

Fachhochschule Osnabrück
University of Applied Sciences

AGIP-Forschungsvorhaben

**Untersuchungen zu Auftreten und
Bekämpfung der *Verticillium*-Welke
in Baumschulen**

Abschlussbericht

Prof. Dr. Christian Neubauer (Koordinator)

Prof. Dr. Henning Schacht

Dipl. Ing. Benedikt Heitmann

Kooperationspartner des Projektes

- Baumschulberatungsring Weser-Ems e.V.
Kolberger Straße 20, D-26655 Westerstede
Dipl.-Ing. Jürgen Schlenz
- Versuchs- und Beratungsring für Baumschulen Schleswig-Holstein e.V.
Bismarckstr. 49, D-25421 Pinneberg
Dr. Heinrich Lösing
- Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen
Gartenbauzentrum Münster-Wolbeck, Münsterstr. 62, 48167 Münster
Dipl.-Ing. Hans-Peter Wessels, Baumschulberatung
- Landwirtschaftskammer Weser-Ems
Versuchs und Beratungsstation für Obst und Gemüse
Spredaer Str. 2, 49377 Vechta-Langförden
Dr. Rudolf Faby

Laufzeit des Projektes: 1.7.2005 – 31.10.2007

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	4
2. Stand des Wissens	5
3. Arbeitsziele des Projektes	9
4. Material und Methoden	11
4.1 Untersuchungen von Pflanzen- und Bodenproben	11
4.2 Gewinnung und Bestimmung der <i>Verticillium</i> -Isolate	12
4.3 Infektionsversuche	13
4.3.1 Inokulumherstellung und Inokulation	13
4.3.2 Versuchsdurchführung und Auswertung	14
5. Ergebnisse	17
5.1 Infektionsversuche – Vorversuche 2005	17
5.2 Untersuchungen von Pflanzen- und Bodenproben aus Praxisbetrieben	21
5.3 Charakterisierung der <i>Verticillium</i> -Isolate	27
5.3.1 Morphologische und physiologische Untersuchungen	27
5.3.2 Virulenzprüfungen an Ziergehölzen	29
5.4 Infektionsversuch an Obstgehölzen	41
5.5 Prüfung chemischer und biologischer Bodenentseuchungsverfahren	43
6. Abschließende Bewertung	47
7. Zusammenfassung	55
8. Literatur	57

1. Einleitung

Der bodenbürtige Welkepilz *Verticillium dahliae* gilt als ein bedeutender Schaderreger im Gartenbau, der insbesondere in der Baumschulproduktion an zahlreichen Zier- und Obstgehölzen erhebliche wirtschaftliche Schäden verursachen kann. Die Bekämpfung der *Verticillium*-Welke muss heute als äußerst schwierig angesehen werden. Die Erfassung des bodenbürtigen Erregers mittels chemischer Bodenentseuchungsmittel gilt aufgrund der umweltschädlichen Auswirkungen der Präparate als problematisch. Aus diesem Grund haben zahlreiche Präparate in den letzten Jahren ihre Zulassung verloren, so dass sie in Deutschland bzw. der EU einem Anwendungsverbot unterliegen. Gleichzeitig müssen in den Anbaugebieten zahlreiche Flächen als hochgradig verseucht eingestuft werden. Vor diesem Hintergrund wird die Entwicklung alternativer Bekämpfungsstrategien dringend notwendig.

Der Nachweis des Erregers im Boden stellt einen Ausweg dar. Auf der Basis entsprechender Bodenuntersuchungen lässt sich das Befallsrisiko einer Fläche im Vorfeld der Nutzung abschätzen. Beratung und Praxis werden somit in die Lage versetzt, verseuchte Flächen erkennen bzw. befallsfreie Flächen gezielt auswählen zu können. Damit wird der Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln deutlich reduziert. Eine solche Vorgehensweise wird seit einigen Jahren im Erdbeeranbau sehr erfolgreich praktiziert und kann auch in der Produktion von Ziergehölzen als sinnvoll angesehen werden. Hierfür sind aber genauere Kenntnisse hinsichtlich des Auftretens von *Verticillium* in Baumschulen erforderlich.

Im Rahmen des beantragten Forschungsvorhabens sollte deshalb untersucht werden, welche Zier- und Obstgehölze der Erreger in norddeutschen Baumschulen infizieren kann und welches Schadbild er an ihnen im zeitlichen Verlauf verursacht. In diesem Zusammenhang war die Frage zu klären, inwieweit die Wirtspflanzen von verschiedenen, d. h. sich in ihrer Aggressivität unterscheidenden Stämmen des Erregers befallen werden. Schließlich war auf Befallsstandorten über Bodenuntersuchungen zu klären, ob ein Zusammenhang zwischen Befall und Verseuchungsgrad des Bodens besteht. Ergänzend sollten in einem Freilandversuch verschiedene Maßnahmen hinsichtlich ihrer Auswirkung auf eine Reduzierung des Erregers im Boden geprüft werden.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, Grundlagen eines umweltschonenden Bekämpfungskonzeptes zu erarbeiten. Hierbei galt es, die Basis für eine Einführung von *Verticillium*-Bodenuntersuchungen in die Baumschulpraxis zu liefern. Darüber hinaus sollten mögliche Ansätze einer Reduzierung des Erregers im Boden als Alternative zur chemischen Bodenentseuchung aufgezeigt werden.

2. Stand des Wissens

Der bodenbürtige Pilz *Verticillium dahliae* befällt weltweit zahlreiche krautige und holzige Wirtspflanzen. Zum Wirtspflanzenkreis gehören u. a. Kartoffel, Sonnenblumen, Erdbeeren, Tomaten und Gurken. In Deutschland verursacht der Erreger insbesondere im Erdbeeranbau große Schäden (NEUBAUER 1999, 2000). Darüber hinaus werden ca. 100 Ziergehölzarten von über 30 verschiedenen Pflanzengattungen dem Wirtspflanzenkreis des Welkeerregers zugerechnet (SINCLAIR et al. 1987, WERRES 1997, HIEMSTRA 1998). Die *Verticillium*-Welke gilt deshalb auch in der deutschen Baumschulproduktion als wirtschaftlich bedeutende Erkrankung (NEUBAUER 2001). In den Niederlanden hat der Anbau anfälliger Baumarten auf verseuchten Flächen in der Vergangenheit zu hohen Verlusten geführt (GOUD 2003). Bisweilen machen sich die Probleme in der Produktion nachfolgend noch am Endstandort bemerkbar. So können Schäden im Bereich des „Öffentlichen Grüns“ (Parks, Gärten, Straßenbäume) häufig auf *Verticillium dahliae* zurückgeführt werden (WERRES 1997). Schließlich werden auch Obstgehölze, insbesondere *Prunus*- und *Rubus*-Arten, dem Wirtspflanzenkreis zugerechnet (HIEMSTRA 1998). Absterbeerscheinungen an Himbeeren auf mit *Verticillium* verseuchten Flächen im norddeutschen Raum werden seit einigen Jahren in Verbindung mit dem Welkeerreger gebracht (FABY 2004).

Ein Teil des Problems ist auf den sich ausbreitenden Anbau von Kartoffeln zurückzuführen. Der Anbau dieser Wirtspflanze führt zu einer Verschleppung des Erregers und zu seiner Anreicherung im Boden, wo er mit seinen Mikrosklerotien Zeiträume von bis zu 10 Jahren zu überdauern vermag. Gleichzeitig haben viele Baumschulen in der Vergangenheit ihre Produktion auf landwirtschaftliche Kartoffelflächen ausgedehnt. HIEMSTRA und RATAJ-GURANOWSKA (2000) weisen darauf hin, dass auch der zunehmende Handel mit Jungpflanzen und -bäumen zu einer Verschleppung des Erregers zwischen den Baumschulen führt.

Innerhalb der Ziergehölze existieren zwischen den Gattungen bzw. Arten große Unterschiede hinsichtlich der Anfälligkeit gegenüber *Verticillium dahliae* und der in Zusammenhang mit einem Befall beobachteten Symptomausprägungen. Bei hochanfälligen Wirtspflanzen, wie z.B. *Acer*-Arten, kann ein Befall innerhalb kürzester Zeit zu massiven Welke- und Absterbeerscheinungen führen. Zeichnen sich Wirtspflanzen durch eine gewisse Widerstandsfähigkeit aus, treten chronische Symptome in Form von Blattvergilbungen und vorzeitigem Blattfall sowie Wachstumshemmungen in Erscheinung. Bisweilen erholen sich befallene Pflanzen nach einer gewissen Zeit von einem Befall wieder (HIEMSTRA 1998). Die Fähigkeit zur Erholung ist bei einigen Baumarten sehr ausgeprägt und zurückzuführen auf die komplexe

Struktur des Xylems sowie das Vorhandensein von Kambium, das neues gesundes Xylem-Gewebe bildet, welches die Funktion des befallenen Gewebes ersetzt. Gleichzeitig vermag sich der Erreger radial im Xylem kaum auszubreiten. Letzteres wird bei bestimmten Gehölzen, wie z.B. *Fraxinus*, durch Bildung von Zellschichten zwischen den Jahresringen, die als Barriere für den Erreger fungieren, noch unterstützt. Finden im Folgejahr keine erneuten Wurzelinfektionen statt, kann ein Baum sich weitgehend erholen bzw. die Erkrankung vollständig „auswachsen“. Dies gelingt großporigen Baumarten, wie z.B. *Robinia*, *Fraxinus* und *Catalpa* besonders leicht, da der Wassertransport vornehmlich in den Gefäßen des diesjährigen Holzes erfolgt. Wenn das Kambium einen Befall überlebt, bildet es im Folgejahr neues, befallsfreies Holz aus, das die Funktion des Wassertransportes übernimmt. Bei diffusporigen Bäumen, wie z.B. *Acer*, verbleiben die Leitgefäße in jedem Jahresring über mehrere Jahre funktionsfähig, so dass sich ein Befall dieser Gefäße über viele Jahre ungünstig auf den Wassertransport auswirken kann.

Hinsichtlich des Wirtspflanzenkreises bzw. der Widerstandsfähigkeit der Wirtspflanzen existieren in der Literatur allerdings sehr unterschiedliche, meist widersprüchliche Angaben. Nach WERRES (1997) kann dies unter Umständen auf unterschiedliche Versuchsanstellungen zurückgeführt werden oder auf eine Variabilität der Aggressivität von *Verticillium*-Stämmen unterschiedlicher Standorte. Dies deutete sich in der Arbeit von GOUD (2003) an. Er prüfte sechs Isolate unterschiedlicher Herkunft an neun Ziergehölzarten und konnte nicht immer einen Befall feststellen. Untersuchungen hinsichtlich der in den deutschen Anbaugebieten auftretenden *Verticillium*-Stämme und ihrer Aggressivität bzw. ihres Wirtspflanzenkreises sind bisher nicht durchgeführt worden. Sie müssen aber als Grundlage einer gezielten Bekämpfung des Erregers angesehen werden.

Die Bekämpfung der *Verticillium*-Welke gilt als äußerst schwierig. Die Eliminierung des bodenbürtigen Erregers mittels chemischer Bodenentseuchungsmaßnahmen ist heute kaum mehr durchführbar, nachdem in den letzten Jahren zahlreiche Präparate aufgrund ihrer umweltschädlichen Auswirkungen die Zulassung verloren haben und seitdem in Deutschland und anderen EU-Ländern einem Anwendungsverbot unterliegen. In den nächsten Jahren ist weltweit ein Ausstieg aus der Anwendung von Methylbromid, dem in diesem Zusammenhang wirkungsvollsten Wirkstoff, geplant (DUNIWAY 2002). Basamid Granulat mit dem Wirkstoff Dazomet stellt das derzeit einzige Präparat dar, das in Deutschland noch eingeschränkt zur Anwendung kommen darf. Vor diesem Hintergrund wird die Entwicklung alternativer Bekämpfungsstrategien immer bedeutender.

Da *Verticillium dahliae* insbesondere durch den Anbau landwirtschaftlicher Wirtspflanzen (z.B. Kartoffel) verschleppt und auf den Flächen angereichert wird, kommt der Einhaltung einer entsprechenden Fruchtfolge in der Bekämpfung des Erregers eine große Bedeutung zu. Schließlich stellen die Auswahl befallsfreier Flächen und die Nutzung von gesundem Pflanzenmaterial eine Grundvoraussetzung für den erfolgreichen Anbau dar. Letzteres setzt wiederum die Wahl *Verticillium*-freier Vermehrungsflächen voraus. In diesem Zusammenhang stellt der Nachweis des Erregers im Boden als Grundlage einer gezielten Flächenauswahl einen wichtigen Ansatzpunkt in der vorbeugenden Bekämpfung des Erregers dar (NEUBAUER 2001, GOUD 2003).

In den letzten Jahren wurden weltweit verschiedene Verfahren entwickelt, um den Erreger im Boden quantitativ nachzuweisen. Am geeignetesten hat sich ein Plattengussverfahren mit vorgeschalteter Nasssiebung der zu untersuchenden Bodenprobe erwiesen (HARRIS et al. 1993, HEPNER 1995, TERMORSHUIZEN et al. 1998). Ein solches, modifiziertes Verfahren wird seit 1999 den Erdbeeranbauern in Deutschland angeboten (NEUBAUER 1999, 2000). Auf der Basis entsprechender Untersuchungen werden die Flächen je nach Verseuchungsgrad in fünf Befallsklassen unterteilt und das Befallsrisiko geschätzt. Die Anbauer werden dadurch in die Lage versetzt, gezielt befallsfreie Flächen auszuwählen, um einem Befall vorzubeugen. Diese Vorgehensweise wird auch für Baumschulbetriebe als sinnvoll angesehen. Allerdings hängt die Anwendbarkeit des Verfahrens davon ab, inwieweit die *Verticillium*-Stämme unterschiedlicher Standorte eine Variabilität in ihrer Pathogenität für bestimmte Wirtspflanzen aufweisen (NEUBAUER 2001, GOUD 2003).

Nicht nur der Anbau landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, sondern auch der Anbau latent verseuchter Jungbäume führt zu einer nachhaltigen Verseuchung von Baumschulflächen mit *Verticillium*. Gleichzeitig vermag der Erreger mit seinen Mikrosklerotien über 10 Jahre im Boden zu überdauern. In diesen Fällen haben Fruchtfolgemaßnahmen nur einen geringen Einfluss auf den Verseuchungsgrad einer Fläche. Eine erfolgreiche Bekämpfungsstrategie muss deshalb auch die Reduzierung des Erregerinokulums im Boden zum Ziel haben (LAZAROVITS et al. 2000).

In verschiedenen Versuchsanstellungen konnte gezeigt werden, dass durch die Einarbeitung von grüner bzw. frischer Biomasse in Form verschiedener Gräserarten, wie z. B. Sudangras und Weidelgras, oder Ernterückständen von Brokkoli ein reduzierender Effekt auf *Verticillium*-Populationen im Boden ausgeht (BLOK et al. 2000, DAVIS et al. 2000, KOIKE et al. 2000, SHETTY et al. 2000, GOUD 2003). In vielen Fällen wurde die Wirkung der Maßnahme deutlich verstärkt, wenn nach der Einarbeitung der Biomasse die zu behandelnde Fläche mit

einer Plastikfolie abgedeckt wurde. *Verticillium*-Populationen wurden auf diese Art und Weise bis zu 90 % reduziert. Die Verfahren werden bisweilen als „Biologische Bodenentseuchung“ oder „Biofumigation“ bezeichnet. Ihre Wirkung wird auf fungitoxische Substanzen zurückgeführt, die beim Abbau des organischen Materials frei werden. Im Falle des Brokkoli sind dies die beim Abbau von Glucosinolaten entstehenden Isothiocyanate (KOIKE et al. 2000, SHETTY et al. 2000). BLOK et al. (2000) und GOUD (2003) erzielten auch mit der Einarbeitung von Weidelgras einen sehr guten Effekt. In Abwandlung zu anderen Versuchsanstellern wurden hierbei zusätzlich große Wassermengen ausgebracht, bevor die Fläche mit Folie luftdicht abgedeckt wurde. Die Wirkung des Verfahrens führen die Autoren auf toxische Substanzen zurück, die während der anaeroben Gärungsprozesse freigesetzt werden.

