Nachhaltiges Management von *Xiphinema index* im Weinbau

Diplomarbeit

Studiengang Phytomedizin der
Universität für Bodenkultur Wien

Andreas Willhauck

Erstprüfer:	Prof. Dr. Bohlmann
Zweitprüfer:	Prof. Dr. Steinkellner
Betreuer:	Dr. Thoden

Wien, Februar 2012

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

1.1 Die Weinrebe und ihre Schädlinge 1

1.2 Das Grapevine Fanleaf Virus (GFLV) 3

1.2.1 Symptome 3

1.2.2 Schäden und Ausbreitung 5

1.3 Nematoden im Weinbau 6

1.3.1 Nematoda 6

1.3.2 Phytoparasitäre Nematoden im Weinbau 7

1.3.3 *Xiphinema index* 7

1.3.4 Nematoden-Orientierung 9

1.4 Management von *Xiphinema index* 10

1.4.1 Biologische Bodenentseuchung (BSD) 12

1.4.2 Anlockung von Schädlingen 13

1.5 Ziele 14

2 Material und Methoden 16

2.1 Die Nematode *Xiphinema index* 16

2.1.1 Zucht von *Xiphinema index* 16

2.1.2 Identifikation von *Xiphinema index* 16

2.2 Pflanzenmaterial 17

2.2.1 Zuchtpflanze *Ficus carica* 17

2.2.2 Versuchspflanzen 18

2.3 Bodenmedium (Versuchsboden) 19

2.4 Evaluierung verschiedener Extraktionsverfahren 20

2.5 Lockversuch 25

2.5.1 Versuchsdesign 25

2.5.2 Versuchsauswertung 28

2.6 Bekämpfungsversuch „Biologische Bodenentseuchung“ (BSD) 30

2.6.1 Versuchsdesign 30

2.6.2 Versuchsauswertung 34

3 Ergebnisse 35

3.1 Extraktionsversuche 35

3.2 Lockversuch 37

3.3 Bekämpfungsversuch „Biologische Bodenentseuchung“ (BSD) 40

3.3.1 Gasmessung 40

3.3.2 Bekämpfungserfolg 46

3.3.2.1 Vitalität & Aktivität nach 14 d 46
3.3.2.2 Vitalität & Aktivität nach 28 d 48
3.3.3 Korrelation Gaskonzentrationen - Anteil toter Tiere 49

4 Diskussion 51
4.1 Extraktionstechniken 51
4.2 Lockversuch 54
4.3 Bekämpfungsstrategie 57

5 Literatur 63

6 Zusammenfassung 71

7 Abstract 73

8 Ausblick 74

Erklärung 75

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Stellung der Rebe im botanischen System (nach Müller 2008). 2
Abbildung 2: Das Grapevine Fanleaf Virus und sein Vektor *X. index*..... 3
Abbildung 3: Symptome der durch das GFLV verursachten Reisigkrankheit an Reben. (A) Vermindertes Wachstum von Reben; (B) Verfärbung der Blätter; (C) Verrieselung der Traube durch mangelhafte Fruchtstandbildung; (D) herdförmige Ausbreitung der Krankheit (PPO-agv Lelystad)..... 4
Abbildung 4: Pflanzenparasitäre Nematoden (erkennbar am Mundstachel (A)) und typische qualitative Schäden. 6
Abbildung 5: Schematische Darstellung der ablaufenden Prozess während der biologischen Bodenentseuchung. 12
Abbildung 6: Morphologie und Schwanzregion von *X. index* (Quelle: UC Davis). 17
Abbildung 7: Die verwendeten Reben Spätburgunder-Klon 1/47 Gm mit der Unterlage 125 AA. 18
Abbildung 8: Sammeln von Brennnesseln (*Urtica dioica*) auf sandigem Standort. 19
Abbildung 9: Plastikschalen mit Versuchsboden und Nematodensuspension. 20
Abbildung 10: Extraktionsschema von *X. index* (nach Feil, 2007). 21
Abbildung 11: Schematischer Aufbau des Oostenbrink-Elutriators (nach Verschoor & Goede, 2000). 22
Abbildung 12: Hendrickx-Zentrifuge. 23
Abbildung 13: Modifizierte Baermann-Filter und Bodenproben mit *X. index*. 24
Abbildung 14: Die für die Lockversuche verwendete Versuchsröhre. 26
Abbildung 15: Klimakammer mit Versuchsröhren. 28
Abbildung 16: Beprobungsschema Röhre Brache. 29
Abbildung 17: Versuchseimer (A) mit Ventilen (B). 30
Abbildung 18: Gasmessung über Plastikschläuche. 32
Abbildung 19: Ablauf der Befüllung der Eimer: (A) 5 kg Versuchsboden im 30l-Eimer, (B) Zugabe von 10 g Feldboden, (C) Zugabe von Herbie (im Bild) bzw. von Brennnessel. 32
Abbildung 20: Befüllte Versuchseimer (10 l). 33
Abbildung 21: Materialmenge von Herbie (l. im B.) und Brennnesselblattmaterial (r. im B.). (A) 30 g; (B) 3 g; (C) 0,3 g. 33
Abbildung 22: Gasmessgeräte: (A) IMPACT PRO; (B) INNOVA 1412. 34
Abbildung 23: Mikroskopische Aufnahme (A) lebender und (B) toter bzw. unbeweglicher *X. index*. 35
Abbildung 24: Wiederauffindungsrate von *X. index* aus 200 g Boden bei Anwendung verschiedener Extraktionstechniken (Balken stellen Mittelwert ± SD aus n=4 dar). 37

Abbildung 25: Vertikale Verteilung der gefundenen Nematoden (Gesamtzählung aller lebenden und toten Nematoden) in den drei Abschnitten (Oben, Mitte, Unten) der Versuchsröhre nach vier und nach 10 Wochen Versuchslaufzeit (%). 39

Abbildung 26: Vertikale Verteilung der gefundenen Nematoden (Gesamtzählung aller lebenden und toten Nematoden) in den drei Abschnitten (Oben, Mitte, Unten (nochmals unterteilt in Unten_1. Schicht, Unten_2. Schicht, Unten_Inokulationslöcher, Unten_Boden)) der Versuchsröhre Brache nach vier Wochen Versuchslaufzeit (vergrößerte Darstellung des unteren Abschnitts) (%).....40

Abbildung 27: Zeitlicher Verlauf der O_2-Bildung (Vol. %) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).....42

Abbildung 28: Zeitlicher Verlauf der CO_2-Bildung (ppm) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).....43

Abbildung 29: Zeitlicher Verlauf der H_2S-Bildung (ppm) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).....44

Abbildung 30: Zeitlicher Verlauf der N_2O-Bildung (ppm) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).....45

Abbildung 31: Zeitlicher Verlauf der CH_4-Bildung (ppm) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).....45

Abbildung 32: Prozentualer Anteil an unbeweglichen Nematoden nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit bei den Varianten Kontrolle (K), Kontrolle mit luftdurchlässigem Deckel (K_Loch), Herbie (P) und

Brennnessel (BN) (Mittelwerte aus n=5). (Statistische Auswertung nach Student-Newmann-Keuls). 46
Abbildung 33: Prozentualer Anteil an toten Nematoden nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit bei den Varianten Kontrolle (K), Kontrolle mit luftdurchlässigem Deckel (K_Loch), Herbie (P) und Brennnessel (BN) (Mittelwerte aus n=5). (Statistische Auswertung nach Student-Newmann-Keuls). 47
Abbildung 34: Prozentualer Anteil an unbeweglichen Nematoden nach vierwöchiger Versuchslaufzeit bei den Varianten Kontrolle (K), Herbie (P) und Brennnessel (BN) (Mittelwerte aus n=5). (Statistische Auswertung nach Student-Newmann-Keuls). 48
Abbildung 35: Prozentualer Anteil an toten Nematoden nach vierwöchiger Versuchslaufzeit bei den Varianten Kontrolle (K), Herbie (P) und Brennnessel (BN) (Mittelwerte aus n=5). (Statistische Auswertung nach Student-Newmann-Keuls). 49
Abbildung 36: Lineare Korrelation zwischen der CO_2-Konzentration (ppm) nach 192 h und dem Anteil toter Nematoden (%) für Herbie und Brennnessel nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit. 49
Abbildung 37: Lineare Korrelation zwischen der O_2-Konzentration (ppm) nach 192 h und dem Anteil toter Nematoden (%) für Herbie und Brennnessel nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit. 50
Abbildung 38: Lineare Korrelation zwischen der H_2S-Konzentration (ppm) nach 192 h und dem Anteil toter Nematoden (%) für Herbie und Brennnessel nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit. 50

1 Einleitung

1.1 Die Weinrebe und ihre Schädlinge

Die Rebe gehört zu den ältesten Kulturpflanzen der Menschheit (Müller et al., 2008). Schon ca. 7.000 v. Chr. nutzten Menschen in Vorderasien Trauben zur Herstellung von Wein (Müller et al., 2008). Auch in Deutschland besitzt der Weinbau eine lange Geschichte, welche mit den Weinreben (*Vitis vinifera*) begann, die die Römer im 2. Jahrhundert n. Chr. aus Italien mitbrachten (Müller et al., 2008). Seit dieser Zeit gewann der Wein immer größere Beliebtheit, womit eine Intensivierung des Weinanbaus einherging. Heute ist der Weinbau ein wichtiger Zweig der landwirtschaftlichen Produktion. Deutsche Winzer bauen bundesweit auf ca. 100.000 ha Weintrauben an und produzieren jährlich etwas über 9 Mio. Hektoliter Wein und Most (Statistisches Bundesamt, 2005).

Die Rebe gehört zur Ordnung der Kreuzdorngewächse (*Rhamnales*), Familie der Rebengewächse (*Vitaceae*) und Gattung der Reben (*Vitis*) (Abb. 1). Letztere wiederum gliedert sich in zwei Untergattungen, wobei nur die Untergattung der echten Reben (*Euvitis*) für den Weinbau von Bedeutung ist. Die zum Weinbau heute genutzte Kulturrebe (*Vitis vinifera sativa*) ist weltweit verbreitet und umfasst derzeit ca. 10.000 Sorten. Daneben gibt es verschiedene Wildformen der Rebe vor allem im Kaukasus, zwischen dem Schwarzen und Kaspischen Meer (Vogel & Schruft, 2000), die jedoch für den heutigen Weinbau keine Rolle mehr spielen.

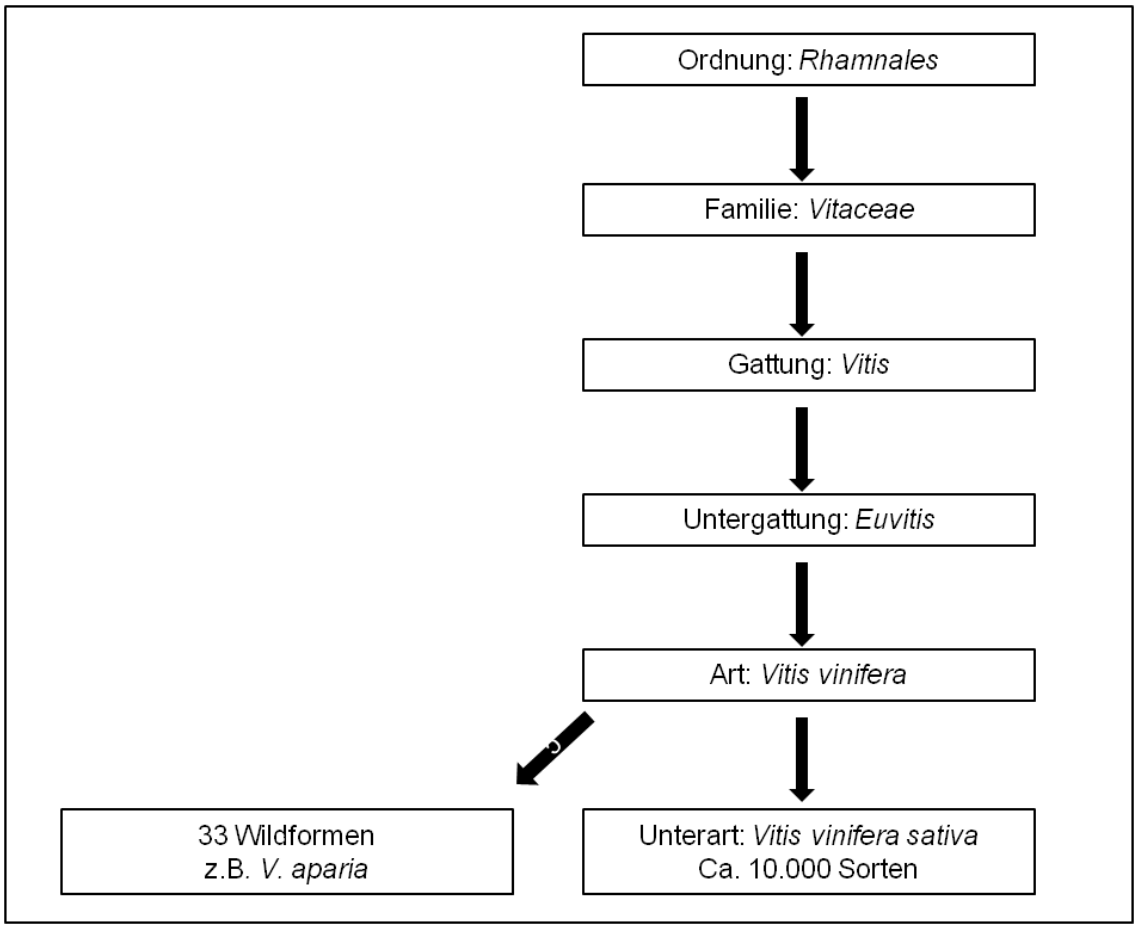

Abbildung 1: Die Stellung der Rebe im botanischen System (nach Müller 2008).

Durch die Intensivierung des Weinbaus nahm auch die Zahl der die Rebe betreffenden Krankheiten und Schädlinge zu (Müller et al., 2008). Im 19. Jahrhundert führten die pilzlichen Erreger Peronospora (*Plasmopara viticola*) und der Echte Mehltau (*Uncinula necator*) sowie ein tierischer Schädling, die Reblaus (*Daktulosphaira vitifoliae*), zu immensen wirtschaftlichen Schäden (Agrios, 2005). In manchen Regionen Europas brach der Weinbau fast gänzlich zusammen. In Folge dessen entwickelten und entwickeln Winzer Pflanzenschutzmethoden, um ihre Reben besser vor Pathogenen und Schädlingen zu schützen (siehe Kap. 1.4).

Unter den zahlreichen Pathogenen, von der Reben befallen werden, sind auch Viruserkrankungen zu finden. Diese können, wie bei allen von Viren betroffenen Kulturpflanzen, z.T. zu einer erheblichen Minderung der Qualität sowie zu hohen Ertragsverlusten führen (Agrios, 2005). Die wichtigste Virose an der Rebe ist das Grapevine Fanleaf Virus (GFLV) (Raski et al., 1983) (siehe Kap. 1.2). Da Viren unbeweglich sind, benötigen sie einen Vektor, um die Rebe zu infizieren. Im Falle des GFLV ist dies die Nematode *Xiphinema index* (siehe Kap. 1.3). Sie überträgt den Virus bei der Nahrungsaufnahme und trägt somit entscheidend zur Verbreitung dieser Virose bei.

1.2 Das Grapevine Fanleaf Virus (GFLV)

Schon 1882 stellte Rathay fest, dass auf Flächen mit virösen Reben auch nachfolgend gesetzte Pflanzen rasch erkrankten (Rathay, 1889). Damit wurde wohl der erste Bericht über GFLV (Abb. 2) erbracht.

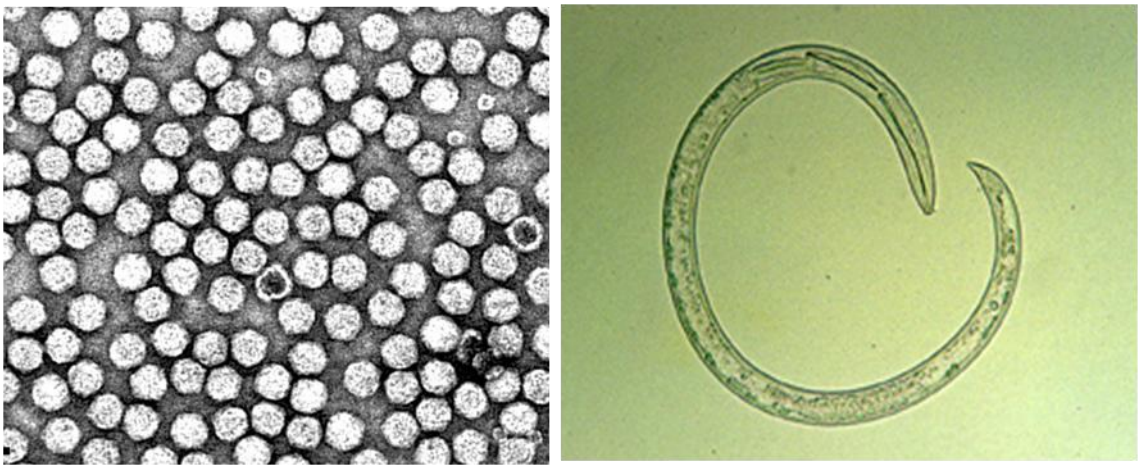

Abbildung 2: Das Grapevine Fanleaf Virus und sein Vektor *X. index*.

Das GFLV ist Teil eines Rebvirosen-Komplexes, an dem mehrere von Nematoden (Abb. 2) übertragende Viren beteiligt sind. In diesem Komplex stellt das GFLV den wirtschaftlich bedeutsamsten Virus dar (Andret-Link et al., 2004). Daneben ist der Arabis Mosaic Virus der am häufigsten auftretende Virus in diesem Komplex (Laimer et al., 2009). Andere Viren des Komplexes spielen wirtschaftlich keine bedeutende Rolle. Im deutschsprachigen Raum wird dieser Komplex „Reisigkrankheit“ genannt.
Der GFLV gehört zum Stamm der Nepoviren und zur Familie der Comoviren (Drews et al. 2004). Das Virus ist ein isometrischer Partikel mit einem Durchmesser von ca. 28 μm. Es besitzt ein zweiteilig segmentiertes Genom aus zwei nicht komplementären, positiv gerichteten RNA-Strängen (Quacquarelli et al., 1976; Taylor & Brown, 1997). Für eine Infektion sind beide RNA-Stränge erforderlich (Quacquarelli et al., 1976).

1.2.1 Symptome

Die Symptome, die sich im Zuge der Erkrankung zeigen, sind sehr variabel und stark von der Rebsorte, der Lage des Weinberges und den herrschenden Umweltbedingungen abhängig (Taylor & Brown, 1997).

Direkt nach der Infektion der Rebenpflanze zeigen sich meist keine Symptome. Diese sind erst im Folgejahr zu beobachten (Taylor & Brown, 1997). Typische Symptome

sind gestauchte Triebe, vermindertes Wachstum der Rebe, Verfärbungen auf den Blättern und Verrieselung der Trauben (Martelli & Savino, 1990). Die Verfärbungen auf den Blättern zeigen sich häufig als Mosaikmuster aus gelblichen Flecken (Andret-Link et al., 2004). Die Verrieselung, welche den wirtschaftlich größten Schaden darstellt, entsteht durch eine mangelnde Fruchtstandbildung (Martelli & Savino, 1991). Die Verteilung der Erkrankung im Weinberg zeigt meist eine herdförmige Ausprägung. Dies ist auf die begrenzte Bewegungsreichweite des Vektors zurückzuführen (Andret-Link et al., 2004). Die Symptome, die durch das GFLV an der Rebe verursacht werden, sind in Abbildung 3 dargestellt.

Abbildung 3: Symptome der durch das GFLV verursachten Reisigkrankheit an Reben. (A) Vermindertes Wachstum von Reben; (B) Verfärbung der Blätter; (C) Verrieselung der Traube durch mangelhafte Fruchtstandbildung; (D) herdförmige Ausbreitung der Krankheit (PPO-agv Lelystad).

Zudem werden durch die Erkrankung für den Wein wichtige Inhaltstoffe, wie Kohlenhydrate oder tritriebare Säure, nur in geringerem Maße von den Trauben produziert, was die Fruchtqualität reduziert (Andret-Link et al., 2004). Eine langjährige Infektion mit dem Virus (> 10 Jahre) kann zum Absterben der Rebe führen (Vogt & Schruft, 2000).

1.2.2 Schäden und Ausbreitung

Die normale Produktionsdauer einer Weinrebe, welche zwischen 30-40 Jahren liegt, wird durch den Virus auf 15-20 Jahre halbiert (Andret-Link et al., 2004). In Abhängigkeit von der Virulenz, der Rebsorte und den herrschenden Umweltbedingungen kann der Ertragsausfall zwischen 10% und 80% betragen (Bovey et al., 1990). In Einzelfällen war sogar ein Totalausfall der Ernte zu beobachten (Raski et al., 1983).

Die Reisigkrankheit gilt als die schwerste Viruserkrankung an der Rebe (Raski et al., 1983). Die größten Schäden wurden in den gemäßigten Breiten an *V. vinifera* und dessen Hybriden beobachtet (Andret-Link et al., 2004). Wie auch bei vielen anderen Krankheitserregern konnte der Virus den Menschen als "Vektor" nutzen und sich weltweit in jedem Weinbaugebiet ausbreiten (Agrios, 2005). Die Funktion als Vektor übernimmt der Winzer durch Tätigkeiten wie das Pfropfen und den Austausch von Zuchtmaterial. Allerdings gelang es durch umfassende Maßnahmen, die weitere Ausbreitung stark zu vermindern. Besonders die Zertifizierung des Vermehrungsgutes und Quarantänemaßnahmen bei Krankheitsbefall leisteten hier einen großen Beitrag zur Eindämmung der Krankheit (Lamberti, 1981). Doch gänzlich aufgehalten werden konnte die Ausbreitung bislang nicht. Große Probleme bestehen in natürlich verseuchten Weinbergen, wo effiziente Managementmethoden fehlen (Andret-Link et al., 2004). So hat sich das Virus in einzelnen Regionen, wie z.B. der Champagne, auf 6% der totalen Anbaufläche ausgebreitet (Andret-Link et al., 2004).

Da Viren unbeweglich sind, können sie nicht selbstständig neue Pflanzen infizieren. Dies gilt auch für den GFLV (Agrios, 2005). Darum ist das Virus an einen Vektor gebunden. Als Vektor fungieren häufig Insekten, aber auch Nematoden. Zudem ist bekannt, dass auch auf mechanischem Wege, d.h. durch Pfropfung oder den Gebrauch von Pflanzenpresssaft, eine Übertragung des Virus möglich ist.

In der Natur scheint *V. vinifera* der Hauptwirt des Virus zu sein (Agrios, 2005). Wenige andere Wirte konnten nur experimentell, z.B. durch die Verwendung von virushaltigem Presssaft, infiziert werden (Izadpanah et al., 2003). Zu diesen Pflanzen zählen z.B. *Chenopodium album* (Dias, 1963), *Cucumis sativus* (Dias, 1963), *Nicotina rustica* (Coiro & Serino, 1991) oder *Solanum lycopersicum* (Cotton, 1973). Allerdings ist anzunehmen, dass auch andere Pflanzen, darunter verschiedene Beikräuter, als Viruswirt fungieren können (Horvath et. al., 1994; Izadpanah et al., 2003).

1.3 Nematoden im Weinbau

1.3.1 Nematoda

Nematoden (Fadenwürmer) sind unsegmentierte Würmer, die ohne Mikroskop nur schwer wahrnehmbar sind (0,1–3 mm) (Jones et al., 2011). Sie sind die individuenreichste Gruppe des Tierreichs; vier von fünf Metazoen sind Nematoden. Bislang konnten ca. 27.000 Arten beschrieben werden (Jones et al., 2011). Die meisten Nematoden leben im Boden, wo sie ein wichtiger Bestandteil des Bodenökosystems sind (Yeates, 1979). Anzahlen von mehreren tausend Individuen pro 100 ml Boden sind keine Seltenheit. Als Nahrungsquelle dienen ihnen vornehmlich Bakterien und Pilze, womit sie u.a. wichtige Prozesse wie die Mineralisierung in Gang halten (Jones et al., 2011). Andere Nematodenarten haben räuberische Lebensstrategien entwickelt, d.h. sie fressen andere mehrzellige Bodenorganismen. Wiederum andere Arten ernähren sich omnivor.

Abbildung 4: Pflanzenparasitäre Nematoden (erkennbar am Mundstachel (A)) und typische qualitative Schäden.

Daneben gibt es jedoch auch phytophage Nematoden, die an Wurzeln von Wirtspflanzen leben (Whitehead, 1998). Von den 27.000 beschriebenen Arten sind dies ca. 4.000. Mit ihrem Mundstachel stechen sie Pflanzenzellen an und saugen diese aus (Abb. 4). Sie untergliedern sich in ekto- und endoparasitär lebende Arten. Die erstgenannten verbringen ihren gesamten Lebenszyklus außerhalb des Pflanzengewebes, während die zweitgennannten zumindest einen Lebensabschnitt im Pflanzengewebe

verbringen (Whitehead, 1998). Mit geschätzten Schäden von ca. 80 Mrd. US$/Jahr zählen Nematoden zu den bedeutendsten Pflanzenschädlingen (Agrios, 2005). Allerdings bleibt die Ursache dieser Schäden in der Praxis auch heute noch häufig unerkannt oder wird mit anderen Ursachen wie Nährstoffmangel verwechselt.

