

# **Projektbericht 2010**

## **Traubenwelke – Erforschung der physiologischen Störung der Rebe**

### **Projekt mit:**

**der Universität für Bodenkultur, Abteilung Obst- und Weinbau (Dr. Griesser)**

**der Weinbauschule Krems (Dipl.- Päd. Ing. Kühner)**

**der Bioforschung Austria (K. Wechselberger, Dr. M. Sobotik, D. Haas, Dr. W. Hartl)**

### **Finanziert durch:**

**Amt der Niederösterreichischen Landesregierung**

## 1. Projektziele

Das langfristige Ziel ist die Klärung der Ursachen bzw. des Ursachenkomplexes der Traubenwelke und die Erarbeitung von Maßnahmen für die Praxis. Dieses Konzept ist ein erster wichtiger Schritt zur Erreichung dieses langfristigen Zieles. Basierend auf den Ergebnissen können in weiterer Folge Forschungskonzepte der einzelnen Partner entwickelt werden, die in gezielten Ansätzen die Ursache der Traubenwelke entschlüsseln.

### Arbeitsgruppe BOKU – Grundlagenforschung:

Das Ziel ist es jene physiologischen Prozesse während der Beerenentwicklung und Beerenreife zu identifizieren und zu beschreiben, die in symptomatischen Beeren gestört sind. Die Transkriptomanalyse bietet die Möglichkeit die Genexpression verschiedener Gewebe und Zustände zu vergleichen. Es können in weiterer Folge gezielt gestörte physiologische Prozesse während der Beerenreife beschrieben werden.

### Arbeitsgruppe Weinbauschule Krems und Bioforschung Austria – Grundlagen- und angewandte Forschung:

Die Schäden im Jahr 2008 lagen in der Versuchsanlage zwischen 50 und 80% geschädigter Trauben. Ziel dieser Untersuchungen soll es sein den WinzerInnen geeignete weinbauliche Maßnahmen zur Hand zu geben um dadurch den wirtschaftlichen Schaden zu minimieren bzw. auch abzuwenden.

Dabei werden Düngemaßnahmen und Bodenpflegesysteme, Schnittsysteme, Laubwandsysteme und Traubenausdünnungsverfahren getestet. Die Versuchsanlage besteht aus Zweigeltreben auf zwei unterschiedlichen Unterlagen. Dadurch ist es möglich den Einfluss dieser Unterlagsreben in die Untersuchungen mit einzubeziehen. Weiteres werden Wasserstressmessungen direkt an den Reben in wöchentlichen Intervallen durchgeführt um mit Bewässerungsmaßnahmen den Einfluss der Wasserversorgung zu untersuchen.

Ziel dieser Untersuchungen ist es, durch die Entwicklung eines Konzeptes zur Schadensminimierung, diese für Österreich wichtigste Rotweinrebsorte weiter zu erhalten und einen Rückgang im Anbau zu verhindern. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt steht keine attraktive Ersatzsorte für den österreichischen Weinbau zur Verfügung.

Ein Ziel dieser Untersuchungen ist es auch, Erkenntnisse dieser Untersuchungen in weiterer Folge auf andere Rebsorten umzulegen.

## 2. Ergebnisse Versuchsjahr 2010

### 2.1. Universität für Bodenkultur

Das Ziel der Arbeitsgruppe Biotechnologie von Sonderkulturen an der BOKU ist es die physiologischen Prozesse während der Beerenentwicklung und Beerenreife zu beschreiben, die durch die Traubenwelke gestört sind. Eine Transkriptomanalyse des Beerengerüsts soll erste Hinweise liefern. Kandidatengene werden ausgewählt und zu verschiedenen Zeitpunkten und in verschiedenen Geweben untersucht. Parallel werden Untersuchungen im Feld durchgeführt, um die Symptome der Traubenwelke noch detaillierter zu beschreiben und das Zeitfenster der ersten Veränderungen in den Trauben einzugrenzen.

#### a) Untersuchungen im Feld

Vegetationsverlauf 2010:

Versuchsstandort Gedersdorf: KW (Kalenderwoche), DAA (days after anthesis, Tage nach der Blüte), TW (Traubenwelke)

Stadien	Datum	KW	DAA
Knospenschwellen	01.04.	13	
Knospenaufbruch	28.04.	17	
<b>Blüte</b>	<b>14.06.</b>	<b>24</b>	
Schrotkorn	02.07.	26	18
Traubenschluss	22.07.	29	38
Beginn Veraison (10%)	13.08.	32	60
Veraison (50%)	20.08.	33	67
Ende Veraison (90%)	26.08.	34	73
<b>TW erstes Auftreten</b>	<b>20.08.</b>	<b>33</b>	<b>67</b>

#### Charakterisierung der Symptome: zeitliche Eingrenzung

Ziel ist es den Zeitraum in dem es zur Ausprägung der Traubenwelke Symptome kommt einzugrenzen. Dies ist besonders wichtig um ursächliche Faktoren von Symptomen unterscheiden zu können. Es wurden die Zuckergehalte (°Brix) und die Beerendurchmesser während der Traubenentwicklung bestimmt.

#### Brix Gehalte:

Abbildung 1 zeigt die gemessenen Zuckergrade in Brix in einem Zeitraum vom 20.8. bis 16.09.2010 von gesunden Trauben und Trauben die in weiterer Folge Traubenwelke Symptome zeigten. Ein deutlicher Unterschied ist bereits am 20.08.2010 zwischen gesunden (G) und Traubenwelke (TW) Trauben zu erkennen. Zu diesem Zeitpunkt wurden die ersten „verdächtigen“ Trauben beobachtet. Ein sicheres Erkennen von Traubenwelke ist zu diesem Zeitpunkt aber schwierig.

- Physiologische Veränderungen in den Trauben/in der Pflanze finden bereits zu Beginn der Veraison statt.

- Messungen der Zuckergehalte müssen bereits an grünen Beeren durchgeführt werden, um das Zeitfenster weiter einzuzugrenzen.

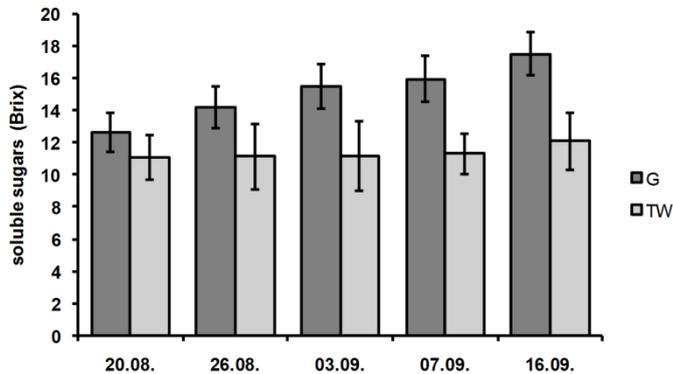


Abbildung 1: Messungen der Zuckergehalte (soluble sugars) von gesunden (G) und Trauben mit Traubenwelke (TW) Symptomen während eines Zeitraums vom 20.08. bis 16.09.2010.

#### Beerendurchmesser:

Die Entwicklung des Beerendurchmessers und der Beerenfestigkeit wurde im Lauf der Beerenentwicklung gemessen. Die Ergebnisse für den Beerendurchmesser (R0) sind in Abb.2 dargestellt. Eine leichte Differenzierung zwischen gesunden und Trauben mit Symptomen lässt sich ab dem 20.08.2010 beobachten. Leider muss die Genauigkeit des Messinstrumentes erhöht werden, um feine und signifikante Unterschiede anzuzeigen. Eine Anpassung der Messmethode ist erforderlich.

- Differenzierung von TW Trauben mit den Parameter Beerendurchmesser und Beerenfestigkeit ist möglich
- Die Frage ob eine Früherkennung möglich ist, bleibt noch zu klären

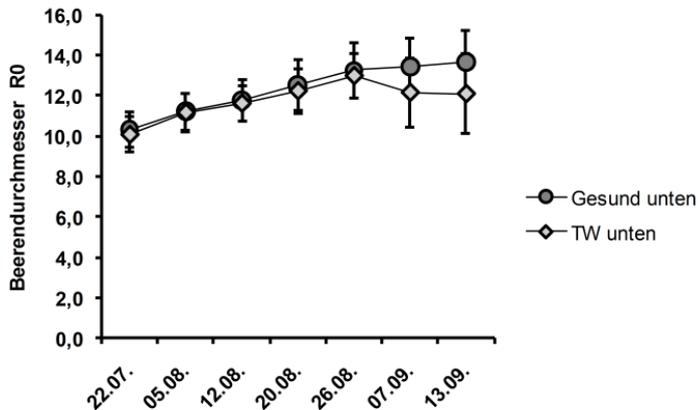


Abbildung 2: Messungen des Beerendurchmessers von Beeren an der Traubenspitze während eines Zeitraums vom 22.07. bis 13.09.2010. Es wurden gesunde (gesund unten) Beeren und Beeren mit Traubenwelke Symptomen (TW unten) gemessen.

