

Katja Ehlert

Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

Epidemiologische
Untersuchungen zum
Apfelschorf (*Venturia inaequalis*)
und die biologische Validierung
einer neuen Regensensorik
zur Prognose



Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut

Kontakt/Contact:
Katja Ehlert
Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau
Schwabenheimer Straße 101
69221 Dossenheim

Die Schriftenreihe „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ veröffentlicht Doktorarbeiten, die in enger Zusammenarbeit mit Universitäten die an Instituten des Julius Kühn-Instituts entstanden sind.

The publication series „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ publishes doctoral dissertations originating from research doctorates and completed at the Julius Kühn-Institut (JKI) either in close collaboration with universities or as an outstanding independent work in the JKI research fields.

Der Vertrieb dieser Monographien erfolgt über den Buchhandel (Nachweis im Verzeichnis lieferbarer Bücher - VLB) und OPEN ACCESS im Internetangebot www.julius-kuehn.de Bereich Veröffentlichungen.

The monographs are distributed through the book trade (listed in German Books in Print - VLB) and OPEN ACCESS through the JKI website www.julius-kuehn.de (see Publications).

Wir unterstützen den offenen Zugang zu wissenschaftlichem Wissen.
Die Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut erscheinen daher OPEN ACCESS.
Alle Ausgaben stehen kostenfrei im Internet zur Verfügung:
<http://www.julius-kuehn.de> Bereich Veröffentlichungen.

We advocate open access to scientific knowledge. Dissertations from the Julius Kühn-Institut are therefore published open access. All issues are available free of charge under <http://www.julius-kuehn.de> (see Publications).

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation
In der Deutschen Nationalbibliografie: detaillierte bibliografische
Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek (German National Library)

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.dnb.de>.

ISBN 978-3-95547-042-5
DOI 10.5073/dissjki.2017.001

Herausgeber / Editor

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland
Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Quedlinburg, Germany



Dieses Werk ist lizenziert unter einer [Creative Commons – Namensnennung – Weitergabe unter gleichen Bedingungen – 4.0 Lizenz](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

This work is licensed under a [Creative Commons – Attribution – ShareAlike – 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

**Epidemiologische Untersuchungen zum Apfelschorf (*Venturia inaequalis*)
und die biologische Validierung einer neuen Regensensorik zur Prognose**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich 15
der Johann Wolfgang Goethe -Universität
in Frankfurt am Main

von
Katja Ehlert
aus Heidelberg

Frankfurt 2016
(D 30)

vom Fachbereich 15 der

Johann Wolfgang Goethe - Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Meike Piepenbring

Gutachter: 1. Univ.-Prof. Dr. Meike Piepenbring

2. apl. Prof. Dr. Michael Fischer (Universität Regensburg)

Datum der Disputation: 02.12.2016

Teile der in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse wurden bereits veröffentlicht und auf Fachkongressen präsentiert.

Eigene Publikationen und Vorträge

Ehlert, K. (2016): „Comparison of wetness-sensors for apple scab prognosis“. Gastvortrag, *Sher-E-Kashmir University of Agricultural Sciences and Technology of Kashmir*, Indien.

Ehlert, K. (2015): „Vergleich von Nässe Sensoren zur Schorfprognose“. Vortrag. 24. Arbeitstagung der Fachreferenten für Pflanzenschutz im Obstbau. Bad Kreuznach.

Ehlert, K. & Kollar, A. (2014): Nässe Sensoren im Vergleich – Eignung für die Schorfprognose? *Julius-Kühn-Archiv* 447, 334-335.

Ehlert, K. (2014): „Entwicklung eines Regensensors für kinetische Energie und Wasser-benetzung zur Verbesserung der Schorfprognose im Apfelanbau“. Gastvortrag, Technische Universität München, Fachgebiet Obstbau.

Ehlert, K. (2013): „Neue Nässe Sensorik für die Schorfprognose - Entwicklung eines Regensensors für kinetische Energie und Wasserbenetzung zur Verbesserung der Schorfprognose im Apfelanbau“. Vortrag im Rahmen des Fachgesprächs „Krankheitsprognose Obstbau“. 12.12.2013. Julius-Kühn-Institut Dossenheim.

Ehlert, K. (2013): „Neue Entwicklungen zur Nässe Sensorik“. Vortrag. 23. Arbeitstagung der Fachreferenten für Pflanzenschutz im Obstbau. Bad Kreuznach.

Ehlert, K. & Kollar, A. (2013): „Gezielter Pflanzenschutz durch Nässe Sensoren“. *B & B Agrar* 2/2013.

Ehlert, K. (2012): Entwicklung eines Regensensors für kinetische Energie und Wasserbenetzung zur Verbesserung der Schorfprognose im Apfelanbau. *Innovationstage*, 170-173.

- Ehlert, K. (2012): „Innovative Regen- und Nässeensorik für die Schorfprognose - Entwicklung eines Regensors für kinetische Energie und Wasserbenetzung“. Vortrag. Innovationstage BLE 2012. Bonn.
- Ehlert, K. & Kollar, A. (2012): Innovative Regen- und Nässeensorik für die Schorfprognose. Julius-Kühn-Archiv 438, 270.
- Ehlert, K. (2012): „Neue Nässeensorik für die Schorfprognose“. Gastvortrag, Technische Universität München, Fachgebiet Obstbau.
- Ehlert, K. & Kollar, A., Beinhorn, J., Himmelmann, L. (2012): Poster und praktische Präsentation. „Innovationskongress Agrar 2012“. Berlin.
- Ehlert, K. , Kollar, A., Beinhorn, J. & Himmelmann, L. (2012): „Gezielter Pflanzenschutz durch Sensoren - Innovative Nässeensoren für die Krankheitsvorhersage bei Pflanzen“. Forschungsreport-Ernährung-Landwirtschaft-Verbraucherschutz 2/2012, 16-19.
- Ehlert, K. (2011): „Neue Nässeensorik für die Schorfprognose - Entwicklung eines Regensors für kinetische Energie und Wasserbenetzung zur Verbesserung der Schorfprognose im Apfelanbau“. Vortrag im Rahmen des Fachgesprächs „Krankheitsprognose Obstbau“. 23./24.11.2011. Julius-Kühn-Institut Dossenheim.

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS.....	1
ZUSAMMENFASSUNG.....	4
ABKÜRZUNGEN	5
1. EINLEITUNG.....	6
1.1 Vorkommen und Entwicklung von <i>Venturia inaequalis</i>	6
1.2 Ascosporenauskleuderung bei <i>Venturia inaequalis</i>	8
1.3 Einfluss der Umweltparameter auf die Sporenausschleuderung.....	10
1.3.1 Regen und Taunässe	10
1.3.2 Temperatur.....	11
1.3.3 Licht	12
1.3.3.1 Physikalische Grundlagen	13
1.3.3.2 Genetische Grundlagen zur Wahrnehmung von Licht	15
1.4 Prognose und Sensorik	16
1.4.1 Grundlagen der Apfelschorfprognose	16
1.4.2 Warnstationen und Sensorik für die Apfelschorfprognose	17
1.5 Ziele der vorliegenden Arbeit.....	18
2. MATERIAL & METHODEN	21
2.1 Wetterstation.....	21
2.2 Blattnässe-Sensoren	23
2.2.1 Vergleich käuflicher Blattnässe-Sensoren.....	23
2.2.2 Technische Entwicklung und biologische Validierung neuer kapazitiver Blattnässe-Sensoren.....	26
2.3 Sporenfallen und Ascosporenflug.....	31
2.4 Blattproben	33
2.4.1 Überwinterung, Exposition und Langzeitaufbewahrung der Blätter.....	33
2.4.2 Bestimmung der Ascosporentiter.....	33

2.5 Freiland-Bioassay für den Nachweis von Schorfinfektionen	34
2.6 Einfluss des Lichts auf die Ascosporenausschleuderung.....	35
2.6.1 Freiland-Versuche	35
2.6.2 Belichtungsversuche mit der Wasserbadmethode.....	38
2.6.2.1 Verwendete Strahlungsquellen	39
2.6.2.2 Einfluss von Infrarotstrahlung und Wärme	42
2.7 Einfluss des sichtbaren Lichts auf das Myzelwachstum.....	43
2.7.1 <i>Venturia inaequalis</i> - Isolat V1	43
2.7.2 Herstellung eines Einsporisolats von <i>Venturia inaequalis</i>	43
2.7.3 PDA- und Flüssigkulturen	44
2.7.4 Gewinnung der Kulturfiltrate und Myzelien	44
2.7.5 Ermittlung des Glucoseverbrauchs mittels HPLC-Analyse	45
2.7.6 Bestimmung der Proteinkonzentration nach Bradford	46
2.7.7 Ammoniumsulfatfällung der Kulturfiltrate.....	47
2.7.8 Halb-quantitativer Nachweis von Pektinasen	47
2.7.9 Isoelektrische Fokussierung (IEF) von Kulturfiltratproteinen	48
2.7.10 Zymogramme	49
2.7.11 Coomassiefärbung der Proteine.....	49
2.8 <i>In silico</i> Sequenzabgleich von Photorezeptoren verschiedener Pilze mit <i>V. inaequalis</i> ..	50
3. ERGEBNISSE	51
3.1 Vergleich käuflicher Blattnässesensoren	51
3.1.1 Alterungserscheinungen der Sensoren.....	51
3.1.2 Vergleich der angezeigten Blattnässedauer über den gesamten Messzeitraum.....	52
3.1.3 Vergleich der DECAGON-Sensoren bei unterschiedlichem Neigungswinkel	54
3.1.4 Vergleich der angezeigten Blattnässedauern für die Prognose in der Primärsaison 54	
3.2 Technische Entwicklung und biologische Validierung eines neuen kapazitiven Blattnässesensors.....	59
3.3 Einfluss der Umweltparameter auf die Ascosporenausschleuderung im Freiland	63
3.3.1 Regen.....	63

3.3.2 Lufttemperatur.....	66
3.3.3 Licht	68
3.4 Einfluss der Umweltparameter auf die Ascosporenausschleuderung im Labor.....	76
3.4.1 Licht	76
3.4.2 Infrarotstrahlung und Wärme	79
3.5 Einfluss des sichtbaren Lichts auf das Myzelwachstum von <i>Venturia inaequalis</i>	81
3.5.1 Myzelwachstum	82
3.5.2 Analysen der Kulturfiltratproteine.....	83
3.5.2.1 Pektinaseaktivität	83
3.5.2.2 Zymogramm	84
3.5.3 HPLC – Zuckeranalyse	84
3.6 Rezeptoren für die Wahrnehmung von Licht und Wärme bei <i>Venturia inaequalis</i>	86
3.6.1 Lichtrezeptoren	86
3.6.2 Rezeptoren für Infrarotstrahlung und Temperaturanstieg.....	88
4. DISKUSSION	89
4.1 Blattnässe-Sensoren	89
4.2 Einfluss von Lufttemperatur und kinetischer Regenenergie auf die Sporenausschleuderung im Freiland	94
4.3. Einfluss des sichtbaren und nicht sichtbaren Lichts	97
LITERATURVERZEICHNIS	111
ANHANG	122
A. Ascosporenflüge 2012-2015	122
B. Ascosporenpotential in der Primärsaison 2012-2015	126
C. Regenereignisse in der Primärsaison 2012-2015	128
D. Technische Daten der Infrarot-Dioden	130
DANKSAGUNG	131

Zusammenfassung

Ein Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und biologische Evaluierung einer Sensorik zur Verbesserung der Prognose des Apfelschorfs. Als Grundlage für die Schorfprognose dient nach dem Modell von Mills die Länge der Blattnässedauer in Abhängigkeit von der Lufttemperatur. Es wurden mehrjährige Vergleiche verschiedener käuflicher Blattnässesensoren durchgeführt und in Zusammenarbeit mit der Firma THIES Clima ein Sensor für Wasserbenetzung entwickelt. Der Vergleich der käuflichen Sensoren zeigte deutliche Unterschiede in der Anzeige der Nässedauer zwischen den verschiedenen getesteten Sensoren. Die Eignung dieser Sensoren für die Prognose war sehr verschieden. Der im Rahmen des Verbundprojektes entwickelte Sensor ist zuverlässig, wetterfest, korrosionsbeständig und wartungsarm. Die einzelnen Prototypen wurden nach der Evaluierung in der Klimakammer im Freiland getestet und die Einstellungen anhand von Bioassays auf ihre Eignung zur Prognose überprüft. Der marktreife Prototyp kann ohne weitere Modellierung zur Erfassung der Blattnässe von Apfelblättern in die Prognose eingebunden werden.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Zusammenhänge der diurnalen Rhythmik der Sporenausschleuderung von *Venturia inaequalis* zu untersuchen. Im Freiland wurden die Ascosporenflüge unter natürlichen Bedingungen und mit Störlicht registriert. Im Labor wurde der Sporenausstoß unter dem Einfluss der Beleuchtungsstärke und Wellenlängen-Zusammensetzung untersucht. Sowohl im Freiland als auch im Labor konnte eine Aufhebung der Dunkelhemmung des Sporenausstoßes erreicht werden. Der sichtbare Anteil des Lichts konnte auch bei Helligkeiten von über 10000 Lux als Auslöser des Sporenausstoßes ausgeschlossen werden. Durch die Bestrahlung der Pseudothecien tragenden Blätter mit nicht sichtbaren infraroten Lichtanteilen wurde eine Freisetzung der Ascosporen auch im Dunkeln erreicht und die diurnale Rhythmik der Sporenausschleuderung im Freiland wurde aufgelöst.

Abkürzungen

BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i> – Rinderserumalbumin
DD	Dauer-Dunkel
ESL	Energiesparleuchte
FAD	Flavinadenindinukleotid, Light Sensing Chromophore, hochkonserviert
GATA	Sequenz-Abschnitt im Protein zur DNA-Bindung
GP	Gesamtsporenpotential
HATPase	ATP abhängige Protonen-Pumpe
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
IEF	Isoelektrische Fokussierung
IR	Infrarot
LD	Licht-Dunkel-Wechsel
LL	Dauer-Licht
LNM	Laser-Niederschlags-Distrometer
NIR	Nahes Infrarot (780 – 3000 nm)
PAS	P er (Period circadian protein) - A rnt (Arylhydrocarbonreceptor nuclear transport protein) – S im (Single-minded protein)
PDA	Potato-Dextrose-Agar
RF	Relative Luftfeuchte [%]

1. Einleitung

1.1 Vorkommen und Entwicklung von *Venturia inaequalis*

Venturia inaequalis (Cke.) Wint., der Erreger des Apfelschorfs, gehört zum Reich der Pilze (Fungi) und innerhalb des Reichs zur Abteilung der Ascomycota (Schlauchpilze). Er wird der Klasse der Dothideomyceten, der Ordnung Pleosporales und der Familie der Venturiaceae zugeordnet. Die asexuelle (anamorphe) Form des Apfelschorfpilzes wird als *Spilocaea pomi* Fr. bezeichnet. Der wirtschaftlich bedeutendste Wirt von *V. inaequalis* ist der domestizierte Apfel *Malus domestica* Borkh. *V. inaequalis* hat als Erreger des Apfelschorfs weltweite Bedeutung, sein Auftreten wird jedoch vor allem in den gemäßigten Breiten durch kühles und feuchtes Wetter im Frühjahr gefördert (MacHardy 1996). In niederschlagsreichen Jahren droht bei unzureichender Bekämpfung ein totaler Ernteverlust (Kollar 1997). Im Pflanzenschutzprogramm im Apfelanbau machen die fungiziden Maßnahmen gegen den Apfelschorf mit Abstand den größten Anteil aus (Roßberg 2009, Roßberg 2015). Bis zur Ernte sind im konventionellen Anbau etwa 20 Spritzungen erforderlich, entsprechend den Gegebenheiten auch darüber hinaus (Kollar 1997, Roßberg 2015). Ein starker Befall verursacht einen vorzeitigen Blattverlust, durch den die Entwicklung der Bäume stark gehemmt und der nächstjährige Blütenansatz erheblich vermindert wird (Agrios 1988). Die jungen Früchte werden häufig abgeworfen (Rudloff & Schmidt 1935). Ein Befall mit dem pilzlichen Erreger zeigt sich vor allem an Blättern, einschließlich Kron- und Kelchblättern, und Früchten (Paul 1981). Die ersten sichtbaren Symptome sind kleine, meist hellolivgrüne Flecken auf den Blättern (Bailey 1894). Die befallenen Stellen haben eine samtige Oberfläche und färben sich später braunschwarz (Paul 1981). An den Früchten sind die ersten sichtbaren Läsionen kleine dunkelolivgrüne bis schwarze Flecken, die langsam wachsen, im Laufe ihres Wachstums von innen heraus verkorken

und rissige, häufig deformierte Früchte verursachen (Wallace 1913, Paul 1981). Die oberflächliche, rissige Verkorkung wird als Schorf angesprochen.

Im Lebenszyklus des Schorfpilzes sind zwei Phasen zu unterscheiden: Die saprotrophe, sexuelle Phase im abgefallenen Laub und die biotrophe, parasitische Phase am lebenden Wirt (Vukovits 1980). Aderhold (1896) war der Erste, der den Zusammenhang zwischen der asexuellen und der sexuellen Form nachwies. In seiner teleomorphen Form überwintert der Pilz in den Blättern des Falllaubs (MacHardy 1996). Die Hyphen dringen in das Gewebe des toten Blattes ein und bilden im Mesophyll die Fruchtkörper in Form von Pseudothecien (s. Abb. 1) (Wilson 1928), die nach dem Blattfall bereits im November angelegt werden können (Wiesmann 1932). Die Reifung der Pseudothecien mit der Bildung der Ascosporen erfolgt im Frühjahr des Folgejahres und findet im Zusammenhang mit Wetterbedingungen statt, die auch das Wachstum und die Entwicklung des Wirtes bewirken (Agrios 1988). In den meisten Fällen beginnt mit dem Knospenaufbruch der Apfelbäume im Frühjahr die Bereitschaft zum Ausschleudern der Ascosporen (Rudloff & Schmidt 1935). Die meisten Sporen werden zwischen Blütenöffnung und Abblühen der Apfelbaumblüten ausgestoßen (Frey & Keitt 1925, Miller & Waggoner 1958, Brook 1976, Gadoury & MacHardy 1982a). Die Primärsaison mit Ascosporenausschleuderungen dauert in Deutschland etwa von Mitte März bis Mitte Juni (Kollar 1998a). Die Sporen werden durch Wind auf die Blätter, Blüten und Früchte der Apfelbäume getragen, auf denen sie auskeimen und zu Primärfektionen führen (Wallace 1913, Frey & Keitt 1925). Während dieser Phase leben die Pilzzellen zwischen Cuticula und Epidermis der von ihnen befallenen Organe (Aderhold 1896, Wiesmann 1932, Rudloff & Schmidt 1935). Als zellwandabbauende Enzyme haben Pektinasen eine wichtige Bedeutung in der Pathogenese (Kollar 1998b), denn sie gehören zu den ersten Enzymen, die während einer Infektion gebildet werden. Durch das Wachstum der Hyphen zwischen Cuticula und epidermalen Zellen entwickelt sich nach einigen Tagen ein primäres Stroma. Das subcuticuläre Myzel

breitet sich auf den Epidermiszellen aus und es werden Konidiophoren (Annelophore) gebildet, die durch Risse in der Cuticula über die Blattoberfläche hinausragen (MacHardy 1996). An den Konidiophoren werden durch asexuelle Vermehrung Konidien abgeschnürt, die durch Wind und Regen auf benachbarte Blätter und junge Früchte übertragen werden können (Paul 1981). Die Bedeutung der Konidien liegt in der Massenvermehrung und der Ausbreitung des Pilzes. Sekundärinfektionen durch Konidien können während der gesamten Vegetationsperiode stattfinden (Vukovits 1980). Nach dem Blattfall endet die biotrophe Phase mit dem Eindringen des Myzels in das Blattgewebe.