1.3.2 Phytoparasitäre Nematoden im Weinbau

Ungefähr 300 Nematodenarten sind an Weinreben zu finden (Bello et al., 2004). Wirtschaftlich bedeutend sind hier vor allem die Wurzelgallennematoden (*Meloidogyne* spp.), Wurzelläsionsnematoden (*Pratylenchus* spp.) und die schon erwähnten Virusüberträger (z.B. *Xiphinema* spp. *Longidorus*, *Paralongidorus*) (Bello et al., 2004; Greco & Esmenjaud, 2004). Bei den Letztgenannten entsteht der Schaden nahezu ausschließlich durch den Virus. Der direkte Schaden durch die Saugtätigkeit der Nematoden ist zu vernachlässigen. Von den 4.000 erwähnten phytophagen Nematoden sind ca. 30 Arten Virenüberträger (Chen, 2004). Die weltweit größten Probleme verursacht der GFLV, welcher von der Nematode *X. index* übertragen wird (siehe Kap. 1.1).

1.3.3 *Xiphinema index*

Die Gattung *Xiphinema* gehört zu der Ordnung Dorylaimida, Familie *Longidoridae*, in der auch die Gattungen *Longidorus*, *Paralongidorus*, *Xiphidorus* und *Longidoroides* zu finden sind (Taylor & Brown, 1997). Für die Landwirtschaft von Bedeutung sind *Xiphinema*, *Longidorus*, *Paralongidorus*, da diese Virenüberträger sind (Taylor & Brown, 1997). Die Gattung *Xiphinema* gehört zu den wandernden, ektoparasitischen Nematoden (Sijmons, 1993). Somit dringt sie nicht ins Wurzelgewebe ein, sondern sticht dieses nur von außen mit ihrem Mundstachel an, um den Zellinhalt auszusaugen. Zudem bleibt sie während ihres gesamten Lebenszyklus mobil.

In der Natur stellt die Rebe den bei weitem wichtigsten Wirt von *X. index* dar (Andret-Link et al., 2004). Daneben konnten in Gewächshausversuchen auch andere Wirte nachgewiesen werden (Coiro & Brown, 1982; Brown & Corio, 1985; Corio et al., 1990, Corio & Serino, 1991). Unter kontrollierten Bedingungen scheint die Feige (*Ficus carica*), gemessen an der Reproduktionsrate der Nematode, einer der besten Wirte zu sein (Brown & Corio, 1985).

X. index ist mit einer Körperlänge von bis zu 3 mm eine vergleichsweise große Nematode. Die Art vermehrt sich fast ausschließlich parthenogenetisch (Raski et al., 1983), d.h., dass Weibchen Eier ablegen ohne von einem Männchen befruchtet worden zu

sein. Männchen kommen bei dieser Art nur sehr selten vor (Siddiqi, 1974). *X. index* durchläuft in seiner Entwicklung vier Larvenstadien. Sowohl die Temperatur als auch die Wirtspflanze beeinflussen dabei die Entwicklungsdauer (Coiro & Brown, 1982; Corio et al., 1990; Coiro et al., 1991). Unter Gewächshausbedingungen konnte eine Entwicklungszeit von ca. 3 Wochen (Radewald & Raski, 1962) bis zu 9 Monaten (Cohn & Mordechai, 1969) beobachtet werden.

Die Verteilung von *X. index* im Boden ist nicht vollständig geklärt. So wurde eine hohe Populationsdichte in Tiefen zwischen 10-90 cm gefunden (Villate et al., 2008), jedoch konnte *X. index* ebenfalls in Tiefen zwischen 3,5 m und 4 m entdeckt werden (Demangeat et al., 2005; Villate et al., 2008). Sowohl die Verteilung im Boden, als auch die Populationsdichten, die in verschiedenen Tiefen erreicht werden, sind von den Bodeneigenschaften (z.B. Korngröße und pH-Wert) und von der Art der Bodenbehandlung abhängig (Villate et al., 2008).

Ein großes Problem für die Bekämpfung von *X. index* ergibt sich aus dem langen Zeitraum, in dem sie im Boden überleben kann. So konnten auf einem brachliegenden Weinberg noch nach 4,5 Jahren lebende Individuen von *X. index* gefunden werden (Demangeat et al., 2005). Vermutlich ist dies durch im Boden verbliebener Wurzelstücke der Rebstöcke möglich, die der Nematode als Nahrung dienen (Demangeat et al., 2005).

Als Lebensraum bevorzugt *X. index* eher leichte, sandige Böden (Sultan & Ferris, 1991), kann aber auch in schweren Böden gefunden werden (Philis, 1993). Die Überlebensrate sinkt rapide auf sehr nassen oder sehr trockenen Böden (Sultan & Ferris, 1991). Zu finden ist *X. index* weltweit in allen Weinbaugebieten (Radewald & Raski, 1962).

1958 gelang es W.B. Hewitt, *X. index* als Vektor des Grapevine Fanleaf Virus zu identifizieren (Hewitt et al., 1958). Dies war der erste wissenschaftliche Beweis dafür, dass ein Pflanzenvirus durch Nematoden übertragen wird. Charakteristisch für die Übertragung von Viren durch Nematoden ist die enge Bindung zwischen *X. index* und dem Virus. Das heißt, dass in der Natur nur *X. index* in der Lage ist, den Virus von einer Rebe auf eine andere Rebe zu übertragen (Spiegel et al., 1983). Lediglich in Laborversuchen gelang es auch *Xiphinema italiae* als Vektor zu nutzen (Cohn & Mordechai, 1970).

X. index infiziert sich während des Saugens an Wurzeln bereits viröser Reben. Die Viruspartikel heften sich an spezifische Rezeptoren im Nahrungsapparat (Ösophagus) der Nematode (Andret-Link et al., 2004). Diese spezifische Bindung ist auch der Grund für die sehr enge Bindung zwischen Nematode und dem von ihr übertragenen Virus (Brown & Corio, 1985). Auf der kutikulären Oberfläche des Ösophagus bilden Viruspar-

tikel so in kurzer Zeit eine sog. Monolayer aus. In aller Regel dauert diese Übertragung nur wenige Minuten (Das & Raski, 1968). Infizierte Tiere geben dann über den Speichel Viruspartikel an Pflanzen weiter. Nach jeder Häutung verliert die Nematode den Virus wieder, da jegliche kutikuläre Oberfläche abgestoßen wird (Taylor & Robertson, 1970). Beim Saugen an einer vom Virus befallenen Pflanze kann sich das Tier abermals mit dem Virus infizieren (Taylor & Robertson, 1970). Der Virus kann nicht auf die Eier übertragen werden (Taylor & Raski, 1964).

Es ist wenig bekannt darüber, wie lange *X. index* im Boden überleben kann und infektiös bleibt (Andret-Link et al., 2004). Virusbeladene *X. index*, welche in feuchtem sterilen Boden gehalten wurden, waren in der Lage, noch nach 8 Monaten den Virus zu übertragen (Taylor & Robertson 1964). In einer neueren Arbeit (Demangeat et al., 2005) konnte das GFLV noch in *X. index* nachgewiesen, welche 4 Jahre lang im Labor ohne Wirtspflanze gelagert waren. Die lange Lebensdauer von *X. index* (4,5 Jahre) und die lange Zeit, in der der Virus in der Nematode verbleiben kann (bis zu 4 Jahre), stellen ein großes Problem für den Pflanzenschutz dar.

1.3.4 Nematoden-Orientierung

Zur Orientierung besitzen Nematoden Chemo-, Thermo-, und Mechanorezeptoren, mit denen sie sowohl Geschlechtspartner, ihre Umwelt, als auch Pflanzen wahrnehmen können (Perry & Wright, 2004). Diese Rezeptoren befinden sich in den Sensillen, die sowohl in der Kopfregion (die Amphiden) als auch am hinteren Teil des Körpers (die Phasmiden) lokalisiert sind. In der Wissenschaft ist recht wenig bekannt über den Bau und die genaue Funktionsweise der Chemorezeptoren und, damit verbunden, auch über das Auffinden von Wirten (Perry, 1996). Dass Pflanzenwurzeln auf pflanzenparasitäre Nematoden anlockend wirken, gilt allerdings als bewiesen (Perry, 1996; Perry & Wright, 2004). Da Nematoden, mit Ausnahme von Dauerstadien, zum Überleben und um sich fortzubewegen einen Wasserfilm benötigen, dienen ihnen ausschließlich wasserlösliche Stoffe zur Nahrungssuche. Diese werden von der Pflanzenwurzel, insbesondere in der Haarwurzelzone, abgegeben (Wurzelexudate) (Schopfer & Brennicke, 2010). Ferner sind Nematoden in der Lage, mit ihren Chemorezeptoren CO_2-Gradienten wahrzunehmen, anhand derer sie lebende Nahrung lokalisieren können (Spence et al., 2008). Bei der Auffindung von Nahrungsquellen dient vermutlich CO_2 zur Langstreckenorientierung und Stoffwechselprodukte der Wurzel zur Kurzstreckenorientierung (Spence et al., 2008). Diese Stoffe können eine erhebliche Attraktivität auf die Tiere ausüben (Börner & Schlüter, 2009). So genügte in Versuchen bereits eine einzige Wurzelfaser, um Nematoden aus bis zu einem Meter Abstand anzulocken,

während ganze Wurzelsysteme bis zu zwei Meter weit lockten (Dusenbery, 1987). Weitere, gerade im Nahbereich genutzte Gradienten stellen die Temperatur und der pH-Wert da (Perry & Wright, 2004).

1.4 Management von *Xiphinema index*

Im Pflanzenschutz kommen zahlreiche Methoden der Nematoden-Bekämpfung zum Einsatz. Diese werden in der Regel in physikalische, chemische, biologische, biotechnische oder kulturtechnische Maßnahmen unterteilt. In der Praxis finden sich zumeist Kombinationen verschiedener Methoden (Perry, 1996; Whitehead, 1998).

Unverzichtbar, um die Ausbreitung sowohl des Virus als auch von *X. index* erfolgreich zu kontrollieren, sind der Einsatz von **zertifiziertem Pflanzgut**, das Einhalten von **Hygienemaßnahmen** (besonders im Bereich der Maschinen) und eine **gute landwirtschaftliche Praxis** (Bello et al., 2004).

Haben sich *X. index* und der Virus sich erst einmal etabliert, ist ein Management mit großen Schwierigkeiten verbunden. Die momentan eingesetzten Methoden zielen auf die völlige Beseitigung der Nematode ab (Raski et al., 1983; Demangeat et al., 2005). Diese ist aus epidemiologischen Gründen notwendig (Lamberti, 1981), da eine einzige infektiöse Nematode genügt, um eine gesunde Rebe zu infizieren. An dieser können sich dann weitere Nematoden mit dem Virus beladen und so die Virose weiterverbreiten.

In den letzten Jahren konnten im Bereich der Gentechnik große Fortschritte vollbracht werden. So wurde z.B. die Sequenzierung von Schaderregern wie dem GFLV vorangetrieben und das gewonnene Wissen eröffnet immer neue Wege, diese zu bekämpfen (Laimer et al., 2009; Lucas, 2011). **Widerstandsfähige Reben**, welche entweder eine Immunität oder eine Toleranz gegenüber dem GFLV zeigen, könnten einen großen Beitrag dazu leisten, den Einsatz chemischer Mittel stark zu senken. Sie wären die ideale Form des prophylaktischen Pflanzenschutzes (Laimer et al., 2009). Dennoch blieben wesentliche Probleme weiter bestehen. Besonders bei Pflanzenviren würde eine Toleranz nicht ausreichen, denn der Virus könnte sich weiterhin in der Rebe entwickeln. Die Rebe selbst würde dabei zwar keinen nennenswerten Schaden nehmen, solche Pflanzen stellen allerdings Infektionsquellen dar und durch sie könnten benachbarte Flächen verseucht werden. Deshalb wäre es unabdingbar, resistente oder immune Reben zu entwickeln. Bisher konnte die Wissenschaft jedoch noch keine natürliche Resistenz gegen den GFLV finden bzw. nur in Reben die wirtschaftlich nicht von Bedeutung sind (Laimer et al., 2009). Und auch in diesen ist die Resistenz nicht vollstän-

dig ausgeprägt. In jüngster Zeit hatte die INRA Versuche mit resistenten Reben unternommen, doch wurden die Versuchspflanzen von Unbekannten zerstört (The Local Monitoring Committee et al., 2010). So konnte bis heute keine Aussage über die Resistenz in den verwendeten Reben gemacht werden. Die Zerstörung der gentechnisch veränderten Versuchsreben verdeutlicht den in weiten Teilen der Bevölkerung vorhandenen Widerwillen gegen Gentechnik. Diese fehlende Akzeptanz stellt eines der wesentlichen Argumente gegen dieser Methode dar (Laimer et al., 2009) und erhöht den Bedarf an einer Methode ohne Gentechnik.

Für eine viröse Pflanze kommt meist nur die **Rodung** in Frage (Bello et al., 2004). Im Anschluss wird auf den betroffenen Fläche entweder eine **Bodenumlagerung** vorgenommen und/oder ein **Nematizid** eingesetzt. In der Vergangenheit kamen meist Organoposphate und Carbamate zum Einsatz (Taylor & Brown, 1997). Diese besitzen allerdings etliche Nachteile. Zum einen zeigen sie eine schlechte Verteilung im Boden, wodurch nicht alle Nematoden erreicht werden. Bei *X. index* kommt das Problem hinzu, dass die Tiere in einer Tiefe von mehreren Metern leben können und damit noch schwerer von einem Wirkstoff erreicht werden. Zum anderen sind die meisten Nematizide nicht nur hoch toxisch, sondern auch wenig selektiv. Sie stellen sowohl für die menschliche Gesundheit als auch das Bodenökosystem ein großes Risiko dar (Abawi & Widmer, 2000; Chitwood, 2002). Gegen Nematizide spricht zudem deren meist nur vorübergehende Wirkung (Taylor & Brown, 1997). So können neue Nematoden nach einer Behandlung entweder aus tieferen Bodenschichten oder Nachbarflächen erneut einwandern (Taylor & Brown, 1997). Es waren im Wesentlichen diese Nachteile, die zu einem weitgehenden Nematizidverbot im europäischen Weinbau führten (Andret-Link et al., 2004). Der momentane Trend lässt vermuten, dass auch in Zukunft nur sehr wenige chemische Mittel zur Nematodenbekämpfung zur Verfügung stehen werden (Chitwood, 2002).

Alternativ zum Einsatz chemischer Mittel kann eine **mehrjährige Brache** durchgeführt werden (Raski et al., 1984; Demangeat et al., 2005). Im Weinbau sind Zeiträume von 1-2 Jahren üblich (Andret-Link et al., 2004). Allerdings ist dies wegen der Langlebigkeit von *X. index* nicht zielführend. Um den Weinberg nachhaltig von den Nematoden zu befreien, wird hier eine Brache von bis zu 10 Jahren empfohlen (Andret-Link et al., 2004). Zum anderen besteht auch hier die Gefahr, dass infektiöse Tiere aus Nachbarflächen einwandern (Vogt & Schruft, 2000).

Eine weitere Möglichkeit des Nematodenmanagements könnte der **Anbau von Feindpflanzen** sein. In der Praxis werden schon heute nematizide Pflanzen in die Fruchtfolge integriert, um phytopathogene Nematoden zu verringern. Hierzu wird in unseren Breiten vor allem die Studentenblume (*Tagetes patula*) genutzt (Chitwood, 2002). Die-

se Pflanze wirkt aber ausschließlich gegen endoparasitäre Arten und ist daher nicht geeignet um *X. index* zu bekämpfen. So zeigen Aballay et al. (2004), dass der Anbau und die Einarbeitung von *Tagetes patula* keine Wirkung gegen *X. index* haben. Bessere Ergebnisse konnten mit der **Biofumigation** erzielt werden, bei der glukosinolathaltige Pflanzen (Brassicaceae) zum Einsatz kommen. Hier konnte eine Reduktion der Population um 40% erreicht werden (Aballay et al., 2004). Dies ist allerdings nicht ausreichend, um Schäden langfristig abzuwenden.

1.4.1 Biologische Bodenentseuchung (BSD)

In den Niederlanden und Japan wurde in den vergangenen Jahren ein weiteres Verfahren entwickelt, die biologische Bodenentseuchung (biological soil disinfestation, BSD) (Blok et al., 2000; Momma, 2008). Hierbei wird dem Boden zunächst organisches Material (z.B. Pflanzenreste) zugefügt, der Boden anschließend bewässert und dann mit einer luftdichten Folie für 4-8 Wochen abgedeckt. Der nachfolgend durch die Mikroflora eingeleitete Abbauprozess (Fermentation) führt zunächst zu Anaerobie und im weiteren Ablauf zur Formung einer ganzen Reihe toxischer Stoffe (Abb. 5).

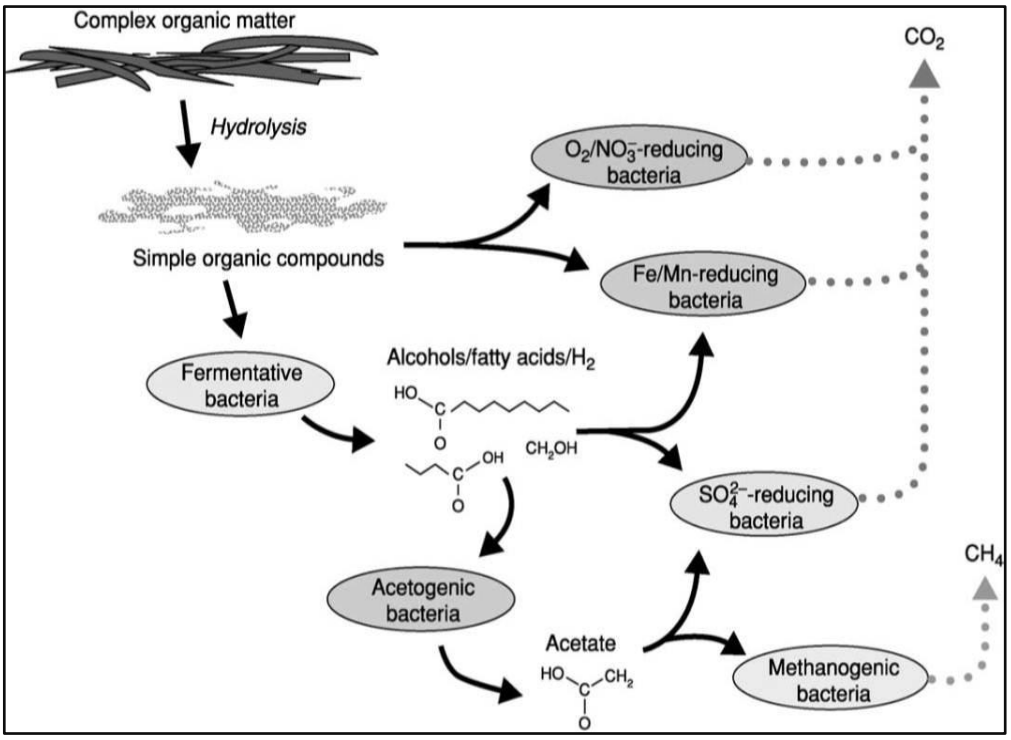

Abbildung 5: Schematische Darstellung der ablaufenden Prozesse während der biologischen Bodenentseuchung.

Hierzu zählen neben ammoniakalischen und schwefelhaltigen Verbindungen wie Ammoniak oder Lachgas auch organische Fettsäuren (Butter-, Essig-, Ameisensäure). Die Effizienz gegenüber verschiedenen Krankheitserregern und Pflanzenschädlingen wie Nematoden konnte in mehreren Arbeiten gezeigt werden (Banage & Visser, 1965; Rodriguez Kabana et al., 1965; Malik, 1984; Chitwood, 2002; Momma et al., 2006; Oka, 2010).

1.4.2 Anlockung von Schädlingen

In der Praxis kann es häufig von Vorteil sein, wenn Schädlinge erst durch den Menschen angelockt werden, um sie am Ort der Anlockung zu bekämpfen. Somit können Schaderreger erreicht werden, die entweder nur in geringen Populationsgrößen vorkommen oder sehr versteckt leben (z.B. tief im Boden). Zum anderen kann durch die Konzentration der Schaderregers auf einen bestimmten Ort der Mitteleinsatz zur Bekämpfung stark reduziert werden (El-Sayed et al., 2009).

Ein solches Vorgehen wird „To lure and kill“-Methode genannt. Darunter wird ein biotechnisches Verfahren verstanden, bei dem Insekten mit Semiochemikalien angelockt werden, um sie am Ort der Anlockung zu bekämpfen. Bei Semiochemikalien handelt es sich um Pheromone oder Nahrungslockstoffe. Auch die Anlockung durch die lebende Pflanze, also durch z.B. in der Wurzel synthetisierte Stoffe, kann zum Einsatz kommen. In der Natur nutzen die Tiere diese Stoffe um ihre Nahrungsquelle zu finden. Immer mehr dieser Lockstoffe wurden in den letzten Jahren identifiziert und können zum Teil auch bereits synthetisch hergestellt werden.

Die Kombination von Anlockung und Bekämpfung hat sich in der Praxis bereits bewährt (El-Sayed et al., 2009), beispielsweise bei der Bekämpfung der Mittelmeerfruchtfliege (*Ceratitis capitata*). Auch bei Nematoden könnte ein solcher Ansatz Anwendung finden. So könnten diese mit Wirtspflanzen in eine Bodenschicht gelockt werden, in der eine Bekämpfung möglich ist. Besonders bei Arten, die tief im Boden leben wie *X. index*, wäre dies ein großer Vorteil. Eine ähnliche Methode ist der Einsatz von Fangpflanzen, bei denen Nematoden durch diese angelockt werden und die befallene Pflanzen dann mit Herbiziden zum Absterben gebracht wird (Halbrendt & LaMondia, 2004).

1.5 Ziele

Derzeit haben Winzer kein wirksames Werkzeug, um *X. index* und damit auch das GVFL zurückzudrängen (Andret-Link et al., 2004). Ein häufig diskutierter Lösungsansatz, zu dem viele keine Alternative sehen, könnte die Pflanzung virusresistenter bzw. immuner Reben sein (Andret-Link et al., 2004). Allerdings konnte bisher keine Quelle einer natürlichen Resistenz in Reben gefunden werden (Laimar et al., 2009) und die Akzeptanz der Verbraucher und Produzenten gegenüber der Gentechnik ist z.T. sehr gering (The Local Monitoring Committee et al., 2010). Zudem kommt es häufig vor, dass eine Resistenz durchbrochen wird, was es fraglich macht, ob dieses Vorgehen alleine eine Lösung darstellt.

Daneben wäre es auch vorstellbar, die gesamte *Xiphinema*-Population auszuschalten, und somit dem Virus den Vektor zu entziehen. Eine solche Methode zu entwickeln, ist allerdings äußerst schwierig, da, wie angesprochen, zwei Herausforderungen gemeistert werden müssen:

1) Zunächst muss *Xiphinema* aus den tiefen Bodenschichten nach oben gelockt werden, um eine Bekämpfung zu ermöglichen.
2) Daran anschließend muss die Bekämpfung so effektiv sein, dass die gesamte *Xiphinema*-Population abgetötet wird.

Gelingt es, eine Methode zu entwickeln, die diese Anforderungen erfüllt, wäre die Grundlage eines effizienten und nachhaltigen Managements gelegt.

„To lure and kill“ („Anlocken und Töten“) ist ein Ansatz, der bereits erfolgreich bei Insekten verfolgt wird (El-Sayed et al., 2009). In der Nematologie wird ein solches Verfahren bislang nicht direkt genutzt. Allerdings werden auch dort Nematoden z.B. durch Fangpflanzen angelockt und anschließend abgetötet, indem befallene Pflanzen durch ein Herbizid vernichtet werden.

Ziel dieser Arbeit ist es, eine "To lure and kill"-Methode für *X. index* zu entwickeln, die die genannten Anforderungen erfüllt. Hierzu ist es nötig, Teilziele zu identifizieren:

1) Da bereits eine einzige Nematode genügt, um einen Weinberg zu infizieren, ist es äußerst wichtig, dass bei der Nematodenbekämpfung die komplette Population ausgeschaltet wird. Um die Effizienz einer Bekämpfungsmaßnahme zu überprüfen, muss zunächst eine Methode gefunden werden, mit der die höchstmögliche Anzahl an Tieren aus dem Boden extrahiert werden kann. Hierzu wird ein Versuch angesetzt, bei dem sowohl die Extraktionseffizienz, die Reproduzierbarkeit, als auch der Arbeitsaufwand verschiedener Extraktionsverfahren verglichen werden.

2) Im Anschluss wird ein Versuchsdesign entwickelt, mit welchem die Lockversuche so realitätsnah wie möglich durchgeführt werden.
3) Daneben wird untersucht, inwieweit sich das Verfahren der biologischen Bodenentseuchung eignet, um *X. index* zu bekämpfen.

2 Material und Methoden

2.1 Die Nematode *Xiphinema index*

2.1.1 Zucht von *Xiphinema index*

Da die PPO-agv zu Beginn der Versuche über keine eigene Population von *X. index* verfügte, wurde eine entsprechende Zucht angelegt. Die Ausgangspopulation wurde vom Staatlichen Weinbauinstitut Freiburg zur Verfügung gestellt. Es handelte sich um einen *X. index*-Population des "Institut national de la recherche agronomique" (INRA) aus Colmar. Die Zucht fand an *Ficus carica* (Feige) statt, da *X. index* an dieser Pflanze die höchste Vermehrungsrate zeigt (Brown & Corio, 1985).

2.1.2 Identifikation von *Xiphinema index*

Die Identifikation der Nematoden erfolgte mikroskopisch, unter Zuhilfenahme des morphologischen Bestimmungsschlüssels von Bongers (Bongers, 1994). Zunächst wurde unter einem Binokular das Vorhandensein eines Mundstachels/Speers geprüft. Mithilfe eines Pferdehaares, welches an einem Holzstäbchen befestigt war, wurden größere, stacheltragende Nematoden aus der Suspension gefischt. In einem Wassertropfen wurden sie anschließend zur weiteren Bestimmung auf einen Objektträger überführt und anschließend unter dem Mikroskop (Zeiss Axioskop 40) determiniert Eine Unterscheidung zu anderen pflanzenparasitären Nematoden erfolgte v.a. anhand der Länge des Mundstachels (Speers) und der Schwanzregion (Abb. 6). *X. index* besitzt ein typische Spitze am Schwanzende. Auch die Körperlänge und -form, als wichtige Erkennungsmerkmale, wurde in die Bestimmung mit einbezogen.