Als ein weiterer Ansatz zur Reduzierung des Inokulums kann die Ausbringung von Kalkstickstoff angesehen werden. Die phytosanitäre Wirkung von Kalkstickstoff ist seit vielen Jahren bekannt. Bei der Umsetzung im Boden entsteht als Zwischenprodukt Cyanamid, von dem eine toxische Wirkung gegenüber zahlreiche bodenbürtige Schadorganismen ausgeht (Anonym 2004). Insbesondere pilzliche Erreger lassen sich durch die Ausbringung von Kalkstickstoff reduzieren. Die Wirkung einer solchen Maßnahme gegenüber *Verticillium* ist bisher noch nicht untersucht worden.

3. Arbeitsziele des Projektes

Die Bekämpfung des bodenbürtigen Welkeerregers *Verticillium dahliae* durch chemische Bodenentseuchungsmaßnahmen hat langfristig keine Zukunft. Eine Alternative stellen Bodenuntersuchungen dar, über die der Verseuchungsgrad einer Fläche mit *Verticillium* ermittelt werden kann. Sie können die Grundlage einer gezielten Flächenauswahl in der Baumschulpraxis beim Anbau anfälliger Kulturen bilden. Voraussetzung hierfür sind genaue Kenntnisse hinsichtlich des Auftretens des Erregers in der Praxis. Das beantragte Forschungsprojekt verfolgte daher folgende Ziele:

1. Untersuchungen zum Wirtspflanzenkreis von *V. dahliae* und der verursachten Schadsymptome.

Ziel des Vorhabens war es, eine Übersicht zu erlangen, welche wirtschaftlich bedeutenden Baumarten bzw. Zier- und Obstgehölze von *Verticillium* befallen werden und welche Schadsymptome der Erreger an ihnen verursacht, um ein Auftreten in der Praxis seitens der Betriebe und Beratung zukünftig gezielter ansprechen zu können.

2. Erfassung des Verseuchungsgrades von Baumschulflächen mit *V. dahliae*.

In Baumschulbetrieben war an befallsverdächtigen Standorten der Boden auf eine Verseuchung mit *Verticillium* zu untersuchen. Die Ergebnisse sollten Hinweise über einen Zusammenhang zwischen Bodenverseuchung und Pflanzenbefall geben.

3. Charakterisierung der in der Praxis auftretenden Genotypen von *V. dahliae*.

Ziel war es, Kenntnisse darüber zu gewinnen, inwieweit in den Betrieben verschiedene Genotypen des Erregers auftreten, die sich hinsichtlich ihrer Pathogenität bzw. Virulenz gegenüber bestimmten Wirtspflanzen unterscheiden. Ist dies der Fall, wären die *Verticillium*-Genotypen im Rahmen der Bodenuntersuchungen differenziert nachzuweisen.

4. Prüfung chemischer und biologischer Bodenentseuchungsverfahren

Erweisen sich Flächen in einer Baumschule als verseucht, stellt sich aus Sicht der Praxis die Frage, ob über chemische oder biologische Maßnahmen das Inokulumpotential des Erregers im Boden reduziert werden kann.

In Ergänzung zu den Zielen 1-3 sollte deshalb geprüft werden, inwieweit durch Ausbringung von Kalkstickstoff oder Einarbeitung frischer Biomasse dieses Ziel erreicht werden kann. Damit sollten der Praxis alternative Wege zur chemischen Bodenentseuchung mit Basamid Granulat aufgezeigt werden.

4. Material und Methoden

4.1 Untersuchungen von Pflanzen- und Bodenproben

Die in den Betrieben gesammelten Pflanzenproben setzten sich aus unterschiedlich dicken Stamm-, Ast- oder Zweigstücken zusammen. Teile von ca. 10 - 15 cm Länge wurden zunächst 30 sec. lang in einer 10%igen Klorix-Lösung oberflächensterilisiert. Anschließend wurden sie unter fließendem Wasser gespült, an verschiedenen Stellen quer angeschnitten und hinsichtlich auffälliger Verfärbungen im Bereich des jungen Splintholzes hin untersucht. Aus verdächtigen Stellen wurden 5 - 10 mm große Gewebestücke mit dem Skalpell herausgeschnitten und auf einen Wasser-Agar (WA+), der mit einem Antibiotikum versehen war, ausgelegt. Der Nährboden setzte sich wie folgt zusammen:

300 mg	Chloramphenicol (Fa. Fluka)
1000 ml	Aqua dest.
15,0 g	Agar-Agar (Fa. Merck)

Nach 14tägiger Inkubationszeit bei 20 °C und Dunkelheit wurden die ausgelegten Gewebestücke unter einem Binokular auf das Auswachsen typischer *Verticillium*-Kolonien hin untersucht.

Bodenproben wurden vorrangig im unmittelbaren Umfeld bzw. im Wurzelbereich des Baumes gezogen. Hierzu wurden im Umkreis von 1,0 m mittels eines Bohrstockes mehrere 30 cm tiefe Einstiche vorgenommen. Aus den entnommenen Bodenmengen wurde eine ca. 500 cm³ umfassende Mischprobe hergestellt. An einigen Standorten wurde die Gesamtfläche, aus der eine oder mehrere Pflanzenproben stammten, beprobt. Hierzu wurden die Einstiche (ca. 25 / ha) zwischen den Pflanzreihen gleichmäßig über die Fläche verteilt.

Die Bodenproben wurden nach HARRIS et al. (1993) mittels eines Plattengussverfahrens mit vorgeschalteter Nasssiebung auf *Verticillium* untersucht. Hierzu wurde von den zuvor luftgetrockneten und auf 2 mm abgesiebten Proben eine Bodenaufschlämmung hergestellt (50 g Boden / 100 ml Aqua dest.) In einem sich anschließenden Nasssiebevorgang wurde die Bodenfraktion 20 - 125 µm von der zu untersuchenden Probe abgetrennt und in 100 ml Aqua dest. überführt. Davon wurden Aliquote von jeweils 0,5 ml auf einem Selektivnährboden ausgebracht (10 x 0,5 ml pro Probe) Hierbei fand folgendes Pektatnährmedium (PEM) Verwendung (HEPPNER 1995):

5,0 g	Polygalacturonsäure (Fa. MP Biomedicals)
5,0 ml	2 M KNO ₃
10,0 ml	1 M KH ₂ PO ₄
0,5 ml	2 M MgSO ₄
1,0 ml	Tergitol Type NP-10 (Fa. Sigma)
1,0 mg	Biotin (Fa. Merck)
250 mg	Chloramphenicol (Fa. Fluka)
200 mg	Streptomyzinsulfat (Fa. Fluka)
960 ml	Aqua dest.
15,0 g	Agar-Agar (Fa. Merck)

Die Platten wurden für 2 Wochen im Brutschrank bei 20 °C und Dunkelheit inkubiert. Anschließend wurden, nachdem zuvor die Bodenpartikel von der Nährbodenoberfläche vorsichtig unter fließendem Wasser abgewaschen worden waren, die Platten unter einem Binokular auf vorhandene *Verticillium*-Kolonien hin untersucht. Die Anzahl Kolonien bzw. 'colony forming units' (cfu) wurde mit Mikrosklerotien gleichgesetzt. Auf dieser Grundlage wurde die Anzahl Mikrosklerotien (MS) / g trockener Boden errechnet. Sie spiegelt den Verseuchungsgrad einer Bodenprobe mit *Verticillium dahliae* wieder.

4.2 Gewinnung und Bestimmung der *Verticillium*-Isolate

Konnte aus einer Pflanzenprobe erfolgreich *Verticillium* isoliert werden, wurde anschließend ein Isolat gewonnen. Hierzu wurden dem Randbereich einer auswachsenden Kolonie Hyphenspitzen entnommen und auf einen Potatodextroseagar (PDA) überimpft. Die Kulturen wurden bei 20 °C und Dunkelheit im Brutschrank aufgestellt. In der Folge galt es von jedem Wildisolat Einsporlinien herzustellen. Zu diesem Zweck wurden von jedem Isolat über eine Flüssigkultur (siehe 4.3.1) Sporen gewonnen. Aliquote der mit Wasser verdünnten Sporenlösungen wurden auf einem Wasseragar gleichmäßig ausgebracht. 24 Stunden später wurden unter einem Binokular mittels einer Nadel einzelne gekeimte Sporen in Agarstückchen auf einen PDA-Nährboden übertragen. Die aus einer gekeimten Konidie sich entwickelnde Kolonie wurde als Einsporisolat auf einem PDA-Schrägröhrchen überimpft, das bei 6 °C im Kühlschrank gelagert wurde.

Zur morphologischen Charakterisierung der Isolate wurden sie zunächst auf einem PDA-Nährboden angeimpft und 2 Wochen bei 20 °C im Dunkeln inkubiert. Anschließend wurden Konidien von der Nährbodenoberfläche abgenommen und im Mikroskop bei 1000facher Ver-

größerung mittels eines Okularmikrometers ausgemessen. Pro Isolat wurden 50 Sporenmessungen durchgeführt. Gleichzeitig wurden dem Randbereich der Kolonie Mikrosklerotien entnommen und mikroskopisch hinsichtlich ihrer morphologischen Merkmale ausgewertet. Alle Isolate wurden parallel auf einem Wasseragar (WA+) kultiviert. Hier wurden die Mikrosklerotien in gleicher Weise untersucht.

Zusätzlich wurde die Polyphenoloxidase-Aktivität der Isolate bestimmt. Hierzu wurde ein Malz-Extrakt-Agar (MEA) mit Gallussäure (0,1 %ig) hergestellt:

10,0 g	Gerstenmalz (Fa. Demeter)
1,0 g	Gallussäure (0,1 %ig, Fa. Roth)
1000 ml	Aqua dest.
15,0 g	Agar-Agar (Fa. Merck)

Von 14 Tage alten PDA-Kulturen wurden im Randbereich mittels eines Korkbohrers Agar-scheiben ausgestochen und je drei Scheiben auf einen MEA-Nährboden überimpft. Nach 10 Tagen Inkubation (20 °C, Dunkelheit) erfolgte die Auswertung der Polyphenoloxidase-Aktivität anhand der erfolgten Pigmentbildung.

4.3 Infektionsversuche

4.3.1 Inokulumherstellung und Inokulation

Als Inokulum diente in der Regel eine Sporensuspension mit 10^6 Sporen / ml. Die Herstellung der Sporenlösung erfolgte in einem Czapeck-Dox-Flüssigmedium (CDA):

30,0 g	Saccharose (Fa. Merck)
3,0 g	NaNO ₃
1,0 g	KH ₂ PO ₄
0,5 g	KCl
0,5 g	MgSO ₄ x 7H ₂ O
0,01 g	FeSO ₄ x 7 H ₂ O
1000 ml	Aqua dest.

Vor dem Autoklavieren wurde der pH-Wert des Nährmediums auf 5,0 eingestellt.

Erlenmeyerkolben mit dem autoklavierten Flüssignährmedium wurden jeweils mit Myzelstückchen aus der Dauerkultur eines Isolates beimpft und für einige Tage bei Raumtemperatur auf einem Rotationsschüttler mit ca. 80 U/min. inkubiert. Anschließend wurde mittels Thomakammer die Sporendichte der Flüssigkultur bestimmt und durch Verdünnung mit Aqua dest. eine Suspension mit einer Dichte von 10^6 Konidien / ml hergestellt.

Die Inokulation der Versuchspflanzen erfolgte im Wurzeltauchverfahren. Hierzu wurden die Pflanzen mit ihren nackten Wurzeln in die Sporensuspension eines Isolates getaucht (30 sec.) und anschließend getopft. Im Vorversuch II (5.1) und im Obstgehölzversuch (5.4) wurde in Abweichung zum beschriebenen Verfahren eine Myzelsuspension als Inokulum verwendet. 4 Wochen alte bewachsene PDA-Kulturen wurden in einem Mixer zu Brei zerkleinert (1 Platte / 100 ml Aqua dest.). Die Inokulation der Pflanzen erfolgte in gleicher Weise.

4.3.2 Versuchsdurchführung und Auswertung

Für die Infektionsversuche wurden meist einjährige wurzelnackte Sämlinge verwendet. Im zweiten *Catalpa*-Versuch wurden davon abweichend 4 Wochen alte Sämlinge inokuliert. Sie waren zuvor in Sand ausgesät und angezogen worden. Im 2-4-Blatt-Stadium wurden sie, nachdem zuvor die Wurzeln mittels Wasser von anhaftendem Sand frei gespült worden waren, inokuliert und getopft.

Als Kulturgefäße wurden je nach Ziergehölzart Kunststoffcontainer mit einem Volumeninhalt von 1,5 l bzw. 5,0 l verwendet, die jeweils in Untersetzern aufgestellt waren. Als Substrat diente ein Torf-Tonsubstrat der Firma Klassmann, das mit dem Vorratsdünger Plantacote plus 8M (2,5 - 4,0 g / l) versehen war. Während des Versuches erfolgte eine flüssige Nachdüngung mit Universal Blau (Fa. Scotts).

Die Versuche wurden im Gewächshaus und im Freiland auf einer Container-Stellfläche durchgeführt. Je nach Standort waren sie unterschiedlichen klimatischen Bedingungen ausgesetzt. Die Temperaturen bewegten sich im Sommerhalbjahr zwischen 10 °C und 35 °C.

Die Pflanzen aller Versuche wurden im 14tägigen Abstand mittels folgender Boniturskala auf Befallssymptome bonitiert:

Boniturnote	Befallssymptome
1	gesund, symptomlos, keine äußerlichen Unterschiede zu Kontrollpflanzen zu erkennen
2	leichte Vergilbungen an einzelnen Blättern
3	Blattchlorosen und -nekrosen, und /oder Welkeerscheinungen an den ersten 1-2 Blättern
4	bis 25 % der Blätter einer Pflanze welken und beginnen einzutrocknen
5	bis 50 % der Blätter einer Pflanze welken und beginnen einzutrocknen
6	bis 75 % der Blätter einer Pflanze welken und beginnen einzutrocknen
7	bis 100 % der Blätter einer Pflanze welken und beginnen einzutrocknen
8	Pflanze welkt vollständig und beginnt einzutrocknen
9	Pflanzen komplett abgestorben

Aus den einzelnen Boniturnoten wurde für jedes Isolat und jeden Boniturtermin die durchschnittliche Befallsstärke (BS) errechnet. Um die Befallsentwicklung über den gesamten Versuchszeitraum zu erfassen, wurde die Fläche unter dem Kurvenverlauf der Befallsstärke, das sog. Befallsintegral (BI), nach folgender Formel berechnet:

$$\mathbf{BI} = \sum_{i=1}^n \left(\frac{K_{i+1} + K_i}{2} \right) \times (t_{i+1} - t_i)$$

Die in den einzelnen Varianten ermittelten Befallsintegrale eines Versuches wurden mittels eines Duncan-Testes ($p = 0,05 \%$) statistisch miteinander verrechnet. Signifikanzen sind in den Tabellen durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.

Abgestorbene Pflanzen wurden während des laufenden Versuches entnommen und im Labor wie unter 4.1 beschrieben auf *Verticillium*-Befall abschließend untersucht. Hierzu wurden dem Splintholz des unteren Stammabschnittes nach dem Zufallsprinzip 9 Gewebestücke von 5 - 10 mm Größe entnommen und auf einen Wasser-Agar (Wa+) ausgelegt. Nach 14tägiger Inkubationszeit wurden die Platten auf ausgewachsene *Verticillium*-Kolonien hin ausgewertet. Bei Versuchsende wurde mit allen noch vorhandenen Pflanzen auf gleiche Art und Weise verfahren.

5. Ergebnisse

5.1 Infektionsversuche - Vorversuche 2005

Im Vorfeld des Projektbeginns wurden im Frühjahr 2005 zwei Infektionsversuche angelegt. Im Vorversuch I wurden 400 einjährige Sämlinge von *Acer platanoides* im Gewächshaus mit 11 *Verticillium dahliae*- und 6 *Verticillium longisporum*-Isolaten, die aus der Sammlung der Fachhochschule Osnabrück stammten (Tab. 1), mittels einer Sporensuspension im Wurzel-tauchverfahren inokuliert. Ziel dieses Vorversuches war es, Erfahrungen mit der Inokulati-onsmethode zu sammeln und eine Palette von *Verticillium*-Isolaten unterschiedlicher Species und Wirtspflanzenherkunft an einer der am anfälligsten geltenden Wirtspflanze hinsichtlich ihrer Virulenz zu prüfen.

Tab. 1: Verwendete Isolate im Vorversuch I.