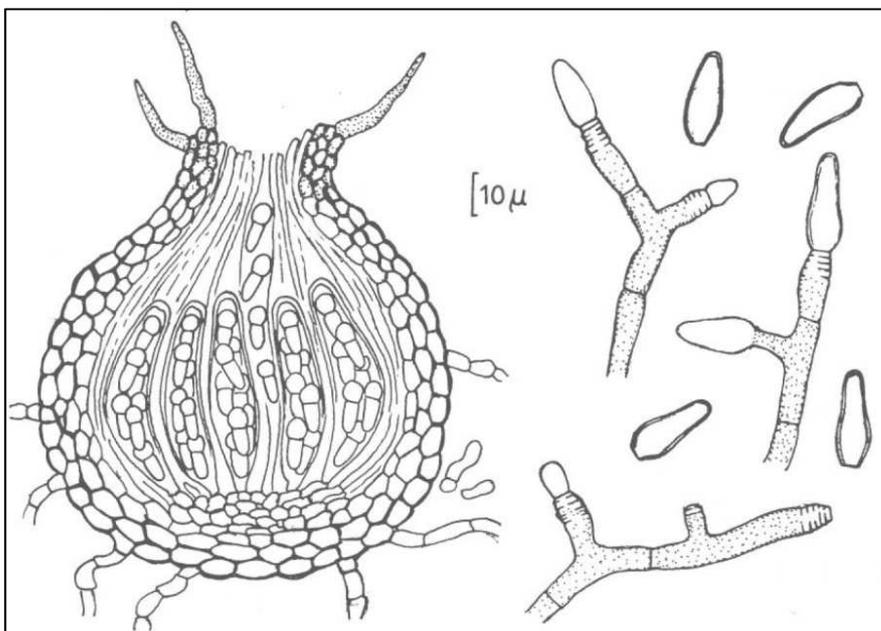


Abb. 1: Pseudothecium von *Venturia inaequalis* (links) und das *Spilocaea pomi*-Stadium mit Konidiophoren mit Konidien (rechts). Original: von Arx 1970.

1.2 Ascosporenauschleuderung bei *Venturia inaequalis*

Die Pseudothecien von *V. inaequalis* entstehen zerstreut oder in Gruppen im Falllaub. Sie sind kugel- bis flaschenförmig mit einer deutlichen Öffnung, dem Ostiolum. Das Ostiolum ist von einem Kranz dunkler Borsten, den Setae, umgeben (Wallace 1913).

Die reifen Pseudothecien des Apfelschorrpilzes besitzen einen Durchmesser von 90-160 μm (Wallace 1913, Wiesmann 1932, Vukovits 1980). Die Wand der Fruchtkörper ist 10-18 μm dick und besteht aus drei bis vier dunkelbraunen Schichten pseudoparenchymatischer Zellen (Gupta 1992). Innerhalb jedes Pseudotheciums entstehen 100 bis 140 Asci (Gardoury & MacHardy 1986) durch Hakenbildung an dikaryotischen Hyphen. Nach der Karyogamie streckt sich der Ascus und es erfolgt eine meiotische Kernteilung. Die vier entstandenen haploiden Kerne teilen sich zweimal mitotisch und es entstehen in jedem Ascus acht zweizellige Sporen (MacHardy 1996). Die Ascosporen von *V. inaequalis* sind lichtolivgrün, ungleich zweizellig und an der Querwand ein wenig eingeschnürt. Sie sind 11-15 μm lang und 4-8 μm breit (Aderhold 1896). Die Asci werden über die Zeitspanne der Primärsaison nacheinander gebildet. Sie sind schlauchförmig, etwa 40-70 μm lang (Aderhold 1896) und von hyalinen Paraphysoiden umgeben (Gupta 1992). Die Asci des Apfelschorreregers sind bitunicat, ihre Wände bestehen aus zwei voneinander trennbaren Wandschichten, der dickwandigen Exotunica und der durch Mikrofibrillen dehnbaren Endotunica. Steigt im Ascus durch Osmose der innere Druck, so bricht die Exotunica knapp unterhalb der Spitze auf und die Endotunica streckt sich (Müller & Löffler 1982) etwa 40 μm über die Ostiole heraus (Brook 1969a). Nun beginnt der Vorgang der aktiven Sporenausschleuderung. Der Innendruck steigt und wirkt auch auf die Ascosporen, welche durch einen elastischen Porus im Scheitel hindurch nach außen befördert werden. Die Sporen werden in der Regel kurz hintereinander herausgeschleudert, so dass die Asci oft innerhalb einer halben Minute oder in noch kürzerer Zeit entleert sind (Wiesmann 1932). Zur gleichen Zeit strecken sich oft mehrere Asci durch die Ostiole nach außen, schleudern die Sporen jedoch nacheinander aus (Brook 1969a). Nach Aylor & Anagnostakis (1991) legen die Sporen durch das Ausschleudern Distanzen von bis zu 13,2 mm zurück, Wiesmann (1932) beobachtete sogar Distanzen über 50 mm, wobei sich die Reichweite der ausgeschleuderten Sporen durch die Anwesenheit

eines dickeren Wasserfilms verringert (MacHardy 1996). Die Anwesenheit von Wasser ist für den Vorgang der Sporenausschleuderung essentiell, um den nötigen osmotischen Druck in den Asci aufzubauen (Aylor & Anagnostakis 1991).

1.3 Einfluss der Umweltparameter auf die Sporenausschleuderung

1.3.1 Regen und Taunässe

In der Natur wird das Falllaub durch Tau oder Regen benetzt. Durch Tau werden keine oder nur wenige Ascosporen ausgeschleudert, wohingegen durch Regen der Großteil der Sporen freigesetzt wird (Frey & Keitt 1925, Moore 1958, Miller & Waggoner 1958, Hirst & Stedman 1962a, Brook 1966, Brook 1969a, MacHardy & Gardoury 1986, Kohl 1993, Gardoury et al 1994, Kollar 1996-2000, Rossi et al. 2001). Die einzige Ausnahme bilden die Beobachtungen von Stensvand et al. (1998) aus Norwegen, die bis zu 26 % der ausgeschleuderten Ascosporen während starker Tauperioden feststellen konnten, bei denen der Tau von den Pflanzen wie Regen auf das Falllaub tropfte. In Laborexperimenten konnte der Sporenausstoß durch Tauchen der Blattproben, künstlichen Nebel oder Tropfbenetzung ausgelöst werden, jedoch nicht durch Blattnässe allein (Alt 2003). Die Regenmenge, die zur Stimulation der Ascosporenausschleuderung notwendig ist, kann unterschiedlich sein. Hirst & Stedman (1962a) konnten in Laborversuchen bei einem simulierten Regen mit einer Menge von 0,13 mm ausgeschleuderte Sporen registrieren. Sie stellten jedoch wesentlich mehr ausgeschleuderte Sporen bei simulierten Regenereignissen von über 0,2 mm fest. Brook (1966) beobachtete die meisten freien Ascosporen nach Regenfällen von 3 mm oder mehr, konnte jedoch auch nach 0,1 mm Niederschlägen Sporen feststellen. Brook (1975) sieht in der kontrollierten Freisetzung der Ascosporen während oder nach Regenereignissen einen ökologischen Vorteil. Tage, die auf Nächte mit Tau folgen, sind oftmals sonnig, wodurch die Blätter der Apfelbäume am Morgen abtrocknen. Die Sporenkeimung ist jedoch nur in einem Wasserfilm möglich, der über

eine Zeitspanne von mindestens acht Stunden verfügbar ist (Mills 1944). Werden die Sporen während Regenereignissen am Tag freigesetzt, ist die Wahrscheinlichkeit auf einen andauernden Wasserfilm, der über die folgende Nacht hinaus besteht, sehr hoch (Brook 1975). Die Sporen können eine gewisse Zeitspanne der Trockenheit überbrücken, bevor sie absterben. Die Dauer dieser Zeitspanne ist jedoch nicht sicher bestimmbar (MacHardy 1996). Alt (2003) und Alt & Kollar (2010) konnten nachweisen, dass kinetische Reize durch bewegtes Wasser eine starke Sporenemission auslösen, die nach Wegfall des kinetischen Reizes zurückgeht. Kinetische Auslösereize sind in der Natur nur durch Regen gegeben, wobei die Höhe an kinetischer Energie E_{kin} in *Joule* direkt mit der Tropfengröße (Masse m und Durchmesser d) und – fallgeschwindigkeit v zusammenhängt: $E_{kin} = \frac{1}{2}mv^2$ bzw. $E_{kin} = 10^3/12 \cdot \pi \cdot d^3 v^2$.

Die Messung der Niederschlagsmenge wird am häufigsten mit Pluviometern durchgeführt, wobei der Niederschlag auf einer definierten Fläche festgestellt wird. Häufig wird hier mit einer Kippwaage mit festgelegtem Schalenfassungsvolumen (z.B. 0,1 mm) gemessen: Eine Schale der Waage füllt sich mit Wasser und kippt dann nach unten, wodurch ein elektrischer Impuls an einen Datenlogger ausgegeben wird. Mit Messgeräten einfacherer Bauart können keine Regenereignisse unter 0,1 mm Niederschlag bestimmt werden und sie liefern auch keine Daten über die Größe und Geschwindigkeit der einzelnen Regentropfen. Diese Daten können mit einem optischen Distrometer (z.B. Laser-Niederschlags-Monitor (LNM) der Adolf THIES GmbH & Co. KG) bestimmt werden.

1.3.2 Temperatur

Im Frühjahr werden in den gemäßigten Breiten in der Regel Durchschnittstemperaturen von mehr als 10 °C am Tag gemessen, wobei Temperaturmaxima über 30 °C selten sind. Innerhalb dieses Bereichs gibt es nur geringe Auswirkungen der Temperatur auf die Sporenfreisetzung und die Sporenzahlen

(Hirst & Stedman 1962a, MacHardy & Gardoury 1986, Seem et al. 1979, Gardoury et al. 1994). Die Ausschleuderung von Ascosporen ist bei niedrigen Temperaturen unter 4 °C reduziert und nur ein relativ kleiner Anteil des gesamten Ascosporenpotenzials wird während sehr kalter Regenereignisse ausgestoßen. Zusätzlich zu der geringeren Zahl an freigesetzten Ascosporen verlängern Temperaturen zwischen 2-4 °C die Zeit bis die ersten Ascosporen freigesetzt werden (Gardoury et al 1994, Stensvand et al. 1997). Bei Temperaturen unter 2 °C kommt der Ascosporenausstoß fast vollständig zum Erliegen (Stensvand et al. 1997).

1.3.3 Licht

Die Wahrnehmung von Licht ist essentiell mit dem Leben verknüpft und der tägliche Helligkeitswechsel ist für alle Lebewesen der stärkste Zeitgeber (Aschoff et al. 1992, Fleissner 1996). Besonders mit den Helligkeitsänderungen in den Dämmerungen bietet er die deutlichsten Tageszeitsignale (Fleissner & Fleissner 1993). Zur Mittagszeit werden die meisten Ascosporen in der Luft nachgewiesen, eine Verteilung, die nicht mit der des Regens übereinstimmt (Hirst & Stedman 1962a). Weltweit und über Jahrzehnte sind die Ergebnisse aus dem Freiland hinsichtlich des Einfluss des Lichts auf die Sporenfreisetzung von *V. inaequalis* sehr einheitlich. Der Großteil der Ascosporen wird während des Tages und nur ein sehr geringer Anteil während der Dunkelheit ausgeschleudert (Hirst & Stedman 1962a, Brook 1966, Brook 1969a, MacHardy & Gardoury 1986, Palm 1988, Warner & Brown 1992, Aylor & Sutton 1992, Rossi 2001). Palm (1988) gibt als Grenze zwischen Hell- und Dunkelphase einen Wert von 2000 lx an. Im Gegensatz zu der Vergleichbarkeit der Freilandergebnisse sind Ergebnisse aus Laborstudien uneinheitlich (Gardoury et al 1998). Hirst & Stedman (1962a) waren die Ersten, die kontrollierte Experimente zur Sporenausschleuderung vom Apfelschorfpilz im Labor durchführten. Sie erhielten keine eindeutigen Ergebnisse zum Einfluss des Lichts. In Versuchen zur Sporenausschleuderung fand Brook (1969a,

1975) einen sofortigen Anstieg in der Zahl ausgestoßener Ascosporen, wenn die Blattproben beleuchtet wurden und vermutete in den reifen Asci einen Photorezeptor. Weitere Experimente (Brook 1969b, Stensvand 2000) zeigten, dass durch rotes Licht ab einer Wellenlänge von 620 nm mit einer Beleuchtungsstärke von etwa 5000 Lux die Sporenausschleuderung stark angeregt wird, wobei Licht in einem Wellenlängenbereich von 710-730 nm (Fernrot) die Freisetzung stimuliert und in Bereichen von 650-700 nm (hellrot) und über 730 nm (Infrarot) inhibiert. Im blauen und grünen Bereich des sichtbaren Lichts war die Rate der freigelassenen Ascosporen vergleichbar mit der in Dunkelheit. Weißes Licht mit derselben Beleuchtungsstärke regte die Ausschleuderung in etwas geringerem Maße an als die Beleuchtung mit Licht im Fernrot-Bereich. Der die Sporenausschleuderung fördernde und inhibierende rote Wellenlängenbereich entspricht weitgehend dem Aktionsspektrum der „Fernrot“-absorbierenden Form des Phytochroms (Brook 1969b). Dieses Phytochrom wird im roten und fernroten Bereich von 650 bis 680 nm aktiviert und von 710 bis 740 nm deaktiviert (Hillman 1967). Phytochrome wurden lange als charakteristisch für Photosynthese betreibende Organismen, einschließlich der Cyanobakterien (Yeh 1997), angesehen. Die Reaktion auf Licht ist jedoch auch von einigen Pilzen bekannt. *Aspergillus nidulans* reagiert auf Licht im roten Wellenlängenbereich mit der Hemmung der Sporenkeimung und der sexuellen Entwicklung (Röhrig et al. 2013). Die asexuelle Sporulation wird bei diesem Ascomyceten durch rotes Licht stimuliert und bei einer Verschiebung der Wellenlänge in den fernroten Bereich unterdrückt (Mooney & Yager 1990). Die Rezeption des Lichts im roten Bereich geschieht bei *Aspergillus* durch das Phytochrom FphA (Blumenstein et al. 2005).

1.3.3.1 Physikalische Grundlagen

Im Jahr 1690 ordnete der Physiker und Astronom Christian Huygens dem Licht eine Wellennatur zu. Der Physiker James Clerk Maxwell unterstützte seine Theorie im 19.

Jahrhundert mit der Annahme, dass sich das Licht als elektromagnetische Welle fortbewegt. Die meisten elektromagnetischen Wellen wie Radiowellen oder die Röntgenstrahlung sind für unser Auge nicht sichtbar (s. Abb. 2).

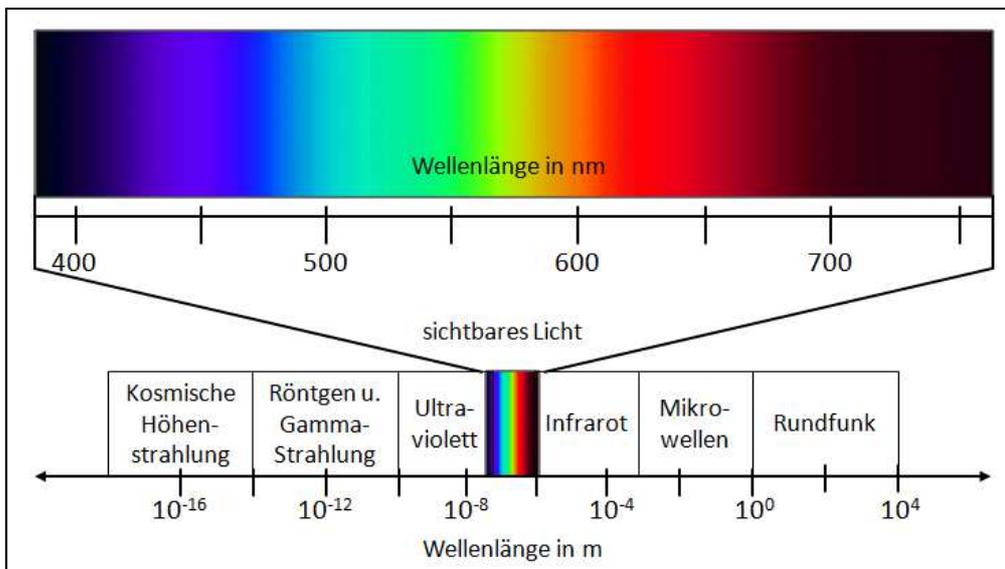


Abb. 2: Übersicht über das optische Spektrum des Lichts.

Die Wellen unterscheiden sich in ihrer Länge, die in Nanometern [nm] angegeben wird. Die Wellenlänge des für uns sichtbaren Lichts liegt zwischen 765 nm und 385 nm und wird als optisches Spektrum bezeichnet. Das optische Spektrum selbst ist aus verschiedenen elektromagnetischen Wellen zusammengesetzt, die in unseren Augen unterschiedliche Farbwahrnehmungen (Lichtfarbe) erzeugen. Unterhalb von 400 Nanometern wird die Strahlung als Ultraviolett (UV) bezeichnet. Direkt oberhalb des sichtbaren Bereichs, ab ca. 780 nm bis 1 mm, spricht man von Infrarot (IR). Dabei wird nach DIN 5031 zwischen Infrarot A (780-1400 nm), B (1400-3000 nm) und C (3000-100000 nm) unterschieden. Infrarot A und B werden als nahes Infrarot zusammengefasst. Infrarot C wird in mittleres (3000-50000 nm) und fernes (50-100000 nm) Infrarot unterschieden. Fast 50 % der Sonnenstrahlung, die die Erdoberfläche trifft, gehören in den Bereich des nahen Infrarot-Spektrums und

vermitteln den Effekt von Wärme (Koller 1965). Dieser Effekt beruht auf der starken Absorption der Infrarotstrahlung durch Wassermoleküle im Bereich der Körperoberfläche des Menschen.

1.3.3.2 Genetische Grundlagen zur Wahrnehmung von Licht

Das gesamte Lichtspektrum vom UV-Bereich bis zum fernroten Wellenlängenbereich kann bei Pilzen unterschiedliche Reaktionen verursachen. Physiologische Untersuchungen und genetische Sequenzierung haben gezeigt, dass alle vier Klassen an Photorezeptoren, die in anderen Reichen charakterisiert wurden, auch bei den Pilzen verbreitet sind (Idnurm & Heitmann 2005). Dies sind Phytochrom, Opsin, Phototropin und Cryptochrom. Bei *Neurospora crassa* wurde das blaulichtabsorbierende phototrope System am besten untersucht. Es wird als *White Collar* bezeichnet und besteht aus den Proteinen WC-1 und WC-2, die den *White Collar Complex* (WCC) bilden (Crosthwaite 1997, Fröhlich et al. 2002, Dunlap & Loros 2004). WC-1 ist die lichtabhängige Komponente, die durch Licht aktiviert wird und auf diese Weise die innere Uhr des Pilzes steuert. Homologe zum *White Collar*-System wurden bei mehreren verschiedenen Pilzen gefunden (Ambra et al. 2004, Casas-Flores et al. 2006, Lee et al. 2006, Idnurm 2006, Kamada et al. 2010, Avalos & Estrada 2010, Olmedo et al. 2010, Sand 2011). Neben diesen Photorezeptoren wurden in weiteren Pilzen Opsin-ähnliche Proteine (Rodriguez-Romero et al. 2010) nachgewiesen, deren Funktion bisher nicht bekannt ist.

Brook (1975) vermutete bei *V. inaequalis* eine photoreaktive Komponente im reifen Ascus, die als Lichtreaktion in Anwesenheit von Wasser direkt zu dem Aufbruch des Exoascus führt. Trotz der in Studien festgestellten Lichtabhängigkeit gibt es keine genetischen Untersuchungen zu Lichtrezeptoren bei *V. inaequalis*. Seit 2010 ist das Genom von *V. inaequalis* sequenziert, jedoch nicht veröffentlicht (pers. Mitt. Le Cam 2014).

1.4 Prognose und Sensorik

1.4.1 Grundlagen der Apfelschorfprognose

Die Vorhersage von Infektionsereignissen und deren Wahrscheinlichkeit ist die Aufgabe der Prognose. Die Grundlage der Apfelschorfprognose beruht im Wesentlichen auf dem Mills-Modell, das ein Auftreten von Schorfinfektionen in Abhängigkeit von Blattnässedauer und der Durchschnittstemperatur beschreibt (Mills 1944). Grundlage für das von Mills entwickelte Modell waren Untersuchungen von Keitt & Jones (1926), die in einer Laborstudie die minimal nötige Blattnassdauer in Abhängigkeit von der Temperatur bestimmten, die für die Entstehung einer Infektion von *Venturia inaequalis* notwendig ist. In weiteren langjährigen Studien passte Mills diese Labordaten an die Bedingungen in Obstanlagen an und veröffentlichte 1944 die allen Prognosen zugrunde liegende Mills-Tabelle. Die dazugehörige Graphik (s. Abb. 3) hatte das Ziel, dem Anwender die Möglichkeit zu geben, den kritischen Punkt einer Infektion in Blattnassperioden unter Einbeziehung der Temperatur zu bestimmen und in der Umsetzung kurative Fungizide nach einer prognostizierten Pilzinfektion gezielt zum Einsatz zu bringen (Mills 1944). Das System von Mills ist bis heute, mit leichten Veränderungen (MacHardy & Gardoury 1989), weltweit die Grundlage für die Prognose des Apfelschorfs.

