



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft



Schlussbericht zum Thema

„Entwicklung automatisierter Verfahren zur frühzeitigen Felddiagnostik des Falschen Mehltaus, *Plasmopara viticola*, für einen angepassten Pflanzenschutz im Ökoweinbau“

FKZ: 2815NA173

Projektnehmer/Projektnehmerin:

Julius Kühn-Institut Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI)

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau.

Das Bundesprogramm Ökologischer Landbau (BÖL) hat sich zum Ziel gesetzt, die Rahmenbedingungen für die ökologische Landwirtschaft in Deutschland zu verbessern. Es wird vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) finanziert und in der BÖL-Geschäftsstelle in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) in die Praxis umgesetzt. Das Programm gliedert sich in zwei ineinandergreifende Aktionsfelder - das Forschungs- und das Informationsmanagement.

Detaillierte Informationen und aktuelle Entwicklungen finden Sie unter:

www.bundesprogramm.de
www.oekolandbau.de/forschung

Wenn Sie weitere Fragen haben, wenden Sie sich bitte an:

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
Bundesprogramm Ökologischer Landbau
Deichmanns Aue 29
53179 Bonn
Tel.: 0228-6845-3280
E-Mail: boel-forschung@ble.de

Schlussbericht AuDiSens

Zuwendungsempfänger: Julius Kühn-Institut (JKI)
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau (JKI-OW)
Geilweilerhof
76833 Siebeldingen

Vorhabenbezeichnung: Entwicklung automatisierter Verfahren zur frühzeitigen Felddiagnostik des Falschen Mehltaus *Plasmopara viticola* für optimierte und reduzierte Pflanzenschutzanwendungen (AuDiSens)

Förderkennzeichen: 2815NA173

Laufzeit des Vorhabens: 01.12.2018 bis 30.06.2022

Kooperationspartner: Institut für Rebenzüchtung (JKI-ZR)
Technische Universität Darmstadt (TU DA)

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Autoren: Elisa Maria Kalvelage und Prof. Dr. Michael Fischer
Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, 76833 Siebeldingen, Germany;
michael.fischer@julius-kuehn.de, elisakalvelage@gmail.com

I. Schlussbericht

1. Einführung

1.1 Gegenstand und Ziele des Vorhabens mit Bezug auf die Ziele des BÖLN

Das Projekt AuDiSens gehört zu den Förderprogrammen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) und soll der Nachhaltigkeitsstrategie der Bundesregierung dienen, den Flächenanteil an ökologisch bewirtschafteter Landwirtschaft zu erhöhen und gleichzeitig, gemäß des Nationalen Aktionsplans zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln (NAP), den Einsatz von Kupfer-Präparaten im Ökoweinbau zu reduzieren.

Ziel des von AuDiSens war es, ein sensorbasiertes Frühdiagnoseverfahren zu entwickeln, um den Falschen Mehltau der Weinrebe (*Plasmopara viticola*) bereits vor der Ausbildung sichtbarer Symptome im Feld zu detektieren, und so den Einsatz von kupferhaltigen Pflanzenschutzmitteln (PSM) im Ökoweinbau zu reduzieren.

Die hohe Anfälligkeit traditioneller Rebsorten gegenüber dem Falschen Mehltau führt zu einem hohen Einsatz von PSM im Weinbau. Verschiedene Prognosesysteme sind auf *P. viticola* zugeschnitten, um Empfehlungen zum Einsatz von PSM zu geben und um überflüssige Maßnahmen zu reduzieren. Die erschwerte Vorhersage von Sekundärinfektionen führt jedoch häufig zu einem unnötigen Einsatz von PSM. Die Prognosesysteme sind außerdem oftmals nicht an lokale Gegebenheiten, wie z.B. angebaute Rebsorte oder Mikroklima, angepasst. Neue pilzwiderstandsfähige (PIWI-) Rebsorten bedürfen aufgrund ihres Resistenzlevels eines vergleichsweise geringeren Einsatzes von PSM. Der Bedarf dieser Sorten soll in Zukunft in die Prognosesysteme integriert werden, um letztlich situationsgerechte Empfehlungen zum Einsatz von PSM gegen *P. viticola* liefern zu können.

In diesem Projekt, angelegt für den Zeitraum 2019-2022, sollte eine frühzeitige Felddiagnostik von *P. viticola* bereits vor einer sichtbaren Symptom-Ausprägung entwickelt und nachfolgend optimiert werden. Die Umsetzung erfolgt stufenweise vom Labor über das Gewächshaus bis letztendlich ins Freiland. Mobile Hyperspektralsensoren, die zwischen gesunden und kranken Blättern unterscheiden können, sollten für die Pathogendiagnostik von *P. viticola* angewendet werden, um letztlich Sekundärinfektionen und den Bedarf des Einsatzes von PSM einschätzen zu können.

1.2 Planung und Ablauf des Projektes

Das Projekt AuDiSens gliedert sich in folgende sechs Arbeitspakete (AP):

- | | | |
|-------|--|----------|
| AP1 - | Epidemiologie von <i>P. viticola</i> auf PIWIs | (JKI-OW) |
| AP2 - | Sensordatenerfassung | (JKI-ZR) |

AP3 -	Auswertung der Sensordaten	(TU DA)
AP4 -	Data mining	(TU DA)
AP5 -	Machbarkeitsstudie für Felddiagnostik	(alle Partner)
AP6 -	Wissenstransfer in die Praxis und Wissenschaft	(JKI)

Im vom Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau (JKI-OW) bearbeiteten AP1.1 wurden Referenzdaten für die Sensoren mit Hilfe von Infektions-Studien in Blattscheiben und an Topfpflanzen generiert und evaluiert. Hierzu wurde erstmalig eine real time PCR-Methode etabliert, um das Infektionsgeschehen im Blatt im zeitlichen Verlauf vergleichend zwischen den unterschiedlichen Rebsorten darzustellen. Diese Methode wurde später in Zusammenarbeit mit JKI-ZR parallel zu den Hyperspektralanalysen angewendet, um Referenzdaten für die dort ermittelten Reflektionsmuster zu generieren.

