

**Universität für Bodenkultur Wien**

University of Natural Resources and Life Sciences Vienna

**Department für Nutzpflanzenwissenschaften**



Laboruntersuchung über die Wirkung ausgewählter in der  
biologischen Landwirtschaft eingesetzter Präparate auf die  
Entwicklung des Erregers der Samtfleckenkrankheit  
(*Passalora fulva*) bei Tomate

**Masterarbeit**

von

**Kerstin Wagner**

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Diplomingenieurin (Dipl.-Ing.)

Betreuerin: Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.nat.techn. Siegrid Steinkellner

Wien, Mai 2016

## Danksagung

Ich bedanke mich recht herzlich bei meiner Betreuerin Frau Siegrid Steinkellner, die stets ein offenes Ohr bei Fragen oder Problemen hatte und mir mit viel Engagement und hilfreichen, fachlichen Ratschlägen während der Erstellung dieser Arbeit zur Seite stand. Mein Dank geht an das gesamte Team der Abteilung Pflanzenschutz, allen voran den beiden Labortechnikerinnen Sabine und Karin für ihre Unterstützung beim Erarbeiten der Methoden im Labor. Ich bedanke mich bei Frau Elfriede Stopper von Bio Austria für das Sammeln des befallenen Pflanzenmaterials, bei Frau Sieglinde Pollan vom Forschungsinstitut für biologischen Landbau für die finanzielle Unterstützung bei der Rassenbestimmungsanalyse und Herrn Hannes Gottschlich von Bio Help für die zur Verfügung gestellten Testpräparate. Herzlichen Dank für die hervorragende Zusammenarbeit. Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn Karl Moder vom Institut für angewandte Statistik und EDV. Ein großes Dankeschön gilt meinen Eltern, meiner Schwester Tanja und meinem Freund Philipp. Sie waren mir während meiner Studienzeit an der Universität für Bodenkultur Wien eine große Stütze und haben sich über jeden noch so kleinen Erfolg mit mir gefreut.

# Inhaltsverzeichnis

1. Abstract.....	5
2. Einleitung.....	6
2.1 Problemstellung.....	6
2.2 Zieldefinition.....	8
2.3 Arbeitshypothesen.....	8
3 Literaturteil .....	9
3.1 Das Pathogen <i>Passalora fulva</i> .....	9
3.1.1 Allgemeines .....	9
3.1.2 Symptome .....	10
3.1.3 Inokulation.....	13
3.1.4 Zyklus .....	15
3.2 Strategien der Bekämpfung von <i>P. fulva</i> .....	18
3.2.1 Managementmaßnahmen.....	18
3.2.2 Biologische Bekämpfung.....	19
3.2.2.1 Antagonistische Organismen.....	19
3.2.2.2 Biologische Präparate .....	21
3.2.3 Chemische Bekämpfung.....	25
3.2.4 Einsatz resistenter Sorten.....	25
4 Material und Methoden .....	29
4.1 Versuchsaufbau .....	29
4.2 Versuchsdurchführung .....	33
4.2.1 Myzelwachstum.....	33
4.2.2 Sporulation.....	36
4.2.3 Sporenkeimung .....	37
4.3 Auswertung der Daten.....	41

5 Ergebnisse.....	42
5.1 Myzelwachstum .....	42
5.2 Sporulation .....	47
5.3 Sporenkeimung .....	53
5.4 Rassenbestimmung der Isolate .....	58
5.4.1 Isolat Oberösterreich.....	58
5.4.2 Isolat Salzburg .....	58
6 Diskussion .....	59
7 Schlussfolgerung .....	64
8 Zusammenfassung .....	66
9 Verzeichnisse.....	68
9.1 Abbildungsverzeichnis .....	68
9.2 Tabellenverzeichnis.....	69
9.3 Literaturverzeichnis.....	70

# **1. Abstract**

In recent years, leaf mold has caused problems in greenhouse cultivation in organic farming and has been responsible for high economic loss. Therefore, it is important to implement pest management strategies to protect plant health. There are a few preparations approved for use in organic production and there is a necessity to estimate and analyse the efficacy of these preparations against leaf mold. In the present study, laboratory experiments were conducted to elucidate the effects of several fungicides, plant strengtheners, fertilizers and surfactants on the parameters mycelial growth, sporulation and spore germination. Altogether, ten substances in 15 treatments (single or in combination) were analysed. Two isolates of *P. fulva*, which were isolated from different plant populations, were tested. Mycelium growth, sporulation and spore germination were strongly inhibited by Myco-Sin and Sergomil L60. Additionally, the two mix variants Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance and Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance showed also strong effects against leaf mold. Apart from these treatments, no others did exhibit such a strong reduction in all three parameters. Moreover, deformations on fungal structures caused by some further substances were observed. This study is an important first step for the future control of tomato leaf mold. However, additional greenhouse studies are urgently needed.

## 2. Einleitung

### 2.1 Problemstellung

Die Tomate, in Österreich auch Paradeiser bezeichnet, ist eine tropische Wildpflanze und stammt aus dem Andengebiet Perus und anderen Ländern Mittel- und Südamerikas. Im Jahr 1498 gelangte die anfänglich als seltene Zierpflanze bekannte, krautige Pflanze durch Christoph Kolumbus nach Europa. Ab Mitte des 18. Jahrhunderts hat sich die zur Familie der Nachtschattengewächse (Solanaceae) gehörende Pflanze nach und nach in Küchengärten etabliert. Erst nach dem zweiten Weltkrieg wurde die Tomate als allgemeines Nahrungsmittel anerkannt (DASSLER und HEITMANN, 1991).

Heute gilt die Tomate als beliebtestes Gemüse der ÖsterreicherInnen. Durchschnittlich werden rund 27,7 kg pro Jahr verzehrt (BMLFUW, 2013). Die Tomate hat auch im Bereich des Biogemüsebaus große Bedeutung. Nach dem Erdapfel, der Karotte und der Zwiebel steht sie bei der Nachfrage nach Bio-Gemüse im Lebensmitteleinzelhandel in Österreich mengenmäßig an vierter Stelle (BMLFUW, 2010). Das zunehmende Gesundheits- und Umweltbewusstsein, die gute Qualität und der ausgezeichnete Geschmack von biologisch produziertem Gemüse sind Gründe der stets steigenden Nachfrage nach Bio-Produkten. Dass sich immer mehr Menschen der biologischen Wirtschaftsweise annehmen zeigt, sich auch auf Seite der ProduzentInnen. Derzeit sind rund 16,9 % aller landwirtschaftlichen Betriebe in Österreich als Biobetriebe registriert (BMLFUW, 2014). In Österreich werden derzeit auf einer Fläche von rund 188 Hektar Tomaten produziert. Jährlich können rund 55.673 Tonnen geerntet werden. Mehr als 96 %, das entspricht einer Fläche von 181 Hektar, befinden sich in Österreich unter Glas oder Folie (STATISTIK AUSTRIA, 2015). Der Biotomatenanbau im geschützten Anbau beträgt groben Schätzungen zufolge in Österreich zirka 30 Hektar (STOPPER E., persönliche Mitteilung).

Hinsichtlich eines erfolgreichen Pflanzenschutzes zur Gesunderhaltung der Kulturpflanzen stehen ProduzentInnen vor einer großen Herausforderung. Vor allem in der biologischen Wirtschaftsweise gestaltet sich die Bekämpfung von Pflanzenpathogenen als schwierig. Im Biolandbau muss auf komplexe Zusammenhänge im Bewirtschaftungssystem Augenmerk gelegt werden um, das Auftreten unerwünschter Schadorganismen zu vermeiden. Neben pflanzenbaulicher Maßnahmen sind auch Fruchtfolge sowie Standort- und Sortenwahl zur Gesunderhaltung der Kulturpflanzen von großer Bedeutung. Obwohl solchen präventiven Maßnahmen oftmals viel Aufmerksamkeit geschenkt wird, lässt sich das Auftreten von Pathogenen und tierischen Schädlingen bei optimalen klimatischen Bedingungen nicht vermeiden. Somit ist der Einsatz physikalischer, biologischer, biotechnischer und chemischer Pflanzenschutzmaßnahmen notwendig (KÜHNE et al., 2006).

Zu den häufigsten und schwer bekämpfbaren Krankheiten in Tomatenbeständen zählen das Tomaten- und Tabakmosaikvirus, die Braun- und Krautfäule, die Samtfleckenkrankheit sowie die Tomatenwelke (STOPPER E., persönliche Mitteilung). Bis vor kurzem hatte die Samtfleckenkrankheit als Schadorganismus in der Tomatenproduktion eine untergeordnete Rolle. In den letzten Jahren führte der Schadpilz *Passalora fulva* in Österreich jedoch vor allem bei biologisch wirtschaftenden Betrieben im geschützten Anbau zu großen Problemen. In Gewächshäusern sind optimale Bedingungen für die Ausbreitung des Pathogens sehr häufig gegeben. Diese liegen bei Temperaturen um 24 °C und einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit von über 85 % vor (JONES und JONES, 1991). ZüchterInnen ist es zwar immer wieder gelungen einige gegenüber der Samtfleckenkrankheit resistente Sorten zu entwickeln, auf Grund des enormen Weiterentwicklungspotenzials des Pilzes wurden diese Sorten jedoch binnen kurzer Zeit wieder befallen (JONES und JONES, 2014).

Die Idee für diese Arbeit ist in Kooperation mit MitarbeiterInnen des Forschungsinstituts für biologischen Landbau, GemüsebauberaterInnen der BIO Austria und FachberaterInnen der Firma BioHelp zustande gekommen, da im Biolandbau ein vermehrtes Auftreten der Samtfleckenkrankheit verzeichnet wurde und bis dato keine zufriedenstellenden Bekämpfungsmaßnahmen gegen dieses Pathogens gefunden werden konnten. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Laboruntersuchungen über die Wirkung von verschiedenen in der biologischen Landwirtschaft eingesetzten Präparaten durchgeführt. Ziel war es, neue Erkenntnisse für eine zufriedenstellende Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit, einem gefürchteten Schaderreger im österreichischen Biotomatenanbau, zu gewinnen.

## 2.2 Zieldefinition

Das Ziel der vorliegenden Masterarbeit war herauszufinden, ob und in welchem Ausmaß die Entwicklung der Samtfleckenkrankheit durch verschiedene in der biologischen Landwirtschaft eingesetzte Präparate gehemmt werden kann. Dazu wurden im Rahmen eines Laborversuchs eine Reihe ausgewählter Testpräparate hinsichtlich der Hemmung des Myzelwachstums, der Sporulation und der Sporenkeimung untersucht.

Um repräsentative Ergebnisse für Österreich zu erhalten wurde der Versuch mit zwei unterschiedlichen Pilzisolaten aus österreichischen Erwerbanlagen durchgeführt. Ein Pilzisolat stammte aus Oberösterreich, das andere aus Salzburg. Die beiden Pilzisolate wurden hinsichtlich ihres Bekämpfungserfolgs durch die verschiedenen Versuchsmittel verglichen.

## 2.3 Arbeitshypothesen

- Kann die Anwendung der ausgewählten Testpräparate eine Reduzierung des Myzelwachstums, der Sporulation und der Sporenkeimung der Samtfleckenkrankheit herbeiführen?

### Arbeitshypothese 1:

Die Anwendung ausgewählter Testpräparate reduziert das Myzelwachstums, die Sporulation und die Sporenkeimung der Samtfleckenkrankheit.

- Unterscheiden sich die beiden Pilzisolate durch die ausgewählten in der biologischen Landwirtschaft verwendeten Präparate im Bekämpfungserfolg?

### Arbeitshypothese 2:

Durch den Einsatz der ausgewählten in der biologischen Landwirtschaft verwendeten Präparate gibt es zwischen den Pilzisolaten keine Unterschiede im Bekämpfungserfolg.

- Gibt es eine Wechselwirkung zwischen den ausgewählten in der biologischen Landwirtschaft verwendeten Versuchsmittel und den beiden Pilzisolaten?

### Arbeitshypothese 3:

Es gibt einen Zusammenhang zwischen den verwendeten Versuchsmittel und den beiden Pilzisolaten hinsichtlich der Hemmung des Myzelwachstums, der Sporulation und der Sporenkeimung.

## **3 Literaturteil**

### **3.1 Das Pathogen *Passalora fulva***

#### **3.1.1 Allgemeines**

Bei der Samtfleckenkrankheit handelt es sich um einen Pilz, welcher dem Stamm der Ascomycota zugeordnet wird. Der lateinische Name lautet *Passalora fulva* (Cooke). Frühere Bezeichnungen sind *Cladosporium fulvum* (Cooke), *Fulvia fulva* (Cooke) und *Mycovellosiella fulva* (Cooke) (INTERNATIONAL MYCOLOGICAL ASSOCIATION, 2015).

*P. fulva* ist ein gefährliches Pathogen im Tomatenanbau (KAWAGUCHI und SUENAGA-KANETANI, 2014). Nach JONES und JONES (1991) stellt der Schadpilz weltweit ein großes Problem dar. SENGBUSCH und LOSCHAKOWA-HASENBUSCH berichten bereits 1932 von dem einst noch als Braunfleckenkrankheit bekannten Pilz. Sie wiesen darauf hin, dass dieser Schaderreger zu den am weitest verbreiteten Pathogenen im geschützten Tomatenanbau gehört. Diesbezüglich gab es bereits vor 80 Jahren in einigen Ländern Europas, sowie in Nordamerika und Asien Berichte über das Auftreten des Pilzes (SENGBUSCH und LOSCHAKOWA-HASENBUSCH, 1932). BERTSCH (1947) berichtet über die Frostempfindlichkeit der Tomate und der daraus resultierenden späten Auspflanzung und folglich späten Reife der Freilandtomaten in Zentraleuropa. Bei der Kultivierung der Tomaten im Gewächshaus weist er ausdrücklich auf das Problem des Auftretens von *P. fulva* im geschützten Anbau hin. Nach JONES und JONES (2014) tritt die Samtfleckenkrankheit weltweit auf. *P. fulva* wurde erstmals von Cooke im Jahr 1883 von einem aus South Carolina stammendem Material nachgewiesen. Das Pathogen befällt ausschließlich Tomatenpflanzen (BUTLER und JONES, 1949) und lebt parasitär (BLANCARD, 2012). Als Herkunftsort der Samtfleckenkrankheit wird Südamerika vermutet, wo auch die Tomate ursprünglich beheimatet ist (THOMMA et al., 2005). Von dort gelangte der Schaderreger zuerst nach Nordamerika und breitete sich nach und nach in Ländern mit Tomatenanbau weltweit aus (PERSIEL, 1967). Die Samtfleckenkrankheit tritt vor allem bei Gewächshaustomaten bei hoher Luftfeuchtigkeit auf, während sie an Tomatenpflanzen im Freiland nur gelegentlich zu finden ist (JONES und JONES, 1991). Es liegen verschiedene Rassen des Pilzes *P. fulva* vor, die sich in gewissen Eigenschaften, wie beispielsweise der Wachstumsgeschwindigkeit, dem Vorkommen oder der Stärke der Sporenbildung unterscheiden. Es darf jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass eine Rasse bei verschiedenen Umweltbedingungen eine große Variabilität zeigen kann (BUTLER und JONES, 1949). Bei *P. fulva* handelt es sich um einen pilzlichen Schaderreger, welcher ausschließlich asexuelle Stadien bildet (THOMMA et al., 2005).

### 3.1.2 Symptome

Der Pilz tritt zwar primär auf den Blättern auf, kann jedoch auch Blatt- und Blütenstiele, Stängel, Blüten und Früchte infizieren (THOMMA et al., 2005). Erste Befallssymptome werden frühestens eine Woche nach der Infektion sichtbar (BUTLER und JONES, 1949). Bei Auftreten des Pathogens erscheinen zuerst auf der Oberseite der Blätter Flecken mit blassgrüner oder gelblicher Farbe. Auf Grund des Absterbens des Palisadengewebes kommt es nach einiger Zeit zu einer charakteristischen gelben Färbung dieser Flecke (Abbildung 1) (THOMMA et al., 2005). Zwischen gesunden und befallenen Stellen gibt es keinen deutlich abgegrenzten Rand. Bei sehr starkem Befall kommt es zu einer Verschmelzung der Flecke und zum Absterben der Blätter (JONES und JONES, 1991). Liegen für das Pathogen optimale Bedingungen vor können die Tomatenpflanzen ihre gesamte Assimilationsfläche verlieren (SENGBUSCH und LOSCHAKOWA-HASENBUSCH, 1932).

Auf der Blattunterseite der oberseits verfärbten Stellen kommt ein weißlicher Pilzbelag zum Vorschein (THOMMA et al., 2005). Bei Reifung der Konidien erscheint dieser in olivbrauner Farbe (PERSIEL, 1967). Im Zentrum befinden sich die höchste Dichte und die intensivste Farbe (JONES und JONES, 1991). Der anfangs hellgraue, flaumige Belag erscheint später gelbbraun und verfärbt sich nach einiger Zeit braun (Abbildung 2 und Abbildung 3) (BUTLER und JONES, 1949). *P. fulva* bildet ein wolliges Luftmyzel aus, welches weiß, violett oder orange gefärbt ist (PERSIEL, 1967). Die Ränder der Befallsstellen verbleiben auch in fortgeschrittenen Stadien samtig weiß (BUTLER und JONES, 1949). Nach einiger Zeit blockieren die aus den Stomata austretenden, dicht stehenden Konidienträger wichtige Funktionen der Spaltöffnungen, wie beispielsweise die Respiration (THOMMA et al., 2005). Blattkräuselungen, Welkeerscheinungen sowie der Verlust von Blattmasse sind die Folgen (Abbildung 5) (THOMMA et al., 2005). Die Symptome entstehen zuerst auf älteren Blättern und werden erst einige Zeit später an jüngeren Blättern sichtbar (JONES und JONES, 1991). Üblicherweise ist der erste Krankheitsausbruch im Juni oder Juli zu verzeichnen. Die jüngsten Blätter im oberen Bereich der Tomatenpflanzen können bis zum Ende der Saison befallsfrei bleiben (BUTLER und JONES, 1949). Charakteristisch für diesen Pilz ist seine samtige Erscheinung (JONES und JONES, 2014).



*Abbildung 1: Symptome von P. fulva auf der Blattoberseite*



*Abbildung 2: Symptome von P. fulva auf der Blattunterseite*



*Abbildung 3: Typischer, samtiger Pilzrasen auf der Blattunterseite*



*Abbildung 4: Samtfleckenbefall - beginnend an den untersten Blättern*



*Abbildung 5: Starker Samtfleckenbefall im Tomatenbestand - Verlust der Assimilationsfläche ist ersichtlich*

In manchen Fällen kann ein Befall an den Blattstielen, den Blütenstielen, der Sprossachse, den Blüten und den Früchten verzeichnet werden (JONES und JONES, 2014). Eine Blüteninfektion findet meist durch das Eindringen des Pilzes in die Spaltöffnungen der Kelchblätter statt. Der Pilz kann jedoch auch über die Stomata der Blütenstiele oder Griffel in die Pflanze gelangen (BUTLER und JONES, 1949). Somit kommt es vereinzelt zum Absterben von Blüten (JONES und JONES, 1991).

Die Infektion von Früchten geschieht ausschließlich über die Spaltöffnungen der Kelchblätter oder Fruchtstiele (BUTLER und JONES, 1949). Von den Fruchtstielen ausgehende Faulstellen können die Früchte bis zu einem Drittel bedecken (JONES und JONES, 1991). Befallen werden Früchte aller Altersstufen (GARDNER, 1925). Befallene Tomaten lösen sich im Vergleich zu gesunden Früchten nur schwer von den Pflanzen (GARDNER, 1925). Erste Symptome eines Fruchtbefalls erscheinen am Fruchtstielende unreifer Früchte als schwarze, kreisförmige, scharf abgegrenzte Verfärbungen, welche nach einiger Zeit einsinken. Später erscheinen auf den Befallsstellen kleine, weißliche, papierähnliche Bereiche. Auf reifen Früchten sind auch gelbe, aufgehellte, eingesunkene Flecke vorzufinden. Auf den Tomaten entstehen Rillen, welche schwarz gefärbt sind. Beim Auftreten des Pilzes können einseitige Früchte entstehen, die sich auf der unterentwickelten Seite nicht rot färben und somit grün oder gelblich verbleiben (GARDNER, 1925). Bei befallenen Früchten kann das Pathogen in die Fruchtwände, die Plazenta, den Torus, die Kelchblätter und in das letzte Internodium des Blütenstiels vordringen. Die Samen der Tomaten zeigen unterhalb der Infektionsstellen eine dunkelbraune Farbe (GARDNER, 1925). In unseren Breiten ist kein Samtfleckenbefall an Früchten zu verzeichnen (BEDLAN, 2012). Auf der Frucht selbst kommt zu keiner Sporenbildung. Eine Sporulation an angrenzenden befallenen Kelchblättern und Fruchtstielen ist jedoch möglich (BUTLER und JONES, 1949). Der durch *P. fulva* verursachte Schaden kann bis zu 100 % betragen, da das Pathogen in der Lage ist den gesamten Pflanzenbestand zu vernichten (SENGBUSCH und LOSCHAKOWA-HASENBUSCH, 1932).

### 3.1.3 Inokulation

KAWAGUCHI und SUENAGA-KANETANI (2014) haben in einem Versuch die Bedeutung des primären und sekundären Inokulums im Lebenszyklus von *P. fulva* aufgezeigt. Dazu wurde in kommerziellen Gewächshäusern die räumliche Verteilung von befallenen Tomatenpflanzen nach dem Auftreten erster Krankheitserscheinungen untersucht. Das Experiment zeigt, dass erkrankte Pflanzen kumuliert auftreten. Daher wird davon ausgegangen, dass es während des Krankheitsausbruchs vermehrt zur Bildung von neuen, eigenständigen Herden kommt. Auf Grund dieser Erkenntnis behaupten KAWAGUCHI und SUENAGA-KANETANI (2014), dass die Ausbreitung der Samtfleckenkrankheit

nach dem Model von IWAO 1968 erfolgt. Dieses besagt, dass die Anzahl der Kolonien bei einem Populationsanstieg zunimmt, wobei die Größe der Kolonien unverändert bleibt (Abbildung 6) (YAMAMURA, 2000). Bei der Verbreitung von *P. fulva* kommt also den an Blattläsionen gebildeten Konidien als sekundäre Infektionsquellen im Zyklus dieses Schaderregers eine große Bedeutung zu. Wichtig ist die Feststellung, dass Krankheitsausbrüche und erste Infektionen an Tomatenpflanzen vorwiegend vom primären Inokulum ausgehen. Diese neuen Informationen über die Verbreitung des Pathogens ermöglichen eine gezieltere und effektivere Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit (KAWAGUCHI und SUENAGA-KANETANI, 2014).

### Iwao's (1968) model

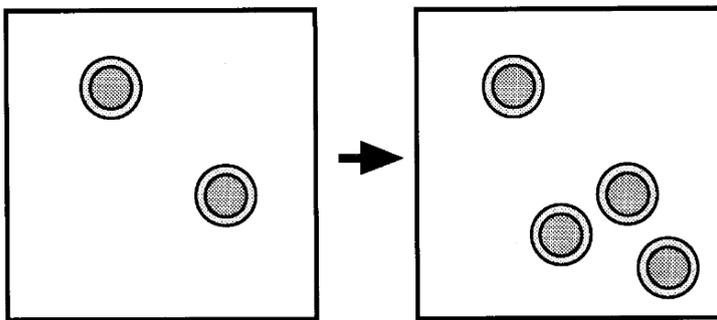


Abbildung 6: Die Krankheitsausbreitung von *P. fulva* nach dem Model von IWAO 1968. Beim Populationsanstieg kommt es zu einer gesteigerten Anzahl an Kolonien, wobei deren Größe unverändert bleibt (YAMAMURA, 2000).

Durch den von den Kelchblättern oder Fruchtsielen ausgehenden Fruchtbefall besteht die Möglichkeit, dass sich das im Fruchtfleisch befindliche Myzelium an der Testa ansiedelt und somit auf den Samen verbleibt (BUTLER und JONES, 1949). Unter feuchten Bedingungen kommt es zur Sporulation auf infiziertem oder kontaminiertem Saatgut (GARDNER, 1925). BUTLER und JONES (1949) berichten, dass es bei der Keimung dieser kontaminierten Samen durch die auf der Samenschale befindlichen Konidien zum Zeitpunkt des Entstehens der Keimblätter zum Befall junger Keimblätter kommen kann. Dies zeigt, dass durch die Verwendung von infiziertem Saatgut eine primäre Infektion von *P. fulva* hervorgerufen werden kann. Die bei einem Befall neu gebildeten Konidien können schnell im Pflanzenbestand verbreitet werden. Eine andere Ursache für die Infektion an Keimblättern ist die Aussaat in kontaminierter Erde (BUTLER und JONES, 1949).

Stößt *P. fulva* auf Nicht-Wirtspflanzen, kann es in die Spaltöffnungen eindringen und ein kleines Myzel ausbilden. Das Pathogen stirbt jedoch nach kurzer Zeit ab, da es sich nicht von der Pflanze ernähren kann. Der Schaderreger ist aber auch in der Lage einige Zellen an Nicht-Wirtspflanze abzutöten und nekrotische Stellen zu verursachen (BUTLER und JONES 1949).