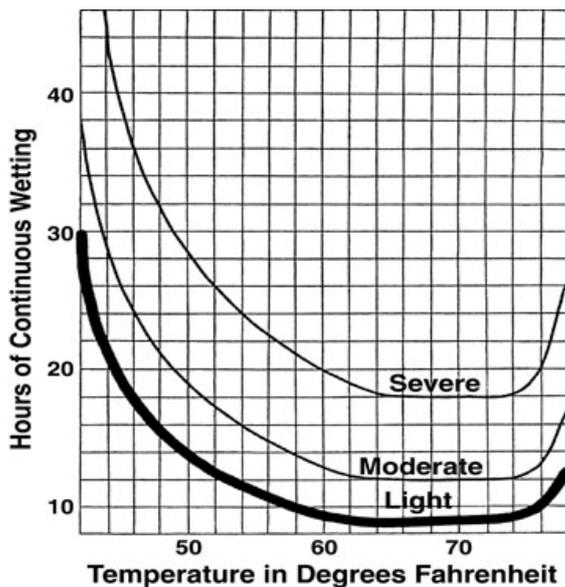


Abb. 3: Zusammenhang zwischen Blattnässedauer, Temperatur und dem Schweregrad der Schorfinfektion. Original veröffentlicht in Mills (1944).

1.4.2 Warnstationen und Sensorik für die Apfelschorfprognose

Basierend auf dem System von Mills wurden verschiedene automatisierte Schorfwarngeräte wie die Station HP100 der LUFFT GmbH entwickelt. Die moderne Prognose bezieht noch den Entwicklungszustand des Schorfpilzes bzw. den Zeitpunkt der Ascosporenausschleuderung aus dem Falllaub mit ein. Für die Anwender stehen im Internet verschiedene Prognosemodelle wie RimPro (*Relative Infection Measure*, Marc Trapman 1995), SIMSCAB (Zentralstelle der Länder für EDV-gestützte Entscheidungshilfen und Programme im Pflanzenschutz (ZEPP)) und die Prognose nach Welte (FARM SOFTWARE GmbH) zur Verfügung. Die Officialberatung (Pflanzenschutzdienst der Länder) nutzt jeweils ein eigenes Netz an Wetterstationen in ganz Deutschland, mit denen die Prognosemodelle bedient werden. Neben der Temperatur ist die korrekte Messung der Blattnässe für die Prognose von wesentlicher Bedeutung, jedoch oft problematisch aufgrund des Fehlens eines standardisierten Sensors (Sentelhas et al. 2004). Zur genauen Registrierung der Blattnässedauer stehen verschiedene Geräte zur Verfügung. Einige Blattnässesensoren verwenden Wasser

speichernde Trägermaterialien in Form von stoff- oder papierähnlichen Vliesen, die zwischen zwei Elektroden gespannt sind, und die Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit durch Wasser als Basis für die Messung (u.a. LUFFT GmbH, PESSL Instruments GmbH, TOSS GmbH). Auch Sensoren mit Elektroden in Form von Leiterbahnen oder parallelen Drähten, die der Umwelt direkt ausgesetzt sind, nutzen das Leitfähigkeitsprinzip. Im Gegensatz dazu sind kapazitive Messungen im geschlossenen, isolierten System möglich. Das kapazitive Prinzip nutzt einen nässeabhängigen Kondensator, bei dem sich durch das Dielektrikum Wasser die elektrische Kapazität erhöht (kapazitiv; u.a. DECAGON Devices Inc., HOFFMANN Messtechnik GmbH, ADCON Telemetry GmbH). Die Blattnässesensoren dienen der Registrierung von Nässe ohne dabei die Art ihrer Entstehung durch Tau oder Regen zu unterscheiden. Ein Nässebeginn durch Tau führt bei *V. inaequalis* jedoch nicht zu einem Sporenausstoß, wohingegen durch Regen der Großteil der Sporen freigesetzt wird (s. 1.3.1). In der Registrierung der Blattnässe für die Schorfprognose ist der Ausschluss eines Nässebeginns durch Tau wesentlich für eine korrekte Vorhersage einer möglichen Infektion.

1.5 Ziele der vorliegenden Arbeit

Die vorliegende Arbeit war Teil des Forschungsprojektes „Entwicklung eines Regensensors für kinetische Energie und Wasserbenetzung zur Verbesserung der Schorfprognose im Apfelanbau“. Das Projekt wurde im Rahmen der „Deutschen Innovationspartnerschaft Agrar“ durchgeführt, die Förderung erfolgte aus Mitteln des Zweckvermögens des Bundes bei der Landwirtschaftlichen Rentenbank.

Epidemiologie und Prognose

Ein Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und biologische Evaluierung einer Sensorik zur Verbesserung der Prognose des Apfelschorfes. In Zusammenarbeit mit der Firma THIES sollte ein Sensor für Wasserbenetzung entwickelt werden. Die Hauptkriterien bei der Entwicklung waren Zuverlässigkeit, Wetterfestigkeit, Datenkonstanz, geringe Verschmutzungsneigung und Korrosionsbeständigkeit. Der Sensor für Wasserbenetzung sollte den marktüblichen „Blattnässefühlern“ hinsichtlich Zuverlässigkeit und Wartungsintensität deutlich überlegen sein. Hierzu sollten mehrjährige Vergleiche verschiedener käuflicher Blattnässesensoren durchgeführt werden. Im Baumbestand sollte mit 24-h-Videoaufnahmen die reale Blattnässe beobachtet werden und als Referenz für den Vergleich mit Daten der Blattnässesensoren herangezogen werden. Die Prototypen des neu entwickelten Sensors sollten vor der Exposition im Freiland ausgiebig in einer Klimakammer getestet und ihre Funktion im Vergleich zu der realen Blattnässe an Apfel-Sämlingen überprüft werden. Neue Anpassungen der Prototypen sollten entworfen und experimentell überprüft werden. Das Verhalten der Prototypen im Freiland sollte im Hinblick auf Wetterfestigkeit, Verschmutzungsneigung und Korrosionsbeständigkeit sowie die Eignung für die Schorfprognose beobachtet werden. Es sollten Freiland-Bioassays zum Feststellen der natürlich stattfindenden Infektionen so durchgeführt werden, dass ein Rückschluss auf den infektiösauslösenden Sporenflug möglich ist. Zur Feststellung der Sporenflüge sollten Sporenfallen betrieben werden, die die in der Luft vorhandenen Sporen kontinuierlich stundengenau fixieren. Die so aufgezeichneten Sporenflüge sollten den meteorologischen Daten gegenübergestellt und auf Zusammenhänge überprüft werden. Die Energien des Niederschlages sollten hinsichtlich der Sporenausschleuderungen des Pilzes in Abhängigkeit von biologischen und meteorologischen Daten untersucht werden.

Licht

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, die Zusammenhänge der diurnalen Rhythmik der Sporenausschleuderung zu untersuchen. Dabei sollte die Durchbrechung der Dunkelhemmung/Lichtförderung bzw. des diurnalen Rhythmus der Sporenausschleuderung im Freiland und in Laborversuchen erreicht werden. Die Ergebnisse aus dem Freiland und dem Labor sollten sich zur weiteren methodischen Vorgehensweise wechselseitig beeinflussen. Es sollte eine Methode entwickelt werden, die eine Dunkelhemmung/Lichtförderung der Sporenausschleuderung einfach und zuverlässig im Labor reproduzierbar macht. Danach sollte der Einfluss verschiedener Lichtqualitäten und -quantitäten auf die Sporenausschleuderung systematisch untersucht werden. Das Licht sollte vor allem bezüglich Beleuchtungsstärke und Wellenlängen-Zusammensetzung variiert werden, um die Zusammenhänge der Faktoren, die einen Sporenflug auslösen, detaillierter zu erfassen. Im Freiland sollte erstmalig versucht werden die diurnale Periodik des Sporenflugs durch gezielte Beleuchtung zu beeinflussen. Es sollte in jeder Primärsaison eine Anpassung des Leuchtmittels aufgrund der Ergebnisse aus den Laborversuchen gemacht werden, wobei die Faktoren Lichtintensität und -zusammensetzung systematisch eingesetzt werden sollten. Die Wirkung des Lichts auf das Myzelwachstum sollte ebenfalls überprüft werden. Hierzu sollte *V. inaequalis* unter definierten Lichtbedingungen kultiviert werden und das Wachstum, der Stoffwechsel und die Morphologie beobachtet werden. Da bisher keine genetischen Untersuchungen zur Lichtregulation existieren, sollte *in silico* geklärt werden, ob bei *V. inaequalis* Photorezeptoren wie bei anderen Pilzen existieren. Aus den Ergebnissen sollten Schlüsse über die Lichtantwort des Schorfes gezogen werden.

2. Material & Methoden

2.1 Wetterstation

Für die Dauer des Projektes wurde von der Firma THIES Clima eine umfangreiche Wetterstation zur Verfügung gestellt (s. Abb. 4). Die Messwerte umfassten Temperatur (THIES Hygro-Thermogeber *compact*: Pt 100 Widerstands-Thermometer), Luftfeuchte (RF, THIES Hygro-Thermogeber *compact, kapazitiv*), Luftdruck (THIES Barogeber: piezokeramischer Absolutdrucksensor), Anzahl der Regentropfen (THIES Niederschlagswächter: Messfläche 25 cm², opto-elektronisch), Helligkeit (THIES Helligkeitsgeber 0–150000 lx), Windgeschwindigkeit (THIES Windsensor *compact*), UV-Strahlung (THIES UVAB Sensor E 1.1: PAR-Sensor) und Richtung und Geschwindigkeit von Luftströmungen (THIES Ultrasonic Anemometer 3D: Ultraschall). Die Sensoren waren in einer Höhe von 150 cm angebracht. Die Messwerte wurden jeweils in fünf-Minuten-Intervallen auf einem Datenlogger (THIES DL16) aufgezeichnet. Die Geschwindigkeit und das Volumen herabfallender Regentropfen wurden mittels eines THIES Laser-Niederschlags-Distrometers (LNM, Messfläche 46 cm²) jede Minute erfasst. Mit der benachbarten institutseigenen Wetterstation des Julius Kühn-Instituts wurden weitere Daten aufgezeichnet: Windrichtung und -geschwindigkeit (THIES Windsensor *compact* und Windrichtungssensor), Niederschlagsmenge (THIES Niederschlagsgeber mit Doppelkipppwaage) und Luft- und Bodentemperatur (Pt-1000 Widerstands-Thermometer) in unterschiedlichen Höhen bzw. Tiefen.

Der Zusammenhang zwischen der Lufttemperatur und dem Sporenflug wurde anhand der Steigung der Temperatur in 2 m Höhe innerhalb von 30 und 60 min zu Beginn jedes Sporenfluges untersucht. Hierzu wurden die Temperaturkurven der ersten 30 und 60 min eines Sporenfluges betrachtet und die Steigung der Regressionsgeraden

bestimmt. Eine positive Steigung gibt einen ansteigenden Temperaturverlauf wieder, eine negative Steigung eine fallende Lufttemperatur.

Alle Messwerte der Wetterstationen wurden in Excel (MS Office) eingelesen und direkt oder mit Hilfe der Software R! bearbeitet. Die realen Blattnasszeiten wurden an einem Baum der Sorte 'Golden Delicious' erfasst, der sich in unmittelbarer Nähe zur Wetterstation befindet. Hierzu wurden Zeitrafferkameras vom Typ GardenWatchCam der Firma BRINNO verwendet (s. Abb. 5). Die Bilder wurden im fünfminütigen Takt aufgenommen, so dass über den 24-Stunden-Tag ein kontinuierlicher Zeitrafferfilm entstand. Aufnahmen bei Dunkelheit wurden durch Beleuchtung mit LED-Soffitten ermöglicht. Die Kameras wurden unter Verwendung von Netzteilen ganzjährig eingesetzt und die Aufnahmen am PC ausgewertet. Weitere Kameras wurden zur optischen Beobachtung der Blattnässesensoren eingesetzt. Im Winterhalbjahr 2014/2015 wurde die Wetterstation außer Betrieb genommen, abgebaut und im Frühjahr 2015 im Rahmen der elektrischen Neuinstallation des Versuchsfeldes neu aufgebaut.



Abb. 4: Wetterstation von 2010-2014 (links) und neu aufgebaute Wetterstation ab 2015.



Abb. 5: BRINNO GardenWatchCam Zeitrafferkamera, Einsatz an den Baumtrieben.

2.2 Blattnässe-Sensoren

2.2.1 Vergleich käuflicher Blattnässe-Sensoren

Über den Zeitraum von 2011-2014 wurden die Messwerte von Blattnässesensoren der Firmen ADCON, DECAGON, HOFFMANN, LUFFT, PESSL und TOSS (s. Abb. 6-7) miteinander verglichen. Die Sensoren haben unterschiedliche Messprinzipien:

- Kapazität (ADCON, DECAGON, HOFFMANN)
- Leitfähigkeit (LUFFT, PESSL, TOSS)

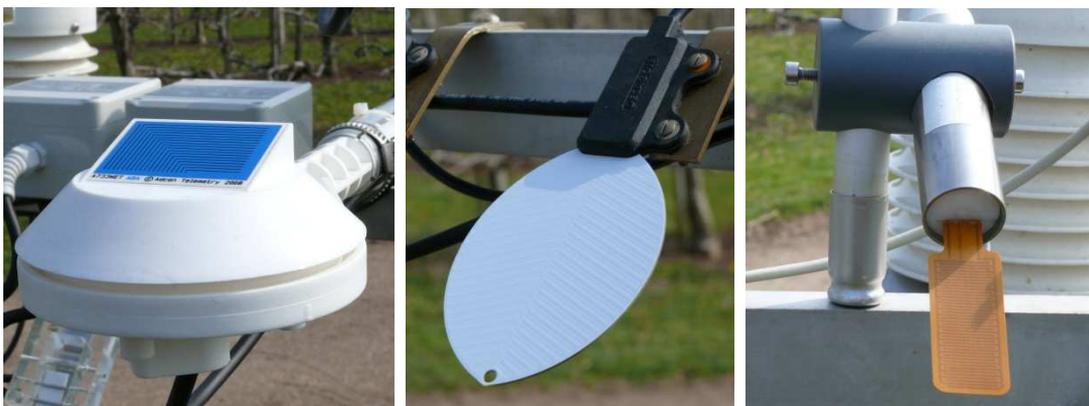


Abb. 6: Die kapazitiven Blattnässesensoren der Firmen ADCON, DECAGON und HOFFMANN (von links nach rechts).



Abb. 7: Die auf dem Prinzip von Leitfähigkeit basierenden (vliesbasierten) Blattnässesensoren der Firmen LUFFT, PESSL und TOSS (von links nach rechts).

Von jedem Hersteller wurden zwei baugleiche Modelle verwendet. Alle Sensoren wurden in die Wetterstation eingebunden und die Messwerte 5-minütlich erfasst. Die Installation erfolgte in 150 cm Höhe und westlicher Ausrichtung sowie nach herstellerspezifischen Vorgaben. Für die Sensoren der Firmen DECAGON und PESSL wurde von Herstellerseite kein Neigungswinkel für die Montage angegeben. Die Montage erfolgte für diese Modelle in einem Winkel von 40° und war damit mit dem Installationswinkel der anderen Sensoren vergleichbar. Bei einem der beiden DECAGON-Sensoren wurde der Neigungswinkel im Laufe der Untersuchung von 40° auf 10° verringert und die Auswirkung auf die angezeigten Blattnasszeiten untersucht. Bei den DECAGON- und PESSL-Sensoren wurde kein Schwellenwert für die Registrierung von Nässe angegeben. Diese Sensoren wurden mit einer Sprühflasche künstlich benetzt und so der Schwellenwert bestimmt. Die Sensornasszeiten wurden mit der realen Blattnässe (s. 2.1) verglichen. Für den Vergleich wurden die Werte aller Jahreszeiten verwendet, wobei nur diejenigen Zeiträume betrachtet wurden, in denen alle Sensoren ohne Konfigurationsänderungen im System betrieben wurden. Zeiträume, in denen einzelne Sensoren ausgefallen waren, wurden nicht berücksichtigt. Insgesamt wurden für den Vergleich 541 Tage bzw. ca. 13000 h berücksichtigt. Eine Unterbrechung der angezeigten Blattnasszeiten von bis zu 8 h wurde toleriert und die einzelnen Nässezeiten addiert. Nach einer Unterbrechung von mehr als 8 h wurde der

Beginn einer neuen Blattnassperiode definiert. Die Eignung der Sensoren für die Schorfprognose wurde für die jeweilige Primärsaison in den Jahren 2012, 2013 und 2015 bewertet. Die Bewertung erfolgte unter Berücksichtigung der von Keitt & Jones (1926) überarbeiteten Mills-Kriterien (s. Abb. 8). Dabei wurden die Lufttemperatur der Wetterstation und die vom Sensor angezeigte Nässedauer verwendet. Bei längerer Nässedauer erhöht sich die Anzahl der auskeimenden Sporen und die Schwere der Infektion nimmt zu. Die Schwere der Infektionen wurde in leichte (bis 30 % Befall), mittlere (30-60 % Befall) und schwere (> 60 % Befall) eingeteilt. Alle angezeigten Nässezeiten wurden hinsichtlich ihrer Entstehung durch Tau oder Niederschlagsereignisse durch Plausibilitätskriterien differenziert. Diese waren gegeben durch die Auswertung der Kamerabilder im Abgleich mit dem Verlauf der relativen Feuchte und Temperatur sowie den Niederschlagsmessungen über den Sammeltrichter, den Laser-Niederschlags-Distrometer und den Niederschlagswächter (Tropfenzählung).

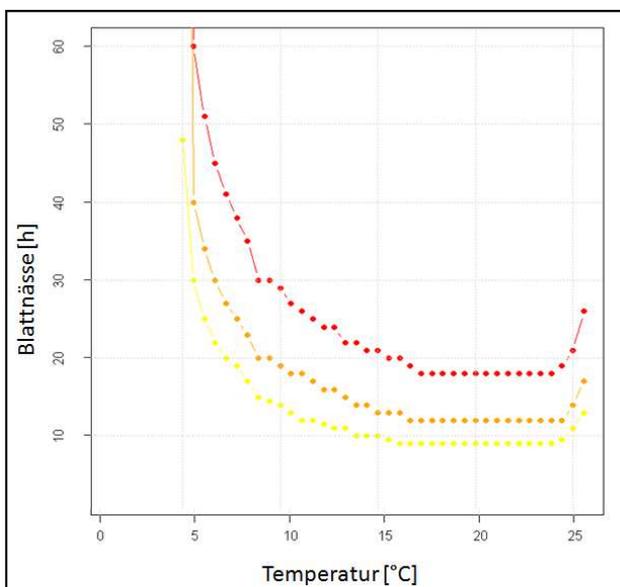


Abb. 8: Mills-Diagramm nach Keitt & Jones (1926). Gelb: leichte Infektion (bis 30 % Befall), Orange: mittlere Infektion (30-60 % Befall), Rot: schwere Infektion (> 60 % Befall).

