen (GODWIN et al. 1992; GERHARDT und GRIEBEL 1998).

Auch für diese Versuche hätte nach den Ergebnissen von BLEYER und HUBER (1997) bzw. GENET und JAWORSKA (1998) ein hoher Wirkungsgrad für die kurative Anwendung erwartet werden können. Die ermittelten Ergebnisse belegten jedoch eindeutig, dass eine Abhängigkeit der Wirkung von der Cymoxanilsensitivität nicht nur im Labor, sondern auch an vollständigen Pflanzen im Gewächshaus und im Freiland besteht. Dies ist von Bedeutung, da die Ergebnisse aus „in vitro“-Studien zum Teil nicht ins Freiland übertragen werden können (SOZZI und STAUB 1987; BRENT 1988). Die Sensitivitätsstudien mit Blattscheibentests liefern somit im Fall von *P. viticola* und Cymoxanil wichtige Hinweise für die Einschätzung der Resistenzsituation im Freiland.

Die Ergebnisse belegen, dass *Plasmopara*-Isolate mit hohen minimalen Hemmkonzentrationen bei Behandlungen durch die zugelassene Anwendungskonzentration (125 mg/l in Aktuan) des Cymoxanils in den handelsüblichen Fungiziden nicht ausreichend kontrolliert und dadurch herausselektiert werden können.

Bereits FÜHR und LORENZ (1998) wiesen in ihren Untersuchungen auf die verringerte kurative Wirkung von Cymoxanil hin. Auch in Italien wurde von unzureichenden Bekämpfungserfolgen im Zusammenhang mit kurativen Cymoxanilanwendungen berichtet (HAAS et al. 1996; GULLINO et al. 1997). Die Autoren vermuteten die Entwicklung von resistenten Stämmen als Ursache.

Da Cymoxanil nicht als Soloprodukt angewendet wird, sondern nur in Mischung mit einem Kontaktwirkstoff, wird der Wirkungsverlust erst bei rein kurativen Einsätzen deutlich, wenn Cymoxanil die Wirkung allein erbringen muß.

Neben der kurativen verfügt Cymoxanil auch über eine protektive Wirkung. Aufgrund des schnellen Abbaus des Wirkstoffes ist die Residualwirkung von Cymoxanil nur kurz. Sie wird deshalb durch Mischung mit Kontaktwirkstoffen wie Mancozeb, Dithianon, Folpet oder

Kupfer verstärkt. Dadurch konnte jedoch die protektive Wirkung des Cymoxanils mit den handelsüblichen Produkten nicht überprüft werden. Da kein reines Cymoxanil in formulierter Form für die Untersuchungen zur Verfügung stand, wurden spezielle Tests mit Topfreben oder im Freiland zur protektiven Wirkung von Cymoxanil nicht durchgeführt.

In den Untersuchungen zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration und der Dosis-Wirkungsbeziehungen wurden Blattscheiben jedoch vorbeugend und nicht kurativ behandelt. Auch unter diesen Bedingungen wurden verminderte Wirkungen festgestellt. Vorversuche zur Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration ergaben keine Unterschiede in der Wirksamkeit zwischen vorbeugend und kurativ (24 h) behandelten Blattscheiben. Diese Ergebnisse weisen somit darauf hin, dass es keine Unterschiede in der Wirkung des Cymoxanils gibt, solange die Anwendungszeitpunkte nicht zu weit von der Infektion entfernt liegen.

Die Anwendung von Aktuan in vorbeugender Anwendung erbrachte sowohl an Topfreben als auch im Freiland immer sehr gute Bekämpfungserfolge. So wurde an Trauben in einer Ertragsanlage, in der *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilkonzentration nachgewiesen werden konnten, ein Wirkungsgrad von 98,8 % erreicht (Abb. 17-19). Auch an Topfreben, die mit Mischungen, die steigende Anteile des resistenten Isolates App E2 enthielten, inokuliert wurden, war die Wirkung vollständig (Tab. 19). Allerdings kann davon ausgegangen werden, dass ein Großteil des Bekämpfungserfolges auf die Wirkung des Mischpartners, in diesem Fall das Dithianon zurückzuführen ist. Die gute Wirkung des rein protektiv wirkenden Dithianons wurde sowohl in Topfpflanzentests als auch im Freiland bestätigt. Dabei war kein wesentlicher Unterschied im Bekämpfungserfolg im Vergleich zur protektiven Anwendung von Aktuan festzustellen. Auch hier betrug der Wirkungsgrad von Dithianon an Trauben am Ende des Versuches fast 100 % (Abb. 17-19). Die Wirkungsgrade am Blatt schwankten zwar etwas stärker, unterschieden sich jedoch nicht signifikant von den Wirkungsgraden der protektiven Aktuan-Anwendung. Welcher Anteil der Wirkung dabei auf das Cymoxanil und welcher auf das Dithianon entfällt kann nicht abgeschätzt werden. Vergleicht man die Wirkstoffgehalte von Aktuan und Delan SC 750, so ist der Dithianongehalt im Aktuan um ca. 17 % reduziert. In anderen Mischfungiziden wird der Gehalt des Kontaktwirkstoffes gegenüber seiner alleinigen Anwendung jedoch oft noch deutlicher reduziert.

Verschiedene Autoren weisen auf synergistische Effekte zwischen Kontaktwirkstoffen und Wirkstoffen mit systemischen Eigenschaften hin (GRABSKI und GISI 1987; SAMOUCCHA und GISI 1987a; SAMOUCCHA et al. 1988, GISI et al. 1985). In Untersuchungen mit *P. viticola* und *Ph. infestans* wurde von jedem Wirkstoff in der Mischung wesentlich weniger benötigt als von dem jeweiligen Wirkstoff allein, um vergleichbare Wirkung zu erreichen (GRABSKI und GISI 1987; SAMOUCCHA und GISI 1987a). Auch die Wirkungsdauer konnte durch die Mischungen verlängert werden (SAMOUCCHA et al. 1988). In den zitierten Arbeiten wurden die Ergebnisse mit Mischungen der Wirkstoffe Mancozeb, Cymoxanil und Oxadixyl erzielt. Ob sich dies auf Mischungen mit anderen Kontaktwirkstoffen übertragen läßt, wurde nicht diskutiert. ZIOGAS und DAVIDSE (1987) konnten bei Mischungen zwischen Metalaxyl und Cymoxanil gegen *Ph. infestans* keine synergistischen Effekte feststellen.

Freilandversuche zeigten dass Mischungen aus einem Kontaktfungizid und Cymoxanil in protektiver Anwendung stärker wirken als der Kontaktwirkstoff allein (DOUCHET et al. 1977). GENET und VINCENT (1999) wiesen ebenfalls darauf hin, dass cymoxanilhaltige Mischfungizide ihre deutlichste Wirkung bei protektiver Anwendung besitzen.

Trotz der guten Bekämpfungserfolge der cymoxanilhaltigen Mischungen in vorbeugender Anwendung konnte ihre Überlegenheit im Vergleich zum reinen Kontaktwirkstoff im Freilandversuch in Niederhorbach nicht nachvollzogen werden, da auch Dithianon vorbeugend allein angewendet eine starke Wirkung aufwies. Möglicherweise fallen die diskutierten synergistische Effekte bei der Mischung mit Dithianon geringer aus als bei Mischungen mit Mancozeb oder werden erst bei einem noch höheren Infektionsdruck sichtbar. Aufgrund dieser geringen Unterschiede zwischen den beiden Präparaten wurde auf eine detaillierte Untersuchung synergistischer Wirkungen verzichtet.

GENET und VINCENT (1999) diskutierten die protektive Anwendung cymoxanilhaltiger Fungizide auch in Hinblick auf die Resistenzgefahr. Sie waren der Ansicht, dass bei vorbeugenden Anwendungen die Resistenzgefahr sehr gering ist. Dies bestätigten auch die eigenen Daten, die bei protektiver Anwendung von Aktuan im Topfpflanzenversuch und im Freiland ermittelt wurden. Hier wurden auch gegenüber den *Plasmopara*-Isolaten mit niedriger Cymoxanilsensitivität sehr gute Bekämpfungserfolge erzielt.

Die Diskussion der unterschiedlichen Anwendungsweisen (protektiv, kurativ) cymoxanilhaltiger Fungizide weist auf eine Problematik bei der Verwendung von Fungiziden mit systemischen und kurativen Eigenschaften hin. Auf der einen Seite ermöglicht die

kurative Anwendung die gezielte, infektionsorientierte Terminierung der Bekämpfungsmaßnahmen. Damit sind diese Wirkstoffe für die Anwendung innerhalb von Prognosesystemen besonders geeignet. Wenn aufgrund schlechter Witterungsverhältnisse keine Applikation erfolgen kann (z. B. Befahrbarkeit), ermöglicht der kurative Einsatz von Fungiziden noch eine rechtzeitige Bekämpfung. In Hinblick auf die Einsparung von Spritzungen bieten sie zudem ökonomische und ökologische Vorteile.

Auf der anderen Seite hat eine starke Nutzung der kurativen Eigenschaften aber auch Nachteile. Aufgrund ihrer spezifischen Wirkungsweise waren in der Vergangenheit vor allem systemisch wirkende Fungizide mit kurativen Eigenschaften von einer Resistenzbildung betroffen (BRENT 1995). Dies ist unter anderem ein Grund, warum sie in der Regel nur mit Kontaktfungiziden gemischt, im Handel sind. Die Mischung mit unspezifischen Wirkstoffen verringert den Selektionsdruck durch den spezifischen Wirkstoff deutlich und damit die Wahrscheinlichkeit der Resistenzbildung (SAMOUCHA und GISI 1987b). Bei der Behandlung von bereits bestehenden Infektionen ist die Gefahr der Selektion von resistenten Individuen in der Population im Vergleich zu vorbeugenden Behandlungen deutlich erhöht. Alle Pflanzenschutzmittelhersteller lehnen den kurativen Einsatz ihrer Produkte ab. Sie sind inzwischen dazu übergegangen die Präparate nur noch in vorbeugender Anwendung zu empfehlen. Diese Empfehlungen kommen in den Grundlinien des „Fungicide Resistance Action Comitee“ (FRAC) zum Ausdruck, in denen die kurative Anwendung von Fungiziden unter dem Aspekt der Resistenzentwicklung abzulehnen ist (BRENT 1995). FRAC wurde nach dem Auftreten von Fungizidresistenzen von Firmen der Pflanzenschutzmittelindustrie gegründet und beschäftigt sich mit der Beurteilung der Resistenzgefahr für neue Wirkstoffe sowie der Entwicklung und Empfehlung von Strategien zur Vermeidung von Resistenzbildung. Neben den Interessen der Pflanzenschutzmittelindustrie ist jedoch auch die Entscheidung eines Betriebsleiters nachzuvollziehen, bei bereits vorhandenem Befall Fungizide mit systemischen Eigenschaften zu verwenden und heilende Effekte der Präparate auszunutzen.

Ein vollständiger Verzicht auf kurative Einsätze von Fungiziden würde die Entwicklung von Prognosesystemen für die Rebenperonospora und ihre Umsetzung in die Praxis sicher erschweren. Dabei werden mit diesen Systemen in Verbindung mit moderner Kommunikationstechnik (z. B. Mobilfunk, Internet, Email) vor allem in Hinblick auf die Reduzierung von chemischen Pflanzenschutzmaßnahmen jedoch hohe Erwartungen verknüpft.

Die Vorbehalte bei der Nutzung des kurativen Potentials der systemischen und teilsystemischen Wirkstoffe eröffnet natürlich die Frage, ob die Verwendung von reinen Kontaktmitteln nicht sinnvoller wäre, da diese aus finanzieller Sicht bedeutend günstiger für den Anwender sind. Eine genauer Vergleich des Leistungspotentials (Wirkungssicherheit, Dauerwirkung) und der Kosten zwischen Kontaktmitteln und systemischen Fungiziden ist dazu notwendig.

Gezielte kurative Anwendungen scheinen nur in sehr beschränktem Maße und unter der Einhaltung eines strengen Anti-Resistenz-Managements möglich zu sein. Dazu gehört unter anderem der konsequente Wechsel von Fungiziden mit unterschiedlichen Wirkmechanismen sowie die Festlegung einer maximalen Anzahl an Behandlungen pro Vegetationsperiode für jede Wirkstoffgruppe. Sollten kurative Anwendung nicht zu vermeiden sein, empfiehlt es sich möglichst noch innerhalb der Inkubationszeit die Behandlung durchzuführen. Um die kurative Anwendung zu optimieren, sind exakte Aussagen über das postinfektionelle Wirkungspotential der einzelnen Wirkstoffe nötig. Es muss geklärt werden bis zu welchem Anteil der Inkubationszeit die einzelnen Wirkstoffe wirksam sind und wie sich unterschiedliche Temperaturen, die ja die Inkubationszeit bestimmen, auswirken. Weiter sind exakte Aussagen über die Wirkung an Blättern und Trauben nötig, da sich hier die Inkubationszeiten unterscheiden. In der Regel wird die kurative Wirkung der verschiedenen Präparate immer nur „in etwa“ und in Tagen angegeben. Hier sind klarere Zahlen notwendig (Stundenwerte bzw. Anteil Inkubationszeit). Sind diese Informationen nicht ermittelbar, so kann das kurative Potential lediglich als zusätzliche Sicherheit zur protektiven Wirkung betrachtet werden.

Ob und wie schnell ein Pilz Resistenzen gegen einen fungiziden Wirkstoff entwickelt, hängt von verschiedenen erreger- bzw. wirkstoffspezifischen Faktoren ab.

Während die Fungizide mit reinen Kontaktwirkungen (z. B. Dithiocarbamate, Kupfer, Schwefel usw.), die nur vorbeugend angewendet werden, bis heute nicht von Resistenzerscheinungen betroffen sind, kam es nach der Einführung der ersten systemischen Fungizide mit kurativen Eigenschaften sehr schnell zur Ausbildung von massiven Wirkungsverlusten durch Resistenzbildung (ECKERT 1988). Systemische und teilsystemische Fungizide verfügen, im Gegensatz zu den verschiedene physiologische Abläufe beeinträchtigenden Kontaktfungiziden („multi-site-inhibitors“), in der Regel über sehr spezifische Wirkmechanismen und -orte im Pathogen, die sich von denen der Wirtspflanze unterscheiden und diese nicht beeinträchtigen. Die schnelle Resistenzbildung

gegenüber den neueren Wirkstoffen hat weniger mit den systemischen Eigenschaften der Wirkstoffe zu tun, sondern ist in ihrer spezifischen Wirkungsweise begründet (ECKERT 1988, BRENT 1995). Häufig liegt nur ein einziger sehr spezifischer Wirkungsort im Pathogen vor („one-site“ oder „single-site-inhibitor“). Schon eine geringfügige Veränderung des Wirkungsortes durch Mutation kann bereits zu einem totalen Wirkungsverlust des Fungizides führen (SISLER 1988). Beispiele dafür sind die Resistenzen gegenüber Benzimidazolen und Phenylamiden (GEORGOPOULOS 1988, BRENT 1995).

Cymoxanil wird nicht zu den Risiko-Fungiziden gezählt, bei denen die Gefahr der Resistenzbildung besonders hoch ist, wie dies für z. B. Benzimidazole oder Phenylamide zutrifft. Die Gefahr der Resistenzbildung gegenüber Cymoxanil wurde bisher als moderat bewertet (BRENT 1995). Dies liegt unter anderem am Wirkungsmechanismus des Cymoxanil. Obwohl der primäre Wirkungsmechanismus noch immer unbekannt ist, konnte ein Einfluss auf verschiedene biochemische Vorgänge nachgewiesen werden. Einige Autoren konnten eine Hemmung der Nukleinsäuresynthese durch Cymoxanil feststellen (ARP 1987, FRITZ et al. 1984, DESPREAUX et al. 1981, LEROUX et al. 1985), wobei sich vor allem die RNA-Synthese als empfindlich erwies. Auch die Aufnahme von RNA-Bausteinen wurde gehemmt. ZIOGAS und DAVIDSE (1987) ermittelten bei *Ph. infestans* ebenfalls Einflüsse auf die Nukleinsäuresynthese, wobei sich jedoch die DNA-Synthese als empfindlicher erwies. Die Autoren vermuteten jedoch, dass es sich weder bei der DNA- noch bei der RNA-Synthese um den primären Wirkungsmechanismus handelt, sondern sekundäre Effekte für den reduzierten Einbau der Molekülvorstufen verantwortlich sind. Sie schlossen dies aus Versuchen mit isolierten Zellkernen bei denen kein Einfluss auf die RNA-Synthese durch Cymoxanil festgestellt werden konnte. Außerdem beobachteten sie, dass Mycelwachstum und Keimschlauchbildung bereits bei Cymoxanilkonzentrationen vollständig gehemmt wurden, welche die DNA-Synthese jedoch kaum beeinflussten. Möglicherweise sind die unterschiedlichen Ergebnisse zum einen auf die verschiedenen Pathogene sowie zum anderen auf die unterschiedlich lange Einwirkungsdauer des Wirkstoffes zurückzuführen (ZIOGAS und DAVIDSE 1987). Neben der Beeinträchtigung der Nukleinsäuresynthese wurde eine Störung der Synthese verschiedener Aminosäuren diskutiert, da durch ihre Zugabe der Hemmeffekt aufgehoben werden konnte (LEROUX et al. 1985). LEROUX et al. (1985) vermuteten, dass es sich beim Cymoxanil um ein „Pro-Fungizid“ handelt, das in der pilzlichen Zelle enzymatisch aktiviert wird und erst danach seine toxische Wirkung entfaltet. Eine Beeinträchtigung der Zellatmung und der Proteinbiosynthese konnte nicht beobachtet werden

(ZIOGAS und DAVIDSE 1987, ARP 1987). Daten zum Lipidstoffwechsel sind zum Teil widersprüchlich (ARP 1987). ZIOGAS und DAVIDSE (1987) schlossen eine Beeinträchtigung der Funktion und Synthese von Biomembranen aus. HOWARD et al. (1996, 2000) fanden Hinweise auf die Auslösung von hypersensitiven Reaktionen der Wirtspflanze durch Cymoxanil. Diese Beobachtungen konnten sowohl bei der Wirt-Parasit-Kombination Tomate bzw. Kartoffel/*Ph. infestans* als auch Rebe/*P. viticola* gemacht werden.