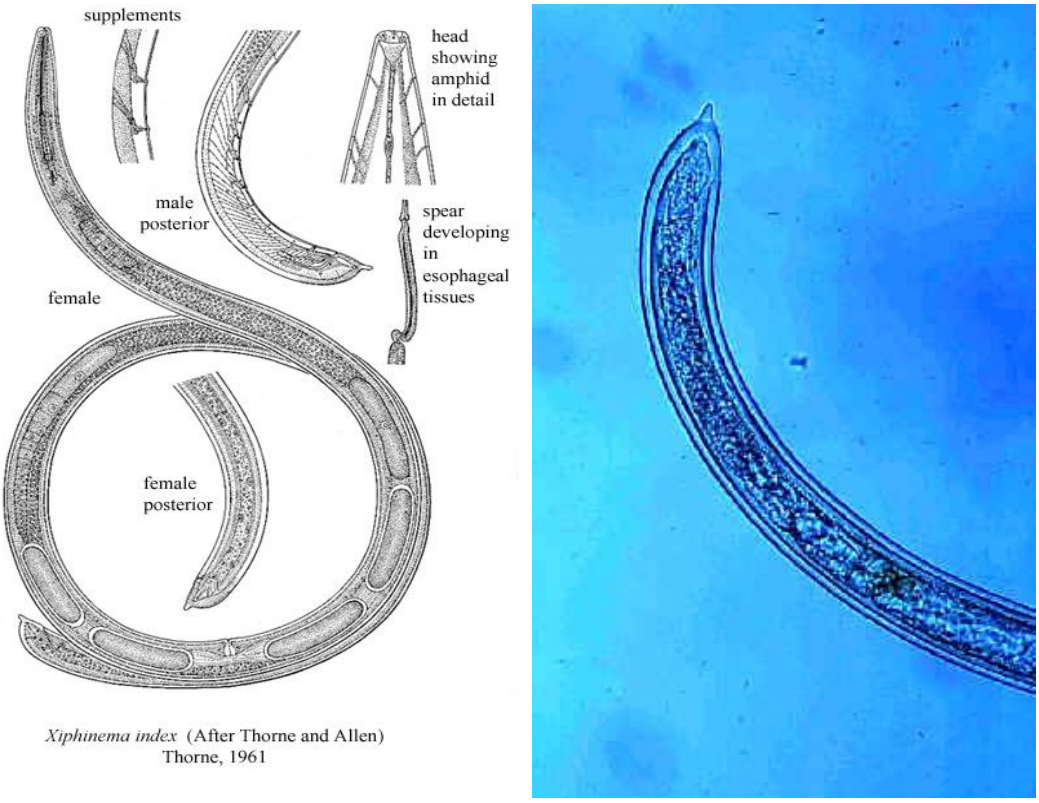

Abbildung 6: Morphologie und Schwanzregion von *X. index*.

2.2 Pflanzenmaterial

2.2.1 Zuchtpflanze *Ficus carica*

Die Nematodenzucht fand an vom Staatlichen Weinbauinstitut Freiburg bereitgestellten Feigenbäumen statt. Die Pflanzen standen einen Monat in einem 10l-Topf mit einem Gemisch aus $^1/_3$ Sand und $^2/_3$ Pflanzerde bei ausreichender Feuchtigkeit. Um das Wachstum anzuregen, wurden sie nach diesem Monat in 20l-Töpfe umgesetzt. Das Bodengemisch wurde hierbei mit reinem Versuchsboden (siehe Kap. 2.3) aufgefüllt.
Zunächst standen die Pflanzen für zwei Monate in einem nicht klimatisierten Abteil des institutseigenen Gewächshauses, in welchem die Temperaturen allerdings die 40°C-Grenze erreichten. Für die restliche Versuchslaufzeit wurden sie daher ins Freie umgesetzt. Zum Schutz vor übermäßigem Regen waren die Töpfe mit Folie abgedeckt.
Nach jeder Gewinnung von Versuchstieren wurden die Töpfe mit reinem Versuchsboden (siehe Kap. 2.3) und den Rückständen aus den Nematoden-Extraktionen wieder aufgefüllt.

2.2.2 Versuchspflanzen

Bei der Auswahl der Pflanzen für die Lockversuche wurde zunächst darauf geachtet, dass es sich um Wirtspflanzen von *X. index* handelt. Ferner wurde auf die praktische Anwendbarkeit im Weinbau geachtet. Der Winzer soll in der Lage sein, die verwendete Pflanze mit wenig Arbeitsaufwand, geringen Kosten und hohem Anbauerfolg einzusetzen. Ein weiteres Kriterium war der Biomassezuwachs der Pflanze. Dies ist im Hinblick auf den Lockeffekt der Pflanze wichtig, da Pflanzen mit einem hohen Biomassezuwachs einen hohen Stoffausstoß aufweisen. Dies wiederrum resultiert in einer großen Anlockwirkung auf die Nematode. Daneben ist eine hohe Produktion oberirdischer Biomasse wünschenswert, da dieses Material anschließend direkt für die biologische Bodenentseuchung genutzt werden könnte (s.Kap.2.2).
Zunächst wurde als Versuchspflanze die **Rebe** gewählt (Abb. 7). Sie ist nicht nur der Hauptwirt von *X. index*, sondern auch die Kulturpflanze, die es zu schützen gilt. Außerdem kann sie leicht in der Praxis zum Einsatz kommen. Die im Lockversuch verwendeten Reben wurden vom Rebveredlungsbetrieb Wahler aus Weinstadt zur Verfügung gestellt. Es handelte sich um den Spätburgunder-Klon 1/47 Gm mit der Unterlage 125 AA. Die Pflanzen wurden bis Versuchsbeginn in einer Kühlkammer bei 4°C gelagert. 24 Stunden vor Versuchsbeginn wurden die Wurzel gekürzt und gewässert.

Abbildung 7: Die verwendeten Reben Spätburgunder-Klon 1/47 Gm mit der Unterlage 125 AA.

Als weitere Versuchspflanze wurde die **Tomatensorte "Moneymaker"** gewählt. Sie ist ein Wirt von *X. index* (Corio & Brown, 1982), ist leicht zu kultivieren und besitzt einen raschen Biomassezuwachs (Benton-Jones, 2008). Die in den Versuchen verwendeten Tomaten wurden direkt aus Samen gezogen.

Als dritte Versuchspflanze diente die **Brennnessel**. Sie ist ebenfalls als Wirtspflanze von *X. index* beschrieben (Cohn & Mordechai, 1969). Bei der Wahl der Brennnessel wurde auch berücksichtigt, dass es sich hier um ein weit verbreitetes Beikraut handelt. Dies hat den Vorteil, dass sie unter verschiedenen Standortbedingungen gut gedeiht. Zudem ist sie leicht anzubauen und das Saatgut ist kostengünstig. Die verwendeten Brennnesseln wurden im Freiland, auf einem sandigen Standort ausgegraben (Abb. 8) und zunächst bei 4°C gelagert.

Abbildung 8: Sammeln von Brennnesseln (*Urtica dioica*) auf sandigem Standort.

2.3 Bodenmedium (Versuchsboden)

Für alle beschriebenen Versuche wurde ausschließlich ein speziell für Nematodenversuche entwickelter Versuchsboden verwendet. Dieser setzte sich wie folgt zusammen:

> Eine Menge von 1000 kg beinhaltet: 702 kg Silbersand, 123 kg Tonpulver ohne Kalk, 175 kg Hydrokulturgranulat (Durchmesser 2 bis 4 mm), 20 Liter Steiner Nährstofflösung und 1 kg Dünger (N:P:K =12:10:18).

Die Anfangsfeuchtigkeit des Bodens wurde auf 10 % eingestellt. Der Boden wurde von den Mitarbeitern des PPO-agv gemischt. Bis zur Verwendung lagerte der Boden bei ca. 4°C in einer Kühlkammer.

2.4 Evaluierung verschiedener Extraktionsverfahren

Mit diesem Versuch sollte das effizienteste Extraktionsverfahren für *X. index* gefunden werden. Dies beinhaltete sowohl die Wiederauffindungsrate der Tiere in künstlich inokulierten Boden als auch den damit verbunden Arbeitsaufwand. Nur wenn alle Tiere aus einer Bodenprobe extrahiert werden, kann eine Bekämpfungsmaßnahme zuverlässig überwacht werden. Für diesen Versuch wurden eine Mischung aus 100 g des künstlichen Bodenmediums und 100 g groben Sand in Feinkostdosen gefüllt. Vier Löcher dienten als Inokulationstellen, in die jeweils 2 ml einer *X. index*-Suspension (28 Nematoden/ml) pipettiert wurden (Abb. 9). Somit wurden ca. 220 Nematoden in den Boden eingebracht. Die Löcher wurden anschließend wieder bedeckt. Pro Extraktionsverfahren wurden vier Wiederholungen (d.h. Schalen) angesetzt.

Abbildung 9: Plastikschalen mit Versuchsboden und Nematodensuspension.

Die vier getesteten Extraktionsverfahren waren:

a. die modifizierte Siebmethode nach Flegg (Flegg, 1967),
b. der Oostenbrink-Elutriator (Oostenbrink, 1954),
c. die "Hendrickx-Zentrifuge" (Hendrickx, 1995) und
d. die Filterpapiermethode nach Baermann (Baermann, 1917).

a. Modifizierte Siebmethode nach Flegg

Hierzu wurde ca. 200 g Boden in einen 1l-Becher gegeben und dieser mit ca. 800 ml Wasser gefüllt (Abb. 10). Diese Suspension wurde leicht gemischt und über zwei Siebe mit den Maschenweiten 1,4 mm und 1,0 mm gegossen, wobei der Siebdurchlauf in einem 10l-Eimer aufgefangen wurde. Der Siebrückstand wurde mit Leitungswasser so lange über dem 10l-Eimer ausgewaschen, bis dieser mit 5 l gefüllt war. Auch diese Suspension wurde mithilfe einer Suppenkelle leicht durchgemischt. Nach einer Sedimentationszeit von ca. 25 Sekunden wurde der wässrige Überstand über eine Siebenkombination mit drei verschiedenen Maschenweiten dekantiert. Das erste Sieb hatte eine Porengröße von 180 µm, das zweite von 130 µm und das dritte von 75 µm. Nun wurde der Eimer erneut mit 5 l Wasser gefüllt und der verbliebene Bodensatz leicht durchgemischt. Nach einer Sedimentationszeit von 15 Sekunden wurde auch diese Suspension über die drei Siebe gegossen. Die auf den Sieben befindlichen Nematoden und eventuelle Bodenrückstände wurden mit einem leichten Wasserstrahl in ein Glasgefäß überführt und anschließend unter dem Binokular gezählt. Um herauszufinden, ob dieses Verfahren auch bei größeren Bodenmengen (1–2,8 kg) anwendbar ist, wurde das eben beschriebene Verfahren leicht modifiziert und dann nochmals getestet. Die Modifikationen bestanden darin, nun anstatt eines 10l-Eimers einen 30l-Eimer zu verwenden und diesen jeweils auf 15 l aufzufüllen. Daneben wurden diesmal Siebe mit einer Maschenweite von 106 bzw. 75 µm verwendet, um die Nematoden aus dem wässrigen Überstand aufzufangen.

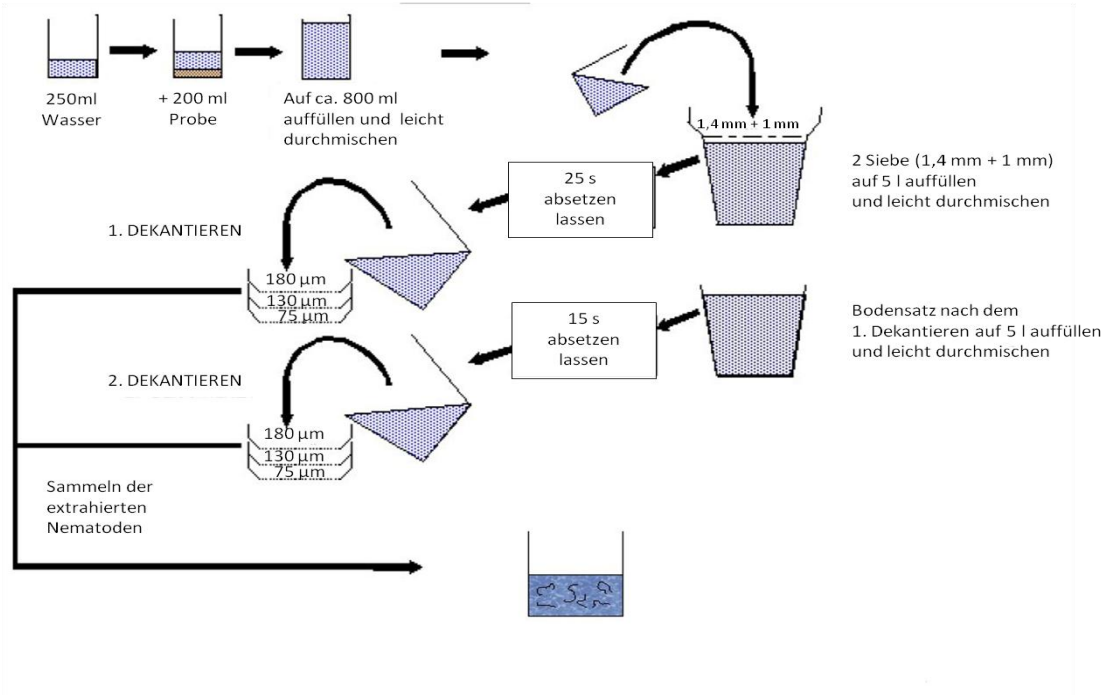

Abbildung 10: Extraktionsschema von *X. index* (nach Feil, 2007).

b. Oostenbrink-Elutriator

Der Oostenbrink-Elutriator (Abb. 11) basiert auf dem Prinzip, dass Nematoden in einem aufwärtsstrebenden Wasserstrom langsamer absinken als die Bodenteilchen. Für den Versuch wurde der Elutriator zunächst mit Wasser bis zum Abfluss des Siebes (d) auf Füllstand (A) gefüllt. Dann wurde die Probe (b) in das Sieb (1 mm) des Elutriators gespült und die Geschwindigkeit des aufsteigenden Wasserstroms auf 1300 ml/min (van Bezooijen 2006) eingestellt. Anschließend wurde das Bodenmaterial mit einer Düse (a) durch das Sieb gewaschen. Sobald das Wasser den Füllstand (B) erreicht hatte, wurde der Wasserstrom auf 800 ml/min abgesenkt. Sobald der Füllstand das Niveau (C) erreicht hatte, wurde das Wasser aus dem Seitenabfluss (f) über zwei Siebe mit Maschenweite 130 µm und 74 µm ausgelassen. Die aufgefangenen Nematoden wurden in ein Glasgefäß überführt und unter dem Binokular gezählt.

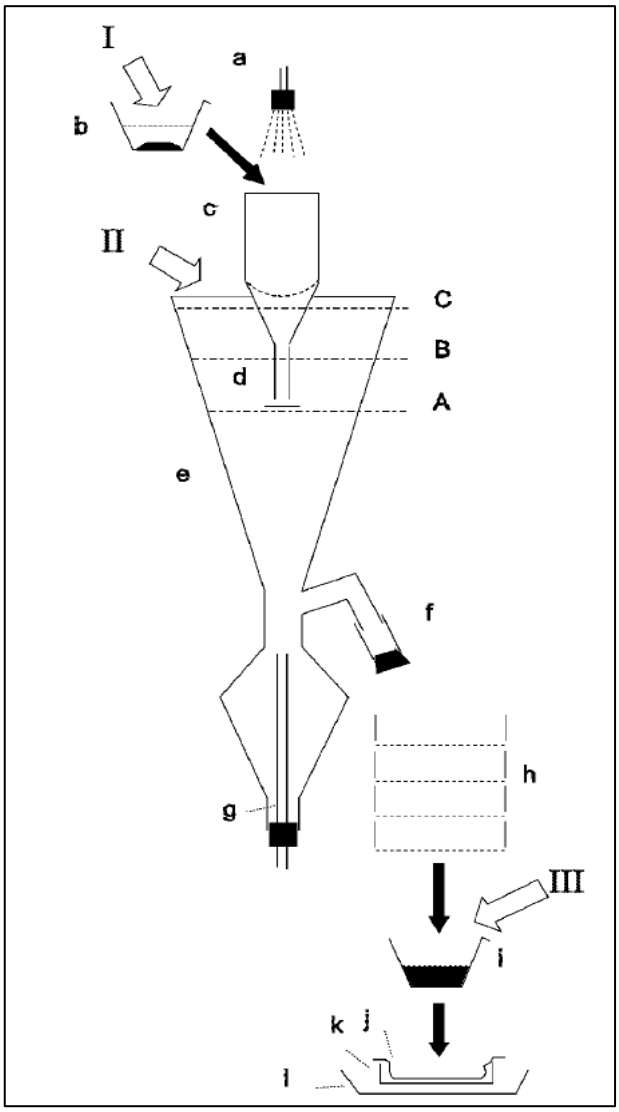

Abbildung 11: Schematischer Aufbau des Oostenbrink-Elutriators (nach Verschoor & Goede, 2000).

c. "Die Hendrickx-Zentrifuge"

Die Hendrickx-Zentrifuge (Abb. 12) ist eine von der Universität Gent entwickelte Zentrifuge, die alle Arbeitsschritte des sog. „centrifugal flotations“ vereint (Hendrickx, 1995). Im Versuch wurde jede Probe in einen 1l-Becher gegeben und anschließend auf ein Karussell gestellt, das die Proben automatisch der Verarbeitung zuführt. Hier wurden die Proben zunächst mit einem Wasser-Magnesium-Gemisch gemengt und dann automatisch in eine Zentrifuge gesogen. Nach dem Zentrifugieren wurden die Nematoden in einen 10ml-Becher überführt, aus welchem sie dann unter das Binokular gegeben werden konnten.

Abbildung 11: Hendrickx-Zentrifuge.

d. Filterpapiermethode nach Baermann

Die Filterpapiermethode ist eine Abwandlung des sogenannten Baermann-Trichters. Im Gegensatz zu den anderen Methoden basiert sie auf der aktiven Bewegung der Nematoden. Da diese hydrophil sind, haben sie das Bestreben, durch ein auf ein Sieb gelegtes Filterpapier zu wandern, unter dem sich ein Wasserfilm befindet. Hierzu wurde ein ringförmiges Sieb (Durchmesser 20 cm) mit einem Filterpapier (Kleenex) ausgelegt (Abb. 13). Auf dieses wurde der Versuchsboden mit Nematoden ausgebracht. Das Sieb wurde anschließend in eine runde Oostenbrink-Schale gelegt, welche mit 180 ml Wasser gefüllt wurde. Nach 72 h bei Raumtemperatur wurde das Wasser aus den Schalen abgegossen und die durch das Filterpapier gewanderten Nematoden unter dem Binokular gezählt.

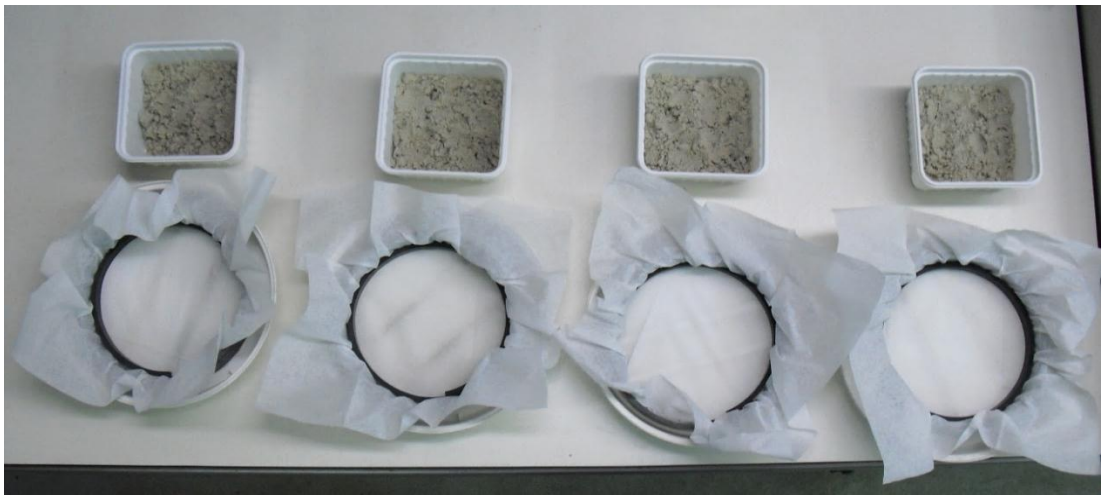

Abbildung 12: Modifizierte Baermann-Filter und Bodenproben mit *X. index*.

2.5 Lockversuch

Um zu testen ob *X. index* mithilfe von Wirtspflanzen an die Oberfläche zu locken ist, wurde eine Modifikation der Methode eingesetzt, die Pinkerton für Migrationsstudien von Nematoden entwickelt hatte (Pinkerton et al., 1986). Dabei wurden zunächst aus mehreren Abschnitten (Ringen) bestehende Röhren gebaut. Ein Loch in einem der unteren Abschnitte diente der Inokulation der Nematoden, welche nach wenigen Tagen aus den einzelnen Kompartimenten extrahiert wurden.

2.5.1 Versuchsdesign

Röhrenbau

Die eingesetzten PVC-Röhren bzw. Kompartimente stammten von der Firma Wildkamp™. Jedes Kompartiment hatte eine Höhe von 40 cm und einen Durchmesser von 16 cm. Die Röhren waren zu Beginn der Versuche mindestens neun Monate alt, womit ein Ausdünsten von PVC-haltigen Chemikalien ausgeschlossen werden konnte.
Je drei 40-Zentimenter-Abschnitte wurden mit gewebeverstärktem Klebeband zu einer 1,20 m hohen Röhre verklebt (Abb.14). Zuvor wurden per Kompartiment sechs Luftlöcher gebohrt, welche sich im 90-Grad-Winkel zueinander befanden. Diese sorgten für eine Durchlüftung und wirkten einer Überhitzung entgegen. Am Ende des jeweils untersten Abschnittes einer Röhrenkonstruktion wurden zusätzlich vier Inokulationslöcher (6er Bohrer) angebracht, welche sich ebenfalls im 90-Grad-Winkel zueinander befanden. Um ein besseres Einlaufen der Nematodensuspension zu erzielen, wurden die Löcher schräg in einem 30-Grad-Winkel gebohrt. Außerdem ermöglichten alle gebohrten Löcher die Zugabe von Wasser auf verschiedenen Höhen der Röhren. Das unterste Kompartiment wurde am unteren Ende mit einer Plastikgaze (Maschenweite 0,2 cm) verschlossen. Dies sollte verhindern, dass Versuchsboden beim Transport oder Überprüfen der Feuchtigkeit aus der Röhre entweichen konnte.
Nach zwei Wochen Versuchslaufzeit wurde der Boden des obersten Kompartiments ebenfalls mit Plastikgaze verschlossen, um das Wurzelwachstum in untere Kompartimente einzuschränken.
Die zusammengesetzten und verklebten Kompartimente bildeten 1,20 m hohe Röhren. Diese wurden von oben mit ca. 30 kg des beschriebenen Kunstbodens (s. Kap. 2.3) befüllt. Hierdurch entstanden durchgehende Bodensäulen, was es den Nematoden ermöglichen sollte, die Röhren zu durchwandern.

Um die Standfestigkeit zu erhöhen und zu verhindern, dass Versuchsboden bzw. Nematoden über den Boden der Röhre verloren gehen, standen die Röhren auf Untersetzern aus Kunststoff.

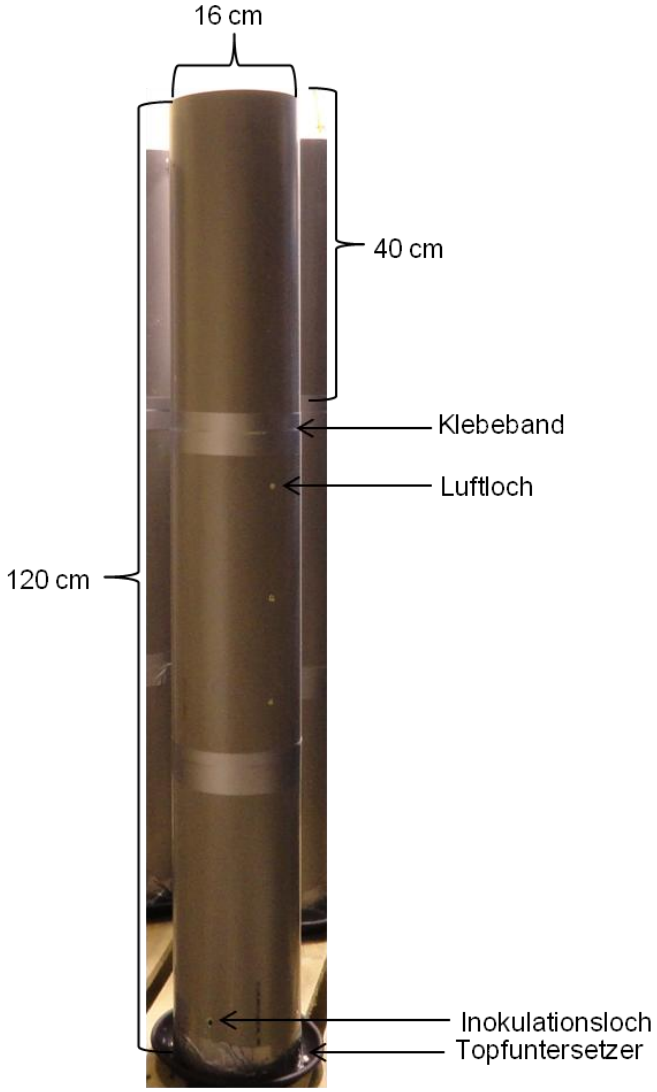

Abbildung 13: Die für die Lockversuche verwendete Versuchsröhre.