GALLO und CICCARESE (2012) berichten von einer resistenten Tomatensorte und beschreiben an der Tomatenpflanze typische Symptome beim Auftreten einer hypersensitiven Reaktion. Dabei treten zuerst Chlorosen an den Blättern auf, welche sich nach einiger Zeit zu nekrotischen Flecken umbilden (GALLO und CICCARESE, 2012).

*P. fulva* befällt vorrangig Pflanzen mit guter Nährstoffversorgung (THOMMA et al., 2005). Die stärksten Infektionen finden bei Mineralstoff- sowie Stickstoffüberschuss sowie bei mangelnder Verfügbarkeit von Kaliumkarbonaten statt (BUTLER und JONES 1949). Auch eine geringe Versorgung der Pflanzen mit Phosphorsäure bewirkt eine verminderte Krankheitsanfälligkeit (PERSIEL, 1967). Auf chlorotischen, schwachen Pflanzen ist ein reduziertes Pilzwachstum und eine geringe Sporenbildung zu verzeichnen (BUTLER und JONES, 1949). Werden Tomatenpflanzen bei trockenen Bodenbedingungen kultiviert, besteht eine verminderte Anfälligkeit gegenüber dem Schaderreger als bei der Kultivierung auf feuchten Boden (PERSIEL, 1967). Pathogenität, Aggressivität und Infektiosität des Schaderregers *P. fulva* werden von Umwelteinflüssen bestimmt (PERSIEL, 1967).

### 3.1.4 Zyklus

Das Pathogen ist einerseits in der Lage saprophytisch an Pflanzenrückständen zu überleben (JONES und JONES, 1991), andererseits überdauert es durch Konidien, Sklerotien oder als Myzel. Diese Überdauerung kann auf oder in der Erde sowie an Gewächshauskonstruktionen stattfinden (BLANCARD, 2012). Gesunde Pflanzenbestände werden durch Konidien, welche durch Luftzüge aus befallenen Tomatenkulturen oder durch Geräte übertragen werden, befallen (BEDLAN, 2012). Konidien können bis zu einem Jahr ohne Keimung überleben (JONES und JONES, 1991). Außerdem weisen sie eine sehr hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber Kälte, Trockenheit und diversen chemischen Prozessen auf (BUTLER und JONES, 1949). Die Verbreitung der Konidien erfolgt durch Wind und Wasser (THOMMA et al., 2005). Im Gewächshaus kann die Übertragung von Konidien auf andere Tomatenpflanzen durch Arbeitsgeräte, Arbeitskleidung (JONES und JONES, 1991) oder durch Luftströme verursacht werden (BLANCARD, 1991). Möglicherweise können ebenso Insekten mit der Konidienverbreitung in Zusammenhang gebracht werden (JONES und JONES, 1991). Eine Infektion ist bei optimalen Bedingungen binnen 24 bis 28 Stunden möglich, während die Inkubationszeit üblicherweise 10 bis 15 Tage beträgt (BLANCARD, 2012). Das Auftreten erster Symptome kann sich durch weniger gute Temperatur- und Luftfeuchtebedingungen verzögern (PERSIEL, 1967). Eine Sporulation ist innerhalb weniger Stunden möglich (BLANCARD, 2012).

Obwohl die Infektion mit *P. fulva* von einer Vielzahl von Faktoren abhängig ist, wird die Stärke des Befalls zum Großteil von der Temperatur und der relativen Luftfeuchte bestimmt (BUTLER und JONES, 1949). Die beste Infektion ist bei feuchten Bedingungen über einer relativen Luftfeuchtigkeit von 85 % (JONES und JONES, 1991) und Ausschluss von direktem Licht zu verzeichnen (BUTLER und JONES, 1949). Eine optimale Entwicklung des Pilzes liegt bei Temperaturen zwischen 22 °C und 24 °C vor (JONES und JONES, 1991). Kommen die Konidien bei diesen Bedingungen in Kontakt mit der Blattunterseite bilden sich dünne Laufhyphen, die sich auf der Blattoberfläche ausbreiten. Ungefähr drei Tage später tritt der Keimfaden oder ein Seitenast der Hyphe durch die Spaltöffnungen in die Pflanze ein (Abbildung 7). Nach Ausbildung von langen, verzweigten Hyphen dringen diese in den Interzellularraum des Schwammgewebes vor (THOMMA et al., 2005). *P. fulva* bildet beim Eindringen in die Spaltöffnungen der Tomatenpflanze im Gegensatz zu vielen anderen Pilzen kein Appressorium aus (BUTLER und JONES 1949). Nach dem Eindringen wächst das Pathogen Richtung Leitbündel. Wie stark sich der Pilz an die Leitbündel anlagert ist vom Gradienten des apoplastischen Zuckers abhängig (THOMMA et al., 2005), da der Pilz von diesem apoplastischen Zucker und den Aminosäuren einschließlich Saccharose und Glutamin lebt (ÖKMEN und DE WIT, 2013). Dieser ist meist in der Nähe der Phloemzellen am höchsten (THOMMA et al., 2005). Im fortgeschrittenen Stadium befindet sich der Großteil des Pilzes in der Nähe der Leitbündel (THOMMA et al., 2005).



Abbildung 7: Eindringen des Keimfadens oder des Seitenasts der Hyphe durch die Spaltöffnungen in die Pflanze (THOMMA et al., 2005)



Abbildung 8: Bildung von Konidiophoren an den Spaltöffnungen der Blätter (THOMMA et al., 2005)

Neun bis zehn Tage nach der Infektion hat der Pilz bereits dicht stehende Hyphen entwickelt. Daraufhin kommt es zur Bildung von Luftmyzelien (THOMMA et al., 2005). Zur Sporenbildung entstehen auf der Blattunterseite Konidiophoren, welche aus den Spaltöffnungen austreten (Abbildung 8) (BUTLER und JONES 1949). Auf diesen bilden sich die für die sekundäre Infektion verantwortlichen Konidien (BUTLER und JONES, 1949). Bei optimalen Bedingungen ist auch auf der Blattoberseite eine Sporulation zu verzeichnen (BLANCARD, 2012). Je höher die Luftfeuchtigkeit im geschützten Anbau ist, desto schneller kommt es bei Vorliegen der idealen Temperaturen zur Verbreitung des Pathogens (BUTLER und JONES, 1949). In Tomatenanbaugebieten mit feuchten und kühlen Bedingungen im Sommer ist vermehrt mit dem Auftreten der Samtfleckenkrankheit zu rechnen (FOOLAD und PANTHEE, 2012). Bei einer relativen Luftfeuchte von 65 % ist kaum eine Sporenceimung zu verzeichnen, bei 58 % kann es sogar zur Austrocknung der Befallsstellen kommen (BUTLER und JONES, 1949). Das Pathogen ist in der Lage bei Temperaturen zwischen 4 und 31 °C aufzutreten, wobei das Erscheinen von *P. fulva* unter 10,5 °C sehr selten ist (JONES und JONES, 1991). Wird die Temperatur von 34 °C überschritten, trägt das Pathogen bereits erste Schäden davon (SENGBUSCH und LOSCHAKOWA-HASENBUSCH, 1932). Temperaturen über 30 °C verhindern die Befruchtung, da die Keimung der Pollenschläuche beeinträchtigt ist (BEDLAN, 2012). Neben den äußeren Bedingungen hat auch der Wassergehalt in den Blättern einen Einfluss auf das Wachstum im Pflanzengewebe und auf das Eindringen des Pathogens in die Wirtspflanze. Eine Infektion von *P. fulva* ist bei Vorhandensein von welken und schlaffen Blättern nicht möglich (BUTLER und JONES, 1949).

Das Pathogen verfügt über unverzweigte, bis zu 200 µm lange Konidiophoren, welche durch die Spaltöffnungen nach außen gelangen. Sie sind an der Basis deutlich schmaler als an der Spitze. Sie sind septiert und grünlich gefärbt (BUTLER und JONES, 1949). Die Konidien sind 12 bis 47 µm lang und 4 bis 10 µm breit. Sie besitzen bis zu 3 Septen, weisen ein verdicktes Hilum auf und sind farblos bis dunkelbraun (JONES und JONES, 1991). Sowohl die Größe der Konidien, wie auch ihre Form und die Stärke der Septierung variiert sehr stark. (BUTLER und JONES, 1949). PERSIEL (1967) berichtet etwa von ellipsoiden, eiförmigen, birnenförmigen und kugeligen Konidien. Bei der Sporenceimung bildet sich häufig an den zwei Enden der Konidie ein Keimschlauch. Dies kann bereits erfolgen obwohl sich die Konidien noch auf den Konidiophoren befinden (PERSIEL, 1967). *P. fulva* besitzt septierte, verzweigte Hyphen. Die Hauptbestandteile der Zellwände sind Glucan und Chitin (THOMMA et al., 2005).

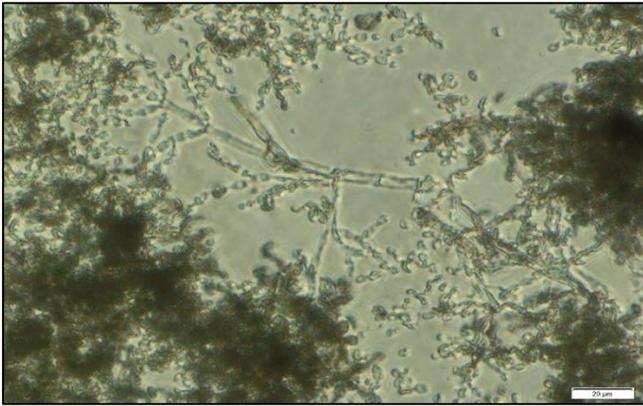


Abbildung 9: Konidiophoren mit Konidien von *P. fulva*

## 3.2 Strategien der Bekämpfung von *P. fulva*

### 3.2.1 Managementmaßnahmen

Das Auftreten von *P. fulva* in Gewächshäusern kann durch die Senkung der relativen Luftfeuchtigkeit unter 85 % vermieden werden (BLANCARD, 2012). Zudem sind das Entfernen und das anschließende Vernichten von Pflanzenrückständen nach der Ernte von Bedeutung (JONES und JONES, 1991). Ein Befall im nächsten Jahr kann bereits durch sehr kleine, eingetrocknete, infizierte Pflanzenrückstände hervorgerufen werden (BUTLER und JONES, 1949). In Gewächshäusern schafft eine sechsstündige Dämpfung der Produktionsflächen bei 57 °C Abhilfe (JONES und JONES, 2014). Hiermit kann das Auftreten des Pathogens im Keimblattstadium der Tomate durch verunreinigte Erde vermieden werden (BUTLER und JONES 1949). Wird das Saatgut von befallenen Pflanzen wiederverwendet oder weitergegeben, ist eine Heißwasserbehandlung der Samen von Vorteil (JONES und JONES, 1991). Dies geschieht durch das Eintauchen der infizierten Samen in 50 °C heißes Wasser für 25 Minuten (BLANCARD, 2012). Die Vermeidung von langen Perioden mit anhaltender Blattnässe ist wichtig. Aus diesem Grund soll einerseits ein Bewässerungssystem gewählt werden, bei dem die Blätter der Tomatenpflanzen während des Bewässerungsvorgangs trocken bleiben. Andererseits fördert der Einsatz von Ventilatoren die Luftzirkulation und führt zu einer schnelleren Abtrocknung des Pflanzenbestandes (JONES und JONES, 1991). Des Weiteren ist es von Bedeutung hohe Pflanzdichten sowie dichte Pflanzenbestände zu vermeiden (BLANCARD, 2012). Kulturmaßnahmen wie das Hochbinden und das Schneiden der Tomatenpflanzen fördern die Durchlüftung im Pflanzenbestand (JONES und JONES, 1991). Liegt im Bestand ein Samtfleckenbefall vor, ist das Entfernen der untersten Tomatenblätter von Vorteil (BUTLER und JONES, 1949).

BUTLER und JONES (1949) unterstreichen die Bedeutung von trockenen Bedingungen im Gewächshaus bei Nacht. Diese können einerseits durch eine gute Durchlüftung im Gewächshaus, andererseits durch Gießvorgänge am frühen Morgen an strahlungsintensiven Tagen erreicht werden (BUTLER und JONES, 1949). Auch das Halten der Nachttemperaturen in Gewächshäusern über der Außentemperatur verhindert einen Anstieg der Luftfeuchtigkeit (BEDLAN, 2012). JONES und JONES (1991) empfehlen in Produktionsgebieten mit Feldanbau, bei denen zu späteren Erntezeitpunkten ein starker Befall vorherrscht, eine frühere Pflanzung. Um die an Gewächshauskonstruktionen und Wänden zurückgebliebenen Sporen zu beseitigen, ist vor der Wiederbepflanzung eine Desinfektion sinnvoll. Dazu stehen verschiedene chemische Präparate zur Verfügung. Optimal ist die Desinfektion bei Temperaturen von 10 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 50 und 80 %. Dabei ist zu beachten, dass die zu reinigenden Wände vor der Desinfektion trocken sind. Das Geschlossenhalten des Gewächshauses für mindestens 24 Stunden und ein gutes Auslüften spätestens einen Tag vor der Wiederbepflanzung wird empfohlen. Vorbeugende Pflanzenschutzmaßnahmen bei erhöhtem Befallsdruck sollen bevorzugt am Morgen durchgeführt werden (BLANCARD, 1991).

### 3.2.2 Biologische Bekämpfung

Die Verwendung chemisch-synthetischer Pflanzenschutzmittel bringen mehrheitlich gute Erfolge hinsichtlich der Bekämpfung der wichtigsten Krankheitserreger von Kulturpflanzen im geschützten Anbau mit sich. Die dabei entstehenden negativen Effekte, wie beispielsweise die Entwicklung von Resistenzen, das Verbleiben von Rückständen auf den Erzeugnissen, sowie die Auswirkungen auf die Umwelt bei nicht sachgemäßer Anwendung dürfen nicht außer Acht gelassen werden. Erzielen biologische Behandlungsmittel gute Wirkungsgrade gegenüber Pathogenen, wäre der Einsatz dieser Produkte eine Alternative zur chemischen Bekämpfung (ELAD, 2000 b).

#### 3.2.2.1 Antagonistische Organismen

##### *Hansfordia pulvinata*

In *H. pulvinata* wurde eine fungitoxisch wirkende Verbindung nachgewiesen (TIRILLY et al., 1983). *H. pulvinata* kann zur biologischen Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten eingesetzt werden (PARK et al., 2010). Der Organismus zeigt eine gute Wirkung gegenüber pilzlichen Schaderregern wie beispielsweise

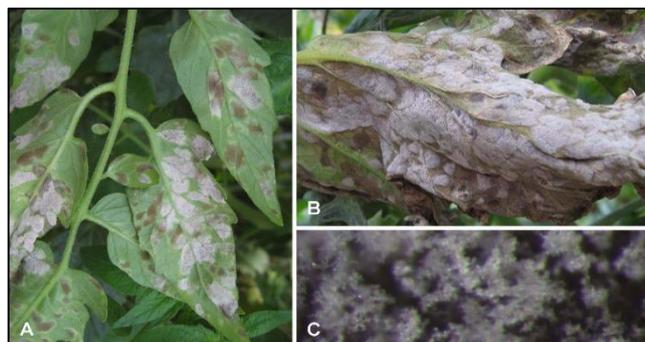


Abbildung 10: *Hansfordia pulvinata* zur biologischen Bekämpfung von *P. fulva* auf Tomate (PARK et al., 2010).

*Fusicladium macrosporum*, einem Pathogen des Kautschukbaums (MELLO et al. 2008). PARK et al. (2010) berichten, dass *H. pulvinata* auch zur Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit sehr gut geeignet ist. Der antagonistische Pilz überwächst die durch *P. fulva* verursachten braunen Befallsstellen an den Blättern der Tomatenpflanzen und lässt sie weiß bis gräulich erscheinen (Abbildung 10). Die ersten grauen Kolonien dieses antagonistischen Pilzes sind bereits sieben Tage nach der Inokulation an den kranken Blättern ersichtlich. *H. pulvinata* unterdrückt das Wachstum junger Samtfleckenkolonien und vermeidet somit die weitere Ausbreitung der Befallsstellen (PARK et al., 2010). Auch BLANCARD (1992) weist auf die biologische Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit durch *Hansfordia pulvinata* hin.

#### *Trichoderma harzianum*

Verschiedenen Versuchen zufolge eignet sich *T. harzianum* sehr gut als biologisches Bekämpfungsmittel gegen pilzliche Schaderreger (O'NEILL et al., 1996; ELAD, 2000a; ELAD, 2000b). So wird diesem antagonistischen Pilz beispielsweise eine gute Wirkung gegen die Schaderreger *Botrytis cinerea*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Sclerotinia sclerotiorum* und *Sphaerotheca fusca* an der Gewächshausgurke nachgesagt (ELAD, 2000 a). Bei Reben reduziert *T. harzianum* den Befall von Grauschimmel (*Botrytis cinerea*) deutlich (O'NEILL et al., 1996). Mit Hilfe des antagonistischen Pilzes *T. harzianum* T39 kann auch die Samtfleckenkrankheit an Tomatenpflanzen gut eingedämmt werden. Wirkungsgrade über 70 % sind möglich. Der Bekämpfungseffekt von *T. harzianum* gegenüber *P. fulva* zeigt keine signifikanten Unterschiede zu den beiden Fungiziden Difenconazol und Toyfluanid (ELAD, 2000 b).

#### *Bacillus subtilis*

In Skandinavien soll ein Bakterienpräparat, welches auf *Bacillus subtilis* basiert, gute Ergebnisse bei der Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit erzielt haben. Es trägt die Handelsbezeichnung Serenade Max und ist derzeit in der Schweiz zur Bekämpfung von Feuerbrand zugelassen (KOLLER und HUBER, 2015). Der von KOLLER und HUBER (2015) durchgeführte Versuch zeigt jedoch, dass die Verwendung dieses Präparats nicht die gewünschte Wirkung gegen *P. fulva* erbringt.

#### *Burkholderia pyrrocinia*

Der Bakterienstamm CH-67 von *B. pyrrocinia* weist eine hohe Aktivität gegenüber pflanzenpathogenen Pilzen auf. Bei einem Versuch von LEE et al (2011) zeigt der dem *B. cepacia*-Komplex zugehörige Bakterienstamm sehr gute Effekte bei der Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit. CH-67 von *B. pyrrocinia* ist auch in der Lage das Myzelwachstum vieler Schadpilze zu unterdrücken. Gegenüber *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia*

*sclerotiorum*, *Colletotrichum sp.* und *Phytophthora sp.* können beispielsweise gute antagonistische Wirkungen erzielt werden (LEE et al, 2011).

#### *Streptomyces sp.*

Sekundäre Metabolite von *Streptomyces*-Arten besitzen eine Wirkung gegen verschiedene krankheitserregende Pilze (KIM et al., 2012). CHEN et al. (2015) berichten beim Einsatz von *Streptomyces albidoflavus* L131 von einer deutlichen Hemmung der Samtfleckenkrankheit. Dies wurde sowohl auf Agarplatten, als auch auf Tomatenblättern nachgewiesen. *Streptomyces albidoflavus* L131 eignet sich gut zur Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit, da es das Zellwachstum des Schaderregers effektiv unterdrückt. Des Weiteren bewirkt der Einsatz dieses Bakteriums gegen *P. fulva* eine Schädigung des Myzels, eine Reduzierung der Sporulation und eine Zerstörung der Plasmamembran (CHEN et al., 2015). LIU et al. (2009) untersuchte die Wirkung von *Streptomyces rimosus* MY02 gegenüber 14 verschiedenen pflanzenpathogenen Pilzen, darunter auch *P. fulva*. Dabei zeigte das Bakterium gegen alle getesteten Krankheitserreger einen starken antagonistischen Effekt (LIU et al., 2009).

### 3.2.2.2 Biologische Präparate

#### Kaliumbicarbonat – Fenchelölmischung

GALLMEISTER und KOLLER (2011) haben die Wirksamkeit verschiedener Behandlungsmittel gegenüber *P. fulva* untersucht und sind zum Ergebnis gekommen, dass keines der verwendeten Präparate den gewünschten Effekt erzielt. Die Kombination der Wirkstoffe Kaliumbicarbonat und Fenchelöl zeigte die größte Befallsreduktion mit rund 32 % auf. Echter Mehltau (*Oidium neolycopersici*) kann mit diesen beiden Substanzen fast vollständig bekämpft werden.

Bei einem von KOLLER und HUBER (2015) in der Schweiz durchgeführten ähnlichen Versuch, in dem zu den beiden oben genannten Substanzen Kaliumbicarbonat und Fenchelöl noch Laminarin zugefügt wurde, stellte sich heraus, dass eine Behandlung mit diesen Wirkstoffen einen sehr guten Effekt bei der Bekämpfung des Echten Mehltaus in Tomatenkulturen mit sich bringt. Gegenüber *P. fulva* ist diese Dreifachmischung im Vergleich zu den anderen Präparaten (Kaliumbicarbonat und Fenchelöl, *Bacillus subtilis*) zwar wiederum am erfolgreichsten, eine zufriedenstellende Wirkung konnte jedoch auch hier nicht erzielt werden.

Der Wirkstoff Kaliumbicarbonat (Kaliumhydrogencarbonat) ist in den in Österreich registrierten Pflanzenschutzmitteln Vitisan (Pflanzenschutzmittelregisternummer 3578), Armicarb (Pflanzenschutzmittelregisternummer 3398) und Kumar (Pflanzenschutzmittelregisternummer 3399) vorhanden. In Österreich ist der Einsatz dieser Präparate mit Ausnahme von Vitisan ausschließlich im Bereich des Kernobstbaus und Weinbaus zulässig (AGES, 2015, GOTTSCHLICH H., persönliche Mitteilung).

### Laminarin

Laminarin ist in der Schweiz als Pflanzenschutzmittelwirkstoff registriert (BLW, 2016) und besteht aus Zucker und Uronsäure. Es wird aus braunen Meeresalgen wie *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* und *Saccharina longicruris* gewonnen (RIOUX et al., 2007). Verschiedenen Versuchen zufolge hat Laminarin eine Wirkung gegenüber pilzlichen Schaderregern (AZIZ et al., 2003; FELIZIANI et al., 2015). Es hemmt beispielsweise die Ausbreitung von *Botrytis cinerea* und *Plasmopara viticola* auf befallenen Weinreben (AZIZ et al., 2003). Nach FELIZIANI et al. (2015) wird durch den Einsatz von Laminarin auch der Grauschimmelbefall an Erdbeeren teilweise reduziert.

### Knoblauchextrakt

Der Knoblauch, *Allium sativum*, enthält die antibakterielle Substanz Allicin (CAVALLITO und BAILBY, 1944). Die Wirksamkeit von Allicin gegen pilzliche Erreger konnte bereits beim Einsatz des Knoblauchextraktes gegen *Cryptococcus neoformans* (FOMTLING und BULMER, 1978) und *Candida albicans* bestätigt werden (ADETUMBI et al, 1986). Sehr gute präventive Effekte sind auch gegen *Phytophthora capsici* zu verzeichnen (SU und CHENG, 2009). BARONE und TANSEY (1977) vermuten durch Allicin eine Störung im Zellmetabolismus, welche durch die Inaktivierung von Proteinen verursacht wird. Es kann es zur Bindung von Cystein und Glutathion sowie zur Hemmung von Enzymfunktionen kommen (BARONE und TANSEY, 1977).

WEI et al. (2012) führten einen Versuch zur Eindämmung der Samtfleckenkrankheit durch den Einsatz von Knoblauchextrakt durch. Die Ergebnisse zeigen bei allen getesteten Konzentrationen eine Hemmung des Myzelwachstums. Des Weiteren bewirkt das Knoblauchextrakt eine Reduktion der Sporenkeimung. Je höher die Konzentration des Knoblauchextrakts, desto stärker wird die Krankheitsentwicklung gehemmt. Das Wachstum der Tomatenpflanzen wird durch die Applikation des Knoblauchextrakts nicht beeinflusst. Bei einer bestimmten Konzentration ist sogar eine Steigerung der Tomatenblattfläche zu verzeichnen. Dies kann dadurch begründet werden, dass diese Konzentration die Aktivität einiger für das Wachstum verantwortlicher Enzyme der Tomatenpflanze fördert (WEI et al., 2012).

### Zitronensäure

McGrath (2009) berichtet aus einem Versuch in den USA von der Reduzierung des Samtfleckenbefalls durch den Einsatz eines Zitronensäurepräparats. Des Weiteren kann das Behandlungsmittel zur Unterdrückung des Echten Mehltaus eingesetzt werden (McGrath, 2009).

### 3.2.2.3 Informationen zu den im Versuch verwendeten Präparaten

#### Cuprozin Progress

Bei Cuprozin Progress handelt es sich um ein biologisches Pflanzenschutzmittel (Pflanzenschutzmittelregisternummer 3405) mit dem Wirkstoff Kupferhydroxid. Die Anwendung dieses Kontaktfungizides ist im Obst- und Weinbau, im Kartoffel- und Hopfenanbau sowie im Gemüse- und Zierpflanzenbau möglich. Um eine gute Benetzung der Pflanzen zu gewährleisten wird die Zugabe von Haft- und Netzmitteln angeraten. Cuprozin Progress verfügt über eine präventive und kurative Wirkung (BIOHELP, 2015).