Die Verwendung von Cymoxanil stets in Mischung mit einem unspezifisch wirkenden Kontaktfungizid ist sicher der Hauptgrund dafür, dass es nicht zu einer schnellen Resistenzbildung gegenüber Cymoxanil gekommen ist. Auch die Erzeugung von resistenten Labormutanten bei verschiedenen *Phytophthora*-Arten gelang bisher nicht (HAMLEN und POWER 1998). So schlug unter anderem die Behandlung mit mutagenen Chemikalien (N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidin) bei *Ph. cactorum* zur Resistenzinduktion fehl (ARP 1987).

Welcher Resistenzmechanismus bei den *Plasmopara*-Isolaten mit verringerter Sensitivität vorliegt ist nicht bekannt. BUCHENAUER (1984) nennt eine Reihe von Mechanismen, die bei Pilzen zur Ausbildung von Fungizidresistenzen führen können, mit Beispielen zu den verschiedenen Mechanismen. Dazu gehören:

1. verminderte Wirkstoffaufnahme durch veränderte Membranpermeabilitäten
2. verstärkter Metabolismus des Wirkstoffes durch enzymatische Umsetzungen
3. verringerte Aktivierung fungitoxischer Vorstufen
4. Veränderungen des Wirkortes
5. Bildung alternativer Stoffwechselwege („physiologischer Bypass“)

Da über den Resistenzmechanismus bei *P. viticola* nur spekuliert werden kann, sind auf diesem Gebiet weitere Untersuchungen nötig.

Neben den wirkstoffspezifischen Eigenschaften wird das Resistenzrisiko auch durch das jeweilige Pathogen beeinflusst. Als resistenzfördernd ist ein hohes Vermehrungspotential eines phytopathogenen Erregers zu beurteilen. Dazu tragen eine hohe Anzahl kurzer Generationszyklen pro Vegetationsperiode und ein starkes Sporulationsvermögen bei (HOFFMANN et al. 1994, BRENT und HOLLOMON 1998). Diese Faktoren sind bei *P. viticola* sicherlich gegeben. Das Vorkommen sexueller Rekombination spielt ebenfalls eine Rolle (BRENT und HOLLOMON 1998). Wichtig für den Aufbau einer Fungizidresistenz in einer Pathogenpopulation sind außerdem die Fitness der resistenten Isolate, ihr Verhalten mit und ohne Selektionsdruck durch den jeweiligen Wirkstoff, ihre Frequenz in der Population

sowie die Häufigkeit der Anwendung des Fungizids und die Größe der behandelten Fläche (HOFFMANN et al. 1994).

Der Anteil resistenter Individuen an der Pathogenpopulation des Standortes ist für die Entwicklung der Resistenz von großer Bedeutung. Die Versuche mit Mischungen bei steigendem Anteil an Isolaten mit geringer Cymoxanilsensitivität unter Selektionsdruck durch eine kurative Aktuanbehandlung zeigten, dass die Selektion der resistenten Individuen sehr schnell und vollständig stattfindet. Bei allen Mischungen wurden die sensitiven Individuen erfolgreich bekämpft und nur die resistenten konnten sich entwickeln. Dies wird vor allem durch die Veränderungen des Sensitivitätsverlaufs der Mischungen vor und nach der Spritzung deutlich. Vor der Spritzung wiesen die Sensitivitätskurven der Mischungen einen gestaffelten Verlauf in Abhängigkeit ihres Gehaltes an resistenten Individuen auf (Abb. 22a und 23a). Durch die Cymoxanilbehandlung findet eine eindeutige Verschiebung des Verlaufs der Sensitivitätskurven bei allen Mischungen, die resistente Anteile enthielten, in Richtung Sensitivitätsverlust statt (Abb. 22b und 23b). Es kommt zu einer Angleichung des Verlaufs der Sensitivitätskurven bei den verschiedenen Mischungen mit der Dosis-Wirkungskurve des resistenten Ausgangsisolates. Die Ergebnisse zeigen, dass eine Selektion der resistenten Individuen schnell und vollständig stattfinden kann, wenn ein entsprechender Selektionsdruck auf die Population ausgeübt wird. Diese rasche Anreicherung resistenter Isolate kann damit zu Bekämpfungsproblemen führen.

Je höher der Anteil resistenter Individuen an der Population, desto größer ist der Befall und damit der Schaden bei Anwendung des jeweiligen Fungizids. Auch dieser Zusammenhang wird bei den durchgeführten Versuchen sehr deutlich. Sowohl die Befallsstärke als auch die Befallshäufigkeit nehmen mit steigendem Anteil resistenter Isolate an den Mischungen im Topfpflanzentest zu. Nach einer kurativen Aktuanbehandlung von inokulierten Topfreben waren bereits bei einem Anteil von 1 % resistenter Isolate in der Mischung mehr als ein Drittel aller Blätter im Durchschnitt infiziert. Bei 5 % resistenten Individuen zeigten bereits 82 % der Blätter Befall. Das resistente Ausgangsisolat erreichte letztlich eine mittlere Befallshäufigkeit von 98 %.

Bei der Befallsstärke konnten ähnliche Beobachtungen gemacht werden. Der Wirkungsgrad nahm hier mit steigendem Anteil resistenter Individuen kontinuierlich von 98 % bei 0,1 % resistenter Isolate über 63 % und 46 % bei 1% bzw. 5 % resistenter Isolate ab. Bei 25 prozentigem Anteil wurde nur noch ein Wirkungsgrad von knapp 35 % erreicht. Beim resistenten Ausgangsisolat konnte keine Verringerung der Befallsstärke durch die Behandlung

mehr festgestellt werden (Abb. 21). Insgesamt unterschieden sich sowohl die Befallshäufigkeit als auch die Befallsstärke der kurativ behandelten Topfreben ab einem Anteil von 5 % resistenter Individuen in der Mischung nicht mehr signifikant von der unbehandelten Kontrolle.

Bei einer Häufigkeit von 0,1 % war kein Wirkungsverlust feststellbar. Bei einem Anteil von 1 % Individuen mit verringerter Cymoxanilsensitivität in der Population kann im Topfpflanzentest im Gewächshaus bei einem kurativen Cymoxanileinsatz jedoch nicht mehr von einem ausreichenden Bekämpfungserfolg ausgegangen werden. Inwieweit aus diesen Ergebnissen ein Bereich hinsichtlich eines kritischen Anteils resistenter Individuen auch auf das Freiland übertragen werden kann, ist fraglich, da die Populationszusammensetzung im Freiland einer Reihe von Einflüssen ausgesetzt ist, die sie verändern kann. So unterliegt die Population durch Vermischung mit anderen Populationen aus Nachbarweinbergen einer ständigen Veränderung, wodurch der Anteil resistenter Individuen erhöht oder erniedrigt werden kann. Änderungen in der Populationszusammensetzung sind auch durch Keimung von Oosporen während der Vegetationsperiode denkbar. Während der Vegetationsperiode kann es unter klimatisch günstigen Bedingungen neben Sekundärinfektionen von Sporangien aus Ölflecken auch zu Infektionen durch gekeimte Oosporen kommen, die beträchtliche Stärken erreichen können (HILL und BRETH 1997). Die daraus resultierenden Individuen müssen nicht alle die gleiche Sensitivität gegenüber Fungiziden aufweisen, da die Oosporen aufgrund der Neukombination der Erbinformationen eine Heterogenität im Sensitivitätsniveau ausprägen können, so dass die Sensitivität einer Population je nach Zusammensetzung der gekeimten Oosporen in ihrer Ausgangssensitivität variiert.

Zum Reifebeginn werden die Pflanzenschutzmaßnahmen und damit auch die Fungizidbehandlungen im Weinbau eingestellt. Nach der letzten Spritzung kommt es häufig noch zu stärkerem Spätbefall durch *P. viticola* im Bereich der oberen Laubwand und an den Geiztrieben, da diese Bereiche nach einiger Zeit aufgrund von Neuzuwachs nicht mehr ausreichend geschützt sind. Auch in dieser Zeit kann es noch zu Resensibilisierungen der Populationen kommen. Da zu diesem Zeitpunkt eine Selektion der resistenten Individuen durch Fungizidbehandlungen entfällt, können sich jetzt auch die sensiblen Stämme wieder vermehren. Dies führt zur Erhöhung des sensitiven Anteils an der Population und zur erneuten Durchmischung mit sensiblen Stämmen und Neukombination der Erbanlagen, vor allem in der Zeit der Oosporenbildung (starke Oosporenbildung zwischen September und Oktober, GRÜNZEL 1961; GEHMANN 1987). Da es sich bei den Oomyceten um Diplonten handelt, könnte dies vor allem unter homozygot rezessiven Bedingungen der Resistenzallele von

Bedeutung sein (GEORGOPOULOS 1988, 1995). Gerade bei einer sehr geringen Anzahl resistenter Individuen in einer Population kann diese Durchmischung die Pathogenpopulation eines Standortes immer wieder erheblich resensibilisieren und den Anteil der resistenter Individuen senken.

Ist ein kritischer Anteil von Resistenten in der Population überschritten, kann es bei der kurativen Anwendung cymoxanilhaltiger Fungizide zu Bekämpfungsproblemen kommen. Ob die im Topfpflanzentest ermittelte Schwelle von 1 % Resistenter im Freiland gültig ist, kann aus den genannten Gründen nicht schlüssig beantwortet werden. Der Bekämpfungsversuch in Niederhorbach zeigte jedoch eindeutig, dass bei kurativer Cymoxanilanwendung Wirkungsverluste und somit Schäden auftreten, wenn sich resistente Individuen in der Population befinden. Eine während des Versuches durchgeführte Analyse der Populationszusammensetzung in den unbehandelten Kontrollen ergab am Versuchsstandort einen Anteil von 90 % an *Plasmopara*-Isolaten mit einer minimalen Hemmkonzentration von 500 mg/l und darüber. Aus den Ergebnissen konnte jedoch kein Rückschluss auf die Zusammensetzung der Population zu Beginn der Epidemie geschlossen werden, da die Probennahme nicht unmittelbar nach der Beobachtung der ersten Ölflecke stattfand. Trotzdem ist davon auszugehen, dass der Anteil resistenter Individuen an der Gesamtpopulation bereits vor dem Versuch sehr hoch gewesen sein muß.

Um die Entwicklung und Dynamik der resistenten Individuen besser abschätzen zu können, wären weitere Untersuchungen zur Populationszusammensetzung in mehreren Weinbergen mit unterschiedlichen Anteilen an resistenten Individuen mit und ohne Cymoxanilspritzungen nötig, die im Rahmen der durchgeführten Arbeit jedoch nicht durchgeführt werden konnten.

Die Einschätzung der Aussage von Tests mit Mischungen wurde im Zusammenhang mit Methoden für Resistenzmonitorings in Freilandpopulationen diskutiert. In Sensitivitätstests mit *P. viticola* gegenüber Phenylamiden im Blattscheibentest ermittelten verschiedene Arbeitsgruppen eine Nachweisgrenze von 1 % resistenter Sporangien in der Mischung, geringere Anteile konnten nicht mehr nachgewiesen werden (CLERJEAU et al. 1985; STÄHLE-CSECH et al. 1992). Andererseits konnte ab einem Anteil von 10 % Resistenter an der Mischung kein Befallsunterschied im Vergleich mit einer vollständig resistenten Population festgestellt werden (STÄHLE-CSECH et al. 1992).

SOZZI und STAUB (1987) ermittelten bei Untersuchungen mit Mischungen von *Ph. infestans* ebenfalls eine Nachweisgrenze von 1 % für Phenylamide. Durch Selektion großer Sporenmengen auf behandelten Kartoffelpflanzen konnte letztlich eine Nachweisgrenze von

0,001 % erreicht werden. Die Autoren befürchteten eine Überschätzung der Resistenzsituation im Freiland aufgrund der geringen Differenzierung der Tests zwischen den Mischungen.

Wie schnell ein Wirkungsverlust durch Fungizidresistenz auch im Feld sichtbar wird, hängt auch stark von den genetischen Bedingungen der Resistenz bei der Pathogen/Fungizid-Kombination ab (GEORGOPOULOS 1995). Während bei einer qualitativen Resistenz, bei der nur ein einziges Gen durch Mutation betroffen sein muß, um eine vollständige Resistenz zu erlangen, Wirkungsverluste erst bei einem Anteil von 10^{-2} bis 10^{-1} zu erwarten sind (BRENT 1995), werden Wirkungsverluste bei quantitativer Resistenz, bei der eine Reihe von mutierten Genen mit additiven Effekten beteiligt sein können, bereits eher sichtbar (GEORGOPOULOS 1995). Eine Aussage über die Art der Resistenz bei den *Plasmopara*-Isolaten mit der geringen Cymoxanilsensitivität ist bisher nicht möglich. Da ein vollständiger Wirkungsverlust im Blattscheibentest nicht festgestellt wurde und auch ein kontinuierlicher Sensitivitätsbereich zu existieren scheint, deutet sich eher eine quantitative Vererbung der Resistenz an, auch wenn die Verteilung der Isolate nicht den typischen unimodalen Verlauf aufzeigte (Abb. 6). Dies könnten jedoch letztlich nur Vererbungsuntersuchungen klären.

Die Fitness resistenter Individuen ist von großer Bedeutung für die Entwicklung der Resistenzsituation in einer Population. Resistenzeigenschaften verschaffen den resistenten Individuen Entwicklungsvorteile bei der Anwendung des jeweiligen Fungizids. Fehlt der Selektionsdruck, können sich die Resistenzeigenschaften jedoch auch negativ für die resistenten Stämme auswirken, da deren Erwerb mit dem Verlust von Vitalität und Fitness der resistenten Individuen verbunden sein kann (z. B. verringerte Pathogenität, langsames Wachstum). Dieses Phänomen wurde bei verschiedenen Pilz/Fungizid-Kombinationen beobachtet (FEHRMANN 1976, DEKKER 1982, BUCHENAUER 1984). Resistente Pilzisolat mit verringerter Fitness sind im Vergleich zu ihren sensitiven Artgenossen weniger konkurrenzfähig, wenn der Selektionsdruck durch das Fungizid ausbleibt. Dieser Wettbewerbsnachteil im Vergleich zu den sensitiven Wildtypen führt zu einer allmählichen Ausdünnung der resistenten Individuen aus der Population, was eine zunehmende Resensibilisierung zur Folge hat. Bleibt hingegen die Konkurrenzfähigkeit der resistenten Isolate erhalten, so muss mit der Erhaltung einer stabilen Resistenzsituation über viele Jahre und mit entsprechenden Konsequenzen für den Einsatz betroffener Fungizide gerechnet werden.

Verringerte Fitness wurde für dicarboximidresistente Isolate von *Botrytis cinerea* nachgewiesen (LORENZ und EICHHORN 1980, GOUOT 1988, POMMER und LORENZ

1995). Auch bei der Gruppe der Sterolbiosynthese-Hemmer wiesen resistente Isolate verschiedener Pathogene Nachteile in der Konkurrenzfähigkeit auf (KÖLLER 1988, BUCHENAUER 1995). *Phytophthora*- und *Plasmopara*-Isolate mit Resistenz gegen Phenylamidfungizide scheinen hingegen im Vergleich zu sensitiven Stämmen voll konkurrenzfähig zu sein (HERZOG 1984; GISI 1988). Auch bei verschiedenen pilzlichen Pathogenen mit Resistenz gegen Fungizide aus der Gruppe der Benzimidazole wurde keine verringerte Vitalität festgestellt (LORENZ und EICHHORN 1975, FEHRMANN 1976). So können *Botrytis*-Isolate mit starker Benomylresistenz auch noch 30 Jahre nach Ende der Anwendungen zu einem hohen Anteil in den Weinbergspopulationen nachgewiesen werden (LORENZ mündl. Mitteilung).