2.2.2 Technische Entwicklung und biologische Validierung neuer kapazitiver Blattnässe-Sensoren

Im Rahmen von zwei Verbundprojekten (BLE-Forschungsprojekt–Nr. 511-06.01-28-1-53.042-07, DIP-Projekt-Nr. 28-RZ-5.IP-020) mit der Firma Adolf Thies GmbH & Co. KG in Göttingen wurden neue Blattnässesensoren in enger Zusammenarbeit nach den Zielvorgaben und Validierungen des JKI über einen Zeitraum von etwa 6 Jahren entwickelt (s. Tab. 1). In den ersten Jahren wurden die Prototypen im Freiland getestet. Im Jahr 2009 wurden drei Sensoren des Prototyps 1 mit derselben Oberfläche, jedoch verschiedenen elektronischen Eigenschaften gleichzeitig eingesetzt (s. Tab. 1), um deren Auswirkungen auf die angezeigte Blattnässedauer zu untersuchen. Prototyp 1a wurde mit einer kontinuierlichen Sensorflächenheizung zur Vermeidung von Taubetrieben, Prototyp 1b mit einer kontinuierlichen Sensorflächenheizung und zusätzlich einer erhöhten Heizleistung nach Detektion von Nässe, Prototyp 1c ohne jegliche Heizung. Am Ende des Jahres 2010 wurde Prototyp 2 mit einer keramischen Einbettung der Elektroden versehen und in das System eingebunden. Die Technik entsprach ansonsten der des Prototyp 1. Beim Prototyp 3 wurde im Jahr 2011 erstmals eine glaskeramische Einbettung der Leiterbahnen verwendet und ein Peltierelement mit Kühlkörper eingesetzt. Alle Sensoren waren mit einer Oberflächen-Kühlung und -Heizung ausgestattet. Bei Prototyp 3a wurden Heizung und Kühlung ausgeschaltet, bei Prototyp 3b wurde die Oberfläche bei Trockenheit beheizt, Prototyp 3c wurde mit einer Oberflächenkühlung bei Detektion von Nässe betrieben und Prototyp 3d mit beheizter Oberfläche bei Trockenheit und Oberflächenkühlung bei detektierter Nässe. Zu Beginn der Primärsaison im Jahr 2012 wurde ein Sensor mit einem Ventilator versehen (Prototyp 4) und erhielt in diesem Zusammenhang eine andere Kühlkörperspezifikation (s. Tab. 1). Prototyp 5 besaß einen in Form und Größe ähnlichen Kühlkörper mit großer Oberfläche, jedoch ohne Ventilation. Er wurde zur Erprobung und biologischen Evaluierung in der Klimakammer getestet. Die

Oberfläche aller eingesetzten Sensoren wurde bei Trockenheit leicht beheizt und bei Nässe gekühlt. Über eine *Firmware* wurde die Intensität der Heiz- und Kühlleistung bei Prototyp 5a-c unterschiedlich eingestellt. Prototyp 6 wurde zur Erleichterung der Wasserableitung mit einem Vorbau aus Kunststoff (Ablaufschild) versehen und in der Klimakammer mit unterschiedlich eingestellter Intensität der Heizung und Kühlung getestet. Die vom Kühlkörper aufsteigende warme Luft wurde mit einem Rauchstäbchen beobachtet. Um diese warme Luft abzuleiten, wurde experimentell ein Kragen um die Sensoren gelegt (s. Abb. 36), der die Oberfläche weitgehend von der aufsteigenden warmen Luft abschirmte. Prototyp 6 hatte zusätzlich die Möglichkeit, die Oberflächentemperatur bei Nässe über eine einstellbare Temperaturdifferenz zur Lufttemperatur zu regeln. Die Einstellung der Untertemperatur war im Bereich von bis zu 20 °C Temperaturdifferenz möglich. Als Ersatz für den Ablaufschild wurde 2015 bei Prototyp 7 eine verkürzte Messfläche verwendet und zur Entlastung des Kühlkörpers eine Ventilation im Gehäuse integriert, die durch eine Öffnung im Gehäuse hinter dem Kühlkörper die warme Luft ansaugt und durch eine Öffnung am unteren Rand des Gehäuses abgibt. Prototyp 7 wurde zur Primärsaison in die Wetterstation eingebunden (Abb. 9), die Oberfläche wurde zur Vermeidung von Betauung im trockenen Zustand mit 25 % Leistung beheizt. Sobald der Schwellenwert für einsetzende Nässe unterschritten wurde, schaltete sich die Beheizung aus und die Oberfläche wurde mit einem Kühlgrad von 40% gekühlt und die am Kühlkörper entstehende Wärme über die Ventilation abgeführt (s. Abb. 10). Beim Abtrocknen wurde ebenfalls ein Schwellenwert eingestellt, der den Übergang zum trockenen Zustand und somit zur Beheizung unter Wegfall der Kühlung und Ventilation markierte.



Abb. 9: Der marktreife Prototyp 7 und die eingesetzte glaskeramische Oberfläche mit leiterbahnfreier Zone am unteren Rand.



Abb. 10: Ventilationsöffnung des Sensor-Prototyps 7 unten am Gehäuse und hinter dem Kühlkörper.

Die Oberflächen der Prototypen 4-7 wurden vor und nach Benetzung mit einer Thermokamera (TESTO 875-1 mit *Superresolution*) aufgenommen. Anhand der Aufnahmen konnte die Gleichmäßigkeit der Verteilung von Wärme und Kälte durch das Piezoelement auf der Oberfläche festgestellt werden.

Die Prototypen 5-7 wurden nach jedem Entwicklungsschritt biologisch validiert (s. Abb. 11). Dies geschah in einem ersten Schritt in einer Klimakammer unter

konstanten Bedingungen bei 20 °C und 80 % RF. Hierzu wurden 2-4 baugleiche Sensoren verwendet. Die Auswirkungen der verschiedenen Parametereinstellungen bzgl. Heizung und vor allem Kühlung auf die angezeigte Blattnässedauer wurden getestet. Als Referenz zur biologischen Evaluierung wurden vier Apfel-Sämlinge verwendet und die Abtrocknungszeit der benetzten Blätter mit der Abtrocknungszeit der zur gleichen Zeit benetzten Sensoroberflächen verglichen. Hierzu wurde das Abtrocknungsverhalten der Sensoroberflächen und der Blätter über Zeitrafferkameras in 5-Minuten-Intervallen dokumentiert. Die Abtrocknungszeit der Blätter war die Zeit, nach der keine Nässe mehr auf den im Kamerabild sichtbaren Blättern registriert werden konnte. Die technischen Messwerte der Sensoren wurden mit einer speziell entwickelten Software jede Minute aufgezeichnet. Bei diesen Versuchen wurde gleichzeitig auch die Variabilität des Abtrocknungsverhaltens innerhalb einer Modellreihe festgestellt. Durch die Veränderung der Kühlleistung wurde der Kühlleistungsbereich untersucht, der gewährleisten soll, dass die Abtrocknungszeiten der Sensoren exakt an die der Blätter angepasst sind. In einem zweiten Schritt wurden die so angepassten Sensoren in die Wetterstation eingebunden und im Freiland getestet. Erforderliche Anpassungen der Sensoren wurden mit der Firma besprochen und dort technisch umgesetzt. Die daraus resultierenden neuen Prototypen wurden erneut im Labor und im Freiland biologisch validiert. Der marktreife Prototyp 7 besaß neben der glaskeramischen Oberfläche eine eingebaute Ventilation für den Kühlkörper, eine leiterbahnfreie Zone am unteren Rand der Sensorfläche und eine stufenlose Regelung der Heizung, der Kühlung und des auslösenden Benetzungsgrads.

Tab. 1: THIES-Sensoren in der Entwicklung.

Sensor	Technik	Varianten im Test	
Prototyp 1 2009 Freiland	Oberfläche mit metallischen Leiterbahnen	a) dauerhaft gering beheizt b) wie a) mit Anstieg der Heizleistung bei Benetzung c) keine Heizung	
Prototyp 2 2010 Freiland	keramische Einbettung der Leiterbahnen	a) dauerhaft gering beheizt b) wie a) mit Anstieg der Heizleistung bei Benetzung c) keine Heizung	
Prototyp 3 2011 Freiland	- glaskeramische Einbettung der Leiterbahnen - Peltierelement mit Kühlkörper - alle Sensoren mit regelbarer Heizung und Kühlung der Oberfläche	a) ohne Regelung b) Oberflächenheizung c) Oberflächenkühlung d) kombinierte Heizung und Kühlung der Oberfläche	
Prototyp 4 2012 Freiland	- glaskeramische Einbettung der Leiterbahnen - Peltierelement mit Kühlkörper - Kühlkörper mit großer Oberfläche - Ventilation am Kühlkörper	mit regelbarer Heizung und Kühlung der Oberfläche und Abführung der Wärme durch Ventilation	
Prototyp 5 2013 Freiland Klimakammer	- glaskeramische Einbettung der Leiterbahnen - Peltierelement mit Kühlkörper - Kühlkörper mit großer Oberfläche	3 Sensoren mit regelbarer Heizung und Kühlung der Oberfläche in wechselnden Einstellungen	
Prototyp 6 2014 Klimakammer	- glaskeramische Einbettung der Leiterbahnen - Peltierelement mit Kühlkörper - Kühlkörper mit großer Oberfläche - Ablaufschild	3 Sensoren mit regelbarer Heizung und Kühlung der Oberfläche in wechselnden Einstellungen; Möglichkeit der Untertemperaturregelung der Oberfläche zur Lufttemperatur	
Prototyp 7 2015 Freiland Klimakammer	- glaskeramische Einbettung der Leiterbahnen - Peltierelement mit Kühlkörper - Kühlkörper mit großer Oberfläche - unten verkürzte Messfläche - Ventilation am Kühlkörper	4 Sensoren mit regelbarer Heizung und Kühlung der Oberfläche in wechselnden Einstellungen; Möglichkeit der Untertemperaturregelung der Oberfläche zur Lufttemperatur	



Abb. 11: Versuchsaufbau zur Validierung der neu entwickelten Blattnässesensor-Prototypen 5-7 in der Klimakammer.

2.3 Sporenfallen und Ascosporenflug

Der Ascosporenausstoß im Freiland wurde mit zwei volumetrischen BURKARD Sporenfallen (s. Abb. 12) mit stündlicher Auflösung der Daten in der jeweiligen Primärsaison kontinuierlich verfolgt. Die Sporenfallen wurden in der Versuchsanlage des JKI Dossenheim an unterschiedlichen Stellen positioniert. Etwa 10 cm unter der Ansaugöffnung und 150 cm über dem Boden wurde ein Blattdepot (32 x 24 x 5 cm) mit natürlich überwinterten schorfbefallenen Blättern angebracht. Durch eine elektrische Pumpe (230 V) wurde im Betrieb ein Saugstrom von 10 l/min erzeugt. Die angesaugte Luft wurde auf ein mit Vaseline bestrichenes Band geblasen, wobei die in der Luft enthaltenen Sporen auf dem Band kleben blieben. Das Band wurde auf einem Zylinder befestigt, der sich innerhalb von sieben Tagen einmal dreht. Somit entstanden 2 mm lange Abschnitte, die jeweils die Anzahl der in der Luft enthaltenen Ascosporen pro Stunde enthielten. Die Auswertung erfolgte mikroskopisch mit 500-facher Vergrößerung (Kohl 1993). Die Sporenflugtage wurden einzeln bewertet. Dabei wurde ein Sporenflugtag definiert, als Tag, an dem mindestens vier Stunden lang kontinuierlich Sporenflug mit mindestens 15 Sporen in einer der Stunden registriert

wurde. Der Beginn war dabei die erste Stunde des zusammenhängenden Sporenflugereignisses. Als Bezugspunkt wurde der Zeitpunkt des Sporenflugs definiert, an dem das Maximum an Sporen gemessen wurde. Die Blätter waren feucht (nicht brüchig), wenn innerhalb von 24 Std. vor dem sporenflugauslösenden Regen bereits Regen gefallen war oder die Luftfeuchte in diesem Zeitraum im Durchschnitt über 80 % lag. Trockene Blätter waren brüchig.



Abb. 12: Sporenfalle im Versuchsfeld mit vorgelagertem Blattdepot und aufgesetzter Lichtquelle (rechts).

Aus den Daten der Sporenfallen wurden mit dem Software-Programm R! Chronosporogramme erzeugt und anschließend mit dem Software-Programm *Adobe-Illustrator CS* bearbeitet. Die Chronosporogramme geben für jede Sporenfalle und jedes Jahr einen zeitlichen Überblick über die registrierten Sporen, Regenereignisse und den natürlichen Hell-Dunkel-Wechsel. Die Untersuchungstage sind sowohl untereinander als auch als Doppelplot aufgetragen. Die Chronosporogramme wurden als Doppelplot erstellt, um eine zusammenhängende Übersicht über Tag und Nacht zu erhalten.

2.4 Blattproben

2.4.1 Überwinterung, Exposition und Langzeitaufbewahrung der Blätter

In der Primärsaison wurde wöchentlich das Ascosporenpotenzial mit der Wasserbadmethode (s. 2.4.2) aus Blattmaterial bestimmt. Hierzu wurden jeweils im Herbst des Vorjahres mit Schorf befallene Apfelblätter vor dem Blattfall gesammelt und in Kunststoffschalen (55 x 30 x 7 cm) überwintert. Um das Verblasen der Blätter durch den Wind zu verhindern, waren die Schalen mit einem Drahtgitter (Öffnungen ca. 1 x 1 cm) abgedeckt. Im Boden wurden mehrere Drainageöffnungen zur Ableitung des Regenwassers gebohrt. Die Schalen wurden innerhalb der Apfelanlage auf dem Boden auf einem engmaschigen Saranetz (zum Ausschluss von Regenwürmern) überwintert. Die Blattdepots wurden für die Sporenfallen und für die Freiland-Bioassays (s. 2.5) zur Inokulumerhöhung um die exponierten Sämlinge verwendet. Für Versuche zur Sporenausschleuderung im Labor wurde ein Teil der Blätter im Frühjahr nach etwa der halben erreichten Sporenreife aus den Schalen entnommen und bei -20°C tiefgefroren. Der Zeitpunkt für die Entnahme der Blätter wurde anhand der Wasserbadmethode (s. 2.4.2) festgelegt.

2.4.2 Bestimmung der Ascosporentiter

Zur Bestimmung des Ascosporenpotenzials in der jeweiligen Primärsaison als auch zur Bestimmung der Anzahl ausgeschleuderter Ascosporen in den Versuchen (s. 2.6) wurde die Wasserbadmethode von Kollar (1998a) verwendet: Die Blätter wurden über Nacht im Labor getrocknet, anschließend von Stiel und Mittelrippe befreit und in etwa 1cm große Stücke gebrochen. Für einen doppelten Ansatz wurde je 1g der Blattstücke abgewogen und in 100 ml-Erlenmeyerkolben mit 50 ml Reinstwasser aufgegossen. Die Kolben wurden auf einem Kreisschüttler bei ca. 90 U/min für eine Stunde geschwenkt. Unmittelbar danach wurde eine Probe des Wassers entnommen und in eine 0,5 ml-

Planktonkammer (HYDRO-BIOS, Kiel) nach Kolkwitz gefüllt. Nach 10 min waren die Sporen auf das Raster (Quadrate je 1 x 1 mm) abgesunken. Es wurden je Ansatz 30 Quadrate ausgezählt. Aus den Ergebnissen wurde unter Berücksichtigung des Kammer- und Probenvolumens die Sporenzahl berechnet: $\text{Sporenzahl/ml} = \text{Summe der Sporen/Anzahl der Quadrate} \times 769,2$. Der Faktor 769,2 wurde über die Flüssigkeitsmenge, die über einem Quadrat in der Planktonkammer steht, ermittelt, um die Anzahl der Sporen/ml zu erhalten. Die Ergebnisse der Doppelansätze wurden gemittelt.

2.5 Freiland-Bioassay für den Nachweis von Schorfinfektionen

Die Zeitpunkte der Primärinfektionen durch den Erreger im Freiland wurden durch einen Biotest festgestellt (s. Abb. 13). Hierzu wurden während der Periode der Primärinfektionen in den jeweiligen Versuchsjahren von Beginn der Vegetationsperiode an bis etwa Mitte Juni vor jeder Blattnässeperiode 'Golden Delicious'-Sämlinge als „Fangpflanzen“ in die Anlage gebracht und darunter überwinterte Blattdepots (s. 2.4.1) gestellt. Nach dem Ende der jeweiligen Blattnässeperiode wurden die Sämlinge ins Gewächshaus gebracht und nach einer Inkubationszeit von etwa 20-30 Tagen auf Schorfbefall bonitiert. Die Angabe erfolgte in % befallener Pflanzen.



Abb. 13: Sämlinge und Blattdepots in der Apfelanlage für das Freilandbioassay. (Foto: F. Porsche)

2.6 Einfluss des Lichts auf die Ascosporenausschleuderung

2.6.1 Freiland-Versuche

Eine der verwendeten Sporenfallen bzw. das Blattdepot wurde in den Versuchsjahren 2011-2015 in der Primärsaison künstlich beleuchtet. Zur Vermeidung der Ansaugung von durch Licht angelockten Insekten wurde vor der Ansaugöffnung der Sporenfalle ein Drahtgeflecht aus Edelstahl (ca. 1 mm² Öffnungen) angebracht (s. Abb. 15). In 2010/2011 wurde das vorgelagerte Blattdepot mit zwei Scheinwerfern (Leuchtmittel MEGAMAN Clusterlite Energiesparbirnen 60 W, 4000 K) mit einer Helligkeit von 400 lx beleuchtet, die unabhängig von der Sporenfalle an zwei Masten angebracht waren und auch bei Drehung der Sporenfallen zu einer gleichmäßigen Ausleuchtung des Blattdepots führten (s. Abb 14 A). Im Versuchsjahr 2012 wurde die Lichtintensität mit demselben Leuchtmittel auf > 2000 lx erhöht, indem das Leuchtmittel eines Scheinwerfers direkt auf der sich drehenden Sporenfalle angebracht wurde (s. Abb. 14 B). Im Folgejahr wurden durch die Verwendung eines LED-Scheinwerfers (SYNGONIX LED Flutlichtstrahler, 40 W, 5000 K) das Lichtspektrum und die Helligkeit (> 10000 lx) verändert (s. Abb. 15). Im Jahr 2014 wurde das Blattdepot wie im Vorjahr beleuchtet, aber mit einem vorgesetzten Blaulichtfilter (Glass Color Filter Yellow, 165

x 132 mm, EUROLITE, CONRAD ELECTRONICS SE) zur Änderung des Lichtspektrums (s. Abb. 16). Im letzten Versuchsjahr wurde mit einer handelsüblichen klaren 60 W-Glühbirne mit 10000 lx beleuchtet (s. Abb. 17), die mittels eines Dämmerungssensors (THEBEN Luna 112 top 2, CONRAD ELECTRONICS SE) bei Helligkeiten von 100 lx ein- bzw. ausgeschaltet wurde und dadurch nur nachts leuchtete. Temperatur und Helligkeit im Blattdepot wurden mit einem Datenlogger (HOBO Pendant Temperature & Light, DATENLOGGER-STORE) durchgehend überwacht. Die Lichtspektren der Leuchtmittel sowie des Tageslichts zu unterschiedlichen Tageszeiten und Witterungsverhältnissen wurden mit einem Spektrometer vom Typ MK350 der Firma UPRTEK untersucht. Für die Jahre 2004–2010 lagen keine Daten zur Helligkeit von der Wetterstation vor, die Schwelle von Dunkelheit und Helligkeit wurde daher als Zeitpunkt des Sonnenauf- bzw. -untergangs definiert. Für die Jahre 2011-2015 lagen Helligkeitswerte von der Wetterstation vor und die Schwelle von Dunkelheit und Helligkeit wurde aufgrund von Literaturangaben (Palm 1988) auf 2000 lx festgelegt.

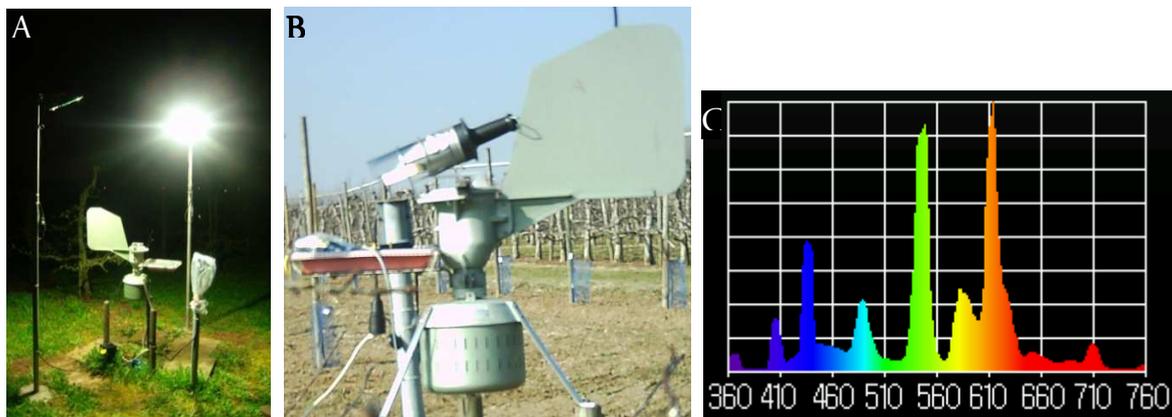


Abb. 14: Beleuchtung der Blattdepots an den Sporenfallen in den Versuchsjahren 2010 (A) und 2011-2012 (B) und das sichtbare Lichtspektrum (C) der verwendeten Energiesparlampe MEGAMAN CLUSTERLITE.