Im AP1.2 wurden im Freiland verschiedene Spritzregimes für den Ökoweinbau evaluiert. Verglichen wurden dabei die „wöchentliche“ Behandlung im Sinne der Prognose-Vorgaben vom lokalen Prognosesystem VitiMeteo, eine Behandlung beschränkt auf den Zeitraum der Rebblüte (BBCH 57-73) und eine komplett unbehandelte Kontrolle. Schließlich wurde der Befall mit *P. viticola* innerhalb der jeweiligen Behandlungsregimes nach EPPO-Richtlinien (<http://www.eppo.org>) ermittelt und Befallsstärke und -häufigkeit zwischen traditionellen und PIWI-Rebsorten verglichen.

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Zum Projektbeginn standen für den Feldversuch bereits Versuchsanlagen zur Verfügung, die bepflanzt waren mit drei traditionellen (anfälligen) Rebsorten (Riesling, Weißburgunder, Spätburgunder) und zwei PIWI-Rebsorten (Regent und Calandro). Die Sortenvielfalt am Standort machte es außerdem möglich, darüber hinaus weitere Rebsorten als Stecklinge für Klimakammer- oder Gewächshausversuche anzuziehen. Die Untersuchungsmethode für die Befallsbonitur des Feldversuchs gemäß Eppo-Richtlinien stand bereits und war am Standort erprobt.

Die Methoden zur molekularen Detektion des Pathogens im Pflanzenmaterial mussten zu Beginn des Projektes etabliert und in der Folge im Sinne einer Routine-Anwendung evaluiert werden.

3. Material und Methoden

3.1 Kultivierung des Pathogens im Gewächshaus

Um unabhängig vom Infektionsdruck im Feld genügend Infektionsmaterial verfügbar zu haben, wurde eine „Pero-Zucht“ in einer Klimakammer unter kontrollierten Bedingungen etabliert. Infiziertes Blattmaterial aus der vorherigen Feldsaison, aufbewahrt bei -20°C, wurde in Wasser getränkt, um die Sporangien (Sporenbhälter des Pilzes) zu revitalisieren. Mit Hilfe des Lichtmikroskops wurde das Schlüpfen der Zoosporen (asexuelle Sporen des Pilzes) überprüft. Diese

Sporensuspension wurde mittels Sprühflasche auf die Blattunterseiten von Rebstecklingen verteilt. Die Rebsorte „Müller-Thurgau“ und besonders die Sorte „Italia“ ließen sich optimal für die Pero-Zucht nutzen. Die inokulierten Stecklinge wurden dann für 24 h in einer feuchten Plastiktüte aufbewahrt, um das Einwachsen der Zoosporen durch die Spaltöffnungen zu ermöglichen. Nach 78 h, optimalerweise dann mit bereits sichtbaren Symptomen der Pilzinfektion, wurden die Pflanzen erneut für 24 h mit Wasser benetzt und eingetütet, um das Auswachsen der Sporenträger aus den Spaltöffnungen zu triggern. Die Methode wurde im gesamten Projektzeitraum angewendet, um die Infektionsstudien durchführen zu können. Alle Infektionsstudien fanden in einer Klimakammer mit Tag-Nacht-Rhythmus bei 21 °C und 70 % Luftfeuchte statt.

3.2 Etablierung einer real time PCR zur Quantifizierung des Pathogens

Eine real time PCR-Methode wurde entwickelt, um die Ausbreitung des Pathogens im Blatt vergleichend zwischen unterschiedlichen Rebsorten quantitativ darzustellen und gleichzeitig eine Referenzmethode für die mit Hyperspektralkameras generierten Reflektionsmuster zu haben.

P. viticola- und *V. vinifera*-spezifische Primer (Tab. 1) wurden designt und anhand von frisch infiziertem Blattmaterial aus dem Feld verifiziert. Mit Hilfe der Primerpaare ist es möglich, das Verhältnis zwischen Wirts- und Pathogen-DNA in den Blattproben zu bestimmen. Für die Amplifizierung der DNA im real time Cyclus wurden die Luna Universal (RT)-qPCR Reagenzien (New England Biolabs, Ipswich, USA) verwendet. Zyklusbedingungen waren: 2 Min. bei 50 °C; 10 Min. bei 95 °C; 40 Zyklen für 15 Sek. bei 95 °C und 30 Sek. bei 60 °C; 15 Sek. bei 95 °C; 20 Sek. bei 70 °C; 30 Sek. bei 95 °C; 15 Sek. bei 60 °C.

Tabelle 1: Primer für den Nachweis von *P. viticola*- und *V. vinifera*-DNA.

Name des Primers	Sequenz
Pvi_26S_fw	TTGGGCCTAAGGGTCTTG
Pvi_26S_re	ACCAACCACCTTTCTATCGAATAT
Vvi_ACT7_fw	AGGTGGGGTTATTGAAGACAA
Vvi_ACT7_re	GCTACAAACATCCTACTAAAAGACG

3.3 Quantifizierung des Infektionsgeschehens in Blattscheiben

In Klimakammern, mit optimalen Bedingungen für das Wachstum des Pathogens, wurden in vier Wiederholungen Blattscheiben-Tests durchgeführt, um das Infektionsgeschehen von *P. viticola* im zeitlichen Verlauf mittels real time PCR quantitativ darzustellen. Für die Infektion wurde jeweils ein 100 µl Tropfen einer *P. viticola*-Sporensuspension (25.000 Sporen/ml) in die Mitte von Blattscheiben (Ø 1 cm) platziert und nach 24 h abgesaugt. Die Blattscheiben wurden in einer mit Wasser benetzten großen Petrischale in der Klimakammer aufbewahrt.

An folgenden Rebsorten wurde das Infektionsgeschehen untersucht: Solaris und Regent (PIWIs), sowie die traditionellen Rebsorten Müller-Thurgau, Riesling und Spätburgunder.

Zu sieben Zeitpunkten, beginnend bei einem Tag nach Infektion (1 dpi), endend bei sieben Tagen nach Infektion (7 dpi), wurden jeweils vier infizierte Blattscheiben pro Rebsorte zu einer Probe zusammengefügt, um eine Varianz des Infektionsgeschehens der Blattscheiben zu minimieren. Die DNA der Blattscheiben wurde mittels peqGOLD Plant DNA Mini Kits (VWR Life Science, Darmstadt, Germany) isoliert. Diese DNA (5 ng/ μ L) wurde mit den spezifischen Primerpaaren im etablierten real time PCR-System amplifiziert und das Verhältnis zwischen Wirts- und Pathogen-DNA ermittelt.