Aus Untersuchungen an Mischungen aus verschiedenen *Plasmopara*-Isolaten mit unterschiedlichen Resistenzniveaus, die über zehn Generationen ohne Selektionsdruck kultiviert wurden, ließen sich keine eindeutigen Schlussfolgerungen über die Konkurrenzfähigkeit der resistenten Isolate ableiten. Es konnte sowohl ein Anstieg der minimalen Hemmkonzentration als auch ein gleichbleibendes Sensitivitätsniveau sowie eine Verringerung der MHK-Werte bei den verschiedenen Mischungen beobachtet werden (Tab. 21). Dabei stiegen die MHK-Werte vor allem bei den beiden Mischungen mit geringem Anteil resistenter Individuen (0,1 %) an, während die MHK-Werte bei den Mischungen mit höherem Anteil resistenter Isolate (1 % bzw. 10 %) abfielen. Nur bei einer Mischung mit einem Anteil von 1 % resistenter Isolate blieb der MHK-Wert über die gesamte Versuchsdauer konstant. Auffällig war, dass sich vor allem innerhalb der letzten drei Generationen die Cymoxanilsensitivitäten stark änderten.

Auch die Analyse des Verlaufs der Dosis-Wirkungskurven (Abb. 25) erbrachte keine eindeutigen Ergebnisse zur Konkurrenzfähigkeit der *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität in den Mischungen ohne Selektionsdruck. Insgesamt wiesen die Verläufe der Sensitivitätskurven nur geringe Schwankungen innerhalb des Untersuchungszeitraumes auf. Einige dieser Schwankungen korrelierten jedoch mit Veränderungen der MHK-Werte. So konnte die Erhöhung der Sensitivität bei den beiden Mischungen mit 10 % resistenten Anteil in der zehnten Generationen auch im Verlauf der Dosis-Wirkungskurven festgestellt werden. Generell bleibt festzuhalten, dass auch nach zehn Generationen ohne Selektionsdruck *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität im Blattscheibentest noch nachgewiesen werden konnten. HERZOG (1984) konnte bei Mischungen zwischen phenylamidresistenten und sensiblen *Plasmopara*-Isolaten bei einem Mischungsverhältnis von 1:9 deutliche Resensibilisierungsvorgänge nach

acht Generationen auf unbehandelten Stecklingen feststellen, obwohl die resistenten Isolate keine verringerte Konkurrenzfähigkeit aufwiesen. Erst bei einem Anteil von 50 % des resistenten Isolates wurde keine Resensibilisierung festgestellt.

Um weitere Informationen über die Fitness der untersuchten Isolate zu erlangen, wurde die sporulierende Fläche der unbehandelten Kontrollen aus Blattscheiben- und Topfpflanzentests miteinander verglichen. Die besiedelte Fläche auf unbehandeltem Blattmaterial kann als Indikator für die Vitalität und Pathogenität von verschiedenen Isolaten von *P. viticola* herangezogen werden (HERZOG 1984; KAST 2001). Alle untersuchten Isolate erreichten im Blattscheibentest höhere Befallsstärken als im Topfpflanzentest. Dies läßt sich durch die unterschiedliche Empfindlichkeit der Blätter zu verschiedenen Altersstufen erklären. Mit zunehmendem Blattalter nimmt die Empfindlichkeit gegenüber *P. viticola* ab (STEIN et al. 1985, REUVENI 1998). Während für die Errechnung der Befallsstärken bei den Topfpflanzentests alle Blätter, und damit auch die älteren, in die Auswertung eingingen, wurden für die Blattscheibentests nur junge Blätter, die optimale Entwicklungsbedingungen für den Erreger aufweisen, verwendet.

Beim Vergleich der untersuchten Isolate wiesen Esch E5 und App E2 sowohl im Blatt- als auch im Topfpflanzentest vergleichbar hohe Befallsstärken auf. Bei den anderen Isolaten lagen die Befallsstärken deutlich darunter. Eine Ausnahme bildet Isolat Nh PS3. Während sich die Befallsstärke von Isolat Nh PS3 im Topfpflanzentest nur wenig von den Isolaten Muß E4, LSp E1 und RH E12 unterschied, erreichte es im Blattscheibentest die höchste Befallsstärke, die die ermittelten Ergebnisse von Esch E5 und App E1 noch überstieg. Die Beziehung zwischen Befallsstärke der Isolate und der Cymoxanilsensitivität ergab, dass sowohl beim Topfpflanzen- als auch beim Blattscheibentest mit steigenden EC_{50} -Werten eine Abnahme der Befallsstärken zu beobachten war (Abb. 27). Diese Beziehung gilt bei den Blattscheibentests jedoch nur, wenn der Messwert für das Isolat Nh PS3 als Ausreißer ausgeklammert wird. Insgesamt ließe sich aus der negativen Korrelation zwischen der Cymoxanilsensitivität und der Befallsstärke ein möglicher Entwicklungsnachteil für *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität in der Population ohne Selektionsdruck schließen.

Um die Fitness der Isolate mit geringer Cymoxanilsensitivität besser abschätzen zu können, sind weitere Untersuchungen nötig (z. B. Sporulationsstärke, Keimfähigkeit). Da sich auch sensitive Isolate in ihrer Virulenz unterscheiden können, wäre es günstig eine größere Zahl an sensitiven Isolaten zu überprüfen. Außerdem sollten vor allem Mischungsversuche mit einem anderen Konzentrationsbereich des Wirkstoffes und eine genauere Bestimmung der

resistenten und sensitiven Anteile in den Mischungen erfolgen. Auch die Entwicklung molekularer Marker könnte in diesem Zusammenhang interessant sein.

Die Bedeutung der *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität für die Bekämpfung in der Praxis wird unterschiedlich diskutiert. GENET und VINCENT (1999) halten das Auftreten von Bekämpfungsproblemen durch Isolate mit hoher minimaler Hemmkonzentration für unwahrscheinlich, wenn Cymoxanil in Mischung mit anderen Wirkstoffen und in protektiven Spritzfolgen verwendet wird. Im Gegensatz dazu machen GULLINO et al. (1997) *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Sensitivität unter anderem für unzureichende Bekämpfungserfolge in Norditalien (Piemont, Trentino) verantwortlich. Zur gleichen Schlussfolgerung gelangten HAAS et al. (1996) in Südtirol. Die Klärung dieser Frage spielt für die Praxis eine wichtige Rolle, da von ihr die weitere Anwendung cymoxanilhaltiger Fungizide in Weinbergen abhängt, in denen Populationen mit resistenten Isolaten nachgewiesen wurden.

Die durchgeführten Untersuchungen sowohl mit Topfreben im Gewächshaus als auch im Freiland zeigen eindeutig, dass *Plasmopara*-Isolate mit hoher minimaler Hemmkonzentration sehr wohl in der Lage sind, die Wirksamkeit des Fungizids deutlich zu vermindern. Nach Inokulation von Einzeltrieben im Freiland mit einem Isolat, das eine MHK >500 mg/l aufwies, war kein Bekämpfungserfolg durch eine kurative Cymoxanilbehandlung festzustellen. Im Gegensatz dazu erreichte eine kurative Behandlung mit Metalaxyl-M zum gleichen Zeitpunkt gute Wirkungsgrade. Auch unter den Bedingungen mit natürlichen Infektionen war die kurative Wirkung des Cymoxanils in einer Ertragsanlage mit resistenten Isolaten auch nach mehreren Spritzungen nicht ausreichend.

Dies gilt jedoch nur für kurative Anwendungen cymoxanilhaltiger Fungizide, wenn die Wirkung allein vom Cymoxanil in den Mischfungiziden erbracht werden muß. Bei protektivem Einsatz werden die resistenten Isolate erfolgreich kontrolliert. Damit wird die Aussage von GENET und VINCENT (1999) bestätigt, die bei protektiver Anwendung von Mischungen keine Probleme bei der Bekämpfung erwarteten. Inwieweit jedoch eine Trennung zwischen protektiver und kurativer Anwendung unter praktischen Bedingungen sinnvoll ist, muss grundsätzlich in Frage gestellt werden, da bei Freilandanwendungen in der Regel beide Wirkungsweisen gemeinsam zur Geltung kommen. Es ist aber keinesfalls notwendig auf den Wirkstoff generell zu verzichten. Vielmehr sollte in betroffenen Flächen der Einsatz kurzfristig ausgesetzt werden, um den Wirkstoff dann wieder in ein gezieltes Anti-Resistenzmanagement einzubauen.

Ein weiteres wichtiges Kriterium der Fungizidresistenz ist ihre stabile Vererbung auf die nachfolgenden Generationen (HOFFMANN et al. 1994). Um zu klären, ob es sich bei den *Plasmopara*-Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität um eine Resistenzerscheinung handelt, die an die Nachkommen weitergegeben wird, wurden diesbezüglich Untersuchungen mit Oosporen durchgeführt. Aus Oosporen, die aus einer Ausgangspopulation mit einer minimalen Hemmkonzentration von > 500 mg/l hervorgegangen waren, konnten Isolate gewonnen werden, die vergleichbare Cymoxanilsensitivitäten wie die Ausgangspopulation aufwiesen. Mit der Weitergabe dieser Eigenschaft auf die Tochtergeneration konnte der Nachweis erbracht werden, dass es sich bei dem Phänomen tatsächlich um eine echte Fungizidresistenz handelt.

Von den 695 ausgelegten Oosporen entwickelten 95 ein Primärsporangium. Dies entspricht einer Keimrate von ca. 14 %. CORTESI und ZERBETTO (1991) erreichten mit Oosporen aus Norditalien ähnliche Keimraten zwischen vier und 16 %. In französischen Arbeiten, die eine ähnliche Methodik verwendeten, wurden Keimraten zwischen 18 % und 30 % erzielt (RONZON-TRAN MANH SUNG und CLERJEAU 1988). Diese Arbeiten standen unter anderem im Zusammenhang mit Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz gegen Wirkstoffe aus der Gruppe der Phenylamide bei *P. viticola* (RONZON et al. 1984). Während sich die Angaben bei den italienischen Arbeiten auf die Ausbildung von Primärsporangien beziehen, machen RONZON-TRAN MANH SUNG und CLERJEAU (1988) keine Angaben, ob es sich bei den ermittelten Keimraten tatsächlich um erhaltene Infektionen oder um Bildungen von Primärsporangien handelte.

Die tatsächlich aus den gebildeten Primärsporangien resultierende Anzahl von Infektionen war in den vorliegenden Untersuchungen sehr niedrig, so dass insgesamt aus den 695 ausgelegten Oosporen nur 6 Infektionen auf Blattscheiben hervorgingen. GEHMANN (1987) erhielt bei Keimungsversuchen mit isolierten *Plasmopara*-Oosporen auf Wasseragar keine Keimung sondern nur bei Verwendung von oosporenhaltigen Blattscheiben (ca. 2500 Oosporen pro Blattscheibe), die mit Wasser und einer frischen Blattscheibe bedeckt wurden. Er machte auch keine Angaben über die Keimraten in seinen Versuchen, bezeichnete die Keimung insgesamt jedoch als gering. Oosporen, die auf Blattscheiben im Klimaschrank erzeugt wurden, wiesen eine niedrigere Keimfähigkeit auf als Oosporen, die aus natürlichen Infektionen oder künstlichen Inokulationen im Freiland hervorgingen (GEHMANN 1987). Insgesamt scheint die Keimung der Oosporen auf einem niedrigen Niveau abzulaufen. Dies wurde durch die eigenen Ergebnisse bestätigt.

Betrachtet man den zeitlichen Ablauf der Oosporenkeimung, so ist besonders der schnelle Keimungsbeginn nach bereits 24 h auffällig. Die Keimung setzte sich in den folgenden Tagen auf niedrigem Niveau fort. RONZON-TRAN MANH SUNG und CLERJEAU (1988) hingegen konnten die erste Keimung erst frühestens nach 6 Tagen beobachten. Sie errechneten eine durchschnittliche Keimungsdauer von 8,48 Tagen auf der Grundlage von 498 Oosporen. GEHMANN (1987) ermittelte Zeiten zwischen 24 h bis zu 26 Tagen vom Inkubationsbeginn bei 20°C bis zur ersten Oosporenkeimung.

Das Keimungsmaximum lag in der vorliegenden Untersuchung bei sechs Tagen nach dem Auslegen der Oosporen auf Wasseragar und verlief auch am siebten Tag noch auf annähernd gleich hohem Niveau. Die mittlere Keimungsdauer betrug 6,19 Tage. Sie war damit zwei Tage kürzer als die von RONZON-TRAN MANH SUNG und CLERJEAU (1988) ermittelte Dauer. Nach zehn Tagen wurden keine weiteren Keimungen beobachtet. Zum Ende des 14-tägigen Beobachtungszeitraumes traten in den Petrischalen vermehrt Kontaminationen auf, die eine weitere Beobachtung der Keimung erschwerten. Eine Beeinträchtigung der Keimungsfähigkeit durch die Kontamination kann nicht ausgeschlossen werden. Auch RONZON-TRAN MANH SUNG und CLERJEAU (1988) sowie CORTESI und ZERBETTO (1991) inkubierten die Oosporen über 14 Tage, machten jedoch keine Angaben, bis zu welchem Zeitpunkt Keimungen festgestellt wurden. GEHMANN (1987) stellte hingegen noch nach 26 Tagen Inkubation bei 20°C Keimungen bei Oosporen fest.

Die Abweichungen zwischen den ermittelten Werten der Oosporenkeimung kann verschiedene Gründe haben. Da die Untersuchungen in verschiedenen geographischen Regionen durchgeführt wurden (Frankreich, Norditalien, Südbaden), sind Schwankungen durch unterschiedliche Witterungseinflüsse denkbar. Lediglich bei den eigenen Untersuchungen und den Arbeiten von RONZON-TRAN MANH SUNG und CLERJEAU (1988) wurden die Oosporen unter kontrollierten Bedingungen in Klimaschränken gelagert. Bei den übrigen Untersuchungen wurden die Oosporen unter natürlichen Bedingungen im Freiland überwintert. Klimatische Faktoren wie Temperatur und Bodenfeuchte haben großen Einfluß auf den Keimungsverlauf und die Keimungsdauer (CORTESI und ZERBETTO 1991). Ein wichtiger Faktor ist außerdem die Reifedauer der Oosporen nach ihrer Entstehung (RONZON-TRAN MANH SUNG und CLERJEAU 1988). Faktoren, welche die Oosporenkeimung bei anderen Oomyceten beeinflussen, sind unter anderem das umgebende Substrat (KLISIEWICZ 1970/ *Ph. drechsleri*; SNEH et al. 1981/ *Ph. megasperma*; FÖRSTER et al. 1983/ *Ph. megasperma*), die Lichtverhältnisse (KLISIEWICZ 1970; MEYER 1975/ *Ph.*

cactorum; BANIHASHEMI und MITCHELL 1976/ *Ph. cactorum*; SNEH et al. 1981), Zucker, Ionenkonzentrationen und Pflanzenexudate im umgebenden Substrat (SNEH et al. 1981; DERNOEDEN und JACKSON 1981/ *Sclerophthora macrospora*; FÖRSTER et al. 1983) und das Alter der Oosporen (AYERS und LUMSDEN 1975/ verschiedene *Phytium*-Arten; MEYER 1975; FÖRSTER et al. 1983).

Eine genauere Untersuchung der Einflussfaktoren auf die Keimung der Oosporen von *P. viticola* könnte die Keimungsraten sicherlich noch verbessern. Dies würde auch helfen die Primärinfektionen im Frühjahr exakter bestimmen zu können. Die zuverlässige Ermittlung der Primärinfektion durch Oosporenkeimungen stellt für die Entwicklung von geeigneten Prognosemodellen bei *P. viticola* immer noch das Hauptproblem dar. Allerdings erhöhen niedrige Keimraten über einen längeren Zeitraum aus biologischer Sicht die Überlebenschancen für das Pathogen erheblich.