Isolat	<i>Verticillium</i> species	Wirtspflanzenherkunft
102/97	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Fragaria x ananassa</i>
103/97	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Fragaria x ananassa</i>
104/98	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Fragaria x ananassa</i>
105/98	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Fragaria x ananassa</i>
106/98	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Fragaria x ananassa</i>
107/98	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Fragaria x ananassa</i>
108/02	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Acer platanoides</i>
109/02	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> 'Romanesco'
112/03	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>
15/04	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>
16/04	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Fragaria x ananassa</i>
03/03	<i>Verticillium longisporum</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>
09/03	<i>Verticillium longisporum</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>
11/03	<i>Verticillium longisporum</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>
12/03	<i>Verticillium longisporum</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>
14/03	<i>Verticillium longisporum</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gongylodes</i>
113/04	<i>Verticillium longisporum</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>

Der Versuch wurde durch zahlreiche Pflanzenausfälle in der Anwuchsphase, die nicht auf *Verticillium*-Befall zurückzuführen waren, negativ beeinflusst. Einige Wochen nach Versuchsbeginn konnten in den einzelnen Varianten erste typische Welkesymptome beobachtet werden. Über regelmäßige Bonituren wurde der weitere Befallsverlauf bis zum Versuchsende erfasst. Anhand der errechneten Befallsintegrale wird deutlich, dass sich alle geprüften Isolate von *V. dahliae* als mehr oder weniger virulent erwiesen (Tab. 2). Virulenzunterschiede ließen sich statistisch kaum absichern. Die Pflanzenbonituren wurden durch die Ergebnisse der Reisolierungen weitgehend bestätigt: aus jenen Pflanzen, die Symptome zeigten, konnte der Erreger wieder isoliert werden.

Tab. 2: Virulenzprüfung verschiedener Isolate von *V. dahliae* und *V. longisporum* an *Acer platanoides*. Ergebnisse 24 Wochen nach Inokulation (n = 20).

Isolat	Pflanzenbonitur		Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral	Befallshäufigkeit
107/98	17/18	345,17 a	17/18
102/97	14/18	253,83 ab	14/18
108/02	13/20	204,90 bc	15/20
112/03	13/20	185,80 bcd	14/20
103/97	13/16	183,69 bcd	8/16
16/04	9/14	181,57 bcd	8/14
105/98	12/17	162,59 bcd	10/17
109/02	12/17	159,29 bcd	13/17
15/04	10/19	155,90 bcd	13/19
106/98	12/20	94,05 cdef	10/20
104/98	16/20	85,90 cdef	14/20
03/03	5/17	70,29 def	2/17
11/03	4/16	24,75 ef	5/16
14/03	3/16	19,38 ef	1/16
09/03	3/20	9,20 ef	4/20
113/04	1/18	7,28 f	1/18
12/03	3/16	2,38 f	3/16
Kontrolle	0/19	0,00 f	0/19

Die Isolate von *V. longisporum* erwiesen sich alle als schwach virulent. Einzelne Pflanzen zeigten leichte Symptomausprägungen im Vergleich zu gesunden Kontrollpflanzen. Aus ihnen konnte der Erreger zum Teil reisoliert werden. Somit wurde erstmalig nachgewiesen, dass die in ihrem ursprünglichen Auftreten auf Cruciferen beschränkte *Verticillium*-Art *Acer platanoides* zu infizieren vermag. Jedoch wies die Species nur eine sehr geringe Aggressivität auf, so dass ihr Auftreten in der Produktion eher von untergeordneter Bedeutung sein dürfte.

In einem zweiten im Freiland durchgeführten Infektionsversuch wurden 12 verschiedene Ziergehölze als einjährige Sämlinge mit einem aus *Acer* stammenden *V. dahliae*-Isolat (108/02) mittels einer Myzelsuspension im Wurzeltauchverfahren inokuliert. Eine gleichgroße Zahl an Pflanzen wurde jeweils nicht inokuliert und diente als Kontrolle. Folgende in der Literatur als *Verticillium*-Wirtspflanzen beschriebene Arten wurden verwendet: *Tilia cordata*, *Tilia platyphyllos*, *Acer pseudoplatanus*, *Acer platanoides*, *Acer campestre*, *Fraxinus excelsior*, *Fraxinus ornus*, *Syringa vulgaris*, *Rosa corymbifera*, *Rosa canina*, *Catalpa bignonioides* und *Robinia pseudoacacia*.

Tab. 3: Infektionsversuch mit dem *V. dahliae*-Isolat 108/02 an verschiedenen Ziergehölzarten. Ergebnisse 24 Wochen nach Inokulation (n = 40).

Variante	Pflanzenbonitur			Reisolierung*)
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral		Befallshäufigkeit
<i>Tilia cordata</i>	39/40	410,10	a	20/20
<i>Tilia platyphyllos</i>	39/40	408,13	a	20/20
<i>Acer pseudoplatanus</i>	36/39	395,02	a	20/20
<i>Acer platanoides</i>	37/38	330,90	b	20/20
<i>Fraxinus excelsior</i>	31/40	204,35	c	17/20
<i>Syringa vulgaris</i>	35/40	169,45	c d	18/20
<i>Acer campestre</i>	36/40	139,23	d e	17/20
<i>Fraxinus ornus</i>	32/40	125,20	d e	10/20
<i>Rosa corymbifera</i> 'Laxa'	23/40	109,95	d e	9/20
<i>Robinia pseudoacacia</i>	17/30	81,01	e	0/20
<i>Catalpa bignonioides</i>	13/37	20,99	f	0/20
<i>Rosa canina</i> 'Inermis'	3/40	15,35	f	0/20

*) Für die Reisolierung wurden nur 20 Pflanzen herangezogen

In diesem Versuch zeigten sich die *Tilia*- und *Acer*-Arten als am anfälligsten. Nach Ausprägung typischer Welkesymptome waren bei Versuchsende die meisten Pflanzen weitgehend abgestorben (Tab. 3). Aus diesen Pflanzen konnte der Erreger erfolgreich reisoliert werden. *Fraxinus excelsior*, *Fraxinus ornus*, *Syringa vulgaris*, und *Rosa corymbifera* wiesen einen leichten bis mittleren Befall auf. Dieser äußerte sich in Wachstumshemmungen, meist einseitigen Blattvergilbungen und nachfolgendem Blattfall. Später setzte eine Erholung der Pflanzen ein. Infektionen wurden über Reisolierungen nachgewiesen.

Pflanzen der Arten *Rosa canina*, *Catalpa bignonioides* und *Robinia pseudoacacia* wurden scheinbar nicht befallen. Zwar wurden leichteste Symptomausprägungen bonitiert, allerdings konnte der Erreger in keinem einzigen Fall aus den Pflanzen reisoliert werden.

5.2 Untersuchungen von Pflanzen- und Bodenproben aus Praxisbetrieben

In den Jahren 2005 und 2006 wurden in 28 verschiedenen Betrieben 89 befallsverdächtige Pflanzenproben gesammelt und im Labor auf *Verticillium*-Befall untersucht. In 50 Fällen wurde gleichzeitig eine Bodenprobe aus dem Wurzelbereich des betroffenen Gehölzes entnommen und auf den Welkeerregger analysiert. An 13 Standorten wurde zusätzlich die Gesamtfläche, auf der ein oder mehrere untersuchte Gehölze standen, beprobt und die *Verticillium*-Verseuchung bestimmt. Alle Ergebnisse des Monitorings sind Tabelle 4 zu entnehmen.

Pflanzenproben

Im Rahmen des Monitorings konnten am häufigsten bei *Acer* klassische *Verticillium*-Symptome beobachtet werden. Das Schadbild äußerte sich in typischen Welkeerscheinungen. Die Blätter befallener Äste verfärbten sich fahlgrün, erschlafften und blieben schließlich eingetrocknet und verbräunt am Ast hängen. Später fielen sie meist ab, so dass einzelne Zweigpartien, selten aber die ganze Krone, entlaubt und abgestorben waren. Vereinzelt wurde an der Stammbasis geschädigter Bäume ein Neuaustrieb beobachtet. Im Querschnitt wiesen Stamm- und Aststücke meist typische graugrüne Verfärbungen im Bereich des jungen Splintholzes auf, die häufig auf einzelne Sektoren beschränkt waren (Abb. 1). In vielen Fällen konnte aus den befallsverdächtigen Proben *Verticillium* erfolgreich isoliert werden. 69 % aller positiven Proben entfielen auf *Acer*-Arten. Am häufigsten wurde hierbei ein *Verticillium*-Befall an *A. platanooides*, *A. pseudoplatanus* und *A. campestre* festgestellt (Tab. 5).

Im Rahmen des Monitorings konnte *Verticillium* außer aus *Acer*-Arten noch aus 8 weiteren Gehölzarten erfolgreich isoliert werden. Hierbei handelte es sich aber ausschließlich um Einzelfälle. An einem Standort (Probe 21) wurde *Verticillium*-Befall an 4 Bäumen von *Tilia cordata* nachgewiesen. Die Bäume wiesen chronische Symptomausprägungen in Form von Wachstumsdepressionen und chlorotischen Blattverfärbungen auf.

An zwei verschiedenen Standorten wurde *Verticillium* aus befallsverdächtigen *Fraxinus excelsior* isoliert (Proben 10, 24). Die Bäume wiesen sehr typische einseitige Blattchlorosen auf, gefolgt von vorzeitigem Blattfall. Blattvergilbungen und Blattfall konnten in einem Fall auch bei *Robinia* (Probe 27, Abb.1) in Verbindung mit *Verticillium*-Befall gebracht werden.

Tab. 4: Ergebnisse der Untersuchungen von Pflanzen- und Bodenproben in den Jahren 2005 - 2006.

Probe	Ziergehölz	Pflanzenuntersuchung		Bodenuntersuchung	
		Ergebnis Isolierung	gewonnenes Isolat	Wurzelbereich MS/g Boden	Gesamtfläche MS/g Boden
0	<i>Acer pseudoplatanus</i>	+	23/05	n.u.	n.u.
1	<i>Buxus sempervirens</i>	neg.	---	0,0	n.u.
2 A	<i>Acer campestre</i> `Elsrijk´	+	24/05	74,0	128,4
2 B	<i>Acer campestre</i> `Elsrijk´	+	nicht verwendet	66,8	
2 C	<i>Acer campestre</i>	+	25/05	35,6	
3	<i>Ribes sang.</i> `King Edward´	neg.	---	0,0	n.u.
4	<i>Buxus sempervirens</i>	neg.	---	0,0	n.u.
5 A	<i>Acer pseudoplatanus</i>	+	27/05	0,0	0,8
5 B	<i>Acer pseudoplatanus</i>	neg.	---	n.u.	
5 C	<i>Acer pseudoplatanus</i>	neg.	---	0,4	
5 D	<i>Acer platanoides</i> `Cleveland´	+	26/05	2,8	
5 E	<i>Acer platanoides</i> `Cleveland´	neg.	---	n.u.	
5 F	<i>Acer platanoides</i> `Cleveland´	+	nicht verwendet	n.u.	
5 G	<i>Acer platanoides</i> `Cleveland´	neg.	---	0,0	
5 H	<i>Acer platanoides</i> `Cleveland´	neg.	---	n.u.	
5 I	<i>Acer platanoides</i> `Cleveland´	neg.	---	n.u.	
5 J	<i>Acer platanoides</i>	neg.	---	n.u.	
5 K	<i>Acer ginnala</i>	+	29/05	3,6	n.u.
6 A	<i>A. pseudoplatanus</i> `Rotterdam´	neg.	---	0,0	0,0
6 B	<i>A. pseudoplatanus</i>	+	28/05	0,0	
6 C	<i>Acer palmatum</i>	neg.	---	n.u.	n.u.
6 D	<i>Liriodendron tulipifera</i>	neg.	---	n.u.	n.u.
6 E	<i>A. campestre</i> `Elsrijk´	neg.	---	n.u.	n.u.
7 A	<i>Acer pseudoplatanus</i>	neg.	---	27,2	0,0
7 B	<i>Acer pseudoplatanus</i>	neg.	---	11,6	
7 C	<i>Acer pseudoplatanus</i>	+	30/05	1,2	
7 D	<i>Acer platanoides</i>	+	31/05	0,4	
7 F	<i>Acer platanoides</i> `Emerald Queen´	+	nicht verwendet	0,0	
7 G	<i>Acer platanoides</i> `Emerald Queen´	+	32/05	0,0	n.u.
8 A	<i>Acer platanoides</i> `Crimson Sentry´	neg.	---	0,0	n.u.
8 B	<i>Acer platanoides</i> `Crimson Sentry´	neg.	---	0,0	n.u.
8 C	<i>Acer platanoides</i> `Crimson Sentry´	neg.	---	0,0	n.u.
8 E	<i>Acer platanoides</i> `Cleveland´	neg.	---	0,0	n.u.
8 G	<i>Acer platanoides</i> `Emerald Queen´	neg.	---	0,0	n.u.
9	<i>Acer platanoides</i> `Globosum´	neg.	---	---	n.u.
10 A	<i>Fraxinus excelsior</i>	+	33/05	2,4	31,2
10 B	<i>Acer pseudoplatanus</i>	+	34/05	1,6	
10 C	<i>Acer platanoides</i>	+	35/05	3,2	
10 D	<i>Acer campestre</i>	+	36/05	1,2	
11 A	<i>Acer palmatum</i> `Nickolsonii´	neg.	---	n.u.	n.u.
11 B	<i>Acer palmatum</i> `Ozakazuki´	+	38/05	n.u.	n.u.
11 C	<i>Acer palmatum</i> `Shishigashira´	neg.	---	n.u.	n.u.
11 D	<i>Acer palmatum</i> `Ozakazuki´	neg.	---	n.u.	n.u.
11 E	<i>Acer palmatum</i> `Hogyoka´	neg.	---	n.u.	n.u.
11 F	<i>Acer palmatum</i> `Shaina´	neg.	---	n.u.	n.u.

Tab. 4: Fortsetzung Seite 22.

Probe	Ziergehölz	Pflanzenuntersuchung		Bodenuntersuchung		
		Nr.	Gattung / Art / Sorte	Ergebnis Isolierung	gewonnenes Isolat	Wurzelbereich MS/g Boden
12	<i>Castanea sativa</i>		+	37/05	2,8	n.u.
13	<i>Cercidiphyllum japonicum</i>		+	41/05	4,4	n.u.
14 A	<i>Acer platanoides</i> `Globosum`		+	42/05	3,2	n.u.
14 B	<i>Robinia pseudoaccacia</i>		neg.	---	0,0	n.u.
14 C	<i>Acer campestre</i> `Elsrijk`		+	43/05	79,6	n.u.
15 A	<i>Acer rubrum</i>		+	39/05	n.u.	n.u.
15 B	<i>Castanea sativa</i>		neg.	---	n.u.	n.u.
15 C	<i>Tilia cordata</i>		neg.	---	n.u.	n.u.
15 D	<i>Acer platanoides</i>		+	40/05	n.u.	n.u.
16 A	<i>Acer platanoides</i>		+	44/05	2,8	6,0
16 B	<i>Acer platanoides</i> `Crimson Sentry`		+	45/05	15,2	
16 C	<i>Acer platanoides</i>		+	46/05	29,6	
17 A	<i>Acer palmatum</i>		neg.	---	n.u.	n.u.
19 A	<i>Hippophae rhamnoides</i>		+	47/06	12,4	n.u.
19 B	<i>Hippophae rhamnoides</i>		+	nicht verwendet	12,8	
19 C	<i>Hippophae rhamnoides</i>		+	nicht verwendet	34,4	
20	<i>Acer platanoides</i> `Emerald Queen`		+	48/06	n.u.	n.u.
21 A	<i>Tilia cordata</i>		+	nicht verwendet	n.u.	84,8
21 B	<i>Tilia cordata</i>		+	nicht verwendet		
21 C	<i>Tilia cordata</i>		+	49/06		
21 D	<i>Tilia cordata</i>		neg.	---		
21 E	<i>Tilia cordata</i>		neg.	---		
21 F	<i>Tilia cordata</i>		neg.	---		
21 G	<i>Tilia cordata</i>		+	nicht verwendet		
22	<i>Clematis vitalba</i>		neg.	---	0,0	n.u.
24 A	<i>Fraxinus excelsior</i>		+	50/06	n.u.	n.u.
24 B	<i>Robinia pseudoaccacia</i>		neg.	---	n.u.	n.u.
24 C	<i>Betula pendula</i>		+	51/06	n.u.	n.u.
25 A	<i>Acer platanoides</i>		+	52/06	2,0	2,0
25 B	<i>Acer platanoides</i>		neg.	---	2,0	
25 C	<i>Acer platanoides</i>		+	nicht verwendet	6,8	
25 D	<i>Acer platanoides</i>		+	nicht verwendet	0,8	
25 E	<i>Acer platanoides</i>		neg.	---	4,4	
25 F	<i>Acer platanoides</i>		+	nicht verwendet	0,4	
26 A	<i>Acer platanoides</i> `Cleveland`		+	54/06	1,6	6,0
27 A	<i>Robinia pseudoaccacia</i>		+	53//06	0,8	0,0
27 B	<i>Robinia pseudoaccacia</i>		neg.	---	1,2	
28	<i>Catalpa bignonioides</i>		+	55/06	n.u.	n.u.
29	<i>Ligustrum</i>		neg.	---	n.u.	n.u.
30	<i>Acer freemannii</i> `Autum Blaze`		+	56/06	n.u.	n.u.
31	<i>Kerria jap.</i> `Pleniflora`		neg.	---	n.u.	n.u.
32 A	<i>Rosa cannina</i>		neg.	---	n.u.	0,0
32 B	<i>Rosa cannina</i>		neg.	---	n.u.	0,0
33	<i>Acer palmatum</i> `Atropurpureum`		+	57/07	2,8	n.u.

n.u. = nicht untersucht

Tab. 5: Anzahl Proben mit *Verticillium*-Befall.