3.4 Quantifizierung des Infektionsgeschehens in Topfpflanzen

Im nächsten Schritt galt es, sowohl die Methode selbst als auch die Ergebnisse anhand von Topfpflanzen zu evaluieren. Darüber hinaus wurden ergänzend zusätzliche Zeitpunkte bis zur sichtbaren Symptomausprägung (4 dpi) überprüft. Die oberen vier Blätter verschiedener Stecklinge (anfällig: Müller-Thurgau und Riesling; PIWI: Regent und Solaris) wurden mit einer *P. viticola*-Suspension (25.000 Sporen/ml) mittels Sprühflasche inokuliert. Inkubiert wurden die Pflanzen für 24 h in einem Folientunnel mit hoher Luftfeuchtigkeit. Nach 78 h wurden die Pflanzen erneut im Folientunnel inkubiert, um das Auswachsen der Sporenträger aus den Spaltöffnungen auf der Blattunterseite zu triggern. Zu folgenden Zeitpunkten wurden je drei Blattscheiben (\varnothing 1 cm) von zwei infizierten Blättern der inokulierten Pflanze entnommen und zu einer Probe gepoolt: 24, 30, 48, 72, 78, 96 h nach Infektion (hours past infection/hpi). Zu Beginn und zum Ende der Zeitreihe wurden jeweils drei Blattscheiben von zwei nicht infizierten Blättern zu einer negativen Kontrolle vereint. Der Versuchsablauf wurde vier Mal wiederholt. Insgesamt wurden 32 Topfpflanzen pro Rebsorte beprobt. Um den Erfolg der Inokulation der Topfpflanzen sicher zu stellen, wurde das Auftreten der Symptome auf den Blattunterseiten nach 96 hpi überprüft.

Die DNA aus den Blattscheiben wurde mittels peqGOLD Plant DNA Mini Kits (VWR Life Science, Darmstadt, Germany) isoliert. Die gewonnene DNA (5 ng/ μ L) wurde mit den spezifischen Primerpaaren im etablierten real time PCR-System amplifiziert und das Verhältnis zwischen Wirts- und Pathogen-DNA ermittelt.

3.5 Zusammenarbeit mit JKI-ZR

Die real time PCR-Methode zur Quantifizierung des Infektionsgeschehens von *P. viticola* kann genutzt werden, um Referenzdaten für die mittels Hyperspektral-Kameras gewonnenen Reflektionsmuster zu generieren. Im Versuchsjahr 2021 wurden deshalb während der Aufnahme von Reflektionsmustern von Blattscheiben zeitgleich Proben entnommen, die mittels real time PCR quantitativ untersucht wurden, um letztendlich die Daten der Hyperspektral-Kameras mit dem tatsächlichen Infektionsgeschehen im Blatt vergleichen zu können.

Das Infektionsgeschehen sollte zwischen 15 verschiedenen Rebsorten mit unterschiedlicher Anfälligkeit gegen den Falschen Mehltau verglichen werden (Tabelle 2). Pro Zeitpunkt (48, 72, 96 hpi) wurden drei Proben genommen, jeweils mit sechs inokulierten Blattscheiben derselben Rebsorte. Der Versuchsablauf wurde insgesamt vier Mal wiederholt. Die DNA wurde mittels NucleoSpin 96 Core

Kit (Macherey-Nagel) aus den Blattscheiben extrahiert. Das Verhältnis von Pero- und *Vitis*-DNA (5 ng/μL) wurde mittels real time PCR bestimmt.

Tabelle 2: Rebsorten, bei denen das Infektionsgeschehen von *P. viticola* im zeitlichen Verlauf sowohl mittels Hyperspektral-Messungen als auch mittels real time PCR untersucht wurde.

Rebsorte	Resistenz-Gen
Müller-Thurgau	-
Riesling	-
Weißburgunder	-
Gf.2008-059-0331	Rpv3
Regent	Rpv3.1
GF.GA-52-42	Rpv3.1
Calardis Musque	Rpv3.2
Merzling	Rpv3.3
Calardis Blanc	Rpv3.1/Rpv3.2
Kaberam	Rpv10
Severnyi	Rpv10
Gf.2008-059-0002	Rpv10
Gf.2008-059-0263	Rpv10
Cabernet Cortis	Rpv3.3/Rpv10
Solaris	Rpv3.3/Rpv10

3.6 Freilandversuch mit unterschiedlichen Kupfer-Spritzregimes

In einer ökologisch bewirtschafteten Versuchsfläche des Geilweilerhofs in Siebeldingen wurde in den Jahren 2019-2021 ein Langzeit-Feldversuch mit unterschiedlichen Kupferaufwandmengen durchgeführt. Verglichen wurden dabei i) die „wöchentliche“ Behandlung im Sinne der Prognose-Vorgaben von VitiMeteo, ii) eine Behandlung im Zeitraum der Rebblüte (BBCH 57-73) und iii) eine komplett unbehandelte Kontrolle. Dabei wurden drei traditionelle Rebsorten (Spätburgunder, Weißburgunder und Riesling) mit zwei PIWI-Rebsorten (Calandro und Regent) hinsichtlich der Anfälligkeit gegenüber Falschem Mehltau verglichen. Anhand der EPPO-Richtlinien wurde zum Saisonabschluss (ca. BBCH 85) eine Befalls-Bonitur der Rebblätter durchgeführt. Sowohl Befallsstärke als auch Befallshäufigkeit wurden ermittelt. Dafür wurden in vier Wiederholungen (Rebzeilen) für jede Behandlung und jede Rebsorte jeweils 100 Rebblätter bonitiert. An diesen 100 Blättern wurde für die Befallsrate (incidence rate) der Anteil an befallenen Blättern und für die Befallsstärke (incidence level) jeweils der prozentuale Befall der Blätter dokumentiert.