Zusätzlich zur Vererbung durch Oosporen wurde überprüft, ob die verringerte Cymoxanilsensitivität auch bei vegetativer Fortpflanzung im Freiland erhalten bleibt. Dazu erfolgte eine Inokulation einzelner Triebe in einer Ertragsanlage mit einem *Plasmopara*-Isolat mit hoher MHK. Die daraus resultierende Folgegeneration wurde reisoliert und erneut auf ihre Cymoxanilsensitivität untersucht. Die ermittelten MHK-Werte variierten zwischen 500 und >600 mg/l. Der überwiegende Anteil der 40 untersuchten Ölflecke (77,5 %) wies MHK-Werte von >500 mg/l auf und entsprach damit der Sensitivität des Ausgangsisolates. Bei neun Isolaten (22,5 %) verringerte sich der MHK-Wert auf 500 mg/l. Insgesamt ergaben sich bei den untersuchten Nachkommen nur geringfügige Abweichungen in der Cymoxanilsensitivität im Vergleich zum Ausgangsisolat. Inwieweit der Rückgang der MHK-Werte bei den neun Isolaten auf Resensibilisierungsvorgänge zurückführbar ist, kann aus den vorliegenden Ergebnissen nicht abgeleitet werden. Auch im Labor kultivierte Stämme wiesen bei Sensitivitätstests in seltenen Fällen geringe Schwankungen in ihrer minimalen Hemmkonzentration gegen Cymoxanil auf. Eine Vermischung der untersuchten Nachkommen mit natürlich am Standort vorkommenden *Plasmopara*-Sporen kann ausgeschlossen werden, da zu diesem Zeitpunkt noch keine natürlichen Infektionen stattgefunden hatten. Da sich *P. viticola* auf älteren Blättern schlechter als auf jungem Blattmaterial entwickelt (STEIN et al. 1985, REUVENI 1998), können Sensitivitätsschwankungen auch auf eine dadurch bedingte unterschiedliche Vitalität der Sporangien zurückzuführen sein. Das Alter der Blätter, von denen die Ölflecke stammten, wurde bei der Untersuchung nicht erfaßt. Es ist jedoch durch die Inokulationsmethode davon auszugehen, dass das Inokulum auf Blätter aller Altersstufen

gelangte. Inwieweit Schwankungen der Cymoxanilsensitivität zwischen den Generationen auch durch neue Kombinationen in der Kernverteilung, die durch das coenocytische Mycel der Oomyceten bedingt sein können, beeinflusst werden, bleibt ebenfalls zu prüfen.

Da der überwiegende Teil der getesteten Nachkommenschaften (77,5 %) vergleichbare MHK-Werte wie das Ausgangsisolat aufwies, kann davon ausgegangen werden, dass die Eigenschaft verringerter Cymoxanilsensitivität auch bei vegetativer Fortpflanzung des Pilzes zumindest über zwei Generationen im Freiland erhalten bleibt.

Somit kann festgestellt werden, dass die Ergebnisse aus den Experimenten zur generativen und vegetativen Vermehrung in Bezug auf die Vererbbarkeit der Eigenschaft „verminderte Cymoxanilsensitivität“ übereinstimmen und somit ihre Vererbung belegen.

Grundlage jedes erfolgreichen Anti-Resistenzmanagements im Pflanzenschutz ist der Wechsel zwischen verschiedenen Fungizidwirkstoffen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen (BRENT 1995). Für die Erarbeitung eines effektiven Resistenzmanagements wurde die Wirkung von vier Fungiziden aus anderen Wirkstoffgruppen an sechs *Plasmopara*-Isolaten, von denen fünf eine verringerte Cymoxanilsensitivität aufwiesen, im Topfpflanzentest untersucht. Dabei kamen das reine Kontaktfungizid Delan SC 750 (Dithianon), das Strobilurin Quadris (Azoxystrobin), das Morpholinderivat Forum (Dimethomorph) sowie das phenylamidhaltige Fungizid Ridomil Gold Combi (Metalaxyl-M + Folpet) zur Anwendung. Neben der protektiven Wirkung wurde bei Forum und Ridomil Gold Combi auch die kurative Wirkung untersucht.

In fast allen Pilz/Fungizidkombinationen wurden sehr gute Wirkungsgrade zwischen 94 % und 100 % für die Befallsstärke erreicht. Der Befall lag damit auf sehr niedrigem Niveau. Die ermittelten Wirkungsgrade für die Befallshäufigkeit schwankten zwischen 54,5 % und 100 %. Vor allem Dithianon fiel bei der Befallshäufigkeit etwas gegenüber den andern Fungiziden ab. Allerdings bewegte sich der Befall auch hier nur auf sehr niedrigem Niveau. Da der Wirkstoff über keine systemischen Eigenschaften verfügt, können schon durch geringe Lücken im Fungizidbelag Infektionen entstehen. Dimethomorph und Metalaxyl-M besitzen systemische Eigenschaften und werden akropetal im Pflanzengewebe transportiert (ALBERT et al. 1991, COHEN und COFFEY 1986). Das Azoxystrobin wird zumindest translaminar im Blatt verlagert, so dass dieser Wirkstoff Applikationslücken in gewissen Maße durch seine Eigenschaften besser kompensieren kann (GODWIN et al. 1992; BARTLETT et al. 1998).

In den Versuchen, bei denen der Bekämpfungserfolg nicht vollständig war, ist vor allem das Ergebnis der kurativen Anwendung von Ridomil Gold Combi gegenüber dem Isolat LSp E1

auffällig. Hier fallen die Wirkungsgrade sowohl für Befallshäufigkeit als auch Befallsstärke drastisch ab. Da bei einer kurativen Anwendung von Ridomil Gold Combi nur das Metalaxyl-M zur Wirkung kommt, liegt die Vermutung nahe, dass bei dem untersuchten Isolat neben einer reduzierten Sensitivität gegenüber Cymoxanil auch gleichzeitig eine Resistenz gegen Metalaxyl-M vorliegt. Dies würde bedeuten, dass ein *Plasmopara*-Isolat beide Resistenzen gleichzeitig im Genom trägt. Metalaxyl-M und Cymoxanil verfügen über verschiedene Wirkungsmechanismen und -orte. Verschiedene Autoren konnten in ihren Untersuchungen mit phenylamidresistenten *Plasmopara*-Stämmen feststellen, dass keine Kreuzresistenz zwischen Wirkstoffen aus der Gruppe der Phenylamide und Cymoxanil besteht (GRABSKI und GISI 1987; SAMOUCHA et al. 1988; GISI und COHEN 1996). Die Ausbildung von Kreuzresistenzen und die Entstehung multipler Resistenzen kann die Auswahl der einsetzbaren Wirkstoffen einschränken. So wurde für die Wirkstoffe aus der Gruppe der DMI-Fungizide, Phenylamide, Benzimidazole und Dicarboximide Kreuzresistenz nachgewiesen (BUCHENAUER 1984; MORTON und URECH 1988; SCHEINPFLUG 1988).

Bei dem Isolat LSp E1 scheint es sich jedoch vielmehr um eine Doppelresistenz zu handeln. Dies bestätigen auch die übrigen Ergebnisse der Topfpflanzentests, da eine Unwirksamkeit von Metalaxyl-M bei den übrigen Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität nicht beobachtet werden konnte. Trotz der nachgewiesenen Doppelresistenz zeigen die ermittelten Daten, dass eine ausreichende Palette an wirksamen Fungiziden zur Kontrolle von *Plasmopara*-Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität zur Verfügung steht.

5 Zusammenfassung

Der Erreger des Falschen Mehltaus der Rebe, *Plasmopara viticola*, kann unter günstigen Witterungsbedingungen erhebliche Schäden verursachen. Der Bekämpfungserfolg ist sehr eng mit dem Einsatzzeitpunkt der verschiedenen Wirkstoffe korreliert. Vor allem in prognosegestützten Bekämpfungsstrategien spielen daher die Wirkstoffe mit kurativem Potential eine große Rolle. Diese sind jedoch aufgrund ihrer spezifischen Wirkung häufig verstärkt resistenzgefährdet.

Cymoxanil gehört in die Gruppe der Wirkstoffe mit guter kurativer Wirkung, hat aber eine sehr kurze Wirkungsdauer. Aus diesem Grunde wird er nur in Mischungen angewendet, was letztlich dazu geführt hat, dass selbst nach vielen Jahren keine Resistenzen beobachtet wurden. Cymoxanilhaltige Fungizide spielten seit ihrer Zulassung bei der Bekämpfung von *P. viticola* im Weinbaugebiet Pfalz aufgrund ihrer guten Wirkung bei hohem Befallsdruck, ihrer besonderen Eignung im Rahmen von Prognosesystemen, der geringen Auswahl an wirksamen Alternativen und ihrer sehr guten Verträglichkeit gegenüber Raubmilben eine wichtige Rolle und wurden dementsprechend häufig eingesetzt. Erst als etwa ab 1995 in der Pfalz verstärkt Meldungen über Minderwirkungen nach mehrmaligen Anwendungen von Aktuan (Cymoxanil + Dithianon) bekannt wurden, stellte sich auch bei diesem Wirkstoff die Frage nach einer möglichen Resistenzentwicklung.

Ziel der Arbeit war es, einen Überblick über die Sensitivitätssituation im Anbaugebiet Pfalz zu erlangen, Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität genauer zu charakterisieren und eine mögliche Gefährdung der bestehenden Bekämpfungsstrategien durch diese Isolate abzuschätzen. Dies war der Ausgangspunkt für die vorliegende Arbeit in deren Verlauf folgende Ergebnisse erzielt wurden:

1. Die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration bei *P. viticola*-Isolaten aus der Pfalz und anderen Weinbaugebieten ergab einen breiten Sensitivitätsbereich zwischen 50 mg/l und >800 mg/l. Anhand von EC_{50} -Werten konnten Resistenzfaktoren bis zu 44 berechnet werden. Bei 45 % der untersuchten Proben wurden Isolate mit verringerter Sensitivität gegenüber Cymoxanil festgestellt.
2. Isolate mit verminderter Sensitivität gegenüber Cymoxanil konnten im gesamten pfälzischen Anbaugebiet sowie in Rheinhessen nachgewiesen werden.

3. Die erwünschte starke kurative Wirkung cymoxanilhaltiger Präparate war bei *P. viticola*-Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität in verschiedenen Testsystemen (Blattscheiben, Topfreben, Freiland) deutlich reduziert bzw. nicht mehr vorhanden. Im Blattscheibentest konnte ein eindeutiger Zusammenhang zwischen kurativer Wirkung von Cymoxanil und der Sensitivität des verwendeten Isolates festgestellt werden. Demgegenüber wurden durch Behandlungen mit Fungiziden aus anderen Wirkstoffgruppen zufriedenstellende kurative Wirkungsgrade erzielt.
4. In Versuchen mit definierten Mischungen aus zwei Monosporangienisolaten, die steigende Anteile eines Isolates mit verringerter Cymoxanilsensitivität aufwiesen (0,1; 1; 5; 10, 25 % Anteil an der Mischung), konnte eine negative Korrelation zwischen dem Anteil resistenter Isolate in der Mischung und der kurativen Wirkung von Cymoxanils festgestellt werden. Die Wirkung nahm mit steigendem Anteil dieser Isolate ab. Damit wurde ein Einfluss der Sensitivität der Isolate auf die Wirkung von Cymoxanil nachgewiesen.
Die kurative Behandlung der Mischungen mit Cymoxanil führte zu einer starken Selektion zu Gunsten der Isolate mit verringerter Sensitivität, was sich in Wirkungsverlusten im Blattscheibentest und Veränderungen im Verlauf der Dosis-Wirkungskurven auswirkte.
5. Die protektive Anwendung von cymoxanilhaltigen Mischfungiziden führte sowohl in Gewächshaus- als auch Freilandversuchen nicht zu Wirkungsverlusten, da *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Sensitivität bereits durch den vorbeugend wirkenden Mischpartner (z. B. Dithianon) erfasst werden. Der alleinige vorbeugende Einsatz von Cymoxanil spielt in der Praxis keine Rolle, da der Wirkstoff aufgrund seiner kurzen Wirkungsdauer ausschließlich in Mischung mit Kontaktfungiziden vertrieben wird. Wirkungsverluste sind nur bei rein kurativer Anwendung zu erwarten.
6. Die stabile Vererbung ist ein wichtiges Kriterium für eine Fungizidresistenz. Aus einer charakterisierten Mischpopulation mit verringerter Cymoxanilsensitivität (MHK >500 mg/l) konnten Oosporen erzeugt und wieder zur Keimung gebracht werden. Die Tochtergenerationen wiesen dieselben Cymoxanilsensitivitäten wie die Elterngenerationen auf, womit die Vererbung der Eigenschaft „verringerte Cymoxanilsensitivität“ nachgewiesen werden konnte. Auch bei vegetativer

Vermehrung der Isolate mit verminderter Cymoxanilsensitivität war die Fungizidresistenz genetisch bedingt.

7. In Untersuchungen an Einzelsporisolaten (Monosporangien- und Monozoo-sporenisolate) wurde bei den untersuchten Isolaten keine Variabilität der Cymoxanilsensitivität innerhalb eines Ölflecks festgestellt. Ölflecke aus einer Anlage wiesen hingegen unterschiedliche Sensitivitäten auf.
8. Die Kultivierung von Mischungen mit steigendem Anteil (0,1; 1; 10 %) eines *Plasmopara*-Isolates mit verringerter Cymoxanilsensitivität über zehn Generationen ohne Selektionsdruck ergab sowohl Hinweise auf Erhaltung des resistenten Anteils in den Mischungen als auch auf eine Resensibilisierung der Mischungen mit zunehmenden Generationen, was auf eine verminderte Fitness der resistenten Individuen hindeuten würde.
9. Eine reduzierte Fitness und Konkurrenzfähigkeit der *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität wird auch durch die Ergebnisse der Befallsstärke auf unbehandelten Blattscheiben bzw. an Topfreben gestützt. Es wurde eine negative Korrelation zwischen der besiedelten Fläche und der Sensitivität des Isolates ermittelt. Die besiedelte Blattfläche nahm mit steigenden EC_{50} -Werten der Isolate ab.
10. Die Prüfung der nicht-cymoxanilhaltigen Fungizide Delan SC 750 (Dithianon), Quadris (Azoxystrobin), Forum (Dimethomorph) und Ridomil Gold Combi (Metalaxyl-M + Folpet) gegenüber mehreren *Plasmopara*-Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität im Topfpflanzentest ergab in den meisten Fällen zufriedenstellende Wirkungsgrade. Eine Kreuzresistenz zwischen den genannten Wirkstoffen und Cymoxanil konnte bei den untersuchten Isolaten mit verringerter Cymoxanilsensitivität nicht festgestellt werden. Lediglich beim Isolat Lsp E1 wurde eine Minderwirkung des Fungizids Ridomil Gold Combi nachgewiesen, ein Hinweis auf eine Doppelresistenz gegenüber dem Wirkstoff Metalaxyl-M und Cymoxanil.
Auch in einer Ertragsanlage, in der cymoxanilresistente Isolate nachgewiesen werden konnten, wurde unter natürlichen Infektionsbedingungen eine zufriedenstellende Wirkung durch die nicht-cymoxanilhaltigen Fungizide gewährleistet. Insgesamt stehen für die Durchführung eines Wirkstoffwechsels im Rahmen eines aktiven Anti-

Resistenzmanagements eine Reihe von wirksamen Fungiziden zur Kontrolle von *Plasmopara*-Stämmen mit verringerter Cymoxanilsensitivität zu Verfügung.

Die dargelegten Ergebnisse belegen, dass *Plasmopara*-Isolate mit verringerter Cymoxanilsensitivität unter kurativen Anwendungsbedingungen cymoxanilhaltiger Fungizide zu Bekämpfungsproblemen in der Praxis führen können. Zur Vermeidung dieser Bekämpfungsprobleme sollte ein aktives Resistenzmanagement durchgeführt werden. Unter diesen Bedingungen ist ein Einsatz cymoxanilhaltiger Fungizide auch weiterhin möglich und kann einen wichtigen Beitrag bei der Vermeidung des Resistenzaufbaus bei anderen Wirkstoffen liefern.

6 Summary

Plasmopara viticola, the cause of grapevine downy mildew, can create significant yield loss under favourable weather conditions. The effectiveness of fungicidal sprays is correlated strongly to the timing of application. In prognosis based protection strategies, active ingredients with post-infection action are of major importance. Due to their specific mode of action, such chemicals convey an increased risk where development of resistance in the pathogen may occur.

Cymoxanil exhibits a good curative activity however residual activity is only short-lived. Because of this it has been used in mixtures which include the addition of contact fungicides. This may be the reason for a delay in the development of resistance over many years of intensive usage of the chemical. Because of their adequate performance under severe disease pressure, their special suitability in prognosis systems, the small number of fungicides with comparable qualities and the harmlessness to predatory mites, cymoxanil-containing fungicides played an important role in spraying schedules against *Plasmopara viticola* in the Pfalz, a vine-growing area of Germany, after their registration.

After repeated intensive use of Aktuan (cymoxanil + dithianone) an increase in complaints in regard to the effectiveness of that product had been recorded in the Pfalz since 1995. From these observations the development of resistance to cymoxanil was supposed.

The aim of this study was to characterize the situation on the sensitivity to cymoxanil in the vine-growing area of Pfalz, to characterize resistant isolates and to evaluate the danger for the existing protection strategies by them. This was the starting point for the current investigation. The following results were obtained in the course of the project:

1. The estimation of minimum inhibitory concentrations (MIC) of cymoxanil for isolates of *P. viticola* from Pfalz and other vine-growing areas resulted in a wide range of sensitivities between 50 mg/l and >800 mg/l. Based on EC₅₀-values resistance factors up to 44 could be calculated. Isolates with reduced sensitivity to cymoxanil have been found in 45 % of the investigated probes.
2. Isolates with reduced sensitivity to cymoxanil have been detected in the vine-growing areas of the Pfalz and in Rheinhessen.