Wirtspflanze	Anzahl positiver Proben
<i>Acer campestre</i>	5
<i>Acer freemanni</i>	1
<i>Acer ginnala</i>	1
<i>Acer palmatum</i>	2
<i>Acer platanoides</i>	17
<i>Acer pseudoplatanus</i>	5
<i>Acer rubrum</i>	1
<i>Betula pendula</i>	1
<i>Castanea sativa</i>	1
<i>Catalpa bignonioides</i>	1
<i>Cercidiphyllum japonicum</i>	1
<i>Fraxinus excelsior</i>	2
<i>Hippophae rhamnoides</i>	3
<i>Robinia pseudoaccacia</i>	1
<i>Tilia cordata</i>	4
Gesamt	46

Schließlich wurde *Verticillium* aus *Cercidiphyllum*, *Castanea* und *Betula* isoliert (Proben 12, 13 und 24). In letzterem Fall äußerte sich der Befall in Blattchlorosen und -nekrosen, eingetrockneten Blättern und Blattfall. In einem weiteren Fall konnten typische Welke- und Absterbeerscheinungen an Sanddorn (*Hippophae*) in Zusammenhang mit einem *Verticillium*-Befall gebracht werden (Probe 19).

Ein *Verticillium*-Befall an der Wirtspflanze *Catalpa* wurde im Rahmen des Projektes zumindest in Produktionsbetrieben nicht nachgewiesen. Bei Probe 28 handelte es sich um befallene Bäume an einem Endstandort, d.h. häuslichen Garten (Abb.1). Die Blätter betroffener Kronenpartien welkten massiv und blieben schließlich eingetrocknet an den Zweigen hängen.



Abb. 1: *Verticillium*-Befall in der Praxis: *Acer platanoides* (oben links) und *A. pseudoplatanus* (oben rechts), *Acer*- Stammquerschnitt mit typischen Verbräunungen (Mitte links), Befall an *Catalpa bignonioides* (unten links) und *Robinia pseudoacacia* (unten rechts).

Bodenproben

In Abb. 2 sind allen Gehölzproben, aus denen *Verticillium* erfolgreich isoliert werden konnte, die Ergebnisse der Untersuchung der Bodenprobe aus dem Wurzelbereich der betreffenden Pflanze zugeordnet. In der Mehrzahl der Fälle wurde parallel zum positiven Isolierungsbefund auch eine Verseuchung des Bodens mit *Verticillium* im Umfeld der Pflanze nachgewiesen. Zum Teil war die Belastung sehr hoch mit Werten zwischen 10,0 - 79,0 MS / g Boden. Meist konnte eine mittlere Verseuchung zwischen 1,0 - 5,0 MS / g Boden nachgewiesen werden. Wurde gleichzeitig die Gesamtfläche beprobt und untersucht, wies sie eine ähnliche Belastung auf.

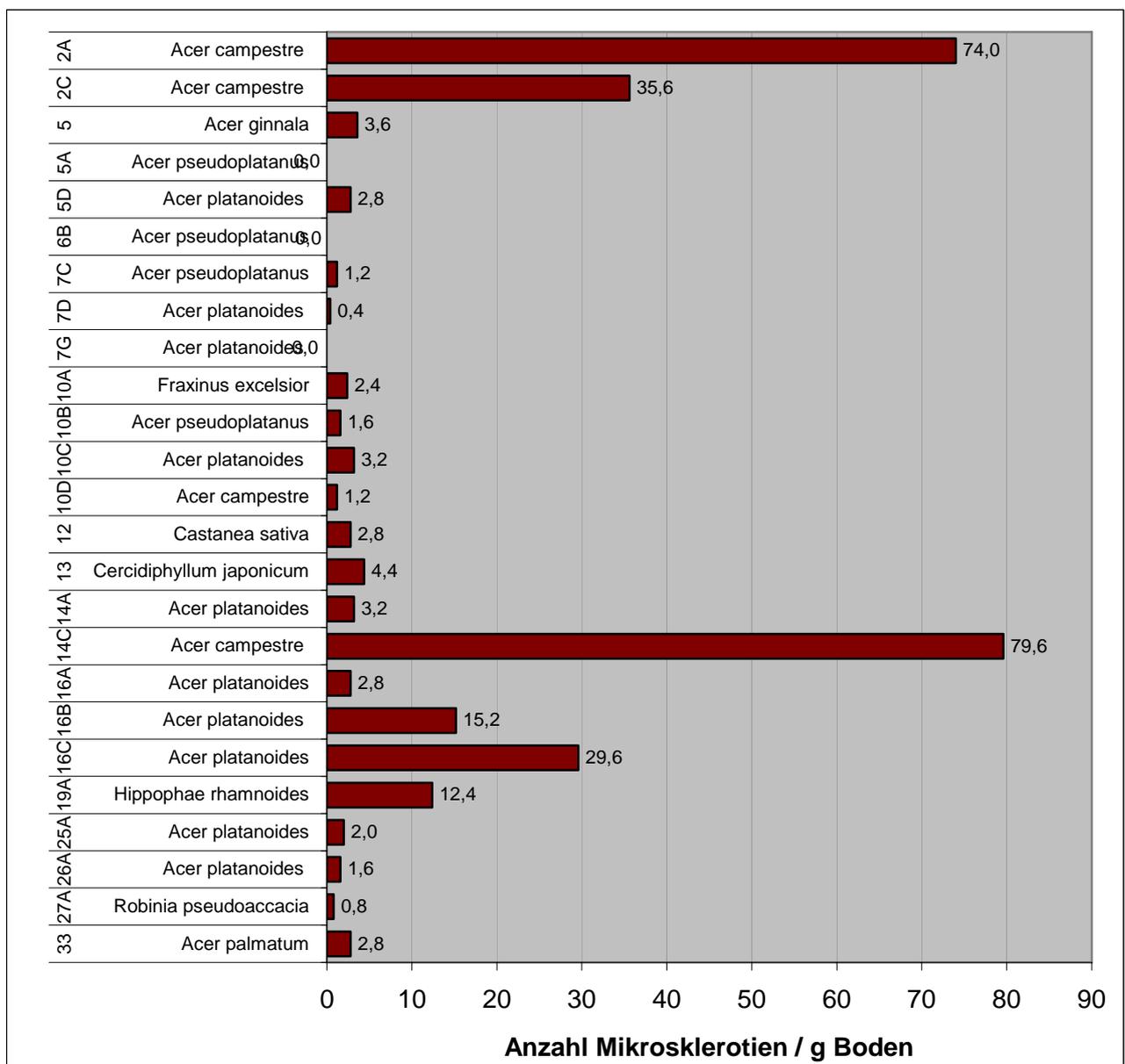


Abb. 2: *Verticillium*-Belastung des Bodens im Wurzelumfeld befallener Gehölze.

5.3 Charakterisierung der *Verticillium*-Isolate

5.3.1 Morphologische und physiologische Untersuchungen

Im Rahmen des Monitorings wurden aus Ziergehölzen unterschiedlichster Herkunft 34 *Verticillium*-Isolate gewonnen. Nachdem Einsporlinien hergestellt worden waren, wurden sie morphologisch und physiologisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind Tab. 6 zu entnehmen.

Im Vordergrund stand zunächst die Ermittlung der durchschnittlichen Konidienlänge pro Isolat. Die Mittelwerte der untersuchten Isolate lagen zwischen 3,6 und 4,8 µm. Alle Isolate bildeten Mikrosklerotien aus. Auf beiden Nährböden (PDA, WA+) wiesen diese Sklerotien eine runde Form auf. Dunkle Hyphenansätze waren nicht zu erkennen. Damit wiesen alle Isolate morphologische Merkmale auf, wie sie in der Literatur als typisch für *Verticillium dahliae* gelten. Die für *Verticillium longisporum* beschriebenen morphologischen Merkmale (KARAPAPA et al. 1997) konnten dagegen bei keinem Isolat festgestellt werden.

Zusätzlich wurde für alle Isolate eine Polyphenoloxidase-Aktivität nachgewiesen. Diese äußerte sich in Abhängigkeit des Isolates durch eine mehr oder weniger stark pigmentierte Zone im Randbereich der Kolonie. Deshalb wurde die Intensität der Aktivität in stark, mittel und schwach unterschieden.

Tab. 6: Ergebnisse der morphologischen und physiologischen Untersuchungen der *Verticillium*-Isolate.

Isolat	Wirtspflanzenherkunft	Konidienlänge (µm)	Mikrosklerotien (WA+)		Mikrosklerotien (PDA)		PPO-Aktivität (MEA)
			Form	Hyphenansätze	Form	Hyphenansätze	
23/05	<i>Acer pseudoplatanus</i>	4,20 ± 0,76	rund	keine	rund	keine	stark
24/05	<i>Acer campestre</i>	3,88 ± 0,75	rund	keine	rund	keine	mittel
25/05	<i>Acer campestre</i>	4,80 ± 0,49	rund	keine	rund	keine	stark
26/05	<i>Acer platanoides</i>	3,74 ± 0,80	rund	keine	rund	keine	mittel
27/05	<i>Acer pseudoplatanus</i>	4,14 ± 0,73	rund	keine	rund	keine	stark
28/05	<i>Acer pseudoplatanus</i>	3,78 ± 0,71	rund	keine	rund	keine	mittel
29/05	<i>Acer ginnala</i>	3,92 ± 0,67	rund	keine	rund	keine	schwach
30/05	<i>Acer pseudoplatanus</i>	3,80 ± 0,73	rund	keine	rund	keine	schwach
31/05	<i>Acer platanoides</i>	3,90 ± 0,76	rund	keine	rund	keine	stark
32/05	<i>Acer platanoides</i>	3,92 ± 0,75	rund	keine	rund	keine	mittel
33/05	<i>Fraxinus excelsior</i>	4,38 ± 0,75	rund	keine	rund	keine	mittel
34/05	<i>Acer pseudoplatanus</i>	3,80 ± 0,73	rund	keine	rund	keine	mittel
35/05	<i>Acer platanoides</i>	3,70 ± 0,65	rund	keine	rund	keine	mittel
36/05	<i>Acer campestre</i>	3,98 ± 0,82	rund	keine	rund	keine	schwach
37/05	<i>Castanea sativa</i>	4,56 ± 0,61	rund	keine	rund	keine	stark
38/05	<i>Acer palmatum</i>	4,24 ± 0,59	rund	keine	rund	keine	mittel
39/05	<i>Acer rubrum</i>	3,84 ± 0,71	rund	keine	rund	keine	mittel
40/05	<i>Acer platanoides</i>	4,48 ± 0,68	rund	keine	rund	keine	stark
41/05	<i>Cercidiphyllum japonicum</i>	4,38 ± 0,67	rund	keine	rund	keine	stark
42/05	<i>Acer platanoides</i>	3,64 ± 0,69	rund	keine	rund	keine	mittel
43/05	<i>Acer campestre</i>	3,56 ± 0,64	rund	keine	rund	keine	mittel
44/05	<i>Acer platanoides</i>	4,32 ± 0,51	rund	keine	rund	keine	stark
45/05	<i>Acer platanoides</i>	3,92 ± 0,57	rund	keine	rund	keine	mittel
46/05	<i>Acer platanoides</i>	3,60 ± 0,61	rund	keine	rund	keine	mittel
47/06	<i>Hippophae rhamnoides</i>	3,70 ± 0,74	rund	keine	rund	keine	stark
48/06	<i>Acer platanoides</i>	3,82 ± 0,75	rund	keine	lang	keine	mittel
49/06	<i>Tilia cordata</i>	4,24 ± 0,82	rund	keine	rund	keine	stark
50/06	<i>Fraxinus excelsior</i>	3,64 ± 0,66	rund	keine	rund	keine	mittel
51/06	<i>Betula pendula</i>	3,74 ± 0,60	rund	keine	rund	keine	mittel
52/06	<i>Acer platanoides</i>	3,78 ± 0,71	rund	keine	rund	keine	schwach
53/06	<i>Robinia pseudoaccacia</i>	4,60 ± 0,61	rund	keine	rund	keine	stark
54/06	<i>Acer platanoides</i>	4,46 ± 0,93	rund	keine	rund	keine	schwach
55/06	<i>Catalpa bignonioides</i>	3,82 ± 0,69	rund	keine	rund	keine	stark
56/06	<i>Acer freemannii</i>	4,32 ± 0,65	rund	keine	rund	keine	mittel
57/07	<i>Acer palmatum</i>	4,06 ± 0,65	rund	keine	rund	keine	--

5.3.2 Virulenzprüfungen an Ziergehölzen

Die im Monitoring gesammelten *Verticillium*-Isolate wurden in den Jahren 2006 und 2007 in Gewächshaus- oder Freilandversuchen an ausgewählten Ziergehölzarten hinsichtlich ihrer Pathogenität bzw. Virulenz geprüft. Unter Berücksichtigung der Wirtspflanzenherkunft der Isolate einerseits und der wirtschaftlichen Bedeutung bestimmter Ziergehölze als *Verticillium*-Wirtspflanzen andererseits wurden die folgenden 6 Ziergehölze für die Infektionsversuche ausgewählt: *Acer platanoides*, *Acer pseudoplatanus*, *Catalpa bignonioides*, *Castanea sativa*, *Fraxinus excelsior* und *Tilia cordata*. Hierbei wurden aus Kapazitätsgründen nicht in jedem Versuch alle Isolate sondern nur eine mehr oder weniger große repräsentative Auswahl von Isolaten geprüft. Zusätzlich wurden in den Versuchen als Vergleichsisolate die beiden *V. dahliae*-Isolate 107/98 und 108/02 sowie die *V. longisporum*-Isolate 03/03 und 11/03 aus der Sammlung der Fachhochschule Osnabrück eingesetzt.

Infektionsversuche 2006

Versuch mit *Acer platanoides*

Der Gewächshausversuch mit einjährigen Sämlingen litt wie der Vorversuch I (siehe 5.1) unter vereinzelt Pflanzenausfällen, die nicht auf die Inokulation zurückzuführen waren. Hohe Temperaturen von 30 °C in der Anfangsphase führten zu einem schnellen Austrieb, während die Wurzelneubildung zurück blieb. In der Folge starben einzelne Pflanzen ab, so dass einzelne Varianten bei einer ursprünglichen Pflanzengesamtzahl von $n = 20$ bis zu 5 Fehlstellen aufwiesen. Alle *V. dahliae*-Isolate erwiesen sich als pathogen. Die Intensität der Befallsentwicklung in den Varianten ist anhand der ermittelten Befallsintegrale dargestellt (Tab. 7). In den Isolat-Varianten, die stärkeren Befall aufwiesen, lag die Befallshäufigkeit bei Versuchende zwischen 70 - 90 %. Isolate in der unteren Hälfte der Rangliste verursachten Befallshäufigkeiten von 30 - 50 %. Die Reisolierungsergebnisse bestätigen sehr exakt die Pflanzenbonituren. Aus jenen Pflanzen, die aufgrund von Symptomen als befallen eingestuft worden waren, konnte der Erreger auch reisoliert werden. Die Auswertungen zeigen aber auch deutlich, dass in den einzelnen Varianten eine mehr oder weniger große Zahl von Versuchspflanzen scheinbar nicht befallen bzw. infiziert war.