Versuchsvarianten

Es wurden drei Pflanzenarten, Rebe, Tomate und Brennnessel (siehe Kap. 2.2.2), auf ihre Lockwirkung getestet und diese mit einer Brache verglichen. Bei der Variante mit Rebe wurde pro Röhre eine Rebenpflanze eingesetzt, bei Tomate zehn Samen gesät und bei der Variante mit Brennnesseln zwei, ca. 5 cm lange Rhizomstücke samt Schössling gepflanzt. Nach Anwachsen der Tomatenpflanzen wurde diese auf 5 Pflanzen pro Röhre ausgedünnt. Jede dieser Varianten wurde sechsmal wiederholt. Der Brennnesselschössling wurde auf ca. 20 cm zurückgeschnitten und, wie bei der Rebe, die Wurzeln gekürzt. Die Kürzung der Wurzel diente der Stimulierung des Wurzel-

wachstums. Vor dem Einsetzen in die Röhre wurde die Pflanzenwurzel 30 sec in NaHCL (Chlorix-Lösung) desinfiziert.

Gewinnung der Versuchstiere

Die Gewinnung des Inokulats aus der an Feigen stattfindenden Zucht erfolgte mit der Siebmethode nach Flegg (siehe Kap. 2.4 a). Allerdings wurde die Methode leicht modifiziert, um der Verschmutzung durch organsiches Material entgegenzuwirken. Dies sollte verhindern, dass den Nematoden eine Nahrungsgrundlage gegeben würde und sie keinerlei Bestreben hätten, sich in der Röhre zu bewegen.

Inokulation der Versuchstiere

Von der so gewonnen Nematodensuspension (150 Tiere/ml) wurden 1,5 ml pro Inokulationsloch inokuliert (insgesamt 6 ml). Hierfür wurde eine Mikropipette mit abgeschnittener Spitze verwendet, um einen optimalen Ausfluss der Suspension zu gewährleisten. Pro Röhre wurden somit insgesamt 900 Tiere eingebracht.

Versuchsbedingungen

Um konstante Bedingungen zu gewährleisten, standen die Versuchsröhren in einer Klimakammer (Abb. 15). In dieser herrschte eine konstante Temperatur von 23°C und eine Luftfeuchtigkeit von 50%. Für ausreichend Licht sorgten zwei Gewächshauslampen, welche auf einen Zeitintervall von 16 h Licht und 8 h Dunkelheit eingestellt waren.

Abbildung 14: Klimakammer mit Versuchsröhren.

Die Röhren wurde zunächst alle drei Tage bewässert. Die Intensität und Wassermenge nahm mit dem Wachstum der Pflanzen kontinuierlich zu. Am Anfang wurden, je nach Variante, 10-100 ml/d gegeben. Später stieg dies im Fall der Tomaten auf 300-400 ml/d und für Wein und Brennesel auf 100-200 ml/d an. Die Brache wurde während der ganzen Versuchslaufzeit mit 2 ml/d bewässert. Die Hälfte der Wassermenge wurde über die Oberfläche zugeführt, die andere Hälfte wurde mit einer Spritze in die Belüftungslöcher gegossen. Um einer hohen Transpiration entgegenzuwirken, wurde die Oberfläche mit einer durchlöcherten Plastikfolie abgedeckt. Zum Abfangen von Pflanzenschädlingen wurden drei Gelbtafeln in der Klimakammer angebracht.

2.5.2 Versuchsauswertung

Zur Auswertung wurden die Röhrenkompartimente voneinander getrennt, um so die Wanderbewegung der Nematoden erfassen zu können. Um Bodenverluste zu verhindern, wurde das Klebeband entfernt, das Kompartiment leicht angehoben und eine dünne Metallplatte an dieser Stelle zwischen die Kompartimente geschoben. Mithilfe dieser wurde das jeweilige Kompartiment abgehoben. Der Boden aus diesem Kompartiment wurde in einen Plastikbeutel überführt, darin gut durchmischt und eine Probe von 1,2 kg entnommen. Diese wurde mit der modifizierten Siebmethode nach Flegg (siehe 2.4) extrahiert.

Im Falle einer Röhre der Variante Brache wurden die zwei obersten Kompartimente (jeweils 40 cm) wie oben beschrieben beprobt. Um die Nematodenverteilung des untersten Kompartiments genauer zu analysieren, wurde die Erde aus diesem Drittel der Röhre sukzessive in vier Schritten abgetragen: zunächst die obersten 15 cm Erdmaterial, dann weitere 15 cm und schließlich zweimal fünf Zentimeter (Abb. 16). Jede der vier Erdproben aus dem untersten Kompartiment wurde getrennt von den anderen untersucht.

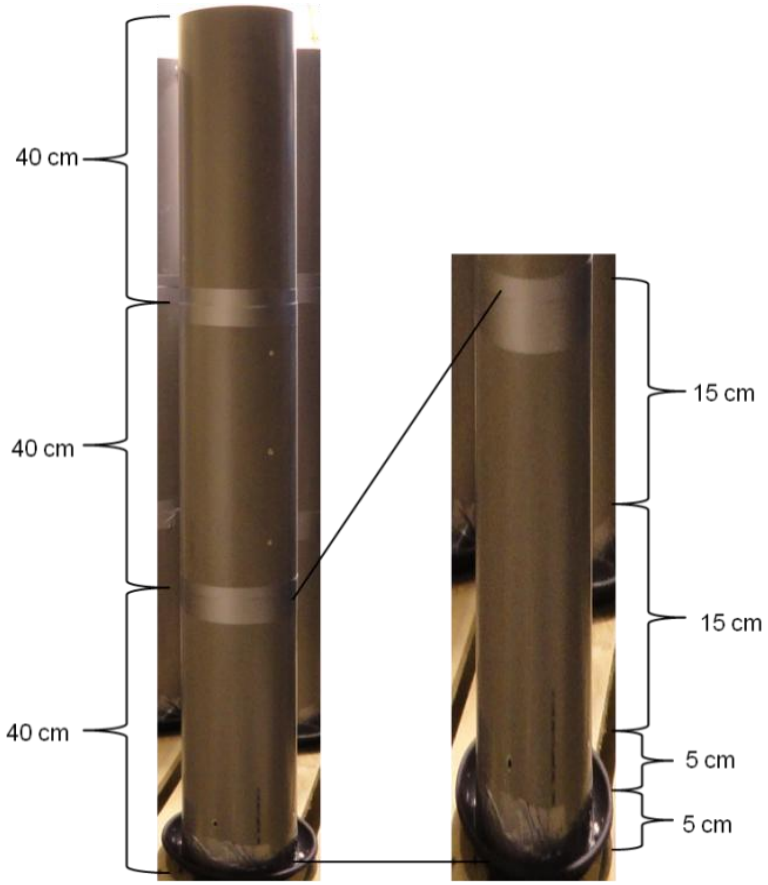

Abbildung 15: Beprobungsschema Röhre Brache.

2.6 Bekämpfungsversuch „Biologische Bodenentseuchung“ (BSD)

In diesem Versuch sollte die Wirksamkeit der biologischen Bodenentseuchung (BSD) gegenüber *X. index* getestet werden. Der Versuch wurde in luftdichten Eimern, die mit reinem Versuchsboden gefüllt waren, durchgeführt. Zur Evaluierung des Prozesses wurden in regelmäßigen Abständen Gasmessungen durchgeführt und nach zwei und vier Wochen jeweils eine Bodenprobe entnommen, die enthaltenen Nematoden extrahiert und ihre Vitalität und Aktivität untersucht.

2.6.1 Versuchsdesign

Reaktionsgefäße

Für den Versuch wurden als Reaktionsgefäße luftdicht verschließbare 10l-Eimer aus Polypropylen verwendet, die mit 2 bis 4 Ventilen versehen waren (Abb. 17).

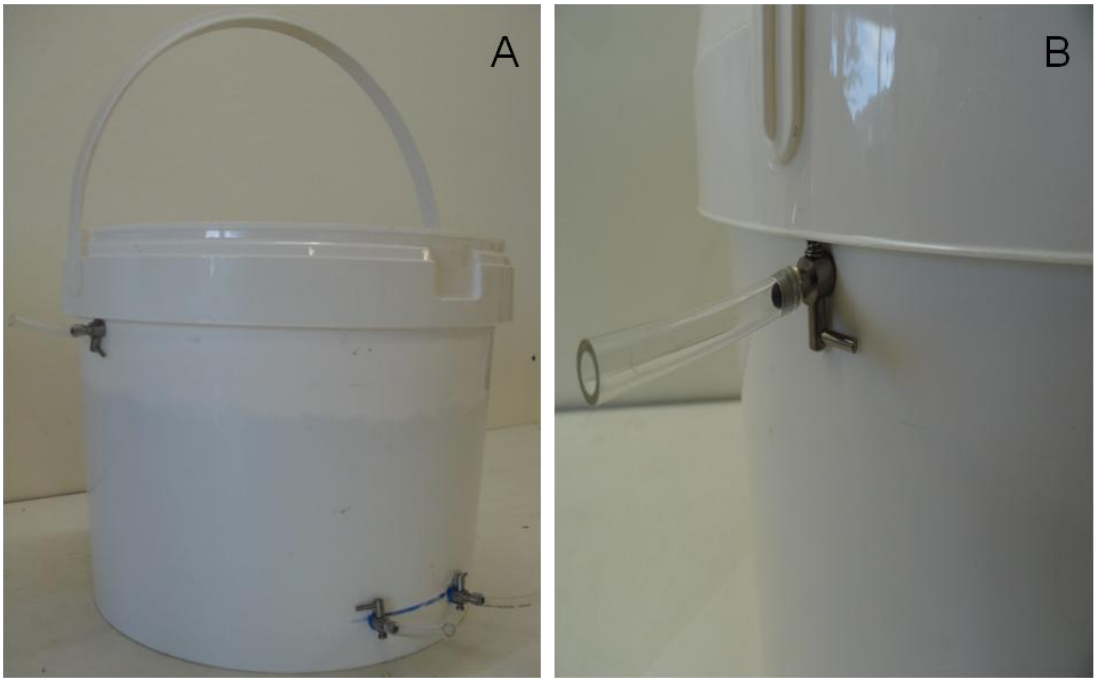

Abbildung 16: Versuchseimer (A) mit Ventilen (B).

Über die Ventile und die an diesen befestigten Plastikschläuche war es möglich, ein Gasmessgerät (siehe Kap. 2.6.1) anzubringen (Abb. 18). Somit konnte die Gaskonzentration in den Eimern gemessen werden, ohne den darin stattfindenden Fermentationsprozess zu unterbrechen. Zusätzlich zu der Gasmessung wurde in zwei Eimern die Temperatur mithilfe eines iButton-Sensors der Firma MAXIM™ gemessen.

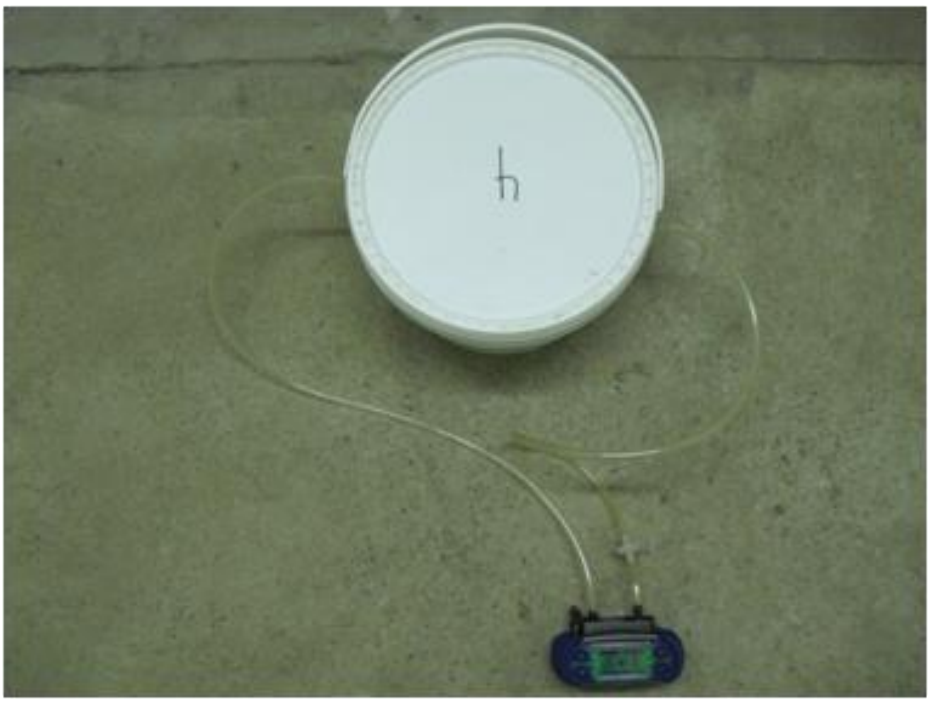

Abbildung 17: Gasmessung über Plastikschläuche.

Ansetzen des Versuches

Der Versuchsboden wurde 12 h vor Versuchsbeginn aus der Kühlung genommen. So sollte ein Temperaturschock für die Nematoden vermieden werden. Der Boden wurde vor dem Ansetzen des Versuches durchmischt. Das Vermischen des Versuchsbodens mit dem Feldboden (bakterieller „Starter“) und dem Produkt bzw. Brennnesselmaterial fand in einem 30l-Plastikeimer statt. Hierzu wurde zunächst 5 kg Boden in dem Eimer gegeben, dann 10 g Feldboden zugefügt und schließlich die entsprechende Menge Herbie bzw. Brennnesselblattmaterial beigemengt (Abb. 19 A-C). Als nächstes wurde die Bodenmenge auf 10 kg aufgefüllt, welches einem Bodenvolumen von 7,6 l entsprach.

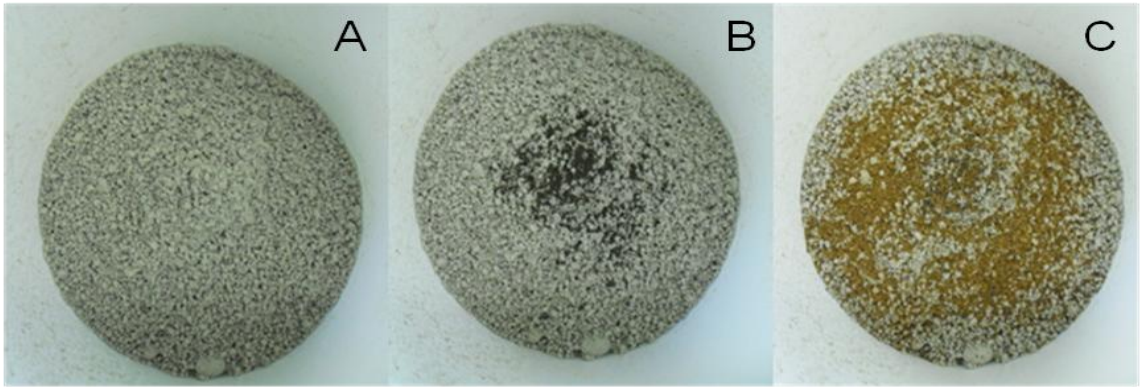

Abbildung 18: Ablauf der Befüllung der Eimer: (A) 5 kg Versuchsboden im 30l-Eimer, (B) Zugabe von 10 g Feldboden, (C) Zugabe von Herbie (im Bild) bzw. von Brennnessel.

Um eine gute Vermischung von Boden und Herbie bzw. Brennnesselblattmaterial zu gewährleisten, wurde der Eimer anschließend verschlossen und mehrmals geschüttelt. Anschließend wurde das Gemisch in die Versuchseimer umgefüllt (Abb. 20).

Abbildung 20: Befüllte Versuchseimer (10 l).

Die Eimer wurden mit einem luftdichten Deckel verschlossen und während der gesamten Versuchslaufzeit in der angesprochenen Klimakammer aufbewahrt.

Versuchsvarianten (Fermentationsprodukte)

Das Produkt Herbi[1] stammte von der Firma Thatchtec BV. Das Brennnesselmaterial wurde aus wild wachsenden Pflanzen hergestellt (siehe Kap. 2.2.2), wobei ausschließlich die Blätter der Pflanzen verwendet wurden. Diese wurden bei 50°C getrocknet (72 h) und anschließend zu einem Pulver zerrieben. Dabei wurde darauf geachtet, dass annäherungsweise die gleiche Partikelgröße erreicht wurde, wie bei dem Produkt Herbie (Abb. 21).

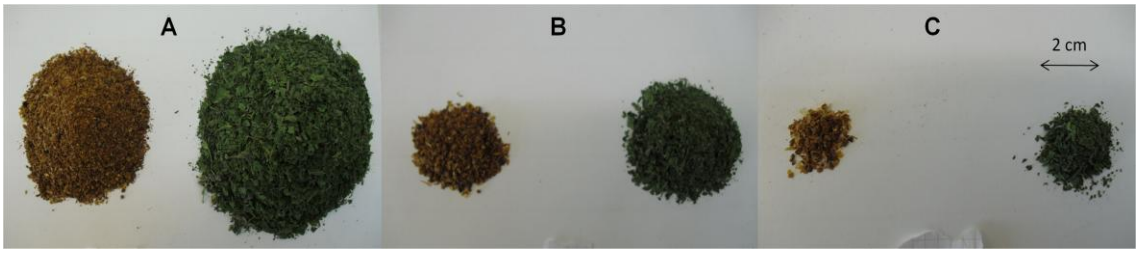

Abbildung 21: Materialmenge von Herbie (l. im B.) und Brennnesselblattmaterial (r. im B.). (A) 30 g; (B) 3 g; (C) 0,3 g.

[1] Die genaue Zusammensetzung ist leider nicht bekannt, da sie ein Firmengeheimnis darstellt.

Die eingesetzten Konzentrationen sollten möglichst realistisch sein und eine spätere Anwendung unter Freilandbedingungen nachahmen. Dabei wurde von folgendem Szenario ausgegangen:

Der Anwender mengt die obersten 70 cm des Bodens (ein Hektar) mit 1% (Volumen) des Fermentationsprodukts 10.000 m² * 0,7 m = 7000 l / m³ bei 1% Produktkonzentration = 70 l Produkt / ha

Im Versuch sind dies bezogen auf die Bodenmenge und 1% Produktkonzentration 30 g Produkt bzw. trockenes Brennnesselmaterial. Demensprechend bei 0,1% 3 g und bei 0,01% 0,3 g Material.

Inokulation der Versuchstiere

Jeder Eimer wurde mit ca. 600 Nematoden inokuliert (4 x 5 ml Nematodensuspension mit einer Dichte von 30 Tieren/ml). Diese wurden am Tag des Versuchsbeginns mithilfe der Siebmethode nach Flegg (siehe Kap. 2.4) extrahiert.

Gasmessung

Für die Gasmessung kam ein fotoakustischer Feld-Gasmesser "INNOVA 1412" der Firma LumaSense™ und ein tragbarer Gasmesser "IMPACT PRO" der Firma Zellweger Analytics™ zum Einsatz (Abb. 22).

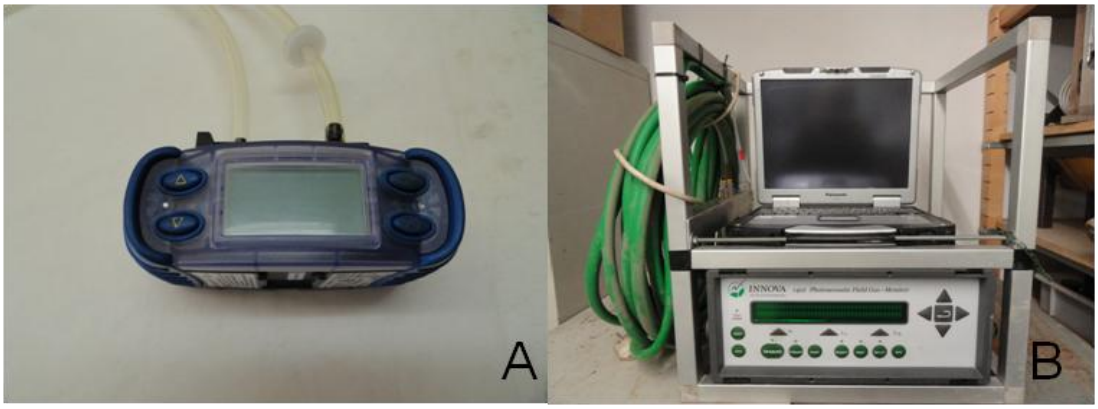

Abbildung 22: Gasmessgeräte: (A) IMPACT PRO; (B) INNOVA 1412.

Der INNOVA 1412 arbeitet auf Basis der Infrarot-fotoakustischen Spektroskopie. Die Gasmessung erfolgt mithilfe von optischen Filtern. Mit dem Gerät können die Gase CO_2, N_2O, NH_3, CH_4 und H_2O gemessen werden. Der Temperaturbereich, in dem das Gerät messen kann, liegt zwischen -20°C und 70°C und der Luftfeuchtigkeitsbereich zwischen 0 und 90%.

Der IMPACT PRO ist in der Lage, die vier Gase O_2, H_2S, NH_3 und CH_4 zu messen. Die brennbaren Gase werden mit einer katalytischen Verbrennungstechnologie gemessen,

die restlichen Gase elektrochemisch. Für diese Arbeit wurde nur der O_2-Messwert verwendet.
Eine Gasmessung wurde bei alle Varianten nach 20 h, 96 h und 192 h durchgeführt. Dazu wurden mindestens drei Eimer einer Variante gemessen.

2.6.2 Versuchsauswertung

Zur Auswertung, die sowohl nach 14 d als auch 28 d stattfand, wurden pro Eimern je 1,2 kg Boden entnommen (6 x 200g). Diese wurden nach der Siebmethode von Flegg (siehe Kap. 2.4) extrahiert. Die gewonnene Nematodensuspension wurde auf 20 ml abgesaugt und alle vorhandenen *X. index* gezählt. Bei der Zählung wurde zwischen lebenden, toten und unbeweglichen Tieren unterschieden (Abb. 23). Bewegten sich die Tiere zunächst nicht, wurden sie aktiv mit einem spitzen Gegenstand berührt. Stellte sich dann kein Lebenszeichen ein, wurden die Tiere als tot bewertet.

Abbildung 23: Mikroskopische Aufnahme (A) lebender und (B) toter bzw. unbeweglicher *X. index*.

3 Ergebnisse

Die Versuchsergebnisse dieser Arbeit gliedern sich in folgende Teilschritte:

1. Als erster Schritt wurde die optimale Extraktionstechnik für *X. index* gesucht. Hierbei wurden vier Methoden verglichen. Dies ermöglichte es letztlich, ca. 100% der inokulierten Tiere im Versuchsboden wiederzufinden und somit sowohl die Effizienz des Lock- als auch des Bekämpfungsversuches zu ermitteln.

2. Als zweiter und zentraler Punkt der Arbeit wurde ein Lockversuch durchgeführt. Dieser soll als Grundpfeiler einer erfolgreichen Bekämpfungsstrategie gegen *X. index* dienen. Dabei wurde untersucht, ob es möglich ist, mit verschiedenen Wirtspflanzen von *X. index* diese aus einer Bodentiefe von 1,20 m an die Oberfläche zu locken.

3. Im letzten Schritt der Arbeit wurde die Effizienz einer biologischen Bekämpfungsmethode gegenüber *X. index* untersucht, welche bereits an verschiedenen Schadorganismen erfolgreich angewandt worden war. Dabei kam ein im Handel erhältliches Produkt, Herbie, sowie getrocknetes Blattmaterial von Brennnesseln zum Einsatz.

3.1 Extraktionsversuche

Da eine einzige virusbeladene Nematode ausreicht, um eine Rebe zu infizieren, muss eine Bekämpfungsmethode entwickelt werden, die alle Nematoden vollständig eliminiert. Für die vorliegende Arbeit war es aus diesem Grund äußerst wichtig, eine Extraktionstechnik zu finden, die es erlaubte, **alle** inokulierten Nematoden wiederzufinden.
Die Grafik zeigt die Wiederauffindungsrate der vier getesteten Extraktionstechniken (Abbildung). Sowohl die Methode nach Cobb als auch die nach Oostenbrink erwiesen sich für *X. index* als besonders geeignet und zeigten eine Wiederauffindungsrate von über 100%. Ferner schien auch die Vitalität der Tiere nicht negativ beeinflusst zu werden.
Die Filtermethode als auch die zonale Zentrifuge erwiesen sich bei der Extraktion von *X. index* hingegen als ungeeignet. Bei der Zentrifuge lag die Wiederauffindungsrate lediglich bei 15%, bei der Filtermethode nur bei etwas über 10%. Auch die Vitalität der Tiere schien negativ beeinflusst zu werden.