3. Cymoxanil-containing fungicides showed decreased curative activity on *P. viticola* isolates with reduced sensitivity to cymoxanil in different test systems (leaf discs, potted vines, field vines). In leaf disc tests, a clear correlation between the post-infection activity of cymoxanil and the sensitivity of the isolate investigated was demonstrated. On the other hand, good curative effectiveness of fungicides with different modes of action were observed.
4. Experiments with mixtures of two monosporangial isolates, containing increasing portions of an isolate with reduced sensitivity to cymoxanil (0,1; 1; 5; 10, 25 % portion of the mixture), demonstrated a negative correlation between the portion of the resistant isolate in the mixtures and the effectiveness of a curative cymoxanil application. The effectiveness of cymoxanil decreased with an increased amount of resistant isolates in the mixtures. This illustrates the effect of the sensitivity of the isolate on the effectiveness of cymoxanil.
The curative application of cymoxanil on the described mixtures led to a strong selection pressure in favour of the isolates with reduced sensitivity. This resulted in changes in the sensitivity of each mixture in favour of a reduction in sensitivity.
5. A protective application of cymoxanil-containing fungicides did not lead to a loss of effectiveness in greenhouse tests and field trials. This was due to the effect of the protective partner (dithianon) in the mixtures. The use of only cymoxanil is not of practical relevance due to its short residual properties, thus cymoxanil is always applied in mixtures with contact fungicides. A loss in effectiveness may only be resultant from postinfection applications.
6. An important criterion for fungicide resistance is the stable inheritance. From a characterised population with reduced sensitivity to cymoxanil (MIC >500 mg/l) oospores could be obtained and subsequently germinated. The filial generations exhibited the same sensitivity to cymoxanil as the parental generation. This result demonstrated the inheritance of the quality „reduced sensitivity to cymoxanil“. The resistance was also stable under vegetative propagation.
7. No variability in the sensitivity to cymoxanil could be detected between single spore isolates originating from the same oilspot (monosporangial and monozygotic

- isolates). However, different oilspots originating from the same vineyard showed differing sensitivities.
8. Mixtures, containing increasing portions (0,1; 1 and 10 %) of a *P. viticola* -isolate with reduced sensitivity to cymoxanil, propagated for ten generations without selection pressure through the use of the fungicide resulted in a possible manifestation of the resistant portion in the mixtures as well as on a resensitisation over subsequent generations. This may indicate a reduced fitness of the resistant isolates.
 9. The results of disease severity assays on untreated leaf discs and potted grapevines indicated reduced fitness and a decreased ability of resistant isolates to compete with strains showing high sensitivity to cymoxanil. A negative correlation between the colonised leaf area and the sensitivity of the tested isolate was observed. The colonised leaf area decreased with increasing EC₅₀-values of the isolates.
 10. In tests using potted grapevines, the fungicides Delan SC 750 (dithianone), Quadris (azoxystrobin), Forum (dimethomorph) and Ridomil Gold Combi (metalaxyl-M + folpet) generally showed sufficient effectiveness on *Plasmopara*-isolates with reduced sensitivity to cymoxanil. Cross resistance could not be detected between cymoxanil and the other active ingredients tested. However, with isolate Lsp E1, Ridomil Gold Combi exhibited a reduction in effectiveness, indicating multiple resistance to metalaxyl-M and cymoxanil in this isolate.

In field trials in a vineyard with a natural occurring *Plasmopara* population (including resistant isolates) sufficient effectiveness of these fungicides was observed. A number of fungicides with different modes of action can be used in the control of *P. viticola*-isolates showing reduced sensitivity to cymoxanil to incorporate a resistance management strategy.

These results demonstrate that *Plasmopara*-isolates with reduced sensitivity to cymoxanil can cause problems in disease control when cymoxanil-containing fungicides are used in postinfection applications. To avoid these problems an active resistance management program is recommended. Under such a program, the further use of cymoxanil-containing fungicides is possible (in combination with other groups) and can help to prevent the build up of resistance to other groups of fungicides.

7 Literaturverzeichnis

- ABBOTT, W. S. (1925): A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* **18**; S. 265-267.
- AGRIOS, G. N. (1988): *Plant Pathology*; Academic Press, San Diego, Kalifornien; 803 S.
- AINSWORTH, G. C.; SPARROW, F. K. und SUSSMAN, A. S. (1973): *The fungi – an advanced treatise Vol. IVA*. Academic Press, New York; 621 S.
- ALBERT, G.; THOMAS, A. und GUEHNE, M. (1991): Fungicidal activity of dimethomorph on different stages in the life cycle of *Phytophthora infestans* and *Plasmopara viticola*. ANPP – Third International Conference on Plant Diseases; 3.-5.12.1991, Bordeaux, Frankreich. 9 S.
- ANONYM (1981): Guideline for the efficacy evaluation of fungicides- *Plasmopara viticola*. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), Paris; Nr. **31**. 6 S.
- APPEL, J. und FELSENSTEIN, F. G. (2000): Entwicklung der Strobilurinresistenz des Weizenmehltaus in Europa in den Jahren 1998 bis 2000. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Landwirtschaft und Forstwirtschaft (52. Deutsche Pflanzenschutztagung)* **376**; S. 97-98.
- ARP, U. (1987): Beiträge zur Wirkungsweise der beiden Fungizide Metalaxyl und Cymoxanil in Oomyceten sowie Untersuchungen zur Resistenzentwicklung von *Phytophthora cactorum* gegenüber diesen Substanzen. Dissertation Universität Bonn; 175 S.
- AUST, H.-J.; BUCHENAUER, H.; KLINGAUF, F.; NIEMANN, P.; PETZOLD, R.; PÖHLING, H. M.; SCHEINPFLUG, H. und SCHÖNBECK, F. (1993): *Glossar phyto-medizinischer Begriffe*; Ulmer Verlag, Stuttgart; 150 S.
- AYERS, W. A. und LUMSDEN, R. D (1975): Factors affecting production and germination of oospores of three *Phytium* species. *Phytopathology* **65**; S. 1094-1100.

- BAAR, D. J. S. (1992): Evolution and kingdoms of organisms from the perspective of a mycologist. *Mycologia* **84**; S. 1-11.
- BANIHASHEMI, Z. und MITCHELL, J. E. (1976): Factors affecting oospore germination in *Phytophthora cactorum*, the incitant of apple collar rot. *Phytopathology* **66**; S. 443-448.
- BARTLETT, D. W.; GODWIN, J.R. und KAPPES, E.M. (1998): Azoxystrobin: Biokinetik und systemische Wirkung. Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (51. Deutsche Pflanzenschutztagung) **357**; S. 132-133.
- BELASCO, I. J.; HAN, J. C. Y.; CHRZANOWSKI, R. L. und BAUDE, F. J. (1981): Metabolism of [¹⁴C]Cymoxanil in grapes, potatoes and tomatoes. *Pesticide Science* **12**; S. 355-364.
- BISSBORT, S. (1992): Beurteilung einer möglichen Resistenzentwicklung gegenüber Dimethomorph, dargestellt an *Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis) Berl. & de Toni und *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet. Dissertation, Universität Gießen; 135 S.
- BLEYER, G. und HUBER, B. (1996): Bekämpfung der Peronospora nach dem Freiburger Prognosemodell. *Deutsches Weinbau-Jahrbuch* **47**; S.101-112.
- BLEYER, G. und HUBER, B. (1997): Peronosporabekämpfung 1997. *Der Badische Winzer*; S. 28-33.
- BOMPEIX, G.; FETTOUCHE, F. und SAURDRESSAN, P. (1981): Mode d'action du phosethyl Al. *Phytiatrie-Phytopharmacie* **30**; S. 257-272.
- BOMPEIX, G.; RAVISE, A.; RAYNAL, G.; FETTOUCHE, F. und DURAND, M. C. (1980): Modalites de l'obtention des necroses bloquantes sur feuilles detachees de tomates par l'action du tris-O-ethyl phosphonate d'aluminium (phosethyl d'aluminium), hypothese sur son mode d'action in vivo. *Ann. Phytopathol.* **12**; S. 337-351.

- BRENT, K. J.(1988): Monitoring for fungicide resistance. . In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 9-11.
- BRENT, K. J. (1995): Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed? FRAC Monograph Nr. 1; GIFAP, Brüssel; 48 S.
- BRENT, K. J. und HOLLOMON, D. W. (1998): Fungicide resistance: The assessment of the risk. FRAC Monograph 2; GCPF, Brüssel; 48 S.
- BROWN, M.; MOORE, J. N.; FENN, P. und MC NEW, R. W. (1999): Comparison of leaf disk, greenhouse and field screening procedures for evaluation of grape seedlings for downy mildew resistance. Hortscience **34**; S. 331-333.
- BUCHENAUER, H. (1984): Resistenzentwicklung von Pilzen gegenüber Fungiziden und Strategien zur Vermeidung von Fungizidresistenz. Gesunde Pflanze **36**; S. 132-142.
- BUCHENAUER, H. (1995): DMI-fungicides – side effects on the plant and problems of resistance. In: Modern selective fungicides; LYR, H. (Ed.); Gustav Fischer Verlag, Jena; S. 259-290.
- CAVALIER-SMITH, T. (1986): The kingdom Chromista: Origin and systematics. Progress in Phycological Research **4**; S. 309-347.
- CHRISTENSEN, E. R. und NYHOLM, N. (1984): Ecotoxicological assay with algae: Weibull dose-response curves. Environ Sci. Technol. **18**; S. 713-718.
- CLERJEAU, M. (1994): Strategies for managing resistance to fungicides in practice in viticulture. In: Fungicide Resistance. HEANEY, S.; SLAWSON, D.; HOLLOMON, D.W.; SMITH, M.; RUSSELL, P.E. und PARRY, D.W. (Eds.) British Crop Protection Council Monograph Nr. 60; S. 365-369.
- CLERJEAU, M.; MOREAU, B. und PIGANEAU, B. (1985): Methode d'évaluation du taux de souches résistantes aux anilides dans une population de *Plasmopara viticola*: Application a la surveillance du vignoble en France. EPPO Bulletin **15**; S. 423-430.

- COHEN, Y. und COFFEY, M. D. (1986): Systemic fungicides and the control of oomycetes. *Ann. Rev. Phytopathology* **24**; S. 311-338.
- CORTESI, P. und ZERBETTO, F. (1991): Maturation dynamics of *Plasmopara viticola* oospores in Northern Italy. Proceedings of the first International *Plasmopara*-Workshop 1991, Geneva, New York; S. 1-12.
- DAHMEN, H.; STAUB, T. und SCHWINN, F. J. (1983): Technique for long-term preservation of phytopathogenic fungi in liquid nitrogen. *Phytopathology* **73**; S. 241-246.
- DAVIDSE, L. C. (1995): Phenylamide fungicides – biochemical action and resistance. In: *Modern selective fungicides*; LYR, H. (Ed.); Gustav Fischer Verlag, Jena; S. 347-354.
- DEKKER, J. (1982): Can we estimate the fungicide-resistance hazard in the field from laboratory and greenhouse tests? In: *Fungicide resistance in crop protection*; DEKKER, J. und GEORGOPOULOS, S. G. (Eds.); Pudoc Wageningen; S. 128-138.
- DELP, C. J. und DEKKER, J. (1985): Fungicide resistance: Definitions and use of terms. *EPPO Bulletin* **15**; S. 333-335.
- DERNOEDEN, P. H. und JACKSON, N. (1981): Enhanced germination of *Sclerophthora macrospora* oospores in response to various chemical and physical treatments. *Transactions of the British Mycological Society* **76**; S. 337-341.
- DESPREAUX, D.; FRITZ, R. und LEROUX, P. (1981): Mode d'action biochimique du cymoxanil. *Phytiatrie-Phytopharmacie* **30**; S. 245-255.
- DICK, M. (1995): Sexual reproduction of the Peronosporomycetes (chromistan fungi). *Canadian Journal of Botany* **73**; S. 712-724.

- DOUCHET, J. P.; ABSI, M.; HAY, S. J. B.; MUNTAN, L. und VILLANI, A. (1977): European results with DPX-3217, a new fungicide for the control of grape downy mildew and potato late blight. Proceedings of the British Crop Protection Conference 1977- Pest and Diseases, Farnheim, Großbritannien; S. 535-540.
- DUNNETT, C. W. (1955): A multiple comparisons procedure for comparing several treatments with a control. Journal of the American Statistical Association **50**; S. 1096-1121.
- ECKERT, J. W. (1988): Historical development of fungicide resistance in plant pathogens. In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 1-3.
- EHRENHARDT, H.; EICHHORN, K.W. und THATE, R. (1973): Zur Frage der Resistenzbildung von *Botrytis cinerea* gegenüber systemischen Fungiziden. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes **25**; S. 49-50.
- ERWIN, O. und RIBEIRO, O. K. (1996): Introduction to the genus *Phytophthora*. In: *Phytophthora* diseases worldwide. ERWIN, O. und RIBEIRO, O. K (Eds.) APS Press, St. Paul, USA; S. 1-7.
- FEHRMANN, H. (1976): Systemische Fungizide - ein Überblick Teil II: Fungizidresistenz phytopathogener Pilze. Phytopathologische Zeitschrift **86**; S. 144-185.
- FENN, M. E. und COFFEY, M. D. (1984): Studies on the in vitro and in vivo antifungal activity of fosetyl-al and phosphorous acid. Phytopatology **74**; S. 606-611.
- FLICK, G.; HOLZ, B.; HUBER, W.; KASSEMAYER, H.-H.; KAST, W. K.; LIPPS, H. P. und LORENZ, D. (1988): Richtlinie für die Prüfung von Fungiziden zur Bekämpfung von *Plasmopara viticola* de Bary an Reben (22-1.1). Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln Teil II; Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft; 12 S.

- FÖRSTER, H.; RIBEIRO, O. K. und ERWIN, D. C. (1983): Factors affecting oospore germination of *Phytophthora megasperma* f. sp. *medicaginis*. *Phytopathology* **73**; S. 442-448.
- FRITZ, R.; DESPREAUX, D. und LEROUX, P. (1984): Studies on the mode of action of cymoxanil. *Tag.-Ber., Akad. Landwirtsch.-Wiss. DDR, Berlin* **222**; S. 65-69.
- FÜHR, I. (1999): Weinbauliches Versuchswesen im Rahmen des Arbeitsprogrammes „Umwelt und neue Technologien“ (Peronosporaprognose in der Pfalz 1999); 48 S.
- FÜHR, I. und LORENZ, D. (1998): First indications of reduced cymoxanil-sensitivity in populations of *Plasmopara viticola* in South-West Germany. In: Third International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew, Loxton, South Australia; MAGAREY, P. A.; TSCHIRPIG, K. L. und SCARFE, B. F. (Eds.); SARDI Research Report Series Nr. 22; S. 22
- FRY, W. E. und GODWIN, S. B. (1995): Recent migrations of *Phytophthora infestans*. In: Proc. EAPR, *Phytophthora* 150; DOWLEY, J.; BANNON, E.; COOKE, L. R.; KEANE, T. und O'SULLIVAN, E. (Eds.); Boole Press Ltd., Dublin; S. 89-95.
- GEHMANN, K. (1987): Untersuchungen zur Epidemiologie und Bekämpfung des Falschen Mehltaus der Weinrebe, verursacht durch *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt. de Bary) Berl. & de Toni. Dissertation Universität Hohenheim; 170 S.
- GEHMANN, K. (1991): Biologie von *Plasmopara viticola*. In: Neue Erkenntnisse zur *Plasmopara*-Prognose; Symposium 4.-5. Juni 1991, Staatliches Weinbauinstitut Freiburg im Breisgau; S. 3-7.
- GENET, J.-L. und VINCENT, O. (1999): Sensitivity of European *Plasmopara viticola* populations to cymoxanil. *Pesticide Science* **55**; S. 129-136.

- GENET, J.-L. und JAWORSKA., G. (1998): Der Einfluss der Temperatur auf die kurative Wirkung von Cymoxanil (Curzate) auf *Plasmopara viticola*. Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem (51. Deutsche Pflanzenschutztagung) **357**; S. 145.
- GEORGOPOULOS, S. G. (1988): Genetics and population dynamics. In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 12-13.
- GEORGOPOULOS, S. G. (1995): The genetics of fungicide resistance. In: Modern selective fungicides; LYR, H. (Ed.); Gustav Fischer Verlag, Jena; S. 39-52.
- GERHARDT, R. und GRIEBEL, T. (1998): Quadris Duo, die neue Fungizidgeneration im Weinbau. Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (51. Deutsche Pflanzenschutztagung) **357**; S. 135-136.
- GISI, U. (1988): Population dynamics in Peronosporales treated with phenylamide fungicides. In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 66-71.
- GISI, U.; BINDER, H. und RIMBACH, E. (1985): Synergistic interactions of fungicides with different modes of action. Transactions of the British Mycological Society **85**; S. 299-306.
- GISI, U. und COHEN, Y. (1996): Resistance to phenylamide fungicides: A case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure. Annual Review of Phytopathologie 34; S. 549-572.
- GODWIN, J. R.; ANTHONY, V.M.; CLOUGH, J.M. und GODFREY, C.R.A. (1992): ICI A5504: A novel, broad spectrum, systemic β -methoxyacrylate fungicide. Brighton Crop Protection Conference 1992, Brighton; S. 435-442.
- GOUOT, J.-M. (1988): Characteristics and population dynamics of *Botrytis cinerea* and other pathogens resistant to dicarboximides. In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 53-55.