#### Myco-Sin

Myco-Sin gehört der Kategorie der Pflanzenstärkungsmittel an. Das Präparat fördert die Widerstandsfähigkeit der Pflanzen, steigert deren Vitalität und reduziert die Anfälligkeit gegenüber Stressfaktoren und vorzeitiger Alterung. Eingesetzt darf dieses Präparates im Wein-, Obst- und Gemüsebau werden. Bei der Anwendung ist zu berücksichtigen, dass der pH-Wert der Spritzbrühe den Grenzwert von 4 nicht überschreiten soll. Für die Senkung eines zu hohen pH-Wertes wird die Beigabe von Zitronensäure empfohlen (BIOHELP, 2015).

#### Pilzfrei Saprol Plus

Dieses als Vergleichsmittel verwendete Produkt mit der Pflanzenschutzmittelregisternummer 2711 wird zur Bekämpfung von Pilzkrankheiten an diversen Gemüsearten verwendet und besitzt eine vollsystemische Wirkung. Pflanzen nehmen den Wirkstoff Azoxystrobin in ihr Gewebe auf, welcher sich anschließend mit dem Saftstrom in der Pflanze verteilt (CELAFLOR SCOTTS, 2015).

#### PREV-B2

Dieses Präparat ist als Zusatzstoff gelistet und besteht aus Fettalkoholethoxylat und kaltgepresstem Orangenöl. PREV-B2 passiert die wasserabweisende Wachsschicht auf den Pflanzenteilen und befördert die Wirkstoffe in das Zellgewebe der Pflanzen. Somit ist eine verbesserte Wirksamkeit der Pflanzenschutz- und Pflanzenhilfsmittel gewährleistet. Des Weiteren sorgt es für eine gute Benetzung und optimiert die Haftung des Spritzbelags auf den Pflanzen (BIOHELP, 2015).

### Sergomil L60

Das Produkt enthält Kupfer, sowie aus Fruchtpektinen stammende Galacturonate und Monogluconate. Kupfer fördert den Aufbau von Phytoalexinen und Polyphenolen, welche über eine pflanzenstärkende Wirkung verfügen. Die Aufnahme von Sergomil L 60 geschieht einerseits über Pflanzenwurzeln, andererseits über die Blätter (BIOHELP, 2015).

### Resistance

Dieses Produkt gehört der Kategorie Pflanzenstärkungsmittel an und setzt sich aus *Laminaria*-Algen und Kaliumoxid zusammen. Das Kalium ist gut pflanzenverfügbar und dient zur Erhaltung der Pflanzengesundheit, zur Förderung der Widerstandskraft gegenüber pilzlichen Schaderregern sowie zur Verhinderung von Kaliummangel. Die Ausbringung von Resistance ist bei hohen Temperaturen und starker Sonneneinstrahlung zu vermeiden. Bei der Beimischung zu anderen Präparaten bewirkt Resistance eine verminderte Phytotoxizität sowie eine verbesserte Wirkung der Kombinationspräparate (BIOHELP, 2015).

### Netzschwefel Stulln

Bei Netzschwefel Stulln handelt es sich um ein biologisches Pflanzenschutzmittel (Pflanzenschutzmittelregisternummer 2915), welches 80 % Schwefel enthält. Bei der Anwendung ist die Zugabe eines Netzmittels zu berücksichtigen. Temperaturen über 10 °C sind für einen guten Wirkungsgrad notwendig. Sehr warme Temperaturen können jedoch zur Verdampfung des Präparates führen, was den Verlust der Bekämpfungswirkung mit sich bringt (BIOHELP, 2015). Verschiedene Feld- und Laborversuche zeigen, dass durch den Einsatz von Schwefel neben typische Schaderreger wie Echter Mehltau und diverse Rost- und Brandpilze auch Pflanzenpathogene wie *Cladosporium carpophilum*, *Cylindrosporium clematidis*, *Diplacarbon rosae*, *Fusarium spp*, *Monilinia fructigena*, *Passalora fulva*, *Stagonospora nodorum*, *Venturia inaequalis* und *Verticillium spp.* gut bekämpft werden können (WILLIAMS und COOPER, 2004).

### VitiSan

VitiSan ist ein biologisches Pflanzenschutzmittel (Pflanzenschutzmittelregisternummer 3578) und enthält den Wirkstoff Kaliumhydrogencarbonat. Das Präparat bewirkt eine verzögerte Myzelbildung des Pilzes, was die Austrocknung der keimenden Pilzhyphen zur Folge hat (BIOHELP, 2015).

### Wetcit

Bei Wetcit handelt es sich um einen Zusatzstoff, welcher die Benetzung von Pflanzenstärkungs- und Pflanzenschutzmittel optimiert und für eine bessere Verteilung der Spritzbrühe sorgt. Es besteht aus Alkoholethoxylat und bewirkt, dass die Wirkstoffe besser von den Pflanzenteilen aufgenommen werden. Des Weiteren sind eine verminderte Oberflächenspannung sowie eine gesteigerte Fließfähigkeit der Spritzbrühe gewährleistet. Außerdem sorgt Wetcit für eine bessere Löslichkeit der Kombinationspräparate (BIOHELP, 2015).

### **3.2.3 Chemische Bekämpfung**

Im Pflanzenschutzmittelregister der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherung erscheint bei Eingabe der „Samtfleckenkrankheit“ als Schadfaktor und der „Tomate“ als Kulturobjekt eine Reihe zugelassener Bekämpfungsmittel, welche alle den Wirkstoff Azoxystrobin beinhalten. Hierzu zählen beispielsweise Ortiva oder Pilzfrei Saprol Plus, welches im Versuch als chemisch-synthetisches Vergleichspräparat diente (AGES, 2016).

### **3.2.4 Einsatz resistenter Sorten**

Um 1930 wurde erstmals intensiv im Bereich der Samtfleckenresistenzzüchtung gearbeitet (PERSIEL, 1967). PERSIEL (1967) berichtete bereits vor knapp 50 Jahren von einem Wettlauf zwischen der Samtfleckenresistenzzüchtung und der hohen Anpassungsfähigkeit des Schadpilzes. Züchtern ist es im Laufe der Jahre immer wieder gelungen eine gegenüber der Samtfleckenkrankheit resistente Sorte zu entwickeln (JONES und JONES, 2014). Die dazu notwendigen Resistenzgene werden chronologisch nach ihrer Entdeckung nummeriert (PERSIEL, 1967) und tragen die Bezeichnungen *Cf-2*, *Cf-4*, *Cf-5*, *Cf-6*, *Cf-8*, *Cf-9* und *Cf-11*. Sie stammen aus verschiedenen Wildformen der Tomate wie beispielsweise *Lycopersicon cheesmanii*, *L. peruvianum*, *L. hirsutum*, *L. chilense*, *L. pimpinellifolium* und *L. pennellii* (BLANCARD, 2012). Die Bezeichnung der Resistenzgene (*Cf*) stammt vom früheren Namen des Pilzes, der *Cladosporium fulvum* lautete (siehe Seite 9) (IFS, 2012).

Um Tomatensorten zu erhalten, welche gegenüber vielen Pilzrassen resistent sind, ist die Kombination mehrerer aus Wildformen stammender Resistenzgene mit den guten Eigenschaften der Kulturtomate notwendig. Dies ist jedoch einer großen Herausforderung, da Wildformen kaum andere züchterisch wertvollen Eigenschaften besitzen (PERSIEL, 1967). Für die Züchtung kommerzieller Sorten werden nicht alle beschriebenen Resistenzgene verwendet (IFS, 2012).

Sehr häufig wird auf die Resistenzgene *Cf-2*, *Cf-4*, *Cf-5* und *Cf-9* zurückgegriffen (IFS, 2012). GALLO und CICCARESE (2012) berichten von elf monogen dominanten Resistenzfaktoren des Pilzes *P. fulva*. Die Resistenz von Tomatenpflanzen gegen *P. fulva* kann durch die Einbringung sogenannter “starke“ Gene wie beispielsweise *Cf-5* und *Cf-9* erreicht werden. Für einen ausreichenden Schutz ist in Nord-Europa die Verwendung von *Cf-9*-Genen von Bedeutung, während in unseren klimatischen Bedingungen vor allem *Cf-5*-Gene eine Rolle spielen (GALLO and CICCARESE, 2012).

Auf Grund des enormen Weiterentwicklungspotenzials (JONES und JONES, 2014) ist der Pilz in der Lage die Resistenzgene zu überwinden (BLANCARD, 2012). Somit werden resistente Sorten wieder krankheitsanfällig (JONES und JONES, 2014). Neue Pilzstämme treten in der Natur spontan auf und befallen resistente Sorten der Kulturpflanzen. Hinsichtlich der Entwicklung neuer *P. fulva*-Rassen werden Mutationen oder Kernmischungen beziehungsweise Kernentmischungen vermutet (PERSIEL, 1967). Durch das Einbringen mehrerer Resistenzgene in eine Tomatensorte wird die Wahrscheinlichkeit eines Krankheitsbefalls durch vorhandene Pilzrassen verringert (PERSIEL, 1967). Nach PERSIEL (1967) können aus jeder bestehenden Rasse wieder neue hervorgehen. In Westeuropa werden die auftretenden Pathotypen in die fünf Rassengruppen A, B, C, D und E eingeteilt. Diese helfen bei der Angabe resistenter Tomatensorten (CRÜGER, et al., 2002). C1-Sorten weisen beispielsweise eine Resistenz gegen die Pathotypengruppe A auf. C2-Sorten sind gegen Gruppe A, B (BEDLAN, 2012) und D resistent (IFS, 2012). C3-Sorten zeigen eine Resistenz gegenüber den Pathotypengruppen A, B und C. C4-Sorten sind gegen die Pathotypengruppe A, B, C und D resistent und C5-Sorten weisen eine Resistenz gegenüber die Pathotypengruppen A, B, C, D und E auf (Tabelle 1) (BEDLAN, 2012).

Tabelle 1: Codesystem von Firmen zur Zuordnung der Pathotypen in Code-Sektionen, Rassengruppen, Rassen und Resistenzgenen (verändert nach IFS, 2012)

Code-Sektion*	Gruppe*	Rassen	Gene
C1	A	2	<i>Cf-1</i>
C2	A, B, D	2, 4 und 5	<i>Cf-2</i> , <i>Cf-4</i>
C3	A, B, C	2, 4, 1.2.4 und 2.4	<i>Cf-5</i>
C4	A, B, C, D	2, 4, 1.2.4, 2.4 und 5	<i>Cf-2</i> , <i>Cf-4</i> , <i>Cf-5</i>
C5	A, B, C, D, E	2, 4, 1.2.4, 2.4, 5 und 2.4.5	<i>Cf-9</i>

\* Codes, die von Firmen verwendet werden

IDA et al. (2010) weisen auf die rasche Entwicklung neuer Rassen der Samtfleckenkrankheit und die daraus resultierende Überwindung der durch das Einbringen neuer *Cf*-Resistenzgene entstandenen Resistenz in den letzten Jahren hin. Diese Resistenzbrüche treten vor allem in Gebieten auf, in denen das ganze Jahr über intensiver Tomatenanbau mit resistenten Sorten betrieben wird. Auch in Gegenden mit Tomatensorten, welche nur wenige *Cf*-Resistenzgene enthalten, werden Resistenzen oft durchbrochen (ÖKMEN und DE WIT, 2013). PERSIEL (1967) berichtet vom Auftreten neuer Pilzrassen wenn neue resistente Sorten und krankheitsanfällige Sorten im Tomatenbestand vorhanden sind.

Verschiedenen Züchtern zufolge wird derzeit an Sorten gearbeitet, welche die Resistenzgenen *Cf*-13, *Cf*-19 und *Cf*-23 enthalten (MARAICHER, 2015). Eine andere Maßnahme zur Bekämpfung wäre der Einsatz von Fungiziden (MARAICHER, 2015). ENYA et al. (2008) weisen auf das Problem des unterlassenen Einsatzes chemischer Präparate bei der Kultivierung resistenter Sorten hin. Dadurch kann sich der Pilz rascher ausbreiten und die Entwicklung und Ausbreitung neuer Rassen wird gefördert. Aus diesem Grund ist neben der Verwendung resistenter Sorten auch der Einsatz von Fungiziden für einen samtfleckenfreien Pflanzenbestand notwendig (ENYA et al., 2008).

Zwischen einer Tomatenpflanze und dem Pilz *P. fulva* liegt grundsätzlich eine kompatible Wechselwirkung vor. Bei dieser kommt es nach der Keimung einer Konidie zur Ausbildung einer Hyphe, die in den apoplastischen Raum des Blattes eindringt und die Tomatenpflanze befällt. Bei einem Befall gibt der Pilz kleine Effektorproteine in den apoplastischen Raum der Tomatenblätter ab, um die natürliche Pflanzenabwehr auszuschalten. Somit kann das Pathogen in das Blatt eindringen und die Tomatenpflanze besiedeln. Aus diesem Grund werden Effektorproteine als Virulenzfaktoren bezeichnet (ÖKMEN und DE WIT, 2013).

Die Samtflecken-Resistenz von Tomatensorten beruht auf die Gen-für-Gen-Beziehung. Bei dieser kodieren bestimmte Proteine – sogenannte Avirulenzgene – die Effektorproteine im Pathogen. Diese werden von Rezeptorproteinen in der Tomatenpflanze, welches von einem Resistenzgen kodiert wurde, bemerkt. Durch die Wahrnehmung der Effektorproteine im Pathogen werden verschiedene Abwehrreaktionen in der Pflanze aktiviert. Häufig kommt es um Infektionsstellen zum Absterben von Zellen, was als Hypersensitive Reaktion bezeichnet wird. Diese ist typisch für eine Resistenz, welche auf der Gen-für-Gen-Beziehung beruht (AGRIOS, 2009). Durch hypersensitive Reaktionen wird der Pilz am Weiterwachsen gehindert (ÖKMEN und DE WIT, 2013).

Tabelle 2: Darstellung der *P. fulva*-Rassen und deren Widerstandsfähigkeit bzw. Anfälligkeit gegenüber einzelnen Resistenzgenen (verändert nach IFS, 2012 S = anfällig, R = widerstandsfähig/resistent)

Rasse	0	1	2	3	4	1.2. 4	2. 4	5	2.3.4. 5	2. 4	2. 5	2.4. 5	2.5. 9	2.4.5. 9	1.2. 3
Gruppe			A		B	C		D				E			
Resistenz-gene															
Keine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Cf-1</i>	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R					S
<i>Cf-2</i>	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Cf-3</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
<i>Cf-4</i>	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	R
<i>Cf-5</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R
<i>Cf-6</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Cf-9</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
<i>Cf-2, Cf-4</i>	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S	R
<i>Cf-2, Cf-5</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R
<i>Cf-2, Cf-4, Cf-5</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S
<i>Cf-2, Cf-4, Cf-9</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Versuchsaufbau

Alle Versuche wurden an der Universität für Bodenkultur Wien im Universitäts- und Forschungszentrum Tulln (UFT) in der Abteilung Pflanzenschutz durchgeführt. Um für Österreich repräsentative Ergebnisse zu erhalten, wurden die verwendeten *P. fulva*-Isolate von befallenen Tomatenbeständen aus österreichischen Erwerbsanlagen entnommen. Ein Isolat stammt aus Saalfelden, Oberösterreich, das andere aus Engelhartzell, Salzburg (Abbildung 12 und Abbildung 12). Die genaue Identifizierung der beiden Pilzstämme fand in einem AnalySELabor in Frankreich statt und wurde von GEVES (French Group for the Study and Control of Varieties and Seeds) durchgeführt. Alle getesteten Präparate (Tabelle 4) wurden dankenswerterweise von der Firma Biohelp zur Verfügung gestellt. Die Kultivierung des Pilzes *P. fulva* erfolgte auf Grund seiner nicht obligatorisch biotrophen Eigenschaften *in vitro* in einfachen Nährmedien. Die sehr langsam wachsenden Kolonien des Pilzes erscheinen in grünlich bis schwarzer Farbe (THOMMA et al., 2005). Als Standardwachstumsmedium für das Pathogen wurde das Kartoffel Dextrose Agar (Roth Nr. X931.2, Österreich) verwendet.



Abbildung 11: Karte von Österreich mit der Herkunft der beiden Pilzisolat. 1 Oberösterreich, Engelhartzell; 2 Salzburg, Saalfelden. Maßstab 1:5.000.000 (Datenquelle: OpenStreetMap)

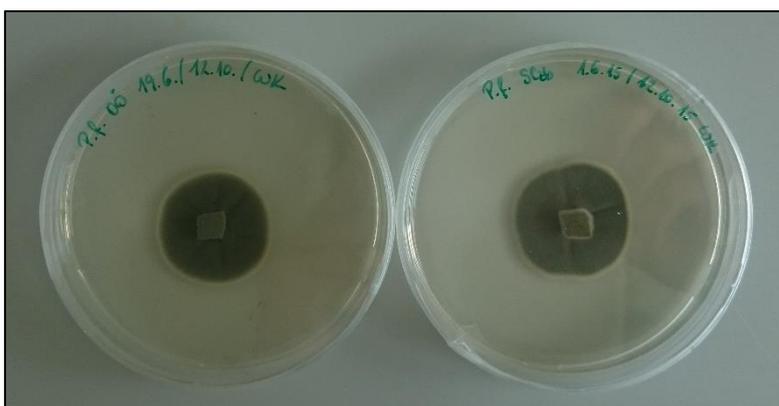


Abbildung 12: Vergleich der beiden Pilzisolat im Alter von 7 Tagen (links: Oberösterreich, rechts: Salzburg)

Tabelle 3: Auflistung der getesteten Versuchsmittel nach Zuordnung, maximaler Aufwandmenge und Gefahrensymbole (BioHELP, 2015; GOTTSCHLICH H., persönliche Mitteilung; AGES, 2016)

Handelsname des Präparats	Kategorienzuordnung	Maximale Aufwandmenge	Gefahrensymbol
Cuprozin Progress	Pflanzenschutzmittel	0,2 %	N
HF Pilzvorsorge	In Österreich keine Zulassung.	k.A.	k.A.
Myco-Sin	Pflanzenstärkungsmittel	2 %	Xi
Pilzfrei Saprol Plus	Pflanzenschutzmittel	0,08 %	N
PREV-B2	Zusatzstoff/Netzmittel	0,2 %	Xi
Resistance	Pflanzenstärkungsmittel	0,3 %	-
Netzschwefel Stulln	Pflanzenschutzmittel	1 %	-
Sergomil L60	Düngemittel	0,8 %	Xi
VitiSan	Pflanzenschutzmittel	1,5 %	-
Wetcit	Zusatzstoff/Netzmittel	0,2 %	Xn, N

Tabelle 4: Allgemeine Angaben zu den getesteten Präparaten

Name	Wirkstoffe	Inhaltsstoff	Inverkehrbringer	Wartezeit
Cuprozin Progress	Kupferhydroxid	-	Spiess-Urania Chemicals	k.A.
HF Pilzvorsorge	-	Pflanzenextrakt aus Fenchel	Bio-Agrar-Counsel GmbH	k.A.
Myco-Sin		Schwefelsaure Tonerde, Pflanzenextrakt	Biofa AG	-
Pilzfrei Saprol Plus	Azoxystrobin	-	Scotts Celaflor	3
PREV-B2	-	Fettalkoholethoxylat Orangenöl	BioHelp	-
Resistance	-	Algenextrakt	BioHelp	-
Netzschwefel Stulln	Schwefel	-	Agrostulln	k.A.
Sergomil L60	-	Kupfersulfat	BioHelp	7
VitiSan	Kaliumhydrogen- carbonat	-	Biofa AG	k.A.
Wetcit		Alkoholethoxylat Orangenöl	BioHelp	-

(Quelle: BIOHELP, 2015; GOTTSCHLICH H., persönliche Mitteilung; AGES, 2016; JKI, 2016)

### **Prüfung der Pathogenität der beiden Pilzisolat auf Tomatenpflanzen**

Um die Pathogenität der beiden Pilzisolat zu prüfen wurden je zwei Tomatenpflanzen der Sorte Kremser Perle im Alter von sechs Wochen in 12 cm-Töpfe gepflanzt. Die Inokulation erfolgte mit einer Sporensuspension. Mit Hilfe einer Sprühflasche wurden die Sporen gleichmäßig auf den Pflanzen verteilt. Die Pflanzen wurden im Klimaschrank bei einer Temperatur von 24 °C und einer hohen relativen Luftfeuchte kultiviert. Ein Befall war ungefähr 16 Tage nach der Inokulation ersichtlich (Abbildung 13 und Abbildung 14).



*Abbildung 13: Pilzrasen auf der Blattunterseite des aus Oberösterreich stammenden Isolates*



*Abbildung 14: Pilzrasen auf der Blattunterseite des aus Salzburg stammenden Isolates*

## 4.2 Versuchsdurchführung

### 4.2.1 Myzelwachstum

Zur Feststellung des Myzelwachstums wurde die Poison Food Technique von DHINGRA und SINCLAIR (1995) herangezogen. Bei dieser Technik wird der Testorganismus auf einem Medium, welches das Testpräparat enthält, kultiviert. Anschließend erfolgt die Messung des Wachstums des Organismus (DHINGRA und SINCLAIR, 1995). Das Pathogen *P. fulva* wurde auf Kartoffel Dextrose Agar (PDA) kultiviert, welchem – mit Ausnahme der Kontrolle – die verschiedenen Präparate in unterschiedlichen Konzentrationen zugegeben wurde (Tabelle 5). Nach dem Autoklavieren wurden die Präparate dem etwa 55 °C warmen, flüssigen Medium hinzugefügt. Ein Magnetrührer sorgte für die homogene Verteilung der Testpräparate im Nährmedium. Eine Sterilfiltration konnte auf Grund der Gefahr des Herausfiltrierens wichtiger Bestandteile aus den Versuchspräparaten nicht durchgeführt werden. Bei den Varianten 3 und 12, also jenen die das Präparat Myco-Sin enthalten, erfolgte die Zugabe von 60 µl 100 %ige Essigsäure ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) pro 100 ml Medium, da ein saurer pH-Wert für die Wirkung des Präparates gewährleistet sein muss (BIOHELP, 2015).



Abbildung 15: Gießen des Mediums in Petrischalen



Abbildung 16: Die Farbenvielfalt der verschiedenen Wachstumsmedien entstehend durch die Zugabe der Testpräparate

Nach dem Auflegen einer Filterpapierscheibe (Macherey-Nagel Nr. MN616, 90 mm Durchmesser, Deutschland) mit einem Durchmesser von 0,5 cm in die Mitte jeder Petrischale wurden 5 µl einer 106-Sporensuspension aufpipettiert. Die Herstellung dieser Sporensuspension erfolgte aus einer sieben Tage alten Pilzkultur mit Hilfe der Thoma-Zählkammer. Auf Grund der samtigen, wasserabweisenden Sporen (Abbildung 17) von *P. fulva* wurden der Sporensuspension zwei Tropfen Tween hinzugefügt.



Abbildung 17: Samtige, wasserabweisende Sporen der Samtfleckenkrankheit

Die Inkubation der Petrischalen fand bei Dunkelheit und einer Temperatur von 24 °C statt. Die Messung der Myzeldurchmesser erfolgte durch ein Geo-Dreieck und wurde jeweils am vierten, siebenten und zehnten Tag nach der Inokulation durchgeführt. Am zehnten Tag nach der Inokulation bedeckte die Myzelfläche der Kontrollvariante mehr als die Hälfte der Petrischale. Die prozentuelle Wachstumsrate wurde anhand der Formel  $\text{Wachstum der Behandlung} / \text{Wachstum der Kontrolle} \times 100\%$  errechnet. Dieser Wert subtrahiert von 100 ergab die Hemmwirkung der Versuchsmittel.

Insgesamt gab es 15 Varianten mit je fünf Petrischalen von jedem Pilzisolat. Der gesamte Versuch wurde dreimal wiederholt.

Tabelle 5: Testpräparate, Versuchsvarianten und die jeweiligen Konzentrationen

Varianten	Präparate	Verwendete Konzentrationen
1	Cuprozin Progress	0,25 %
2	HF Pilzvorsorge	0,1 %
3	Kontrolle	-
4	Myco-Sin	2 %
	Essigsäure CH <sub>3</sub> COOH	6 %
5	PREV-B2	0,1 %
6	Resistance	0,3 %
7	Pilzfrei Saprol Plus	0,05 %
8	Netzschwefel Stulln	1 %
9	Sergomil L60	0,5 %
10	Sergomil L60	0,5 %
	Netzschwefel Stulln	1 %
	PREV-B2	0,1 %
	Resistance	0,3 %
11	Myco-Sin	2 %
	Netzschwefel Stulln	1 %
	PREV-B2	0,1 %
	Resistance	0,3 %
	Essigsäure CH <sub>3</sub> COOH	6 %
12	Cuprozin Progress	0,25 %
	PREV-B2	0,1 %
13	VitiSan	1 %
	HF Pilzvorsorge	0,1 %
14	VitiSan	1 %
15	WETCIT	0,1 %

#### 4.2.2 Sporulation

Als Wachstumsmedium wurde das oben beschriebene veränderte Kartoffel Dextrose Agar verwendet (Seite 33). Nach der zehntägigen Inkubation bei Dunkelheit und einer Temperatur von 24 °C erfolgte das Messen des Myzeldurchmessers durch ein Geo-Dreieck. Danach wurde jede Petrischale (fünf Petrischalen je Variante) mit 4 ml destilliertem Wasser mit der Beimengung von zwei Tropfen Tween (Duchefa P1362, Niederlande) geflutet. Die Sporen wurden mit Hilfe eines Drigalskispatels sanft von der Oberfläche des Mediums entfernt. Anschließend erfolgte das Filtern der 20 ml-Sporensuspension durch einen zweischichtigen Kannenfilter in einen Erlenmeyerkolben. Schlussendlich wurden pro Variante fünfmal 200 µl dieser Sporensuspension in 96er Mikrotiterplatten (Sterilin Limited, Vereinigtes Königreich) pipettiert (Abbildung 20). Die Messung der optischen Dichte erfolgte durch die Verwendung eines Photometers (FLUOstar, Omega, BMG Labtech, Deutschland) bei einer Wellenlänge von 600 nm. Varianten mit Werten über 0,5 wurden 1:5, 1:10, 1:20 oder 1:40 verdünnt und nochmals photometrisch gemessen. Der Wert der zweiten Messung wurde nach der jeweiligen Verdünnung aufgerechnet. Das Ausmaß der Hemmung der Sporulation durch die verschiedenen Präparate wurde aus dem Wert der optischen Dichte und der Myzelfläche errechnet. Die Sporulation in Prozent im Vergleich zur Kontrolle wurde anhand der Formel  $\text{Sporulation der Behandlung} / \text{Sporulation der Kontrolle} \times 100 \%$  errechnet. Die Hemmwirkung der Varianten im Vergleich zur Kontrolle wurde aus der Differenz von diesem Wert und 100 ermittelt. Der Versuch bestand aus drei Wiederholungen.