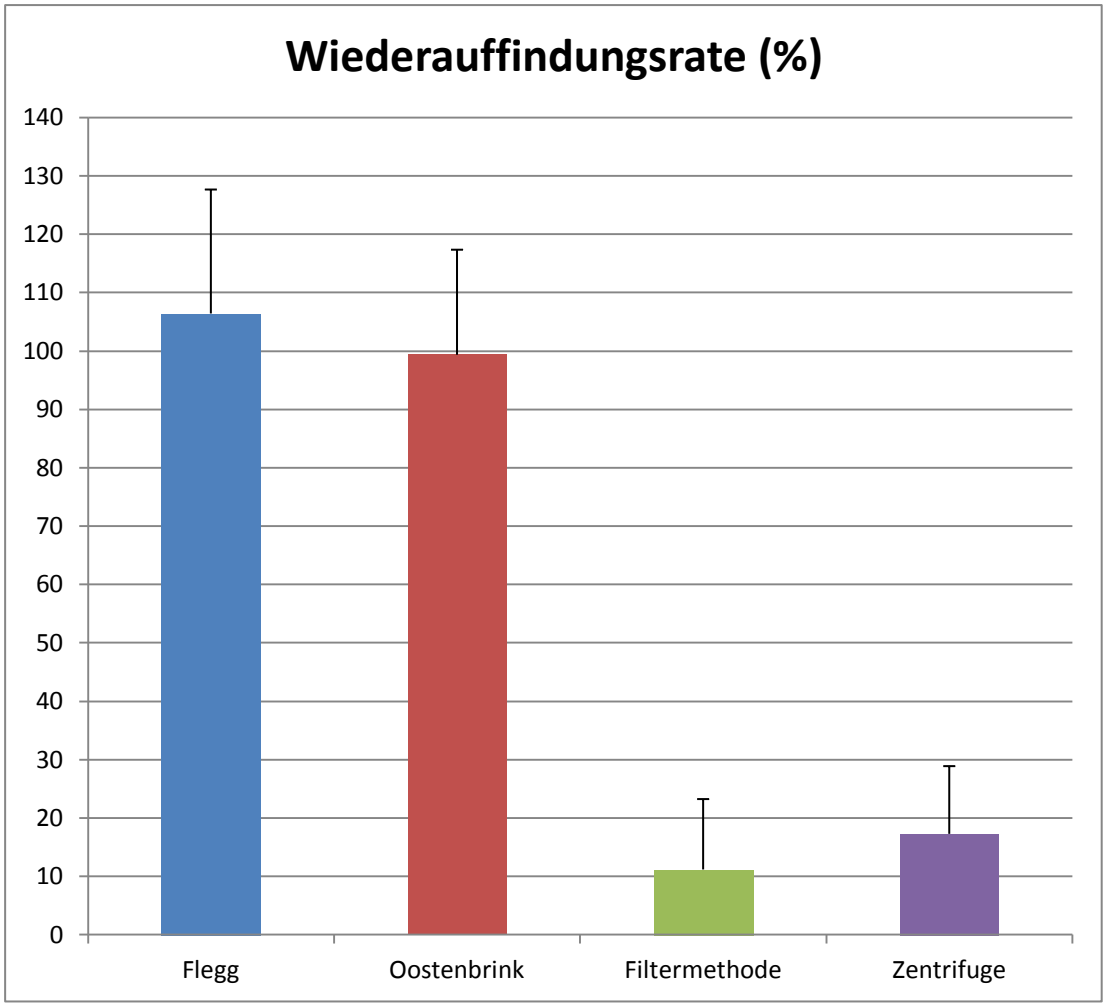

Abbildung 24: Wiederauffindungsrate von *X. index* aus 200 g Boden bei Anwendung verschiedener Extraktionstechniken (Balken stellen Mittelwert ± SD aus n=4 dar).

Die Anpassung der modifizierten Siebmethode nach Flegg auf eine Probemenge von 1,2 kg und auf zwei Siebe (106 µm und 75 µm) erwies sich mit reinem Versuchsboden als genauso effektiv wie mit 200 g Boden. Auch hier lag die Wiederauffindungsrate bei ca. 100%. Dem gegenüber war eine Erhöhung der Probenmenge auf 2,8 kg nicht möglich. Hier wurde zu viel Bodenmaterial durch die Siebe gewaschen, was die Suspension trübe machte und das Auszählen der Probe unmöglich werden ließ.

3.2 Lockversuch

Um *X. index* effektiv bekämpfen zu können, ist es erforderlich, diese in Tiefen bis zu 4 m vorkommende Nematode nahe an die Bodenoberfläche zu locken. Dies sollte in im Versuch mit verschiedenen Wirtspflanzen von *X. index* umgesetzt werden.

Gemessene Bodenparameter

Die Temperaturmessung mit dem iButton-Sensor ergab eine Durchschnittstemperatur von 23°C innerhalb des mittleren Abschnitts der Röhren. Diese Temperatur unterlag während der gesamten Versuchslaufzeit nur sehr geringen Schwankungen von 1 und 3°C. Die Durchschnittstemperatur war in allen drei Röhren, in denen sich ein Sensor befand, gleich. Der pH-Wert des reinen Versuchsbodens lag bei 6,9 (in Leitungswasser), die Bodenfeuchtigkeit zu Beginn des Versuchs bei 14%.

Vertikale Verteilung der Nematoden

In Abbildung 32 ist die vertikale Verteilung der Nematoden in den drei Röhrenabschnitten nach vier Wochen Versuchslaufzeit zu sehen. Das dargestellte Ergebnis beruht auf einer Gesamtzählung einer Extraktion aus 1,2 kg Versuchsboden. Es wurden bei Brennnessel und Tomate je zwei Röhren untersucht, bei der Rebe eine Röhre und bei der Brache eine Röhre nach dem Schema in Abbildung 25 und eine nach dem Schema in Abbildung 26.

Weder nach vier noch nach zehn Wochen (Abb. 25) konnte eine Bewegung der Nematoden nach oben zur Wirtspflanze hin festgestellt werden. Zu beiden Zeitpunkten befanden sich alle gefundenen Nematoden ausschließlich im untersten Abschnitt der Röhre. Zwischen den vier verschiedenen Varianten konnte zu keinem der beiden Zeitpunkte ein Unterschied festgestellt werden.

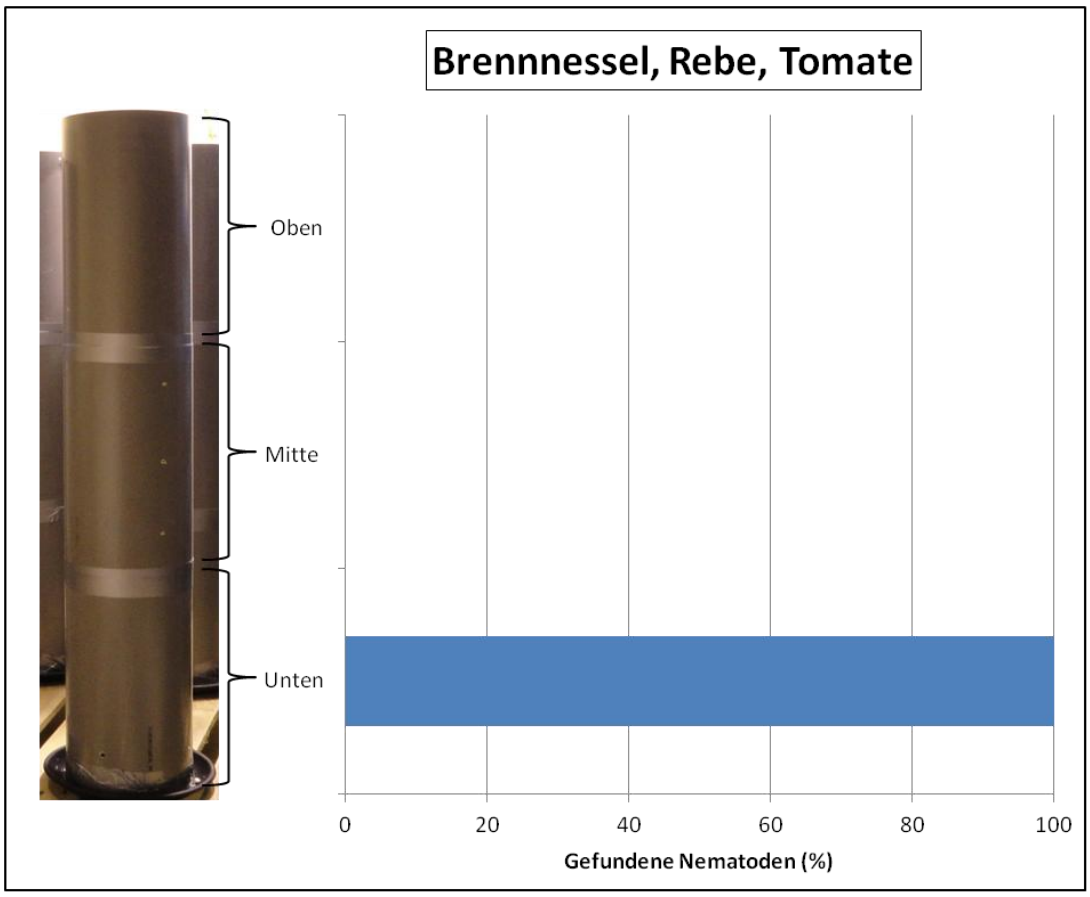

Abbildung 25: Vertikale Verteilung der gefundenen Nematoden (Gesamtzählung aller lebenden und toten Nematoden) in den drei Abschnitten (Oben, Mitte, Unten) der Versuchsröhre nach vier und nach 10 Wochen Versuchslaufzeit (%).

Die genauere Probeentnahme in der Röhre Brache zeigte, dass sich die meisten Nematoden auch nach vier Wochen in der Schicht befanden, in der auch die Inokulationslöcher zu finden waren (Abb. 26). Ein kleinerer Teil der Nematoden schien sich in der Röhre über eine kurze Distanz nach unten bewegt zu haben bzw. transportiert worden zu sein. So wurden in einer 5 cm dicken Schicht am Boden der Röhre Nematoden gefunden.

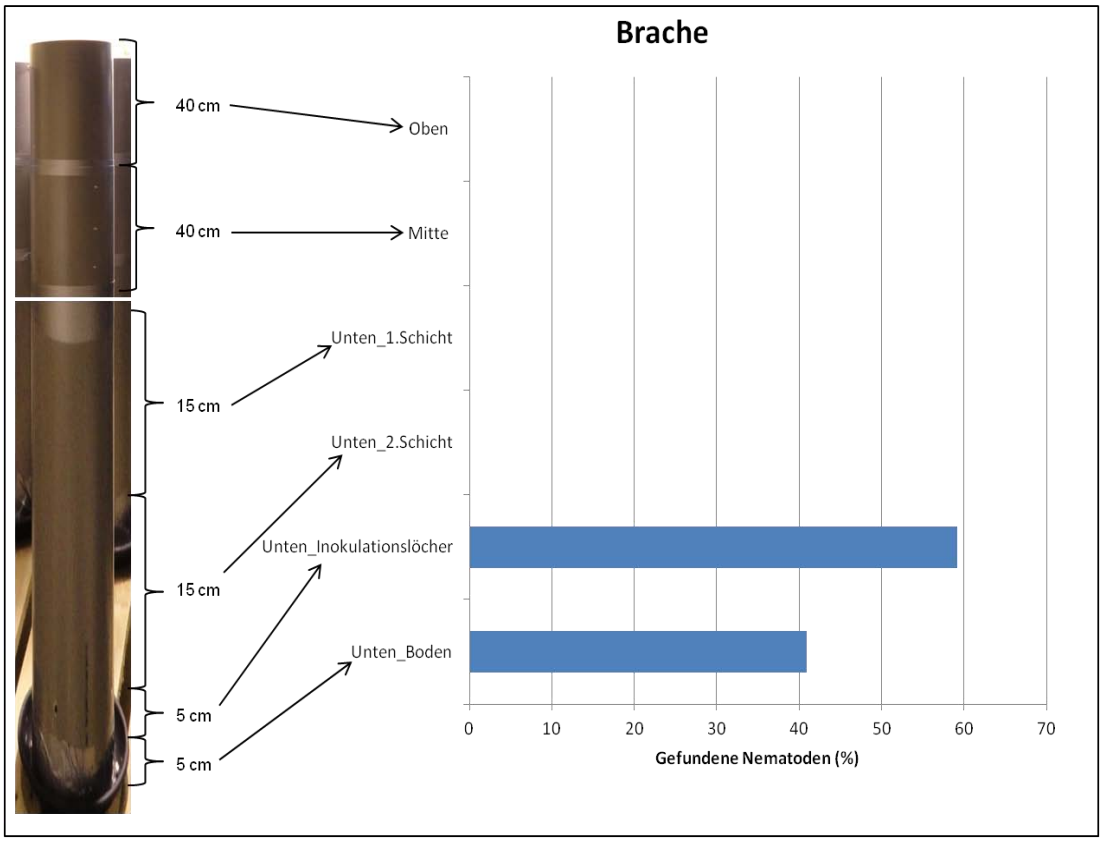

Abbildung 26: Vertikale Verteilung der gefundenen Nematoden (Gesamtzählung aller lebenden und toten Nematoden) in den drei Abschnitten (Oben, Mitte, Unten (nochmals unterteilt in Unten_1. Schicht, Unten_2. Schicht, Unten_Inokulationslöcher, Unten_Boden)) der Versuchsröhre Brache nach vier Wochen Versuchslaufzeit (vergrößerte Darstellung des unteren Abschnitts) (%).

Zustand der Nematoden

Sowohl nach vier als auch nach zehn Wochen waren die meisten Nematoden noch vital. So wurden nach vier Wochen von allen gefundenen Nematoden noch über 80% als lebend gezählt. Nach zehn Wochen sank dieser Wert nur wenig ab.

3.3 Bekämpfungsversuch „Biologische Bodenentseuchung“ (BSD)

Mit dem Wegfall chemischer Bekämpfungsmöglichkeiten fehlt für viele Nematoden eine geeignete Bekämpfungsstrategie. Eine nachhaltige Alternative könnte die "Biologische Bodenentseuchung" darstellen. Sie hat sich schon bei anderen Schadorganismen als sehr effektive Methode erwiesen, ohne die Nachteile einer chemischen Bekämpfung, da auf biologischen Grundlagen basierend.

3.3.1 Gasmessung

Insgesamt wurden während des Versuches die Konzentrationen von fünf Gasen gemessen, welche im Zusammenhang mit der BSD stehen. Besonderes Augenmerk lag hier auf O_2 und CO_2. Der O_2-Gehalt gibt Auskunft über den Grad der Anaerobie, welche für den Prozess von essentieller Bedeutung ist (Momma, 2008). Der CO_2-, H_2S-, CH_4- und N_2O-Wert geben indirekt Auskunft über die Aktivität von Mikroorganismen. Diese sind für den Prozessablauf verantwortlich (Momma, 2008). Zudem können H_2S oder N_2O nematizid sein (Rodriguez-Kabana et al., 1965; Ottow, 2011).

Die Graphik (Abb. 27) zeigt das Ergebnis der **Sauerstoffmessung**, die während des Bekämpfungsversuchs in den luftdichtverschlossenen Eimern vorgenommen wurde. Bei der 1%igen Konzentration von Herbie als auch Brennnessel fiel der O_2-Gehalt bereits 20 h nach Versuchsbeginn auf 5% bzw. 4% ab. Beide lagen somit im anaeroben Bereich, in dem die wichtigen Prozesse der BSD ablaufen. In der weiteren Versuchslaufzeit sank der O_2-Gehalt beider Varianten auf ca. 1%.

Bei der 0,1%igen Konzentration sank der O_2-Wert nach 96 h auf den niedrigsten Wert von 16% bei Herbie und 15% bei Brennnessel. Nach 196 h war ein leichter Anstieg der O_2-Konzentration bei beiden Varianten von ca. 1% zu sehen. Zu keinem Zeitpunkt herrschten bei diesen Konzentrationen anaerobe Bedingungen.

Bei der 0,01%igen Konzentration fiel der O_2-Gehalt während der gesamten Versuchslaufzeit kaum ab. Er lag bei beiden Varianten nach 196 h ca. 1% unter dem Anfangswert. Auch hier lagen somit zu keinem Zeitpunkt anaerobe Bedingungen vor.

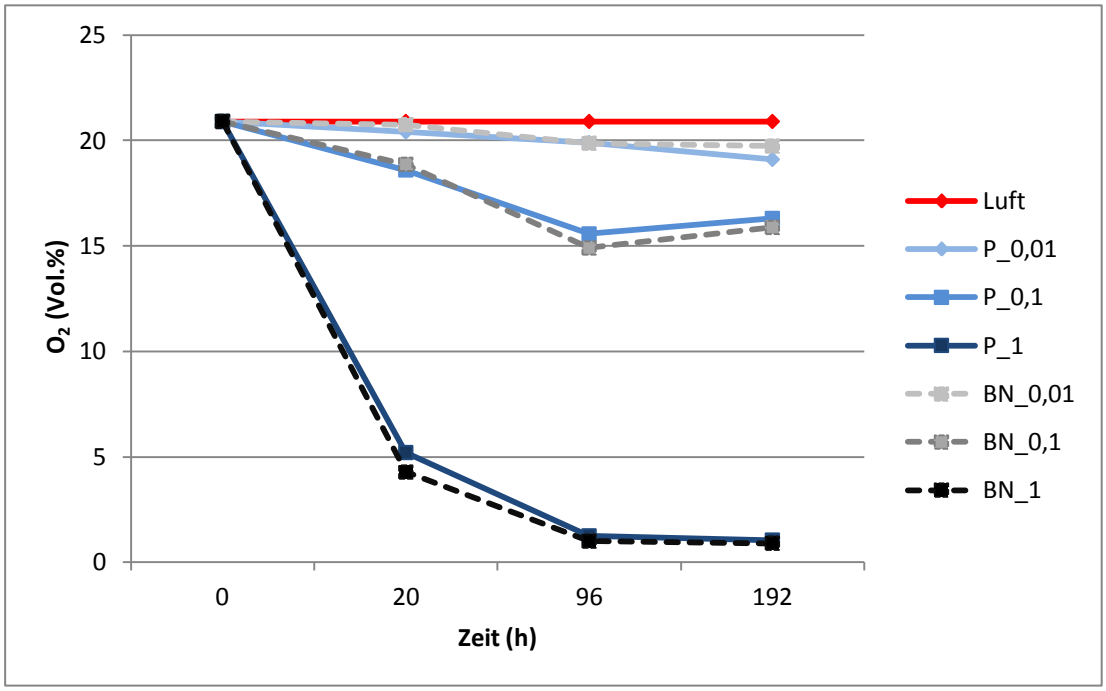

Abbildung 27: Zeitlicher Verlauf der O_2-Bildung (Vol. %) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).

Die Graphik (Abb. 28) zeigt den **Kohlendioxidgehalt,** der während des Bekämpfungsversuchs in den Eimern gemessen wurde. Bei der 1%igen Konzentration von Herbie stieg der CO_2-Gehalt nach 20 h auf das 100fache des Wertes, der in Raumluft messbar war. Bei Brennnessel stieg dieser sogar auf das 150fache. Die Werte beider Varianten stiegen weiter an und erreichten nach 196 h das 235fache des Raumluftwertes.
Bei einer Konzentration von 0,1% stieg der Wert nach 20 h auf das 24fache und nach 96 h auf das 70fache des Luftwertes an. Danach verblieben die Werte auf diesem Niveau.
Bei einer Konzentration von 0,01% stieg der Wert nach 20 h um das 4fache des Luftwertes. Nach 96 h stieg der Wert auf das ungefähr 20fache und blieb dann unverändert.

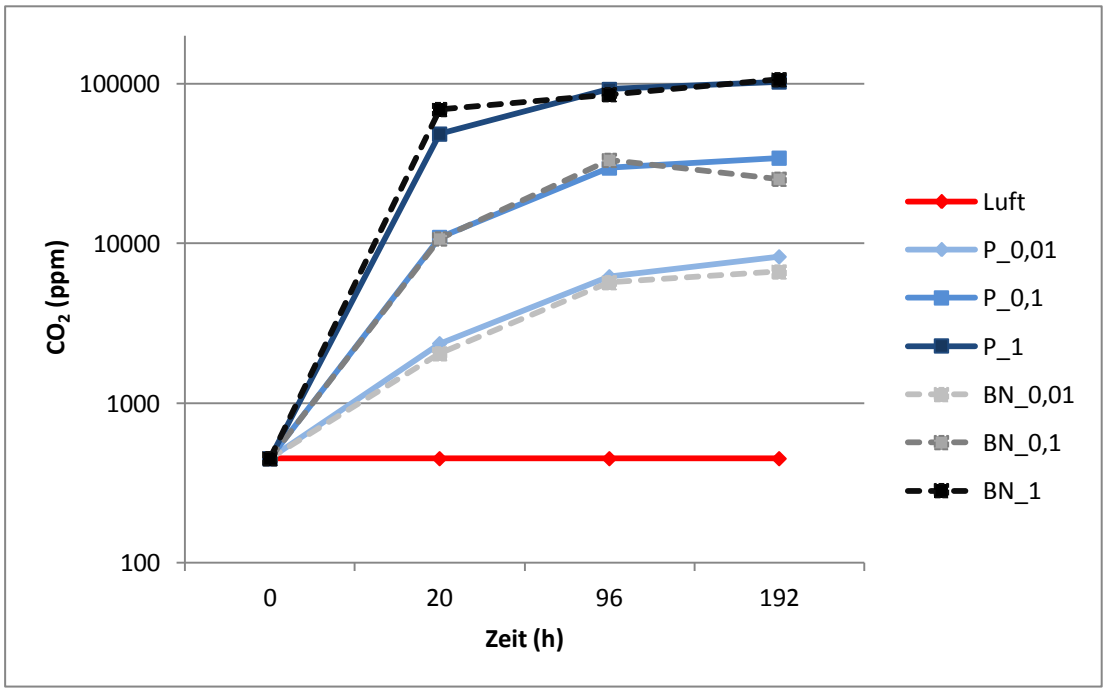

Abbildung 28: Zeitlicher Verlauf der CO_2-Bildung (ppm) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).

Die Graphik (Abb. 29) zeigt den **Schwefelwasserstoffgehalt,** der während des Bekämpfungsversuchs in den Eimern gemessen wurde. Bei der 1%igen Konzentration mit Herbie stieg der H_2S-Wert nach 20 h auf knapp 800 ppm. Bei Brennnessel lag der Wert nach 20 h mehr als doppelt so hoch, bei über 1700 ppm. Nach 96 h war ein drastischer Anstieg der Konzentration bei Herbie zu beobachten. Hier wurde der Wert von 2400 ppm überschritten. Der Wert beim Einsatz von Brennnessel stagnierte allerdings bei 96 h. Nach 192 h stieg der Wert bei Herbie nur um 100 ppm. Bei Brennnessel betrug der Anstieg ca. 600 ppm.

Bei einer Herbie-Konzentration von 0,1% stieg der Wert nach 20 h auf ca. 200 ppm und lag am Ende der Messperiode bei fast 1900 ppm. Hingegen stieg die Konzentration bei Brennnessel nach 96 h nur auf einen Wert von knapp über 400 ppm und begann danach langsam wieder zu fallen.

Bei der Konzentration 0,01% zeigte sich zunächst bei beiden Varianten nur eine sehr geringe Konzentration von H_2S. Nach 192 h stieg der Wert bei Herbie allerdings recht stark auf einen Wert von fast 400 ppm an. Der Wert bei Brennnessel tendierte gegen null.

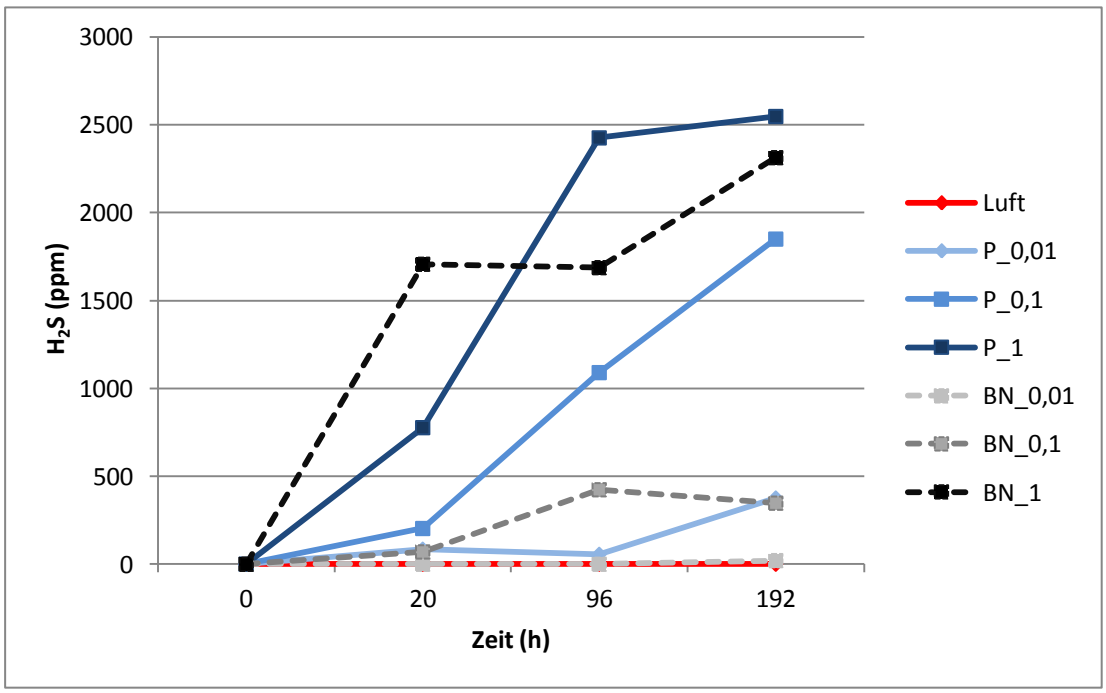

Abbildung 29: Zeitlicher Verlauf der H_2S-Bildung (ppm) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).

Die Graphik (Abb. 30) zeigt den **Lachgasgehalt,** der während des Bekämpfungsversuchs in den luftdichtverschlossenen Eimern gemessen wurde. Bei der 1%igen Konzentration von Herbie veränderte sich der Wert zunächst kaum, um dann nach 96 h auf einen Wert von über 1000 ppm anzusteigen. Nach 192 h fiel der Wert dann wieder auf 130 ppm. Einen ähnlichen, aber noch stärker ausgeprägten Verlauf zeigte die 1%ige Konzentration mit Brennnessel. Auch hier wurden zunächst nur geringe N_2O-Konzentrationen gemessen, die allerdings nach 96 h auf fast 4000 ppm anstiegen. Bei allen anderen Varianten zeigte alleine Herbie ab 96 h einen leichten Anstieg der N_2O-Werte.