### Beerenstielchendurchmesser:

Die Beerenstielchen von gesunden und Traubenwelke Trauben wurden jeweils an 3 Stellen vermessen: Gerüstnah (rachis side), Mitte Pedicel (middle value) und Beerennah (berry side). Die Ergebnisse sind in Abb.3 dargestellt. Die dafür verwendeten Trauben zeigen schon deutliche Traubenwelke Symptome, da die Messung am 13.09.2010 erfolgte. Die Beerenstielchen bei Traubenwelke Trauben waren deutlich dünner. Dieses Symptom der Traubenwelke wurde zum ersten Mal erhoben. Die Messung mithilfe eines Mikroskops ermöglicht eine genaue Bestimmung des Durchmessers.

- Pedicelen der Beeren sind deutlich geringer
- Ab wann kann dieser Unterschied festgestellt werden? Messungen zu einem früheren Zeitpunkt könnten vielleicht neue Erkenntnisse bringen

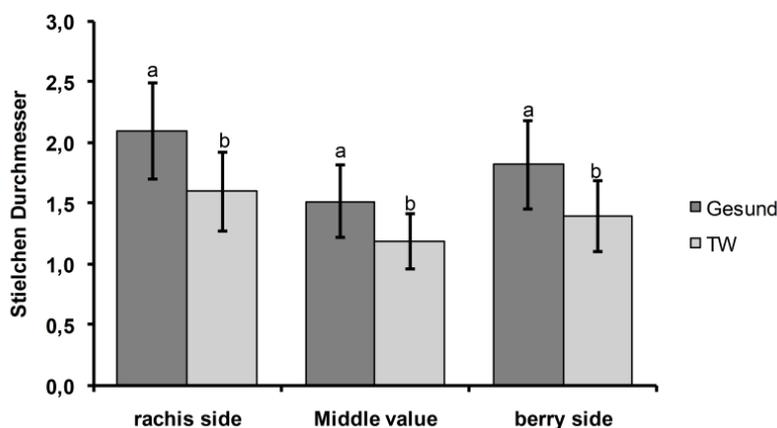


Abbildung 3: Bestimmung des Durchmessers der Pedicelen von gesunden und Traubenwelke Trauben. Die Messungen wurden mit Hilfe eines Mikroskops am 13.09.2010 an 3 Stellen der Stielchen durchgeführt. Gerüstnah (rachis side), Mitte Pedicel (middle value) und Beerennah (berry side). N=69 Stielchen, Kruskal Wallis Test  $p < 0.05$ , signifikante Unterschiede sind mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet.

### **b) Probenliste und molekularbiologische Untersuchungen**

In einem Zeitraum vom 21.07. bis 07.09.2010 wurden insgesamt 175 Einzeltrauben im Feld markiert und Proben genommen. Es wurde die Spitze der Schulter oder die Traubenspitze ca. 2 cm lang abgeschnitten. Gerüst, Pedicelen und Beeren wurden getrennt gesammelt und noch am Feld im flüssigen Stickstoff gelagert. Alle markierten Trauben wurden am 07.09.2010 hinsichtlich ihres Gesundheitszustandes (Gesund oder Traubenwelke) bonitiert. Eine Zusammenfassung der einzelnen Probennahmetermine und der Anzahl der beprobten Trauben ist in Tabelle 1 zusammengefasst. Die Proben vom 26.08.2010 werden für die Transkriptomanalyse vorbereitet. Proben vom 03.09.2010 wurden zur Überprüfung von Kandidatengen mittels quantitativer PCR verwendet.

Tabelle1: Probennahmetermine und Anzahl der beprobten Trauben im Jahr 2010. Die Proben wurden noch im Feld in flüssigem Stickstoff gelagert und stehen für molekularbiologische Untersuchungen zur Verfügung

Proben für die molekularbiologische Untersuchungen			
Datum	Gesund	TW	
21.07.	28	10	
13.08.	25	8	
20.08.	13	8	
26.08.	10	7	Microarray
03.09.	9	8	qPCR
07.09.	15	13	

- Im Versuchsjahr 2011 soll versucht werden die Probennahme konzentrierter vor und während der Veraison durchzuführen.

#### Molekularbiologische Analysen – qPCR im Jahr 2010:

Proben von 2009 und 2010 wurden für RNA Extraktion und in weiterer Folge die quantitative Bestimmung der Expression von Kandidatengenen verwendet. Ziel war es differenziell exprimierte Gene zu finden, die einen Rückschluss auf die Ursache von absterbenden Zellen im Traubengerüst (Hall et al 2010) geben könnten. Die Ergebnisse wurden beim 7th International Cool Climate Symposium in Seattle, June 2010 als Poster präsentiert.

Kandidatengene für die Hypothesen A und B wurden untersucht und sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Folgende Hypothesen wurden aufgestellt:

**Hypothese A:** Callose Ablagerungen im Traubengerüst könnten eine Rolle spielen bei der Entwicklung von Traubenwelke Symptomen

**Hypothese B:** Gene, die beim Zelltod eine Rolle spielen (Autophagy) könnten einen Einfluss auf die Entwicklung von Traubenwelke Symptomen haben

Tabelle 2: Liste von Kandidatengenen, die mittels qPCR im Traubengerüst und im Stielchen von gesunden Trauben und Traubenwelke Trauben untersucht wurden. Gene aus den Bereich Callose Synthase und Autophagy wurden ausgewählt. Der phloemspezifische Zuckertransporter wurde als Kontrollgen analysiert.

Sucrose transporter	SUC27 (GSVIVT00002302001)	Phloem spezifischer Sucrose Transporter; Kontrollgen für aktives Phloem
Callose synthase	GSL1 (GSVIVT00004069001)	Phloemblockade?
	GSL6 (GSVIVT00024714001)	
	GSL7 (GSVIVT00018885001)	
	GSL10 (GSVIVT00024721001)	
	GSL12 (GSVIVT00024714001)	
Sucrose synthase	SUS3 (GSVIVT00016378001)	Callose Bildung, Vorstufe?
Beta-1,3-glucanase	Glc1 (GSVIVT00025340001)	Abbau von Callose?
	Glc2 (GSVIVT00025341001)	
Autophagy-related genes	ATG2 (GSVIVT0003674001)	Zelltod?
	ATG6 (GSVIVT00027024001)	
	ATG8 (GSVIVT00028189001)	

Die Ergebnisse der qPCR sind in Abbildung 4 dargestellt. Die dargestellten Werte sind „fold change“ und beziehen sich auf die Expression der einzelnen Gene in gesundem Pflanzenmaterial. Die Normalisierung erfolgte mit den Referenzgenen Actin und GADPH. Ein fold change von 2 bedeutet, dass z.B. das Gen A im Stielgerüst von Trauben mit Traubenwelke doppelt so stark exprimiert ist, als in einem Stielgerüst von gesunden Trauben.

- Die meisten Gene zeigen keine Änderung in der Expression zwischen gesunden und Traubenwelke Trauben (zwischen fold change 2 und -2 liegt die Schwankungsbreite innerhalb der biologischen Wiederholungen)
- Nur Glc1 zeigt in Stielgerüst eine verstärkte Expression in Traubenwelke Trauben. Das könnte auf Abbauprozesse von Callose hindeuten; die Standardabweichung ist aber sehr groß, daher sind weitere Analysen notwendig

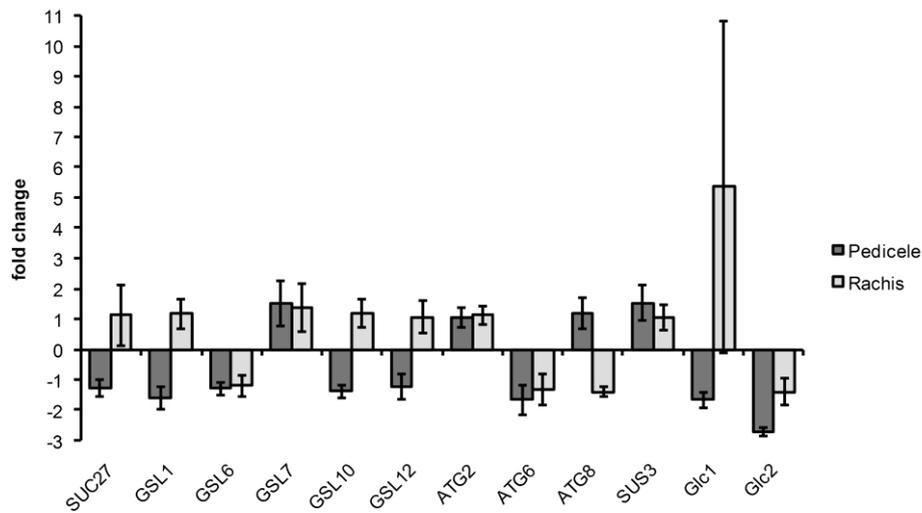


Abbildung 4: Relative Expression (fold change) von 12 Kandidatengen im Stielgerüst und in der Pedicele von Traubenwelke Trauben in Relation zu deren Expression in gesunden Trauben. Die Normalisierung erfolgte auf die Referenzgene Actin und Gadph. Für die Analyse wurden 4 biologische Wiederholungen verwendet.