4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse und Diskussion

4.1 Quantifizierung des Infektionsgeschehens in Blattscheiben

In Abb. 1 ist das Infektionsgeschehen von *P. viticola* in Blattscheiben unterschiedlicher Rebsorten über den zeitlichen Verlauf als logarithmisches Wachstum der Pathogen-DNA zu sehen. Generell ist zu erkennen, dass sich der Zuwachs in den PIWI-Sorten zu den unterschiedlichen Zeitpunkten nicht signifikant unterscheidet, wohingegen innerhalb der Sorten Müller-Thurgau und Riesling signifikante Unterschiede des Wachstums gefunden wurden. Die Varianz in den Spätburgunder-Proben war leider zu stark, um Unterschiede festzustellen. Besonders bei Müller-Thurgau zwischen 2, 3 und 4 dpi zeigt sich ein deutlicher und signifikant unterschiedlicher Anstieg der Pathogen-DNA. Der Unterschied zwischen 3 und 4 dpi ist übereinstimmend mit der sichtbaren Entwicklung des typischen weißen Pilzrasens auf der Blattunterseite bei anfälligen Rebsorten ab Tag 4. Aufgrund der starken Varianz der Proben bei Riesling und Spätburgunder ließen sich jedoch keine signifikanten Unterschiede des Wachstums zwischen den untersuchten Zeitpunkten feststellen. Im Vergleich dazu war bei den PIWI-Sorten die typische Abwehrreaktion in Form von nekrotischen Zellen auf der Blattunterseite zu erkennen. Generell zeigt sich bei den traditionellen Rebsorten für den überprüften Zeitraum 1 bis 7 dpi ein deutlich höheres Niveau des logarithmischen Anstiegs, was auf die hohe Anfälligkeit dieser resistenzlosen Rebsorten zurück zu führen ist.

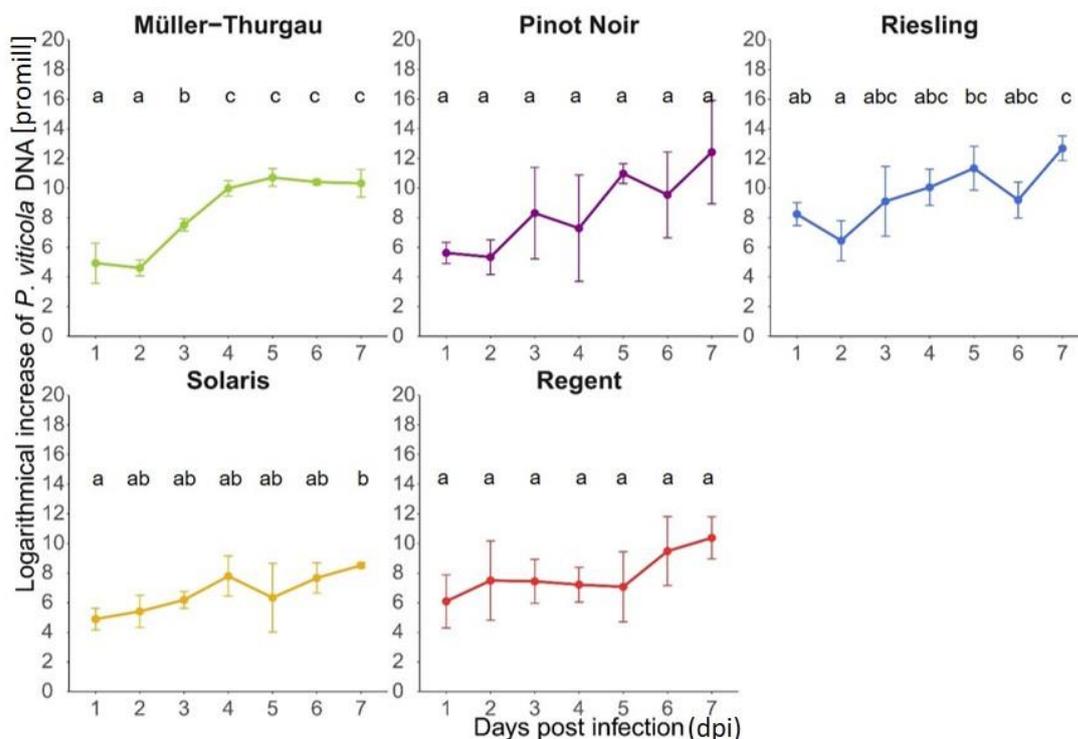


Abbildung 1: Quantitative Darstellung des Infektionsgeschehens von *P. viticola* in Blattscheiben verschiedener *V. vinifera*-Sorten im zeitlichen Verlauf von 1-7 dpi (Tage nach Infektion) [Promille]. Buchstaben geben signifikante Unterschiede an; Anova, $p \leq 0,05$. Pinot Noir = Spätburgunder.

4.2 Quantifizierung des Infektionsgeschehens in Topfpflanzen

Abbildung 2 stellt das Infektionsgeschehen von *P. viticola* in Topfpflanzen dar, ermittelt mit der real time PCR-Methode. Im Vergleich zu den Ergebnissen des Infektionsgeschehens in Blattscheiben sieht man hier deutlich größere Schwankungen. Dadurch konnten zwischen den unterschiedlichen Zeitpunkten keine Unterschiede gefunden werden. Dennoch lässt sich bei den anfälligen Sorten Müller-Thurgau und Riesling ein generell höheres Niveau der Pathogen-DNA erahnen. Bei Müller-Thurgau ist ein Anstieg ab 72 hpi erkennbar, bei Riesling ab 54 hpi.

Die hohen Schwankungen der DNA-Konzentrationen zu den einzelnen Zeitpunkten lassen sich, im Vergleich zu den schwächeren Schwankungen beim Blattscheiben-Versuch, womöglich anhand eines heterogenen Infektionserfolgs an Topfpflanzen-Blättern erklären. Die Varianz könnte mit einer größeren Menge zusammengefasster Blattscheiben reduziert werden.