Abbildung 18: Erlenmeyerkolben mit Trichter und 2-schichtigen Kannenfilter zum Herstellen der Sporensuspension



Abbildung 19: Wasser-Sporen-Gemisch des Salzburger Isolates bei den Varianten Kontrolle, Wetcit, PREV-B2, HF und der Variante Cuprozin Progressive und PREV-B2

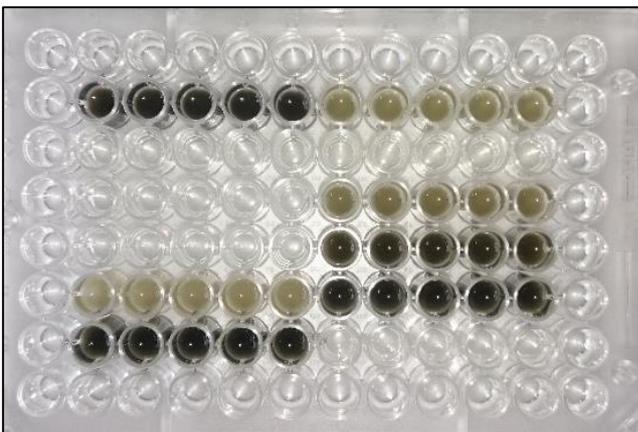


Abbildung 20: Sporensuspensionen der einzelnen Varianten in der Mikrotiterplatte zur Messung der optischen Dichte mit Hilfe eines Photometers (je fünf Wells nebeneinander pro Variante)

### 4.2.3 Sporenkeimung

Um festzustellen, ob die verschiedenen Mittel in der Lage sind die Keimung der Sporen zu hemmen wurde eine Kartoffel Dextrose Brühe (Roth Nr. CP 74.1, Deutschland) als Standardmedium verwendet. Danach erfolgte die Beimengung der verschiedenen Präparate in den jeweiligen Konzentrationen (Tabelle 5, Abbildung 21). Je Variante wurden fünf Files einer 96er-Mikrotiterplatte mit 200  $\mu$ l Nährmedium befüllt (Abbildung 22). Dann erfolgte das Hineinpipettieren von 10  $\mu$ l einer  $10^7$ -Sporensuspension (mit zwei Tropfen Tween) aus einer sieben Tage alten Pilzkultur. Die Mikrotiterplatte wurde mit einem Deckel versehen, auf einem Schüttler (GFL 3005, Deutschland) mit 250 Umdrehungen/Minute gestellt und bei Dunkelheit bei einer Temperatur von 20 °C inkubiert. Nach zwölf Stunden wurde die Sporenkeimung durch die Zugabe von 5  $\mu$ l Lactophenolblau gestoppt. Nach dem Aufpipettieren von 5  $\mu$ l des Mediumsporengemisches auf einem Objektträger erfolgte das Auszählen der gekeimten Sporen. Dies wurde durch die Verwendung eines Stereomikroskops (BX53, Olympus, Deutschland) durchgeführt.

Auf Grund der samtigen Sporen war beim Mikroskopieren eine starke Clusterbildung vorzufinden, sodass eine korrekte Auszählung der Sporen nicht möglich war (Abbildung 24). Diese Clusterbildung konnte weder durch die Reduzierung der Sporenmenge, noch durch die Verwendung von 24er-Mikrotiterplatten (Greiner Bio-One, Cellstar, Österreich) unterbunden werden (Abbildung 23). Das Weglassen des Schüttlers und häufiges Auf- und Abpipettieren des Mediumsporengemisches brachten ebenfalls keine zufriedenstellende Auszählung.



Abbildung 21: PDB-Medien mit den Testpräparaten und dem Pathogen zur Durchführung des Sporenkeimtests

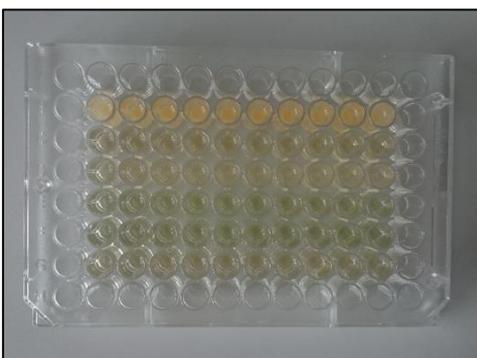


Abbildung 22: Mikrotiterplatte mit dem Medium-Sporen-Gemisch

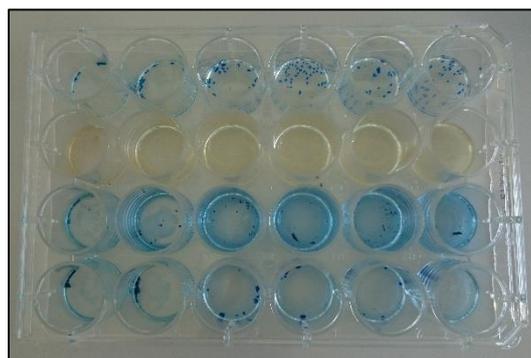


Abbildung 23: Mikrotiterplatten mit Medien-Sporen-Gemisch und Lactophenolblau - Clusterbildung der Sporen ersichtlich



Abbildung 24: Clusterbildung der in PDB gekeimte Pilzsporen, Inkubation 20 °C für 12 Stunden

Auf Grund der samtigen Sporen und der daraus folgenden Clusterbildung konnte keine der bewährten Sporenkeimtests, die auch DHINGRA und SINCLAIR (1995) beschreiben, durchgeführt werden. Um dennoch die Hemmwirkung der einzelnen Präparate in Bezug auf die Sporenkeimung testen zu können wurde eine Methode gewählt, in der die Clusterbildung weitgehend vermieden werden kann. Dazu wurden drei Petrischalen je Variante mit PDA und den Präparaten in den jeweiligen Konzentrationen gegossen (Seite 33). Anschließend erfolgte das Aufpipettieren von 60 µl einer  $10^7$ -Sporensuspension aus einer sieben Tage alten Pilzkultur. Diese wurde mit einem Drigalskispatel kreisförmig auf der Petrischale verteilt, bis die Dichte der Sporen so gering war, dass die einzelnen Sporen gut ausgezählt werden konnten. Die Inkubation erfolgte 13 Stunden bei Dunkelheit und einer Temperatur von 20 °C. Die Auszählung wurde mit einem Inversmikroskop (Axiovert 200M, Zeiss, Deutschland) durchgeführt. Je Petrischale wurden 200 Sporen ausgezählt. Bei jenen Varianten, die auf Grund der beigemischten Präparate kein durchsichtiges Kulturmedium besaßen, wurden rechteckige Agarstücke oberflächlich herausgeschnitten, auf Objektträger gelegt und mit einem Stereomikroskop ausgezählt. Dabei handelte es sich um Netzschwefel Stulln, Myco-Sin und die Mischvarianten mit diesen beiden Präparaten. Variante 1 mit Sergomil L60, PREV-B2, Resistance, Netzschwefel Stulln und um Variante 2 mit Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance. War die Spitze des Keimschlauches einer Spore ersichtlich wurde die Spore als gekeimt angesehen. Der Versuch wurde dreimal wiederholt.

Um die Verwendung der toxischen Substanz Lacotphenolblau für das Stoppen der Sporenkeimung zu vermeiden, wurden verschiedene Methoden ausprobiert um die Keimung der Sporen und das Hyphenwachstum nach der Inkubationszeit zu stoppen. Sowohl bei Fluten der Sporen mit flüssigem Stickstoff, als auch bei Besprühen mit Ethanol war nach einiger Zeit eine erhöhte Sporenkeimung und zunehmendes Hyphenwachstum zu verzeichnen. Die einzig erfolgreiche Methode war die Kühlung der Petrischalen bei Temperaturen um 0 °C. Um bei dieser Methode eine ungestörte und rasche Auszählung zu gewährleisten wurden die Petrischalen nach der Inkubation in Styroporboxen gelegt, welche mit einem Eis-Salz-Gemisch gefüllt waren.

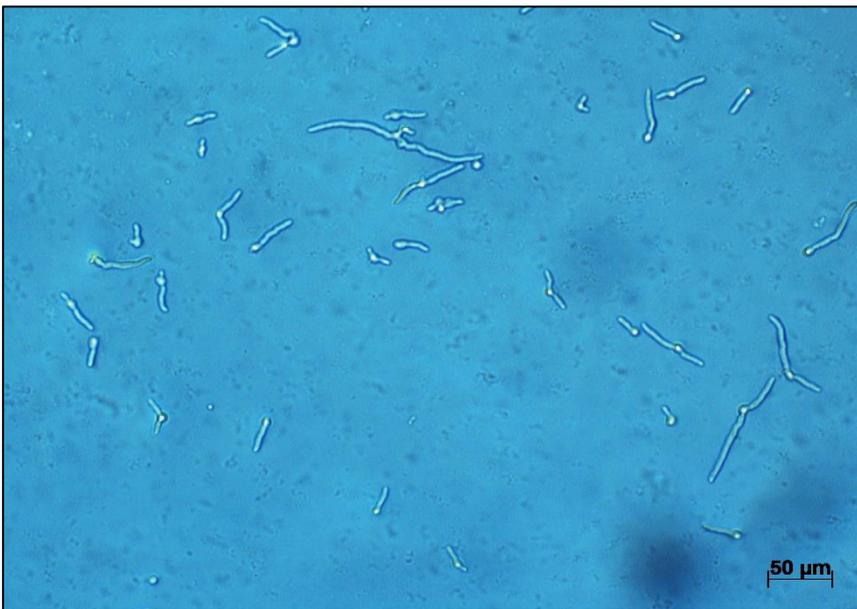


Abbildung 25: Auszählung der Sporenkeimung nach der Inkubationszeit von 13 Stunden bei der Kontrollvariante

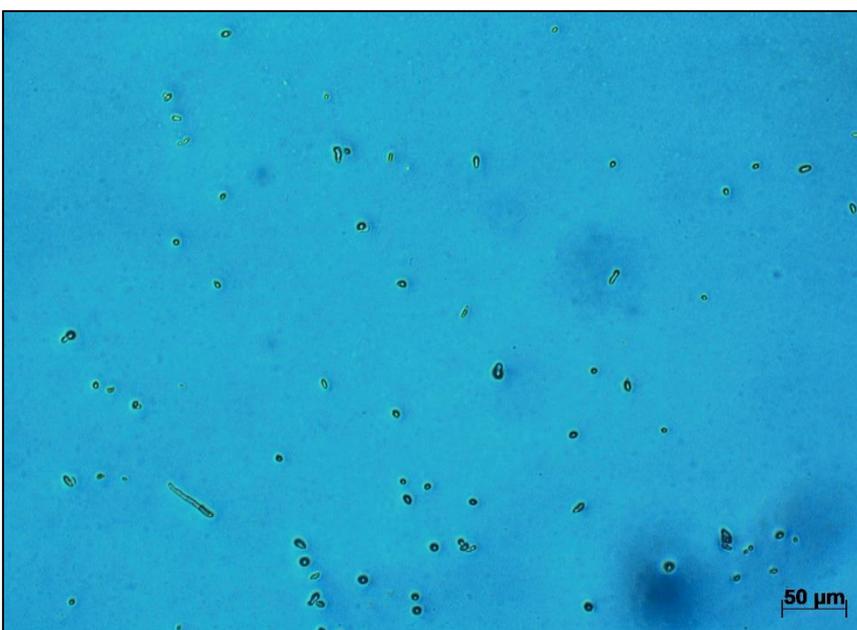


Abbildung 26: Auszählung der Sporenkeimung nach der Inkubationszeit von 13 Stunden bei Variante Sergomil L60

### 4.3 Auswertung der Daten

Die Dokumentation der erhobenen Versuchsdaten wurde über das Programm Microsoft Excel 2013 durchgeführt. Es erfolgte die Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen. Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit der Software für statistische Datenanalyse SPSS (Version 21) anhand einer zweifaktoriellen Varianzanalyse.

Die Varianzhomogenität wurde mittels Levene-Test überprüft. Auf Grund inhomogener Varianzen wurde das Signifikanzniveau von  $\alpha$  ist 5 % angenommen. Als Post-Hoc-Test zur Erhebung signifikanter Unterschiede zwischen den Varianten fungierte der Tukey-Test.

Es wurden ausschließlich Varianten getestet, bei denen ein Myzelwachstum, eine Sporulation oder eine Sporenkeimung stattgefunden hat, da bei den anderen Varianten keine Streuung vorlag.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Myzelwachstum

Hinsichtlich der Unterdrückung des Myzelwachstums liegen hoch signifikante Unterschiede zwischen den ausgewählten Testpräparaten vor. Auch in Bezug auf die getesteten Pilzisolates unterscheiden sich die Wirkungsgrade des Myzelwachstums betreffend hoch signifikant voneinander. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse, dass das Zusammenwirken der beiden Faktoren Präparat und Isolat hoch signifikant ist und eine Auswirkung auf das Myzelwachstum hat. Einige Testpräparate sind in der Lage die Bildung des Myzels vollständig zu unterdrücken, während andere das Myzelwachstum nur wenig reduzieren.

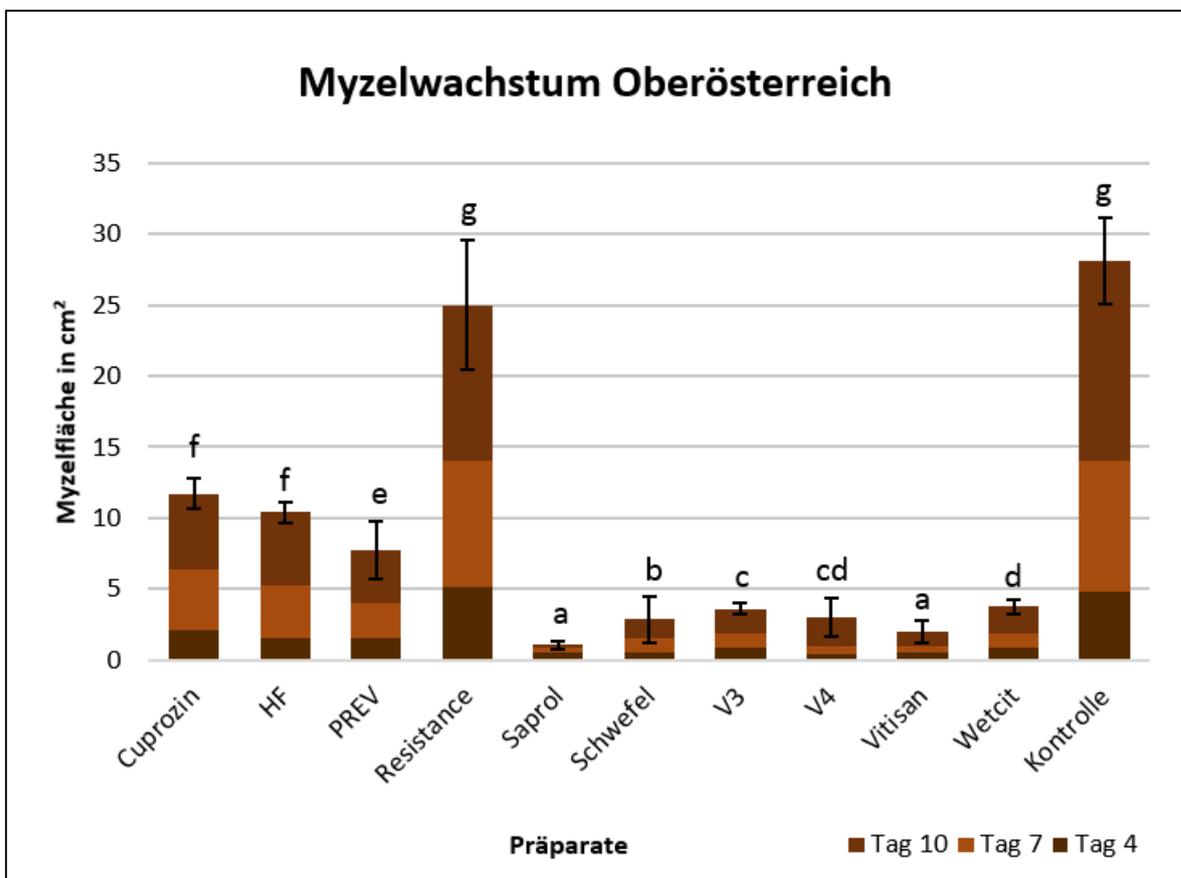


Abbildung 27: Vergleich des Myzelwachstums (cm<sup>2</sup>) des *P. fulva*-Isolates aus Oberösterreich am 4., 7. und 10. Tag nach der Inokulation (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), (ANOVA,  $F = 4,582$ ) Balken mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey-Test). Präparate bzw. Präparatmischungen mit vollständiger Unterdrückung der Sporenkeimung sind in der Grafik nicht angeführt (Myco-Sin, Sergomil L60, V1, V2).

Abbildung 27 zeigt die Myzelfläche des aus Oberösterreich stammenden Pilzisolates, welche sich zehn Tage nach der Inokulation bildete, in den einzelnen Varianten. Eine vollständige Unterdrückung des Myzelwachstums der Samtfleckenkrankheit kann mit den Präparaten Myco-Sin und Sergomil L60 sowie den beiden Mischvarianten Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance (V1) und Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance (V2) erreicht werden.

Gute Bekämpfungserfolge liegen mit den Versuchsmitteln Saprol (chemisch-synthetischen Vergleichspräparat) und Vitisan vor, mit deren Hilfe die Myzelfläche im Vergleich zur Kontrolle deutlich vermindert werden kann. Die Myzelfläche der Kontrolle erreicht 28,17 cm<sup>2</sup>, wobei die Fläche durch Saprol auf 1,03 cm<sup>2</sup> (-96,35 %) und Vitisan auf 1,97 cm<sup>2</sup> (-92,99 %) reduziert werden kann.

Eine Verminderung des Myzelwachstums um mehr als 85 % im Vergleich zur Kontrolle erfolgt mit Netzschwefel Stulln, Wetcit und den Varianten V3 (Cuprozin Progress und PREV-B2) und V4 (Vitisan und HF). Die geringste Effizienz zeigt das Präparat Resistance, bei dem die Myzelfläche – im Vergleich zu den 28,17 cm<sup>2</sup> der Kontrollvariante – auf nur 25,01 cm<sup>2</sup> reduziert wird (-11,20 %). Mehr als 50 % Wirkungsgrad zeigen die Versuchsmittel Cuprozin Progress, HF und PREV-B2.

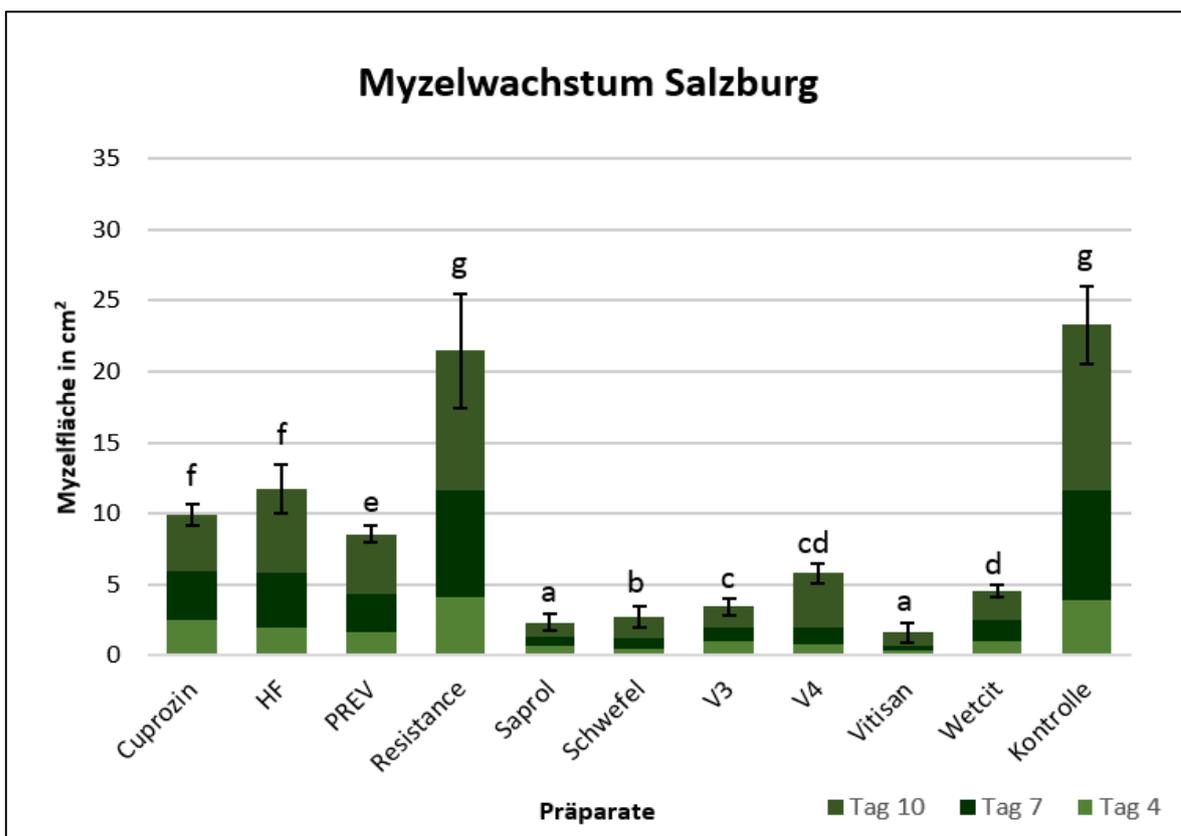


Abbildung 28: Vergleich des Myzelwachstums (cm<sup>2</sup>) des *P. fulva*-Isolates aus Salzburg am 4., 7. und 10. Tag nach der Inokulation (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), (ANOVA,  $F= 4,582$ ) Balken mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey-Test). Präparate bzw. Präparatmischungen mit vollständiger Unterdrückung der Sporenkeimung sind in der Grafik nicht angeführt (Myco-Sin, Sergomil L60, V1, V2).

In Abbildung 28 ist die Myzelfläche des Salzburger Isolates in den unterschiedlichen Varianten zehn Tage nach der Inokulation dargestellt, wobei die Varianten ohne Myzelwachstum nicht in der Grafik enthalten sind. Dabei handelt es sich um die Versuchspräparate Myco-Sin und Sergomil L60 sowie den beiden Mischungsvarianten Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance (V1) und Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance (V2).

Neben diesen Versuchsvarianten bringen Vitisan und Saprol ebenfalls zufriedenstellende Bekämpfungserfolge. Vitisan etwa reduziert die Myzelfläche von 23,89 cm<sup>2</sup> der Kontrollvariante auf 1,58 cm<sup>2</sup> (-93,21 %). Bei Saprol wird die Myzelfläche auf 2,30 cm<sup>2</sup> (-90,13 %) vermindert. Eine Wirkung von über 85 % kann mit dem Einsatz von Netzschwefel Stulln und der Variante 3 (Cuprozin Progress und PREV-B2) erzielt werden. Wetcit bewirkt eine Befallsreduktion von ungefähr 80 % und die Mischung Vitisan und HF reduzieren die Myzelfläche um zirka 75 %. Der geringste Bekämpfungserfolg ist beim Versuchsmittel Resistance zu verzeichnen. Hier kann die Myzelfläche von 23,89 cm<sup>2</sup> der Kontrollfläche auf nur 21,47 cm<sup>2</sup> vermindert werden (-7,80 %). Eine Befallsreduzierung von mehr als 50 % kann durch die Präparate Cuprozin Progress, HF und PREV-B2 erreicht werden.

### Vergleich der Myzelfläche der beiden Pilzisolat

Werden die beiden Pilzisolat hinsichtlich der Unterdrückung der Myzelfläche durch die getesteten Versuchsmittel zehn Tage nach der Inokulation verglichen, zeigen die Versuchsmittel Saprol und Vitisan – neben den drei Varianten, bei denen kein Myzelwachstum stattgefunden hat – gute Ergebnisse, da sie die Myzelfläche bei beiden Pilzisolaten im Vergleich zur Kontrolle um mehr als 90 % verringern. Zufriedenstellende Erfolge sind bei beiden Isolaten durch den Einsatz von Netzschwefel Stulln, Wetcit und den beiden Mischungen V3 (Cuprozin Progress und PREV-B2) sowie V4 (Vitisan und HF) zu verzeichnen.