### Ausblick für 2011:

- Untersuchung der Expression der Kandidatengene im Gerüst von Proben, die zu einem früheren Zeitpunkt gesammelt wurden (21.07.; 13.08.; 20.08.) (März 2011)
- Ausweitung der Analysen auf weitere Kandidatengene, die signifikante Unterschiede in der Mikroarray Analyse zeigen (April-Juni 2011)
- Sammeln von neuen Proben in einem zeitlich eingegrenzten Fenster und deren weitere Analyse

### Microarray Untersuchungen - Transkriptomanalyse

Für die Durchführung einer Transkriptomanalyse wurde die Kooperation mit **Prof. Dr. Kreil (Chair of Bioinformatik, Universität für Bodenkultur)** gesucht. Die Zusammenarbeit soll der Beginn einer langfristigen Kooperation sein, um Probleme und Fragen im Weinbau mit Unterstützung der Bioinformatik zu klären.

### Arbeiten abgeschlossen:

- Auswahl der Datenbank und Sequenzen für die Proben am Microarray
- TIGR Gene Indices Grapevine Release 7.0 (April 2010)  
<http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/cgi-bin/tgi/gimain.pl?gudb=grape>
- Selektion von ca. 34000 Genen mit EST und TC concensus (kommen also sowohl als EST (expressed sequence tag) und in der GeneBank vor); plus ca. 6000 Sequenzen ohne TC Eintrag, aber mit GeneOntolgy; plus ca. 2000 beschriebene Gene aus dem Genomeprojekt (<http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>)
- Am Vienna Science Cluster wurden die Proben für die Synthese des Microarrays errechnet
- Synthese von 12 Microarrays mit 44000 Sequenzen bei Agilent (<http://www.genomics.agilent.com/GenericB.aspx?PageType=Custom&SubPageType=Custom&PageID=2011>)

### Laufende Arbeiten:

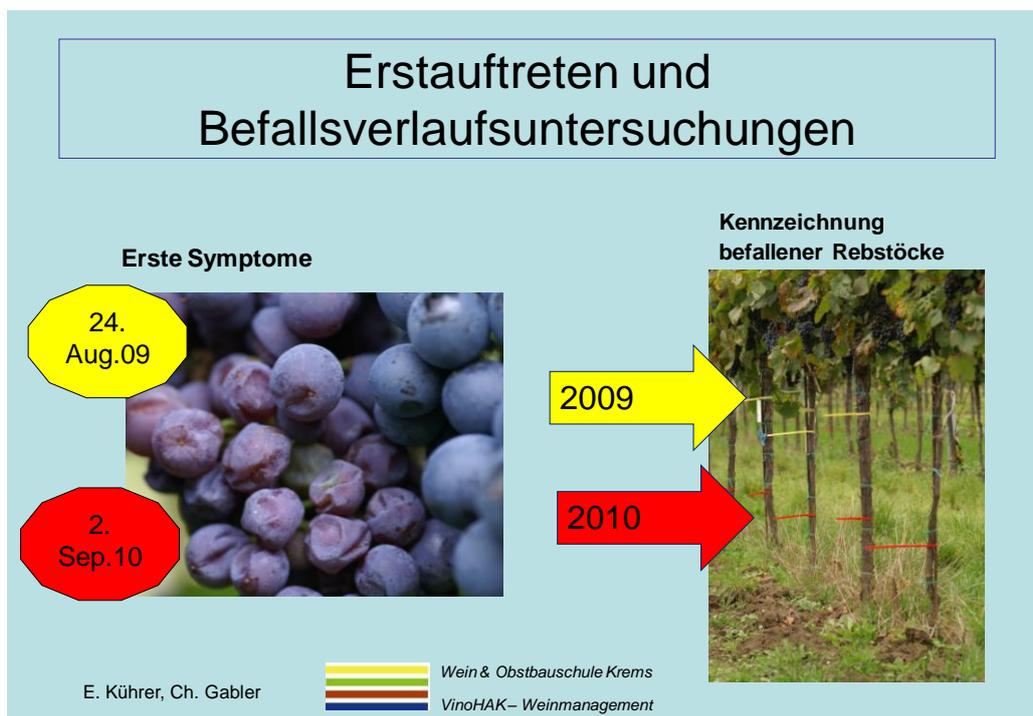
- Optimierung der Extraktion von RNA (Griesser)
- Optimierung der Hybridisierungstemperatur für Microarrays (Kreil)
- Hybridisierung der Proben – Analyse (voraussichtlich im Feber 2011)
- Datenanalyse (ab März 2011)
- Präsentation der Ergebnisse (Tagungen und Publikationen im Jahr 2011)

## 2.2 Arbeitsgruppe Weinbauschule Krems und Bioforschung Austria – Grundlagen- und angewandte Forschung:

Bei den Untersuchungen in den Jahren 2009 und 2010 in der Versuchsanlage in Gedersdorf im Kremstal zeigte sich, dass die unterschiedlichen Laubwandhöhen den stärksten Effekt auf das Auftreten von Symptomen der Traubenwelke ausüben. Dem intakten Blatt: Frucht-Verhältnis dürfte dabei eine bedeutende Rolle in der Bekämpfung der Traubenwelke zukommen. Der Winzer kann durch die verschiedenen Laubarbeiten bzw. durch Rebschnitt und Traubenausdünnung dieses Verhältnis beeinflussen.

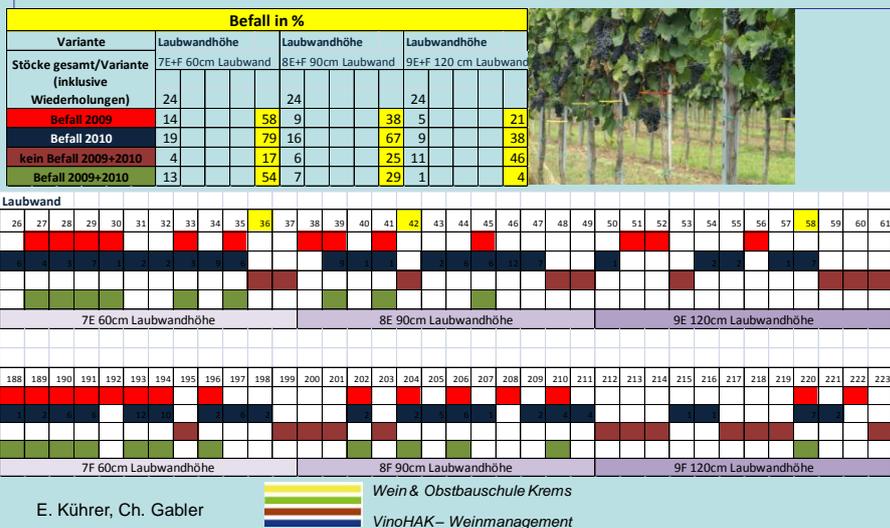
### Der Einfluss der Laubwandhöhe

Die Kennzeichnung befallener Einzelstöcke (siehe Grafik1) in denen einzelnen Untersuchungsjahren ermöglicht eine Bestimmung des Befallsausmaßes kranker Rebstöcke bzw. auch eines Befallsverlaufes. So wird sichtbar, ob immer wieder dieselben Rebstöcke befallen werden oder ob es sich z.B. um einen alternierenden Befall handelt. In den Erhebungen zeigten sich deutliche Unterschiede bei den unterschiedlichen Laubwandhöhen. Bei der 60 cm hohen Laubwand waren 54 % der ausgewerteten Rebstöcke in beiden Jahren befallen, bei der 120 cm hohen Laubwand waren es lediglich 4% (siehe Grafik 2).



Grafik 1: Kennzeichnung von befallenen Einzelstöcken mit farbigen Selektionsbändern.

## Befallsverlaufsuntersuchungen

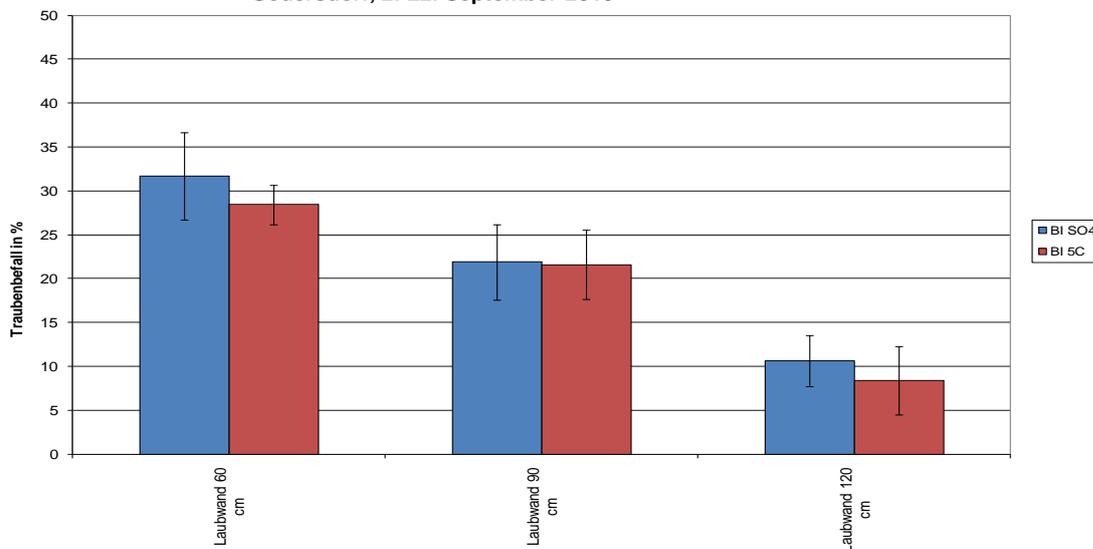


Grafik2: die grünen Kästchen zeigen die Rebstöcke welche im Jahr 2009 und 2010 Traubenwelkeschäden aufwiesen; bei der 60 cm hohen Laubwand sind es 54 % der Rebstöcke, bei der 120 cm hohen Laubwand sind es lediglich 4%.