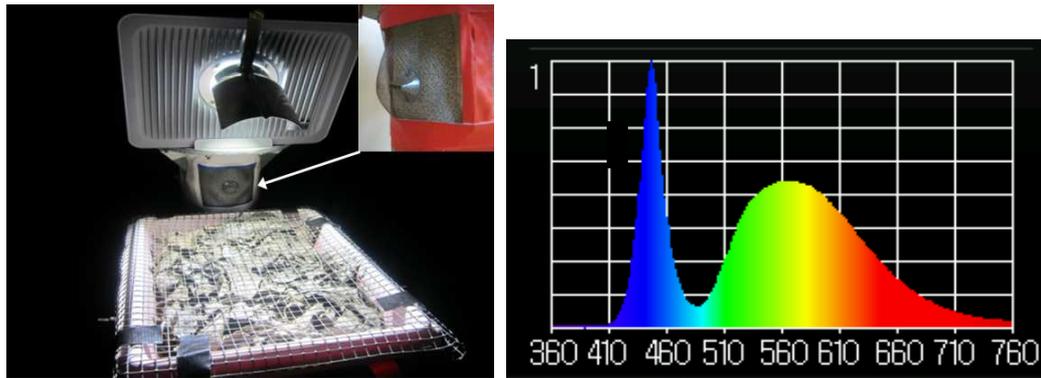


Abb. 15: Beleuchtung des Blattdepots an der Sporenfalle im Versuchsjahr 2013 mit geschützter Ansaugöffnung und das sichtbare Lichtspektrum des verwendeten LED-Strahlers von SYNGONIX.

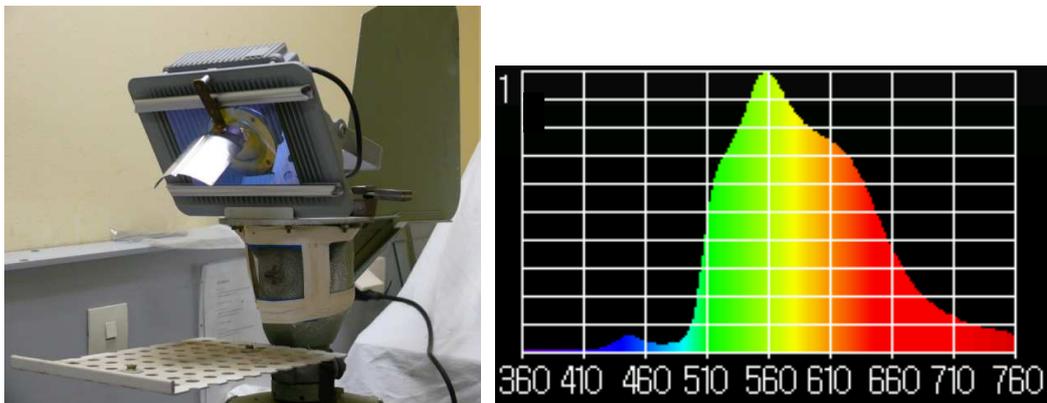


Abb. 16: Beleuchtung der Blattdepots an der Sporenfalle im Versuchsjahr 2014 und das sichtbare Lichtspektrum des verwendeten LED-Strahlers von SYNGONIX mit vorgelagertem Blaulicht-Glasfilter.

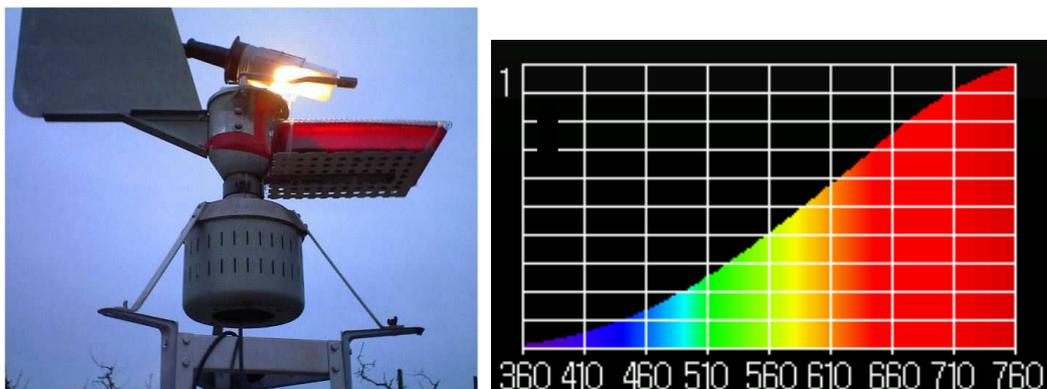


Abb. 17: Beleuchtung des Blattdepots an der Sporenfalle im Versuchsjahr 2015 und das sichtbare Lichtspektrum der verwendeten Glühbirne.

2.6.2 Belichtungsversuche mit der Wasserbadmethode

Für die Versuche im Labor wurde die Wasserbadmethode (s. 2.4.2) modifiziert. Die verwendeten Blätter wurden auf dem Boden einer Petrischale ausgelegt, so dass der Boden weitgehend bedeckt war, und anschließend durch ein Gitter (Edelstahl, Öffnungen 1 x1 mm) fixiert (s. Abb. 18). Die Fixierung hinderte die Blätter während der Versuche an einer freien Bewegung im Wasser und hielt sie in einer Orientierung. Die eingesetzte Wassermenge in den Petrischalen war 20 ml. Für die Versuche wurde ein Orbitalschüttler (Sea Star, HEATHROW SCIENTIFIC, Kreisbahndurchmesser 19 mm) verwendet, der vergleichbar mit früher verwendeten Schüttlern ist. Die Drehzahl wurde auf 90 rpm (rounds per minute) eingestellt. Die Proben wurden über Nacht bei Versuchstemperatur in einer feuchten Kammer (100 % RF) im Dunkeln inkubiert. Die Versuche selbst wurden jeweils über mindestens fünf Stunden unter konstanten Bedingungen durchgeführt (s. Abb. 19). Wenn nicht anders angegeben, waren dies 20 °C und 60 % RF sowie die Durchführung in einer Dunkelkammer mit Lichtschleuse, mit Ausnahme der Versuche im 4 °C Raum. Das verwendete Reinstwasser hatte jeweils die Temperatur des Versuchsraumes. Alle Versuchsvarianten wurden 10 fach wiederholt. Die Sporenkonzentrationen jeder Probe wurden stündlich aufsummiert (kumuliert). Das letzte Gesamtpotenzial (GP) wurde als 100% definiert. Es wurde jeweils ein Mittelwert aller Wiederholungen einer Versuchsanordnung gebildet und die Standardabweichung bestimmt. Zum Vergleich der einzelnen Versuchsvarianten wurde eine ANOVA zur statistischen Absicherung durchgeführt.

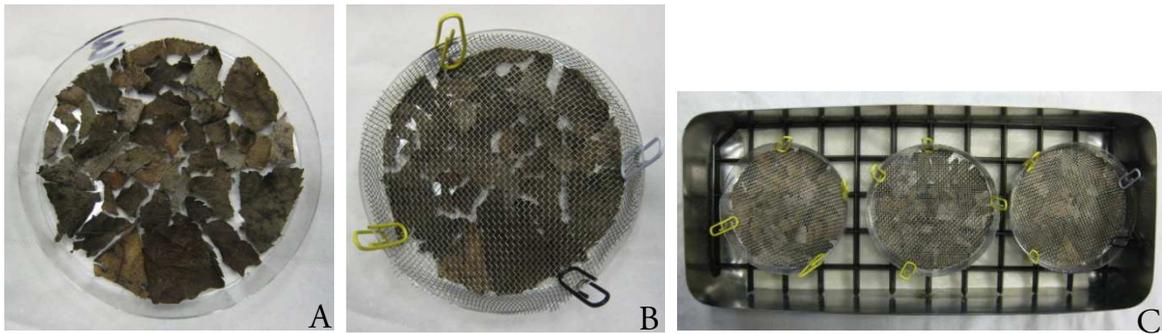


Abb. 18: Blätter für die modifizierte Wasserbadmethode zu den Versuchen zum Einfluss von Licht auf die Sporenausschleuderung. Eingelegt in die Petrischale (A), fixiert (B) und in der Inkubationsbox (C).

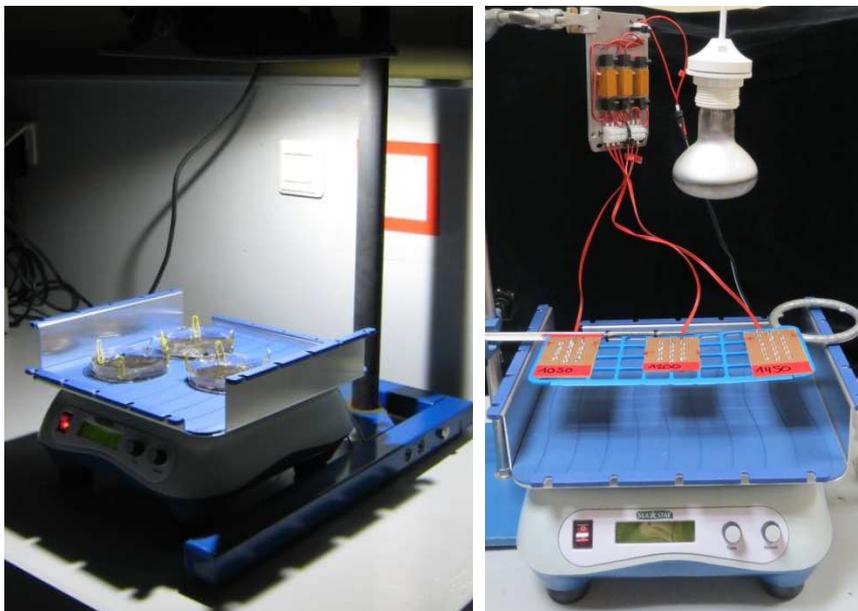


Abb. 19: Versuchsaufbau zum Einfluss von Licht auf die Sporenausschleuderung: Orbitalschüttler mit Proben mit SYNGONIX-LED-Beleuchtung und Anordnung zur Beleuchtung mit MARUBENI-IR-Dioden (s. 2.7.2.1), darüber die Glühbirne (rechts).

2.6.2.1 Verwendete Strahlungsquellen

Als Strahlungsquellen wurden im sichtbaren Lichtspektrum der SYNGONIX LED Flutlichtstrahler (s. 2.6.1), eine Kaltlichtleuchte (SCHOTT KL1500, 150 W, 3500 K), ein 730 nm-Strahler (PHILIPS GreenPower LED flowering lamp FR, 16 W) und eine Glühbirne (Reflektor, 60 W) verwendet (s. Abb. 20). Die Glühbirne wurde zusätzlich

durch eine Isolierglasscheibe (Zweifach-Wärmedämmglas SEMCO Star AR, 24 mm, einseitig zur Reflexion von solarer Energie beschichtet) gefiltert, um den enthaltenen infraroten Wellenlängenbereich (IR) abzuschwächen. Die Helligkeit wurde bei diesen Lichtquellen über den Abstand zur Probe im Bereich des sichtbaren Lichts einheitlich auf 6000 lx eingestellt, der 730 nm-Strahler wurde in der Intensität der Glühbirne angeglichen. Im nicht sichtbaren infraroten Bereich des Lichtspektrums wurden einzelne Wellenlängen mittels handelsüblicher Strahler mit 850 nm (ABUS TV6700, SYGONIX 25873A1) und 940 nm (IR Emitter KINGBRIGHT 940 nm, CONRAD ELECTRONICS SE) eingesetzt. In weiteren Versuchen wurden LEDs (MARUBENI L1050G-04, L1200-04, L1450-04, MUEVO UG, Wippenfürth) der Wellenlängen 1050 nm, 1200 nm und 1450 nm eingesetzt (s. Abb. 21). Die LEDs wurden auf einer Platine in Reihenschaltung verlötet und die so entstandenen einzelnen Strahlungsquellen jeweils mit einem Vorwiderstand versehen. Über ein Netzteil (Schaltnetzteil PROFITEC MW 7H50GS, CONRAD ELECTRONICS SE) wurde eine Spannung von 6 V angelegt. Um den infraroten Bereich der Sonnenstrahlung weitgehend mit einer Strahlungsquelle abzudecken, wurde die Glühbirne mit einem Infrarotfilter (Optische IR Langpassplastikfilter, EDMUND OPTICS) verwendet, der das sichtbare Licht bis etwa 700 nm blockiert und nur den infraroten Strahlungsanteil durchlässt. Nach jedem Versuchsdurchlauf wurden die Proben für eine Stunde mit der Glühbirne mit 6000 lx beleuchtet. Für die Messung der Lichtspektren im sichtbaren Bereich wurde das MK350 der Firma UPRTEK verwendet. Für die Messung einzelner Spektren im infraroten Bereich stellte die Firma OCEANOPTICS freundlicherweise kurzzeitig das Infrarotspektrometer NIRQUEST 512-2.2 zur Verfügung.

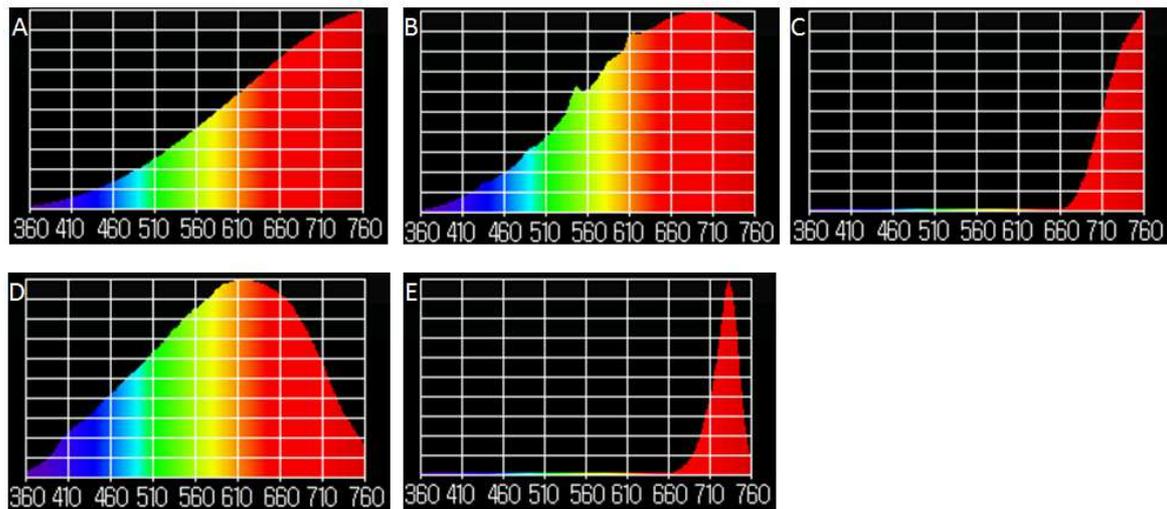


Abb. 20: Spektren im sichtbaren Bereich der verwendeten Glühbirne (A), der durch eine Glasscheibe gefilterten Glühbirne (B), der IR- gefilterten Glühbirne (C), der Kaltlichtleuchte (D), und des 730 nm-Strahlers (E).

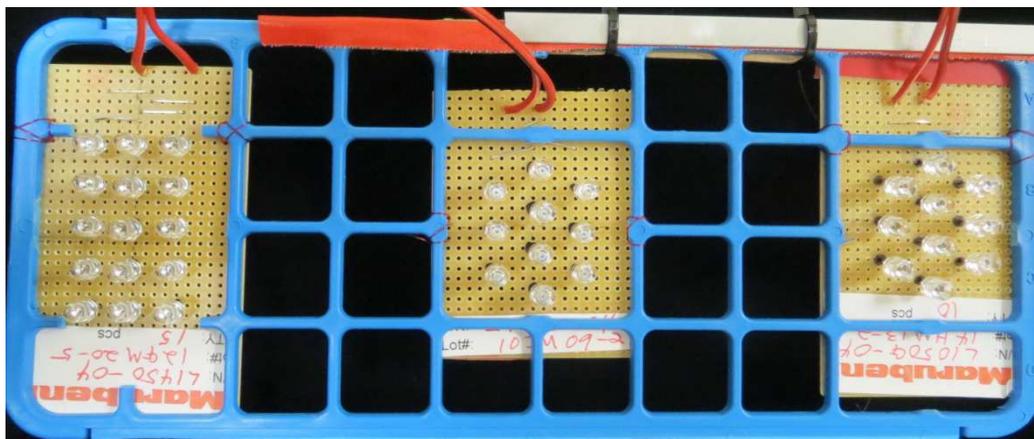
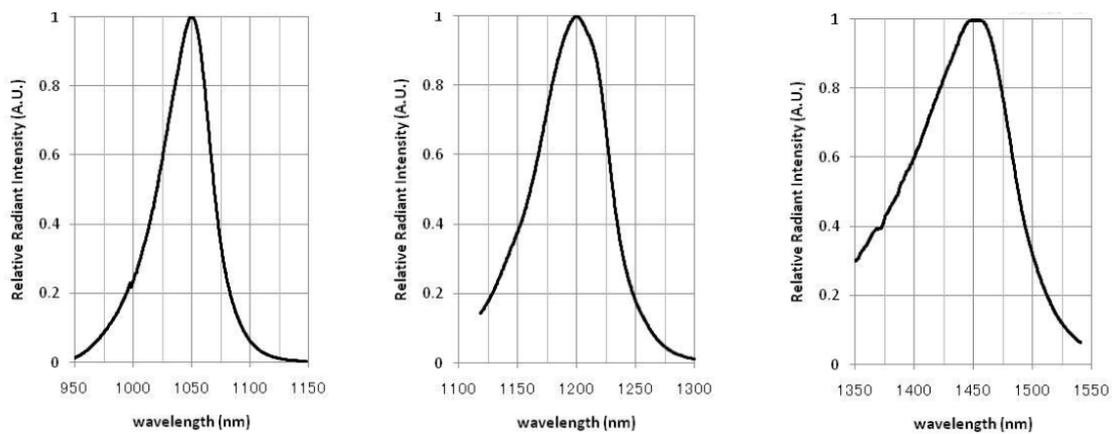


Abb. 21: Im nicht sichtbaren infraroten Bereich des Lichtspektrums verwendete selbstentworfene LED-Strahlungsquellen (unten) und ihre Spektren (oben).

2.6.2.2 Einfluss von Infrarotstrahlung und Wärme

Der größte Anteil der abgestrahlten Energie von Glühbirnen wird im infraroten Spektralbereich als Wärmestrahlung abgegeben (s. Abb. 22), wobei das Strahlungsmaximum bei etwa 1100 nm liegt. Durch den hohen Anteil an Infrarotstrahlung erwärmte die Glühbirne das Wasser in den Proben bei der verwendeten Helligkeit von 6000 lx. Der Anstieg der Probentemperatur über die Zeit und die Abhängigkeit der Probenerwärmung vom Abstand zur Glühbirne wurden in verschiedenen Messreihen ermittelt (s. Abb. 23). Für die Temperaturmessung wurde ein Infrarot-Thermometer (Voltcraft IR 1200-50D, CONRAD ELECTRONICS SE) verwendet.

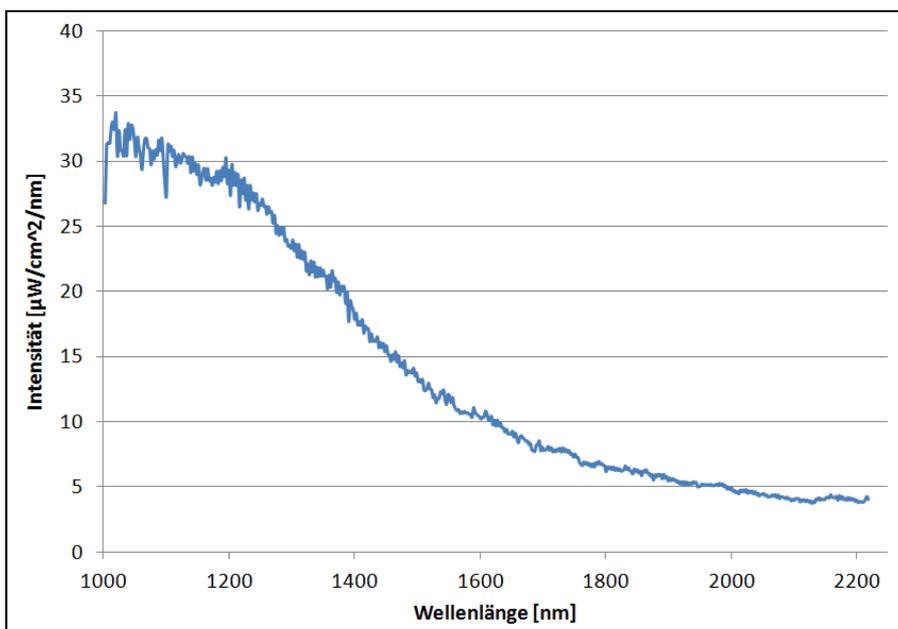


Abb. 22: Infrarotspektrum der 60 W Glühbirne bei einer Helligkeit von 6000 lx.