Werden die Myzelflächen der einzelnen Varianten des jeweiligen Isolates in Relation zu der Kontrollfläche des jeweiligen Pilzisolates gestellt, zeigen die Ergebnisse bei einigen Präparaten annähernd dieselben Werte. Hierzu zählt beispielsweise Cuprozin Progress, bei dem das Myzelwachstum beim Pilzstamm aus Oberösterreich im Vergleich zur Kontrolle um 58,52 % vermindert wird. Beim Pilzisolat aus Salzburg liegt eine Reduzierung von 57,31 % im Vergleich zur Kontrolle vor. Ähnliche Ergebnisse sind bei Netzschwefel Stulln zu erkennen. Beim Isolat aus Oberösterreich liegt ein Wirkungsgrad von 89,94 % vor und bei jenem aus Salzburg wird die Myzelfläche gegenüber der Kontrollvariante um 88,46 % vermindert. Auch Variante V3 (Cuprozin Progress und PREV-B2) und das Versuchsmittel Vitisan weisen bei beiden Isolaten annähernd dieselben Bekämpfungserfolge auf.

Werden die beiden Pilzisolat e zehn Tage nach der Inokulation hinsichtlich der Myzelfläche verglichen, zeigen die statistische Auswertung der Kontrollvarianten (Abbildung 27 und Abbildung 28) und die Beobachtungen während des gesamten Versuchszeitraums, dass das Isolat aus Oberösterreich über ein rascheres Myzelwachstum verfügt als jenes aus Salzburg. Interessant ist, dass trotz unterschiedlicher Wachstumsgeschwindigkeiten der beiden Pilzisolat e sowohl bei der Variante Netzschwefel Stulln, wie auch bei Vitisan und der Mischung aus Cuprozin Progress und PREV-B2 (V3) nach zehn Tagen annähernd dieselbe Myzelfläche gemessen werden konnte.

### Vergleich des Wachstumsverlaufs des Myzels der beiden Pilzisolat e

In Abbildung 27 ist der Wachstumsverlauf des *P. fulva*-Isolates aus Oberösterreich vom Tag der Inokulation bis zehn Tage nach der Inokulation dargestellt. Die Grafik zeigt ausschließlich Varianten, bei denen ein Myzelwachstum stattgefunden hat. Das Wachstum des Pathogens ist bei allen Varianten vom Tag der Inokulation bis zu den darauffolgenden vier Tagen am geringsten. Dann findet ein kontinuierlicher, gleichmäßiger Zuwachs der Myzelfläche statt.

Abbildung 28 zeigt das Myzelwachstum des *P. fulva*-Isolates aus Salzburg vom Tag der Inokulation bis zehn Tage nach der Inokulation, wobei die Grafik ausschließlich Varianten, bei denen ein Myzelwachstum stattgefunden hat, beinhaltet. Varianten mit hohem Wirkungsgrad wie Sapol, Netzschwefel Stulln, V3 (Cuprozin Progress und PREV-B2), V4 (Vitisan und HF), Vitisan und Wecit weisen im Zeitraum zwischen vierten und siebenten Tag nach Inokulation den geringsten Myzelzuwachs auf. Beim Präparat Cuprozin Progress ist keine Tendenz ersichtlich. In dieser Variante zeigt das Pathogen innerhalb der zehn Tage ein gleichmäßiges Wachstum. Bei den Varianten HF, Kontrolle, PREV-B2 und Resistance ist der Zuwachs der Myzelfläche während des Zeitpunktes der Inokulation und den darauffolgenden vier Tagen am geringsten.

Abbildung 27 und Abbildung 28 zeigen, dass die Wirkung der getesteten Versuchsmittel bereits vier Tage nach Inokulation ersichtlich ist und mit zunehmender Zeit immer deutlicher ausgeprägt wird. Prinzipiell verläuft das Wachstum des Pathogens – mit Berücksichtigung der unterschiedlichen Wirkungsgrade der verschiedenen Präparate hinsichtlich der Hemmung des Myzelwachstums – bei allen getesteten Varianten annähernd gleichmäßig und homogen. Somit kann keine allgemeine Aussage darüber gemacht werden, wann das Wachstum und die Entwicklung der Samtfleckenkrankheit unter konstanten Bedingungen am schnellsten ist.

Während des gesamten Versuchszeitraums konnte bei beiden Isolaten einige Male eine Verfärbung des Pilzmyzels beobachtet werden. Die Farbe des Sporenelags wechselte von typisch gräulich-olivgrün nach hellbraun.

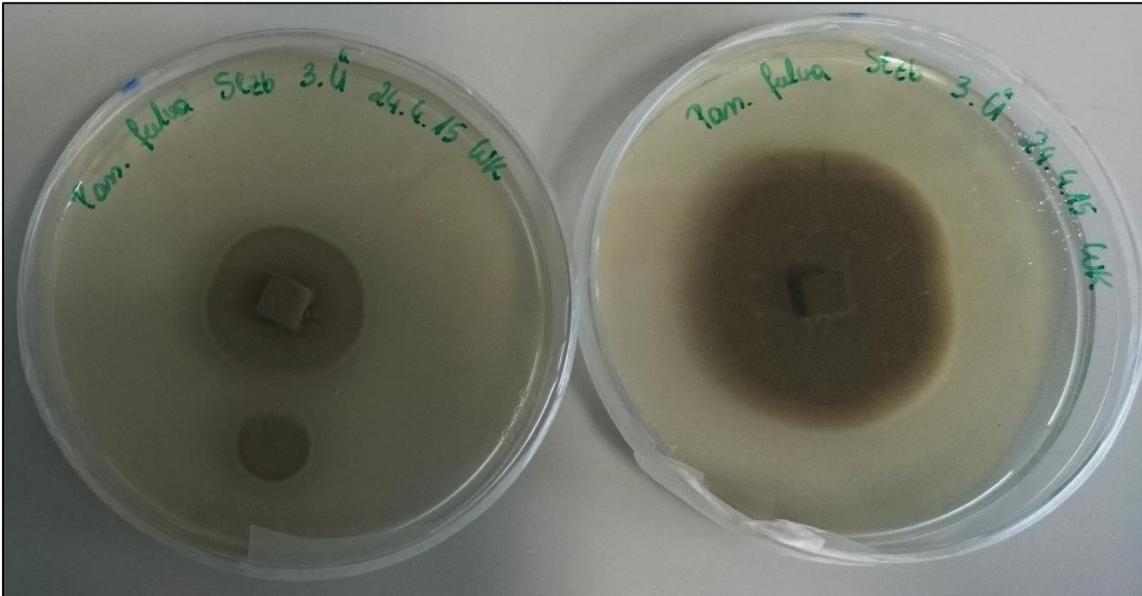


Abbildung 29: Unterschiedliche Ausprägung der Farbe des Myzels des Pilzes *P. fulva*

## 5.2 Sporulation

Inwiefern die verwendeten Versuchsmittel die Bildung von Sporen unterdrücken, zeigen die nachstehenden Ergebnisse. Grundsätzlich ist zu sagen, dass die Sporulation des Erregers der Samtfleckenkrankheit durch den Einsatz der ausgewählten Testpräparate reduziert werden kann. Es liegen sowohl hoch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsvarianten, als auch zwischen den beiden getesteten Pilzisolaten vor. Des Weiteren gibt es hinsichtlich der Bildung von Sporen einen hoch signifikanten Zusammenhang zwischen den untersuchten Versuchsmitteln und den verwendeten Pilzisolaten.

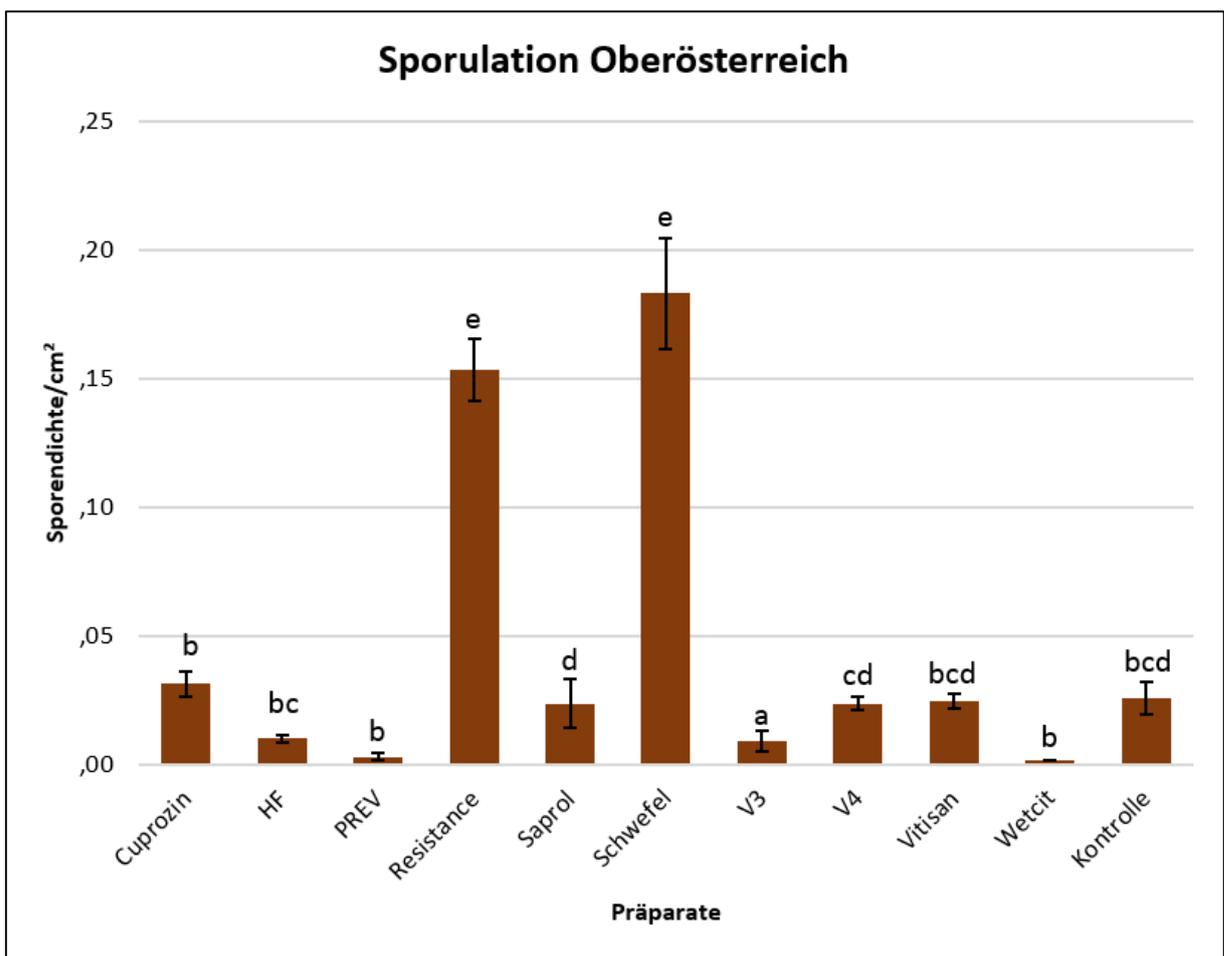


Abbildung 30: Vergleich der Sporendichte je cm<sup>2</sup> durch das *P. fulva*-Isolat aus Oberösterreich (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), (ANOVA,  $F= 2,724$ ) Balken mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey-Test). Präparate bzw. Präparatmischungen mit vollständiger Unterdrückung der Sporenkeimung sind in der Grafik nicht angeführt (Myco-Sin, Sergomil L60, V1, V2).

Abbildung 30 zeigt deutlich, dass die Sporenbildung beim Pilzisolat aus Oberösterreich durch das Präparat HF (-60,26 %) und die Variante V3 (Cuprozin Progress und PREV-B2) (-64,10 %) deutlich verringert wird. Die besten Bekämpfungserfolge werden durch die Versuchsmittel Wetcit und PREV-B2 erzielt, bei denen die Sporenbildung – im Vergleich zur Kontrolle – um 92,31 % und 87,18 % gesenkt wird.

Auffallend sind die hohen Werte der Sporendichte je cm<sup>2</sup> bei Netzschwefel Stulln und Resistance. Während die Sporendichte je cm<sup>2</sup> in der Kontrolle nur 0,03 beträgt, liegt in der Variante Netzschwefel Stulln Wert von 0,18 und in der Variante Resistance ein Wert von 0,15 vor. Die Präparate Cuprozin Progress, HF, Saprol, Vitisan und die Mischung Vitisan und HF unterscheiden sich nicht signifikant von der Kontrolle und sind somit hinsichtlich der Reduktion der Sporenbildung nicht effizient.

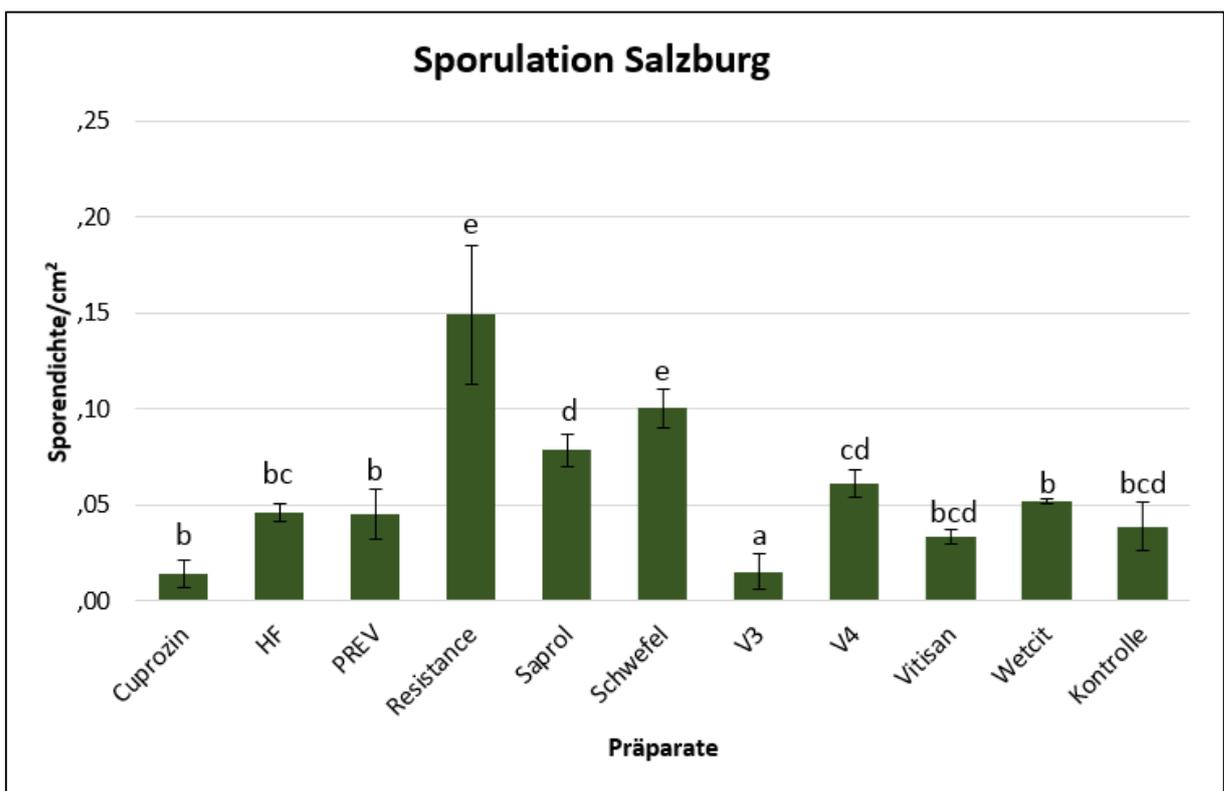


Abbildung 31: Vergleich der Sporendichte in cm<sup>2</sup> durch das *P. fulva*-Isolat aus Salzburg (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), (ANOVA,  $F=2,724$ ) Balken mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey-Test). Präparate bzw. Präparatmischungen mit vollständiger Unterdrückung der Sporenceimung sind in der Grafik nicht angeführt (Myco-Sin, Sergomil L60, V1, V2).

In Abbildung 31 ist beim Isolat aus Salzburg die starke Hemmung der Sporenbildung durch die Mischungsvariante Cuprozin Progress und PREV-B2 (-60,34 %) sowie dem Versuchsmittel Cuprozin Progress (-63,79 %) auffallend. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse, dass die Sporendichte einiger Präparate deutlich über jener der Kontrollvariante liegt. Bei Resistance und Netzschwefel Stulln etwa liegen Werte von 0,15 bzw. 0,10 vor, während der Wert der Kontrolle 0,04 beträgt. Bei einigen Präparaten liegen keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle vor. Hierzu zählen HF, PREV-B2, Sapro, Vitisan, Wetcit und die Variante V4 (Vitisan und HF). Hervorzuheben ist diesbezüglich der Aspekt, dass bei allen zuvor angeführten Varianten – mit Ausnahme von Vitisan – mehr Sporen ausgebildet werden als in der Kontrollvariante.

### Vergleich der beiden Isolate hinsichtlich der Sporulation

Eine sehr große Hemmung der Sporulation mit Wirkungsgraden über 85 % kann beim Isolat aus Oberösterreich durch die Präparate Wetcit und PREV-B2 erzielt werden, während die Sporenbildung beim Isolat aus Salzburg durch diese beiden Präparate nicht zufriedenstellend ist. Bei Wetcit und PREV-B2 liegen Sporendichten je cm<sup>2</sup> mit 0,05 bzw. 0,04 über jenen der Kontrollvariante. Bei den Varianten PREV-B2 und Wetcit erscheint beim Isolat aus Oberösterreich einige Tage nach der Inokulation ein weißes Pilzgeflecht, welches sich vom Rand beginnend über das Myzel und den olivgrün-grauen, samtigen Sporenbelaag legt (Abbildung 36 und Abbildung 37). An Petrischalen, welche mit dem Isolat aus Salzburg inokuliert wurden, ist dieser nicht ersichtlich (Abbildung 36 und Abbildung 37).

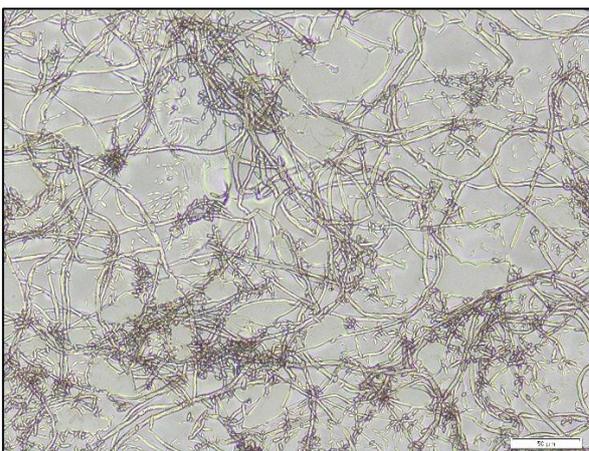


Abbildung 32: Abklatschprobe der Variante Wetcit nach der Inokulation (Isolat Oberösterreich)

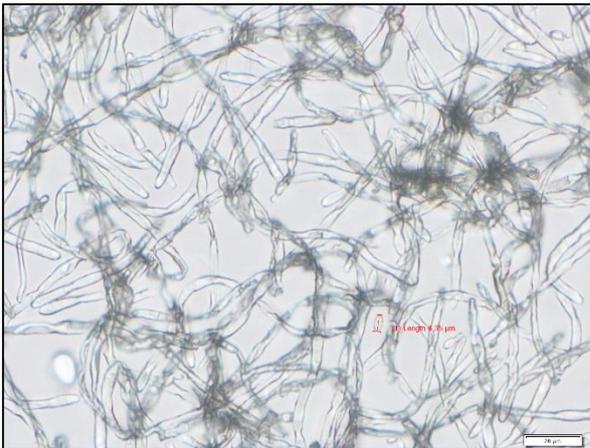


Abbildung 33: Abklatschprobe der Variante Wecit nach der Inokulation (Isolat Oberösterreich)

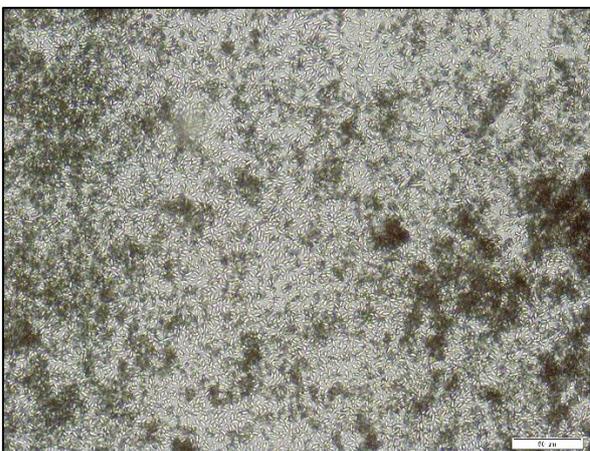


Abbildung 34: Abklatschprobe der Kontrollvariante nach der Inokulation (Isolat Oberösterreich)

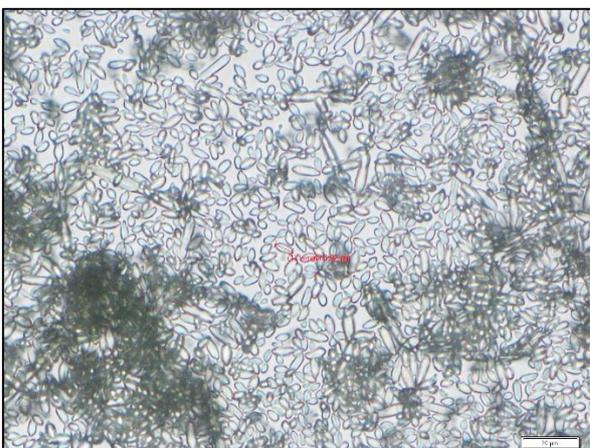


Abbildung 35: Abklatschprobe der Kontrollvariante nach der Inokulation (Isolat Oberösterreich)

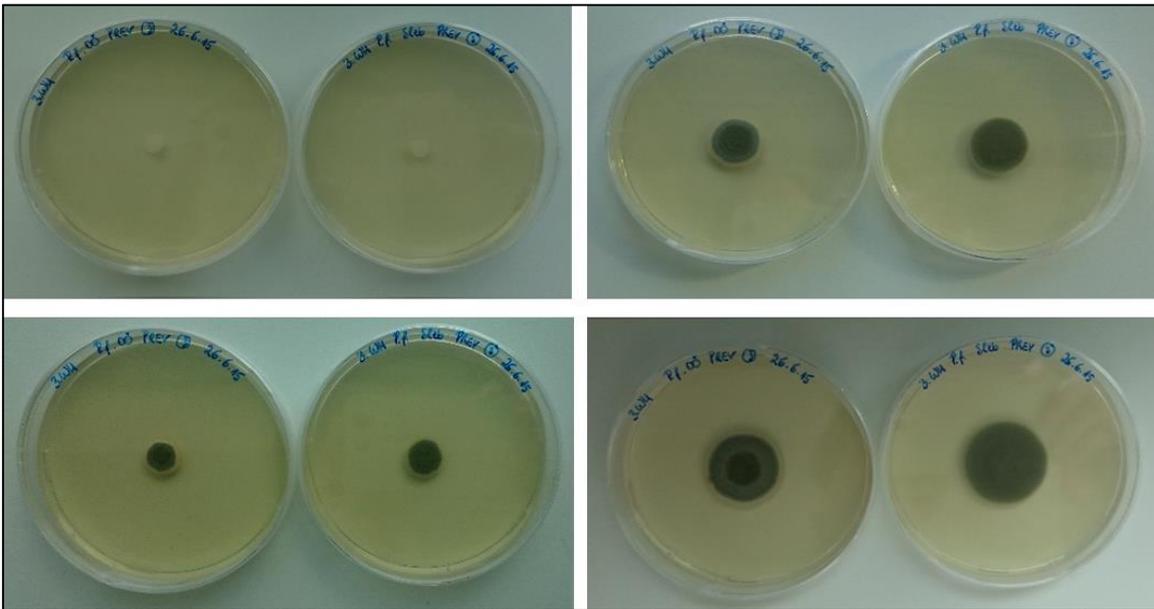


Abbildung 36: Myzelwachstum der Variante PREV-B2 am Tag der Inokulation, nach 4, 7 und 10 Tagen (von oben nach unten). In den Bildern links befindet sich das Isolat aus Oberösterreich, rechts jenes aus Salzburg.