Neben der Erfassung kranker Rebstöcke wurde aber auch die Traubenzahl pro Stock und wenn vorhanden die Anzahl kranker Trauben vor der Ernte in den unterschiedlichen Varianten ausgewertet (siehe Grafik 3). In der Grafik sieht man den prozentuellen Traubenschaden in den drei Laubwandhöhen bei den Unterlagen SO4 und 5C. Zwischen den Unterlagen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der ~30 %ige Traubenbefall in der 60 cm Laubwandhöhenvariante konnte durch die 120cm Laubwandhöhe um 2/3 reduziert werden.

Somit zeigt sich sowohl bei der Anzahl kranker Rebstöcke als auch beim Ausmaß des Traubenbefalls ein deutlicher Einfluss der Laubwandhöhe.

**Traubenwelkebefallsauswertung - Endauswertung  
verschiedene Unterlagen bei unterschiedl. Laubwandhöhen**  
ZW auf 5C und SO4;  
alle Trauben von mind. 40 Rebstöcken in 4 Wiederholungen  
Gedersdorf, 2.-22. September 2010



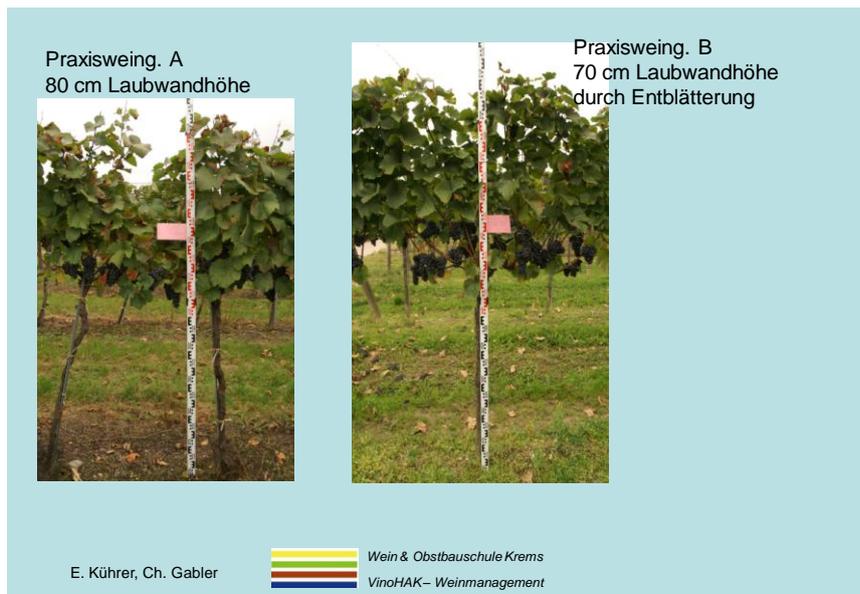
Grafik3: die 120 cm Laubwandhöhe kann den Traubenwelkebefall sehr stark minimieren!

Vielleicht sollte man kritisch hinterfragen, ob sich unsere Erziehungssysteme nicht in den letzten Jahrzehnten zunehmend verändert haben und wenn ja, in welche Richtung? Bei einer stichprobenartigen Aufnahme von Praxisweingärten konnten wir Laubwandhöhen von 70 und 80 cm in Praxis finden.

Wie kommt es dazu, dass die Laubwände so kurz gestaltet werden. Der Hauptgrund liegt in einer Erleichterung der Bewirtschaftung (Bodenpflege im Unterstockbereich, Laubarbeit, Lese,...). So versucht man durch eine Umstellung von Weingärten von einer klassischen Hochkultur (Lenz Moser Erziehung) auf eine Spalierform die in die Fahrgasse hängenden Triebe in den Drahtrahmen einzuschlaufen. Dieser besetzende Drahtrahmen verfügt aber meistens nur über zwei Heftdrahtpaare statt erforderlichen drei Drahtpaaren, wodurch die Trieb länge deutlich kürzer ausfällt.

Auch der unsachgemäße Einsatz des Laubschneiders hat dazu beigetragen (zu oft es Einkürzen der Triebe, zu kurzes Einkürzen der Triebe). So sollte beim zweiten Laubschnitt im Besonderen darauf geachtet werden, dass nur junge Triebe rückgeschnitten werden, da in den Haupttrieben bereits verstärkt Energie eingelagert wurde.

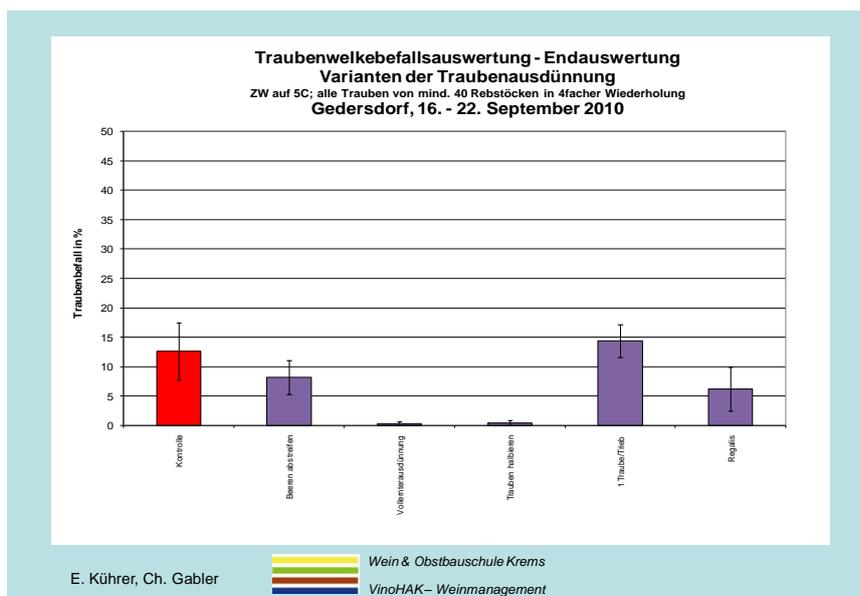
Ein weiterer Grund liegt darin, dass zu Reifebeginn in manchen Weingärten die Traubenzone fast komplett freigestellt wird (siehe Grafik 4, Beispiel B). Dadurch wird den Reben mit einem Schlag ca. ein Viertel der „Kollektorfläche“ abmontiert. Es wird massiv Stress ausgelöst in einer Phase wo die Rebe besonders viel Energie zur Reifeentwicklung der Trauben benötigt. Eine intensive Entblätterung solltes deshalb in Anlagen mit kurzen Laubwänden unbedingt vermieden werden. In Anlagen mit hohen Laubwänden stellt eine Teilentblätterung zu diesem Zeitpunkt keinen so dramatischen Eingriff dar.



Grafik 4: zwei Praxisbeispiele für eine unzureichende Laubwandhöhe bei Zweigelt.

### Ertragsreduktion

Das Ertragspotenzial der Sorte Zweigelt kann als sehr hoch eingestuft werden (nicht ausgedünnt: 14 Trauben / Stock mit 250 Gramm durchschnittlichem Traubengewicht). Die Erträge sind auch keinen großen Jahresschwankungen ausgesetzt und können daher als sehr regelmäßig eingestuft werden. Dies bedeutet in nicht ausgedünnten Anlagen einen jährlichen Stressfaktor. Durch verschiedene Traubenausdünnungsverfahren kann der zu hohe Ertrag auf ein gewünschtes Asumaß reduziert werden. In den Untersuchungen 2010 konnte gezeigt werden, dass mit Ausnahme der sehr späten Reduktion auf eine Traube pro Trieb alles Ausdünnungsverfahren zu einer Reduktion der Traubenwelke geführt haben (siehe Grafik 5).



Grafik 5: Ausdünnungsverfahren im Vergleich zur Kontrolle; eine späte Ausdünnung zu Reifebeginn ist nicht sinnvoll; Regalis ist bei der Sorte Zweigelt nicht zugelassen!

Das sehr späte Ausdünnen zu Reifebeginn (1. September) sollte unterlassen werden. Zu diesem Zeitpunkt sind erste Anzeichen einer Traubenwelke noch nicht bzw. sehr schwer erkennbar. Gleichzeitig gehen wir davon aus, dass zu diesem Zeitpunkt die Krankheit bereits in einigen Trauben angelaget ist. Reduziert der Winzer zu diesem Zeitpunkt die Trauben z.B. auf eine Traube /Trieb (bedeutet bei Zweigelt ca. eine Traubenzahlreduktion von 40%) so muss er davon ausgehen, dass er nach zwei Wochen bei den verbliebenen Trauben einen durchschnittlichen bzw. prozentuell erhöhten Traubenwelekebefall feststellen kann (siehe Grafik 4).

### Blatt:Frucht Verhältnis

Nachdem sowohl die Blattfläche als auch der Traubenertag als Einflussfaktoren ausgewiesen werden konnten sollte in einzelnen Varianten das Blatt:Frucht Verhältnis bestimmt werden (siehe Grafik6).