Die statistische Auswertung der Befallsintegrale weist nur auf geringe Unterschiede zwischen den Isolaten hin. Die Streuung der Versuchsdaten lässt auf Einflussfaktoren schließen, die den Versuch überlagern und Virulenzunterschiede kaum reproduzierbar machen. Dies wird bei einem Vergleich mit den Ergebnissen des Vorversuches II (siehe Tab. 2, S. 18) deutlich. Dort erwies sich das Referenzisolat 107/98 an *A. platanoides* virulenter als das Iso-

lat 108/02, während es in diesem Versuch schwächer abschnitt. Die beiden *V. longisporum*-Isolate 11/03 und 03/03 waren schwach virulent. 4 bzw. 2 Pflanzen zeigten leichte Symptome. Aus diesen Pflanzen wurden der Erreger jeweils reisoliert, was eine erfolgte Infektion belegt.

Tab. 7: Ergebnisse des Infektionsversuches mit *Acer platanoides* 24 Wochen nach Inokulation (n = 20).

Isolat	Pflanzenbonitur			Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral		Befallshäufigkeit
41/05	17/20	642,63	a	18/20
47/05	15/18	642,44	a	17/18
38/05	16/17	615,41	a b	16/17
28/05	16/19	532,08	a b c	16/19
36/05	15/19	531,87	a b c	15/19
27/05	17/19	501,58	a b c d	18/19
46/05	15/19	482,39	a b c d	15/19
42/05	14/17	466,35	a b c d	14/17
23/05	18/20	461,73	a b c d	18/20
43/05	9/15	440,83	a b c d e	10/15
33/05	12/17	431,50	a b c d e	13/17
29/05	14/19	398,03	a b c d e f	14/19
108/02	9/15	380,77	b c d e f g	9/15
49/06	14/20	378,98	b c d e f g	15/20
25/05	16/20	378,40	b c d e f g	16/20
26/05	10/17	359,35	c d e f g h	11/17
31/05	9/18	355,50	c d e f g h	9/18
40/05	13/18	348,62	c d e f g h	13/18
45/05	9/16	325,21	c d e f g h	10/16
44/05	11/15	317,07	c d e f g h	11/15
39/05	9/15	316,87	c d e f g h	9/15
34/05	10/19	302,47	c d e f g h	10/19
107/98	9/17	258,21	d e f g h i	9/17
37/05	9/20	205,50	e f g h i j	10/20
35/05	7/20	172,73	f g h i j	8/20
48/06	6/20	134,30	g h i j	7/20
11/03	4/18	124,11	h i j	4/18
03/03	2/17	49,00	i j	2/17
Kontrolle	0/20	0,00	j	0/20

Versuch mit *Tilia cordata*

Der Infektionsversuch mit der Wirtspflanze *Tilia cordata* zeichnete sich durch relativ hohe Befallsraten in allen Varianten aus (Tab. 8, Abb. 3). Die über Pflanzenbonitur ermittelten Befallshäufigkeiten lagen zwischen 80 und 100 %. In jenen Varianten, die den stärksten Befall aufwiesen, waren die Pflanzen bei Versuchende weitgehend abgestorben. In Varianten mit schwächerem Befall zeigten die Pflanzen Blattnekrosen, leichte Welkeerscheinungen und meist deutliche Wachstumshemmungen im Vergleich zu gesunden Pflanzen der Kontrolle. Das aus *Tilia* gewonnene Isolat 49/06 gehörte eher zu den schwächer virulenten Isolaten.

Tab. 8: Ergebnisse des Infektionsversuches mit *Tilia cordata* 24 Wochen nach Inokulation (n = 20).

Isolat	Pflanzenbonitur		Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral	Befallshäufigkeit
42/05	18/20	718,35 a	13/20
47/05	20/20	690,28 ab	16/20
31/05	18/20	684,10 ab	14/20
28/05	20/20	678,18 ab	11/20
46/05	17/20	595,88 abc	13/20
108/02	20/20	594,05 abc	12/20
35/05	16/20	581,25 abcd	16/20
34/05	18/20	567,85 abcde	16/20
43/05	18/20	567,25 abcde	15/20
45/05	18/20	532,40 abcdef	11/20
48/06	13/20	527,75 abcdef	11/20
41/05	18/20	524,53 abcdef	15/20
107/98	18/18	493,61 bcdef	12/18
36/05	17/20	481,05 bcdef	11/20
44/05	19/20	456,75 cdef	10/20
38/05	20/20	433,75 cdefg	6/20
37/05	18/20	425,13 cdefg	12/20
25/05	20/20	416,75 cdefg	9/20
27/05	19/20	390,60 cdefg	12/20
29/05	17/19	388,97 cdefg	12/19
23/05	18/20	374,10 cdefg	8/20
33/05	17/20	363,15 defg	9/20
40/05	18/20	360,88 defg	8/20
49/06	18/20	355,20 efg	5/20
26/05	14/20	325,15 fg	11/20
39/05	15/20	323,93 fg	9/20
11/03	16/20	233,45 gh	4/20
03/03	11/19	107,95 hi	0/19
Kontrolle	0/20	0,00 i	0/20

Über Reisolierungen konnte bei vielen Pflanzen eine Infektion nachgewiesen werden. Allerdings gelang der Nachweis nicht immer, so dass die Reisolierungsquote im Vergleich zur Pflanzenbonitur durchweg niedriger war. Die beiden *V. longisporum*-Isolate verursachten an mehr als 50 % der Pflanzen schwache Symptomausprägungen. In der abschließenden Laboruntersuchung konnte der Erreger nur bei Isolat 11/03 aus wenigen Pflanzen reisoliert werden.



Abb. 3: Infektionsversuch mit *Tilia cordata* im Gewächshaus.

Versuch mit *Fraxinus excelsior*

Das Befallsniveau im Infektionsversuch mit *Fraxinus excelsior* war relativ niedrig. In den Varianten mit stärkerem Befall wiesen 40 - 70 % der Pflanzen typische Symptome in Form von einseitigen Aufhellungen und Nekrosen der Fiederblätter sowie nachfolgendem Blattfall auf (Tab. 9). Gegen Ende des Versuches konnte eine Erholung der Pflanzen durch Bildung neuer gesunder Austriebe beobachtet werden. In Varianten mit schwacher Befallsentwicklung zeigten nur ca. 25 % der Pflanzen oder weniger das typische Symptombild. Reisolierungen schlugen fast vollständig fehl. Dies ist zumindest ein Hinweis darauf, dass viele symptomlose Pflanzen auch nicht infiziert waren. Ungünstige Witterungseinflüsse nach der Inokulation könnten eine Erklärung hierfür sein.

Tab. 9: Ergebnisse des Infektionsversuches mit *Fraxinus excelsior* 25 Wochen nach Inokulation (n = 20).

Isolat	Pflanzenbonitur		Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral	Befallshäufigkeit
38/05	14/20	355,18 a	0/20
23/05	14/20	346,18 a	0/20
44/05	13/20	301,50 ab	0/20
49/06	14/20	288,88 abc	0/20
29/05	14/20	284,55 abcd	0/20
25/05	8/20	240,63 abcde	0/20
33/05	9/20	234,90 abcdef	0/20
40/05	10/20	220,25 abcdef	0/20
37/05	8/20	203,33 abcdef	0/20
27/05	8/19	180,58 bcdefg	0/19
41/05	8/20	178,15 bcdefg	1/19
26/05	8/20	176,20 bcdefg	0/20
36/05	7/20	158,43 bcdefgh	1/20
46/05	8/20	146,48 bcdefgh	0/20
43/05	9/20	146,20 bcdefgh	0/20
35/05	5/20	132,90 cdefgh	2/20
34/05	9/20	128,25 defgh	0/20
45/05	6/20	127,73 defgh	0/20
47/05	5/20	115,98 efgh	0/20
42/05	6/20	102,60 efgh	0/20
107/98	5/20	100,00 efgh	0/20
31/05	5/20	83,75 efgh	1/20
28/05	6/20	78,05 fgh	0/20
48/06	2/19	36,97 gh	0/19
39/05	3/20	26,95 gh	0/20
108/02	1/20	21,35 gh	0/20
11/03	1/20	20,65 gh	0/20
03/03	3/20	12,60 h	0/20
Kontrolle	0/20	0,00 h	0/20

Infektionsversuche 2007

Versuche mit *Catalpa bignonioides*

Ein im Jahr 2006 im Freiland parallel zum *Fraxinus*-Versuch durchgeführter Infektionsversuch mit einjährigen *Catalpa*-Sämlingen schlug fehl. Keine der inokulierten Pflanzen zeigte Befallssymptome. Reisolierungsversuche verliefen negativ. Im Folgejahr wurde der Versuch im Gewächshaus mit 3 Wochen alten Sämlingen im 2- bis 4-Blattstadium wiederholt. Die Befallsentwicklung war in vielen Varianten schwach ausgeprägt (Tab. 10).

Tab. 10: Ergebnisse des Infektionsversuches mit *Catalpa bignonioides* (Teil I)
8 Wochen nach Inokulation (n = 20).

Isolat	Pflanzenbonitur		Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral *)	Befallshäufigkeit
41/05	19/20	91,35 a	*)
44/05	19/20	83,45 ab	19/20
33/05	18/20	73,30 abc	*)
38/05	17/20	66,80 bcd	18/20
31/05	18/20	66,15 bcd	19/20
53/06	19/20	66,15 bcd	20/20
23/05	18/20	66,05 bcd	17/20
43/05	19/20	60,85 bcde	17/20
48/06	17/20	54,05 cdef	18/19
49/06	18/20	54,00 cdef	18/20
35/05	13/20	48,05 cdefg	19/20
51/06	17/20	47,95 cdefg	19/20
46/05	16/20	44,80 defg	19/20
55/06	16/20	42,90 defg	*)
27/05	14/20	35,65 efg	*)
37/05	14/20	32,85 fg	13/20
47/06	12/20	31,05 fg	18/20
50/06	12/20	30,70 fg	20/20
11/03	12/20	28,75 fgh	6/20
25/05	11/20	23,85 ghi	15/20
28/05	14/20	23,10 ghi	5/20
03/03	3/20	5,25 hi	5/20
Kontrolle	0/20	0,00 i	0/20

*) Varianten wurden weiter beobachtet (siehe Tab. 11)

Zwar konnten viele Pflanzen als befallen eingestuft werden, sie zeigten aber überwiegend nur schwache Symptome in Form von Vergilbungen, Blattnekrosen und Wachstumshemmungen (Abb. 4). Leichte Welkesymptome traten lediglich in den Varianten mit stärkerem Befall auf. Nach einigen Wochen stagnierte die Befallsentwicklung in allen Varianten. Die Symptomausprägungen schwächten sich ab, so dass der Versuch - mit Ausnahme von vier ausgewählten Varianten - nach 8 Wochen beendet wurde. Die hohen Reisolierungsraten weisen aber auf hohe Infektionsraten hin. Vor diesem Hintergrund könnten die unterschiedlichen Befallsintensitäten in den Varianten auf Virulenzunterschiede der *V. dahliae*-Isolate zurückgeführt werden (z.B. Vergleich Isolate 44/05 und 50/06). Die beiden *V. longisporum*-Isolate 11/03 und 03/03 erwiesen sich auch an *Catalpa* als sehr schwach virulent.

Um die Befallsentwicklung über die achtwöchige Versuchsdauer des Hauptversuches (Teil I) hinaus beobachten zu können, wurden zwei Varianten mit stärkerem Befall (Isolate 41/05 und 33/05) sowie zwei Varianten mit schwächerem Befall (Isolate 55/06 und 27/05) über 10 weitere Wochen beobachtet (Teil II). In diesen Varianten setzte sich der Erholungsprozess der Pflanzen fort. Dies drückt sich nicht zuletzt in einer Abnahme der über Pflanzenbonitur und Laboruntersuchung ermittelten Befallshäufigkeiten aus (Tab. 11). Die unterschiedlichen Befallsintensitäten in den Varianten deuten auch hier auf Virulenzunterschiede der Isolate hin.

Tab. 11: Ergebnisse des Infektionsversuches mit *Catalpa bignonioides* (Teil II)
19 Wochen nach Inokulation (n = 20).

Isolat	Pflanzenbonitur		Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral *)	Befallshäufigkeit
E 41/05	13/20	318,15 a	12/20
E 33/05	6/20	203,50 b	6/20
E 27/05	11/20	207,90 b	11/20
E 55/06	5/20	110,80 c	11/20
Kontrolle	0/20	0,00 d	0/20



Abb. 4: Infektionsversuch mit *C. bignonioides*. Blattchlorosen (oben rechts), Blattnekrosen (unten links), welkendes Blatt (unten rechts).

Die im Infektionsversuch an *Catalpa* beobachtete Stagnation der Befallsentwicklung sowie der einsetzende Erholungsprozess werden in der Literatur damit erklärt, dass die Pflanzen unter bestimmten Bedingungen dem Erreger „wegwachsen“. Dieser Vorgang wird vom Entwicklungsstadium der Pflanzen und den Umweltbedingungen beeinflusst. Vor diesem Hintergrund wurde in einem weiteren Versuch der Einfluß des Entwicklungsstadiums von *Catalpa* bzw. der Zeitpunkt der Infektion auf die Befallsentwicklung untersucht. Hierzu wurden 3 und 10 Wochen alte Sämlinge mit dem *V. dahliae*-Isolat 46/05 inokuliert. An den jüngeren Pflanzen, die in der Phase nach der Inokulation bei hohen Temperaturen schnelles sekundäres Dickenwachstum zeigten, entwickelte sich der Befall kaum. Durch Bildung neuer Leitgefäße schien der *Verticillium*-Befall rasch kompensiert zu werden. Bei den älteren Pflanzen war die vegetative Wachstumsdynamik bereits verlangsamt, so dass ein Befall mit *Verticillium* nicht mehr in dem Maße durch Bildung neuer Leitgefäße ausgeglichen werden konnte. Die Befallsintensität war deutlich erhöht, was sich in einem signifikant höheren Befallsintegral bei Versuchende niederschlug (Tab. 12).

Tab. 12: Einfluß zweier unterschiedlicher Entwicklungsstadien von *Catalpa bignonioides* auf die Krankheitsentwicklung. Ergebnis 8 Wochen nach Inokulation mit Isolat 46/05 (n = 20).

	Pflanzenbonitur		Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral *)	Befallshäufigkeit
10 Wochen alte Sämlinge	16/20	140,10 a	17/20
3 Wochen alte Sämlinge	16/20	44,80 b	19/20
Kontrolle	0/20	0,00 c	0/20

Versuch mit *Acer pseudoplatanus*

Im Jahr 2007 wurden in einem Freilandversuch ausgewählte *Verticillium*-Isolate an einjährigen Sämlingen von *Acer pseudoplatanus* geprüft. Befallene Pflanzen zeigten das typische Spektrum an Schadsymptomen (Abb. 5). Alle Isolate von *V. dahliae* erwiesen sich als pathogen. Der Versuch zeichnete sich durch ein relativ gleichmäßiges Befallsbild aus. Die im Rahmen der Pflanzenbonitur ermittelten Befallshäufigkeiten lagen zwischen 80 und 100 %. Aus den meisten, als befallen eingestuft, Pflanzen konnte der Erreger bei Versuchende reisoliert werden. Die beiden Isolate von *V. longisporum* erwiesen sich als sehr schwach virulent und unterschieden sich signifikant von den übrigen Isolaten. Aus Pflanzen mit sehr schwachen Symptomen wurde der Erreger auch reisoliert (Tab. 13).

Tab. 13: Ergebnisse des Infektionsversuches mit *Acer pseudoplatanus* 21 Wochen nach Inokulation (n = 20).