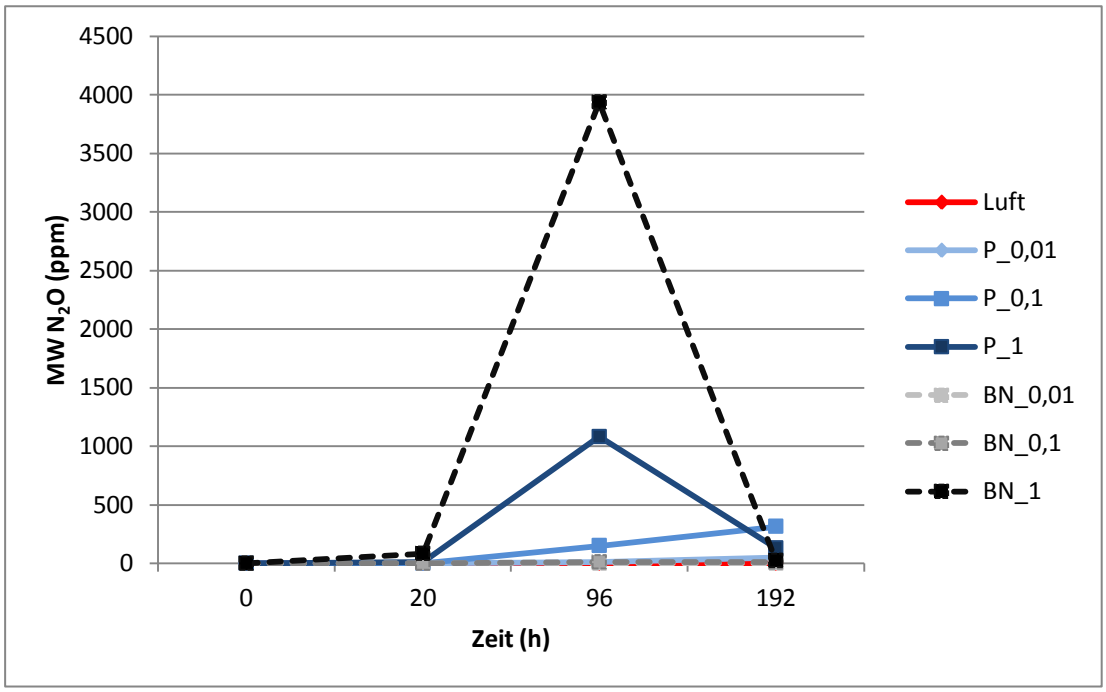

Abbildung 30: Zeitlicher Verlauf der N_2O-Bildung (ppm) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).

Die Graphik (Abb. 31) zeigt den **Methangehalt**, der während des Bekämpfungsversuchs in den Eimern gemessen wurde.

Die Darstellung des CH_4-Gehalts weist einen ähnlichen Kurvenverlauf auf wie bei N_2O. So konnte nach 20 h Stunden bei keiner Variante CH_4 gemessen werden. Nach 96 h kam es bei Brennnessel in 1%er Konzentration zu einer deutlichen Zunahme der CH_4 Konzentration auf ca. 10.000 ppm. Nach 192 h wiederum war kein CH_4 mehr messbar. Auch bei Herbie in 1%er Konzentration erreichten die gemessenen Methanwerte ihr Maximum nach 96 h. Alle anderen Varianten blieben unterhalb der Messschwelle.

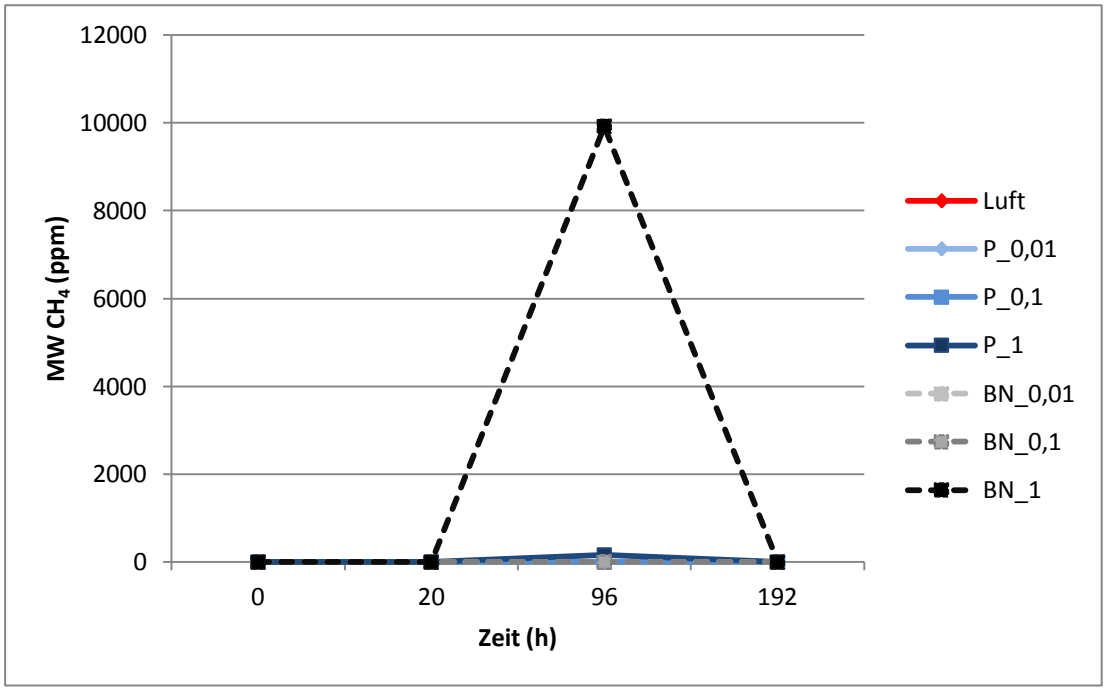

Abbildung 31: Zeitlicher Verlauf der CH_4-Bildung (ppm) während BSD-Versuch bei den Varianten Herbie (P), Brennnessel (BN) und einer Kontrolle (Luft). (Angaben 0,01, 0,1, 1 entsprechen den Konzentrationen 0,01%, 0,1%, 1% Herbie- bzw. Brennnesselmaterial / Menge Versuchsboden). Über einen Zeitraum von 192 h wurden Messungen bei t = 20 h, 96 h und 192 h vorgenommen (Mittelwert aus n=3).

3.3.2 Bekämpfungserfolg

In diesem Versuch sollte die BSD auf ihre Wirksamkeit gegenüber *X. index* hin getestet werden, wobei zwei unterschiedliche Quellen von organischem Material zum Einsatz kamen: zum einen Herbie und zum anderen getrocknete Brennnesselblätter.
In den folgenden Grafiken wird der Bekämpfungserfolg von BSD gegenüber *X. index* dargestellt. Gemessen wurde dieser am Prozentsatz unvitaler (unbeweglicher) und toter Tiere.

3.3.2.1 Vitalität & Aktivität nach 14 d

Abbildung 32 gibt den prozentualen Anteil unbeweglicher Tiere nach zweiwöchiger Expositionsdauer an. Bei Konzentrationen von 0,01% und 0,1% bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrolle. Allerdings zeigen die Daten eine leichte Erhöhung an bewegungslosen Tieren bei 0,1%. Bei der Konzentration von 1% waren hingegen signifikante Unterschiede zur Kontrolle feststellbar. So waren hier nach zwei Wochen 80–90% der Nematoden unbeweglich, wobei sich die beiden Varianten nicht signifikant voneinander unterschieden.

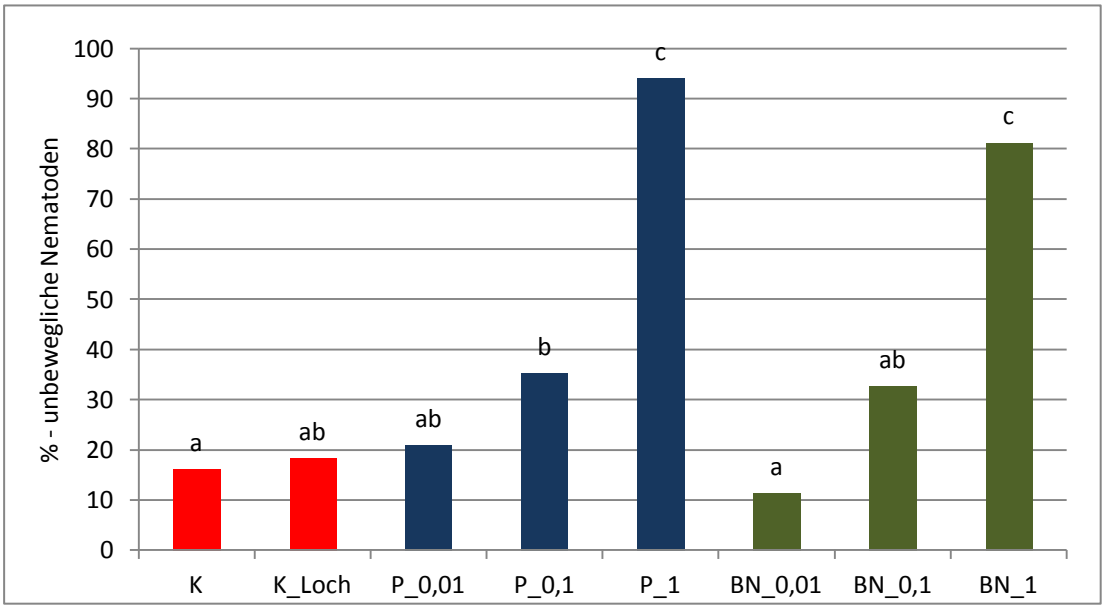

Abbildung 32: Prozentualer Anteil an unbeweglichen Nematoden nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit bei den Varianten Kontrolle (K), Kontrolle mit luftdurchlässigem Deckel (K_Loch), Herbie (P) und Brennnessel (BN) (Mittelwerte aus n=5). (Statistische Auswertung nach Student-Newmann-Keuls).

Abbildung 33 stellt den prozentualen Anteil toter Nematoden nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit dar. Es zeigte sich, dass die Mortalität bei niedrigen Konzentrationen nur ca. 10% betrug, was der Kontrolle ähnelte. Wie beim Anteil unbeweglicher Nematoden zeigte sich auch bei der Mortalität erst bei der 1%igen Konzentration ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle. Hier lag die Mortalität zwischen 70% und 80%. Wobei die Variante Herbie tendenziell mehr tote Tiere aufwies als die Variante Brennnessel.

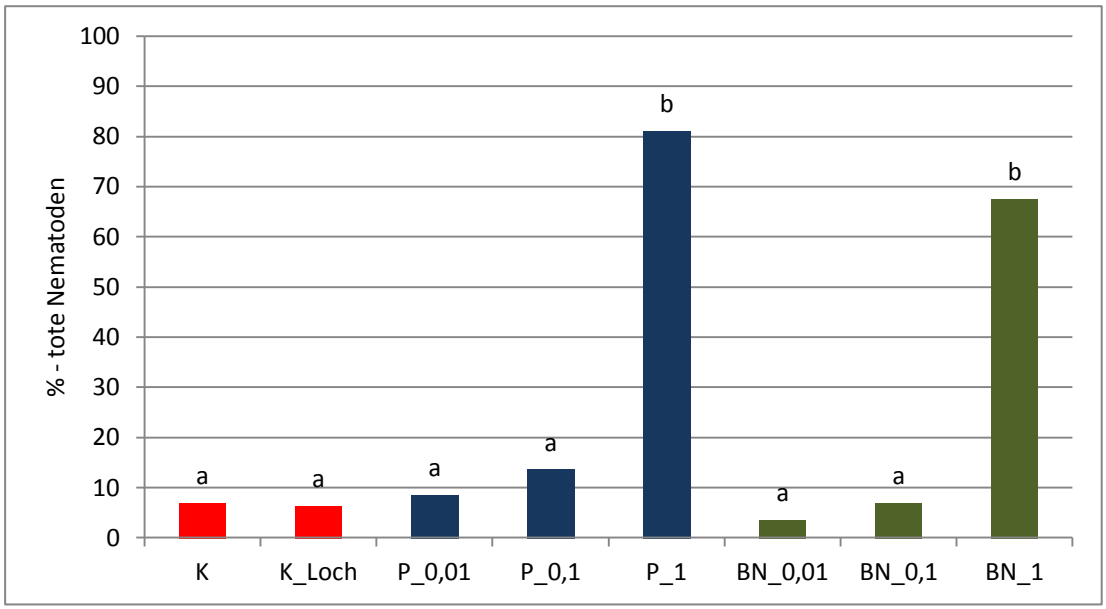

Abbildung 33: Prozentualer Anteil an toten Nematoden nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit bei den Varianten Kontrolle (K), Kontrolle mit luftdurchlässigem Deckel (K_Loch), Herbie (P) und Brennnessel (BN) (Mittelwerte aus n=5). (Statistische Auswertung nach Student-Newmann-Keuls).

3.3.2.2 Vitalität & Aktivität nach 28 d

Abbildung 34 stellt den prozentualen Anteil der unbeweglichen Nematoden nach vierwöchiger Versuchslaufzeit dar. Auffallend sind die Ergebnisse bei Herbie. Schon bei einer Konzentration von 0,01% ist hier ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle und zu den beiden niedrigen Brennnesselkonzentrationen vorhanden. Es sind bereits über 40% der Nematoden unbeweglich. Im Gegensatz dazu sind es bei der Kontrolle nur knapp 30%. Der Anteil unbeweglicher Nematoden steigt bei 0,1%iger Konzentration von Herbie auf über 60% an. Bei 1% waren beinahe alle Nematoden unbeweglich, was auch für die Behandlung mit Brennnessel galt.

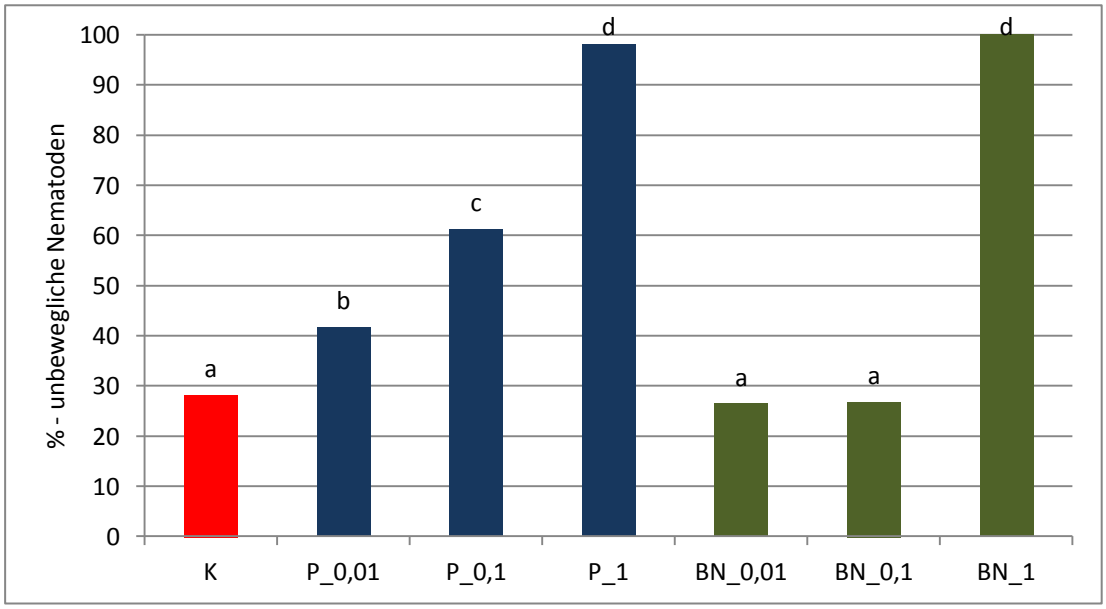

Abbildung 34: Prozentualer Anteil an unbeweglichen Nematoden nach vierwöchiger Versuchslaufzeit bei den Varianten Kontrolle (K), Herbie (P) und Brennnessel (BN) (Mittelwerte aus n=5). (Statistische Auswertung nach Student-Newmann-Keuls).

Abbildung 35 stellt den prozentualen Anteil toter Nematoden nach vierwöchiger Versuchslaufzeit dar. Wie beim Anteil unbeweglicher Tiere so ist auch bei den toten Tieren eine signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und den beiden niedrigsten Konzentrationen alleine bei der Variante Herbie zu sehen. So steigt der Anteil toter Tiere bei 0,01% auf über 20% und bei 0,1% auf knapp 40% an. Im Gegensatz dazu sind es bei der Kontrolle lediglich 12%. Bei Konzentrationen von 1% wurden bei Herbie beinahe alle und bei Brennnessel alle Tiere getötet.

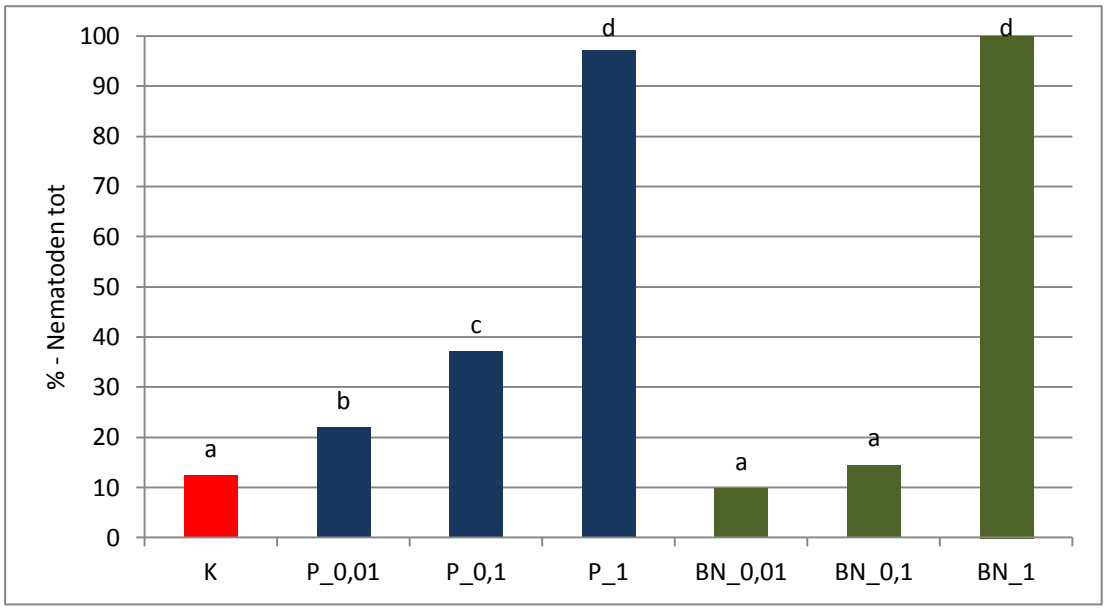

Abbildung 35: Prozentualer Anteil an toten Nematoden nach vierwöchiger Versuchslaufzeit bei den Varianten Kontrolle (K), Herbie (P) und Brennnessel (BN) (Mittelwerte aus n=5). (Statistische Auswertung nach Student-Newmann-Keuls).

3.3.3 Korrelation Gaskonzentrationen - Anteil toter Tiere

Zwischen der CO_2-Konzentration und der Anzahl toter Nematoden bestand eine stark positive Korrelation (Abb. 36) (R^2 bei beiden Varianten über 0,8).

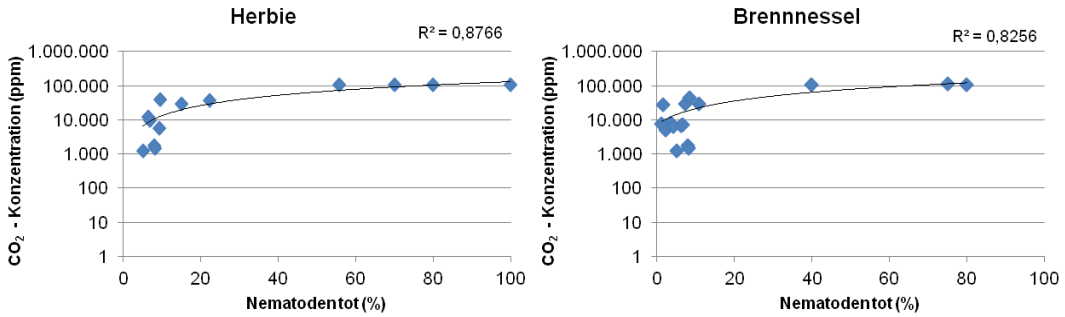

Abbildung 36: Lineare Korrelation zwischen der CO_2-Konzentration (ppm) nach 192 h und dem Anteil toter Nematoden (%) für Herbie und Brennnessel nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit.

Auch die O_2-Konzentration und die Anzahl toter Nematoden korrelierten stark (Abb. 37).

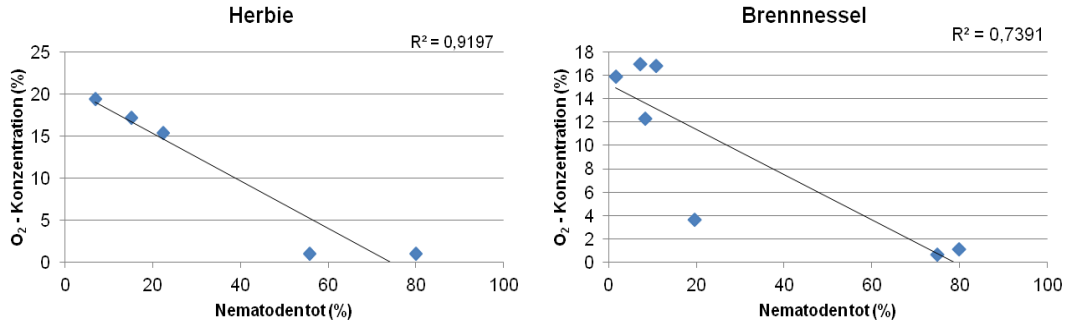

Abbildung 37: Lineare Korrelation zwischen der O_2-Konzentration (ppm) nach 192 h und dem Anteil toter Nematoden (%) für Herbie und Brennnessel nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit.

Bei der Korrelation mit H_2S zeigten sich Unterschiede zwischen den beiden Varianten (Abb. 38). Herbie wies nur eine schwache positive Korrelation (R^2 unter 0,5) auf, wohingegen Brennnessel eine starke positive Korrelation (R^2 über 0,8) zeigte.

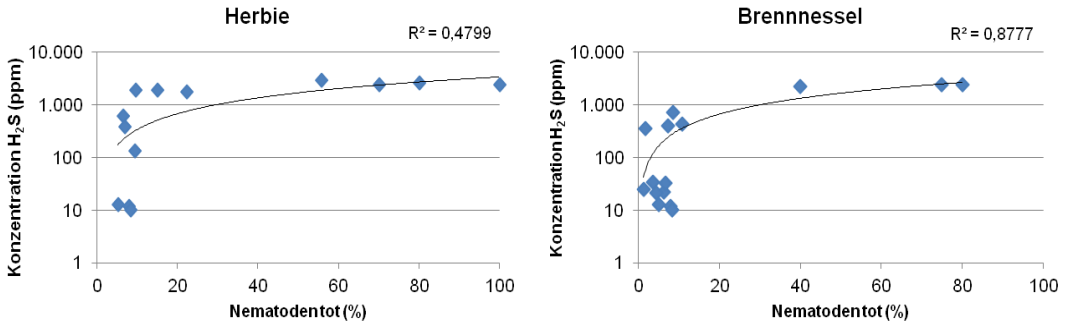

Abbildung 38: Lineare Korrelation zwischen der H_2S-Konzentration (ppm) nach 192 h und dem Anteil toter Nematoden (%) für Herbie und Brennnessel nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit.

4 Diskussion

Das GFLV stellt die ökonomisch bedeutendste Viruserkrankung der Rebe dar (Raski et al., 1983). Wie alle Viren ist es nicht in der Lage, selbstständig in Pflanzen einzudringen (Agrios, 2005). Als Vektor dient die ektoparasitäre Nematode *X. index* (Hewitt et al. 1958). Einen Weg den Virus zu kontrollieren, wäre, dessen Vektor zu bekämpfen und ihm somit die Möglichkeit der Ausbreitung zu nehmen. Derzeit gibt es allerdings keine Managementmethode, die Winzer gegen *X. index* einsetzen könnten (Andret-Link et al., 2004). Mit dem Wegfall chemischer Bekämpfungsmittel, die die bisherige Standardmethode zur Bekämpfung darstellten, müssen dem Winzer möglichst schnell neue Wege aufgezeigt werden, wie ein nachhaltiges Managementkonzept gegen *X. index* aussehen könnte. In dieser Arbeit wurde versucht, ein solches Konzept zu entwickeln. Hierfür musste zunächst eine geeignete Extraktionstechnik gefunden werden, um die Effektivität der danach folgenden Lock- und Bekämpfungsversuche gut evaluieren zu können.

4.1 Extraktionstechniken

Um zu beurteilen, ob bei einer Bekämpfung die gesamte Population ausgeschaltet bzw. bei den Lockversuchen alle Tiere angelockt wurden, war es nötig, eine Extraktionstechnik zu finden, die möglichst alle vorhandenen Tiere aus dem Boden extrahieren kann. Vier Techniken, die modifizierte Siebmethode nach Flegg, der Oostenbrink-Elutriator, die Hendrickx-Zentrifuge und die Baermann Filtermethode, wurden daher sowohl auf ihre Extraktionseffizienz als auch ihren Arbeitsaufwand hin untersucht.