Grafik 6: Untersuchung des Blatt:Fruchtverhältnisses (BFV) hier in einem Winter-Nichtschnittsystem mit einer Sommerlaubschnitt – Folge und damit extrem ungünstigem BFV und dem stärksten Befall durch Traubenwelke.



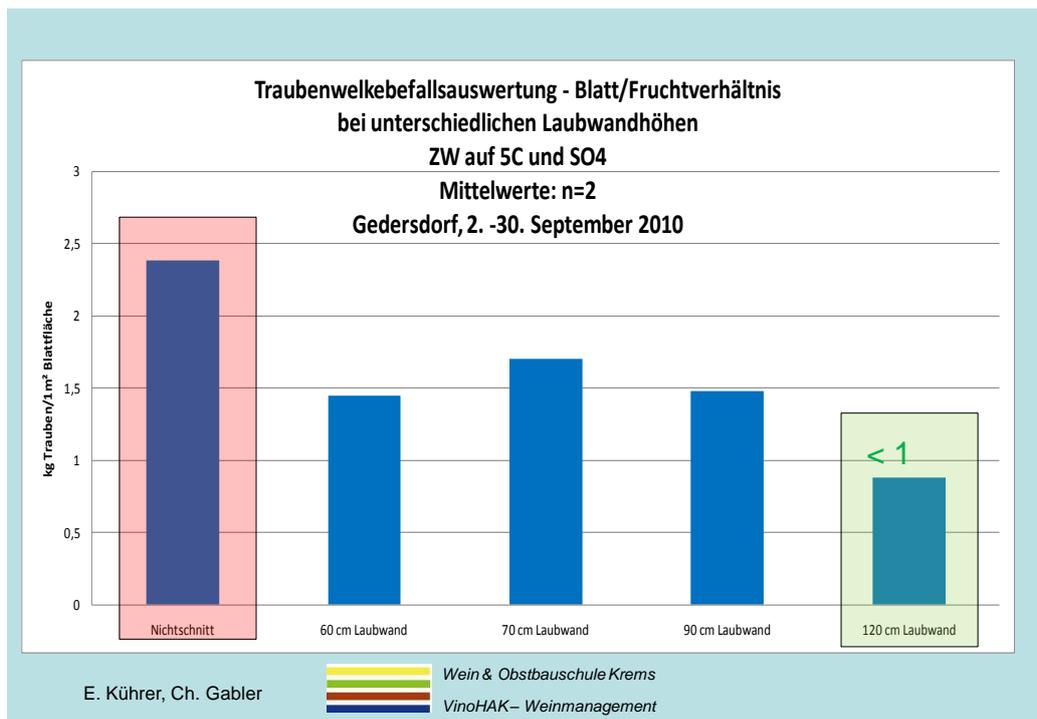
Grafik7: Blattfläche und Traubenertrag bei unterschiedlicher Laubwandhöhe.

Für diese Untersuchung waren die Varianten mit den unterschiedlichen Laubwandhöhen bestens geeignet. Die grünen Säulen in der Grafik 7 zeigen die vorhandene Blattfläche im m<sup>2</sup> bei 60, 90 und 120 cm Laubwandhöhe. Die roten Säulen zeigen den dazugehörigen Traubenertrag in kg/Stock. Es zeigt sich, dass der Ertrag in der Variante 90 und 120 cm Laubwandhöhe auf gleicher Höhe liegt. Jedoch die Laubwandfläche in den beiden Varianten deutlich voneinander abweicht. Weist die 60 cm Laubwandhöhe und 90 cm Laubwandhöhe einen höheren Ertrag als Laubfläche auf so dreht sich bei der 120 cm Laubwandhöhe dieses Verhältnis um. Bei gleicher Ertragshöhe in der 90 und 120 cm Laubwandhöhe ergibt sich ein deutlicher Unterschied im Traubenwelkebefall (siehe Grafik 2 und 3).

Interessant erscheint der Umstand, dass die kurze Laubwand mit 60 cm ein in etwa gleich ungünstiges BFV aufweist als die Variante mit 90 cm Laubwandhöhe und dennoch den stärksten Befall an Traubenwelke zeigt. Dies lässt den Schluss zu, dass Stresssituationen der laufenden Saison erst im Folgejahr zur vollen Wirkung gelangen. Die Ertragssituation im Jahr 2009 war in den drei Laubwandhöhen auf gleichem Niveau (3,9-4,0 kg/Stock). Im Frühjahr zeigte sich jedoch bei der Variante 60 cm bereits eine wesentlich stärkere Chlorose und bei der Ernte ein deutlich geringerer Ertrag, gepaart mit dem höchsten Anteil traubenwelker Trauben.

Die 60 cm Laubwandhöhe hatte eine besonders hohe Stresssituation im Jahr 2009 durch ein besonders ungünstiges BFV, es wurden weniger Reserven einlagert und dadurch kam es zu einer verstärkten Chlorose im Frühjahr. Die geringe Assimilationsleistung der chlorotischen Blätter bedingte eine Verrieselung mit geringerem Traubengewicht und den niedrigsten Stockertrag im Jahr 2010 in Kombination mit dem höchsten Traubenwelkebefall.

Im Akutfall reagiert die Pflanze jedoch sofort. So zeigte das ungünstigste BFV beim Winternichtschnitt mit Sommertriebeinkürzung bereits im ersten Jahr des Versuches seine verheerende Wirkung. In dieser Variante waren 50% der Trauben durch Traubenwelke geschädigt.



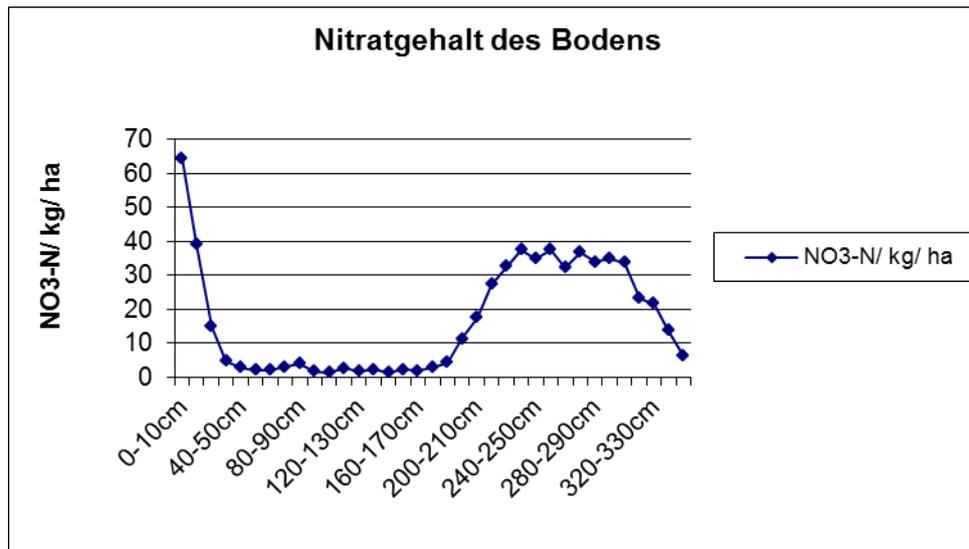
Grafik 8: unterschiedliche BFV; äußerst ungünstig bei der Umstellung auf Nichtschnitt in Kombination mit Triebeinkürzung im Sommer, günstig bei der Variante 120 cm Laubwandhöhe

### Nitratgehalt am Versuchsstandort

Um die am Versuchsstandort erhaltenen Daten richtig interpretieren zu können, wurde eine Wurzelfreilegung von zwei Rebstöcken durchgeführt. Hiermit wurde festgestellt, dass die Weinstöcke im Bodenprofil eine Mächtigkeit von 3,80 Metern Tiefe durchwurzeln. Die freigelegten Wurzeln wurden konzerviert und sind in der Weinbauschule Krems zur Besichtigung ausgestellt.

Die tiefe Durchwurzelung durch den Wein zeigt, dass der Standort als fruchtbar zu bezeichnen ist. Ein grundsätzlicher Mangel an Nährstoffen oder Wasser kann als Ursache für Traubenwelke oder Chlorose ausgeschlossen werden.

Weiters wurde, um das bewegliche Nährstoffnitrat im Bodenprofil festzustellen, eine Beprobung und Analyse des Stickstoffgehaltes in 10 cm Schritten bis zu einer Tiefe von 3,30 Metern durchgeführt (Abb1).



(Abb. 1 Nitratgehalt des Bodenprofils am Versuchsstandort Gedersdorf)

Der Stickstoffgehalt ist in den obersten 10cm Boden hoch und nimmt aber bis in 40cm Tiefe schnell ab. In einer Tiefe von 210 bis 330cm steigt der Stickstoffgehalt des Bodens wieder auf bis zu 40kg Stickstoff pro Hektar an. Dies erklärt sich durch die Tatsache, dass es sich hier um einen überlagerten A-Horizont handelt. Es war nicht eruierbar, wie es zu der Überlagerung kam. Möglicherweise wurde Erde aufgeschüttet und/oder durch Erosion hat sich am Fuß des Hanges über die Zeit Erde abgelagert.

Am Versuchsstandort wächst eine natürliche Dauerbegrünung, die hauptsächlich aus Gräsern besteht. Die Pflanzen wurzeln eher flach, aber vereinzelt reichten die Wurzeln bis in drei Meter Tiefe hinab. Der Boden am Standort ist feucht und neigt zu Staunässe.