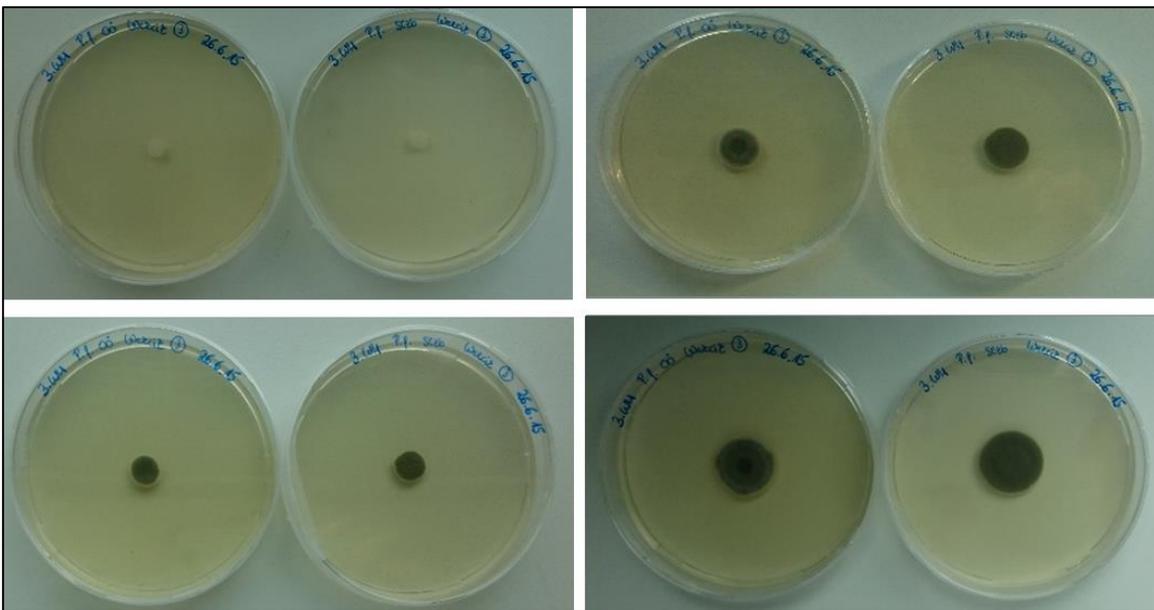


Abbildung 37: Myzelwachstum der Variante Wetcit am Tag der Inokulation, nach 4, 7 und 10 Tagen (von oben nach unten). In den Bildern links befindet sich das Isolat aus Oberösterreich, rechts jenes aus Salzburg.

Sehr auffällig sind die hohen Sporendichten des Versuchsmittels Resistance, welche bei beiden Isolaten weit über den Werten der Kontrollvarianten liegen. Im Vergleich zum Schwefel befindet sich der Wert bei Resistance bei beiden Isolaten im annähernd selben Bereich. Bei Netzschwefel Stulln werden beim Isolat aus Oberösterreich mit einer Sporendichte von 0,18 mehr Sporen ausgebildet als bei jenem aus Salzburg, welches in dieser Variante eine Sporendichte von 0,10 aufweist. Allerdings ist die Sporulation bei Netzschwefel Stulln bei beiden Isolaten viel stärker als in der Kontrolle. Deutliche Differenzen im Wirkungsgrad zwischen den beiden Isolaten liegen auch bei den Varianten Cuprozin Progress, HF, Saprol und V4 (Vitisan und HF) vor.

Ein guter Bekämpfungserfolg bei beiden Pilzisolaten kann ausschließlich durch die Variante V3, welche die Präparate Cuprozin Progress und PREV-B2 enthält, erzielt werden. Gegenüber dem Isolat aus Oberösterreich liegt bei dieser Variante ein Wirkungsgrad von 64,10 % vor. Beim Salzburger Isolat wird die Sporenbildung um 60,34 % verringert. Die Sporulation kann bei beiden Pilzstämmen auch durch das Präparat Vitisan gehemmt werden. Allerdings ist die Wirkung dieses Versuchsmittels nicht sehr effizient. Bei allen anderen untersuchten Varianten überschreitet der Sporulationswert bei einem der beiden Pilzstämmen jenen der Kontrollvariante.

Im Allgemeinen kann keine Aussage darüber getroffen werden bei welchem Pilzstamm die Bildung von Sporen durch den Einsatz von Bekämpfungsmittel besser reduziert werden kann, wenngleich gegenüber dem Isolat aus Oberösterreich tendenziell bessere Ergebnisse vorliegen.

### 5.3 Sporenkeimung

Um die Ergebnisse des Myzelwachstums und der Sporulation in Bezug auf die Effektivität der einzelnen Präparate gegenüber der Samtfleckenkrankheit zu unterstreichen und Kenntnisse über die präzise Wirkung der einzelnen Testmittel zu gewinnen wurde ein Sporenkeimtest durchgeführt.

Die Ergebnisse des Sporenkeimtests zeigen hinsichtlich der Anzahl der gekeimten Sporen einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den ausgewählten Testpräparaten. Des Weiteren gibt es auch zwischen den untersuchten Pilzisolaten hoch signifikante Unterschiede in der Wirkung der Präparate. Aus dem Versuch resultiert ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen den Testpräparaten und den Pilzisolaten. Somit hat das Zusammenwirken dieser beiden Faktoren einen Einfluss auf die Reduzierung der Sporenkeimung. Die Anzahl der gekeimten Sporen kann durch einige Präparate bzw. Präparatmischungen zur Gänze vermieden werden.

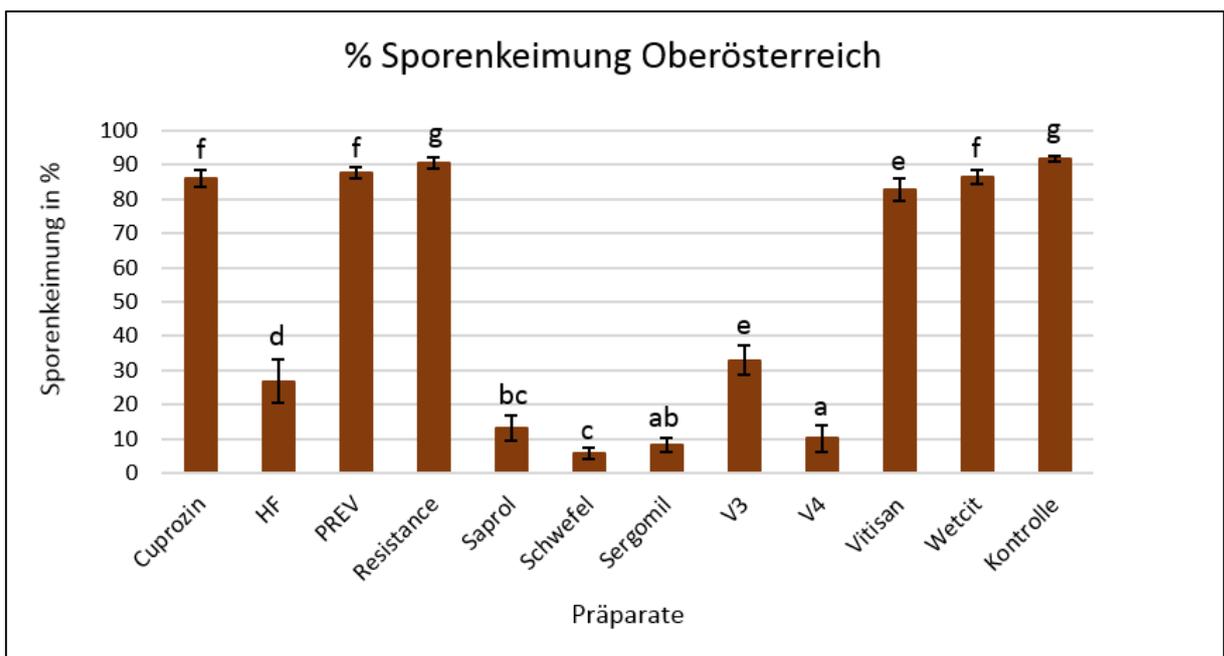


Abbildung 38: Vergleich der Sporenkeimung (%) des *P. fulva*-Isolates aus Oberösterreich (Inkubation: 13 h, 20 °C) (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), (ANOVA,  $F=1,982$ ) Balken mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey-Test). Präparate bzw. Präparatmischungen mit vollständiger Unterdrückung der Sporenkeimung sind in der Grafik nicht angeführt (Myco-Sin, V1, V2).

Abbildung 38 zeigt den prozentuellen Anteil der gekeimten Sporen des aus Oberösterreich stammenden Pilzisolates in den unterschiedlichen Varianten, wobei die Varianten, welche die Sporenkeimung vollständig unterdrücken, nicht enthalten sind. Dabei handelt es sich um Myco-Sin und um zwei Varianten mit Mischpräparaten. Zum einen sind dies Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance (V1), zum anderen Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance (V2).

Während die Sporenkeimung bei Cuprozin Progress, PREV-B2, Resistance, Vitisan und Wetcit im Vergleich zur Kontrolle mit einem Wirkungsgrad von weniger als 10 % kaum reduziert werden kann, wird die Sporenkeimung bei Netzschwefel Stulln und Sergomil L60 um 93,62 % bzw. 91,06 % gehemmt. Die Variante V4, welche die Präparate Vitisan und HF enthält, sowie das chemisch-synthetische Vergleichspräparat Saprol zeigen mit einer Unterdrückung von 88,96 % und 85,68 % eine zufriedenstellende Wirkung. Durch das Präparat HF und die Variante V3, welche die Versuchsmittel Cuprozin Progress und PREV enthält, kann die die Bildung des Keimschlauchs ebenfalls unterdrückt werden.

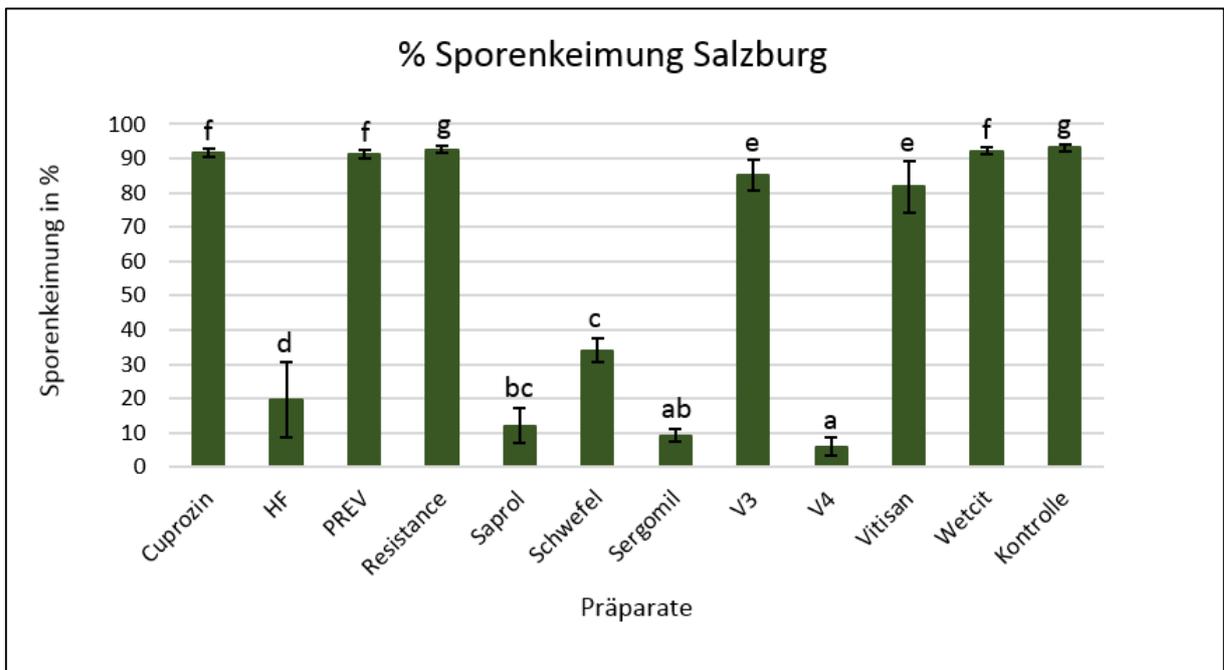


Abbildung 39: Vergleich der Sporenkeimung (%) des *P. fulva*-Isolates aus Salzburg (Inkubation: 13 h, 20 °C) (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), (ANOVA,  $F=1,982$ ) Balken mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey-Test). Präparate bzw. Präparatmischungen mit vollständiger Unterdrückung der Sporenkeimung sind in der Grafik nicht angeführt (Myco-Sin, V1, V2).

In Abbildung 39 ist der prozentuelle Anteil der gekeimten Sporen des Salzburger Pilzisolates in den unterschiedlichen Varianten dargestellt, wobei die Versuchsvarianten ohne gekeimte Sporen nicht angeführt sind. Dabei handelt es sich um Variante V1 mit den Versuchsmitteln Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance, Variante V2 mit den Präparaten Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance sowie dem Präparat Myco-Sin. Neben diesen Versuchsvarianten zeigt die Mischung von Vitisan und HF (V4) mit einer Verminderung der Sporenkeimung um 93,57 % die beste Wirkung. Auch Sergomil L60 und das chemisch-synthetische Vergleichspräparat Saprol reduzieren die Keimung der Sporen um 90,18 % und 87,02 %.

Die Versuchsmittel Netzschwefel Stulln und HF unterdrücken die Bildung des Keimschlauches deutlich. Eine geringe Hemmung mit einem Wirkungsgrad von unter 10 % wird mit den Präparaten Cuprozin Progress, PREV-B2, Resistance und Wetcit sowie der Mischung aus Cuprozin Progress und PREV-B2 (V3) erreicht. Vitisan liegt mit 12,12 % Hemmwirkung knapp darüber.

### Vergleich der beiden Isolate in der Sporenkeimung

Bei beiden Isolaten sehr zufriedenstellende Ergebnisse mit einer Keimhemmung von 100 % erbringen Variante V1 mit Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance und Variante V2 mit Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance sowie das Präparat Myco-Sin (in Abbildung 38 und Abbildung 39 nicht dargestellt). Neben diesen Versuchsvarianten zeigen auch Sergomil L60 und Saprol in beiden Varianten sehr gute und bezüglich der Wirkung auf die Isolate homogene Ergebnisse. Die Reduzierung der Sporenkeimung liegt bei diesen Präparaten bei beiden Isolaten bei über 85 %.

In Variante V3, welche die Präparate Cuprozin Progress und PREV-B2 enthält, ist beim Isolat aus Oberösterreich eine deutlich höhere Keimhemmung vorhanden als bei jenem aus Salzburg. So beträgt die Wirkung gegenüber der Sporenkeimung beim oberösterreichischen Isolat 64,04 %, während die Keimung der Sporen beim Isolat aus Salzburg nur um 8,73 % reduziert werden kann. Auch bei Netzschwefel Stulln zeigt sich ein ähnliches Ergebnis. Hier wird die Sporenkeimung beim oberösterreichischen Isolat im Vergleich zur Kontrolle um 93,62 % vermindert, während beim Isolat aus Salzburg 63,46 % der Sporen nicht keimen. Der umgekehrte Fall liegt beim Testpräparat HF vor, bei welchem beim Isolat aus Oberösterreich im Vergleich zu jenem aus Salzburg eine geringere Wirkung hinsichtlich der Reduzierung der Sporenkeimung vorhanden ist. Bei den Varianten Saprol, Sergomil L60 und V4 (Vitisan und HF), die sehr zufriedenstellende Ergebnisse hinsichtlich der Verhinderung der Sporenkeimung zeigen, ist der Wirkungsgrad der Präparate bei beiden Isolaten ähnlich. Auch bei den weniger effizienten Präparaten wie Wetcit, Vitisan, PREV-B2, Resistance und Cuprozin Progress unterscheiden sich die Hemmwirkungen der einzelnen Versuchsmittel nicht stark voneinander.

Bei Untersuchung der Sporenkeimung fällt auf, dass bei der Kontrollvariante beim Isolat aus Oberösterreich im Vergleich zu jener aus Salzburg eine geringere Anzahl an gekeimten Sporen vorliegt (Abbildung 38). Eine prinzipielle Aussage darüber welcher Pilzstamm die Sporenkeimung durch die getesteten Präparate besser hemmt kann, nicht gemacht werden, obwohl die Versuchsmittel gegenüber dem Isolat aus Oberösterreich eine tendenziell höhere Wirkung zeigen.

Bei der Auszählung des Sporenkemtests waren einige Sporen mit veränderten Zellstrukturen ersichtlich, welche mit zunehmendem Wachstum immer deutlicher ausgeprägt waren. Bei weiterer Beobachtung der Hyphenentwicklung waren bei bestimmten Präparaten sehr starke Umbildungen vorzufinden, die sich als Deformationen, Verkürzungen der Hyphen sowie einem gestauchten Wuchs und verdickte Zellstrukturen äußern (Abbildung 40, Abbildung 41 und Abbildung 42). Am deutlichsten erkennbar sind diese Veränderungen bei der Mischvariante aus Cuprozin Progress und PREV-B2, sowie den Versuchspräparaten Wetcit, Vitisan und PREV-B2. Teilweise können auch sehr stark verzweigte Hyphen beobachtet werden. Somit beeinflussen bestimmte Präparate die Entwicklung des Pilzes indem veränderte Pilzstrukturen hervorgerufen werden.

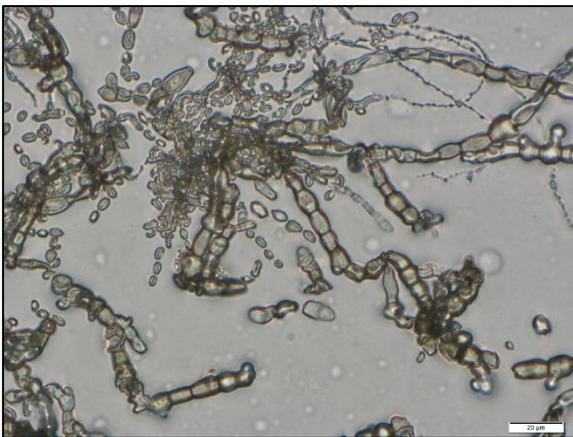


Abbildung 40: Deformierte Pilzstrukturen bei Cuprozin Progress

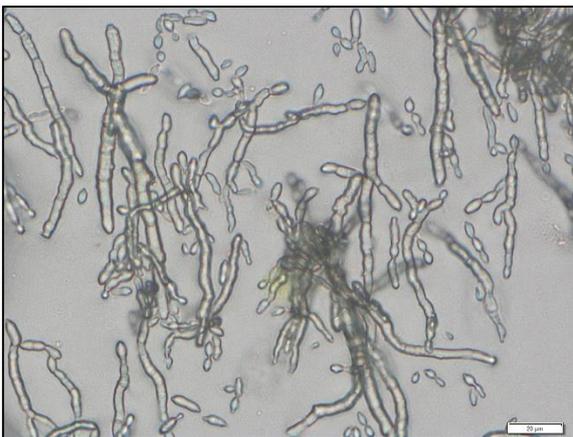


Abbildung 41: Deformierte Pilzstrukturen bei Vitisan

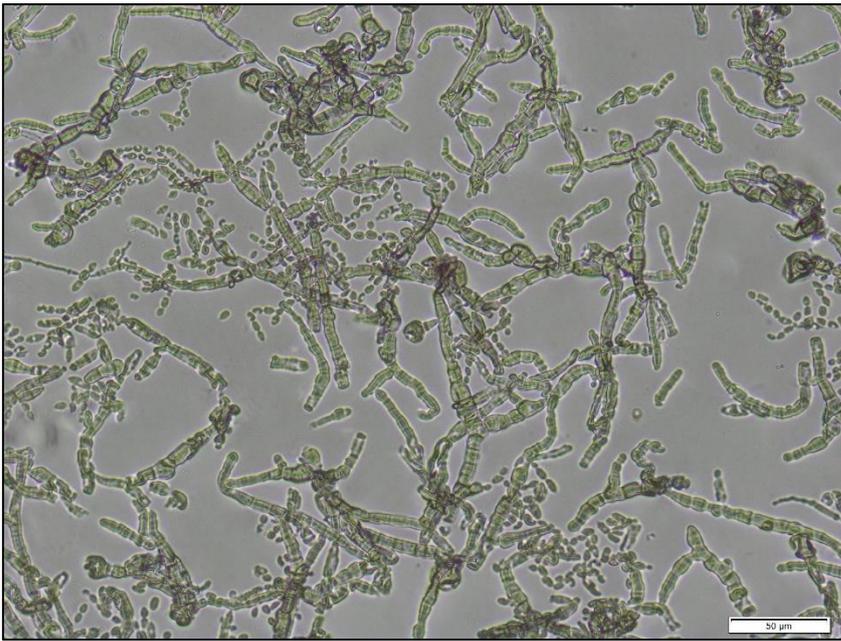


Abbildung 42: Deformierte Pilzstrukturen bei Variante 3 (Cuprozin Progress und PREV-B2)

## 5.4 Rassenbestimmung der Isolate

### 5.4.1 Isolat Oberösterreich

Das aus einer Tomatenerwerbsanlage aus Engelhartzell, Oberösterreich, entnommene Pilzisolat zeigt bei der Rassenbestimmungsanalyse eine sehr geringe Pathogenität an den unterschiedlichen Tomatensorten, welche die Resistenzgene *Cf-1*, *Cf-2*, *Cf-3*, *Cf-4*, *Cf-5*, *Cf-6*, *Cf-9*, *Cf-2* und *Cf-4*, *Cf-2* und *Cf-5* sowie *Cf-2*, *Cf-4* und *Cf-5* enthalten. Die einzige Tomatensorte, bei der Befallssymptome festgestellt werden konnten, war jene mit dem Resistenzgen *Cf-2*. Auf Grund der sehr geringen Aggressivität dieses Pilzstammes kann dem aus Oberösterreich stammenden Isolat keine Rasse zugeordnet werden.

### 5.4.2 Isolat Salzburg

Das in Saalfelden, Salzburg, entnommene Pilzisolat wird als wenig aggressiv eingestuft. Dieser Stamm war an der Tomatensorte ohne Resistenz, der Sorte mit dem Resistenzgen *Cf-4* und der Sorte mit den Resistenzgenen *Cf-2* und *Cf-5* virulent. Des Weiteren lag ein geringer Befall an der Tomatensorte mit dem Resistenzgen *Cf-9* und jener mit den Genen *Cf-2*, *Cf-4* und *Cf-9* vor. Diesen Tatsachen zufolge wird bei dem aus Salzburg stammenden Pilzisolat die Rasse 2.4.5.9 vermutet.

## 6 Diskussion

Varianten, welche sowohl beim Myzelwachstum, als auch bei der Sporulation und Sporenkeimung sehr zufriedenstellende Ergebnisse zeigen, sind das Versuchsmittel Myco-Sin und die Variante Sergomil L60 sowie die Mischungen Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance (V1) sowie Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance (V2). Die positive Wirkung der Mischungsvarianten V1 und V2 könnte auf die Wirkung der beiden Präparate Myco-Sin und Sergomil L60 zurückzuführen sein, da diese Präparate auch in Einzelanwendung die gewünschten Ergebnisse zeigen.

Mit Variante V4, welche die Präparate Vitisan und HF enthält, können im vorliegenden Versuch beim Myzelwachstum, bei dem die Myzelfläche beim Isolat aus Oberösterreich um 89,20 % und jenem aus Salzburg um 75,21 % verringert werden konnte, gute Ergebnisse erzielt werden. Auch die Sporenkeimung konnte reduziert werden. Obwohl die Sporenbildung gegenüber der Kontrolle nur sehr gering gehemmt wird, ist bei dieser Variante mit einem guten Wirkungsgrad bei der Bekämpfung des Erregers der Samtfleckenkrankheit zu rechnen. Der Effekt dieses Präparates in der vorliegenden Studie unterscheidet sich somit etwas von einer vorausgegangenen Studie aus der Schweiz. Dabei handelt es sich um einen Gewächshausversuch, bei dem der Befall von *P. fulva* durch den Einsatz zweier Präparate, welche denselben Wirkstoffe enthalten wie Variante V4 (Kaliumhydrogencarbonat und Fenchelöl), um nur 32,1 % vermindert werden konnte (GALLMEISTER und KOLLER, 2011). Diese Tatsache unterstreicht die Notwendigkeit die aus diesem Laborversuch resultierenden Ergebnisse in einem Gewächshausversuch zu verifizieren. Der Einsatz von PREV-B2 zur Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit liefert sowohl in der Laboruntersuchung, wie auch in dem von GALLMEISTER und KOLLER (2011) durchgeführten Gewächshausversuch schlechtere Bekämpfungserfolge im Vergleich zur Variante mit Kaliumhydrogencarbonat und Fenchelöl.

Die Ergebnisse zeigen in den verschiedenen Varianten deutliche Unterschiede hinsichtlich der Reduzierung des Myzelwachstums und der Sporenkeimung durch die getesteten Präparate. Während die Versuchsmittel Vitisan und Wetcit in Bezug auf das Myzelwachstum bei beiden Isolaten sehr gute Ergebnisse erzielen, liegt beim Sporenceimtest bei beiden Präparaten eine Keimrate von über 80 % vor. Auch die Präparate Cuprozin Progress und PREV-B2 zeigen ähnliche Ergebnisse. Dies deutet darauf hin, dass diese Präparate die Sporenkeimung nur wenig hemmen, das Wachstum und die Entwicklung der Hyphen jedoch stark verzögern. Varianten, bei denen kein Myzelwachstum stattfindet, zeigen – mit Ausnahme von Sergomil L60 – auch keine Sporenkeimung. Dabei handelt es sich um Myco-Sin, V1 (Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance) und V2 (Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2, Resistance). Bei der Variante Sergomil liegt bei beiden Isolaten eine – wenn auch geringe – Sporenkeimung vor, während bei der Auswertung des

Myzelwachstums nach zehn Tagen bei keinem der beiden Isolaten ein Wachstum zu verzeichnen war. Bei diesem Präparat schiebt sich der Keimschlauch aus der Spore hervor, wobei anschließend jedoch kein weiteres Wachstum stattfindet. Interessant ist die Tatsache, dass – neben den oben genannten Varianten Myco-Sin, V1, V2 und Sergomil L60 – Saprol und V4 (Vitisan und HF) die einzigen Varianten sind, welche sowohl die Sporenkeimung, als auch das Myzelwachstum gut unterdrücken.