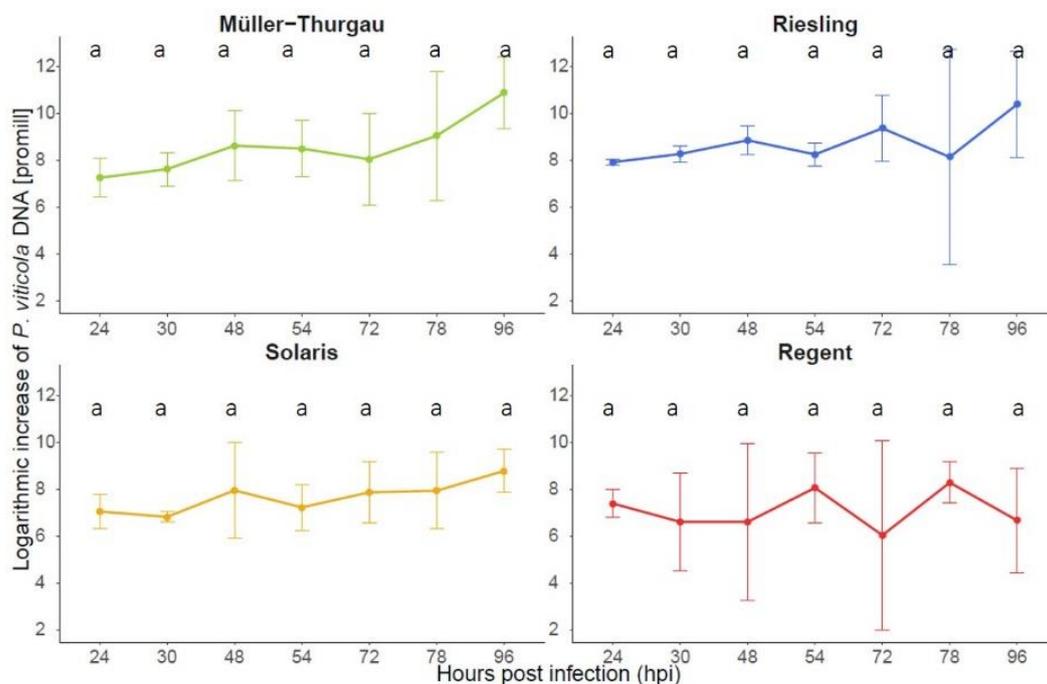


Abbildung 2: Quantitative Darstellung des Infektionsgeschehens von *P. viticola* in Blättern von Stecklingen verschiedener *V. vinifera*-Sorten 24, 30, 48, 54, 72, 78 und 96 hpi (Stunden nach Infektion) [Promille]. Buchstaben geben signifikante Unterschiede an; Welch's Anova, $p \leq 0.05$.

4.3 Zusammenarbeit mit JKI-ZR

In Absprache mit JKI-ZR wurde für die vergleichende Auswertung der Zeitpunkt 96 hpi festgelegt, da ab diesem Zeitpunkt Unterschiede zwischen den Rebsorten in den Hyperspektralmustern zu erkennen waren. Zusätzlich wurde die Auswertung auf die Wiederholungen (Experimente) 3 und 4 beschränkt, da es bei den beiden anderen Versuchen zu größeren Veränderungen im zeitlichen Ablauf der Hyperspektralaufnahmen gekommen war. Mittels Modell-Analyse konnte eine signifikante Interaktion zwischen Rebsorte und Wiederholung festgestellt werden.

($p = 0.006152$). Deshalb werden in Abbildung 3 die Experimente 3 und 4 einzeln beurteilt. Die fehlende Resistenz der traditionellen Rebsorten gegen *P. viticola* ist bei Müller-Thurgau, Riesling und Weißburgunder deutlich zu erkennen. Dieser Unterschied lässt sich statistisch aber nur im Vergleich zu Gf.2008-059-0331 in Experiment 3 und zu Cabernet Cortis in Experiment 4 signifikant absichern. Die Rebsorte Severnyi lässt sich aufgrund der starken Konzentrations-Schwankungen in beiden Experimenten nicht beurteilen. Des Weiteren fällt der große Unterschied der Pathogen-Konzentration in der Rebsorte Gf.2008-059-0331 beim Vergleich der beiden Experimente auf, was sich durch ein mögliches Überwinden des Resistenzgens Rpv3 durch die in Experiment 4 verwendeten Pathogen-Population erklären ließe.

Anhand der Auswertung des Infektionsgeschehens von *P. viticola* in unterschiedlichen Rebsorten 96 hpi mittels real time PCR lässt sich vermuten, dass die traditionellen gegenüber den PIWI-Rebsorten unterschiedliche Reflektionsmuster zeigen und so mittels Sensoren unterschieden werden könnten. Eine Unterscheidung zwischen PIWI-Sorten stellt sich vermutlich komplizierter dar, da sich die Pathogen-Konzentrationen nicht stark voneinander unterscheiden.