### Chlorosebonitur

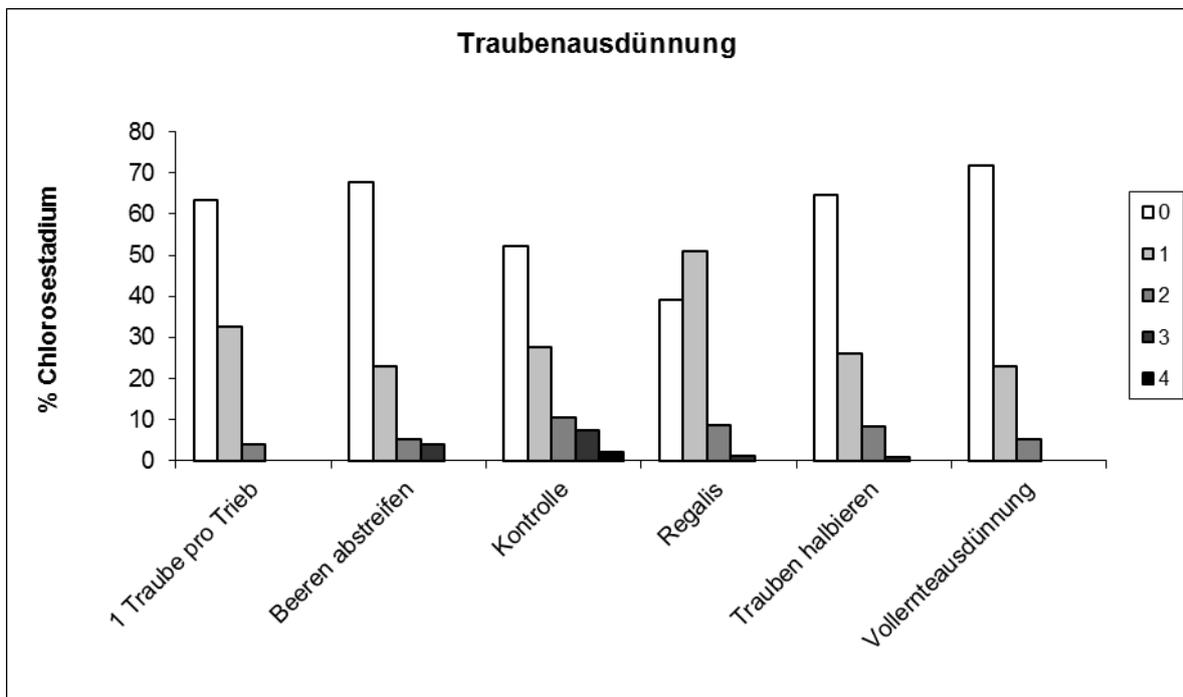
Bei der Chlorose handelt es sich um ein durch Chlorophyllmangel bedingtes Symptom. Chlorose erkennt man an Blattvergilbungen beginnend an den Triebspitzen, die sich in stärkerer Form in vergilbten Blättern mit grünen Blattadern äußert und bis zum Absterben des Weinstocks führen kann. Ihre Ursachen sind vielfältig und reichen von ungünstigen Witterungsverhältnissen über ungünstige Bodenzusammensetzung (Kalkböden) und Bodenverdichtung bis hin zu nachteiligen Kulturmaßnahmen.

Am Versuchsstandort in Gedersdorf der von der Weinbauschule Krems angelegt wurde, führten wir am 19.07.2010 eine Chlorosebonitur nach folgendem Boniturschema durch:

Befallsstärke	<i>Chlorose</i>
0	<b>Keine Chlorose</b>
1	<b>Leichte Chlorose:</b> Blätter leicht vergilbt
2	<b>Mittlere Chlorose:</b> Blätter stark vergilbt, jedoch noch erkennbare grüne Flecken
3	<b>Schwere Chlorose:</b> Nur mehr Blattadern grün
4	<b>Nekrose:</b> Blätter sterben ab

### Traubenausdünnung

Bei den Parzellen in denen Regalis aufgebracht wurde, war der Anteil an chlorosefreien Weinstöcken im Vergleich zur Kontrolle geringer (13% mehr Chlorose als bei der Kontrolle). Alle übrigen Behandlungen zur Traubenausdünnung verminderten den Anteil an chlorotischen Weinstöcken (Abb. 2)



(Abb. 2 Auswirkung der Traubenausdünnung auf den Anteil an Chlorose im Bestand)

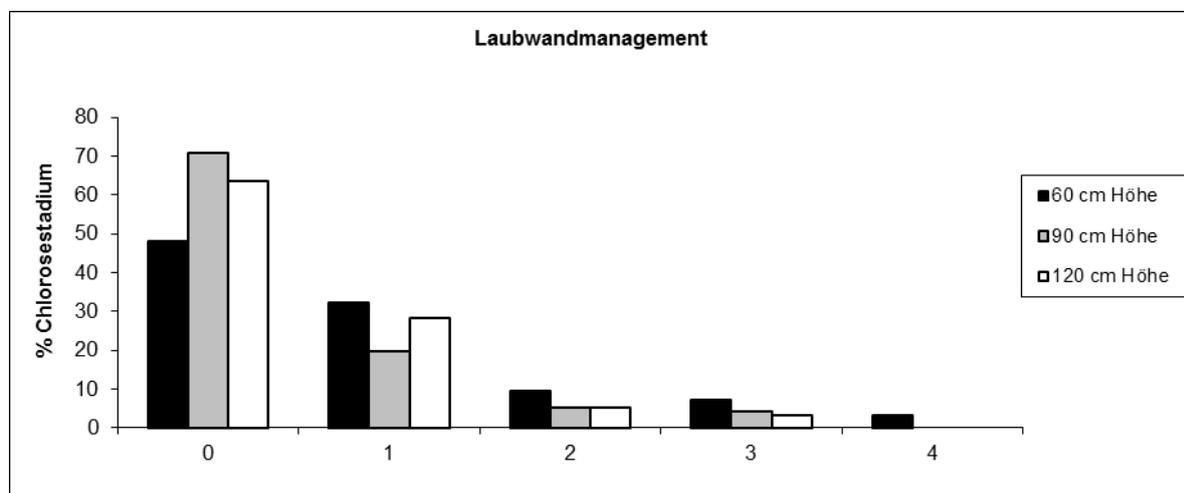
## Laubwandmanagement

Im Gegensatz zur Traubenausdünnung hatte das Laubwandmanagement deutliche Auswirkungen auf den Anteil an chlorotischen Rebstöcken (Abb. 3). Weinstöcke mit einer Laubwandhöhe von nur 60 cm waren häufiger chlorotisch als Rebstöcke mit 90 cm oder 120 cm hoher Laubwand. Bei höherer Photosyntheseleistung war der Anteil an Chlorose im Versuch geringer.

Die Ursachen von Chlorose sind umfangreich. Dass der Anteil an Chlorose bei den untersuchten Rebstöcken durch höhere Laubwände herabgesetzt wurde könnte auf Stress durch Staunässe am Versuchsstandort hinweisen. Höhere Laubwände bedeuten höhere Verdunstungsraten und somit einen höheren Wasserverbrauch. Der Wassergehalt des Bodens wird durch die größere Blattfläche herabgesetzt und Stress durch Staunässe vermindert. Der Standort war durch einen feuchten gekennzeichnet, der neben der Chlorose auch das Traubenwelke-Aufkommen beeinflusste.

Die Reduktion der Laubwandhöhe dient unter anderem der Fäulnisvermeidung. Wird die Laubwandhöhe aber zu stark reduziert, wird die Photosyntheseleistung des Weinstocks herabgesetzt. Dadurch kann es auch zu vermindertem Wurzelwachstum kommen und folglich zu verminderter Nährstoffaufnahme. Auch durch den so verursachten Stress können Krankheiten gefördert werden.

Bei den Parzellen mit 90cm Laubwandhöhe war der Chloroseanteil um ca. 7% geringer als in den Parzellen mit 120cm Laubwandhöhe. Die physiologische Balance zwischen oberirdischen und unterirdischen Pflanzenwachstum könnte durch die Höhe der Laubwand beeinflusst werden.