Bei einigen Varianten ist der Zusammenhang zwischen Myzelfläche und Sporulation sehr interessant. Auffällig ist diesbezüglich die starke Förderung der Sporulation durch das Präparat Netzschwefel Stulln bei beiden Pilzstämmen, da dieses Versuchsmittel im Myzelwachstum, wie auch beim Sporenkeimtest bei beiden Isolaten zufriedenstellende Bekämpfungserfolge erzielt. Durch den Einsatz von Schwefel wird die Keimung von Konidien gut unterdrückt (BAHADIR, 1990). Ein Versuch von WILLIAMS und COOPER (2004) zeigt, dass *Passalora fulva* hinsichtlich der Keimung von Sporen sehr empfindlich auf Schwefel reagiert. Außerdem wird die Streckung des Keimschlauches gehemmt. Dies wird auch in der vorliegenden Arbeit bestätigt, bei der die Sporenkeimung des oberösterreichischen Isolates 5,85 % und jene des Isolates aus Salzburg 34,05 % beträgt. Des Weiteren kann das Myzelwachstum durch Schwefel vermindert werden (WILLIAMS und COOPER, 2004). Auch diese Aussage kann durch die Ergebnisse dieser Untersuchung bestätigt werden, da beim Isolat aus Oberösterreich eine Reduzierung der Myzelfläche um 89,94 % vorlag und die Myzelfläche beim Salzburger Isolat um 88,46 % vermindert werden konnte. WILLIAMS und COOPER (2004) weisen jedoch darauf hin, dass gegenüber dem Erreger der Samtfleckenkrankheit im Vergleich zu anderen pflanzenpathogenen Pilzen eine deutlich höhere Schwefelkonzentration erforderlich ist, um gute Bekämpfungserfolge zu erreichen. Schwefel dringt in die Pilzzellen ein und behindert die mitochondriale Atmungskette. Dabei kommt es zur Bildung der toxischen Substanz Schwefelwasserstoff (BEFFA, 1993). Dieser Schwefelwasserstoff greift Proteine an und bildet in den Pilzzellen mit Schwermetallen Chelate. (OLIVER und HEWITT, 2014) Die erhöhte Ausbildung von Sporen könnte vielleicht durch die Bindung des Schwefels an einige Targets in den Pilzzellen entstehen (BAHADIR, 1990). Somit wirkt der im Präparat enthaltene Schwefel möglicherweise bedrängend auf das Pathogen, worauf der Pilz mit der Ausbildung großer Sporenmassen reagiert.

Der geringe Wirkungsgrad, welcher mit dem Versuchsmittel Resistance beim Myzelwachstum und der Sporenkeimung erzielt werden kann, sowie der positive Effekt die Sporenbildung betreffend, lässt sich durch die Zusammensetzung des Präparates erklären. Resistance ist als Pflanzenstärkungsmittel registriert und basiert auf verschiedenen Algenextrakten. Das Versuchsmittel soll die Widerstandskraft der Pflanze gegenüber pilzlichen Schaderregern erhöhen (BIOHELP, 2015).

Da es sich um einen Laborversuch handelt und die Untersuchungen nicht an Pflanzen durchgeführt wurden, sind die nicht zufriedenstellenden Ergebnisse dieses Versuchsmittels wenig überraschend.

Womöglich kommt es auf Grund der im Präparat enthaltenen Nährstoffe zur starken Förderung der Sporenbildung, da sich das Pathogen unter diesen Bedingungen besonders gut reproduzieren kann. Für dieses getestete Pflanzenstärkungsmittel sind keine Daten zur Verminderung des Myzelwachstum, der Sporulation und der Sporenkeimung aus der Literatur bekannt.

Kupferpartikel zeigen gegenüber pflanzenpathogenen Pilzen wie *Phoma desructiva*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternata* und *Fusarium oxysporum* eine gute Wirkung (KANHED et al., 2013). Bei den beiden auf Kupferverbindungen basierenden Versuchsmitteln Cuprozin Progress und Sergomil L60 ist die Wirkung gegenüber dem Erreger der Samtfleckenkrankheit unterschiedlich. Während das Präparat Sergomil L60 sowohl beim Myzelwachstum, als auch bei der Sporulation und der Sporenkeimung gute Ergebnisse erzielt, zeigt die Wirkung von Cuprozin Progress gegenüber der Samtfleckenkrankheit nur einen mäßigen Erfolg. Das Versuchsmittel unterdrückt zwar das Myzelwachstum deutlich, hinsichtlich der Verminderung der Sporenbildung und Sporenkeimung liegen jedoch keine zufriedenstellenden Ergebnisse vor. Kupfer wird vom Pilz aufgenommen (BAHADIR,1990). Mit Hilfe von Enzymen, welche Sulfhydryl-, Amino- Carboxyl- und Hydroxylgruppen enthalten, werden Komplexe gebildet (OLIVER und HEWITT, 2014). Dadurch wird eine Vielzahl wichtiger Enzyme inaktiviert (BAHADIR,1990). Dies führt zur Störung wichtiger Stoffwechselprozesse und zum Zusammenbruch von Zellen (OLIVER und HEWITT, 2014). Während Sergomil L60 mit dem Inhaltsstoff Kupfersulfat zu den Düngemitteln zählt, ist Cuprozin Progress, welches den Wirkstoff Kupferhydroxid enthält, als Pflanzenschutzmittel registriert (BIOHELP, 2015; AGES, 2016).

Die Präparate PREV-B2 und Wetcit, beide aus der Kategorie der Zusatzstoffe/Netzmittel, weisen sehr ähnliche Inhaltsstoffe auf und sind sich auch in ihrer Zusammensetzung sehr ähnlich. Das Myzelwachstum dieser Präparate konnte deutlich reduziert werden. Die Wirkungsgrade gegenüber der Sporenkeimung und die Sporulation sind bei beiden Präparaten nicht zufriedenstellend. Auch GALLMEISTER und KOLLER (2011) berichten hinsichtlich der Wirkung von PREV-B2 gegenüber dem Erreger der Samtfleckenkrankheit von einer geringen Reduzierung der Befallstärke (-25,1 %). Der Wirkungsgrad gegen Echten Mehltau (*Oidium neolycopersici*) hingegen liegt bei diesem Präparat bei 100 %. Die ähnliche Zusammensetzung von PREV-B2 und Wetcit spiegelt sich durch die beinahe identen Bekämpfungserfolge die Sporenkeimung betreffend bei beiden Pilzisolaten wieder. Besonders bemerkenswert ist die ähnliche Wirkung dieser Präparate gegenüber der beiden Pilzstämmen in Bezug auf die Sporulation. Sowohl bei Wetcit, als auch bei PREV-B2 kann die Bildung der Sporen beim oberösterreichischen Isolat sehr gut unterdrückt werden, während beide Präparate gegenüber dem Isolat aus Salzburg wenig Wirkung zeigen. Eine Erklärung hierfür könnte eine höhere Aggressivität und Pathogenität des Salzburger Isolates sein, welche auch durch die Rassenbestimmungsanalyse bestätigt wird. Hinsichtlich der Unterdrückung des Myzelwachstums zeigt das Versuchsmittel Wetcit etwas mehr Erfolg als PREV-B2. Darüber, warum der

Bekämpfungserfolg gegenüber dem Myzelwachstum durch das Versuchsmittel Wetcit besser ist als jener von PREV-B2 liegen keine Vermutungen vor. Möglicherweise ist ein bestimmter Inhaltsstoff, welcher im Präparat PREV-B2 nicht enthalten ist, Grund dafür. Es könnte jedoch auch ein Inhaltsstoff in größeren Mengen im Versuchsmittel Wetcit vorliegen, von dem die Wirkung gegenüber dem Pilz hervorgerufen wird.

Die sehr gute Hemmung der Sporulation beim Isolat aus Oberösterreich durch die Präparate Wetcit und PREV-B2 lassen sich durch visuelle Beobachtungen erklären. Bei den Varianten PREV-B2 und Wetcit erscheint beim Isolat aus Oberösterreich einige Tage nach der Inokulation ein weißes Pilzgeflecht, welches sich vom Rand beginnend über das Myzel und den olivgrün-grauen, samtigen Sporenbelaag legt. Durch diesen weißen Überzug wird die Ausbildung von Konidiophoren womöglich gehemmt, sodass nur wenige Sporen produziert werden können. An Petrischalen, welche mit dem Isolat aus Salzburg inokuliert wurden, ist dieser nicht ersichtlich.

Die sehr starken Umbildungen der Pilzstrukturen bei bestimmten Präparaten, die sich als Deformationen, Verkürzungen der Hyphen sowie einem gestauchten Wuchs und verdickte Zellstrukturen äußern, waren bei der Mischvariante aus Cuprozin Progress und PREV-B2, sowie den Versuchspräparaten Wetcit, Vitsan und PREV-B2 am stärksten ausgeprägt. Tritt Kupfer in geringen Konzentrationen auf, wird es in Pilzzellen transportiert. Liegen jedoch hohe Konzentrationen von Kupfer vor, ist der toxische Effekt dieser Substanz auf der Oberfläche von Zellstrukturen erkennbar (ROSS, 1975).

Zwischen den untersuchten Pilzisolaten konnten rassenspezifische Unterschiede beobachtet werden. Die Untersuchung der Sporenkeimung zeigt bei der Kontrolle des Isolats aus Oberösterreich eine geringere Anzahl an gekeimter Sporen im Vergleich zu jenem aus Salzburg. Diese Tatsache würde das Ergebnis der Rassenbestimmungsanalyse unterstreichen, welches dem Isolat aus Oberösterreich eine geringere Pathogenität und Aggressivität zuschreibt als jenem aus Salzburg. In diesem Zusammenhang ergibt es Sinn, wenn die Keimfähigkeit der Sporen des Pilzstamms aus Salzburg höher ist als jene des oberösterreichischen Isolates. Diese Annahme kann durch die etwas besseren Bekämpfungserfolge der getesteten Versuchsmittel gegenüber dem Isolat aus Oberösterreich im Vergleich zu jenem aus Salzburg bestätigt werden. Beim Myzelwachstum können gering bessere Wirkungsgrade erzielt werden, während bei der Sporulation und der Sporenkeimung keine eindeutige Aussage darüber getroffen werden kann, welcher Pilzstamm durch den Einsatz von Pilzbekämpfungsmittel besser bekämpft wird. Bei beiden Parametern ist jedoch die Tendenz erkennbar, dass gegenüber dem Isolat aus Oberösterreich bessere Ergebnisse erzielt werden können. Diese rassenspezifischen Unterschiede konnten auch im Myzelwachstum beobachtet werden. Die statistische Auswertung der Kontrollvarianten und die Beobachtungen während des gesamten Versuchszeitraums zeigten, dass das Isolat aus Oberösterreich über ein rascheres Myzelwachstum

verfügt als jenes aus Salzburg. Basierend auf der Rassenbestimmungsanalyse, welche dem Isolat aus Oberösterreich eine geringere Aggressivität und Pathogenität im Vergleich zum Salzburger Isolat zuschreibt, lässt sich schließen, dass das Isolat aus Oberösterreich im Vergleich zu jenem aus Salzburg zwar über eine höhere Wachstumsgeschwindigkeit verfügt, jedoch eine geringere Pathogenität aufweist. Unterschiede zwischen den beiden Pilzisolaten zeigten sich auch in der Keimschlauchlänge der Sporen nach einer Inkubationszeit von 13 Stunden bei konstanter Temperatur. Auch hinsichtlich der Gestalt der Hyphen sind Unterschiede zwischen den oberösterreichischen Pilzstamm im Vergleich zu jenem aus Salzburg erkennbar.

Anzumerken ist die Bedeutung eines niedrigen pH-Wertes bei dem Versuchspräparat Myco-Sin (BIOHELP, 2015). Ein Test mit Myco-Sin unter neutralen Bedingungen bestätigt die reduzierte Wirkung dieses Versuchsmittels bei zu hohen pH-Werten, da bei beiden Pilzstämmen nach einigen Tagen ein Myzelwachstum zu verzeichnen war. In der Praxis wird zur Senkung des pH-Wertes die Zugabe von Zitronensäure empfohlen (BIOHELP, 2015). Die Zugabe von Zitronensäure könnte sich – einem Versuch in den USA zufolge – zusätzlich positiv auf die Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit auswirken, da MCGRATH (2009) von der Reduzierung des Samtfleckenbefalls durch den Einsatz eines Zitronensäurepräparats berichtet. Aus der Literatur ist bekannt, dass auch andere Pilzbekämpfungsmittel bei niedrigen pH-Werten geringere Bekämpfungserfolge zeigen. So wird etwa die Wirkung von Kupfer gegenüber Pilze durch niedrige pH-Werte reduziert (STARKEY, 1973; ROSS, 1975).

In Bezug auf die Versuchsvarianten mit Einzelpräparaten ist hinzuzufügen, dass die getesteten Aufwandmengen bei einigen Präparaten unter der maximalen Aufwandmengen liegen (Tabelle 3 und Tabelle 5). Grund dafür sind die vier Varianten mit Präparatmischungen, deren Wirkung gegenüber der Samtfleckenkrankheit getestet werden sollte. Um jedoch klare Aussagen über die Wirkung der einzelnen Präparate tätigen zu können, war es notwendig die in diesen Varianten enthaltenen Testpräparate mit den entsprechenden Aufwandmengen einzeln zu testen.

## 7 Schlussfolgerung

Um die aus dieser Arbeit hervorgehenden Ergebnisse und Aussagen verifizieren zu können, wäre es erforderlich einen Gewächshausversuch durchzuführen. Nachfolgend werden verschiedene Varianten als Empfehlung für einen Biotomatenversuch im geschützten Anbau angeführt.

Varianten, welche sowohl beim Myzelwachstum, als auch bei der Sporulation und Sporenkeimung sehr zufriedenstellende Ergebnisse zeigen, sind das Versuchsmittel Myco-Sin und die Variante Sergomil L60 sowie die Mischungsvarianten V1 und V2, die diese beiden Präparate enthalten. Die positive Wirkung der Mischungsvarianten V1 und V2 beruhen womöglich auf die Wirkung der beiden Präparate Myco-Sin und Sergomil L60. Aus diesem Grund wäre es interessant, ob diese beiden Präparate in Einzelanwendung auch an Pflanzen in einem Gewächshausversuch zufriedenstellende Ergebnisse erzielen können.

In zukünftigen Versuchen wäre es sinnvoll die Aufwandmenge einzelner Präparate zu erhöhen, um die maximalen Effekte, welche durch Versuchsmittel hervorgerufen werden können, zu erhalten. In der vorliegenden Laboruntersuchung liegen die getesteten Aufwandmengen bei einigen Präparaten unter der maximalen Aufwandmengen, da ursprünglich die Wirkung von vier Mischvarianten gegenüber der Samtfleckenkrankheit getestet werden sollte. Um klare Aussagen über die Wirkung der einzelnen Präparate tätigen zu können, war es notwendig jedes in den Mischvarianten enthaltene Präparate mit den in den Mischvarianten vorliegenden Konzentrationen zu testen.

Saprol und V4 (Vitisan und HF) können sowohl die Sporenkeimung als auch das Myzelwachstum gut unterdrücken, bezüglich weiterer Untersuchungen zur Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit sind diese Varianten jedoch nicht interessant. Bei Saprol handelt es sich um ein chemisch-synthetisches Vergleichspräparat. Somit darf es im biologischen Landbau nicht angewendet werden. V4 enthält das Präparat HF, welches in Österreich derzeit über keine Zulassung verfügt. Die Untersuchung des Versuchsmittels Vitisan als Einzelpräparat wäre jedoch sinnvoll, da durch dieses Präparat sehr gute Effekte im Myzelwachstum erzielt werden können und eine Reduzierung der Sporenbildung vorliegt.

Weiters wäre es interessant eines der beiden Netzmittel Wetcit und PREV-B2, welche sich sowohl in der Zusammensetzung als auch in den Bekämpfungserfolgen sehr ähneln, zu testen. Da Wetcit die Myzelfläche der Samtfleckenkrankheit stärker reduziert als PREV-B2, wäre es ratsam dieses Versuchsmittel für weiterführende Untersuchungen auszuwählen.

Obwohl mit Variante V3, welche die Präparate Cuprozin Progress und PREV-B2 enthält, unter Berücksichtigung aller drei untersuchten Parameter bessere Wirkungsgrade erzielt werden können als mit Wetcit, ist es nicht sinnvoll diese Variante weiter zu testen, da es sich um eine Präparatmischung handelt und somit die Versuchsmittel zusätzlich auch einzeln getestet werden müssten. Außerdem wurden in der Schweiz bei einem Gewächshausversuch mit Biotomaten mit einem Fungizid, welches denselben Wirkstoff (Kupferhydroxid) wie Cuprozin Progress enthält, mit einer Aufwandmenge von 0,125 % keine zufriedenstellenden Bekämpfungserfolge erzielt (GALLMEISTER und KOLLER, 2011).

Interessant wäre die Wirkung des Schwefelpräparats weiter zu untersuchen, da mit diesem Versuchsmittel sowohl das Myzelwachstum, als auch die Sporenkeimung deutlich reduziert werden konnten. In diesem Kontext ist jedoch anzumerken, dass der Einsatz von Netzschwefel Stulln, welches im vorliegenden Versuch getestet wurde, nicht im Tomatenanbau zulässig ist (AGES, 2015). Bei der Durchführung eines Gewächshausversuchs wäre es daher notwendig ein Schwefelpräparat zu wählen, welches über eine Genehmigung für den Tomatenanbau verfügt.

## 8 Zusammenfassung

Die Tomate zählt im Bereich des Biolandbaus zu den beliebtesten Sommerkulturen im geschützten Anbau. In den letzten Jahren führte die Samtfleckenkrankheit, verursacht durch den Schadpilz *Passalora fulva*, in Österreich vor allem bei biologisch wirtschaftenden Betrieben im geschützten Anbau zu großen Problemen. Da auch die Züchtung resistenter Sorten auf Grund des enormen Weiterentwicklungspotenzials des Pilzes wenig erfolgreich ist, wird nach zufriedenstellenden Bekämpfungsmaßnahmen gegen das Auftreten der Samtfleckenkrankheit gesucht. Ziel war es, neue Erkenntnisse für eine zufriedenstellende Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit, einem gefürchteten Schaderreger im österreichischen Biotomatenanbau, zu gewinnen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Laboruntersuchungen über die Wirkung verschiedener in der biologischen Landwirtschaft eingesetzter Präparate durchgeführt. Dazu wurden die Testpräparate hinsichtlich der Hemmung des Myzelwachstums, der Sporulation und der Sporenkeimung untersucht. Um repräsentative Ergebnisse für Österreich zu erhalten wurde der Versuch mit zwei unterschiedlichen Pilzisolaten aus verschiedenen österreichischen Erwerbanlagen durchgeführt. Ein Pilzisolat stammt aus Oberösterreich, das andere aus Salzburg. Die genaue Identifizierung der beiden Pilzstämme fand in einem Analyselabor in Frankreich statt und wurde von GEVES (French Group for the Study and Control of Varieties and Seeds) durchgeführt.

Den Ergebnissen der Rassenbestimmungsanalyse zufolge weist das Pilzisolat aus Oberösterreich gegenüber unterschiedlichen Tomatensorten eine sehr geringe Pathogenität auf. Durch die sehr schwache Aggressivität dieses Pilzstammes kann das Isolat keiner Rasse zugeordnet werden. Der aus Salzburg stammende Pilzstamm wird als wenig aggressiv eingestuft. Basierend auf der Laboranalyse wird die Rasse 2.4.5.9 vermutet. Versuchsergebnisse bestätigen die Resultate der Rassenbestimmungsanalyse und zeigen, dass das oberösterreichische Isolat im Vergleich zu jenem aus Salzburg zwar über eine höhere Wachstumsgeschwindigkeit verfügt, jedoch eine geringere Pathogenität aufweist.

Die Laboruntersuchung zeigt sowohl im Myzelwachstum als auch bei der Unterdrückung der Sporulation und der Sporenkeimung bei beiden Pilzstämmen signifikante Unterschiede zwischen den getesteten Präparaten und Präparatmischungen. Auch in Bezug auf die getesteten Pilzisolate liegen signifikante Unterschiede betreffend Myzelwachstum, Sporulation und Sporenkeimung vor. Die statistische Auswertung zeigt einen signifikanten Zusammenhang zwischen den beiden Faktoren Präparat und Isolat in allen drei untersuchten Parametern.

Während einige Testpräparate hinsichtlich der Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit nur wenig Wirkung zeigen, sind andere in der Lage das Myzelwachstum sowie die Bildung und Keimung der Sporen vollständig zu unterdrücken. Zu diesen zählen das Präparat Myco-Sin und die beiden Mischvarianten Sergomil L60, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance sowie Myco-Sin, Netzschwefel Stulln, PREV-B2 und Resistance. Das Präparat Sergomil L60 verhindert das Myzelwachstum und die Bildung von Sporen. Die Sporenkeimung kann nicht vollständig unterdrückt werden, wobei nach der Keimung der Sporen kein weiteres Wachstum des Pathogens stattfindet.

Keine der übrigen Varianten zeigt in allen drei getesteten Parametern Myzelwachstum, Sporulation und Sporenkeimung zufriedenstellende Ergebnisse. Saprol und V4 (Vitisan und HF) können sowohl die Sporenkeimung, als auch das Myzelwachstum gut unterdrücken und erzielen gute Bekämpfungserfolge. Prinzipiell geben die Ergebnisse des Sporenkeimtests keinen Aufschluss darüber, wie groß die Myzelfläche nach zehn Tagen ist. Von allen getesteten Varianten hemmt das Versuchspräparat Resistance das Wachstum und die Entwicklung der Samtfleckenkrankheit am geringsten. Einige Präparate beeinflussen die Entwicklung des Pilzes indem Deformationen sowie verdickte Zellstrukturen hervorgerufen werden. Eine allgemeine Aussage darüber, wann das Wachstum und die Entwicklung der Samtfleckenkrankheit unter konstanten Bedingungen am schnellsten sind, kann nicht gemacht werden.

Erste Schritte zur Bekämpfung der Samtfleckenkrankheit liegen mit dieser Arbeit vor. Für eine Verifizierung der auf Laboruntersuchungen beruhenden Ergebnisse und Aussagen ist ein Gewächshausversuch dringend erforderlich.