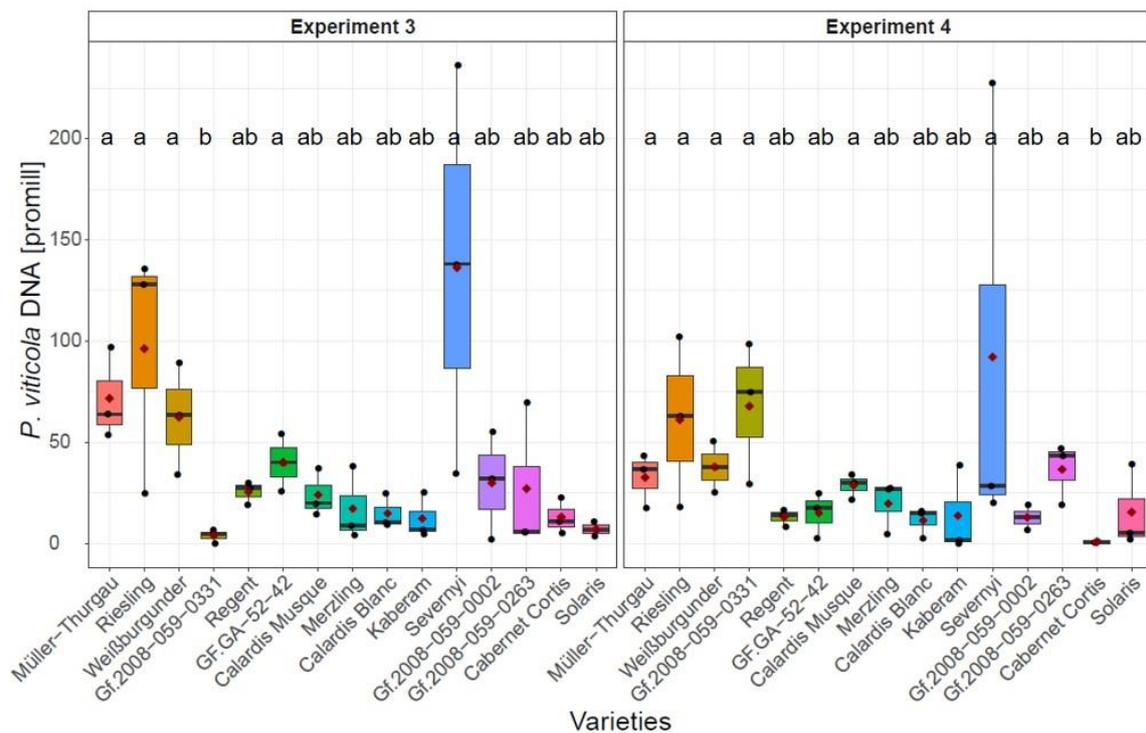


Abbildung 3: Konzentration von *P. viticola* in Blattscheiben verschiedener Rebsorten mit unterschiedlichem Resistenz-Level zum Zeitpunkt 96 hpi (Stunden nach Infektion) [Promille]. Experiment = Wiederholung. Buchstaben geben signifikante Unterschiede an; Pairwise Tukey Test mit logarithmierten Werten, $p \leq 0.05$.

Ein Blick auf Abbildung 4, die die Konzentration von *P. viticola* während Experiment 2 in den Rebsorten zum Zeitpunkt 80 hpi zeigt, verdeutlicht, wie stark die Konzentration in den Rebsorten je nach Zeitpunkt schwankt. Das Pathogen-Niveau in den anfälligen Sorten ist hier noch ähnlich zu dem der PIWIs, und Weißburgunder zeigt sogar die geringste Infektion, was 16 h später schon nicht

mehr der Fall ist (Abb. 3). Die Analyse 80 hpi ist des Weiteren stark geprägt durch die Schwankungen innerhalb der drei technischen Wiederholungen und lässt statistisch kaum Unterschiede sichtbar werden. Es dürfte entsprechend schwierig werden, zu diesem Zeitpunkt aussagekräftige Unterschiede in den Hyperspektralmustern zwischen anfälligen und resistenten Rebsorten aufzudecken.

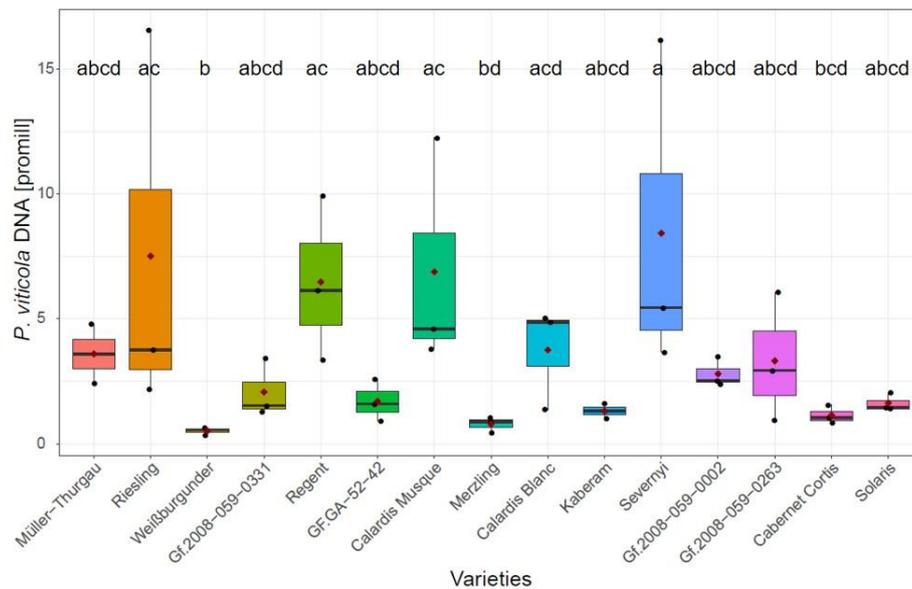


Abbildung 4: Konzentration von *P. viticola* [Promille] in Blattscheiben verschiedener Rebsorten mit unterschiedlichem Resistenz-Level zum Zeitpunkt 80 hpi (Stunden nach Infektion) des Experiments 2. Buchstaben geben signifikante Unterschiede an; Pairwise Tukey Test mit logarithmierten Werten, $p \leq 0.05$.

4.4 Freilandversuch mit unterschiedlichen Kupfer-Spritzregimes

Die Jahre 2019-2022 waren witterungstechnisch sehr unterschiedlich. Besonders 2020, geprägt von wenig Niederschlag und sehr geringem Infektionsdruck, unterscheidet sich sehr stark von 2021, das geprägt war von heftigen Niederschlägen und einem teilweise höheren Infektionsdruck als im starken Pero-Jahr 2016. Aus diesem Grund können die drei Bonituren nicht zusammen ausgewertet werden. In Folge beurteilt wird nur das Jahr 2019, da nur in diesem Jahr signifikante Unterschiede bezüglich der drei unterschiedlichen Behandlungen gefunden werden konnten. Die Ergebnisse der Jahre 2020 und 2021 finden sich in den jeweiligen Zwischenberichten.