Modifizierte Siebmethode nach Flegg

Die modifizierte Siebmethode nach Flegg wird in verschiedenen Arbeiten als leicht durchführbare und effiziente Methode beschrieben, um Nematoden zu extrahieren (Flegg, 1967; Brown & Boang, 1988). Zur Durchführung der Methode werden nur einfache Gerätschaften wie Eimer und Siebe benötigt und es sind keine besonderen Kenntnisse des Anwenders erforderlich (Flegg, 1967). Unsere Versuchsergebnisse bestätigten dies. Wie die Ergebnisse zeigten, wurden 100% der inokulierten Tiere wiedergefunden. Außerdem war diese Methode einfach und schnell durchführbar. Proben von 1,2 kg konnte innerhalb von 12 min aufgearbeitet werden, was ein Tagespensum von 20-30 Extraktionen ermöglichte. Ferner erlaubte es der eingesetzte Kunstboden,

auch größere Probenmengen als die von Flegg gebrauchten 200 g zu extrahieren, ohne dass die Proben aufgrund von Verunreinigung durch organisches Material nicht mehr auszählbar gewesen wären.
Der Versuch, die Probemenge auf 2,8 kg zu erhöhen, scheiterte. Dies lag v.a. daran, dass zu viel Bodenmaterial durch die Siebe in die Proben gespült wurde, was zu einer starken Trübung der Proben führte. Ein genaues Bestimmen und Auszählen der Nematoden war nicht mehr möglich.
Durch den sauberen Versuchsboden konnte auf Reinigung der Proben mit dem Baerman Filter verzichtet werden. Dies führte zu einer enormen Beschleunigung der Methode, da dieser Arbeitsschritt einen Zeitaufwand von ca. 24 h bedeutet hätte.
Die modifizierte Siebmethode nach Flegg erwies sich somit als effiziente Extraktionsmethode und kam in allen Versuchen zum Einsatz.

Methode nach Oostenbrink

Der Oostenbrink-Elutriator (Oostenbrink, 1954) ist eine weit verbreitete Methode, um Nematoden aus Bodenmaterial zu extrahieren (Verschoor & Goede, 2000). Sie ist leicht durchführbare und weist eine recht hohe Extraktionseffizienz auf (Verschoor & Goede, 2000; van Bezooijen, 2006). Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist ihre gute Standardisierbarkeit, da immer das gleiche Gerät, der Elutriator, verwendet werden kann (van Bezooijen, 2006). Die Methode nach Oostenbrink erbrachte für *X. index* gute Ergebnisse. Wie bei der Methode nach Flegg konnten ca. 100% der inokulierten Tiere aus dem Versuchsboden wiedergefunden werden. Die gewonnenen Proben waren sehr sauber und dies machte Auszählung und Bestimmung der Nematoden leicht durchführbar.
Arbeitstechnisch weist die Methode jedoch Nachteile auf. So kann mit ihr pro Durchgang lediglich eine Probenmenge von ca. 250 g aufgearbeitet werden (Verschoor & Goede, 2000). Dies ist bedingt durch die Bauweise des Elutriators, welcher in dieser Arbeit zur Verfügung stand und der keine größere Probenmenge aufnehmen konnte. Allerdings gibt es größere Elutriatoren, mit denen dieses Problem umgangen werden könnte. Weitere Nachteile gegenüber der Methode nach Flegg sind der hohe Wasserverbrauch sowie die hohen Kosten für den Kauf eines Elutriators und dessen Installation (van Bezooijen, 2006).

Methode mit der Hendrickx-Zentrifuge

Die Hendrickx-Zentrifuge vereint die Arbeitsschritte des sogenannten "centrifugal flotations" (Hendrickx, 1995). Diese Methode beruht auf der unterschiedlichen spezifischen Dichte von Nematoden und anderen Teilchen in der Probe (van Bezooijen, 2006). Die Probe wird in eine Lösung von Magnesiumsulfat ($MgSO_4$) gegeben, die eine höhere spezifische Dichte besitzt als die Nematoden. Mithilfe der Zentrifugalkraft sinken Teilchen, die eine höhere Dichte als $MgSO_4$ aufweisen, ab, die Nematoden mit geringerer Dichte steigen hingegen auf und können abgesaugt werden. Mit der Hendrickx-Zentrifuge können bis zu 250 g in einem Durchgang verarbeitet werden (van Bezooijen, 2006). Hinzu kommt, dass dieses vollautomatische Gerät bis zu 10 Proben gleichzeitig und standardisiert verarbeiten kann. Nachteilig sind zum einen die hohen Anschaffungskosten und der hohe osmotische Druck, der dafür sorgen kann, dass die Nematoden in der $MgSO_4$-Lösung platzen.

Die Methode mit der Hendrickx-Zentrifuge erwies sich als ineffizient, da nur ca. 15% der Tiere wiedergefunden werden konnten. Die Gründe hierfür könnten in einer falschen Dichte der verwendeten $MgSO_4$-Lösung gelegen haben, wodurch die Nematoden möglicherweise doch absanken. Die Lösungsdichte sollte nach Andrassy (1956) mindestens bei 1.084 $g*m^{-3}$ liegen.

Eine Möglichkeit, das Problem des zu schnellen Absinkens zu umgehen, wäre die Erhöhung der Flüssigkeitsdichte. Allerdings steigt hiermit auch der osmotische Druck der Lösung und das Risiko, dass Tiere platzen (van Bezooijen, 2006).

Filterpapiermethode nach Baermann

Wie die Methode mit der Hendrickx-Zentrifuge bringt auch die Filterpapiermethode nach Baermann ein schlechtes Ergebnis. So konnte lediglich eine Wiederauffindungsrate von 10% erreicht werden. Dies deckt sich mit Beobachtungen von Brown und Boag (1988). In anderen Arbeiten wurden allerdings auch mit dieser Methode hohe Extraktionserfolge erzielt. So verlor Flegg (1967) lediglich 5-15% der Tiere.

Es liegt nahe, dass der Porendurchmesser des Filterpapiers zu gering war und *X. index* es deshalb nicht passieren konnte. Fraglich ist jedoch, ob das Ziel des Abfilterns von Schmutzpartikeln bei einem größeren Porendurchmesser noch zu erreichen wäre.

Ein weiterer Nachteil der Filter-Methode ist, dass keine großen Probenmengen verarbeitet werden können.

4.2 Lockversuch

Eine der Hauptfragen dieser Arbeit war es, ob *X. index* aus einer Bodentiefe von 1,20 m an die Bodenoberfläche gelockt werden kann, um die Nematode dort besser bekämpfen zu können. Als Stimulus hierfür dienten drei Wirtspflanzen: Rebe, Tomate und Brennnessel. Eine 1,20 m lange Röhre, die mit Versuchsboden gefüllt war, diente als Modell des natürlichen Lebensraums. Um möglichst ideale Lebensbedingungen im Hinblick auf Temperatur, Feuchtigkeit und Licht sowohl für die Pflanzen als auch für *X. index* zu bieten, standen die Röhren in einer Klimakammer.

Methodik

Die auch nach zehn Wochen hohe Vitalität der Nematoden spricht dafür, dass die Lebensbedingungen innerhalb der Röhre für *X. index* optimal waren. So kam es nicht zu anaeroben Bedingungen oder zu einer Überhitzung innerhalb der Röhre. Aufgrund der Vitalität der Nematoden können größere Temperaturschwankungen ebenfalls ausgeschlossen werden, da Nematoden gegenüber solchen sehr empfindlich reagieren (Cohn & Mordechai, 1970). Somit erwies sich das Röhrendesign für den Versuch als optimal.

Als Boden wurde der reine Versuchsboden verwendet, welcher explizit als Medium für Nematodenversuche entwickelte wurde. Dieser hatte sich in früheren nematologischen Versuchen des PPO-agv bewährt und keinerlei negative Effekte auf die Vitalität und Aktivität der Nematoden ausgeübt.

Ergebnisse

Wie die Ergebnisse (siehe Kap. 3.2) zeigten, war es mit keiner der drei Wirtspflanzen möglich, die Nematoden nach oben zu locken. Sämtliche gefundenen Nematoden befanden sich nach vier und zehn Wochen im untersten Röhrenkompartiment. Bei einer genaueren Probeentnahme in einer der Röhren der Variante Brache, welche nach vier Wochen stattfand, konnte zudem festgestellt werden, dass die Nematoden vom Boden aus gesehen in einer ca. 30 cm dicken Schicht verblieben. Somit kam es lediglich zu einer Bewegung der Nematoden nach unten und nicht, wie vorgesehen, nach oben. Ob diese Bewegung aktiv stattfand oder die Nematoden lediglich in der Röhre nach unten transportiert wurden, lässt sich nicht sagen. Zwischen den Varianten mit verschiedenen Wirtspflanzen und der Variante ohne Wirtspflanze konnten keine Unterschiede beobachtet werden. Auch die Rebe, als Hauptwirt von *X. index*, zeigte keinen Anlockeffekt auf *X. index*.

Hierfür gibt es verschiedene mögliche Erklärungen:

1) Sinnesphysiologisch (CO_2-Gradient)
2) Ungeeignete Wirtspflanzen
3) Ernährungsphysiologisch
4) Boden-Physikalisch

Ad 1)

Nematoden nutzen verschiedene Wirtspflanzen. Für ihr Überleben ist es von essentieller Bedeutung, eine solche lokalisieren und sich zu dieser hinbewegen zu können. Pflanzenwurzeln bauen verschiedene Gradienten von volatilen und nicht-volatilen Komponenten auf, welche Nematoden zur Orientierung nutzen (Perry & Moens, 2011). Diese sind u.a. CO_2, Zucker, Aminosäuren, der pH-Wert, Feuchtigkeit und Temperatur. Zur Wahrnehmung dieser Komponenten besitzen Nematoden in ihrer Kopfregion Chemorezeptoren, die Amphiden (Perry, 1996). Anhand der Gradienten ist es für Nematoden möglich, sich in Richtung eines Wirtes zu orientieren. Über Langstrecken orientieren sich Nematoden an CO_2-Gradienten (Perry & Wright, 2004). In Studien konnte festgestellt werden, dass eine Nematode einen solchen Gradienten noch aus über 2 m Entfernung wahrnehmen kann, sofern ein kräftiges Wurzelsystem vorhanden ist (Dusenbery, 1987). Bei einer Röhrenlänge von 1,20 m und dem guten Wurzelwachstum der Pflanzen hätte sich ein solcher Gradient potentiell aufbauen können. Allerdings ist nicht sicher, ob die zehnwöchige Versuchslaufzeit ausreichend war, um einen CO_2-Gradienten innerhalb der gesamten Röhre zu etablieren.

Ad 2)

Die Rebe stellt in der Natur den Hauptwirt von *X. index* dar. Es ist deshalb zum einen anzunehmen, dass die Nematode in der Lage ist, diese auch zu finden. Dies konnte von Feil (2007) in einem Versuch mit Agarmedium und Rebsämlingen bestätigt werden. Zum anderen sollte von der Rebe als wichtigste Wirtspflanze die stärkste Anziehung auf die Nematode ausgehen. Allerdings wurde in verschiedenen Arbeiten nachgewiesen, dass auch die Rebsorte Einfluss auf die Wirtseignung nimmt (Gutierrez-Gutierrez et al., 2011). Möglicherweise war die in diesem Versuch eingesetzte Rebsorte wenig attraktiv und es erfolgte deshalb zu keine aktive Wanderung der Tiere.

Ad 3)

Die Nahrungssuche ist der Hauptgrund weshalb Nematoden sich durch den Boden bewegen. In diesem Zusammenhang bestand in der vorliegenden Arbeit das Problem, dass das verwendete Nematodeninokulat trotz Aufreinigung viele Wurzelstückchen aus den Feigentopfen enthielt. Während der Inokulation der Nematoden in die Röhren wurde somit potentielle Nahrung für *X. index* eingebracht. Untersuchungen haben gezeigt, dass *X. index* sich an solchen Resten sehr lange ernähren kann und somit für die Nematode kein Anreiz besteht, aktiv zu lebenden Wurzeln zu wandern (Demangeat et al., 2005). Möglicherweise hätte eine solche Bewegung der Nematoden stattgefunden, sobald die vorhandene Nahrungsquelle nicht mehr zur Verfügung gestanden hätte. Hierfür könnte die zehnwöchige Versuchslaufzeit jedoch zu kurz gewesen sein. In folgenden Arbeiten sollten daher darauf geachtet werden, ein komplett aufgereinigtes Inokulat zu verwenden. Hierzu ist die Entwicklung weiterer Aufreinigungsschritte nötig.

Ad 4)

Ein weiterer Grund für die fehlende Bewegung der Nematoden innerhalb der Röhren könnte in der strukturelle Beschaffenheit des Versuchsbodens liegen. Sowohl die Vitalität der Nematoden als auch das gute Pflanzenwachstum am Ende des Versuches sprechen dafür, dass für das Überleben von Pflanzen und Nematoden die Struktur des verwendeten Versuchsbodens geeignet war. Da keine gerichtete Bewegung bzw. überhaupt eine Bewegung beobachtet werden konnte, könnte es für *X. index* jedoch unmöglich gewesen sein, sich im Boden zu bewegen. Die Tatsache, dass Nematoden am Boden der Röhre gefunden wurden, könnte auf einen passiven Transport durch Wasser zurückgehen und nicht das Ergebnis einer gezielten Bewegung sein.

Bodenbewohnende Nematoden sind meist zwischen 0,1 und 3 mm lang und zwischen 15 und 20 µm breit (Perry & Moens, 2011). Durch diese geringe Körpergröße sind sie selbst nicht in der Lage, den Boden umzuformen, und somit bei ihrer Fortbewegung auf bereits vorhandene Bodenstrukturen wie Poren oder Kanäle angewiesen (Neher, 2010). Somit könnte ein Grund, weshalb *X. index* bei dem vorliegenden Versuch keine Bewegung zeigte, im Fehlen eben dieser Strukturen zu suchen sein. Ein Vergleich der Struktur des Versuchsbodens mit Bodenaufnahmen aus einem Befallsgebiet in Baden-Württemberg zeigt, dass im dortigen Boden der Anteil grober Strukturen (z.B. kleine Steine) wesentlich höher ist. Möglicherweise benötigt die Nematode derartige Strukturen für eine Bewegung. Im Versuchsboden fehlten solche gröberen Strukturen. In folgenden Studien sollte der Einfluss der Bodenstruktur auf die Bewegungsfähigkeit von *X. index* genauer untersucht werden.

Neben den erwähnten strukturellen Eigenschaften spielt auch die Bodenfeuchtigkeit eine wesentlich Rolle bei der Bewegung der Nematoden. Diese benötigen einen Wasserfilm, der sich um Bodenpartikel bildet, um sich fortzubewegen (Neher, 2010). Sie besitzen dabei ein Feuchtigkeitsoptimum. In Versuchen mit *X. index* wurde eine Optimum der Bodenfeuchtigkeit zwischen 6% und 15% ermittelt (Sultan & Ferris, 1991; Diop et al., 2001). Die Feuchtigkeit am Anfang des Versuches betrug 14% und lag somit im Idealbereich für *X. index*. Während der Versuche wurde den Röhren Wasser zugeführt, um das Pflanzenwachstum zu optimieren. Innerhalb der Röhre könnte sich dadurch ein Wassergradient aufgebaut haben, welcher nicht mehr optimal für die Migration der Nematoden durch die Röhre war. So meidet *X. index* sowohl trockene als auch feuchtigkeitsgesättigte Böden, da hier ihre Überlebensrate sehr gering ist (Sultan & Ferris, 1991). Bei sehr trockenem Boden liegt dies wohl an der schlechten Anpassung von *X. index* an Austrocknung, bei sehr feuchten Böden am Entzug von Sauerstoff (Sultan & Ferris, 1991). Falls sich in einer Schicht in der Röhre ein solcher, für *X. index* suboptimaler Feuchtigkeitszustand eingestellt haben sollte, könnte dies die Bewegung verhindert haben. Wie die Ergebnisse zeigten, konnten Nematoden am Boden der Röhre gefunden werden. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass sich Feuchtigkeit am Boden der Röhre gesammelt hatte und sich die Nematoden somit nur nach unten bewegten.

4.3 Bekämpfungsstrategie

Wie die Ergebnisse zeigen, war es mit einer 1%igen Konzentration sowohl bei Herbie als auch bei Brennnessel möglich, die gesamte Nematodenpopulation im Zuge der BSD abzutöten. Schon nach zweiwöchiger Versuchslaufzeit kam es zu einer signifikanten Reduktion der Vitalität und Aktivität von *X. index* und nach weiteren zwei Wochen waren keine lebenden Nematoden mehr zu finden. Der hohe Wirkungsgrad beider Varianten deckt sich mit Ergebnissen anderer BSD-Versuche, bei denen neben verschiedenen Schadpilzen auch Nematoden signifikant reduziert wurden (Blok et al 1999, Messiha et al. 2007, Momma et al. 2007, Momma 2008). Geht man von der derzeitigen Empfehlung einer 8 bis 10 Jahre dauernden Brache auf mit *X. index* befallenen Flächen aus (Andret-Link et al. 2004), ist eine solche Reduktion der Nematodenzahl in so kurzer Zeit ein großer Erfolg.

Die geringe Anzahl lebender Tiere, die bei der Herbie-Variante gefunden wurden, deutet auf einen Wirkungsunterschied zur Brennnessel-Variante hin. Herbie und Brennnesselmaterial besitzen eine unterschiedliche Zusammensetzung. Hinzu kommt, dass die Zusammensetzung von Herbie als industriell hergestelltem Produkt genau festge-

legt ist, während reines Brennnesselmaterial in der Zusammensetzung schwanken kann. Aufgrund dessen wurden möglicherweise während des Fermentationsprozesses unterschiedliche Stoffe bzw. andere Konzentrationen der gleichen Stoffe freigesetzt. Allerdings ist die abweichende Zahl der gefundenen lebenden Nematoden so klein, dass auch eine Ungenauigkeit während des Extraktionsvorganges nicht auszuschließen ist. So könnten z.B. lebende Nematoden aus vorhergehenden Extraktionen auf dem verwendeten Sieb verblieben sein.

Bei Herbie zeigen sich bei den Konzentrationen 0,01% und 0,1% nach vier Wochen ebenfalls signifikante Unterschiede zur Kontrolle, allerdings bleibt der Wirkungsgrad weit hinter dem der 1%igen Konzentration zurück. Von der zweiten bis zur vierten Woche stieg die Mortalität der Konzentrationen 0,01% und 0,1% signifikant an. Ob der Anstieg an diesem Punkt seinen Höhepunkt erreichte oder ob bei längerer Laufzeit eine weitere Zunahme erfolgt wäre, sollte der Gegenstand weiterer Studien sein. Die Konzentrationen 0,01% und 0,1% der Brennnessel-Varianten zeigen hingegen weder nach zwei noch nach vier Wochen einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

Im Gegensatz zur Herbie- und Brennnessel-Variante weist die luftdicht verschlossene Kontrolle, in die kein organisches Material eingebracht worden war, keine signifikante Reduktion der *X. index*-Population auf. Dies verdeutlicht den Zusammenhang zwischen der eingebrachten organischen Substanz und der Mortalität von *X. index*. Erst durch den bakteriellen Abbau des organischen Materials kommt es zu Anaerobie und zur Bildung von nematiziden Substanzen. Auch andere Arbeiten kamen zum Ergebnis, dass erst die Kombination von Mikroorganismen und leicht abbaubarem organischen Material zum Bekämpfungserfolg führt (Messiha et al 2007, Momma et al 2008).

Neben dem hohen Prozentsatz von 100% abgetöteter Nematoden bei den 1%igen Konzentrationen zeigt auch die Gasmessung, dass der BSD-Prozess erfolgreich ablief. Bei Herbie und Brennnessel fallen bei den 1%igen Konzentrationen schon nach 20 h die Sauerstoffwerte so stark ab (zwischen 4% und 5%), dass von Anaerobie gesprochen werden kann. Zudem nimmt CO_2 innerhalb der ersten 192 h des Versuches stark zu, was mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Aktivität von Mikroorganismen zurückzuführen ist. Dies deckt sich mit Beobachtungen von Messiha et al. (2007), welche die Bildung von CO_2 ebenfalls auf die Aktivität von Bakterien zurückführen. Auch die Korrelation zwischen CO_2-Gehalt und dem prozentualen Anteil toter Tiere bestätigt diese Beobachtung. Die hohe Korrelation kann zum einen auf einen direkten nematiziden Effekt von CO_2 zurückgehen (s.u.) oder es kann sich um eine Gemeinsamkeitskorrelation (Köhler et al. 2007) handeln. Letzteres würde bedeuten, dass von keinem direkten Zusammenhang, also dem erwähnten direkten Effekt von CO_2, ausgegangen werden kann, sondern die Korrelation auf eine erhöhte Zahl Bakterien und die von diesen pro-

duzierten nematiziden Stoffe zurückzuführen ist. Auch die Tatsache, dass H_2S, CH_4 und N_2O gebildet wurden, spricht für rege mikrobielle Aktivität (Messiha et al. 2007).
Auch die Ergebnisse der Gasmessung verdeutlichen, dass in der Kontrolle ohne organisches Material der Prozess der BSD nicht stattfand. So kam es weder zu einer Reduktion des Sauerstoffs noch nahmen Gase wie CO_2, CH_4 oder N_2O zu.

Nematizide Effekte

In der vorliegenden Arbeit konnten sowohl nematizide als auch nematostatische Effekte beobachtet werden. Für die nematiziden Effekte können mehrere Ursachen verantwortlich sein:

1) Anaerobie,
2) Fettsäuren,
3) Einfluss von Gasen.

Ad 1)

Die Anaerobie trat bei den 1%igen Varianten sehr schnell auf (s.o.) und hielt die gesamte Versuchslaufzeit an. In anderen Arbeiten verfielen Nematoden unter Anaerobie zunächst in einen Ruhezustand (s.u.) und starben dann ab (Qui 2000, Van Vorhies & Ward 2000). Diese Beobachtung könnte auch auf *X. index* zutreffen und die Mortalität in der vorliegenden Arbeit erklären. Auch die starke Korrelation zwischen sinkendem O_2-Gehalt und dem prozentualen Anteil toter Tiere deutet auf einen Zusammenhang hin. Auch hier besteht, wie für CO_2 beschreiben, die Möglichkeit einer Gemeinsamkeitskorrelation. Neben der direkten nematiziden Wirkung der Anaerobie, ist diese in Verbindung mit Bakterien, welche während der Fermentation toxische Nebenprodukte bilden, wichtig.

Ad 2)

Eine der Hauptursachen für das Absterben von Nematoden während der BSD sind vermutlich organische Fettsäuren (Momma 2008). Sie entstehen während der Fermentation organischer Substanz unter Anaerobie durch Bakterien. In vielen Arbeiten wurde die Toxizität der Fettsäuren gegenüber Nematoden beobachtet (Banage & Visser 1965; Browning et al. 2004; Momma et al. 2006). Durch die vermutete hohe bakterielle Aktivität liegt die Annahme nahe, dass auch in der vorliegenden Arbeit solche Fettsäuren gebildet wurden und für das Absterben von *X. index* mitverantwortlich sind. In fol-

genden Arbeiten sollte untersucht werden, welche Fettsäuren genau entstehen und welche Wirkung sie auf *X. index* haben.

Ad 3)

Verschiedene Gase können nematizide Wirkung ausüben (Oka 2010). Auch im Hinblick auf die nematizide Wirkung der BSD spielen Gase eine Rolle (Momma 2008). In der vorliegenden Arbeit entstanden z.T. hohe Gaskonzentrationen, beispielsweise von H_2S. Die nematizide Wirkung von H_2S konnte bereits in einem Versuch nachgewiesen werden (Rodriguez-Kabana et al. 1965). Allerdings wurden bei der 0,1%iger Konzentration von Herbie sehr hohe H_2S-Werte gemessen, aber es konnte dennoch keine signifikant höhere Mortalität festgestellt werden. Für viele Gase steht ein Nachweis einer nematiziden Wirkung noch aus (Oka 2010).

Nematostatische Effekte

Neben den nematiziden Effekten konnten während der Versuche auch nematostatische beobachtet werden. Für diese können mehrere Ursachen verantwortlich sein:

1) Anaerobie,
2) Organische Verbindungen.

Ad 1)

Nematoden können in einen Ruhezustand verfallen, wenn sie anaeroben Bedingungen ausgesetzt werden (Qiu 2000). Es wurde beobachtet, dass der Ruhezustand aufgehoben werden konnte, indem die Nematoden wieder mit Sauerstoff in Kontakt gebracht wurden (Qui 2000). In dieser Arbeit konnten unbewegliche Nematoden durch einen mechanischen Reiz wieder in Bewegung versetzt werden. Die meisten unbeweglichen Tiere kamen in den niedrigen Konzentrationen vor, in denen keine Anaerobie vorlag. In den Eimern mit Anaerobie waren die meisten Tiere abgestorben. Ein möglicher nematostatischer Effekt der Anaerobie wurde vermutlich durch die nematizide Wirkung der Fermentationsprodukte überlagert. Dennoch könnte sie zur Mortalitätsrate beigetragen haben.

Ad 2)

Für viele Stoffe wurden in letzten Jahren nematostatische Effekte nachgewiesen, wie ein Extrakt des Wandelröschens (*Lantana camara*) (Ahmad 2010). In der vorliegenden Arbeit könnten sowohl die volatilen Stoffe als auch die nicht-volatilen Stoffe für solche Effekte gesorgt haben. Mit der Extraktion der Tiere und der Überführung in sauberes Wasser zur Auszählung wurde der Kontakt zu diesen Stoffen unterbunden. Durch den erwähnten mechanischen Reiz bewegten sich die Tiere wieder. Da v.a. in den niedrigen Konzentrationen, sowohl von Herbie als auch von Brennnessel, unbewegliche Tiere gefunden werden konnten, liegt die Vermutung nahe, dass es sich um einen konzentrationsbedingten Effekt handelt. So starben die Tiere bei hoher Konzentration ab und verfielen bei niedrigen Konzentrationen lediglich in einen Ruhezustand. Ein solcher Schutzmechanismus, bei denen sich die Tiere eine gewissen Zeit vor schädlichen Umwelteinflüssen schützen können, wurde bei verschiedenen Stoffen nachgewiesen (McSorley 2003). Für die weinbauliche Praxis ist ein nematostatischer Effekt nicht ausreichend, da solche Tiere weiterhin als Virusüberträger fungieren können, sobald der Effekt nachlässt oder aufgehoben wird und die Tiere sich wieder bewegen.
Sowohl bei den nematiziden als auch bei den nematostatischen Effekten bleibt anzumerken, dass sie das Resultat von synergistischen oder additiven Effekten sein können (Browning et al. 1999, Chitwood 2002, Momma et al. 2006). So wirken geringer pH-Wert, toxische Komponenten, Anaerobie und weitere Effekte wohl zusammen.