- GRABSKI, C. und GISI, U. (1987): Quantification of synergistic interactions of fungicides against *Plasmopara* and *Phytophthora*. *Crop Protection* **6**; S. 64-71.
- GRIFFITH, J. M.; DAVIS, A. J. und GRANT, B.R. (1992): Target sites of fungicides to control oomycetes. In: Target sites of fungicide action; KÖLLER, W. (Ed.), CRC Press, London, S. 70-100.
- GRÜNZEL, H. (1961): Untersuchungen über die Oosporenbildung beim Falschen Mehltau der Weinrebe (*Peronospora viticola* de Bary). *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **68**; S. 65-80.
- GUBLER, W. D.; YPEMA, H. L.; OUIMETTE, D. G. und BETTEGA, L. J. (1994): Resistance of *Uncinula necator* to DMI fungicides in California vines. In: Fungicide Resistance. HEANEY, S.; SLAWSON, D.; HOLLOMON, D. W.; SMITH, M.; RUSSELL, P. E. und PARRY, D. W. British Crop Protection Council Monograph Nr. 60; S. 19-25.
- GULLINO, M. L.; MEZZALAMA, M.; MESCALCHIN, E. und GARIBALDI, A. (1995): Fungicide resistance in Italian vineyards: An update. IOBC/OILB wprs/srop; Working Group "Integrated Control in Viticulture"; 7.-10. März 1995; Freiburg im Breisgau; S. 1-2.
- GULLINO, M. L.; MESCALCHIN, E. und MEZZALAMA, M. (1997): Sensitivity to cymoxanil in populations of *Plasmopara viticola* in northern Italy. *Plant Pathology* **46**; S. 729-736.
- GULLINO, M.L.; GILARDI, G.; STEFANELLI, G.; MESCALCHIN, E.; GARIBALDI, A. (2001): Presenza di popolazioni di *Plasmopara viticola* resistenti ai fungicidi inibitori della respirazione mitocondriale (QoI STAR) in vigneti dell'Italia nord-orientale. *Informatore Fitopatologico - La Difesa delle piante*, **51**, S. 86-87
- HAAS, E.; AMPLATZ, B. und RAIFER, B. (1991): Gezielte Peronosporabekämpfung nach Laimburger Konzept. In: Neue Erkenntnisse zur *Plasmopara*-Prognose; Symposium 4.-5. Juni 1991, Staatliches Weinbauinstitut Freiburg im Breisgau; S. 43-47.

- HAAS, E.; ROSCHATT, C. und RAIFER, B. (1996): Über den Einsatz rückwirkender Peronosporamittel. Obstbau-Weinbau-Mitteilungen des Südtiroler Beratungsrings, Bozen **33**; S. 141-143.
- HAMLEN, R. A. und POWER, R. (1998): Distribution of sensitivity response to cymoxanil within global populations of *Phytophthora infestans*. Pesticide Science **53**; S. 101-103.
- HARTUNG, J.; EPELT, B. und KLÖSENER, K.-H. (1989): Statistik. Oldenbourg Verlag; 975 S.
- HARTUNG, J. und EPELT, B. (1995): Multivariate Statistik. Oldenbourg Verlag; S. 815.
- HARTUNG, J. und SCHMITZ, K.-J. (1978): Anlage und Interpretation statistischer Experimente. Verlag Peter Wegener, Bonn; 73 S.
- HEIMANN-DETHELFFSEN, D. (1991): Prüfung der Auswirkung von Pflanzenschutzmitteln auf Raubmilben im Weinbau (23-2.3.4). Richtlinien für die Prüfung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren Teil VI; Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft; 9 S.
- HERZOG, J. (1984): Resistenz gegenüber Metalaxyl und genetische Variabilität von *Plasmopara viticola*. Dissertation Eidgenössische Technische Hochschule Zürich Nr. 7599; 120 S.
- HERZOG, J. und SCHÜEPP, H. (1985): Three types of sensitivity to metalaxyl in *Plasmopara viticola*. Phytopathologische Zeitschrift. **114**; S. 90-93.
- HILL, G. K. (1989): Neues zur Biologie der Rebenperonospora. Der Deutsche Weinbau **12**; S. 471-474.
- HILL, G. K. (1991a): *Plasmopara* Risikoprognose Oppenheim – ein deterministisches Computermodell für die Weinbauberatung. In: Neue Erkenntnisse zur *Plasmopara*-Prognose; Symposium 4.-5. Juni 1991, Staatliches Weinbauinstitut Freiburg im Breisgau; S. 18-24.

- HILL, G. K. (1991b): Erfahrungen mit dem *Plasmopara* Risikomodell Oppenheim (P.R.O.) im Praxiseinsatz in Rheinhessen. In: Neue Erkenntnisse zur *Plasmopara*-Prognose; Symposium 4.-5. Juni 1991, Staatliches Weinbauinstitut Freiburg im Breisgau; S. 54-58.
- HILL, G. K. (1994): Prognose der Primärinfektion – Vierzig Jahre und kein bißchen weiter? Das Deutsche Weinmagazin **14**; S. 20-23.
- HILL, G. K. und BRETH, K. (1997): Severe primary infections of *Plasmopara viticola* – a plant pathologists nightmare. Die Weinwissenschaft **52**; S. 150-151.
- HILLEBRAND, W. und EICHHORN, K. W. (1984): Rebschutz-Taschenbuch; Fachverlag Dr. Fraund, Wiesbaden; 368 S.
- HILLEBRAND, W.; LORENZ, D. und LOUIS, F. (1998): Rebschutz-Taschenbuch; Fachverlag Fraund, Mainz; 269 S.
- HOFFMANN, G. M.; NIENHAUS, F.; POEHLING, H.-M.; SCHÖNBECK, F.; WELTZIEN, H. C. und WILBERT, H. (1994): Lehrbuch der Phytomedizin., Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin; 542 S.
- HOOS, D. (1989): Untersuchungen zur Populationsdynamik der Raubmilbe *Typhlodromus pyri* Scheuten 1857 (Acari, Phytoseiidae) im Agrarökosystem Weinberg. Dissertation Universität Kaiserslautern; 211 S.
- HOWARD, R. J.; FERRARI, M.; SHILLINGFORD, C.; STIDHAM, M.; POWER, R. und HAMLEN, R. (1996): Biology of Cymoxanil action against *Phytophthora infestans* infection of tomato and potato. Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference 1996, Brighton, Großbritannien; S. 933-936.
- HOWARD, R. J.; FERRARI, M.; GENET, J.-L. und STIDHAM, M. (2000): Biology of Curzate action against *Plasmopara viticola* infection on grape. AFPP - Sixieme conference internationale sur les maladies des plantes, Tours, Frankreich; S. 959-966.

- KASSEMEYER, H.-H. (1991): *Plasmopara*-Prognose mit einem elektronischen Peronospora-Warngerät. In: Neue Erkenntnisse zur *Plasmopara*-Prognose; Symposium 4.-5. Juni 1991, Staatliches Weinbauinstitut Freiburg im Breisgau; S. 29-34.
- KAST, W. K. (1991): Stufenweise Risiko-Analyse SRA. In: Neue Erkenntnisse zur *Plasmopara*-Prognose; Symposium 4.-5. Juni 1991, Staatliches Weinbauinstitut Freiburg im Breisgau; S. 25-28.
- KAST, W. K. (1997): Gezielte Peronosporabekämpfung. *Rebe und Wein* **50**; S. 234-236.
- KAST, W. K. (2001): Inter-isolate variation of virulence of *Plasmopara viticola* on resistant vine varieties. IOBC/OILB wprs/srop; Working Group "Integrated Control in Viticulture"; 3.-7. März 2001; Ponte de Lima, Portugal; S. 30-36.
- KLINKENBERG, H.; J. STIERL, R. und DEHNE, H. W. (1998): Investigations on fungicide resistance in oomycetes. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* **63**; S. 1009-1015.
- KLINKENBERG, H. J. und DEHNE, H. W. (1998): Untersuchungen zur Fungizidresistenz bei Oomyceten. *Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem (51. Deutsche Pflanzenschutztagung)* **357**; S. 165-166.
- KLISIEWICZ, J. M. (1970): Factors affecting production and germination of oospores of *Phytophthora drechsleri*. *Phytopathology* **60**; S. 1738-1742.
- KLODT-BUSSMANN, E. (1995): Untersuchungen zur Epidemiologie und sortenspezifischen Pathogenität von *Peronospora parasitica* an Winterraps (*Brassica napus* L.). Dissertation Universität Bonn; 162 S.
- KLOPPING, H. L. und DELP, C. J. (1980): 2-Cyano-N-[(ethylamino)carbonyl]-2-(methoxyimino)acetamide, a new fungicide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **28**; S. 467-468.

- KÖLLER, W. (1988): Sterol Demethylation Inhibitors: Mechanism of action and resistance. In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 79-88.
- KRUMM, M.; BLEYER, G. und HUBER, B. (1994): Verfahren zur künstlichen Infektion von Reben mit *Plasmopara viticola* im Freiland. Staatliches Weinbauinstitut; Freiburg im Breisgau; 4 S.
- LEHOCZKY, J. (1956): Observations on oospore production by *Plasmopara viticola* in floating leaf discs in artificial culture. *Vitis* **5**; S. 17-19.
- LEROUX, P. (2000): La lutte chimique contre les maladies fongique de la vigne. *Phytoma* **533**; S. 32-38.
- LEROUX, P. und CLERJEAU, M. (1985): Resistance of *Botrytis cinerea* Pers. and *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berl. and de Toni to fungicides in French vineyards. *Crop Protection* **4**; S. 137-160.
- LEROUX, P.; FRITZ, R. und DESPREAUX, D. (1985): The mode of action of cymoxanil in *Botrytis cinerea*. In: Pesticide Science and Biotechnology; GREENHALGH, R und ROBERTS, T. R. (Eds.); Blackwell Scientific Publications, Oxford; S. 191-196.
- LORENZ, D. H. und EICHHORN K. W. (1975): Prüfung des Resistenzverhaltens von *Botrytis cinerea* an Reben gegenüber Benzimidazolen unter dem Aspekt der Resensibilisierung resistenter Stämme. *Die Weinwissenschaft* **30**; S. 301-311.
- LORENZ, D. H. und EICHHORN K. W. (1980): Vorkommen und Verbreitung der Resistenz von *Botrytis cinerea* gegen Dicarboximid-Fungizide im Anbaugebiet der Rheinpfalz. *Die Weinwissenschaft* **35**; S. 199-210.
- LORENZ, D. H.; EICHHORN, K. W.; BLEIHOLDER, H.; KLOSE, R.; MEIER, U. und WEBER, E. (1994): Phänologische Entwicklungsstadien der Weinrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). *Die Weinwissenschaft* **49**; S. 66-69.

- LORENZ, G. (1988): Dicarboximide fungicides: History of resistance development and monitoring methods. In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 45-51.
- LOUIS, F. (1986): Raubmilbenschonung im Weinberg. *Weinwirtschaft* **4**; S. 22-24.
- LYR, H. (1995): Modern selective fungicides. Gustav Fischer Verlag, Jena; 595 S.
- MEYER, D. (1975): Zur Keimung der Oosporen von *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet.. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **3**; S. 168-172.
- MICHEL, A.; PETERSEN, J.; DOGAN, M. N. und ERNST, V. (1999): Anleitung zur Auswertung von Versuchen zur Erstellung quantitativer Dosis-Wirkungsbeziehungen am Beispiel der Wirksamkeit von Herbiziden. *Gesunde Pflanze* **51**; S. 10-19
- MORTON, H. V. und URECH, P. A. (1988): History of the development of resistance to phenylamide fungicides. In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 59-60.
- MÜLLER, K. (1936): Die biologischen Grundlagen für die *Peronospora*-Bekämpfung nach der Inkubationskalender-Methode. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **46**; S. 104-108
- MÜLLER, K. und SLEUMER, H. (1934): Biologische Untersuchungen über die Peronosporakrankheit des Weinstockes. *Landwirtschaftliches Jahrbuch* **79**; S. 509-576.
- POMMER, E.-H. und LORENZ, G. (1995): Dicarboximide fungicides. In: Modern selective fungicides; LYR, H. (Ed.); Gustav Fischer Verlag, Jena; S. 99-118.
- RAYNAL, G.; RAVISE, A. und BOMPEIX, G. (1980): Action du tris-O-ethylphosphonate d'aluminium (phosethyl d'aluminium) sur la pathogenie de *Plasmopara viticola* et sur la stimulation des reactions de defense de la vigne. *Ann. Phytopathol.* **12**; S. 163-175.

- REUVENI, M. (1998): Relationships between leaf age, peroxidase and β -1,3-glucanase activity and resistance to downy mildew in grapevines. *Journal of Phytopathology* **146**; S. 525-530.
- RONZON, C.; IRHIR., H. und CLERJEAU, M. (1984): Demonstration de la transmission de la resistance aux anilides par les oeufs d'hiver chez le *Plasmopara viticola*. *Le Progres Agricole et Viticole* **101**; S. 570-572.
- RONZON-TRAN-MANH SUNG, C. und CLERJEAU, M. (1988): Techniques for formation, maturation and germination of *Plasmopara viticola* oospores under controlled conditions. *Plant Disease* **72**; S. 928-941.
- SAMOUCHA, Y.; LEVY, R. S. und COHEN, Y. (1988): Efficacy over time of cymoxanil mixtures in controlling late blight in potatoes incited by a phenylamide-resistant isolate of *Phytophthora infestans*. *Crop Protection* **7**; S. 210-215.
- SAMOUCHA, Y. und GISI., U. (1987a): Systemicity and persistence of cymoxanil in mixture with oxadixyl and mancozeb against *Phytophthora infestans* and *Plasmopara viticola*. *Crop Protection* **6**; S. 393-398.
- SAMOUCHA, Y. und GISI, U. (1987b): Use of two- and three-way mixtures to prevent build up of resistance to phenylamide fungicides in *Phytophthora* and *Plasmopara*. *Phytopathology* **77**; S. 1405-1409
- SCHEINPFLUG, H. (1988): History of DMI fungicides and monitoring for resistance. In: *Fungicide resistance in North America*; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 77-78.
- SCHROPP, A. (1986): Raubmilbenschonende Spritzfolge zeigt erste Erfolge in der Praxis. *Der Deutsche Weinbau* **41**; S. 479-483.
- SCHWINN, F. und STAUB, T. (1995): Phenylamides and other fungicides against Oomycetes. In: *Modern selective fungicides*; LYR, H. (Ed.); Gustav Fischer Verlag, Jena; S. 323-346.

- SERRES, J. M. und CARRARO, G.A. (1976): DPX-3217, a new fungicide for the control of grape downy mildew, potato late blight and other peronosporales. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent **41**; S. 645-650.
- SNEH, B.; EYE, L. L. and LOCHWOOD, J. L. (1981): Factors affecting germination of oospores of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. Phytopathologische Zeitschrift **101**; S. 314-322.
- STÄHLE-CSECH, U.; GISI, U. und SOZZI, D. (1992): Determination of the sensitivity of *Plasmopara viticola* to phenylamides. EPPO Bulletin **22**; S. 314-316.
- SISLER, H. D. (1988): Fungicidal action and fungal resistance mechanisms. In: Fungicide resistance in North America; DELP, C. J. (Ed.); APS Press, St. Paul; S. 6-8.
- STAUB, T. und SOZZI, D. (1981): Resistance au metalaxyl en pratique et les consequences pour son utilisation. Phytatrie-Phytopharmacie **30**; S. 283-291.
- SOZZI, D. und STAUB, T. (1987): Accuracy of methods to monitor sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamide fungicides. Plant Disease **71**; S. 422-425.
- STEIN, U.; HEINZ, C. und BLAICH R. (1985): Die in vitro-Prüfung von Rebsorten auf *Oidium*- und *Plasmopara*-Resistenz. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz **92**; S. 355-369.
- STEVA, H. und CLERJEAU, M. (1990): Cross resistance to sterol biosynthesis inhibitor fungicides in strains of *Uncinula necator* isolated in France and Portugal. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent **55**; S. 983-988.
- STIERL, R.; KÖHLE, H.; CRONSHAW, D. K.; EIPEL, H.; SCHROF, W. und WARMING, J. (2000): Grundlagen der Strobilurinresistenz. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Landwirtschaft und Forstwirtschaft (52. Deutsche Pflanzenschutztagung) **376**; S. 96-97.
- WEBSTER, J. (1983): Pilze-eine Einführung. Springer-Verlag, Berlin; 641 S.

WEGNER-KISS, G. und HUBER, B. (2000): Welche Fungizide schädigen Raubmilben? Der Badische Winzer; S. 31-35

WICKS, T. und HALL, B. (1990): Efficacy of dimethomorph (CME 151) against downy mildew of grapevines. Plant Disease **74**; S. 114-116.

ZIOGAS, B. N. und DAVIDSE., L. C. (1987): Studies on the mechanism of Cymoxanil in *Phytophthora infestans*. Pesticide Biochemistry and Physiology **29**; S. 89-96.