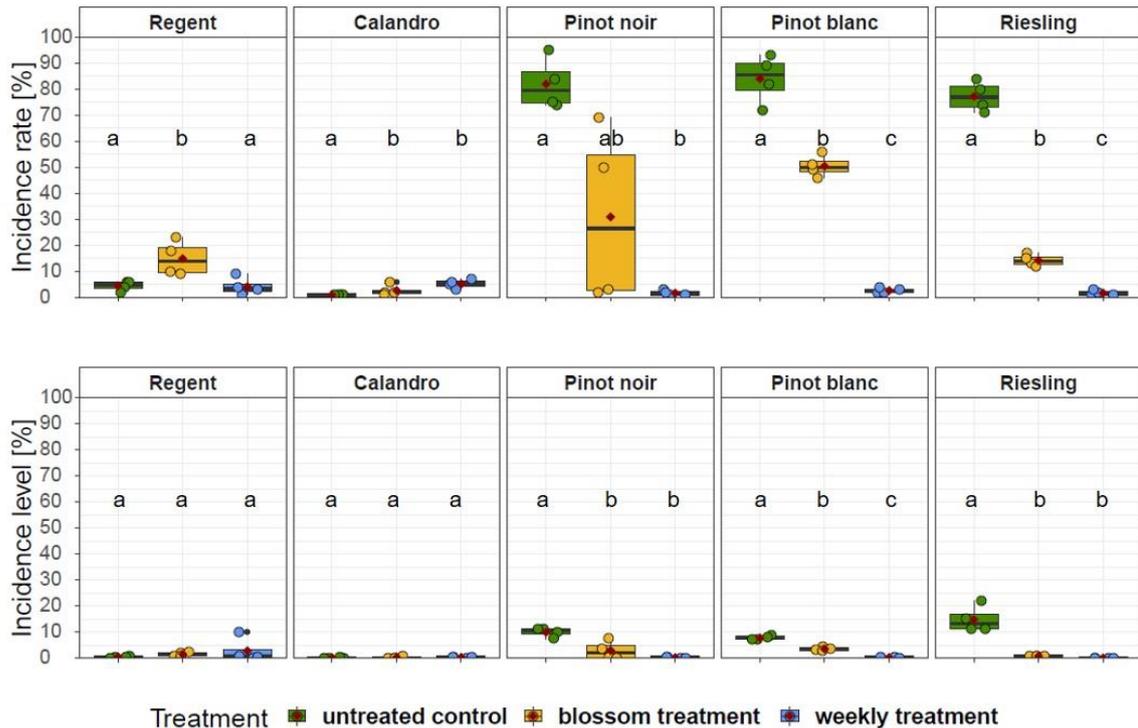


Abbildung 5: Befallshäufigkeit (incidence rate) und Befallsstärke (incidence level) von *P. viticola* in der Feldsaison 2019, bonitiert nach Eppo-Richtlinien. Die Effizienz dreier verschiedener Spritzbehandlungen wird innerhalb verschiedener Rebsorten verglichen. Regent und Calandro sind PIWI- und Pinot noir (Spätburgunder), Pinot blanc (Weißburgunder) und Riesling traditionelle Rebsorten. Buchstaben geben signifikante Unterschiede an; Pairwise Tukey Test mit logarithmierten Werten, $p \leq 0.05$.

5. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse

5.1 Referenzdaten für die Hyperspektralmuster

Mittels real time PCR lässt sich das Infektionsgeschehen von *P. viticola* sowohl in Blattscheiben als auch in Topfpflanzen quantitativ über den zeitlichen Verlauf darstellen, wobei die Genauigkeit bei Blattscheiben durch eine homogenere Infektion bessere Ergebnisse liefert. Bei den frühen Zeitpunkten bis zur Symptomausprägung auf Blattscheiben (4 dpi) lassen sich Unterschiede im Zeitverlauf des Infektionsgeschehens nur bei den traditionellen Rebsorten unterscheiden. Im Rahmen des Projekts war es mit der Hyperspektralkamera nicht möglich, Unterschiede in den Reflektionsmustern vor der sichtbaren Symptomausprägung zu erkennen, weshalb die Methode mit Daten zum Zeitpunkt 4 dpi/96 hpi etabliert wird. Die real time PCR-Daten zeigen deutlich Unterschiede zwischen traditionellen und PIWI-Rebsorten zu diesem Zeitpunkt. Die Zusammenführung der molekularen Referenz- und Hyperspektraldaten steht noch aus.

5.2 Freilandversuch mit unterschiedlichen Kupfer-Spritzregimes

Ziel des Freilandversuchs war es vor allem, eine reduzierte Kupfer-Behandlung gegen *P. viticola* zu evaluieren, bei der nur im empfindlichen Blüte-Zeitraum behandelt wird. Gleichzeitig wurden dabei traditionelle und PIWI-Rebsorten in ihrer Anfälligkeit gegenüber dem Falschen Mehltau verglichen. Trotz möglicher Resistenz-Überwindung konnte dabei eine deutlich geringere Anfälligkeit der PIWIs im Vergleich zu den traditionellen Rebsorten festgestellt werden. Diese war jedoch aufgrund des zu schwachen (2020) bzw. zu hohen Infektionsdrucks (2021) nur im Jahr 2019 deutlich erkennbar. Bei starkem Pero-Druck sind Kupfer-Behandlungen auch bei PIWI-Rebsorten unabdingbar, um das Überwinden von Resistenzen zu verhindern.

Die Behandlung zum Zeitpunkt der Rebblüte 2019 zeigt bei den traditionellen Rebsorten einen signifikanten Effekt bezüglich der Befallshäufigkeit der Blätter mit *P. viticola* im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Dennoch erzielt eine wöchentliche Behandlung den signifikant geringsten Befall. Dieser Effekt ist auch bei der Befallsstärke sichtbar.

In stark feucht-warmen Jahren wie in 2021, die einen hohen Infektionsdruck mit sich führen, reichen Behandlungen beschränkt auf den Blütezeitraum nicht aus, um die Gesundheit der Blätter zu garantieren (siehe Zwischenbericht 2021). In Jahren mit geringerem Infektionsdruck könnte eine reduzierte Behandlungshäufigkeit jedoch einen guten Ernteerfolg garantieren. Aufgrund der stark schwankenden Feldversuchs-Jahre konnte dieser Befund jedoch nicht letztgültig überprüft werden.

6. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

6.1 Referenzdaten für die Hyperspektralmuster

Aufgrund heterogener Infektionsereignisse im Rahmen der künstlichen Infektion konnte die real time Methode nicht verlässlich an Topfpflanzen etabliert werden: die Schwankungen der Pathogen-Konzentration waren zu hoch, um Unterschiede des Infektionsgeschehens zu unterschiedlichen Zeitpunkten kenntlich zu machen. Der Infektionserfolg war bei den anfälligen Rebsorten Spätburgunder und Riesling besonders schwankend.

Das ursprüngliche Ziel, *P. viticola* bereits vor der sichtbaren Symptomausprägung (4 dpi) mittels Hyperspektralkameras zu detektieren, ist noch nicht erreicht. Die Methode wird von JKI-ZR und TU DA nun für den Zeitpunkt 4 dpi etabliert und kann darauf aufbauend auf frühere Zeitpunkte erprobt werden.

6.2 Freilandversuch mit unterschiedlichen Kupfer-Spritzregimes

Der Infektionsdruck in den Versuchsflächen war innerhalb der drei Feldversuchsjahren sehr heterogen, weshalb eine Bestätigung der in 2019 festgestellten Unterschiede der Spritzregimes in den anderen Jahren nicht möglich

war. Die Aussage über den Nutzen einer Behandlung beschränkt auf den Blütezeitraum muss also mit Vorsicht behandelt und erneut überprüft werden.