## 9 Verzeichnisse

### 9.1 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: SYMPTOME VON P. FULVA AUF DER BLATTOBERSEITE .....	11
ABBILDUNG 2: SYMPTOME VON P. FULVA AUF DER BLATTUNTERSEITE .....	11
ABBILDUNG 3: TYPISCHER, SAMTIGER PILZRASEN AUF DER BLATTUNTERSEITE.....	11
ABBILDUNG 4: SAMTFLECKENBEFALL - BEGINNEND AN DEN UNTERSTEN BLÄTTERN .....	12
ABBILDUNG 5: STARKER SAMTFLECKENBEFALL IM TOMATENBESTAND - VERLUST DER ASSIMILATIONSFLÄCHE IST ERSICHTLICH ...	12
ABBILDUNG 6: DIE KRANKHEITSAUSBREITUNG VON P. FULVA NACH DEM MODEL VON IWAO 1968. BEIM POPULATIONSANSTIEG KOMMT ES ZU EINER GESTEIGERTEN ANZAHL AN KOLONIEN, WOBEI DEREN GRÖÖE UNVERÄNDERT BLEIBT (YAMAMURA, 2000).....	14
ABBILDUNG 7: EINDRINGEN DES KEIMFADENS ODER DES SEITENASTS DER HYPHE DURCH DIE SPALTÖFFNUNGEN IN DIE PFLANZE (THOMMA ET AL., 2005) .....	16
ABBILDUNG 8: BILDUNG VON KONIDIOPHOREN AN DEN SPALTÖFFNUNGEN DER BLÄTTER ( THOMMA ET AL., 2005) .....	16
ABBILDUNG 9: KONIDIOPHOREN MIT KONIDIEN VON P. FULVA .....	18
ABBILDUNG 10: HANSFORDIA PULVINATA ZUR BIOLOGISCHEN BEKÄMPFUNG VON P. FULVA AUF TOMATE (PARK ET AL., 2010). 19	
ABBILDUNG 11: KARTE VON ÖSTERREICH MIT DER HERKUNFT DER BEIDEN PILZISOLATE. 1 OBERÖSTERREICH, ENGELHARTSZELL; 2 SALZBURG, SAALFELDEN. MAßSTAB 1:5.000.000 (DATENQUELLE: OPENSTREETMAP).....	29
ABBILDUNG 12: VERGLEICH DER BEIDEN PILZISOLATE IM ALTER VON 7 TAGEN (LINKS: OBERÖSTERREICH, RECHTS: SALZBURG)..	30
ABBILDUNG 13: PILZRASEN AUF DER BLATTUNTERSEITE DES AUS OBERÖSTERREICH STAMMENDEN ISOLATES.....	32
ABBILDUNG 14: PILZRASEN AUF DER BLATTUNTERSEITE DES AUS SALZBURG STAMMENDEN ISOLATES .....	32
ABBILDUNG 15: GIEßEN DES MEDIUMS IN PETRISCHALEN .....	33
ABBILDUNG 16: DIE FARBENVIELFALT DER VERSCHIEDENEN WACHSTUMSMEDIEN ENTSTEHEND DURCH DIE ZUGABE DER TESTPRÄPARATE .....	34
ABBILDUNG 17: SAMTIGE, WASSERABWEISENDE SPOREN DER SAMTFLECKENKRANKHEIT .....	34
ABBILDUNG 18: ERLENMEYERKOLBEN MIT TRICHTER UND 2-SCHICHTIGEN KANNENFILTER ZUM HERSTELLEN DER SPORENSUSPENSION.....	36
ABBILDUNG 19: WASSER-SPOREN-GEMISCH DES SALZBURGER ISOLATES BEI DEN VARIANTEN KONTROLLE, WETCIT, PREV-B2, HF UND DER VARIANTE CUPROZIN PROGRESSIVE UND PREV-B2.....	37
ABBILDUNG 20: SPORENSUSPENSIONEN DER EINZELNEN VARIANTEN IN DER MIKROTITERPLATTE ZUR MESSUNG DER OPTISCHEN DICHTEN MIT HILFE EINES PHOTOMETERS (JE FÜNF WELLS NEBENEINANDER PRO VARIANTE).....	37
ABBILDUNG 21: PDB-MEDIEN MIT DEN TESTPRÄPARATEN UND DEM PATHOGEN ZUR DURCHFÜHRUNG DES SPORENKEIMTESTS	38
ABBILDUNG 22: MIKROTITERPLATTE MIT DEM MEDIUM-SPOREN-GEMISCH .....	38
ABBILDUNG 23: MIKROTITERPLATTEN MIT MEDIEN-SPOREN-GEMISCH UND LACTOPHENOLBLAU - CLUSTERBILDUNG DER SPOREN ERSICHTLICH .....	38
ABBILDUNG 24: CLUSTERBILDUNG DER IN PDB GEKEIMTE PILZSPOREN, INKUBATION 20 °C FÜR 12 STUNDEN .....	39
ABBILDUNG 25: AUSZÄHLUNG DER SPORENKEIMUNG NACH DER INKUBATIONSZEIT VON 13 STUNDEN BEI DER KONTROLLVARIANTE .....	40
ABBILDUNG 26: AUSZÄHLUNG DER SPORENKEIMUNG NACH DER INKUBATIONSZEIT VON 13 STUNDEN BEI VARIANTE SERGOMIL L60 .....	40
ABBILDUNG 27: VERGLEICH DES MYZELWACHSTUMS (CM <sup>2</sup> ) DES P. FULVA-ISOLATES AUS OBERÖSTERREICH AM 4., 7. UND 10. TAG NACH DER INOKULATION (MITTELWERT ± STANDARDABWEICHUNG), (ANOVA, F= 4,582) BALKEN MIT GLEICHEN BUCHSTABEN WEISEN KEINE SIGNIFIKANTEN UNTERSCHIEDE AUF (TUKEY-TEST). PRÄPARATE BZW. PRÄPARATMISCHUNGEN MIT VOLLSTÄNDIGER UNTERDRÜCKUNG DER SPORENKEIMUNG SIND IN DER GRAFIK NICHT ANGEFÜHRT (MYCO-SIN, SERGOMIL L60, V1, V2). .....	42
ABBILDUNG 28: VERGLEICH DES MYZELWACHSTUMS (CM <sup>2</sup> ) DES P. FULVA-ISOLATES AUS SALZBURG AM 4., 7. UND 10. TAG NACH DER INOKULATION (MITTELWERT ± STANDARDABWEICHUNG), (ANOVA, F= 4,582) BALKEN MIT GLEICHEN BUCHSTABEN	

WEISEN KEINE SIGNIFIKANTEN UNTERSCHIEDE AUF (TUKEY-TEST). PRÄPARATE BZW. PRÄPARATMISCHUNGEN MIT VOLLSTÄNDIGER UNTERDRÜCKUNG DER SPORENKEIMUNG SIND IN DER GRAFIK NICHT ANGEFÜHRT (MYCO-SIN, SERGOMIL L60, V1, V2). ..... 43

ABBILDUNG 29: UNTERSCHIEDLICHE AUSPRÄGUNG DER FARBE DES MYZELS DES PILZES P. FULVA..... 46

ABBILDUNG 30: VERGLEICH DER SPORENDICHTE JE CM<sup>2</sup> DURCH DAS P. FULVA-ISOLAT AUS OBERÖSTERREICH (MITTELWERT ± STANDARDABWEICHUNG), (ANOVA, F= 2,724) BALKEN MIT GLEICHEN BUCHSTABEN WEISEN KEINE SIGNIFIKANTEN UNTERSCHIEDE AUF (TUKEY-TEST). PRÄPARATE BZW. PRÄPARATMISCHUNGEN MIT VOLLSTÄNDIGER UNTERDRÜCKUNG DER SPORENKEIMUNG SIND IN DER GRAFIK NICHT ANGEFÜHRT (MYCO-SIN, SERGOMIL L60, V1, V2)..... 47

ABBILDUNG 31: VERGLEICH DER SPORENDICHTE IN CM<sup>2</sup> DURCH DAS P. FULVA-ISOLAT AUS SALZBURG (MITTELWERT ± STANDARDABWEICHUNG), (ANOVA, F= 2,724) BALKEN MIT GLEICHEN BUCHSTABEN WEISEN KEINE SIGNIFIKANTEN UNTERSCHIEDE AUF (TUKEY-TEST). PRÄPARATE BZW. PRÄPARATMISCHUNGEN MIT VOLLSTÄNDIGER UNTERDRÜCKUNG DER SPORENKEIMUNG SIND IN DER GRAFIK NICHT ANGEFÜHRT (MYCO-SIN, SERGOMIL L60, V1, V2). ..... 48

ABBILDUNG 32: ABKLATSCHPROBE DER VARIANTE WETCIT NACH DER INOKULATION (ISOLAT OBERÖSTERREICH) ..... 49

ABBILDUNG 33: ABKLATSCHPROBE DER VARIANTE WETCIT NACH DER INOKULATION (ISOLAT OBERÖSTERREICH) ..... 50

ABBILDUNG 34: ABKLATSCHPROBE DER KONTROLLVARIANTE NACH DER INOKULATION (ISOLAT OBERÖSTERREICH) ..... 50

ABBILDUNG 35: ABKLATSCHPROBE DER KONTROLLVARIANTE NACH DER INOKULATION (ISOLAT OBERÖSTERREICH) ..... 50

ABBILDUNG 36: MYZELWACHSTUM DER VARIANTE PREV-B2 AM TAG DER INOKULATION, NACH 4, 7 UND 10 TAGEN (VON OBEN NACH UNTEN). IN DEN BILDERN LINKS BEFINDET SICH DAS ISOLAT AUS OBERÖSTERREICH, RECHTS JENES AUS SALZBURG... 51

ABBILDUNG 37: MYZELWACHSTUM DER VARIANTE WETCIT AM TAG DER INOKULATION, NACH 4, 7 UND 10 TAGEN (VON OBEN NACH UNTEN). IN DEN BILDERN LINKS BEFINDET SICH DAS ISOLAT AUS OBERÖSTERREICH, RECHTS JENES AUS SALZBURG... 51

ABBILDUNG 38: VERGLEICH DER SPORENKEIMUNG (%) DES P. FULVA-ISOLATES AUS OBERÖSTERREICH (INKUBATION: 13 H, 20 °C) (MITTELWERT ± STANDARDABWEICHUNG), (ANOVA, F= 1,982) BALKEN MIT GLEICHEN BUCHSTABEN WEISEN KEINE SIGNIFIKANTEN UNTERSCHIEDE AUF (TUKEY-TEST). PRÄPARATE BZW. PRÄPARATMISCHUNGEN MIT VOLLSTÄNDIGER UNTERDRÜCKUNG DER SPORENKEIMUNG SIND IN DER GRAFIK NICHT ANGEFÜHRT (MYCO-SIN, V1, V2)..... 53

ABBILDUNG 39: VERGLEICH DER SPORENKEIMUNG (%) DES P. FULVA-ISOLATES AUS SALZBURG (INKUBATION: 13 H, 20 °C) (MITTELWERT ± STANDARDABWEICHUNG), (ANOVA, F= 1,982) BALKEN MIT GLEICHEN BUCHSTABEN WEISEN KEINE SIGNIFIKANTEN UNTERSCHIEDE AUF (TUKEY-TEST). PRÄPARATE BZW. PRÄPARATMISCHUNGEN MIT VOLLSTÄNDIGER UNTERDRÜCKUNG DER SPORENKEIMUNG SIND IN DER GRAFIK NICHT ANGEFÜHRT (MYCO-SIN, V1, V2)..... 54

ABBILDUNG 40: DEFORMIERTE PILZSTRUKTUREN BEI CUPROZIN PROGRESS ..... 56

ABBILDUNG 41: DEFORMIERTE PILZSTRUKTUREN BEI VITISAN ..... 56

ABBILDUNG 42: DEFORMIERTE PILZSTRUKTUREN BEI VARIANTE 3 (CUPROZIN PROGRESS UND PREV-B2)..... 57

## 9.2 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: CODESYSTEM VON FIRMEN ZUR ZUORDNUNG DER PATHOTYPEN IN CODE-SEKTIONEN, RASSEN GRUPPEN, RASSEN UND RESISTENZGENEN (VERÄNDERT NACH IFS, 2012)..... 26

TABELLE 2: DARSTELLUNG DER P. FULVA-RASSEN UND DEREN WIDERSTANDSFÄHIGKEIT BZW. ANFÄLLIGKEIT GEGENÜBER EINZELNEN RESISTENZGENEN (VERÄNDERT NACH IFS, 2012 S = ANFÄLLIG, R = WIDERSTANDSFÄHIG/RESISTENT) ..... 28

TABELLE 3: AUFLISTUNG DER GETESTETEN VERSUCHSMITTEL NACH ZUORDNUNG, MAXIMALER AUFWANDMENGE UND GEFAHRENSYMBOLS (BioHELP, 2015; GOTTSCHLICH H., PERSÖNLICHE MITTEILUNG; AGES, 2016) ..... 30

TABELLE 4: ALLGEMEINE ANGABEN ZU DEN GETESTETEN PRÄPARATEN ..... 31

TABELLE 5: TESTPRÄPARATE, VERSUCHSVARIANTEN UND DIE JEWEILIGEN KONZENTRATIONEN ..... 35

### 9.3 Literaturverzeichnis

ADETUMBI, M., JAVOR, G. T. und LAU, B. H. S. (1986): *Allium sativum* (garlic) inhibits lipid synthesis by *Candida albicans*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 30: 499-501.

AGES – ÖSTERREICHISCHE AGENTUR FÜR GESUNDHEIT UND ERNÄHRUNGSSICHERHEIT (2016): Verzeichnis der in Österreich zugelassenen/genehmigten Pflanzenschutzmittel. Online: [http://pmg.ages.at/pls/psmlfrz/pmgweb2\\$.Startup](http://pmg.ages.at/pls/psmlfrz/pmgweb2$.Startup) (10.01.2016)

AGRIOS, G.N. (2009): Plant pathology. 5.Auflage, Amsterdam: Elsevier Academic Press.

AZIZ, A., POINSSOT, BL., DAIRE, X., ADRIAN, M., BEZIER, A., LAMBERT, B., JOUBERT, J.-M. und PUGIN, A. (2003): Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. Molecular Plant-Microbe Interactions Journal 16: 1118-1128.

BAHADIR, M. (1990): Controlled release, biochemical effects of pesticides, inhibition of plant pathogenic fungi. Berlin: Springer.

BARONE, F. E. und TANSEY, M. R. (1977): Isolation, purification, identification, synthesis and kinetics of activity of *Allium sativum* and a hypothesis for its mode of action. Mycologia 69:793-825.

BEDLAN, G. (2012): Gemüsekrankheiten - das Fachbuch für Gemüsegärtner, Erwerbsgemüsebauern, Beratungsdienste und als Lehrbuch einsetzbar. 4. Auflage, Wien: Zentralverband der Kleingärtner und Siedler Österreichs.

BEFFA, T. (1993): Inhibitory action of elemental sulphur on fungal spores. Canadian Journal of Microbiology 36: 731-735.

BERTSCH, K. und F. (1947): Geschichte unserer Kulturpflanzen. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.

BIOHELP (Hrsg.) (2015): PROFI-LINE, Biologische Lösungen für Gartenbau Wein- und Obstbau, sowie Landwirtschaft: Produktkatalog 2015. o.O.

BLANCARD, D. (2012): Tomato diseases: Identification, biology and control. 2. Auflage, London: Manson.

BLANCARD, D. (1992): A colour atlas of tomato diseases: Observe, identify, control. London: Wolfe.

BML – BUNDESAMT FÜR LANDWIRTSCHAFT (2016): Pflanzenschutzmittelverzeichnis: Wirkstoffe. Online: <http://www.blw.admin.ch/psm/wirkstoffe/index.html?lang=de&item=1533> (12.02.2016)

BMLFUW – BUNDESMINISTERIUM FÜR LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT, UMWELT UND WASSERWIRTSCHAFT (Hrsg.) (2014): Grüner Bericht 2014: Bericht über die Situation der österreichischen Land- und Forstwirtschaft. 55. Auflage, Wien.

BMLFUW – BUNDESMINISTERIUM FÜR LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT, UMWELT UND WASSERWIRTSCHAFT (Hrsg.) (2013): Lebensmittel in Österreich, Zahlen-Daten-Fakten 2013. Wien.

BMLFUW – BUNDESMINISTERIUM FÜR LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT, UMWELT UND WASSERWIRTSCHAFT (Hrsg.) (2010): Lebensmittelbericht Österreich 2010. Wien.

BUTLER, E.J. und JONES, S.G. (1949): Plant pathology. London: MacMillan & Co. LTD.

CAVALLITO, Ch. J. und BAILBY, J. H. (1944): Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. isolation, physical properties and antibacterial action. Journal of the American Chemical Society 66: 1950-1951.

CELAFLOR SCOTTS (2015): Gemüse-Pilzfrei Saprol. Online: <http://www.liebedeingarten.at/celaflor-gemuese-pilzfrei-saprol-0> (30.12.2015).

CHEN, Ch., WANG, Y., SU, Ch., ZHAO, X., LI, M., MENG, X., JIN, Y., YANG, S.-H., MA, Y., WEI, D. und SUH, J.-W. (2015): Antifungal activity of *Streptomyces albidoflavus* L131 against the leaf mold pathogen *Passalora fulva* involves membrane leakage and oxidative damage. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry 58: 111-119. DOI 10.1007/s13765-015-0012-3

CRÜGER, G., BACKHAUS, G.F., HOMMES, M. SMOLKA, S. und VETTEN, H.J. (2002): Pflanzenschutz im Gemüsebau. 4. Auflage, Stuttgart: Ulmer.

DASSLER E. und HEITMANN, G. (1991): Obst und Gemüse. 4. Auflage, Berlin: Parey.

DHINGRA, O.D. und SINCLAIR, J.B. (1995): Basic plant pathology methods. 2. Auflage, Boca Raton: CRC Press.

ELAD, Y. (2000 a): Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Crop Protection 19, 709-714.

ELAD, Y. (2000 b): *Trichoderma harzianum* T39 preparation for biocontrol of plant diseases – Control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. Biocontrol Science and Technology 10: 499-507.

ENYA, J., IKEDA, K., TAKEUCHI, T., HORIKOSHI, N., HIGASHI, T., SAKAI, T., IIDA, Y., NISHI, K. und KUBOTA, M., (2008) The first occurrence of leaf mold of tomato caused by races 4.9 and 4.9.11 of *Passalora fulva* (syn. *h*) in Japan. Journal of General Plant Pathology 75:76-79. DOI: 10.1007/s10327-008-0134-0

FELIZIANI, E., LANDI, L. UND ROMANAZZI, G. (2015): Preharvest treatments with chitosan and other alternatives to conventional fungicides to control postharvest decay of strawberry. Carbohydrate Polymers 132: 111-117. DOI 10.1016/j.carbpol.2015.05.078

FOOLAD, M.R. und PANTHEE, D.R. (2012): Marker-assisted selection in tomato breeding. Critical Reviews in Plant Sciences 31:93-123. DOI: 10.1080/07352689.2011.616057

FOMTLING, R. A. und BULMER, S. (1978): In vitro effect of aqueous extract of garlic (*Allium sativum*) on the growth and viability of *Cryptococcus neoformans*. Mycologia, 70: 397-405.

GALLMEISTER, A. und KOLLER, M. (2011): Wirkung verschiedener Pflanzenschutzmittel auf Samtflecken (*Cladosporium fulvum*) bei Tomate. In: LEITHOLD, G., BECKER, K., BROCK, C., FISCHINGER, ST., SPIEGEL, A.-K., SPORY, K., WILBOIS, K.-P., WILLIGES, U. und ZERGER, U. (Hrsg.): Es geht ums Ganze: Forschen im Dialog von Wissenschaft und Praxis. Beiträge zur 11. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau 1, Gießen: BÖLN, 254-257.

GALLO, M. und CICCARESE, F. (2012): Resistance in *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* to *Cladosporium fulvum*. Acta Horticulturae 960: 77-82.

GARDNER, M.W. (1925): *Cladosporium* leaf mold of tomato: Fruit invasion and seed transmission. Journal of Agricultural Research 31: 519-540.

IIDA, Y., IWADATE, Y., KUBOTA, M., und TERAMI, F. (2010): Occurrence of a new race 2.9 of leaf mold of tomato in Japan. . *Journal General Plant Pathology* 76: 84-86. DOI 10.1007/s10327-009-0207-8

IFS – INTERNATIONAL SEED FEDERATION (2012): The relationship between races of *Fulvia fulva* and resistance genes. Online: [http://www.worldseed.org/cms/medias/file/TradeIssues/DiseasesResistance/Differentials/Tomato-leaf\\_mould\\_2012.pdf](http://www.worldseed.org/cms/medias/file/TradeIssues/DiseasesResistance/Differentials/Tomato-leaf_mould_2012.pdf) (27.10.2015)

INTERNATIONAL MYCOLOGICAL ASSOCIATION (2015): Fungal databases nomenclature and species banks. Online: <http://www.mycobank.org> (30.12.2015).

JONES, J.B. und JONES, J.P. (1991): Leaf mold. In: JONES, J.B.; JONES, J.P.; STALL, R.E. und ZITTER, T.A. (Hrsg.): *Compendium of Tomato Diseases*. St. Paul: APS Press, 18.

JONES, J.B. und JONES, J.P. (2014): Leaf mold. In: JONES J.B.; ZITTER, T.A.; MOMOL, T.M. und MILLER, S.A. (Hrsg.): *Compendium of Tomato Diseases and Pests*. 2. Auflage, St. Paul: APS Press, 34-35.

JKI – JULIUS KÜHN INSTITUT BUNDESFORSCHUNGSINSTITUT FÜR KULTURPFLANZEN (2016): Archiv Pflanzenstärkungsmittel. Online: <http://pflanzenstaerkungsmittel.jki.bund.de/erg2.3.php?an=HFP> (14.02.2016)

KANHED, P., BIRLA, S., GAIKWAD, S., GADE, A., SEABRA, A. B., RUBILAR, O., BURAN, N. und RAI, M. (2013): In vitro antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. *Materials Letters* 115: 13-17. DOI 10.1016/j.matlet.2013.10.011

KAWAGUCHI, A. und SUENAGA-KANETANI, H. (2014): Spatiotemporal distribution of tomato plants naturally infected with leaf mold in commercial greenhouses. *Journal General Plant Pathology* 80: 430-434. DOI:10.1007/s10327-014-0539-x

KIM, D.-G., MOON, K., KIM, S.-H., PARK, S.-H., PARK, S., LEE, S. K., OH, K.-B., SHIN, J., OH, D.-C. (2012): Bahamaolides A and B, antifungal polyene polyol macrolides from the marine actinomycete *Streptomyces* sp. *Journal of Natural Products* 75: 959-967. DOI 10.1021/np3001915

KOLLER, M. und HUBER, K. (2015): Samtflecken – gibt es Neues zur direkten Bekämpfung? ÖKOmenischer Gärtnerbrief 1: 39-40.

KÜHNE, S., BURTH, U. und MARX, P. (2006): Biologischer Pflanzenschutz im Freiland: Pflanzengesundheit im Ökologischen Landbau. Stuttgart: Ulmer.

LEE, K.Y., KONG, H.G., CHOI, K.H., LEE, S.-W. und MOON, B.J. (2011): Isolation and identification of *Burkholderia pyrrocinia* CH-67 to control tomato leaf mold and damping-off on crisphead lettuce and tomato. The Plant Pathology Journal 27: 59-67.

LIU, Q., YU, J., YAN, J., QI, X., LIU, CH., UND JIN, H. (2009): Antagonism and action mechanism of antifungal metabolites from *Streptomyces rimosus* MY02. Journal of Phytopathology 157: 306-310. DOI 10.1111/j.1439-0434.2008.01494.x

MARAICHER, L. (2015): Neue Pilzrasse durchbricht Samtfleckenkrankheit-Resistenz. Der Gemüsebau 5, 22.

MCGRATH, M.T. (2009): Evaluation of treatments for managing foliar diseases in organically-produced tomato. Acta Horticulturae 808: 137-141.

MELLO, S.C.M., ESTEVANATO, C.E., BRAUNA, L.M., CAPDEVILLE, G. DE, QUEIROZ, P.R. und LIMA, L.H.C. (2008): Antagonistic process of *Dicyma pulvinata* against *Fusicladium macrosporum* on rubber tree. Tropical Plant Pathology 33: 5-11.

OLIVER, R.P. und HEWITT, H.G. (2014): Fungicides in Crop Protection. Tarxien: Gutenberg Press LTD.

O'NEILL, T. M., ELAD, Y., SHTIENBERG, D. und COHEN, A. (1996): Control of grapevine grey mould with *Trichoderma harzianum* T39. Biocontrol Science and Technology 6: 139-146. DOI 10.1080/09583159650039340

ÖKMEN, B. und DE WIT, P.J.G.M. (2013): *Cladosporium fulvum* – Tomato pathosystem: Fungal infection strategy and plant responses. In: SESSA, G. (Hrsg.): Molecular Plant Immunity. Ames: Wiley-Blackwell, 211.

PARK, M.-J., HAN, J.-G., KIM, J.-H. und SHIN, H.-D. (2010): *Hansfordia pulvinata* hyperparasiting *Passalora fulva* on organic tomato plants. The Plant Pathology Journal 26: 425. DOI 10.5423/PPJ.2010.26.4.425

PERSIEL, F. (1967): Resistenz und Resistenzzüchtung gegen die Braunfleckenkrankheit, *Cladosporium fulvum* Cooke, bei Tomaten. Zeitschrift für Pflanzenzüchtung 57: 325-360.

RIOUX, L.-E., TURGEON, S.L. UND BEAULIEU, M. (2007): Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. Carbohydrate Polymers 69: 530-537. DOI 10.1016/j.carbpol.2007.01.009

ROSS, I. S. (1975): Some effects of heavy metals on fungal cells. Transactions of the British Mycological Society 64: 175-193

SENGBUSCH, R. VON und LOSCHAKOWA-HASENBUSCH, N. (1932): Immunitätszüchtung bei Tomaten. Der Züchter 11, 257-264.

STARKEY, R. L. (1973): Effect of pH on toxicity of copper to *Scytalidium sp.*, a coppertolerant fungus, and some other fungi. Journal of General Microbiology 78: 217-225.

STATISTIK AUSTRIA (2015): Gemüseproduktion: Endgültiges Ergebnis 2015. Online: [http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/wirtschaft/land\\_und\\_forstwirtschaft/agrarstruktur\\_flaechen\\_ertraege/gemuese/105832.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/wirtschaft/land_und_forstwirtschaft/agrarstruktur_flaechen_ertraege/gemuese/105832.html) (12.02.2016)

SU, L. und CHENG, Z. (2009): *Allium sativum* extract as a biopesticide affecting pepper blight. International Journal of Vegetable Science, 15:13-23. DOI: 10.1080/19315260802446377

TIRILLY, Y., KLOOSTERMAN, J., SIPMA, G. und KETTENES-VAN DEN BOSCH, J. J. (1983): A fungitoxic sesquiterpene from *Hansfordia pulvinata*. Phytochemistry 22: 2082-2083.

THOMMA, B.; ESSE, H. VAN; CROUS, P. und DE WIT, P. (2005): *Cladosporium fluvum* (syn. *Passalora fulva*), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic Mycosphaerellaceae. Molecular Plant Pathology 6: 379-393. DOI:10.1111/J.1364-3703.2005.00292.X

WEI, T. T., CHENG, Z.-H., MUHAMMAD, A. K., MA, Q. und HAN, L. (2012): The inhibitive effects of garlic bulb crude extract on *Fulvia fulva* of tomato. Pakistan Journal of Botany 43: 2575-2580.

WILLIAMS, J. S. UND COOPER, R. M. (2004): The oldest fungicide and newest phytoalexin – a reappraisal of the fungitoxicity of elemental sulphur. Plant Pathology 53: 263-279. DOI 10.1111/j.1365-3059.2004.01010.x

YAMAMURA, K. (2000): Colony expansion model for describing the spatial distribution of populations. Population Ecology 42: 161-169.