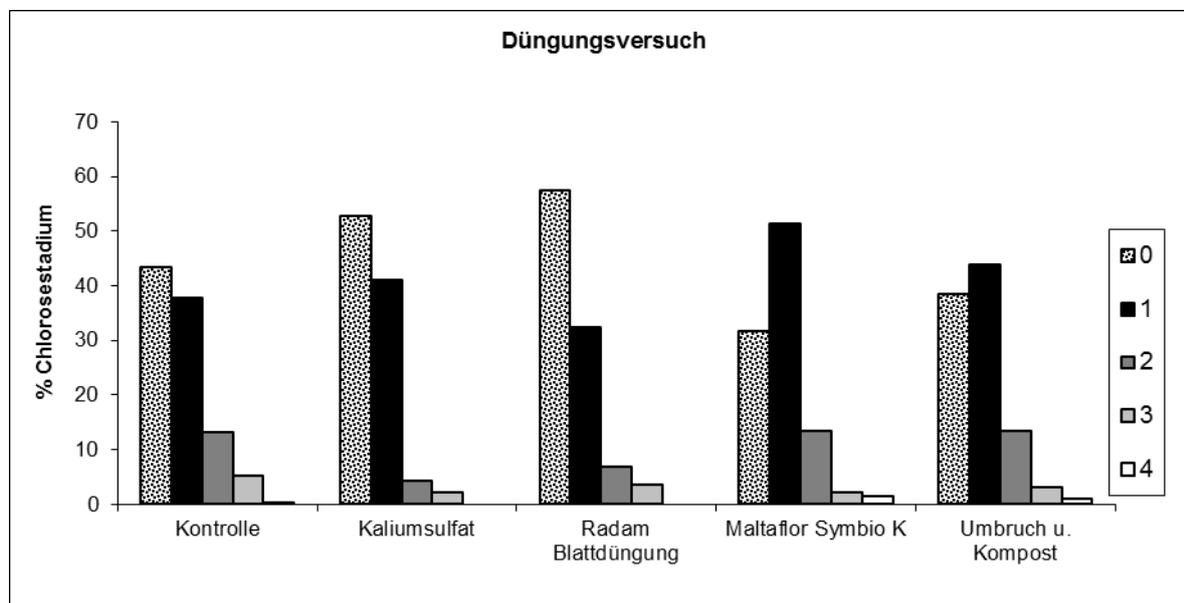


(Abb. 3 Einfluss der Laubwandhöhe auf den Chloroseanteil)

## Düngungsversuch

Sowohl Maltaflor Symbio K, als auch Umbruch und Kompost, erhöhten den Anteil an chlorotischen Rebstöcken im Vergleich zur Kontrolle. Radam Blattdüngung und Kaliumsulfatdüngung hingegen verminderten den Chloroseanteil im Vergleich zur Kontrolle geringfügig (Abb. 4).

Bei der Variante Umbruch und Kompost werden Anfangs durch den Umbruch größere Mengen an Nährstoffen wie Stickstoff und Calcium freigesetzt. Calcium fördert das Auftreten der Chlorose beim Wein (Kalkchlorose). Zusätzlich kann es durch den Umbruch des feuchten Bodens des Versuchsstandortes und die darauf folgende Verdichtung durch das Befahren der unbegrünten Fahrgassen zu Bodenverdichtungen gekommen sein. Diese Umstände hätten die Bodendurchlüftung herabgesetzt und somit die Eisenverfügbarkeit vermindert, welches die von uns erhobenen Daten ebenfalls erklären könnte (Eisenchlorose).



(ABB. 4 Düngevarianten und deren Einfluss auf die Chlorose)

## Beerenstielchen einer gesunden und einer an Traubenwelke erkrankten Pflanze, Probenaufsammlung, Oktober 2009

Die ersten Untersuchungen zeigten, dass die gesunden Beerenstielchen keine und die kranken deutliche Nekrosen aufwiesen. Untersucht wurden jeweils nur die dünnsten Stellen eines Stielchens. Zur Überprüfung dieser Ergebnisse wurden von den einzelnen Stielchen Serienschritte hergestellt. Für die Auswertung wurden 5–6 Schnitte jeweils eines Beerenstielchens herangezogen. Dies wurde für je 2 Beerenstielchen der gesunden Pflanze und für 2 Beerenstielchen der mit Traubenwelke erkrankten Pflanze ausgewertet. Bereits das äußere Erscheinungsbild lässt deutliche Unterschiede zwischen der gesunden und der erkrankten Pflanze erkennen. Die Beerenstielchen der gesunden Pflanze zeichneten sich gegenüber der erkrankten Pflanze durch längere Beerenstielchen und deren geringeren Ø aus (Abb. 1 und 2, Tab. 1 und 2).



**Abb. 1 und 2:** *Vitis vinifera*, links Beerensielchen eines gesunden und rechts eines an Traubenwelke erkrankten Weinstocks.

Die MW der Durchmesser der Beerensielchen der gesunden Pflanze liegen bei 2,1 bis 2,3. Jene der an Traubenwelke erkrankten Pflanze bei 2,5 bis 2,9 (Tab. 1 und 2). Die Ergebnisse zeigten, dass auch die Beerensielchen der gesunden Pflanze Nekrosen aufwiesen. Diese beschränkten sich allerdings vorwiegend auf den Epidermisbereich. Sowohl bei der gesunden wie bei der kranken Pflanze treten die Nekrosen entweder an mehreren kleinen Stellen auf (Abb. 7) oder erfassen große ineinander fließende Stellen, die mitunter den gesamten Umfang des Beerensielchens betreffen (Abb. 3–6). Außerdem kommen auch Nekrosen im inneren Bereich der Rinde vor. Bei der gesunden Pflanze ergab sich hinsichtlich der Zahl der Nekrosen im Epidermisbereich bei beiden Beerensielchen ein MW von 2,5 und für die im Rindenbereich eine von 0,6 bzw. 0,2. Für die Beerensielchen der erkrankten Pflanze für die Nekrosen im Epidermisbereich ein MW von 3,25 bzw. 2,3 und für die Nekrosen im Rindenbereich ein MW von 0,8 bzw. 1,3 (Tab. 1 und 2). Noch aufschlussreicher sind die Prozentanteile, die die Nekrosen vom Umfang des Querschnittes im Epidermisbereich der Beerensielchen bedecken. Bei der gesunden Pflanze liegt der MW dieses Anteiles zwischen 28,3 und 40,4 % und bei der kranken Pflanze zwischen 42,9 und 45,8 % (Tab. 1 und 2, Abb. 3–6). Außerdem ließen sich bei den Beerensielchen der kranken Pflanze oftmals wellige Vertiefungen der Epidermis feststellen (Abb. 7 und 11). Abb. 9 zeigt einen Querschnitt eines Beerensielchens einer gesunden Pflanze bei dem die Epidermis weder wellige Vertiefungen bildete, noch Nekrosen aufweist. Auch bei der gesunden Pflanze sind des Öfteren größere Bereiche mit Nekrosen festzustellen. Allerdings mehr im Randbereich und nicht so tiefreichend (Abb. 3). Bei den Beerensielchen der kranken Pflanze reichen die Nekrosen tiefer in den Rindenteil (Abb. 4). Um das Eindringen der Nekrosen in die Rinde vergleichen zu können, wurde der radiale Abstand vom Rand weg bis zum Auslaufen der Nekrosen gemessen. Im MW liegt die radiale Breite der Nekrosen beim gesunden Beerensielchen bei 216,6 bzw. bei 226,6  $\mu\text{m}$ . Die maximalen Werte liegen bei 400  $\mu\text{m}$ . Bei der erkrankten Pflanze liegt der MW bei 277,5 bzw. 366  $\mu\text{m}$ . Die maximalen Werte erreichen bis zu 800  $\mu\text{m}$ . Die Breite der Rinde weist im MW mit 630 bzw. 650  $\mu\text{m}$  bei den Beerensielchen der gesunden Pflanze und mit 640 bzw. 630  $\mu\text{m}$  bei den Stielchen der erkrankten Pflanze sehr ähnliche Werte auf. Als maximale Werte der Rindbreite konnten Werte bis zu 1.200  $\mu\text{m}$  bei den gesunden Beerentraubenstielchen und solche von bis zu 1.800  $\mu\text{m}$  bei den kranken Beerensielchen gefunden werden. Zwischen den Beerensielchen der gesunden und der kranken Pflanze sind die Unterschiede beim  $\emptyset$  des Holzteiles einschließlich des Markes deutlich größer als bei der Rinde. Die MW der beiden gesunden Stielchen sind mit 725  $\mu\text{m}$  bzw. 701  $\mu\text{m}$  sehr ähnlich. Deutlich größere Durchmesser weisen

die Beerenstielchen mit einem MW von über 1.000  $\mu\text{m}$  bzw. 958  $\mu\text{m}$  auf (Tab. 1 und 2). Auch der Markanteil ist deutlich breiter. Inwieweit im Holzteil Thyllen auftreten, müsste anhand von Längsschnitten geklärt werden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die gesunden Beerenstielchen zwar ebenfalls mitunter deutliche Nekrosen aufweisen, diese allerdings nicht so tief in die Rinde eindringen wie bei den Beerenstielchen der kranken Pflanzen. Der auffällige Unterschied der glatten Struktur der Epidermis bei den Beerenstielchen der gesunden Pflanzen und der wellige Verlauf der Epidermis der Stielchen der kranken Pflanzen wäre weiter zu verfolgen. Die Unterschiede der Dicke der Traubenstielchen beruhen vor allem auf eine Zunahme des Holzteiles und nicht auf jenen der Rinde.