Isolat	Pflanzenbonitur		Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral	Befallshäufigkeit
47/06	19/20	413,30 a	19/20
46/05	20/20	403,60 a	20/20
31/05	18/20	365,90 a b	16/20
28/05	18/20	361,45 a b	18/20
48/06	20/20	352,90 a b c	20/20
41/05	20/20	344,20 a b c d	19/20
43/05	18/20	338,00 a b c d e	19/20
35/05	18/20	333,65 a b c d e	17/20
50/06	18/20	326,00 a b c d e	18/20
51/06	19/20	285,70 b c d e f	18/20
25/05	17/20	278,05 b c d e f	12/20
33/05	18/19	274,84 b c d e f	12/19
38/05	19/20	273,10 b c d e f	15/20
44/05	18/20	268,30 b c d e f	13/20
27/05	19/20	261,10 c d e f	15/20
23/05	18/20	257,20 c d e f	15/20
55/06	18/20	253,65 d e f	18/20
49/06	17/20	248,50 d e f	15/20
53/06	16/20	240,50 e f	15/20
37/05	16/20	214,30 f	14/20
03/03	6/20	99,40 g	5/20
11/03	6/20	81,20 g	5/20
Kontrolle	0/20	0,00 h	0/20



Abb. 5: Infektionsversuch mit *A. pseudo-platanus*. Blattchlorosen (oben rechts), Blattnekrosen (Mitte links u. rechts), welkende Pflanze (unten rechts).

Versuch mit *Castanea sativa*

Im Infektionsversuch mit einjährigen Sämlingen von *Castanea sativa* konnte die gesamte Bandbreite der *Verticillium*-Symptome beobachtet werden. Befallene Pflanzen wiesen bei chronischem Befallsverlauf meist Blattchlorosen und -nekrosen sowie Wachstumshemmungen auf. Bei akutem Befallsverlauf begannen die Triebe zu welken und darauffolgend die ganze Pflanze einzutrocknen bzw. abzusterben. Alle Isolate von *V. dahliae* erwiesen sich als pathogen. Die Befallshäufigkeiten lagen meist über 75 %. Die Verrechnung der Befallsintegrale zeigt leichte Virulenzunterschiede an. Die Reisolierung des Erregers aus symptomzeitigen Pflanzen gelang nicht immer. Die beiden Isolate von *V. longisporum* waren schwach virulent und unterschieden sich in dieser Hinsicht von den übrigen Isolaten signifikant (Tab. 14.)

Tab. 14: Ergebnisse des Infektionsversuches mit *Castanea sativa* 24 Wochen nach Inokulation (n = 20).

Isolat	Pflanzenbonitur		Reisolierung
	Befallshäufigkeit	Befallsintegral	Befallshäufigkeit
38/05	17/18	552,78 a	15/18
43/05	14/18	539,44 a	13/18
48/06	17/20	522,60 a b	15/20
44/05	18/18	439,33 a b c	11/18
31/05	17/20	427,70 a b c	13/20
25/05	14/19	412,58 a b c	7/19
49/06	18/20	393,65 a b c	13/20
50/06	16/20	375,60 a b c	11/20
41/05	19/20	369,50 a b c	15/20
47/06	15/18	361,26 b c	14/18
55/06	17/20	341,40 b c	10/20
37/05	16/19	339,50 b c	11/19
28/05	16/20	338,55 b c	12/20
51/06	13/17	331,35 b c	10/17
53/06	17/19	331,05 b c	10/19
46/05	8/17	321,77 c	5/17
23/05	16/19	298,37 c	9/19
35/05	13/19	273,11 c d	7/19
27/05	15/20	266,85 c d	10/20
33/05	10/20	116,25 d e	6/20
11/03	4/18	71,56 e	3/18
03/03	3/17	31,29 e	1/17
Kontrolle	0/20	0,00 e	0/20

5.4 Infektionsversuch an Obstgehölzen

In einem vom Kooperationspartner VBOG Langförden (LWK Niedersachsen) durchgeführten Freilandversuch sollte die Frage geklärt werden, inwieweit verschiedene Obstgehölzarten von *Verticillium* befallen werden können. Folgende in der Literatur dem Wirtspflanzenkreis von *V. dahliae* zugerechnete Gehölze wurden im Versuch geprüft:

Obstgehölz	Sorte / Selektion
Himbeere (<i>Rubus idaeus</i>)	Tulameen
Brombeere (<i>Rubus fruticosus</i>)	Chester Thornless u. Thornfree
Vogelkirsche (<i>Prunus avium</i>)	
Apfel (<i>Malus domestica</i>)	Unterlage M 9
Goldjohannisbeere (<i>Ribes aureum</i>)	Selektion Brechts Erfolg
Stachelbeere (<i>Ribes uva-crispa</i>)	Hinnonmäki
Rote Johannisbeere (<i>Ribes rubrum</i>)	Jonkheer van Tets

Der Infektionsversuch wurde mit dem *Verticillium dahliae*-Isolat 107/98 aus der Sammlung der Fachhochschule Osnabrück, das sich in früheren Versuchen als pathogen an Himbeere erwiesen hatte, durchgeführt. Nach einer Wurzeltauchinokulation wurden jeweils 18 Pflanzen pro Gehölzart am 7.4.2005 in schwarze PE-Folie mit einem Abstand von 0,33 m in der Reihe aufgepflanzt. Der Reihenabstand betrug 1,0 m. Eine gleich große Zahl von Pflanzen wurde nicht inokuliert und als Kontrolle aufgepflanzt.



Abb. 6: Obstgehölzversuch Langförden

Die Pflanzen wurden über zwei Vegetationsperioden hinweg beobachtet. Typische Schadsymptome, die auf einen *Verticillium*-Befall schließen lassen, konnten nicht festgestellt werden. Vor Abbruch des Versuches wurde der Entwicklungsstand der Pflanzen erfasst. Unterschiede zwischen „inokuliert“ und „unbehandelt“ konnten nicht festgestellt werden. Pflanzenausfälle in den einzelnen Varianten standen nicht in Zusammenhang mit den Behandlungen. Die stichprobenartigen Reisolierungsversuche bei Versuchende an Himbeeren schlugen fehl.

Tab. 15: Obstgehölzversuch Langförden: Pflanzenauswertung nach der zweiten Vegetationsperiode, 14.02.2007 (n = 18).

	Himbeere	Brombeere	Vogelkirsche	Apfel, M 9	Goldjohannisbeere	Stachelbeere	Rote Johannisbeere
Unbehandelten Kontrolle							
Anzahl Triebe pro Pflanze	5,9	2,3	10,1	9,5	9,5	13,3	16,3
Ø Trieblänge, cm	129,6	293,7	75	25,9	71,9	33,7	33,3
Anzahl vorhandene Pfl.*	18,0	16,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
Anteil ausgefallener Pfl., %	0	11,1	0	0	0	0	0
Inokulierte Pflanzen							
Anzahl Triebe pro Pflanze	6,5	2,7	9,6	6,7	9,0	17,0	12,7
Ø Trieblänge, cm	111,6	229,2	72,2	32,7	78,2	31,5	36,6
Anzahl vorhandene Pfl.*	17,0	12,0	18,0	17,0	17,0	18,0	16,0
Anteil ausgefallener Pfl., %	5,6	22,2	0	5,6	5,6	0	11,1

5.5 Prüfung chemischer und biologischer Bodenentseuchungsverfahren

Im Rahmen des Projektes sollten in einem Bodenentseuchungsversuch vier verschiedene Verfahren auf ihre Wirkung gegenüber *Verticillium* untersucht werden. Hierbei handelte es sich um zwei biologische Verfahren, die aus dem Anbau und der anschließenden Einarbeitung von Sudangras bzw. Braunem Senf incl. Folienabdeckung bestanden. In zwei weiteren Varianten wurden das chemische Bodenentseuchungsmittel Basamid Granulat und die Ausbringung von Kalkstickstoff geprüft (Tab. 16)

Tab. 16: Varianten des Bodenentseuchungsversuches.

Variante	Aufwandmenge	Anwendung
Kontrolle unbehandelt		Schwarzbrache
Basamid Granulat	50 g / m ²	nach streuen 20 cm tief einfräsen und anwalzen
Kalkstickstoff	50 g / m ²	nach streuen 20 cm tief einfräsen
Sudangras	4,0 kg Frischmasse / m ²	20 cm tief mulchen, nach wässern (10 l/m ²) Abdeckung mit Silagefolie
Brauner Senf	1,0 kg Frischmasse / m ²	20 cm tief mulchen, nach wässern (10 l/m ²) Abdeckung mit Silagefolie

Für die Durchführung des Versuches stand eine natürlich mit *Verticillium* verseuchte Baumschulfläche zur Verfügung. Im Monitoring (siehe S. 22) hatte sich die Fläche mit über 80 Mikrosklerotien pro g Boden als stark belastet erwiesen. Ursprünglich sah das Projekt zur Durchführung des Versuches die künstliche Verseuchung einer Fläche mit „in vitro“ produzierten Mikrosklerotien vor. Einem natürlich verseuchten Standort wurde aber der Vorzug gegeben, da er eine praxisnähere Versuchsdurchführung ermöglichte.

Im Vorfeld des als Streifenanlage angelegten Versuches wurden die 5 x 10 m großen Parzellen eingemessen (siehe Anhang). Zur Ermittlung der Ausgangsverseuchung wurde am 17.5. in jeder Parzelle eine 4 x 8 m große Kernparzelle mit je 28 Einstiche beprobt und eine Mischprobe hergestellt, die anschließend im Labor untersucht wurde. Auf der Basis der ermittelten Verseuchungswerte wurden die Parzellen der Varianten so gelegt, dass die aus 4

Wiederholungen sich ergebenden durchschnittlichen Ausgangsverseuchungen der 5 Varianten auf einem gleich hohen Niveau von jeweils über 80 MS / g Boden lagen.

Am 7.6. wurden in den Parzellen der Varianten 4 und 5 Sudangras (*Sorghum sudanensis*) bzw. Brauner Senf (*Brassica juncea*) eingesät. Im Falle des Senf wurde eine Sorte mit einem sehr hohen Gehalt an Glucosinolaten ausgewählt, die sich deshalb - laut Angaben des Züchters - durch eine besonders stark entseuchende Wirkung auszeichnen soll. Die Parzellen der übrigen Varianten wurden bis zum Zeitpunkt der Versuchsanlage weitgehend unkrautfrei gehalten. Am 23.8. erfolgte das Einmulchen der beiden Gründüngungsarten. Aufgrund der sehr trockenen Witterung wiesen die Senf-Parzellen einen sehr lückenhaften Aufwuchs auf, so dass zur Einarbeitung nur 1,0 kg Frischmasse / m² zur Verfügung standen. Sudangras wurde mit 4,0 kg Frischmasse / m² in den Boden eingearbeitet. Zur Beschleunigung des Rotteprozesses, wurde der Boden mit 10 l Wasser / m² angefeuchtet. Schließlich wurden die Parzellen mit schwarzer Silagefolie abgedeckt (Abb. 8), um die Verweildauer der während des Abbaus entstehenden toxischen, meist flüchtigen Verbindungen im Boden zu verlängern bzw. ihre entseuchende Wirkung zu erhöhen. Am gleichen Tag wurde in der Variante 2 gemäß Versuchsplan (Tab. 16) Basamid Granulat gestreut und eingefräst. Anschließend wurde der Boden praxisüblich angewalzt, um die Verweildauer des gasförmigen Wirkstoffes im Boden zu verlängern. In Variante 3 wurde gemahlener Kalkstickstoff ausgebracht und eingefräst.



Abb. 8: Bodenentseuchungsversuch am 23.8.2006.

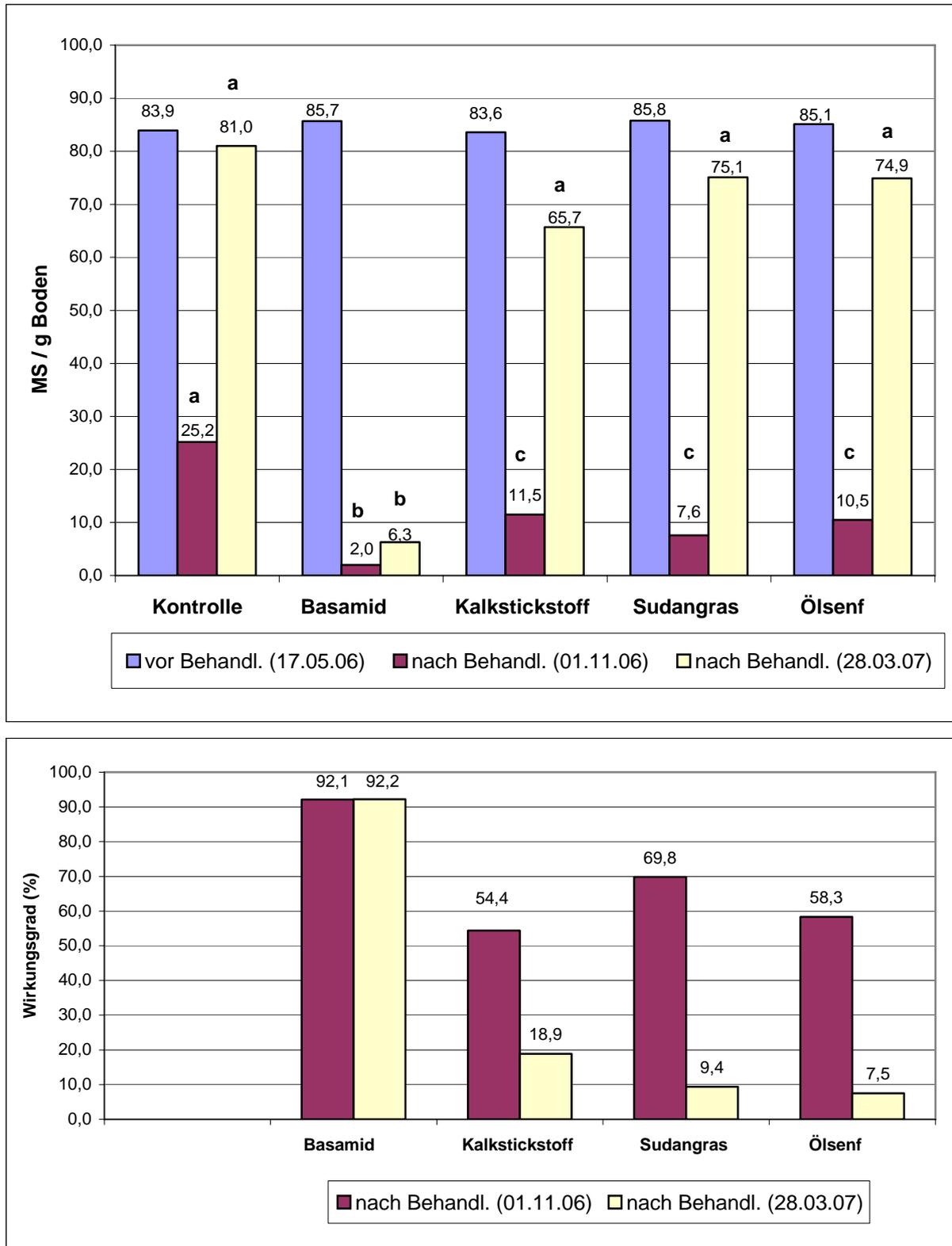


Abb. 9: Ergebnisse des Bodenentseuchungsversuches: Verseuchungsgrade vor und nach Behandlung (oben) und Wirkungsgrade (unten).

10 Wochen nach Versuchsbeginn wurde die Wirkung der Behandlungen durch eine zweite Probenahme und Bodenuntersuchung erfasst. Auffallend war, dass die Verseuchung in der unbehandelten Kontrolle mittlerweile auf natürlichem Wege von durchschnittlich 83,9 MS auf 25,2 MS / g Boden zurückgegangen war. Die Behandlungen zeigten im Vergleich zur Kontrolle eine signifikante Wirkung. Durch die Anwendung von Basamid wurde die Population weitgehend erfasst. Nur noch durchschnittlich 2,0 MS / g Boden wurden in den einzelnen Parzellen nachgewiesen. Unter Berücksichtigung des natürlichen Rückganges in unbehandelt ergibt sich ein Wirkungsgrad von 92,1% (Abb. 9). Schlechter schnitten erwartungsgemäß die übrigen Behandlungen ab. Durch die Anwendung von Kalkstickstoff und den Anbau von Sudangras oder Senf wurde die *Verticillium*-Population auf Werte zwischen 7,6 - 11,5 MS / g Boden gesenkt. Dies entspricht Wirkungsgraden zwischen 50 und 70 %. Gleichzeitig handelte es sich um keine nachhaltige Wirkung, denn eine zweite Beprobung nach 5 weiteren Monaten im Frühjahr zeigte, dass sich die Verseuchung in diesen Varianten wieder dem ursprünglichen Ausgangswert annäherte. Auch in Unbehandelt hatte sich die Population mittlerweile verdreifacht und lag somit wieder auf dem Ausgangsniveau des Vorjahres. Diese Entwicklung konnte auch in der Basamid-Variante wenngleich auf niedrigem Niveau beobachtet werden, so dass sie im Vergleich zum Ausgangswert nach wie vor ein Wirkungsgrad von über 90 % aufwies.