8 Anhang

8.1 Feldplan Freilandversuch Niederhorbach 1999

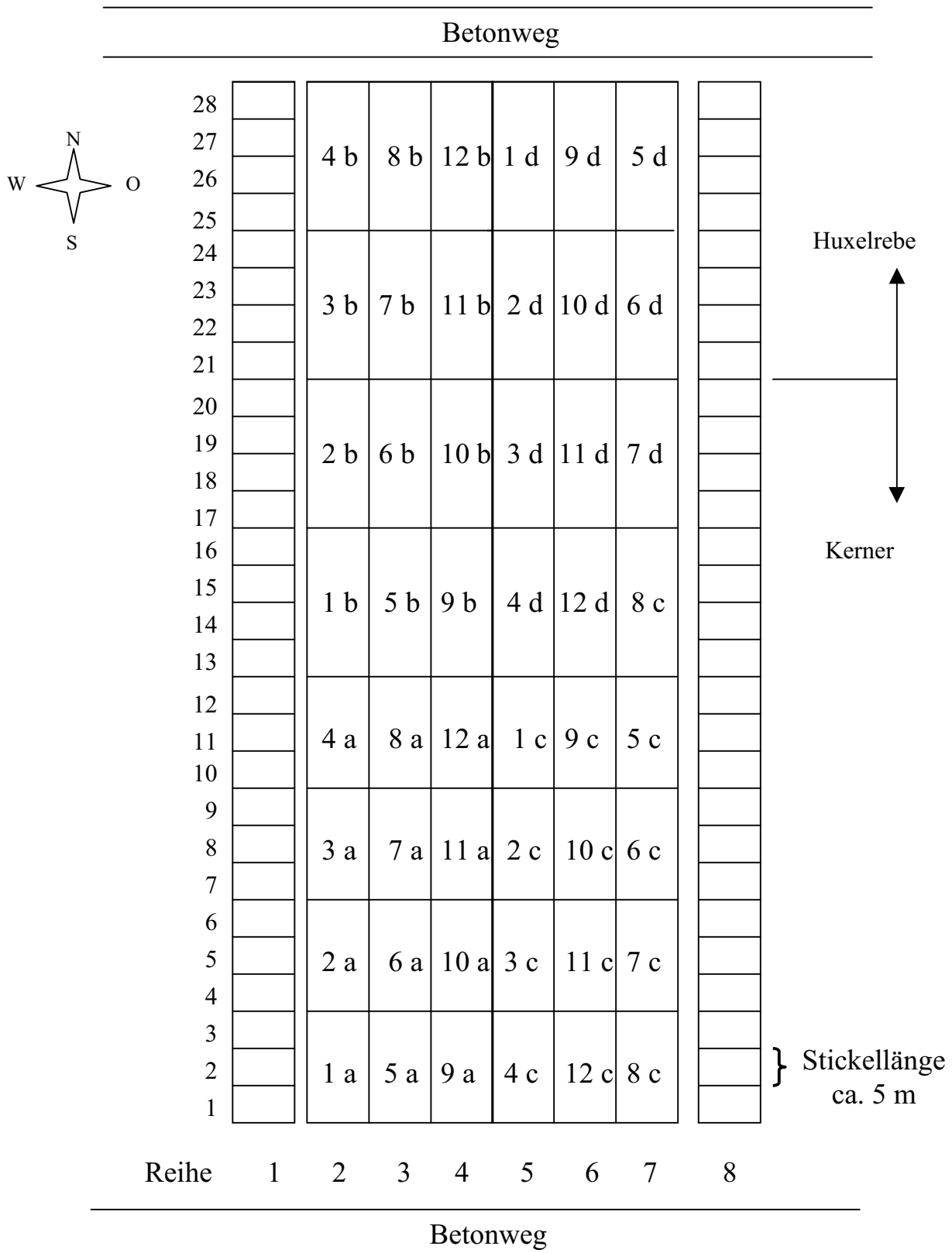


Abb. 28: Feldplan des Freilandversuches Niederhorbach 1999

Varianten:

- 1: unbehandelte Kontrolle
 - 2: Metalaxyl-M + Folpet (Ridomil Gold Combi), protektiv
 - 3: Cymoxanil + Azoxystrobin (Versuchsprodukt), protektiv
 - 4: Dimethomorph (Forum), protektiv
 - 5: Cymoxanil + Dithianon (Aktuan), protektiv
 - 6: Dithianon (Delan SC 750), protektiv
 7. Versuchsprodukt, nicht ausgewertet
 - 8: Versuchsprodukt, nicht ausgewertet
 - 9: Metalaxyl-M + Folpet (Ridomil Gold Combi), kurativ
 - 10: Cymoxanil + Azoxystrobin (Versuchsprodukt), kurativ
 - 11: Dimethomorph (Forum), kurativ
 - 12: Cymoxanil + Dithianon (Aktuan), kurativ
- a-d: Wiederholungen

Bei den Varianten 7 und 8 handelte es sich um Versuchsprodukte, die nicht für den beschriebenen Versuch angelegt wurden.

8.2 Wetterdaten Niederhorbach 1999

Während des Freilandversuches in Niederhorbach 1999 wurden die *Plasmopara*-relevanten Wetterdaten mit Hilfe einer elektronischen Wetterstation (Typ Lufft HP 100) vor Ort aufgezeichnet.

Tab. 22: Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Niederschlag und Blattnässedauer in Niederhorbach (20.04.-30.09.1999)

Datum	Temperatur [°C]			relative Luftfeuchtigkeit [%]			Niederschlag [mm]	Blattnässe [Uhrzeit]
	Min.	Med.	Max.	Min.	Med.	Max.		
20.04.	-1	7,5	15,8	44	76	95	0	0 ⁰⁰ -11 ⁰⁰
21.04.	9	12	17,3	63	83	95	5	2 ⁰⁰ -12 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
22.04.	7,5	11,5	17,5	54	78	94	2	0 ⁰⁰ -8 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
23.04.	4,52	12,5	20	41	75	96	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰ ; 21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
24.04.	6,3	10,8	14,5	57	76	94	0	0 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
25.04.	4,5	12	19,5	50	75	95	0	5 ⁰⁰ -9 ⁰⁰

Datum	Temperatur [°C]			relative Luftfeuchtigkeit [%]			Niederschlag [mm]	Blattnässe [Uhrzeit]
	Min.	Med.	Max.	Min.	Med.	Max.		
26.04.	9,5	16	22,2	44	65	85	0	-
27.04.	9,8	15,2	21,3	48	66	82	0	-
28.04.	9,5	14,2	19,2	51	72	91	0	-
29.04.	9	16,3	23,8	39	66	91	0	-
30.04.	8,5	16	21,7	55	68	87	0	-
01.05.	8,5	14,8	23	55	83	97	20	5 ⁰⁰ -8 ⁰⁰ ; 18 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
02.05.	7,5	15	22	44	73	96	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰
03.05.	10,2	17	24,2	42	62	83	0	-
04.05.	12,7	15,5	19	50	59	69	0	-
05.05.	12,5	14,2	17,3	66	74	93	0	23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
06.05.	11,3	13,5	17,5	82	91	97	5	0 ⁰⁰ -13 ⁰⁰
07.05.	11,5	15,5	23,8	65	87	97	6	21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
08.05.	11,5	15,8	19,8	57	86	98	8	0 ⁰⁰ -12 ⁰⁰
09.05.	7,3	16	24,7	40	71	97	0	3 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
10.05.	8	15,8	22,5	54	76	96	0	6 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
11.05.	12	14	16,5	78	91	98	11	5 ⁰⁰ -8 ⁰⁰ ; 13 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
12.05.	12,5	15,8	20,5	63	84	98	2	0 ⁰⁰ -12 ⁰⁰
13.05.	10,8	14,8	19,2	53	74	90	0	-
14.05.	11,5	14,8	20	55	81	98	3	1 ⁰⁰ -11 ⁰⁰
15.09.	8,5	14	18,8	49	70	95	0	6 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
16.05.	5	11,7	17,5	43	61	83	0	-
17.05.	7,5	13,5	20	46	63	82	0	-
18.05.	11	15,2	19,5	53	67	93	0	ab 24 ⁰⁰
19.05.	8,5	13	16,7	65	83	98	5	15 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
20.05.	7,3	13,5	20,3	60	85	99	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰
21.05.	11,5	16,5	21,5	48	73	94	0	-
22.05.	10,5	15	19,5	45	71	90	0	-
23.05.	5,8	13,3	19	55	73	93	0	-
24.05.	5,8	16,7	25,3	39	68	98	0	1 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
25.05.	12	18	23,3	52	69	90	0	-

Datum	Temperatur [°C]			relative Luftfeuchtigkeit [%]			Niederschlag [mm]	Blattnässe [Uhrzeit]
	Min.	Med.	Max.	Min.	Med.	Max.		
26.05.	8,5	19	28,8	21	60	95	0	5 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
27.05.	12,3	22,2	31,5	40	57	78	0	-
28.05.	13,8	20	26,7	53	77	99	20	11 ⁰⁰ -15 ⁰⁰
29.05.	13,8	22,2	31,7	44	74	100	22	3 ⁰⁰ -7 ⁰⁰ ; 21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
30.05.	13,8	23,3	31,3	37	69	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰
31.05.	14,5	21,5	28,8	41	68	96	0	4 ⁰⁰ -6 ⁰⁰
01.06.	13,8	22,5	31,3	43	67	92	0	-
02.06.	15,2	21,7	31,3	46	78	99	18	17 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
03.06.	13,8	19,2	26,7	47	75	99	6	0 ⁰⁰ -2 ⁰⁰ ; 21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
04.06.	11	16	21	57	81	99	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
05.06.	10,8	13,8	18,5	70	89	98	3	0 ⁰⁰ -7 ⁰⁰ ; 12 ⁰⁰ -18 ⁰⁰ ; 21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
06.06.	10,5	13,5	18,5	63	86	98	8	0 ⁰⁰ -11 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
07.06.	6,5	17	25,5	39	73	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰
08.06.	8,5	15	20	49	79	99	6	1 ⁰⁰ -11 ⁰⁰
09.06.	8	15,8	22,2	39	67	98	0	0 ⁰⁰ -5 ⁰⁰
10.06.	8,3	16	22,5	48	74	98	0	1 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
11.06.	12,3	17,5	22,2	56	74	95	0	4 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
12.06.	8,8	17,5	24,5	44	70	96	0	-
13.06.	13	18	25,5	55	77	96	2	15 ⁰⁰ -17 ⁰⁰
14.06.	10,8	18,3	23,3	54	77	100	1	3 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
15.06.	10,2	19,5	25,5	42	66	98	0	4 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
16.06.	9,5	19	26	47	69	99	0	4 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
17.06.	14,5	22	28,8	42	64	93	0	-
18.06.	10,5	19	24,2	34	56	76	0	-
19.06.	8	15,5	23,3	41	67	93	0	ab 24 ⁰⁰
20.06.	7,3	17,3	24,7	46	71	99	0	0 ⁰⁰ -7 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
21.06.	10,5	14,2	19	51	79	96	6	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 17 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
22.06.	7,8	14,2	20,8	42	71	93	0	0 ⁰⁰ -1 ⁰⁰
23.06.	4,5	16	25,5	26	61	99	0	1 ⁰⁰ -7 ⁰⁰

Datum	Temperatur [°C]			relative Luftfeuchtigkeit [%]			Niederschlag [mm]	Blattnässe [Uhrzeit]
	Min.	Med.	Max.	Min.	Med.	Max.		
24.06.	7,3	18,3	26,7	34	60	95	0	-
25.06.	7,3	19	28,5	34	61	98	0	4 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
26.06.	7,5	18,5	28,3	42	71	97	0	2 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
27.06.	15,2	19,8	27,5	52	83	98	2	1 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 17 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
28.06.	11,5	17,7	23	43	67	98	0	0 ⁰⁰ -3 ⁰⁰
29.06.	9,8	19,2	28,3	43	71	99	0	2 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
30.06.	15,5	19,8	25,3	55	79	99	0	6 ⁰⁰ -11 ⁰⁰
01.07.	14	21,3	27,5	44	67	97	0	-
02.07.	13,5	23	31,3	43	68	99	0	4 ⁰⁰ -7 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
03.07.	14,2	25,5	34,7	43	66	98	0	0 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
04.07.	18,5	26	33,8	46	72	96	8	2 ⁰⁰ -7 ⁰⁰ , ab 24 ⁰⁰
05.07.	16,7	22,5	29	52	79	100	17	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
06.07.	16	17,7	22,5	73	95	100	23	0 ⁰⁰ -17 ⁰⁰
07.07.	15,2	17,7	26	60	94	100	26	2 ⁰⁰ -12 ⁰⁰ ; 15 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
08.07.	13	18,8	26	65	87	100	0	1 ⁰⁰ -9 ⁰⁰
09.07.	12	19,2	25	57	79	100	0	2 ⁰⁰ -9 ⁰⁰
10.07.	16,3	20,5	24,5	70	80	96	0	3 ⁰⁰ -6 ⁰⁰
11.07.	18,3	22,8	28	63	80	100	2	23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
12.07.	17,3	22,8	29,7	59	86	100	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰
13.07.	17	23,3	31	59	83	100	0	0 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
14.07.	13,8	19,8	24,2	54	78	100	3	3 ⁰⁰ -10 ⁰⁰
15.07.	13	18	24	55	78	99	0	0 ⁰⁰ -5 ⁰⁰
16.07.	12	19,5	25,5	49	77	100	0	1 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
17.07.	9,3	20,3	28,8	44	71	100	0	0 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
18.07.	14	24,5	33,3	38	69	98	0	5 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
19.07.	17	25,3	32,5	47	71	100	0	0 ⁰⁰ -3 ⁰⁰
20.07.	17	22,5	28,8	55	82	100	7	7 ⁰⁰ -13 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
21.07.	15,5	20,5	27,2	58	84	100	1	0 ⁰⁰ -8 ⁰⁰ ; 12 ⁰⁰ -14 ⁰⁰
22.07.	11,3	16,5	21,5	51	74	100	0	3 ⁰⁰ -5 ⁰⁰
23.07.	13	15,8	20,3	55	78	99	1	1 ⁰⁰ -9 ⁰⁰

Datum	Temperatur [°C]			relative Luftfeuchtigkeit [%]			Niederschlag [mm]	Blattnässe [Uhrzeit]
	Min.	Med.	Max.	Min.	Med.	Max.		
24.07.	8,3	18,3	25	43	71	100	0	1 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
25.07.	12,3	21,3	28,5	47	71	99	0	3 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
26.07.	14	23,8	30,3	46	70	100	0	2 ⁰⁰ -7 ⁰⁰
27.07.	17	23,3	28,5	58	72	94	0	-
28.07.	17,7	22,8	29	50	65	80	0	-
29.07.	15	22,5	29	34	54	75	0	-
30.07.	12,7	21,7	29,7	35	59	88	0	-
31.07.	12,3	22,2	29,5	31	56	88	0	-
01.08.	14,08	23	30,5	30	53	78	0	-
02.08.	13,5	23,3	31,5	28	53	81	0	-
03.08.	13,8	19,2	24,5	48	74	100	3	15 ⁰⁰ -19 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
04.08.	12,3	22,2	31	48	80	100	1	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
05.08.	18	22,2	28	66	90	100	1	0 ⁰⁰ -13 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
06.08.	15	24	32,5	45	74	100	0	0 ⁰⁰ -8 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
07.08.	16	21,7	28	54	83	100	7	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
08.08.	15,2	20,8	28,8	52	87	100	4	0 ⁰⁰ -13 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
09.08.	16	21,7	28,8	58	84	100	3	1 ⁰⁰ ; 7 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
10.08.	16,3	20	25,3	61	85	100	0	0 ⁰⁰ -11 ⁰⁰
11.08.	15,2	17,3	22,2	72	96	100	12	1 ⁰⁰ -7 ⁰⁰ ; 14 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
12.08.	10,5	16,7	23,3	55	81	100	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰
13.08.	8	17	26	40	74	100	0	3 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
14.08.	9,3	15,8	24	61	91	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
15.08.	14,2	18	22,8	53	76	100	0	0 ⁰⁰ -6 ⁰⁰
16.08.	13,3	15,5	19,8	81	97	100	1	12 ⁰⁰ -13 ⁰⁰ ; 21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
17.08.	11,5	16,3	21,7	64	88	100	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
18.08.	10	17	24	68	90	100	1	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 18 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
19.08.	10	17,5	22,8	47	73	100	0	0 ⁰⁰ -4 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
20.08.	8,5	17,3	25,5	41	74	100	0	0 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
21.08.	9	16,7	24,2	52	77	100	0	2 ⁰⁰ -8 ⁰⁰
22.08.	9,5	17	23,5	44	66	93	0	-