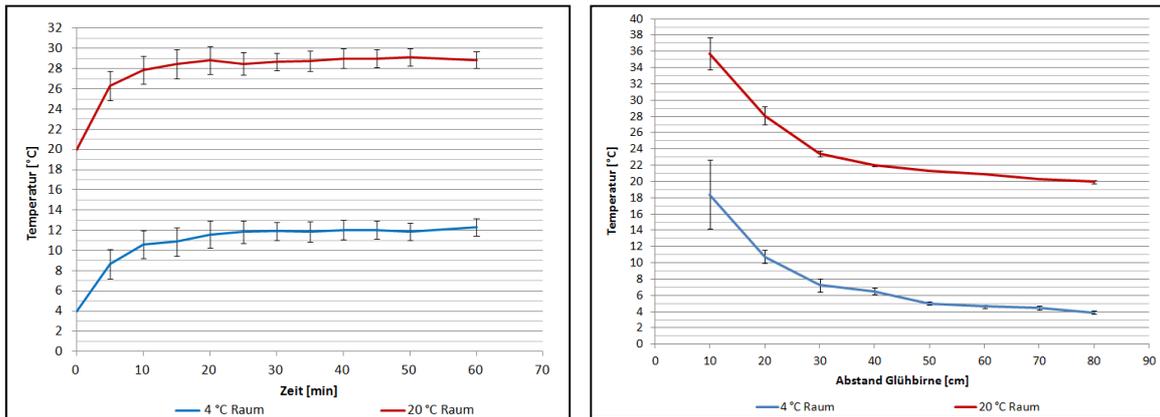


Abb. 23: Messreihen der Wassertemperatur in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit mit der Glühbirne im Abstand von 18 cm (6000 lx) und in Abhängigkeit vom Abstand zur Glühbirne nach 30 min Bestrahlung.

2.7 Einfluss des sichtbaren Lichts auf das Myzelwachstum

2.7.1 *Venturia inaequalis* - Isolat V1

In dieser Arbeit wurde, wenn nicht anders angegeben, das Isolat V1 von *Venturia inaequalis* verwendet. Es wurde ursprünglich als Einsporisolat (s. 2.7.2) aus einer Läsion gewonnen (Kollar 1994), bei -80 °C als Agarausstanzung (8 mm) erhalten und bei Bedarf bei 20 °C auf PDA (potatoe dextrose agar, DIFCO) für weitere Versuche kultiviert.

2.7.2 Herstellung eines Einsporisolats von *Venturia inaequalis*

Eine Schorfälsion an einem Apfelblatt aus dem Freiland wurde mit 10 µl sterilem Wasser abgewaschen, in 5 ml steriles Reinstwasser gegeben und zusätzlich wurden 1:10 und 1:100 Verdünnungen hergestellt. 200 µl jeder Lösung wurden auf PDA ausgestrichen. Die nach etwa 6 Tagen erkennbaren winzigen Myzelien wurden auf einzelne PDA-Platten übertragen. Hierzu wurde mit einem Lanzett das Agar-Stück ausgestochen und übertragen.

2.7.3 PDA- und Flüssigkulturen

Für die Durchführung der Myzelwachstumsversuche wurde das selbst hergestellte Isolat (s. 2.7.2) sowie das Isolat V1 (s. 2.7.1) von *V. inaequalis* auf PDA und in Flüssigmedium kultiviert. Myzelien wurden direkt nach dem Beimpfen von PDA-Medium mit einem mit Korkbohrer ausgestochenen Myzelstückes (8 mm) unter unterschiedlichen Lichtbedingungen (LL, LD, DD) kultiviert und ihr Wachstum nach 21 und 54 Tagen ausgewertet. Die Guttationstropfen wurden mit einer Pipette abgenommen, lyophilisiert und in 300 µl Reinstwasser aufgenommen. In einem Cup-test (s. 2.7.8) wurde die Pektinaseaktivität überprüft.

Für die Flüssigkulturen wurde ein definiertes Medium (MS) nach Murashige & Skoog (1962) verwendet, das mit 0,4 µg/ml Thiamin angereichert wurde (Kollar 1998b). Die Mikro- und Makronährstofflösungen (micro-, macronutrient solution, SIGMA) wurden nach Herstellerangaben, d.h. jeweils 10% des Gesamtvolumens, verwendet. Als einzige Kohlenhydratquelle wurden 2 % Glucose zugegeben. Die Versuche wurden mit 250 ml Medium bei statischer Inkubation mit einem Inokulum in Form eines mit Korkbohrer ausgestochenen Myzelstückes (8 mm) durchgeführt. Die Kulturen wurden für ca. 40 Tage bei 20 °C und den verschiedenen Lichtverhältnissen kultiviert. Es wurden je zwei Ansätze dem Dauerlicht (LED Flood light, 10 W, 5000 K), dem Dauerdunkel sowie einem Hell-Dunkelwechsel (16 Stunden Licht – 8 Stunden Dunkel) ausgesetzt.

2.7.4 Gewinnung der Kulturfiltrate und Myzelien

Nach einer Kulturdauer von 40 Tagen wurden die Kulturen über Miracloth (CALLBIOCHEM) filtriert. Das Kulturfiltrat wurde bei -18 °C tiefgefroren. Die Myzelien wurden mehrmals mit Reinstwasser gespült, tiefgefroren und gefriergetrocknet. Die Lyophilisate der einzelnen Myzelien aus den unterschiedlichen Lichtkulturen wurden mit einer Feinwaage gewogen. Das Kulturfiltrat wurde

unmittelbar nach dem Auftauen zur Entfernung von Schleimstoffen bei 0°C zentrifugiert (25 min bei 27000 g, BECKMANN Rotor JA-20.25), der Überstand tiefgefroren und anschließend lyophilisiert.

2.7.5 Ermittlung des Glucoseverbrauchs mittels HPLC-Analyse

Es wurde jeweils 1 ml des zentrifugierten Kulturfiltrates (s. 2.7.4) entnommen und mit 4 ml Ethanol auf eine 80 % Lösung aufgefüllt. Um die Verlustrate während der Aufarbeitungsschritte zu bestimmen, wurde jeder Probe ein interner Standard von 10 mg/ml Sorbit (SERVA) zugegeben. Anschließend wurde nochmals zentrifugiert (15 min bei 2500 g, BECKMANN Ausschwingrotor). Der Überstand wurde mit 5 ml Reinstwasser aufgefüllt, bei -80°C eingefroren und anschließend lyophilisiert. Die Lyophilisate wurden je in 1 ml Reinstwasser aufgenommen. Um die HPLC-Säule (HPX 87C, Kationenaustauschersäule auf Polystyrolbasis) zu schonen, wurden die schwach- bis mittelpolaren Substanzen mit einer CN-Vorsäule (Cyanopropyl-modifiziertes Kieselgel, 1 ml/ 100 mg, CHROMABOND) aus den Proben herausgelöst. Die CN-Vorsäule wurde mit 1 ml Reinstwasser vorkonditioniert. Anschließend wurde 1 ml Probe tropfenweise aufgetragen und mittels Schwerkraft eluiert. Das Eluat wurde in einem Eppendorfgefäß aufgefangen und zentrifugiert (Porsche 2015). Die stark polaren Zucker blieben in der wässrigen Phase erhalten. Anschließend wurden die Proben über einen Sterilfilter gereinigt. Für die Analysen wurde ein HPLC-System mit einer Hochdruckpumpe (BECKMANN, 112 Solvent Delivery Module) verwendet. Die zu analysierenden Proben wurden über ein Injektionsventil (RHEODYNE, 7125) in die Probenschleife (KNAUER) eingespritzt, die ein Volumen von 10 µl aufwies. Daran schlossen sich die Vorsäule, die spezifische Trennsäule und ein RI-Detektor (KNAUER, Differential-Refraktometer) an. Die Probenschleife und die Säulen befanden sich in einem beheizbaren Säulenofen (KNAUER). Die Analyse der Chromatogramme erfolgte mit der Auswertesoftware Apex Clarity™, 3.0 (DR. R. FORCHE

CHROMATOGRAPHY, Moers). Für die Analyse wurde die Säule Aminex® PX 87C (BIO RAD, 7,8 x 300 mm) verwendet. Das Trennmateriale stellen Kationenaustauscherharzpartikel (9 µm) auf Polystyrolbasis dar. Die Auftrennung erfolgte bei einer Flussrate von 0,35 ml/min und einer Temperatur von 85 °C, der Druck betrug ca. 25 bar. Als Eluent wurde steril filtriertes Reinstwasser verwendet (Porsche 2015). Die Ergebnisse wurden mit einem Zuckerstandard (s. Abb. 24) abgeglichen.

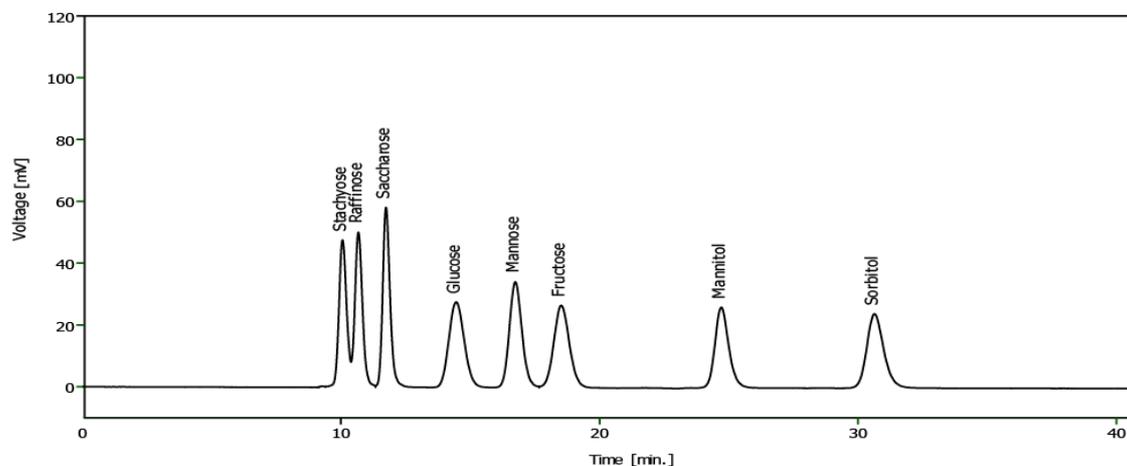


Abb. 24: Für die HPLC-Analysen verwendeter Zuckerstandard.

2.7.6 Bestimmung der Proteinkonzentration nach Bradford

Die Proteingehalte der Proben wurden mit der Methode nach Bradford (1976) bestimmt. Diese kalorimetrische Methode zur Konzentrationsbestimmung von Proteinen beruht auf der Verschiebung des Absorptionsmaximums von Coomassie-Brillant blau im sauren Milieu von 470 nm im ungebundenen Zustand nach 595 nm im gebundenen Zustand. Zur Erstellung der Kalibrierungsgeraden wurde Rinderserumalbumin (BSA, MW 67000, SERVA) verwendet. Es wurden sowohl Aliquote des ursprünglichen Kulturfiltrats als auch aufkonzentrierte Proben eingesetzt. Vom Kulturfiltrat und den Standards wurden 800 µl mit jeweils 200 µl Reagenz (BIO-

RAD) versetzt. Die entsalzten Proben wurden mit Reinstwasser auf 800 µl gebracht und 200 µl Reagenz (BIO-RAD) zugegeben. Die Proben und Standards wurden in Halb-Micro-Küvetten aus Polyacryl (10 x 4 x 45 mm, SARSTEDT) überführt. Nach 20 min wurde der Proteingehalt am Photometer (Specord 200, ANALYTIK JENA) bei 595 nm gemessen.

2.7.7 Ammoniumsulfatfällung der Kulturfiltrate

Die Fällung der Kulturfiltratproteine wurde mit einer fraktionierten Ammoniumsulfatfällung erreicht (Kollar 1994, 1998). Die mit jeweils 8 ml Reinstwasser aufgenommenen Lyophilisate der Kulturfiltrate (s. 2.7.4) wurden 30 min auf Eis inkubiert und anschließend 25 min bei 4 °C zentrifugiert (27000 g, BECKMANN Rotor JA-20.25). Der Überstand wurde jeweils mit 8 ml gesättigter Ammoniumsulfatlösung (4,1 M) versetzt und 20 min auf Eis inkubiert. Nach der anschließenden 10-minütigen Zentrifugation (wie oben) wurde dem Überstand jeweils 24 ml der Ammoniumsulfatlösung zugegeben und auf Eis inkubiert. Nach ca. 90-minütiger Inkubation wurde nochmals 10 min wie oben zentrifugiert und der Überstand verworfen. Das Pellet wurde mit 1 ml Reinstwasser aufgenommen und tiefgefroren.

2.7.8 Halb-quantitativer Nachweis von Pektinasen

Der Nachweis von Pektinasen in den Kulturfiltraten wurde durch deren Aktivität beim Abbau von Pektin in Agarosegel nachgewiesen (Golba 2001). Hierzu wurden in 100 ml Reinstwasser 1,025 g Citronensäure-1-hydrat und 1,8 g Dinatriumhydrogenphosphat-2-hydrat gegeben (pH = 5). Nach der Zugabe von 0,2 g Citrus-Pektin (SIGMA), 0,025 g Polygalakturonsäure-Na-Salz (SIGMA) und 0,75 g Agarose wurde der Ansatz kurz aufgeköcht. Nach dem Abkühlen auf etwa 60 °C wurde der Substratagar in eine quadratische Petrischale (120 x 120 x 17 cm) gegossen und ein

Cup-Former aufgesetzt. Dieser wurde nach dem vollständigen Abkühlen vorsichtig entfernt. Die so entstandenen Vertiefungen hatten ein Volumen von etwa 100 µl. Von den durch die Ammoniumsulfatfällung erzeugten Pektinasepräparationen der Kulturfiltrate wurden die Cups gefüllt, bis sich die Flüssigkeitsmenge uhrglasförmig vom Rand nach unten darstellte. Die Proben wurden direkt und in Verdünnung mit Reinstwasser (1:2, 1:5, 1:10) aufgetragen. Unbenutzte Cups wurden als Kontrolle mit Reinstwasser gefüllt. Die Ansätze wurden 24 h bei 20 °C inkubiert und danach mit 1 % Cetyltrimethyl-Ammoniumbromid (CTAB) überschichtet, das durch die Reaktion mit Polygalakturonsäure einen weißen Niederschlag bildete. In den Abbauzonen bildete sich kein weißer Niederschlag und so blieben die Hydrolysezonen als klare Höfe bestehen. Der Radius der Hydrolysezonen wurde etwa 20 h nach dem Überschichten gemessen.

2.7.9 Isoelektrische Fokussierung (IEF) von Kulturfiltratproteinen

Von der Probe des in 1 ml Reinstwasser aufgenommenen Pellets der Ammoniumsulfatfällung (s. 2.7.7) wurden 200 µl entnommen. Die für die isoelektrische Fokussierung notwendige Entsalzung wurde durch die Filtration für etwa 1 h über einen Zentrifugationsultrafilter (Amicon Ultra - 0,5 ml, Millipore, 3000 NMWL) bei 4 °C und 10000 rpm (Biofuge fresco, HERAEUS) erreicht. Nach dem Aufkonzentrieren der Probe wurde noch zweimal mit 200 µl Reinstwasser filtriert. Der Rückstand von ca. 25 µl wurde aufgenommen und tiefgefroren.

Für die Auftrennung der Proteine nach ihren isoelektrischen Punkten wurden ultradünne Polyacrylamidgele (Servalyt Precotes, Serva, 125 x 125 mm) mit einem pH-Bereich von 3-10 verwendet. Die Elektrophorese wurde in der IsoBox HE 950 bei 4 °C durchgeführt. Vor dem Auflegen des Gels wurde eine dünne Schicht Bayol F als Wärmeübertragungsflüssigkeit auf dem Kühlblock verteilt. Nach dem Auflegen des Gels wurden die Elektrodendochte aufgelegt und mit entsprechender Pufferlösung

(Serva) getränkt. Als Anodenpuffer wurde Fluid 3 (0,024 M L-Asparaginsäure, 0,025 M L-Glutaminsäure) verwendet, als Kathodenpuffer Fluid 10 (0,022 M L-Arginin, 0,022 M Lysin, 0,12 M Ethylendiamin) eingesetzt. Danach wurden die Elektroden mit leichtem Druck auf die Elektrodendochte gepresst und mit einer Glasplatte (300 g) beschwert. 10 µl der Proben wurden an der Anode mittels eines Applikatorstreifens aufgetragen. Am Gerät wurde eine Stromstärke von 4 mA eingestellt, die Höchstspannung wurde auf 2000 V, die Leistung auf 6 W begrenzt. Die Laufzeit wurde ca. 30 min nach Erreichen der 2000 V oder spätestens nach vier Stunden beendet.

2.7.10 Zymogramme

Für die Zymogramme wurde jeweils ein Agarosegel entsprechend der Zusammensetzung für den halbquantitativen Pektinase-Nachweis (s. 2.7.8) gegossen. Für die Pektinasezymogramme wurde das IEF-Gel mit der Gelseite nach unten für 1 h auf der erkalteten Agarplatte bei Raumtemperatur aufgelegt und diese anschließend nach der Entfernung des Gels über Nacht bei 20°C inkubiert. Am nächsten Morgen wurde die Substratagarplatte mit 1 % CTAB gefärbt.

2.7.11 Coomassiefärbung der Proteine

Die Gele wurden für 30 min mit 20 % Trichloressigsäure (TCA) fixiert und danach zweimal kurz mit Reinstwasser gewaschen. Für die anschließende Färbung wurden die Gele für 10 min in eine Lösung aus einem Teil 0,2 % Coomassie in Methanol und einem Teil 20 %-ige Essigsäure gelegt. Überschüssiger Farbstoff wurde durch mehrfaches Waschen mit einer Lösung von 20 % Methanol und 10 % Essigsäure entfernt. Während der gesamten Einwirkzeit wurden die Gele auf dem Schüttler leicht geschwenkt, um eine gleichmäßige Benetzung der Geloberfläche zu gewährleisten.

2.8 In silico Sequenzabgleich von Photorezeptoren verschiedener Pilze mit *Venturia inaequalis*

Die Genomsequenz von *Venturia inaequalis* wurde bisher nicht veröffentlicht, wurde aber freundlicherweise von Dr. Bruno Le Cam, *Institut National de la Recherche Agronomique* (INRA), *Universität d'Angers*, zur Verfügung gestellt, ebenso die aus der Genomsequenz abgeleiteten zugehörigen Proteinprimärstrukturen. Die Annotation der letzten Assemblierung im Oktober 2010 (Version 4) beinhaltete 2444 *Scaffolds* und 9116 *Contigs*. Mit dem Report System *EuGene* wurden insgesamt 10426 vermutliche Gene festgestellt. Anhand der Primärstruktur der Proteine wurde über BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) eine Suche mit dem Parameter BlastP durchgeführt. Hierzu wurden die FASTA-Sequenzen bekannter und nachgewiesener Lichtrezeptoren verschiedener Pilze verwendet und im Genom von *Venturia inaequalis* nach Homologen gesucht. Verwendet wurden folgende Sequenzen: Phototropin: NCU02356 (*Neurospora crassa* WC-1), NCU00902 (*Neurospora crassa* WC-2); Cryptochrom: NCU00582 (*Neurospora crassa* Cry-A); Phytochrom: ANIA_09008 (*Aspergillus nidulans* FphA); Rhodopsin: NCU10055 (*Neurospora crassa* NOP-1). Wurde bei *V. inaequalis* ein Homolog gefunden, so wurde für dieses Protein eine reverse Suche (Datenbank nr – *Non-redundant protein-sequences*, Standardparameter) durchgeführt, um das Ergebnis so weit wie möglich abzusichern. Die gefundenen Rezeptoren wurden auf ihre Domänenstruktur hin betrachtet.

3. Ergebnisse

3.1 Vergleich käuflicher Blattnässesensoren

3.1.1 Alterungserscheinungen der Sensoren

Die Sensoren zeigten nach drei Jahren unterschiedlich starke Alterungserscheinungen. Die geringsten Spuren in Form vereinzelter, leichter Korrosionen zeigten die vliesbasierten Sensoren. Die DECAGON-Sensoren wiesen innerhalb der kapazitiven Sensoren die geringsten Alterungserscheinungen auf. Die Sensoren der Firma ADCON waren innerhalb der Untersuchungszeit anfällig für eine Korrosion der Leiterbahnen (s. Abb. 25). Die Sensoren der Firma HOFFMANN zeigten Ermüdungserscheinungen im Kunststoff. Eine wesentliche Beeinflussung der Messergebnisse durch die Alterungserscheinungen wurde nicht festgestellt.