6. Abschließende Bewertung

Ergebnisse Pflanzen-Monitoring

In der Literatur wird dem Erreger *Verticillium* ein sehr großer Wirtspflanzenkreis zugerechnet. So sollen auch über 100 Ziergehölzarten vom Welkeerreger befallen werden können (SINCLAIR et al. 1987, WERRES 1997, HIEMSTRA 1998). In Zusammenhang mit dem durchgeführten Monitoring erwies sich der Wirtspflanzenkreis zumindest in der Baumschulpraxis als sehr viel kleiner.

Die Ergebnisse machen deutlich, dass *Acer* als wichtigste Wirtspflanzengattung von *Verticillium* angesehen werden muss. 69 % aller positiven Proben entfielen auf *Acer*-Arten. Am häufigsten wurde hierbei ein Befall an *A. platanooides*, *A. pseudoplatanus* und *A. campestre* festgestellt. HARRIS (1998) konnte an *A. pseudoplatanus* nur nach künstlicher Inokulation einen Befall induzieren, so dass er die Art als feldresistent einstufte. Die Ergebnisse des Monitorings zeigen eine andere Realität. An fünf Standorten wurden *A. pseudoplatanus* mit Befallsymptomen beobachtet, aus denen jeweils *Verticillium* erfolgreich isoliert werden konnte.

Die Symptomausprägungen der untersuchten *Acer* äußerten sich in sehr typischen Welke- und Absterbeerscheinungen sowie den sektorenweise auftretenden, graugrünen Verfärbungen im Bereich des Splintholzes. Zwar konnte der Erreger aus zahlreichen befallsverdächtigen *Acer*-Proben nicht isoliert werden. Da aber die ausgelegten Gewebestücke einer Pflanze nur eine Stichprobe darstellen, welche unter Umständen keine vitalen Myzelstrukturen des Erregers mehr enthält, sind negative Untersuchungsergebnisse keine Seltenheit. Ohnehin gilt die Isolierung pilzlicher Schaderreger aus holzigem Material als äußerst schwierig. Ein negatives Isolierungsergebnis kann deshalb nicht zwingend mit Befallsfreiheit des untersuchten Gehölzes gleichgesetzt werden. Gleichwohl kann in solchen Fällen auch davon ausgegangen werden, dass tatsächlich kein *Verticillium*-Befall vorlag. So wiesen zahlreiche untersuchten Bäume von *Acer* längliche Stammrisse auf. Nach SCHNEIDEWIND (2004) können sie zwar als Folge eines *Verticillium*-Befalls angesehen werden, jedoch auch häufig in Zusammenhang mit einem abiotischen Schaden (Sonneneinstrahlung, Frost) stehen.

Verticillium-Befall konnte außer an *Acer* noch an 8 weiteren Ziergehölzgattungen festgestellt werden. Jedoch handelte es sich jeweils nur um Einzelfälle. Die Symptomausprägungen äußerten sich hierbei nicht immer in typischen Welke- und Absterbeerscheinungen, sondern in Blattvergilbungen und nachfolgendem Blattfall, wie z.B. bei *Fraxinus* und *Robinia*. Diese unspezifischen Schadbilder, einschließlich der in einem Bestand nur schwer wahrnehmbaren Wachstumshemmungen, die allerdings in den Infektionsversuchen sehr häufig beobachtet

wurden, machen einen *Verticillium*-Befall in der Praxis nicht immer eindeutig erkennbar. Unter Umständen verursacht der Erreger in der Produktion dieser oder anderer Gehölze deshalb größere Schäden als die Ergebnisse des Monitorings es erwarten lassen. Gleichzeitig sind bestimmte Wirtspflanzen, wie *Fraxinus*, *Catalpa* und *Robinia* aufgrund ihres anatomischen Baus in der Lage sich von einem Befall weitgehend zu erholen. Diese Fähigkeit ist bei *Acer*-Arten dagegen weniger stark ausgeprägt (HIEMSTRA 1998). Dies mag auch ein Grund dafür sein, warum *Verticillium*-Befall bei *Acer* im Vergleich zu anderen Gattungen häufiger wahrgenommen wird und wirtschaftlich bedeutender ist. Gleichwohl können - wie die Ergebnisse des Monitorings und der Infektionsversuche belegen - an einzelnen Standorten auch andere wichtige Baumarten befallen und mehr oder weniger geschädigt werden.

Strauchartige Ziergehölzarten, die in der Literatur in großer Zahl als Wirtspflanzen von *Verticillium* geführt werden (z.B. *Buxus*, *Cornus*, *Ligustrum*, *Lonicera*, *Ribes*, *Rosa*, *Syringa*, *Viburnum*), scheinen dagegen kaum gefährdet zu sein. Ein entsprechender Befall wurde während des Projektes in der Praxis nicht festgestellt. Die Ergebnisse des Vorversuches I bestätigen zum Teil diese Einschätzung. Inokulierte Versuchspflanzen von *Syringa vulgaris* und *Rosa sp.* zeigten leichte Symptome und erholten sich sehr schnell wieder vollständig. Während des Monitorings konnte auch in keinem einzigen Fall an einem Obstgehölz *Verticillium*-Befall ermittelt werden. Das Ergebnis des Infektionsversuches mit verschiedenen Obstgehölzarten steht im Einklang mit der geringen Bedeutung des Erregers in diesem Bereich. Zwar wurde nur ein Isolat eingesetzt, jedoch blieben alle inokulierten Versuchspflanzen der Gattungen *Ribes*, *Rubus* und *Prunus* über eine zweijährige Versuchsdauer symptomlos.

Charakterisierung der Isolate

Die während des Monitorings gewonnenen 34 *Verticillium*-Isolate wurden aufgrund der morphologischen Merkmale alle eindeutig der Art *Verticillium dahliae* zugeordnet. Sie wiesen die gleichen Charakteristika auf, wie sie ZEISE und TIEDEMANN (2001) für ihre untersuchten *Verticillium dahliae*-Isolate ermitteln konnten. Die von KARAPAPA et al. (1997) für *Verticillium longisporum* beschriebenen morphologischen Merkmale konnten dagegen bei keinem Isolat festgestellt werden. SMITH und NEELY (1979) bestimmten 51 *Verticillium*-Isolate aus 22 verschiedenen Baum- und Straucharten als *Verticillium dahliae*. In älterer angelsächsischer Literatur wird zwar *Verticillium albo-atrum* als weiterer Erreger an Ziergehölzen beschrieben, in den meisten Fällen ist aber von einer Verwechslung mit *V. dahliae* auszugehen (HIEMSTRA, 1998). Vor diesem Hintergrund kann davon ausgegangen werden, dass in der Praxis ausschließlich *Verticillium dahliae* als Erreger der *Verticillium*-Welke an Ziergehölzen auftritt.

Infektionsversuche

Die *V. dahliae*-Isolate wurden in den Jahren 2006 und 2007 in Gewächshaus- und Freilandversuchen hinsichtlich ihres Wirtspflanzenkreises näher untersucht. Hierzu wurde ihre Pathogenität bzw. Virulenz an den ausgewählten Arten *Acer platanoides*, *Acer pseudoplatanus*, *Catalpa bignonioides*, *Castanea sativa*, *Fraxinus excelsior* und *Tilia cordata* geprüft.

Alle Infektionsversuche waren dadurch geprägt, dass sich nach der Inokulation der Befall an den Versuchspflanzen einer Parzelle bzw. Variante mehr oder weniger ungleichmäßig entwickelte. Darüber hinaus schienen einzelne symptomlose Pflanzen nicht infiziert worden zu sein. Darauf weisen zu einem gewissen Grade auch die negativen Reisolierungsbefunde hin. Die ungleichmäßige Infektionsrate und Befallsentwicklung kann auf folgende Einflußfaktoren zurückgeführt werden:

- Bei allen Versuchspflanzen handelte es sich um einjährige Sämlinge, die eine gewisse genetische Variabilität aufwiesen, u. U. auch hinsichtlich ihrer Anfälligkeit gegenüber *Verticillium*. Dieser Faktor könnte die Befallsentwicklung beeinflusst und das Ergebnis überlagert haben.
- Neben der genetischen Disposition der Pflanze ist ihre Prädisposition, d.h. Krankheitsbereitschaft zum Zeitpunkt des Erregerangriffs, hinsichtlich des Infektions- und Befallsverlaufs von Bedeutung. Verletzungen im Wurzelbereich werden von *Verticillium* bevorzugt als Eintrittspforten genutzt. Auch in dieser Hinsicht mag das Versuchspflanzenmaterial inhomogen gewesen sein, was Infektionsrate und Befallsentwicklung beeinflusste.
- Als Inokulationsmethode wurde nach GOUD (2003) ein Wurzeltauchverfahren unter Verwendung einer wässrigen Konidiensuspension mit einer Dichte von 10^6 Sporen / ml gewählt. In Abhängigkeit der Gehölze blieb nach dem Tauchen eine unterschiedliche Menge an Flüssigkeit bzw. Inokulum an der Wurzeloberfläche haften. Gleichzeitig gelten Konidien aber als empfindliche Stadien, die nur eine geringe Lebensdauer aufweisen. In Zusammenhang mit der Inhomogenität des Versuchspflanzenmaterials ist die Zuverlässigkeit der Inokulationsmethode zumindest in Frage zu stellen. Sie ist im Rahmen zukünftiger Versuchsanstellungen zu überprüfen und mit alternativen Verfahren (Myzelsuspension) zu vergleichen.

Aus den umfangreichen Infektionsversuchen lassen sich trotz ungleichmäßiger Befallsentwicklung innerhalb der Varianten einige klare Aussagen ableiten. Alle geprüften Isolate von *Verticillium dahliae* erwiesen sich an den gewählten Ziergehölzarten als pathogen. Die Pflanzenbonituren konnten in der Mehrzahl der Fälle durch Reisolierungen abgesichert werden. In den einzelnen Versuchen wurden auf der Basis der ermittelten Befallsstärken bzw. Befallsintegrale mehr oder weniger große Virulenzunterschiede zwischen den Isolaten deutlich, die sich statistisch aber aufgrund der großen Streuung der Daten nur begrenzt absichern ließen. Es ist davon auszugehen, dass sich die Virulenzunterschiede nicht immer reproduzieren lassen. Darauf deutet z.B. ein Vergleich der Ergebnisse der in beiden *A. platanooides*-Versuchen eingesetzten Isolate 108/02 und 107/98 hin. In jedem Fall wären weitere Versuche erforderlich, um Virulenzunterschiede exakt nachweisen zu können. Letztendlich aber bestätigen die vorliegenden Ergebnisse ähnliche Versuche von GOUD (2003), der sechs verschiedene Isolate von *V. dahliae* an *Acer* und *Catalpa* prüfte. Auch er konnte keine deutlichen Virulenzunterschiede feststellen. Somit konnten weder in dieser Arbeit noch in anderen vergleichbaren Studien innerhalb der Ziergehölze wirtsspezifische Genotypen von *V. dahliae* nachgewiesen werden. Vielmehr zeichnen sich die in der Baumschulpraxis auftretenden Genotypen durch relativ einheitliche Pathogenitätseigenschaften aus. Es erscheint daher nicht notwendig, in einer Bodenuntersuchung verschiedene Genotypen differenziert nachweisen zu müssen, um das Befallsrisiko eines Standortes für eine bestimmte Wirtspflanze bewerten zu können.

In den Versuchen wurde darüber hinaus deutlich, dass Infektions- und Befallsverlauf von *Verticillium* bei bestimmten Ziergehölzarten von weiteren Einflussfaktoren abhängen. So schlugen die 2006 durchgeführten Freilandversuche mit *Fraxinus* und *Catalpa* weitgehend fehl. Dies mag auf ungünstige Umweltbedingungen (Temperatur, Bodenfeuchte) unmittelbar nach der Inokulation zurückzuführen sein. Die im Folgejahr durchgeführten Versuche mit *Catalpa*, einer großporigen Gehölzart, zeigen darüber hinaus, dass die Temperatur in Zusammenhang mit dem Entwicklungsstadium der Pflanze einen großen Einfluss auf den Krankheitsverlauf ausübt. Frühe Entwicklungsstadien wiesen unter hohen Temperaturen ein schnelles sekundäres Dickenwachstum auf. Hierbei wurden befallene Gefäße in kurzer Zeit durch neue befallsfreie Gefäße ersetzt, so dass sich die symptomzeigenden Pflanzen schnell erholten. Gleiche Beobachtungen konnte GOUD (2003) in seinen Infektionsversuchen mit *Catalpa* machen. Der Erholungsprozess schwächte sich ab und die Befallsentwicklung nahm signifikant zu, wenn ältere Entwicklungsstadien mit einem verlangsamten Dickenwachstum inokuliert wurden.

An allen geprüften Ziergehölzen erwiesen sich die beiden Isolate von *V. longisporum* als schwach virulent. In den Infektionsversuchen konnte zwar erstmalig nachgewiesen werden,

dass die *Verticillium*-Art bei einem hohen künstlichen Befallsdruck unterschiedliche Ziergehölze vereinzelt zu infizieren vermag und leichte Symptomausprägungen an ihnen hervorrufen kann, allerdings dürfte diese Erkenntnis von geringer Praxisrelevanz sein. Schließlich wurde *V. longisporum* im Rahmen des Monitorings in keinem einzigen Fall aus einer befallsverdächtigen Pflanzenprobe isoliert. Der Erreger scheint in der Praxis in seinem Auftreten auf kreuzblütige Wirtspflanzen beschränkt zu sein (KARAPAPA et al. 1997, ZEISE und TIEDEMANN 2001, NEUBAUER et al. 2005).

Bodenuntersuchungen

In der Mehrzahl der Fälle wurde parallel zum positiven Isolierungsbefund auch eine Verseuchung des Bodens mit *Verticillium* im Umfeld der befallenen Pflanze nachgewiesen. Zum Teil war die Belastung sehr hoch mit Werten zwischen 10,0 - 79,6 MS / g Boden. Meist konnte eine mittlere Verseuchung zwischen 1,0 - 5,0 MS / g Boden nachgewiesen werden. Wurde gleichzeitig die Gesamtfläche beprobt und untersucht, wies sie eine ähnliche Belastung auf. In diesen Fällen (z. B. Proben 2, 10, 16, 21, 25) kann davon ausgegangen werden, dass der Standort bereits vor der Pflanzung verseucht war und Quelle des Befalls gewesen ist. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass auch schon geringe Verseuchungsgrade Ausgangspunkt für Infektionen sein können. So ermittelte GOUD (2003) für *Acer platanoides* eine 5%-Schadensschwelle von 1,0 – 2,0 cfu (= MS) / g Boden.

Alternativ könnte in manchen Fällen der Standort zum Zeitpunkt der Pflanzung befallsfrei und das Pflanzmaterial bereits infiziert gewesen sein. Der latente Befall kommt dann noch im gleichen Jahr oder im Folgejahr zum Ausbruch. Nach HIEMSTRA (1998) wächst der Erreger im Endstadium der Pathogenese bis in die Blätter hinein, um dort neue Mikrosklerotien zu bilden. Über abfallende Blätter wird dann ein ursprünglich *Verticillium*-freier Boden im Umfeld des Baumes mit dem Erreger belastet. Insbesondere dort, wo sich der Boden mit Werten zwischen 0,0 – 1,0 MS / g Boden befallsfrei bzw. nahezu befallsfrei erwies, muss davon ausgegangen werden, dass die Jungbäume zum Zeitpunkt der Pflanzung latent infiziert waren. So handelte es sich z. B. im Fall der *Acer*-Proben 5A, 6B und 7G um zugekaufte Jungbäume aus den Niederlanden, die bereits im Pflanzjahr 2002 bzw. 2003 und dann im Folgejahr deutliche Symptome zeigten.