Praxisorientierte Aspekte

Neben der direkten Wirkung der BSD müssen auch praxisorientierte Aspekte berücksichtigt werden, um den Erfolg der Methode zu begründen. Hier stehen v.a. zwei Punkte im Mittelpunkt:

1) Material (Kosten und Verfügbarkeit)
2) Umweltaspekte

Ad 1)

Brennnesselmaterial dürfte generell leichter zu beschaffen sein als Herbie. Saatgut für Brennnessel ist im Handel bei mehreren Anbieter erhältlich, während Herbie nur von einer Firma vertreiben wird. Außerdem besteht bei Brennnessel für den Landwirt die Möglichkeit, es selbst anzubauen. Die Kosten von Herbie belaufen sich im Moment auf ca. 3000 bis 4000 Euro/ha, die Kosten für Brennnessel auf ca. 700 Euro/ha (Saatgutkosten ohne Arbeitsaufwand bei 35 Samen/m²). Allerdings stehen Versuche dazu aus,

wie viel Brennnesselmaterial/ha für einen Bekämpfung nötig ist, und deshalb können die Kosten nur als Schätzung dienen. Ein Vorteil von Herbie liegt in der vom Hersteller garantierten, gleichbleibenden Zusammensetzung. Demgegenüber unterliegen die Inhaltstoffe der Brennnessel, abhängig von Umweltfaktoren, großen Schwankungen und somit ist auch mit Schwankungen der Wirkung zu rechnen.

Ad 2)

Da bei der BSD nur pflanzliches Material zum Einsatz kommt, gehen die meisten Autoren von einem geringeren negativen Einfluss auf die Umwelt aus als beim Einsatz von chemischen Mitteln (Blok et al. 2000, Momma 2008). Außerdem stellt im Hinblick auf das Verbot fast aller Nematizide die BSD als biologisches Verfahren eine geeignete Alternative dar. Allerdings bleibt zu bemerken, dass auch ein biologisches Verfahren negative Wirkungen auf die Umwelt besitzen kann. So bewirkt die BSD große Veränderungen im Boden und es könnten neben den Pathogenen auch nicht-schädliche Bodenorganismen abgetötet werden (Blok et al. 2000). Auch könnte es Pathogenen, welche den Prozess überstehen, möglich sein, sich nach der BSD schneller auszubreiten, da die Konkurrenten weggefallen sein könnten (Blok et al. 2000). Deshalb sollte auch ein biologisches Verfahren wie die BSD mit Bedacht angewendet werden.
Neben dem hohen Erfolg bei der Schädlingsbekämpfung hat die BSD noch weitere Vorteile. Sie ist, im Vergleich zu ähnlichen Methoden wie der Bodensterilisation mit Dampf, kostengünstig und weniger energieaufwendig (Blok et al. 1999). Außerdem lässt sie sich recht einfach durchführen. Der größte Kostenanteil entfällt auf die im Freiland benötigte Folie, um eine Sauerstoffnachlieferung durch die Luft zu unterbinden (Messiha et al. 2007). Allerdings dürften besonders in Sonderkulturen, in denen eine hohe Gewinnerwartung herrscht, wozu neben Erdbeeren, Spargel und anderen Kulturpflanzen auch Wein zu zählen ist, die Kosten im Vergleich zum Nutzen niedrig sein (Blok et al. 1999).

5 Literatur

Aballay, E.; Sepulveda, R.; Insunza, V. (2004): Evaluation of five nematode antagoistic plants used as green manure to control *Xiphinema index*. Thorne et Allen on *Vitis vinifera* L. Nematropica 34 (1): 45-51.

Abawi, G. S.; Widmer, T. L. (2000): Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. Applied Soil Ecology 15: 37-47.

Agrios, G. N. (2005): Plant pathology. 5. Auflage. Amsterdam; Boston: Elsevier Academic Press.

Ahmad, F.; Rather, M.A.; Siddiqui, M.A. (2010): Nematicidial activity of leaf extracts from *Lantana camara* L. against *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chit wood and its use to manage roots infection of *Solanum melongena* L.. Brazilian archives of Biology and Technology 53 (3): 543-548

Andrássy, I. (1956): Die Rauminhalts- und Gewichtsbestimmung der Fadenwürmer (Nematoden). Acta Zoologica, Budapest 2: 1-15.

Andret-Link, P.; Laporte, C.; Valat, L.; Ritzenthaler, C.; Demangeat, G.; Vigne, E. (2004): Grapevine fanleaf virus: Still a major threat to the grapevine industry. Journal of Plant Pathology 86 (3): 183-195.

Baermann, G. (1917): Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. Geneesk. Tijdschr. Nederl. Indie. 57: 131-7.

Banage, W.B.; Visser, A. (1965): The effect of some fatty acids and pH on a soil nematode. Nematologica 11: 255-262.

Bello, A.; Arias, M.; Lopez-Perez, J. A.; Garcia-Alvarez, A.; Fresno, J.; Escuer, M. (2004): Biofumigation, fallow, and nematode management in vineyard replant. Nematropica 34 (1): 53-64.

Benton-Jones, J (2008): Tomato plant culture: in the field, greenhouse, and home garden. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group.

Bezooijen van, J. (2006): Methods and techniques for nematology. Wageningen.

Blok, W. J.; Lamers, J. G.; Termorshuizen, A. J.; Bollen, G. J. (2000): Control of soil borne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. Phytopathology 90: 253-259.

Bongers, T. (1994): De nematoden van Nederland. Een identificatietabel voor de in Nederland aangetroffen zoetwater- en bodembewonende nematoden. 2. Auflage. Utrecht: Stichting Uitg. KNNV (Natuurhistorische Bibliotheek van de KNNV, 46).

Börner, H.; Schlüter, K. (2009): Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. 8. Auflage. Berlin: Springer Verlag.

Bovey, R.; Gärtel, W.; Hewitt, W.B.; Martelli, G.P.; Vuittenez, A. (eds.) (1990): Soil-borne viruses transmitted by nematodes. In: Virus and virus-like diseases of grapevines, pp. 46-50. Editions Payot, Lausanne, Switzerland.

Brown, D. J. F.; Boag, B. (1988): An Examination of methods used to extract virus-vector nematodes (nematoda: Longidoridae and Trichodoridae) from soil samples. Nematologica mediterranea. 16: 93-99.

Brown, D. J. F.; Coiro, M. I. (1985): The reproductive capacity and longevity of *Xiphinema index* (Nematoda: Dorylaimida) from three populations on selected host plants. Review Nematology 8 (2): 171-173.

Browning, M.; Dawson, C.; Alm, S. R.; Gorres, J. H.; Amador, J.A. (2004): Differential effects of butyric acid on nematodes from four trophic groups. Applied Soil Ecology 27: 47-54.

Castilloa, P. (2011): Host suitability of *Vitis* rootstocks to root-knot nematodes *(Meloidogyne spp.*) and the dagger nematode *Xiphinema index*, and plant damage caused by infections. Plant Pathology 60: 575-585.

Chen, Z. X. (Hg.) (2004): Nematology - Advances and Perspectives: Nematode management and utilization. Wallingford: CABI Publishing

Chitwood, D. J. (2002): Phytochemical based strategies for nematode control. Annual Review of Phytopathology 40: 221-249.

Cohn, E.; Mordechai, M. (1969): Investigations on life cycles and host preference of some species of *Xiphinema* and *Longidorus* under controlled conditions. Nematologica 15 (3): 295-302.

Cohn, E.; Mordechai, M. (1969): Investigations on life cycles and host preference of some species of *Xiphinema* and *Longidorus* under controlled conditions. Nematologica 15 (3): 295-302.

Cohn, E.; Mordechai, M. (1970): Influence of some environmental and cultural conditions on rearing populations of *Xiphinema* and *Longidorus*. Nematologica 16 (1): 85-92.

Coiro, M. I.; Brown, D. J. F. (1982): Status of some plants as hosts for individual *Xiphinema index* from populations from France, Israel, Italy and the USA. Nematologica 28 (2): 140-140.

Coiro, M. I.; Serino, M. (1991): Possible herbaceous hosts for *Xiphinema index* in virus transmission experiments. Nematologia Mediterranea 1991 19: 251-252.

Corio, M. I.; Brown, D. J. F.; Lamberti, F. (1990): Reproduction of *Xiphinema index* (Nematoda: Dorylaimida) on five plant species. Nematologica 36: 474-483.

Cotton, J. (1973): Feeding behaviour and reproduction of *Xiphinema Index* on some herbaceous test plants. Nematologica 19: 516-520.

Das, S.; Raski, D. J. (1968): Vector-efficiency of *Xiphinema Index* in the transmission of grapevine fanleaf virus. Nematologica 14: 55-62.

Demangeat, G.; Voisin, R.; Minot, J. C.; Bosselut, N.; Fuchs, M.; Esmenjaud, D. (2005): Survival of *Xiphinema index* in vineyard soil and retention of Grapevine fanleaf virus over extended time in the absence of host plants. Phytopathology 95 (10): 1151-1156.

Dias, H. F. (1963): Host range and properties of grapevine fanleaf and grapevine yellow mosaic viruses. Annual Applied Biology 51 (1): 85-87.

Diop, M. T.; Dieme, J. H.; Mounport, D.; Baujard, P. (2001): Laboratory culture of two *Xiphinema americanum*-group species (Nematoda: Longidoridae) from Senegal. In: Nematology 3: 411–415.

Djian, C.; Pijarowski, L.; Ponchet, M.; Arpin, N.; Favre Bonvin, J. (1994): Acetic acid: a selective nematicidal metabolite from culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma longibrachiatum*. Nematologica 37: 101-112.

Drews, G.; Adam, G.; Heinze, C. (2004): Molekulare Pflanzenvirologie. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag.

Dusenbery, D. B. (1987): Theoretical range over which bacteria and nematodes locate plant roots using carbon dioxide. Journal of Chemical Ecology 13 (7).

Ellenby, C. (1969): Dormancy and survival in nematodes. Symp. Soc. Exp. Biol. 23: 83-97.

El-Sayed, A. M.; Suckling, D. M.; Byers, J. A.; Jang, E. B.; Wearing, C. H. (2009): Potential of “lure and kill” in long-term pest management and eradication of invasive species. Journal of Economic Entomology 102 (3): 815-835.

Feil, N. (2007): Untersuchungen zur Interaktion zwischen dem virusübertragenden Nematoden *Xiphinema index* und verschiedenen *Vitis*-Spezies - Etablierung eines Indikatorsystems. (Dissertation) Technischen Universität Kaiserslautern.

Flegg, J. J. (1967): Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb`s decanting and sieving technique. Annual Applied Biology 60: 429-437.

Greco, N.; Esemenjaud, D. (2004): Management strategies for nematode control in Europe. Nematology Monographs & Perspectives 2: 33-43.

Gutierrez-Gutierrez, C.; Palomares, J. E.; Jimenez-Diaz, R. M.; Castilloa, P. (2011): Host suitability of *Vitis* rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*) and the dagger nematode *Xiphinema index*, and plant damage caused by infections. Plant Pathology 60: 575-585.

Halbrendt, J. M.; LaMondia, J. A. (2004): Crop rotation and other cultural practices. In Chen, Z. X. (Hg.): Nematology - Advances and perspectives: nematode man agement and utilization. Wallingford: CABI Publishing.

Hendrickx, G.A. (1995): Automatic apparatus for extracting free-living nematodes stages from soil. Nematologica 41: 30.

Hewitt, W. B.; Raski, D. J.; Goheen, A. C. (1958): Nematode vectors of soil-borne virus of grapevines. Phytopathology 48: 586-595.

Horvath, J.; Tobias, I.; Hunyadi, K. (1994): New natural herbaceous hosts of grapevine fanleaf nepovirus. Horticultural Science 26: 31-32.

Izadpanah, K.; Zaki-Aghl, M.; Zhang, Y. P.; Daubert, S. D.; Rowhani, A. (2003): Bermuda grass as a potential reservoir host for grapevine fanleaf virus. Plant Disease 87 (10): 1179-1182.

Köhler, W.; Schachtel, G.; Voleske, P. (2007): Biostatistik. 4. Auflage Berlin: Springer Verlag.

Laimer, M.; Lemaire, O.; Herrbach, E.; Goldschmidt, V.; Minafra, A.; Bianco, P.; Wetzel T. (2009): Resistance to viruses, phytoplasmas and their vectors in the grape vine in Europe: a review. Journal of Plant Pathology 91: 7-23.

Lamberti, F. (1981): Combating nematode vectors of plant viruses. Plant Disease 65 (2): 113-117.

Lucas, J. A. (2011): Advances in plant disease and pest management. The Journal of Agricultural Science 149 (1): 91-114.

Malik, Z.; Jairajpuri, M. S. (1984): Effect of pH and some mineral salts and fatty acids on survival of *Xiphinema americanum*. Nematologica mediterranea 12: 73-79.

Martelli, G. P.; Savino, V. (Hg.) (1991): Fanleaf degeneration. Unter Mitarbeit von R.C Pearson und A. Goheen. St. Paul, MN: APS Press (Compendium of Grape Diseases).

Messiha N. A. S; van Diepeningen, A. D.; Wenneker, M.; van Beuningen, A. R.; Janse, J. D.; Coenen, T. G. C.; Termorshuizen, A. J.; van Bruggen, A. H. C.; Blok, W. J. (2007): Biological Soil Disinfestation (BSD), a new control method for potato brown rot, caused by *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2. European Journal of Plant Pathology117: 403-415.

Momma, N. (2008): Review - Biological Soil Disinfestation (BSD) of soilborne pathogens and its possible mechanisms. JARQ 42 (1): 7-12.

Momma, N.; Momma, M.; Kobara, Y. (2010): Biological soil disinfestation using ethanol: effect on *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersic*i and soil microorganisms Journal of General Plant Pathology 76: 336-344.

Momma, N.; Yamamoto, K.; Simandi, P.; Shishido, M. (2006): Role of organic acids in the mechanisms of biological soil disinfestation (BSD). Journal of General Plant Pathology 72: 247-252.

Müller, E.; Lipps, H. P.; Walg, O. (2008): Der Winzer - Weinbau. Stuttgart: Eugen Ulmer.

Neher, D. A. (2010): Ecology of plant and free-living nematodes in natural and agricultural soil. Annual Review of Phytopathology 48: 371-394.

Oka, Y. (2010): Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments-A review. Applied Soil Ecology 44: 101-115.

Oostenbrink, M. (1954): Een doelmatige methode voor het toetsen van aaltjesbestrijdingsmiddelen in grond met Hoplolaimus uniformis als proefdier. Mededelingen van de Landbouwhogeschool Gent 19: 377-408.

Ottow, J. C. G. (2011): Mikrobiologie von Böden. Biodiversität, Ökophysiologie und Metagenomik. Mikrobiologie von Böden. Berlin Heidelberg: Springer Verlag.

Perry, Moens (2011): Introduction to Plant-Parasitic Nematodes; Modes of Parasitism. in Johns, J.; Gheysen, G.; Fenoll, C. (eds.): Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions. Springer Verlag.

Perry, R. N. (1996): Chemoreception in plant parasitic nematodes. Annual Review Phytopathology. 34: 181-199.

Perry, R. N.; Wright, D. J. (Hg.) (2004): The physiology and biochemistry basis of behaviour.

Philis, J. (1993): Distribution an ecology of *Xiphinema index* in Cyprus. Nematologia Mediterranea 21: 139-142.

Pinkerton, J. N.; Mojtahedi, H.; Santo, G. S.; Obannon, J. H. (1987): Vertical migration of *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne hapla* under controlled temperature. Journal of Nematology 19 (2): 152-157.

Quacquarelli, A.; Gallitelli, D.; Savino, V.; Martelli, G. P. (1976): Properties of gra pevine fanleaf virus. Journal of General Virology 32 (3): 349-360.

Radewald, J. D.; Raski, D. J. (1962): Studies on host range and pathogenicity of *Xiphinema index*. Phytopathology 52 (8): 748-749.

Raski, D. J.; Goheen, A. C.; Lider, L. A.; Meredith, C. P. (1983): Strategies against grapevine fanleaf virus and its nematode vector. Plant Disease 67 (3): 335-339.

Rathay, E. (1889): Die Gabler oder Zwiewipflerreben. Österreichische Botanische 3: 316-320.

Rodriguez-Kabana, R.; Jordan, J. W.; Hollis, J. P. (1965): Nematodes: Biological control in rice fields: role of hydrogen sulfide. Science 148 (3669): 524-526.

Rühm, R.; Dietsche, E.; Harloff, H.-J.; Lieb, M.; Franke, S.; Aumann, J. (2002): Characterisation and partial purification of a white mustard kairomone that attracts the beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*. Nematology 5 (1): 17-22.

Sayre, R.M.; Patrick, Z.A.; Thorpe, J. (1965): Identification of a selective nematicidal component in extracts of plant residues decomposing in soil. Nematologica 11: 263-268.

Schopfer, P.; Brennicke, A. (2010): Pflanzenphysiologie. 7. Auflage. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Siddiqi, M. R. (1974): Systematics of the genus *Trichodorus* Cobb. 1913 (Nematoda: Dorylaimida), with descriptions of three new species. Nematologica 19: 259-278.

Sijmons, P. C. (1993): Plant-nematode interactions. Plant Molecular Biology 23 (5): 917-931.

Sorley, R.M.C. (2003): Adaptations of nematodes to environmental extremes. Florida Entomologist 86 (2).

Spence, K. O.; Lewis, E. E.; Perry, R. N. (2008): Host-finding and invasion by entomopathogenic and plant-parasitic nematodes: evaluating the ability of laboratory bioassays to predict field results. In: Journal of Nematology 2008 40: 93-98.

Spiegel, Y.; Robertson, W. M.; Himmelhoch, S.; Zuckermann, B. M. (1983): Electron microscope characterization of carbohydrate residues on the body wall of *Xiphinema index*. Journal of Nematology 15: 528-534.

Statistisches Bundesamt (2005): http://www.destatis.de.

Stephenson, W. (1945): The effects of acids on a soil nematode. Parasitology 36: 158-164.

Sultan, A. S.; Ferris, H. (1991): The effect of soil moisture and soil particle size on the survival and population increase *of Xiphinerna index*. In: Revue Nematology 14 (3): 345-351.

Taylor, C. E.; Brown, D. J. F. (1997): Nematode vectors of plant viruses. 1. Auflage. Oxen; New York: CAB International.

Taylor, C. E.; Raski, D. J. (1964): On the Transmission of Grape Fanleaf by *Xiphinema index*. Nematologica 10: 489-495.

Taylor, C. E.; Robertson, W. (1970): Sites of virus retention in alimentary tract of nematode vectors, *Xiphinema diversicaudatum* (Micol.) and *X. index* (Thorne and Allen). Annual of Applied Biololgy 66 (3): 375-380.

The Local Monitoring Committee; Lemaire, O.; Moneyron, A.; Masson, J. E. (2010): „Interactive Technology Assessment'' and Beyond: the Field Trial of Genetical ly Modified Grapevines at INRA-Colmar. PLoS Biololgy 8 (11): e1000551. doi: 10.1371 /journal.pbio .1000551.

Van Bezooijen, J. (2006): Methods and techniques for nematology. Wageningen.

Verschoor, B. C.; de Goede, R. G. M. (2000): The nematode extraction effciency of the Oostenbrink elutriator-cottonwool method with special reference to nematode body size and life strategy. Nematology 2 (3): 325-342.

Villate, L.; Fievet, V.; Hanse, B.; Delemarre, F.; Plantard, O.; Esmenjaud, D.; van Helden, M. (2008): Spatial distribution of the dagger nematode *Xiphinema index* and its associated Grapevine fanleaf virus in French vineyard. Phytopathology 98 (8): 942-948.

Vogt, E.; Schruft, G. (2000): Weinbau. Eugen Ulmer Verlag GmbH & Co.

Whitehead, A. G. (1998): Plant nematode control. Wallingford: CAB International.

Yeats, G.W. (1979): Soil Nematodes in terrestrial ecosystems. Journal of Nematology 11 (3).

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte ein Managementkonzept für *Xiphinema index* entwickelt werden. Hierzu wurden mehrere Teilversuche angesetzt, mit denen die folgenden Fragen gelöst werden sollten:

a) Welches Extraktionsverfahren eignet sich am besten, um *X. index* aus Bodenproben zu extrahieren?
b) Ist es möglich, *X. index* aus tieferen Bodenschichten in oberflächennahe Bereiche zu locken?
c) Eignet sich das Verfahren der biologischen Bodenentseuchung um *X. index* abzutöten?

Im ersten Versuch wurden die modifizierte Siebmethode nach Flegg, der Oostenbrink-Elutriator, die Hendrickx-Zentrifuge und die Filtermethode nach Baermann mit einander verglichen. Hierbei zeigte sich, dass die Siebmethode nach Flegg am besten geeignet ist, um *X. index* schnell und zuverlässig aus großen Bodenproben zu extrahieren. Auch der Oostenbrink-Elutriator zeigte gute Ergebnisse, allerdings war es nicht möglich, ebenso große Bodenproben zu extrahieren wie mit der Siebmethode nach Flegg. Sowohl die Hendrickx-Zentrifuge als auch die Filtermethode nach Baermann erwiesen sich als ungeeigneter.

Trotz eines Versuchsaufbaus, der es *X. index* ermöglichte, zehn Wochen in einem Versuchsboden vital zu bleiben, gelang das Anlocken durch lebende Wirtspflanzen nicht. Dies könnte auf verschiedene Gründe zurückzuführen sein:

a) Die verwendeten Pflanzen waren keine guten Wirte und besaßen somit auch keine gute Lockwirkung.
b) Der eingesetzte Versuchsboden war für die Fortbewegung von *X. index* ungeeignet.
c) Das im Inokulat vorhandene organische Material diente als Nahrungsquelle für *X. index*. Die Nematode hatte somit keinen Grund eine neue Nahrungsquelle aufzusuchen.

Die biologischen Bodenentseuchung und deren Effizienz gegenüber *X. index* wurden mit Herbie, einem kommerziell erhältlichen Produkt, und Brennnesselblättern, als reinem Naturprodukt, getestet. Hierbei zeigten sich beide Varianten als äußerst effektiv und es konnte schon nach vier Wochen beinahe die gesamte *X. index*-Population vollständig eliminiert werden. Hierbei reichte eine Produktkonzentration von 1% aus. Eine zweiwöchige Behandlung mit der 1%igen Konzentration war nicht ausreichend, um die Gesamtpopulation abzutöten. Die Konzentrationen 0,1% und 0,01% erwiesen sich

auch nach vierwöchiger Versuchslaufzeit als nicht effektiv, um die Gesamtpopulation abzutöten.

7 Abstract

In this thesis the author tried to develop a scheme for the management of *Xiphinema index*. For this purpose several experiments were conducted that were supposed to answer the following questions:

a) Which extraction procedure is suited best to extract *X. index* from soil samples?
b) Can *X. index* be lured from deeper soil layers to areas close to ground surface?
c) Is the procedure of Biological Soil Disinfestation suited to kill *X. index*?

The first experiment compared the modified sieving method according to Flegg, the Oostenbrink elutriator, the Hendrickx centrifuge and the filtering method according to Bearmann. It concluded that the sieving method according to Flegg is suited best to fast and reliably extract *X. index* from larger soil samples. The Oostenbrink elutriator also provides good results; however, the method does not allow to work on equally large soil samples at a time as the sieving method according of Flegg. Both the Hendrickx centrifuge as well as the filtering method according to Baermann proved to be less suited.

Despite an experimental design that allowed *X. index* to survive ten weeks in experimental soil, luring the nematodes by means of living host plants did not work. This could be due to several reasons:

a) The plants used in the experiment might not have been good host plants and were thus not sufficiently attractive to *X. index*.
b) The experimental soil used might have been ill-suited for the movements of *X. index*.
c) The organic material provided with the inoculant might have served as food source to *X. index*. Thus, the nematodes might not have had reason to find a new food source.

The method of Biological Soil Disinfestation and its efficiency against *X. index* were tested by using Herbie, a commercially available product, and nettle leaves as purely natural product. Both variants proved highly effective. After only four weeks, the *X. index* populations in both test variants were almost completely eliminated. For this, one-percent solutions were sufficient. In contrast to that, a two-week treatment with one-percent solutions was not sufficient to kill the whole population. Even after a four-week test period, the 0,1% and 0,01% solutions of both Herbie and nettle leaves proved ineffective in killing the entire nematode population.

8 Ausblick

Auch wenn es in den beschriebenen Lockversuchen, vermutlich aufgrund des für die Bewegung der Nematoden ungeeigneten Substrats, nicht gelang, die Tiere an die Oberfläche zu locken, so sind wir dennoch davon überzeugt, dass das eingesetzte Röhrensystem für diese Fragestellungen ideal ist. Allerdings sollten Folgeversuche klären, welches Bodensubstrat eine optimale Beweglichkeit von *X. index* garantiert. Zu überlegen wäre, Boden aus typischen Befallsgebieten zu verwenden.

Daneben sollten weitere Versuche stattfinden, um mehr über den Anlockprozess zu erfahren. Welche Stoffe sind hierfür verantwortlich? Gibt es Unterschiede in der Fern- und Nahanlockung? Können diese Stoffe im Labor synthetisiert werden? Aufbauend auf den gesammelten Erkenntnissen sollten Versuche mit der BSD unter Freilandbedingungen durchgeführt werden. Dies ist gerade im Hinblick auf die Praxisanwendung von besonderes Bedeutung. Hierbei sollten nicht allein die kurzfristigen Effekte auf *X. index* betrachtet werden, sondern genauer ins Bild gebracht werden, inwieweit diese Methode auch langfristig zu einer besseren Bodengesundheit und somit letztlich auch zu höheren Erträgen beiträgt.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbständig angefertigt habe. Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

Ort, Datum	Unterschrift