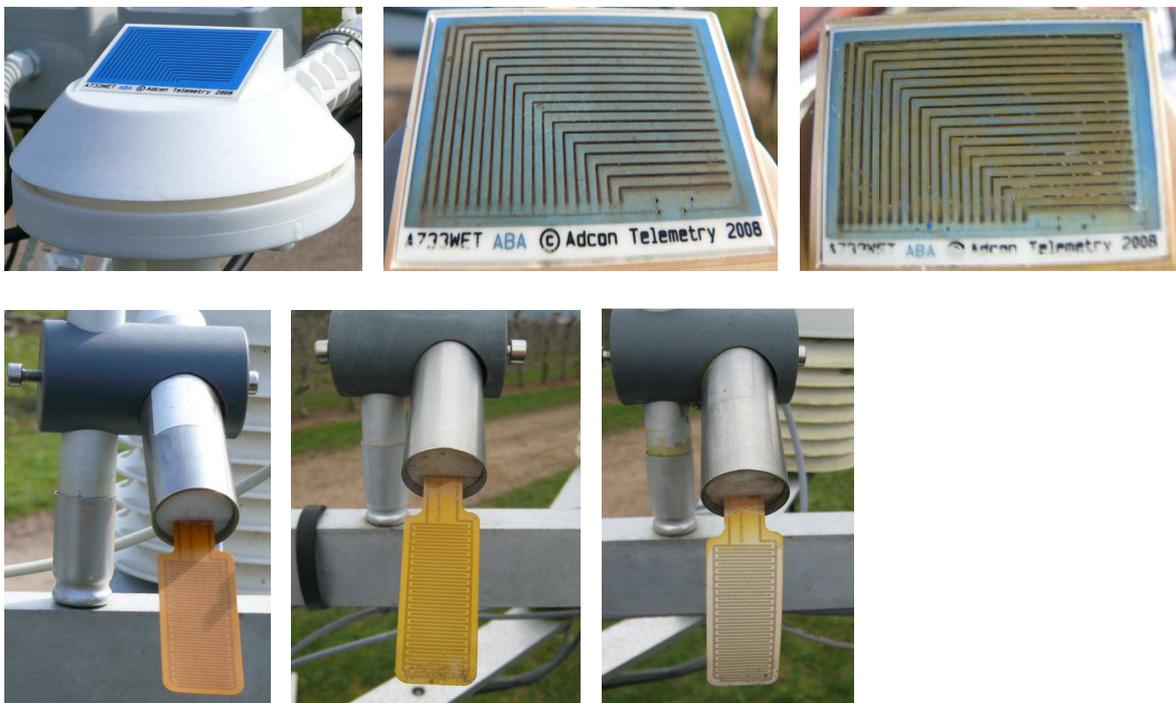


Abb. 25: Alterungserscheinungen der ADCON- (oben) und HOFFMANN-Sensoren (unten) innerhalb von drei Jahren.

3.1.2 Vergleich der angezeigten Blattnässedauer über den gesamten Messzeitraum

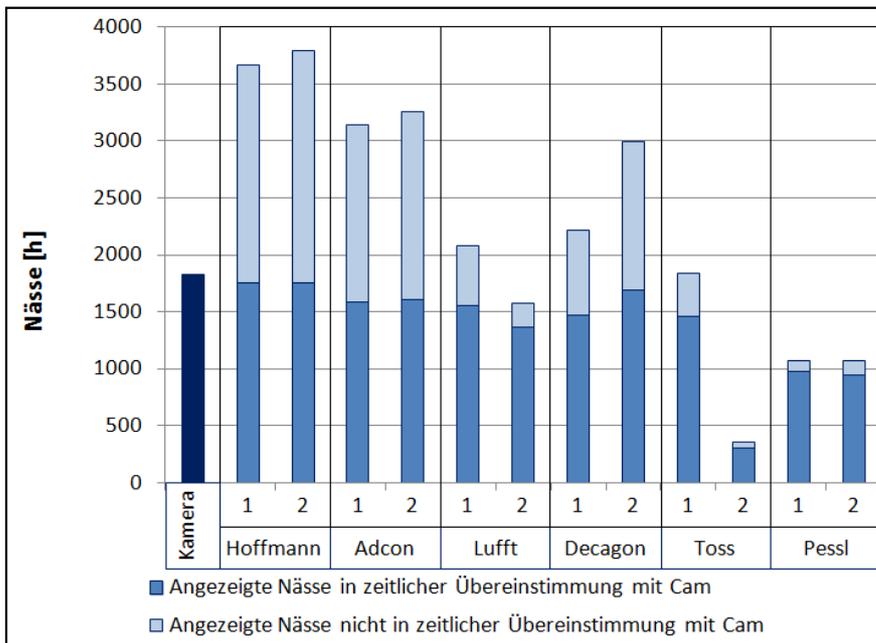


Abb. 26: Nässeanzeige der Sensoren mit und ohne Übereinstimmung mit der Kamera bezogen auf den Zeitraum der angezeigten Nässe, aufsummiert über 541 Tage. Verwendet wurden jeweils zwei Sensoren (1 und 2) eines Herstellers. DECAGON 2 mit 10 % Neigungswinkel.

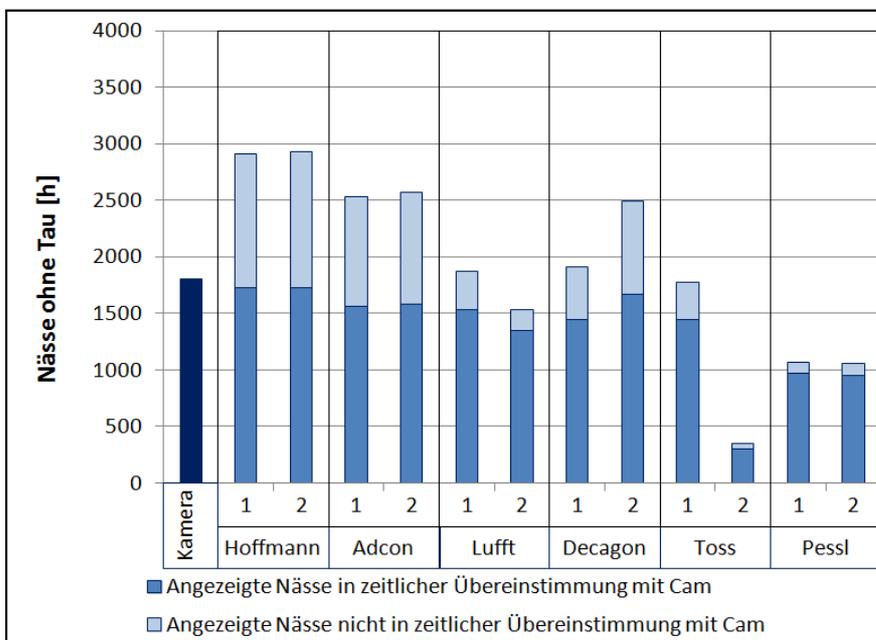


Abb. 27: Nässeanzeige der Sensoren ohne Nässezeiten durch Tau mit und ohne Übereinstimmung mit der Kamera bezogen auf den Zeitraum der angezeigten Nässe, aufsummiert über 541 Tage. Verwendet wurden jeweils zwei Sensoren (1 und 2) eines Herstellers. DECAGON 2 mit 10 % Neigungswinkel.

Im Vergleich über den gesamten Untersuchungszeitraum wurde die tatsächliche, über die Kamera registrierte Blattnäse als Referenz verwendet. Die von den Sensoren angezeigte Nässe entsprach nicht immer der realen durch die Kamera beobachteten Blattnäse (s. Abb. 26). Der Beginn der angezeigten Nässe war bei Blättern und Sensoren meist identisch mit Regenbeginn, die Sensoren aller Modelle trockneten im gesamten Vergleich zu den Blättern schneller ab und zeigten kürzere Blattnassperioden an. Die größten Abweichungen zu den Kameradaten im gesamten Vergleich wurden bei den PESSL-Sensoren und dem Sensor TOSS 2 festgestellt, die Sensoren der Firma HOFFMANN zeigten die größte Übereinstimmung mit den Messwerten der Kameras bezogen auf die zeitliche Übereinstimmung, darüber hinaus jedoch auch die größte Anzahl an Nässestunden, die von der Kamera nicht registriert wurden und von den Sensoren zusätzlich angezeigt wurden. Bei den einzelnen Sensoren der gleichen Modelle der Firma TOSS gab es untereinander erhebliche Abweichungen. Die LUFFT-Sensoren wiesen untereinander geringe Abweichungen auf. Die Sensorpaare von HOFFMANN, ADCON und PESSL stimmten weitgehend überein. Die Daten der DECAGON-Sensoren waren vermutlich aufgrund der verschiedenen Neigungswinkel (s. 3.1.3) unterschiedlich. Unter Berücksichtigung der Nässezeiten durch Tau gab es über den gesamten Messzeitraum von 541 Tagen bei den kapazitiven Sensoren HOFFMANN, ADCON und DECAGON Abweichungen von bis zu 25 %. Die Anzeigen von Tau waren meist zusätzliche Nässezeiten, die von der Kamera nicht angezeigt wurden (s. Abb. 27). Die Sensoren zeigten jedoch weitere zusätzliche Nässeereignisse an, die durch die Kamera nicht dokumentiert wurden. Diese waren nur zu einem geringen Teil durch Tau verursacht. Am häufigsten wichen die angezeigten Nässezeiten bei den Sensoren HOFFMANN, ADCON und DECAGON 2 von der tatsächlichen Blattnäse ab. Die geringsten Werte zeigten die Sensoren TOSS 2 und PESSL.

3.1.3 Vergleich der DECAGON-Sensoren bei unterschiedlichem Neigungswinkel

Für die Sensoren der Firma Decagon gab es keine Herstellerangabe zum Neigungswinkel bei der Installation. Bei der Anbringung der Sensoren in einem Neigungswinkel von 40° waren die angezeigten Nässeereignisse nach zehn Monaten nahezu identisch (s. Abb. 28). Die Varianz innerhalb dieser Baureihe war bei gleichem Neigungswinkel gering. Der Anteil an registrierten Nässezeiten bei DECAGON 2 war mit 10° Neigungswinkel im Vergleich zu DECAGON 1 um etwa 30 % erhöht (s. Abb. 28).

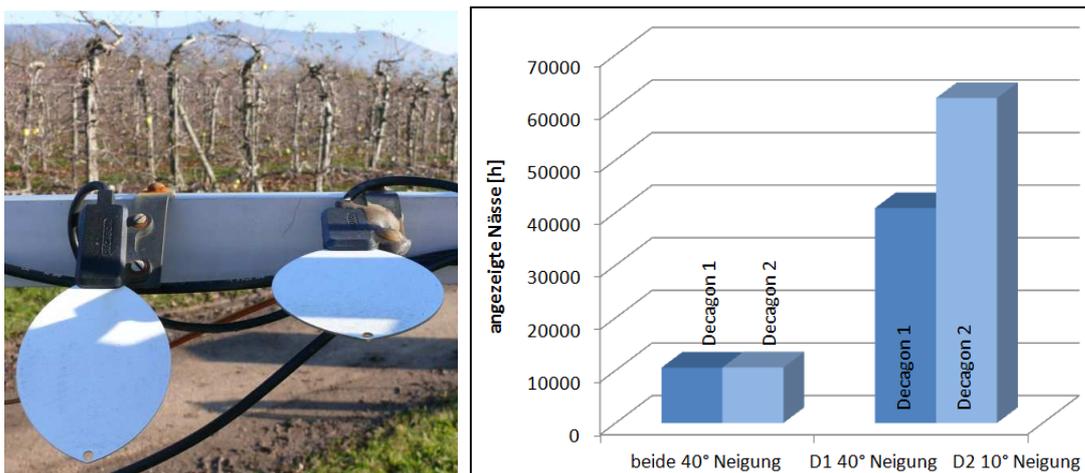


Abb. 28: Mit unterschiedlichen Neigungswinkeln angebrachte DECAGON Sensoren (links) und die Auswirkungen auf die angezeigte Blattnassdauer (rechts).

3.1.4 Vergleich der angezeigten Blattnässedauern für die Prognose in der Primärsaison

Die Blattnässesensoren für die Schorfprognose wurden in der Zeit der Primärsaison der Jahre 2012 und 2013 im Zusammenhang mit den erfolgten Infektionen aus dem Freiland (Bioassay) untersucht. Die mit den Werten der verschiedenen Sensoren berechneten Mills-Infektionen in den Jahren 2012 und 2013 werden in Abb. 29 dargestellt. Die Berücksichtigung von Nässeunterbrechungen von bis zu 8 Stunden

veränderte die vorhergesagte Anzahl an Infektionen. Ohne deren Berücksichtigung konnte kein Sensor alle über das Freiland-Bioassay ermittelten Infektionstermine (s. 2.5) anzeigen. Mit deren Berücksichtigung zeigten die HOFFMANN-Sensoren in beiden Jahren alle Infektionstermine an und darüber hinaus noch zusätzliche „nicht reale“ Infektionen. Im Jahr 2013 gab der Sensor LUFFT 1 alle Infektionstermine an.



Abb. 29: Vergleich der Anzahl der angezeigten Infektionstermine von *Venturia inaequalis* der verschiedenen Blattnässesensoren in der Primärsaison der Jahre 2012 und 2013 ohne Berücksichtigung von Blattnassunterbrechungen von bis zu acht Stunden (links) und mit Berücksichtigung (rechts), inkl. Tauzeiten. Verwendet wurden jeweils zwei Sensoren eines Herstellers. Schwarze Linie: tatsächliche Anzahl an Infektionsterminen aus dem Freiland-Bioassay.

Bei der Vernachlässigung der Nässezeiten, die durch Tau verursacht wurden, nahmen bei den Sensoren HOFFMANN, DECAGON 2, ADCON 1 und TOSS 1 die zusätzlich angezeigten (nicht realen) Infektionstermine um ein bis zwei Termine ab (o. Abb.).

Die Anzahl der Infektionen, die zusätzlich zu den realen Infektionen von den Sensoren angezeigt wurden, war bei einer Berücksichtigung von Blattnassunterbrechungen von bis zu acht Stunden im Jahr 2012 insgesamt höher als 2013 (s. Abb. 30). Die HOFFMANN-Sensoren meldeten alle realen Infektionstermine sowie weitere, die im Freiland nicht zu einer Infektion führten. Die zusätzlich angezeigten Infektionstermine waren leichte bis mittlere Infektionen, nur im Jahr 2013 wurde eine schwere nicht reale Infektion gemeldet. Die Sensoren der Firma LUFFT registrierten im Jahr 2012 bis zu 50 % (LUFFT 2) der realen Infektionen nicht. LUFFT 1 erkannte 2012 acht von zehn Infektionen, im Jahr 2013 wurden von diesem Sensor alle Infektionen angezeigt. LUFFT 2 zeigte im Jahr 2013 nur einen Infektionstermin nicht an. Die LUFFT-Sensoren gaben über die realen Infektionen hinaus weitere Termine an. Bei den Sensoren DECAGON 1 und ADCON 1 und 2 wurden in keinem Jahr zusätzliche Infektionstermine angegeben und es wurden nicht alle realen Infektionen erfasst. Die Sensoren der Firmen PESSL und TOSS meldeten 60-100 % der realen Infektionen nicht. Bei der Erfassung der realen Blattnässe durch die Kamera wurden 70-90 % aller realen Infektionstermine registriert.



Abb. 30: Vergleich der Anzahl der angezeigten Infektionstermine von *Venturia inaequalis* der verschiedenen Blattnässeensoren in der Primärsaison der Jahre 2012 und 2013 mit Betrachtung der Schwere der zusätzlich angezeigten Infektionen mit Berücksichtigung von Blattnassunterbrechungen von bis zu acht Stunden inkl. Tauzeiten (links) und der nicht angezeigten Infektionstermine inkl. Tauzeiten (rechts). Verwendet wurden jeweils zwei Sensoren eines Herstellers. Schwarze Linie: tatsächliche Anzahl an Infektionen aus dem Freiland-Bioassay.

Die Anzahl der Infektionen, die zusätzlich zu den realen Infektionen von den Sensoren angezeigt wurden, war ohne Berücksichtigung von Blattnassunterbrechungen im Jahr 2013 insgesamt höher als 2012 (s. Abb. 31). In beiden Jahren hat kein Sensor alle realen Infektionen gemeldet. Der Anteil der nicht gemeldeten Infektionen war deutlich erhöht im Vergleich zu den Werten mit Berücksichtigung von Blattnassunterbrechungen bis zu 8 h.

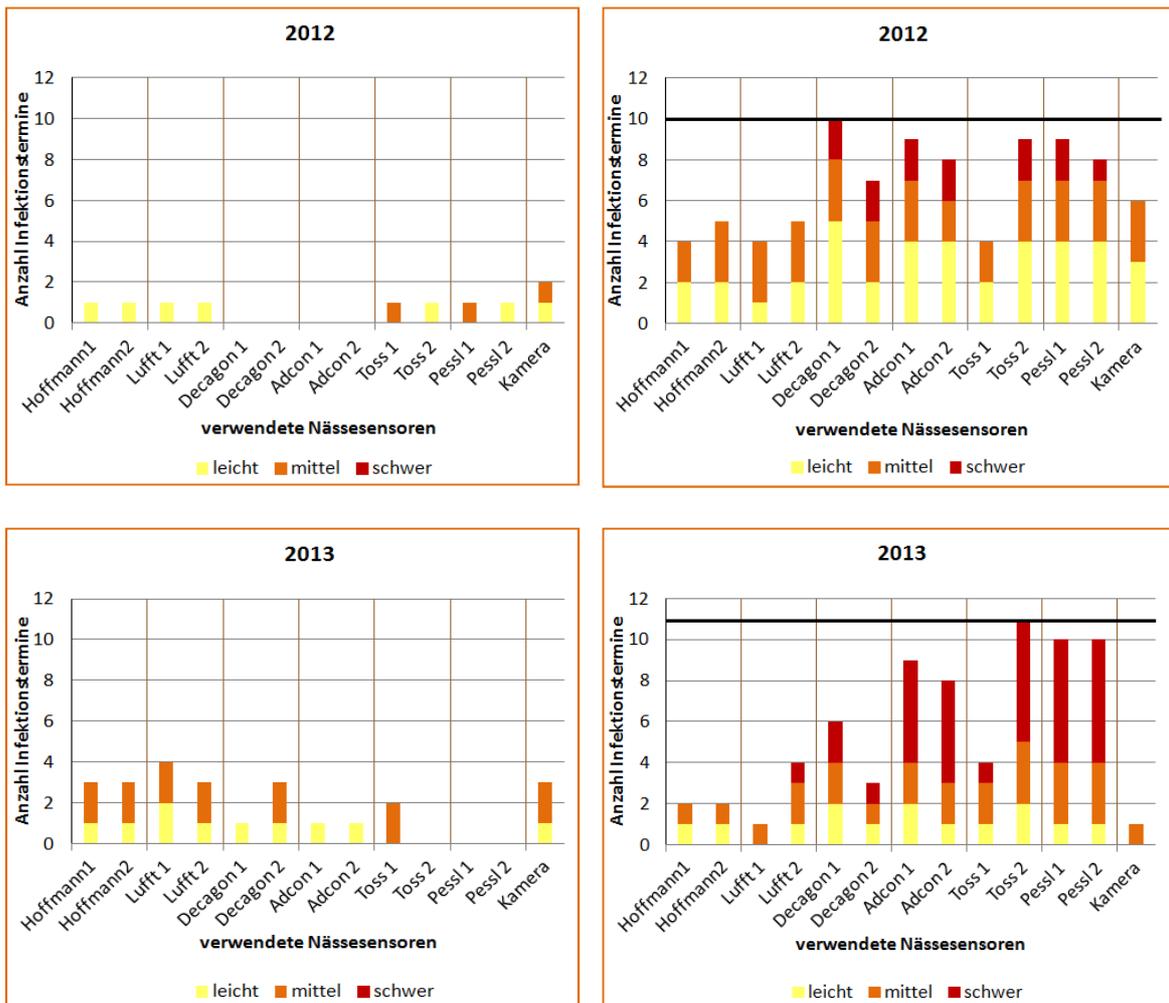


Abb. 31: Vergleich der Anzahl der angezeigten Infektionstermine von *Venturia inaequalis* der verschiedenen Blattnässesensoren in der Primärsaison der Jahre 2012 und 2013 mit Betrachtung der Schwere der zusätzlich angezeigten (links) und der nicht angezeigten (rechts) Infektionen ohne Berücksichtigung von Blattnassunterbrechungen von bis zu acht Stunden, inkl. Tauzeiten. Verwendet wurden jeweils zwei Sensoren eines Herstellers. Schwarze Linie: tatsächliche Anzahl an Infektionen aus dem Freiland-Bioassay.