Datum	Temperatur [°C]			relative Luftfeuchtigkeit [%]			Niederschlag [mm]	Blattnässe [Uhrzeit]
	Min.	Med.	Max.	Min.	Med.	Max.		
23.08.	10,5	18,5	26,5	45	65	90	0	-
24.08.	13	18	25	60	76	93	0	-
25.08.	13,5	22,2	30,5	54	80	100	0	1 ⁰⁰ -9 ⁰⁰
26.08.	16,3	20	22,2	86	97	100	2	7 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
27.08.	14,5	22	30,3	58	83	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
28.08.	13,8	19,2	24,7	60	86	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
29.08.	12,3	18,3	24,7	61	84	100	0	2 ⁰⁰ -8 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
30.08.	10,8	18,5	27,5	50	80	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
31.08.	11,7	18,3	26,7	55	81	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
01.09.	8,8	16,7	26,3	53	84	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰
02.09.	11	18	24	43	70	96	0	-
03.09.	11,5	17,5	24,7	51	73	93	0	-
04.09.	13	19,5	26	60	82	99	0	23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
05.09.	10,8	18,8	27,5	51	83	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
06.09.	10,5	16	21,5	77	97	100	1	0 ⁰⁰ -12 ⁰⁰ ; 20 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
07.09.	13,8	19,2	26,3	64	88	100	0	0 ⁰⁰ -11 ⁰⁰ ; 21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
08.09.	13,8	20,8	28	53	82	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 23 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
09.09.	12	20,3	29,5	46	79	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
10.09.	13	19	29,5	45	76	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰
11.09.	13,3	20,8	29,7	48	74	100	0	22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
12.09.	12	20,8	31,3	46	79	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
13.09.	13,5	21,7	31,3	43	77	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
14.09.	12	21,5	31	38	71	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰
15.09.	13,3	20,8	28,5	49	77	100	0	2 ⁰⁰ -8 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
16.09.	9,3	17,7	25,3	43	76	98	0	5 ⁰⁰ -7 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
17.09.	6,5	15,2	24,7	55	82	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; ab 24 ⁰⁰
18.09.	8,8	15,2	22,8	59	86	100	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰ ; 22 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
19.09.	9	17,7	25,5	57	82	100	0	0 ⁰⁰ -10 ⁰⁰
20.09.	12,7	17	22	67	86	100	0	15 ⁰⁰ -24 ⁰⁰
21.09.	10,5	16	24	52	86	100	0	0 ⁰⁰ -9 ⁰⁰ ; 21 ⁰⁰ -24 ⁰⁰

Datum	Temperatur [°C]			relative Luftfeuchtigkeit [%]			Niederschlag [mm]	Blattnässe [Uhrzeit]
	Min.	Med.	Max.	Min.	Med.	Max.		
22.09.	14	17,7	24,5	60	90	100	1	0 ^{oo} -9 ^{oo} ; 17 ^{oo} -24 ^{oo}
23.09.	13,5	18	24	78	96	100	8	0 ^{oo} -15 ^{oo} ; 20 ^{oo} -24 ^{oo}
24.09.	14,5	19,2	27	58	88	100	0	0 ^{oo} -12 ^{oo} ; 21 ^{oo} -24 ^{oo}
25.09.	15	17,5	22,5	78	97	100	15	0 ^{oo} -15 ^{oo} ; 20 ^{oo} -24 ^{oo}
26.09.	11,3	16,3	20,3	71	94	100	4	0 ^{oo} -13 ^{oo} ; 21 ^{oo} -24 ^{oo}
27.09.	11	15,8	22,5	58	88	100	0	0 ^{oo} -11 ^{oo} ; 21 ^{oo} -24 ^{oo}
28.09.	12,5	15,2	18,5	73	93	100	1	0 ^{oo} -14 ^{oo}
29.09.	12,3	14,5	16,3	97	99	100	5	13 ^{oo} -24 ^{oo}
30.09.	14,5	15	18,3	86	98	100	4	0 ^{oo} -13 ^{oo}

Min. = Minimalwert des Tages; Med. = Mittelwert des Tages; Max = Maximalwert des Tages

8.3 Befallsbonituren

Tab 23: Freilandversuch Niederhorbach - Befallshäufigkeiten, Befallsstärke, Signifikanzen
(17.7.1999)

Variante	BH _{Blatt} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.	BH _{Trauben} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.	BS _{Trauben} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.
Kontrolle	29,46 ± 9,92	a/-	26,75 ± 17,73	a/-	9,8 ± 7,65	a/-
Protektive Behandlungen						
Dithianon	5,94 ± 1,8	cd/***	0 ± 0	c/***	0 ± 0	c/***
Cymoxanil + Dithianon	4,44 ± 1,11	cd/***	0 ± 0	c/***	0 ± 0	c/***
Cymoxanil + Azoxystrobin	7,5 ± 2,01	bcd/***	2,5 ± 2,38	bc/***	0,91 ± 0,98	bc/***
Metalaxyl-M + Folpet	0,69 ± 0,43	e/***	0 ± 0	c/***	0 ± 0	c/***
DMM	3,31 ± 2,05	de/***	3,25 ± 4,57	bc/***	1,03 ± 1,3	bc/***
Kurative Behandlungen						
Cymoxanil + Dithianon	12,56 ± 4,48	b/***	16 ± 13,44	ab/n. sig.	4,14 ± 3,29	ab/n. sig.
Cymoxanil + Azoxystrobin	9,5 ± 1,06	bc/***	4 ± 2,94	bc/***	0,91 ± 0,93	bc/***
Metalaxyl-M + Folpet	4,44 ± 1,26	cd/***	0 ± 0	c/***	0 ± 0	c/***
DMM	7,25 ± 2,01	bcd/***	4,5 ± 3,42	bc/***	1,09 ± 1,02	bc/***

BH = Befallshäufigkeit; BS = Befallsstärke; DMM = Dimethomorph; Dun. = Dunnett-Test;
SD = Standardabweichung; Sig. = Signifikanz; Tuk. = Tukey-Test; *** = Kontrolle und
Variante unterscheiden sich signifikant ($p \leq 0,05$); Varianten mit gleichen Buchstaben
unterscheiden sich signifikant ($p \leq 0,05$)

Tab 24: Freilandversuch Niederhorbach - Befallshäufigkeiten, Befallsstärke, Signifikanzen
(4.8.1999)

Variante	BH _{Blatt} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.	BH _{Trauben} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.	BS _{Trauben} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.
Kontrolle	80,5 ± 6,54	a/-	64 ± 20,05	a/-	24,3 ± 15,59	a/-
Protektive Behandlungen						
Dithianon	14,13 ± 3,85	b/***	0,5 ± 0,58	de/***	0,015 ± 0,02	c/***
Cymoxanil + Dithianon	11,63 ± 5,13	b/***	1,75 ± 1,26	cde/***	0,23 ± 0,24	c/***
Cymoxanil + Azoxystrobin	14,31 ± 4,50	b/***	5,25 ± 5,12	cde/***	2 ± 1,91	c/***
Metalaxyl-M + Folpet	1,75 ± 0,84	d/***	0,25 ± 0,5	e/***	0,008 ± 0,02	c/***
DMM	10,81 ± 5,33	bc/***	7,25 ± 7,89	cde/***	1,47 ± 1,47	c/***
Kurative Behandlungen						
Cymoxanil + Dithianon	18,63 ± 7,51	b/***	24,75 ± 15,33	b/***	9,73 ± 7,61	b/***
Cymoxanil + Azoxystrobin	15,3 ± 3,3	b/***	9 ± 3,37	bc/***	2,87 ± 1,06	bc/***
Metalaxyl-M + Folpet	3,86 ± 1,53	cd/***	0,5 ± 1,0	e/***	0,046 ± 0,09	c/***
DMM	10,19 ± 1,86	bc/***	9,25 ± 7,18	bcd/***	2,94 ± 2,69	bc/***

BH = Befallshäufigkeit; BS = Befallsstärke; DMM = Dimethomorph; Dun. = Dunnett-Test;
SD = Standardabweichung; Sig. = Signifikanz; Tuk. = Tukey-Test; *** = Kontrolle und
Variante unterscheiden sich signifikant ($p \leq 0,05$); Varianten mit gleichen Buchstaben
unterscheiden sich signifikant ($p \leq 0,05$)

Tab 25: Freilandversuch Niederhorbach - Befallshäufigkeiten, Befallsstärke, Signifikanzen
(15.9.1999)

Variante	BH _{Blatt} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.	BH _{Trauben} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.	BS _{Trauben} [%] ± SD	Sig. Tuk./Dun.
Kontrolle	92,46 ± 8,41	a/-	84,75 ± 15,39	a/-	46,55 ± 19,96	a/-
Protektive Behandlungen						
Dithianon	10,94 ± 2,61	bc/***	0,25 ± 0,5	c/***	0,0075 ± 0,02	c/***
Cymoxanil + Dithianon	13,06 ± 9,17	bc/***	2,25 ± 4,5	c/***	0,55 ± 1,1	c/***
Cymoxanil + Azoxystrobin	15,25 ± 4,01	b/***	4,5 ± 4,12	bc/***	1,67 ± 1,77	bc/***
Metalaxyl-M + Folpet	5,86 ± 4,42	c/***	0,5 ± 1,0	c/***	0,103 ± 0,21	c/***
DMM	12,25 ± 6,60	bc/***	8,5 ± 7,42	bc/***	2,35 ± 2,67	bc/***
Kurative Behandlungen						
Cymoxanil + Dithianon	15,86 ± 4,43	b/***	20 ± 13,95	b/***	7,22 ± 5,4	b/***
Cymoxanil + Azoxystrobin	16,31 ± 4,36	b/***	5 ± 4,24	bc/***	1,8 ± 1,99	bc/***
Metalaxyl-M + Folpet	5,25 ± 1,02	c/***	0 ± 0	c/***	0 ± 0	c/***
DMM	10,56 ± 4,31	bc/***	5,5 ± 2,65	bc/***	1,26 ± 0,8	bc/***

BH = Befallshäufigkeit; BS = Befallsstärke; DMM = Dimethomorph; Dun. = Dunnett-Test;
SD = Standardabweichung; Sig. = Signifikanz; Tuk. = Tukey-Test; *** = Kontrolle und
Variante unterscheiden sich signifikant ($p \leq 0,05$); Varianten mit gleichen Buchstaben
unterscheiden sich signifikant ($p \leq 0,05$)

8.4 Pflanzenschutzmittel

Tab. 26: Zugelassene Fungizide zur Bekämpfung von *Plasmopara viticola* in Deutschland 1986 (Pflanzenschutzmittelverzeichnis der BBA)

Wirkstoffe	Handelsname	Wirkung	RM
Dichlofluanid	Euparen	K	RM II
Kupfer	Diverse	K	RM I
Mancozeb	Dithane Ultra	K	RM II
Metiram	Polyram Combi	K	RM II
Propineb	Antracol	K	RM III
Maneb + Zineb	Vondozeb	K	n.b.
Cymoxanil + Dithianon	Aktuan	K, T	RM I

K = Kontaktwirkung; T = teilsystemische Wirkung; RM = Raubmilbenverträglichkeit; n. b. = nicht bekannt

Tab. 27: Zugelassene Fungizide zur Bekämpfung von *Plasmopara viticola* in Deutschland 2002 (Pflanzenschutzmittelverzeichnis der BBA)

Wirkstoffe	Handelsname	Wirkung	RM	Zulassung seit
Azoxystrobin	Quadris	K	RM I	2000
Dithianon	Delan SC 750	K	RM I	1995
Folpet	Folpan	K	RM I	2001
Kupferoxychlorid	Funguran	K	RM I	a. W.
Mancozeb	Dithane Ultra WG u.a.	K	RM II	a. W.
Metiram	Polyram WG	K	RM II	a. W.
Propineb	Antracol WG	K	RM III	a. W.
Tolyfluanid	Euparen M WG	K	RM III	1998
Tolyfluanid + Tebuconazol	Folicur EM	K	RM II	1993
Cymoxanil + Dithianon	Aktuan	K, T	RM I	1982
Cymoxanil + Famoxadone	Equation Pro	K, T	RM I	2001
Dimethomorph	Forum	K, S	RM I	1997
Dimethomorph + Folpet	Forum Star	K, S	RM I	2001

Wirkstoffe	Handelsname	Wirkung	RM	Zulassung seit
Metalaxyl-M + Folpet	Ridomil Gold Combi	K, S	RM I	1999
Iprovalicarb + Tolyfluanid	Melody Multi	K, S	RM I	2000
Fosetyl-Al + Mancozeb	Mikal MZ	K, S	RM III	1989

K = Kontaktwirkung; T = teilsystemische Wirkung; S = systemische Wirkung; RM = Raubmilbenverträglichkeit; a. W: = alter Wirkstoff

Tab. 28: Raubmilbenverträglichkeitsstufen für Pflanzenschutzmittel (HEIMANN-DETHELSEN 1991)

Stufe	Definition
RM I	Nicht raubmilbenschädigend (WG = 0-40 %)
RM II	Schwach raubmilbenschädigend (WG = >40-80 %)
RM III	Raubmilbenschädigend (WG = >80-100 %)

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Fachbereich Phytomedizin der Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau (SLFA) in Neustadt an der Weinstraße unter der Betreuung von Herrn Dr. D. Lorenz in Zusammenarbeit mit der Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. H. Buchenauer angefertigt.

Herrn Dr. Dieter Lorenz möchte ich sehr herzlich für die Betreuung und vielfältige Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit danken. Besonders danke ich ihm für die ständige Diskussionsbereitschaft, seine wertvollen fachlichen Anregungen sowie die mir eingeräumte Freiheit bei der Durchführung der Arbeiten.

Herrn Dr. Friedrich Louis danke ich sehr herzlich für die vielfältige und großzügige Unterstützung im Verlauf der Arbeit sowie das mir entgegengebrachte Vertrauen für eine weitere Zusammenarbeit.

Herrn Professor Buchenauer danke ich herzlich für die wissenschaftliche Betreuung sowie die hilfreiche Diskussion und Anregungen bei der Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Professor R. Blaich danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Frau Iris Führ danke ich sehr für die ständige Unterstützung und Motivation während der verschiedenen Phasen meiner Arbeit.

Frau Doris Dersch-Fischer und Herrn Rainer Rueff möchte ich für die vielfältige Unterstützung bei der Durchführung von Versuchen, eine angenehmen Arbeitsatmosphäre und viel Spaß danken. Frau Irene Eichhorn danke ich für die Hilfe bei der Dokumentation der Versuche und Fotoarbeiten. Herrn Manfred Jutzi danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Verrechnungen. Herrn Roland Ipach und seinem „Spritztrupp“ danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Freilandversuche.

Letztlich danke ich allen Mitarbeiter des Fachbereiches Phytomedizin für die stetige Unterstützung und die gute Arbeitsatmosphäre. Allen Doktoranden danke ich für viel gemeinsamen Spaß, fröhliche Weinfeste und eine gute Zeit in der Pfalz.

Meinen Eltern möchte ich für die vielfältige Unterstützung während meines Studium und während dieser Arbeit danken.

Zuletzt danke ich Frau Anne Schmidt-Tiedemann sehr herzlich für die gesamte Unterstützung und Motivation, die sie mir im Verlauf der Arbeit hat zukommen lassen. Besonders ihre Geduld, ihr Verständnis sowie ihre Zuverlässigkeit während schwieriger Phasen waren für mich immer eine wichtige Stütze. Ihre positive Art und Weise das Leben anzugehen, haben mich wesentlich bereichert und mir neue persönliche Entwicklungsmöglichkeiten eröffnet. Dafür möchte ich mich aus ganzem Herzen bei Ihr bedanken!

Der Cyanamid Agrar GmbH & Co KG danke ich herzlich für die finanzielle Unterstützung des Forschungsprojektes.

Lebenslauf

Name: Marco Harms
Geburtsort: Hamburg
Geburtsdatum: 11.04.1969
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung

1975 bis 1979 Volksschule in Hamburg
1979 bis 1988 Gymnasium Finkenwerder in Hamburg
Abschluß: Abitur

Studium

1988 bis 1995 Studium der Biologie an der Universität Hamburg mit den Studienschwerpunkten Phytopathologie und Biotechnologie
März 1995 Examen zum Diplom-Biologen mit den Fächern Angewandte Botanik, Genetik/Molekularbiologie und Mikrobiologie;
Diplomarbeit am Institut für Angewandte Botanik in Zusammenarbeit mit der Obstbauversuchsanstalt Jork zum Thema: „Praxisorientierte Untersuchungen zum Auftreten der virösen Kleinfrüchtigkeit der Süßkirsche (little cherry disease) im Obstbaugbiet an der Niederelbe“

berufliche Tätigkeit

1996 bis 1997 Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Universität Hohenheim im Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik
1997 bis 2001 Doktorand an der Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau, Neustadt/Weinstraße im Fachbereich Phytomedizin
seit 2001 Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau, Neustadt/Weinstraße im Fachbereich Phytomedizin

Versicherung:

Hiermit versichere ich, dass ich nicht bereits früher oder gleichzeitig einen Antrag auf Eröffnung eines Promotionsverfahrens unter Vorlage der hier eingereichten Dissertation gestellt habe.

Neustadt, d. 12.11.02

Erklärung:

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig angefertigt und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich und inhaltlich übernommene Stellen sind als solche gekennzeichnet.

Neustadt, d. 12.12.02