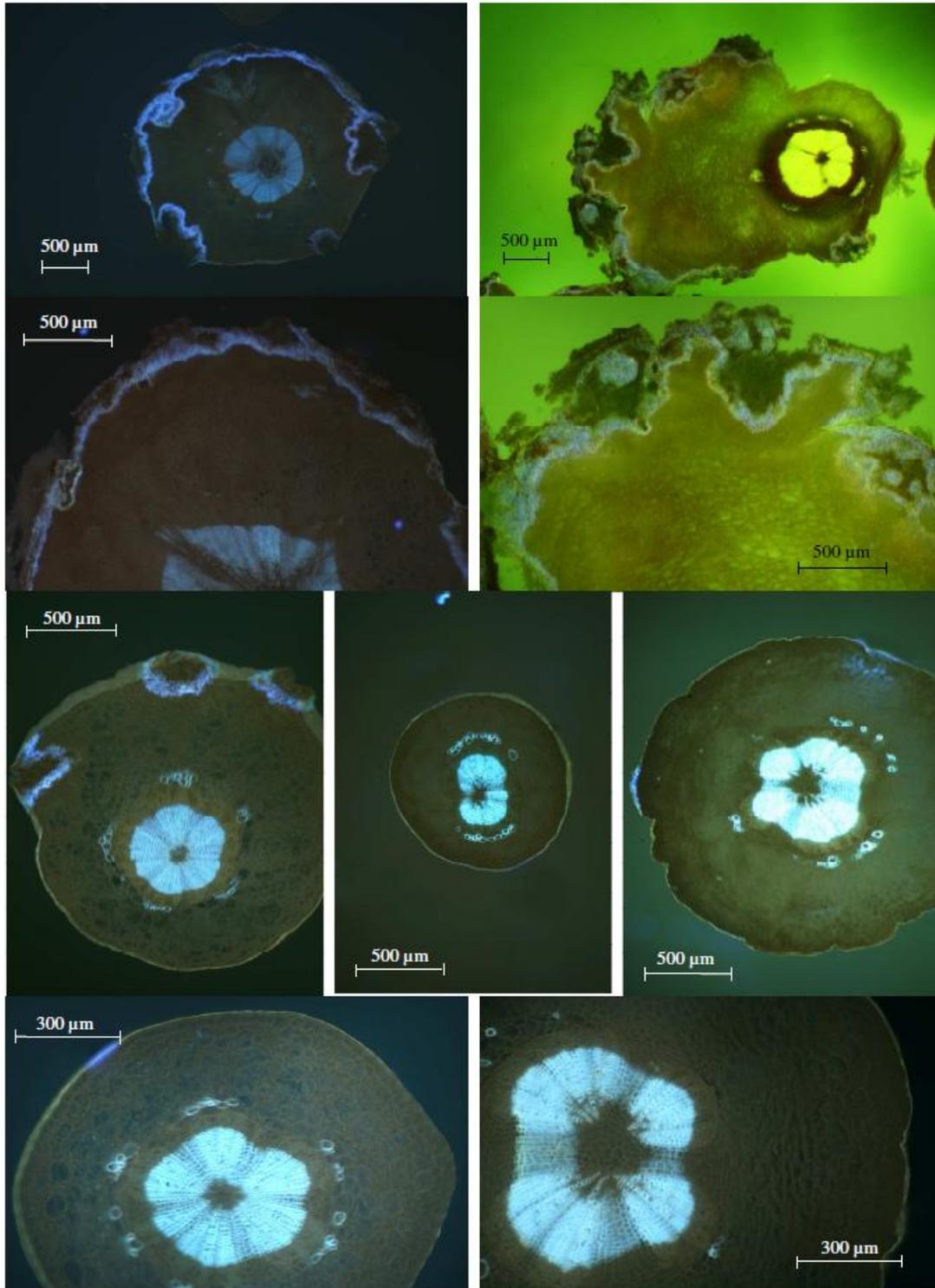


Abb. 3–11: *Vitis vinifera*. – 3, 5, 7, 8 und 10: Beerensielchen eines gesunden und – 4, 6, 9 und 11: eines an Traubenwelke erkrankten Weinstocks.

Tab. 1: Anatomische Ergebnisse im Bereich der Beerenstielchen des gesunden Weinstocks 11

Bildnummer	Ø des Beerenstielchens in mm	Nekrosen, Anzahl, Stellen außen /innen	radiale Breite in µm	Rinde, Breite in µm	% Anteil Nekrosen außen	Ø Holz + Mark in µm	Ø Mark in µm
<b>Beerenstielchen A</b>							
	2,7–3,2	3/2	150–200	620–800	85–90	1.000–1.100	250–400
	2,5–2,9	1/0	300–350	600–800	65–70	1.000–1.100	300–400
	2,5–3,1	3/0	300–350	380–1.200	50–55	720–800	80–150
	2,3–2,9	2/1	200–400	300–1.100	20–25	600–700	80–150
	1,6–1,8	3/0 asymmetrisch	100–250	580–700	10–15	400–550	60–120
	1,1–1,2	0/0	0	200–280	0	250–480	100–120
<b>Mittelwert</b>	2,3	2,5/0,6	216,6	630	404	725	184,2
<b>Beerenstielchen B</b>							
	2,5–2,8	1/0	220–350	1.000–1.600	60–65	1.000–1.100	250–350
	2,5–2,8	2/1	250–350	500–700	70–75	900	200–250
	2,3–2,7	3–4/0	250–400	500–800	65–70	700	100–150
	1,7–2,0	3/0	100–250	400–780	15–20	500–600	100–120
	1,7–2,1	3/0 asymmetrisch	250–300	300–650	20–25	480–600	100–120
	1,1–1,3	0/0	0	260–320	0	430–500	100–120
<b>Mittelwert</b>	2,12	2,5/0,2	226,6	650	28,3	700,8	163,3

Tab. 2: Anatomische Ergebnisse im Bereich der Beerenstielchen des an Traubenwelke erkrankten Weinstocks 12

Bildnummer	Ø des Beerenstielchens in mm	Nekrosen, Anzahl, Stellen außen /innen	% Anteil Nekrosen außen	radiale Breite in µm	Rinde, Breite in µm	Holz + Mark in µm	Mark in µm
<b>Beerenstielchen A</b>							
	3,1–4,3	5/0	55–60	300–500	600–800	1.800–2.300	700–800
	3,3–3,8	3/4 asymmetrisch	75–80	250–400	500–900	1.300–1.700	150–200
	3,2–3,8	4/1 asymmetrisch	80–85	250–500 (750)	400–1.800	900–1.100	100–120
	2,0–3,1	3/0 mit Anhang asymmetrisch	25–30	300–550	250–700	700–800	120–150
	1,9–2,1 (1,7–1,9)	2 (3/0) zahlreiche Einschnürungen in Epidermis	5–10 (15)	30–200 (320)	450–560	600–700	120–180
	1,5–1,7	2/0	5	20–30	320–400	500–600	100–150
<b>Mittelwert</b>	2,85	3,25/0,8	42,9	277,5	641,6	1.083,3	240,8
<b>Beerenstielchen B</b>							
	3,1–3,4	1/2	100	300–450	800–1.000	1.300–1.700	400–500
	2,9–3,3	1/3 asymmetrisch	80	200–350	400–1.000	1.200–1.300	300–500
	2,5–3,0	4/0 asymmetrisch	40–45	500–800	600–900	900–1.000	150–180
	2,3–2,8	2/0 –	25–30	350–450	500–600	700–900	100–120
	1,7–2,2	3/0	15–20	200–450	400–600	600–750	80–100
	1,5–1,6	3/0 –	5–10	150–200	320–450	500–650	100–150
<b>Mittelwert</b>	2,52	2,3/1,3	45,8	366	630,8	958,33	223

### 3. Ausblick: Weitere Zusammenarbeit der Projektpartner

- (1) Gemeinsamer Projektantrag von WBS (Ing. Kühler), Bioforschung Austria (Dr. Hartl) und Boku (Dr. Griesser) bei DAFNE im März/April 2011:
- Ausweitung der Versuche im Freiland
  - Standardisierte Versuche im Gewächshaus
  - Ausweitung der Analytik
  - Formulieren von Hypothesen und gezielten Fragestellungen, um die Ursache der Traubenwelke eingrenzen zu können

- (2) FWF Projektantrag Boku (Dr. Griesser) und Boku (Prof. Kreil) im April 2011:
- qPCR Analyse von verschiedenen Geweben und verschiedenen Zeitpunkten
  - Erarbeitung von Versuchsbedingungen um Traubenwelke auslösen bzw. unterbinden zu können
  - Optimierung der Sequenzanalyse für den Microarray
  - Optimierung und Testen eines spezifischen Vitis Microarray
- (3) Projektantrag im Jahr 2012/2013 – Folgeprojekt basierend auf den Ergebnissen

## Kontakte

Dr. Michaela Griesser Prof. Dr. Astrid Forneck	Universität für Bodenkultur Department für Angewandte Pflanzenwissenschaften und Pflanzenbiotechnologie Institut für Garten-, Obst- und Weinbau Peter Jordan Straße 82, 1190 Wien Tel.: 0043/1/47654-3430 e-mail: <a href="mailto:michaela.griesser@boku.ac.at">michaela.griesser@boku.ac.at</a> homepage: <a href="http://www.viticulture-research.com">www.viticulture-research.com</a>
Dr. Wilfried Hartl	Bioforschung Austria Rinnböckstraße 15, 1110 Wien Tel.: 0043/1/7951497943 e-mail: <a href="mailto:w.hartl@bioforschung.at">w.hartl@bioforschung.at</a> homepage: <a href="http://www.bioforschung.at">www.bioforschung.at</a>
Dipl.- Päd. Ing. Erhard Kühner	Weinbauschule Krems Wienerstraße 101, 3500 Krems Tel.: e-mail: <a href="mailto:erhard.kuehrer@wbs-krems.at">erhard.kuehrer@wbs-krems.at</a> homepage: <a href="http://www.wbs-krems.at">www.wbs-krems.at</a>