Ein negatives Isolierungsergebnis wurde in den meisten Fällen auch durch ein negatives Ergebnis der Bodenuntersuchung gestützt. In jenen Fällen, in denen der Erreger nicht isoliert werden konnte, aber in der dazugehörigen Bodenprobe *Verticillium* nachgewiesen wurde (z.

B. Proben 7A u. 7B, 25E), kann davon ausgegangen werden, dass die Isolierung lediglich fehlschlug.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse einen Zusammenhang zwischen Pflanzenbefall und Bodenverseuchung. Gleichzeitig machen sie deutlich, dass *Verticillium*-belastete Flächen in der Baumschulproduktion keine Seltenheit sind. Über Bodenuntersuchungen könnten solche Standorte erkannt und vom Anbau entsprechender Wirtspflanzen ausgeschlossen werden. Hinsichtlich der *Verticillium*-Belastung sollte in der Produktion, insbesondere bei *Acer*, eine Nulltoleranz gefordert werden. Damit würden wirtschaftliche Schäden vermieden und ein bedeutender Beitrag zur Qualitätssicherung in der Gehölzproduktion geleistet werden.

Bodenentseuchungsversuch

Wenn Baumschulflächen mit *Verticillium* verseucht sind, stellt sich aus Sicht der Praxis die Frage, ob die Flächen über Bodenentseuchungsmaßnahmen wieder saniert werden können. Da das chemische Bodenentseuchungsmittel Basamid Granulat nur noch eingeschränkt anwendbar ist, sollten mit der Anwendung von Kalkstickstoff und der Einarbeitung zweier Gründungsarten alternative Maßnahmen geprüft werden.

Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zunächst der natürliche Rückgang der *Verticillium*-Population in der unbehandelten Kontrolle im Laufe des Sommerhalbjahres auffallend sowie der Wiederanstieg bis zum folgenden Frühjahr auf das ursprüngliche Ausgangsniveau des Vorjahres. Über die Ursachen dieser Populationsschwankungen innerhalb eines Jahres, die sich auch in den behandelten Varianten abzeichnen, kann nur spekuliert werden. Sie sind unter Umständen auf unterschiedliche Einflussfaktoren, wie z.B. Bodentemperatur und -feuchte, zurückzuführen. Das extrem trockenheiße Sommerhalbjahr 2006 könnte eine Dezimierung der Population hervorgerufen haben, während der feuchtmilde Winter wieder die Vermehrung des Erregers förderte. Im vorliegenden Fall änderte sich die Bewertung der Flächeneignung trotz der Populationsschwankungen grundsätzlich nicht. Die Fläche blieb in unbehandelt immer stark verseucht und für die Baumschulproduktion nicht geeignet. Angesichts der wirtschaftlichen Schäden, die der Erreger insbesondere in der Alleebaumproduktion schon bei geringer Bodenverseuchung verursachen kann, ist hinsichtlich der Flächenbelastung mit *Verticillium* eine Nulltoleranz zu fordern. Schließlich garantiert nur die Nutzung befallsfreier Flächen die Erzeugung gesunder Bäume. Vor diesem Hintergrund kann die Wirkung der Basamid-Anwendung als zufriedenstellend eingestuft werden. Bei ordnungsgemäßer Ausbringung können Wirkungsgrade über 90 % erzielt werden. Ist ein Stand-

ort geringer belastet als im beschriebenen Versuch kann er durch Anwendung des chemischen Bodenentseuchungsmittels nahezu „*Verticillium*-frei“ gemacht werden.

Die Ausbringung von Kalkstickstoff sowie der Anbau von Sudangras und Senf müssen von ihrer Wirkung her als unzureichend angesehen werden. Zwar konnte in den Varianten im Herbst zunächst eine signifikante Reduktion der *Verticillium*-Population festgestellt werden, allerdings hatten Wirkungsgrade von ca. 50 - 70 % zur Folge, dass sich der verbleibende Rest bis zum Frühjahr wieder auf das Ausgangsniveau vermehrte. FRIED (2006) konnte in einem ähnlichen Versuch mit der Ausbringung von Kalkstickstoff einen Wirkungsgrad von 80 % gegenüber *Verticillium* erzielen. Verschiedene Versuchsansteller haben in der Vergangenheit mit der Einarbeitung von Brokkoli-Biomasse experimentiert und bei Folienabdeckung zum Teil ähnliche oder leicht höhere Wirkungsgrade erzielt. Die vollständige Eliminierung einer *Verticillium*-Population wurde in keinem Fall erreicht (KOIKE et al. 2000, SHETTY et al. 2000, BLOK et al. 2000, GOUD 2003).

Im vorliegenden Versuch muss berücksichtigt werden, dass mit Senf bei besserem Aufwuchs vermutlich eine höhere Wirkung erzielt worden wäre. Schließlich war die ausgewählte Versuchsfläche überdurchschnittlich stark verseucht. Auf Flächen mit geringerer Belastung von 1,0 - 5,0 MS / g Boden könnte eine Anwendung von Kalkstickstoff oder der Anbau von Gründüngungsarten zu akzeptableren Ergebnissen führen. Allerdings wurde aber bei beiden biologischen Varianten die Wirkung durch zusätzliche Folienabdeckung optimiert. In der Praxis wäre eine solche Maßnahme auf größeren Flächen aufgrund des Aufwandes kaum durchführbar. Schließlich darf ein weiterer Aspekt bei der Gesamtbewertung der beiden biologischen Verfahren nicht unerwähnt bleiben. Vielfach wird beobachtet, dass durch die Einarbeitung von Biomasse nicht nur ein direkter, reduzierender Effekt auf eine *Verticillium*-Population im Boden ausgeht, sondern darüber hinaus der Befall in einer nachfolgenden Kultur im Vergleich dazu überproportional verringert wird. DAVIS et al. (2000) konnten dies bei der Einarbeitung von Sudangras beobachten und vermuten, dass eine erhöhte mikrobiologische Aktivität von *Verticillium*-Antagonisten verantwortlich zu machen ist. Im vorliegenden Versuch kann dazu keine Aussage gemacht werden, da der Befall an einer nachfolgenden Kultur nicht erfasst wurde.

Zukünftigen Versuchsanstellungen bleibt es deshalb vorbehalten zu prüfen, ob durch den wiederholten Anbau von Sudangras bzw. Senf oder anderer Arten ggf. in Kombination mit Kalkstickstoffanwendungen in Abhängigkeit des Standortes und seiner Verseuchung ein ausreichender nachhaltiger Effekt erzielt werden kann. Der hier beschriebene Versuch zeigt

aber auch, dass der Praxis derzeit zumindest auf stärker belasteten Flächen keine gleichwertige Alternative zu Basamid Granulat zur Verfügung steht.

7. Zusammenfassung

1. Im Rahmen des Monitorings in Baumschulen wurde *Verticillium* am häufigsten aus *Acer*, insbesondere *A. platanoides*, isoliert. *Acer*-Arten müssen deshalb als wichtigste Wirtspflanze des Erregers angesehen werden. An einzelnen Standorten konnte auch ein Befall an weiteren Gattungen ermittelt werden, u.a. *Fraxinus*, *Tilia*, *Castanea*, *Cercidiphyllum* und *Robinia*.

2. Die in der Praxis und den Infektionsversuchen beobachteten Symptome eines *Verticillium*-Befalls setzten sich aus Wachstumshemmungen, Blattchlorosen u. -nekrosen sowie Welkeerscheinungen zusammen. Klassische Welkesymptome traten insbesondere an *Acer* in Erscheinung. In Abhängigkeit der Wirtspflanze und der Befallsentwicklung kann sich das Schadbild des Welkeerregers auch in unspezifischen Blattverfärbungen und Blattfall äußern.

3. Bei dem in der Baumschulpraxis auftretenden Erreger der *Verticillium*-Welke handelt es sich um einen relativ einheitlich Genotyp der Art *V. dahliae*. Alle Isolate konnten aufgrund morphologischer Merkmale dieser Art zugeordnet werden.

4. Alle Isolate erwiesen sich in Infektionsversuchen an den folgenden Wirtspflanzen pathogen: *Acer platanoides*, *Acer pseudoplatanus*, *Catalpa bignonioides*, *Castanea sativa*, *Fraxinus excelsior* und *Tilia cordata*. Es wurden in Abhängigkeit von der Wirtspflanze mehr oder weniger große Virulenzunterschiede beobachtet, die sich aufgrund der ungleichmäßigen Befallsentwicklung in den Varianten nur bedingt absichern ließen.

5. An den Befallsstandorten war der Boden im Umfeld der Pflanze mit *Verticillium* mehr oder weniger stark belastet. Zum Teil war die Verseuchung sehr hoch mit Werten zwischen 10,0 - 79,0 MS / g Boden. Meist konnte eine mittlere Verseuchung zwischen 1,0 - 5,0 MS / g Boden nachgewiesen werden. In diesen Fällen kann davon ausgegangen werden, dass der verseuchte Boden Quelle des Befalls war.

6. Die Ergebnisse deuten auf einen Zusammenhang zwischen Bodenverseuchung und Pflanzenbefall hin. Über Bodenuntersuchungen kann der Verseuchungsgrad eines Standortes vor der Nutzung bestimmt werden. Eine Unterscheidung verschiedener wirtsspezifischer *Verticillium*-Genotypen, um das Befallsrisiko einer Fläche für eine bestimmte Wirtspflanzenart bewerten zu können, erscheint nicht erforderlich, da solche Genotypen nicht nachgewiesen worden sind.

7. Im Rahmen des Projektes konnten erfolgreich die Grundlagen für eine Einführung von *Verticillium*-Bodenuntersuchungen in die Baumschulpraxis erarbeitet werden. Durch ihre regelmäßige Anwendung lassen sich zukünftig wirtschaftliche Schäden vermeiden. Gleichzeitig wird die Qualität der erzeugten Ziergehölze gesteigert.

8. Über eine Anwendung von Basamid-Granulat lässt sich ein mit *Verticillium* verseuchter Boden weitgehend sanieren. Bei entsprechender Anwendung sind Wirkungsgrade von über 90 % zu erwarten. Die einmalige Ausbringung von Kalkstickstoff oder der Anbau von Sudan-gras bzw. Senf üben nur einen kurzfristigen Effekt auf eine *Verticillium*-Population aus. Für die Praxis stellen diese Verfahren, zumindest auf stärker verseuchten Flächen, derzeit noch keine Alternative zur chemischen Bodenentseuchung dar.

8. Literatur

Anonym, 2004: [http:// www.kalkstickstoff.de](http://www.kalkstickstoff.de)

Blok W.J., Lamers J.G., Termorshuizen A.J., 2000: Control of soilborne plant pathogens by incorporation fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90, 253 - 259.

Davis, J.R., Huisman, O.C., Westermann, D.T., Everson, D.O., Sorensen, L.H. und Schneider, A. T., 2000 : Alternative approaches for control of *Verticillium* wilt of potato with sudan-grass. in: Tjamos, E. C. et al. (eds.), *Advances in Verticillium: Research and Disease Management*, APS Press, St. Paul, 100 -102.

Duniway, J. M., 2002: Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-planting of soil. *Phytopathology* 76, 730 - 736.

Faby, R., 2004: mündliche Mitteilung

Fried, A., 2006: mündliche Mitteilung

Goud, J. C., 2003: *Verticillium* wilt in trees. Detection, prediction and disease management. PhD Thesis Wageningen Universiteit, Wageningen, The Netherlands.

Harris, D. C.; Yang, J.; Ridout, M. S., 1993: The detection and estimation of *Verticillium dahliae* in naturally infested soil. *Plant Pathology* 42, 238-250.

Harris, D. C., 1998: An introduction to *verticillium* wilts. in: Hiemstra, J. A. und Harris, D.C. (eds.), *A compendium of verticillium wilts in tree species*. CPRO-DLO/HRI-East Malling, Wageningen, The Netherlands/West Malling, UK.

Heppner, C., 1995: Nachweis von *Verticillium dahliae* im Boden mittels Plattengußverfahren und ELISA. Dissertation der Georg-August-Universität zu Göttingen, Fachbereich Agrarwissenschaften.

Hiemstra, J. A., 1998: Some general features of *Verticillium* wilts in trees. in: Hiemstra, J. A. und Harris, D.C. (eds.), *A compendium of verticillium wilts in tree species*. CPRO-DLO/HRI-East Malling, Wageningen, The Netherlands/West Malling, UK.

Hiemstra, J. A. und Rataj-Guranowska, M., 2000: Vegetative compatibility groups in *Verticillium dahliae* in the Netherlands. in: Tjamos, E. C. et al. (eds.), *Advances in Verticillium: Research and Disease Management*, APS Press, St. Paul, 100 -102.

Karapapa V. K., Bainbridge, B. W., Heale J. B. (1997) Morphological and molecular characterization of *Verticillium longisporum* comb. nov., pathogenic to oilseed rape. *Mycological Research*, 101 (11) 1281 - 1294

Koike, S. T., Xiao, C.-L., Hubbard, J.C., Schulbach, K.F. und Subarrao, K.V., 2000 : Effects of Broccoli residue on the cauliflower-*Verticillium dahliae* Host-Pathosystem. in: Tjamos, E. C. et al. (eds.), *Advances in Verticillium: Research and Disease Management*, APS Press, St. Paul, 100 -102.

Lazarovits, G., Conn, K. und Tenuta, M., 2000: Control of *Verticillium dahliae* with soil amendments: Efficacy and Mode of action – Review. in: Tjamos, E. C. et al. (eds.), *Advances in Verticillium: Research and Disease Management*, APS Press, St. Paul, 100 -102.

Neubauer, C., 1999: *Verticillium* an Erdbeeren – Bodenuntersuchungen als möglicher Ausweg ? *Obstbau*, 5, 279 - 281.

Neubauer, C., 1999: Quantitativer Nachweis von *Verticillium dahliae* im Boden von Erdbeerflächen. *BDGL-Schriftenreihe: 36. Wissenschaftliche Arbeitstagung*, Band 17, 38.

Neubauer, C., 2000: Bodenuntersuchungen auf *Verticillium* - Grundlage für die Flächenauswahl im Erdbeeranbau. *Obstbau*, 4, 196 -198.

Neubauer, C., 2000: Quantitativer Nachweis von *Verticillium dahliae* im Boden als Grundlage für die gezielte Flächenauswahl im Erdbeeranbau. Aus: *Mitteilungen der BBA: 52. Deutsche Pflanzenschutztagung*, Heft 376, 279.

Neubauer, C., 2001: Gefahr durch *Verticillium* in der Baumschule, *Deutsche Baumschule*, 9, 37 - 40.

Neubauer, C., Heitmann, B. und J. Schlaghecken, 2005: Zum Auftreten von *Verticillium longisporum* an Blumenkohl. *BHGL-Schriftenreihe: 42. Gartenbauwissenschaftliche Arbeitstagung*, Band 23, 73.

Schneidewind, A., 2004: Untersuchungen zur Standorteignung von *Acer pseudoplatanus* L. als Straßenbaum in Mitteldeutschland unter besondere Berücksichtigung abiotischer und biotischer Stressfaktoren. Dissertation Humboldt-Universität Berlin.

Shetty, K.G., Subbaro, K.V., Huisman, O.C. und J.C. Hubbard, 2000: Mechanism of Broccoli-Mediated *Verticillium* Wilt Reduction in Cauliflower. *Phytopathology*, Vol. 90, No.3, 305 - 310.

Sinclair, W. A., Lyon H. H., Johnson W. T., 1987: Diseases of trees and shrubs. Cornell University Press, Ithaca and London, 1. Auflage. S. 374 - 376 ff.

Smith, L. D. und Neely, D., 1979: Relative Susceptibility of Tree Species to *Verticillium dahliae*. *Plant Disease Reporter* 63, No.4, 328 - 332.

Termorshuizen, A. J. et al., 1998 : Interlaboratory comparison of methods to quantify microsclerotia of *Verticillium dahliae* in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 3846-3853.

Werres, S., 1997: *Verticillium*-Erkrankungen an Gehölzen, Jahrbuch der Baumpflege, 98 – 107.

Zeise, K., Tiedemann von, A., 2001: Morphological and Physiological Differentiation among Vegetative Compatibility Groups of *Verticillium dahliae* in Relation to *V. longisporum*. *Journal Phytopathology*, 149, 469 - 475.

Der Arbeitsgruppe Innovative Projekte beim Ministerium für Wissenschaft und Kultur des Landes Niedersachsen sei an dieser Stelle für die großzügige finanzielle Förderung des Projektes gedankt.