7. Zusammenfassung

Das Projekt AuDiSens zielte darauf ab, mit Hilfe von Hyperspektralsensoren eine Infektion mit dem Falschen Mehltau, *P. viticola*, vor Symptomausprägung an Weinreben zu detektieren. Dadurch sollten Fehleinschätzungen bezüglich Sekundärinfektionen verhindert und letztlich der Einsatz unnötiger Kupfer-Behandlungen im Weinbau reduziert werden. Die Epidemiologie von *P. viticola* konnte im zeitlichen Verlauf mittels molekular-quantitativer Methode vergleichend zwischen Rebsorten mit unterschiedlichem Resistenzlevel sowohl in Blattscheiben als auch in Topfpflanzen dargestellt werden. Dabei sind sowohl deutliche Unterschiede zwischen traditionellen und PIWI-Rebsorten also auch zwischen den unterschiedlichen Zeitpunkten nach Infektion zu erkennen. Diese zeitlichen Unterschiede bezüglich des Infektionsgeschehens sollten ebenfalls mittels Hyperspektralsensoren erkannt werden. Die in diesem Projekt etablierte Methode und die gewonnenen Erkenntnisse dienen als Referenz für die Hyperspektral-Analysen. Die gemeinsame Auswertung steht noch aus und wird von JKI-ZR zusammengefasst.

Der Feldversuch zur Minimierung der Kupfer-Behandlungen gegen Falschen Mehltau mit auf den Blüte-Zeitraum (BBCH 57-73) limitierten Behandlungen zeigte einen signifikanten Effekt im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Dennoch schneidet die wöchentliche Behandlung signifikant besser ab. Generell sollte der Infektionsdruck zu jeder Zeit bei möglicher Reduktion der Behandlungshäufigkeit berücksichtigt werden, da bei hohem Druck wie in 2016 oder 2021 bei reduzierter Kupfer-Behandlung kein ausreichender Schutz gegen den Falschen Mehltau garantiert werden kann.

8. Literaturverzeichnis

-

9. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt

-

II. Anhang zum Schlussbericht: kurz gefasster Erfolgskontrollbericht

Das Projekt AuDiSens gehört zu den Förderprogrammen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) und soll der Nachhaltigkeitsstrategie der Bundesregierung dienen, den Flächenanteil an ökologisch bewirtschafteter Landwirtschaft zu erhöhen und gleichzeitig, gemäß des Nationalen Aktionsplans zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln (NAP), den Einsatz von Kupfer-Präparaten im Ökoweinbau zu reduzieren.

Im Teilprojekt AP1 (Epidemiologie von *P. viticola* auf PIWIs) konnte eine Methode etabliert werden, mit Hilfe derer das Infektionsgeschehen des Falschen Mehltaus im Blatt zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Infektion dargestellt werden kann. Dabei wurden die Unterschiede zwischen traditionellen und PIWI-Rebsorten bezüglich der quantitativen Ausbreitung des Pathogens im Blatt besonders deutlich. Die Methode dient in diesem Projekt als Referenzmethode für die Hyperspektralmuster (AP2), die mit Sensoren generiert werden, die zwischen gesunden und infizierten Pflanzen unterscheiden können. Mit Hilfe dieser Sensortechnik soll in Zukunft der Gesundheitszustand von Weinreben vor einer sichtbaren Symptomausprägung eingeschätzt werden, um unnötige Kupfer-Behandlungen zu reduzieren.

Zusätzlich wurde in diesem Projekt ein Feldversuch durchgeführt, um auf den Blüte-Zeitraum (BBCH 57-73) limitierte Kupfer-Behandlungen mit einer unbehandelten Kontrolle und einer wöchentlichen Behandlung in Vergleich zu setzen. Dabei wurde außerdem die Anfälligkeit von PIWI- mit traditionellen Rebsorten verglichen.

Insgesamt konnte in diesem Teilprojekt sehr deutlich die geringere Anfälligkeit von PIWI-Rebsorten im Vergleich zu traditionellen Rebsorten gezeigt werden. Der Anbau von PIWIs ist insofern ein Schlüsselement zum Erreichen der Ziele des BÖLN und NAPs, da sie aufgrund vorhandener Resistenzen gegenüber *P. viticola* eines wesentlich geringeren Pflanzenschutzaufwands bedürfen. Dennoch sollte man bei hohem Infektionsdruck im Feld nicht vollständig auf einen Schutz von PIWIs verzichten, um das Überwinden von Resistenzen durch den Falschen Mehltau zu verhindern.

Trotz der heterogenen Infektionsbedingungen im Feld in den drei Versuchsjahren konnte zumindest für das Jahr 2019, bei herrschendem mittlerem Infektionsdruck, eine positive Wirkung der reduzierten Kupfer-Behandlung um den Blütezeitraum im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle gezeigt werden. Wie zu erwarten zeigte die wöchentliche Behandlung den größten Erfolg. Es bleibt unabdingbar, das jeweilige Infektionsgeschehen im Feld genau zu betrachten und anhand von Prognosen die Pflanzenschutz-Behandlungen anzupassen.

Die Auswertung des gemeinsamen Versuchs zwischen den Projektpartnern steht noch aus. Es ist aber ersichtlich, dass die in diesem Teilprojekt etablierte Methode zur Quantifizierung des pilzlichen Wachstums im Blatt eine gute Referenzmethode bietet, um das tatsächliche Infektionsgeschehen im Blatt mit den Reflektionsmustern der Hyperspektralsensoren abzugleichen. Unterschiede zwischen traditionellen und PIWI-Rebsorten werden 4 Tage nach Infektion deutlich und können voraussichtlich mit den Sensoren ebenfalls erkannt werden.

Es bleibt festzuhalten, dass das ursprüngliche Ziel, eine Infektion mit *P. viticola* mittels Hyperspektralsensoren vor Ausprägung sichtbarer Symptome zu erkennen, noch nicht erreicht ist. Die Sensor-Methode wird aktuell anhand der Reflektionsmuster von Tag 4 nach Infektion etabliert, zu welchem Zeitpunkt Symptome bereits sichtbar werden. Davon ausgehend kann das Potential der Sensormethode optimiert werden, um letztlich das Pathogen zu früheren Infektionszeitpunkten zu erfassen.