Die Werte der HOFFMANN- und LUFFT-Sensoren sowie der marktreifen Prototypen der Fa. THIES in der Primärsaison 2015 zeigt Abb. 32. Die Sensoren der Firma HOFFMANN meldeten - ohne Berücksichtigung von Nässeunterbrechungen von bis zu 8 h - alle Infektionen. Die LUFFT-Sensoren registrierten unter diesen Bedingungen nicht alle Infektionen. Die neuen Prototypen der Firma THIES (Prototyp 7 a-c) zeigten alle Infektionen an und waren innerhalb der Modellreihe vergleichbar.

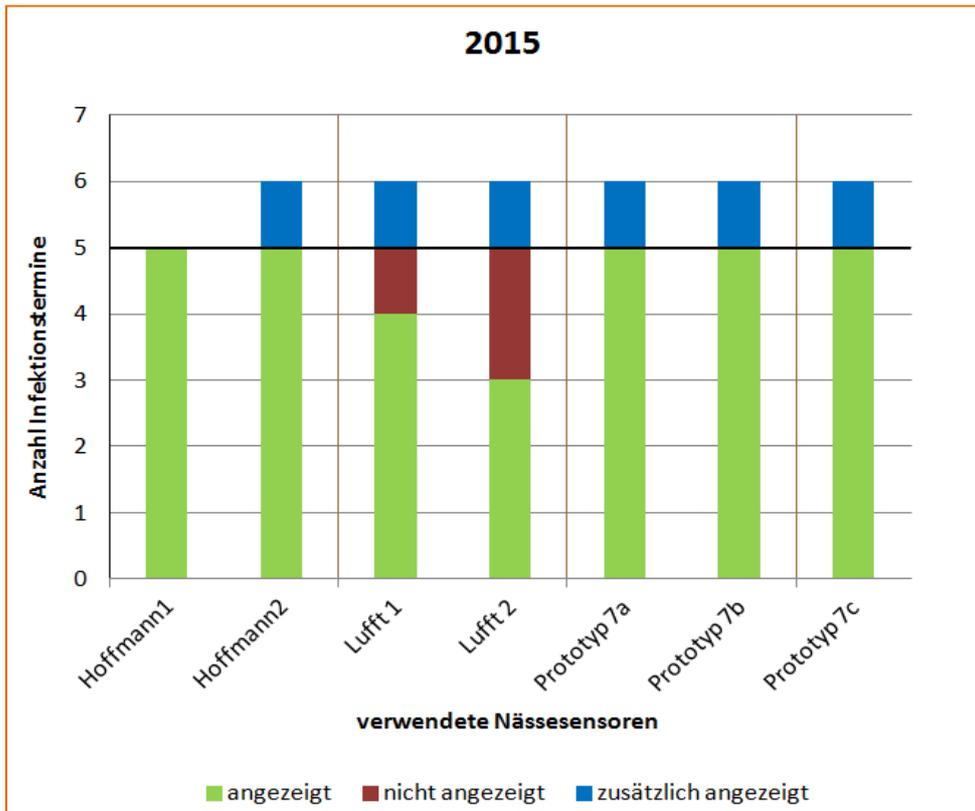


Abb. 32: Vergleich der Blattnässeensoren in der Primärsaison 2015 ohne Berücksichtigung von Blattnassunterbrechungen. Verwendet wurden jeweils zwei Sensoren der Firma HOFFMANN und LUFFT. Schwarze Linie: tatsächliche Anzahl an Infektionsterminen von *Venturia inaequalis* aus dem Freiland-Bioassay.

3.2 Technische Entwicklung und biologische Validierung eines neuen kapazitiven Blattnässeensensors

Der erste Prototyp im Jahr 2009 war ein einfach gehaltener kapazitiver Sensor ohne Einbettung. Aufgrund der zunehmenden Korrosion wurde bei der Entwicklung des neuen Prototyps im Jahr 2010 eine keramische Einbettung der Leiterbahnen vorgenommen. Diese reduzierte die Korrosion beim Prototyp 2 im Jahr 2010, die Oberfläche stellte sich jedoch als wenig witterungsbeständig heraus (s. Abb. 33).

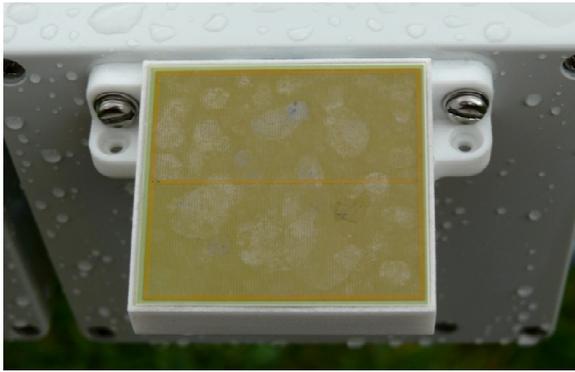


Abb. 33: Sensorfläche des Prototyps 2010 mit Veränderungen der keramischen Oberfläche.

Die im Jahr 2011 bei Prototyp 3 erstmals eingesetzte glaskeramische Einbettung der Leiterbahnen hat sich im Freiland als dauerhaft, korrosionsschützend für die Leiterbahnen und gering verschmutzend bewährt. Durch die Einbettung der Leiterbahnen zeigte der Sensor eine gute Wärmeleitfähigkeit mit der Option von schnellen Änderungen der Oberflächentemperatur. Die glaskeramische Oberfläche war wartungsfrei, abgesehen von der gelegentlichen Reinigung nach groben Verschmutzungen (Vogelkot o.ä.). Die Zeit, in der die durch einen Regen auf der Sensoroberfläche entstandene Nässe abtrocknet, konnte durch die Kühlung deutlich verzögert werden. Die Prototypen 3 a-d zeigten je nach Spezifikation (Heizung, Kühlung, Heizung und Kühlung) ein unterschiedliches Abtrocknungsverhalten. Die Prototypen 3c und 3d trockneten bei Nässe langsamer ab als die Prototypen 3a und 3b. 3b und 3d registrierten weniger Nässeereignisse als 3a und 3c. Die Unterscheidung von Tau- und Regennässe konnte bei Prototyp 3 realisiert werden. Die ständige Beheizung der Oberfläche in den regenfreien Zeiten bei den Prototypen 3b und 3d bewirkte, dass Tauereignisse nicht zur Benetzung des Sensors führten und somit nicht als Nässe definiert wurden. Eine weitgehende Anpassung der angezeigten Nässe an die tatsächliche Blattnässe gelang nicht. Der Wind war ein wesentlicher Faktor für die Wärmeableitung des Sensors. So trocknete der Sensor im Freiland bei wenig Wind wesentlich schneller ab als bei moderatem oder stärkerem Wind, da die über den Kühlkörper des Sensors abgegebene Wärme ohne Wind offenbar seitlich am Sensor

hochsteigen und dadurch eine schnellere Abtrocknung verursachen konnte. Die neue Form des Kühlkörpers bei Prototyp 4 (2012) eignete sich sehr gut zur Abführung der Wärme und dies wurde aufgrund seiner Form auch bei Windstille ohne eine zusätzliche Ventilation erreicht. Die Variabilität der technisch identischen Sensoren a-d des Prototyps 5 war hinsichtlich der Blätter vergleichbar (s. Abb. 34). In einigen Fällen wurde am unteren Rand der Sensoroberfläche nach der Benetzung die Bildung großer Wassertropfen beobachtet (Abb. 35), wodurch die Abtrocknungszeit verlängert wurde. Die Bildung dieser Tropfen geschah unregelmäßig.

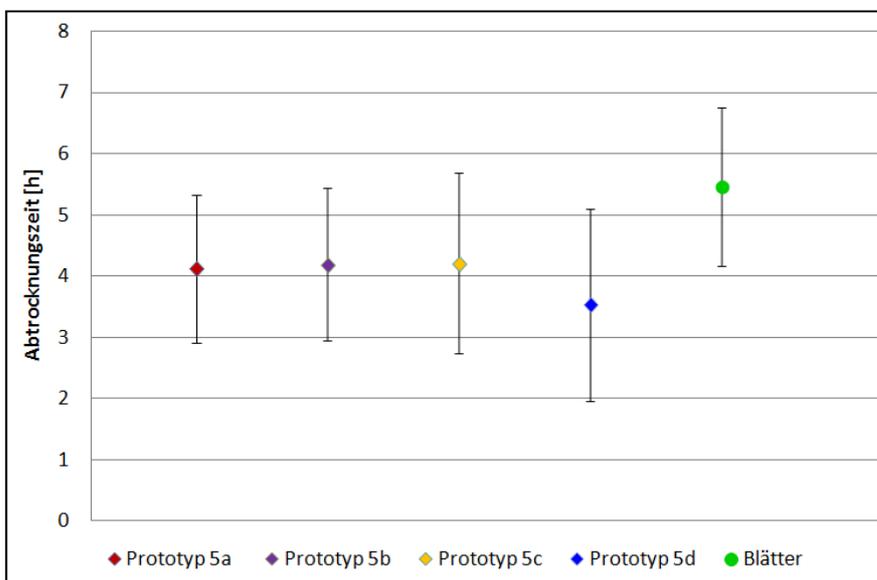


Abb. 34: Abtrocknungszeiten der Prototypen 5a-d mit einer Heizleistung von 5% und einem Kühlgrad von 30 % im Vergleich zu der Abtrocknungszeit der Blätter der Sämlinge in der Klimakammer (20 °C, 80 %RF) bei 10 Wiederholungen.



Abb. 35: Bildung großer Wassertropfen auf der Sensoroberfläche bei Prototyp 5 nach Benetzung

Der Ablaufschild bei Prototyp 6 bewirkte durch die Kapillarwirkung ein Abfließen der großen Tropfen (s. Abb. 36). Die Anfälligkeit dieses Schildes für Verschmutzung war jedoch hoch. Eine schrittweise Erhöhung der Kühlleistung bei Prototyp 6 führte noch nicht zu einer exakten Imitation der realen Nässedauer der Blätter. Bei einer Kühlleistung von 99 % war die Abtrocknungszeit der Sensoren kürzer als die der Blätter. Der Aufstieg warmer Luft vom Kühlkörper führte zu Verwirbelungen auf der Sensoroberfläche und damit zu einer schnelleren Abtrocknung. Auch die Aufnahmen der Thermokamera zeigten eine uneinheitliche Kühlung der Sensoroberfläche (s. Abb. 37 links). In der Klimakammer bewirkte die Abschirmung (s. Abb. 36 rechts) der warmen Abluft eine weitgehend einheitliche Temperaturverteilung auf der Oberfläche (s. Abb. 37 rechts) und die Nässe konnte auch bei geringen Kühlleistungen lange auf der Sensoroberfläche gehalten werden. Derselbe Effekt wurde bei Prototyp 7 durch den Einbau des internen Ventilators im Elektronikgehäuse hinter dem Kühlkörper erreicht.



Abb. 36: Prototyp 6 mit Ablaufschild (links und Mitte) und mit Kragen.

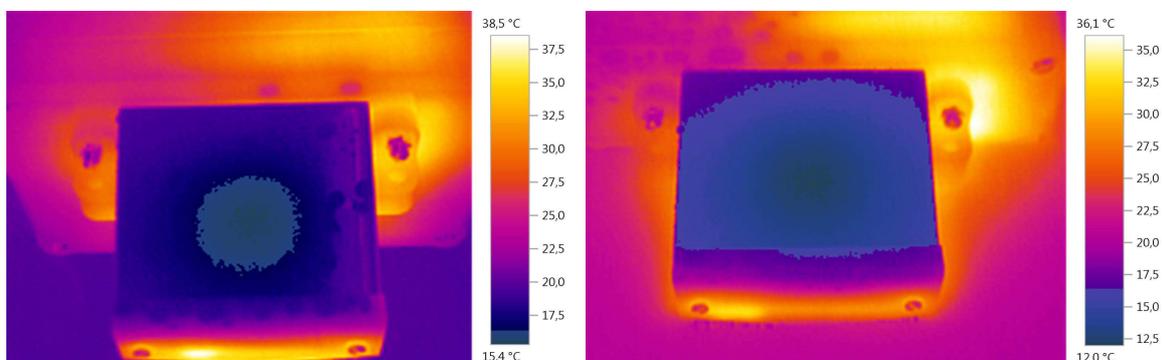


Abb. 37: Temperaturverteilung auf der Oberfläche des Prototyps 6 im benetzten Zustand, ohne Kragen (links) und mit Kragen (rechts) in der Klimakammer bei 20 °C und 80 % RF.

Es konnte eine mit den Blättern übereinstimmende Abtrocknungszeit des Prototyps 7 bei einem Kühlgrad von 39 % ermittelt werden (s. Abb. 38). Die Variabilität der einzelnen Sensoren war hinsichtlich der Blätter vergleichbar. Prototyp 7 lieferte in der Primärsaison 2015 auch im Freiland eine gute Abbildung der Blattnasszeiten und war für die Prognose geeignet (s. 3.1.4).

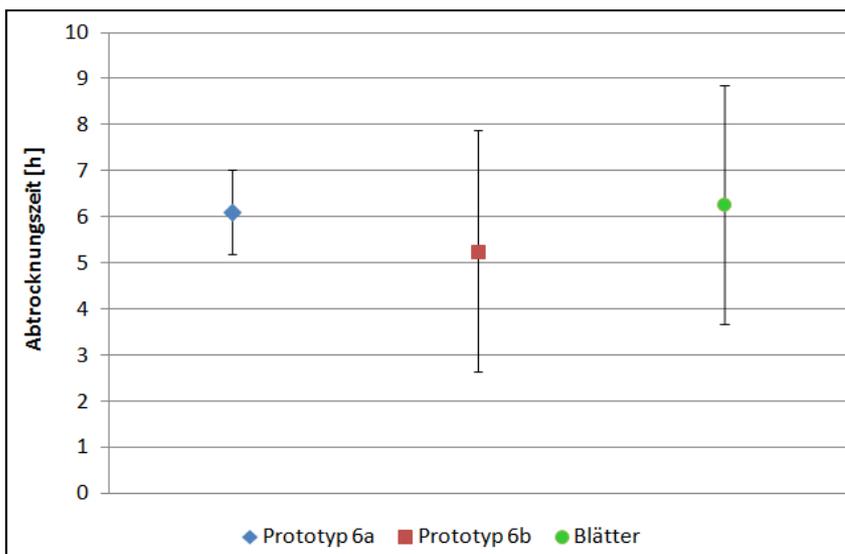


Abb. 38: Abtrocknungszeiten von Prototyp 6 mit einer Heizleistung von 25 % und einem Kühlgrad von 40 % im Vergleich zu der Abtrocknungszeit der Blätter der Sämlinge in der Klimakammer (20 °C, 80 % RF) bei 10 Wiederholungen.

3.3 Einfluss der Umweltparameter auf die Ascosporenausschleuderung im Freiland

3.3.1 Regen

Die Summe des Niederschlags und der Regentropfen bis zum jeweiligen Maximum des Sporenflugs war unterschiedlich (s. Abb. 39-40). Es traten keine Häufungen auf und es konnten keine Hinweise auf eine Abhängigkeit des Sporenflugs von der Anzahl der Regentropfen oder Summe des Niederschlags festgestellt werden.

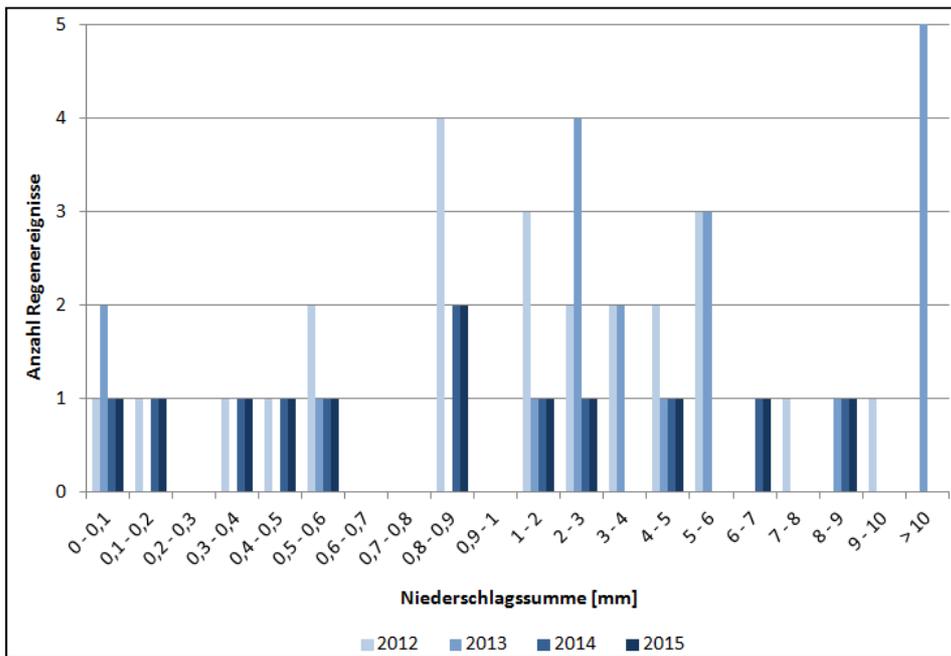


Abb. 39: Histogramm der Niederschlagssumme bis zum jeweiligen Maximum des Sporenflugs von *Venturia inaequalis* der einzelnen sporenflugauslösenden Regenereignisse der Primärsaison der Jahre 2012-2015.

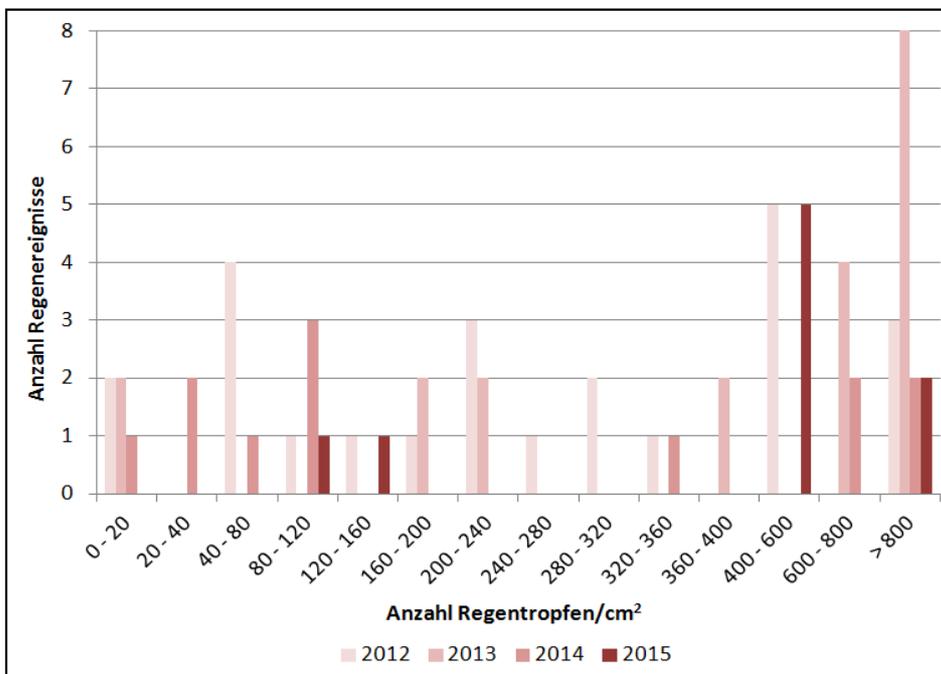


Abb. 40: Histogramm der Regentropfensumme/cm² (THIES Niederschlagswächter) bis zum jeweiligen Maximum des Sporenflugs von *Venturia inaequalis* der einzelnen sporenflugauslösenden Regenereignisse der Primärsaison der Jahre 2012-2015.

Die Summe der kinetischen Energie der Regenereignisse bis zur maximalen Anzahl an Sporen eines Sporenflugs betrug im Durchschnitt 40,57 J/qm, wobei das Minimum eines Einzelereignisses bei 0,003 J/qm und das Maximum bei 417,31 J/qm lag, und der Anteil der kinetischen Energie bei den einzelnen Ereignissen deutlich variierte (s. Abb. 41). Im Jahr 2012 wurden 24 Regenereignisse mit Sporenflug registriert, 2013 waren es 20, 2014 zwölf und 2015 neun Ereignisse (s. Anhang C). Die höchsten Werte wurden bei Starkregen erreicht.

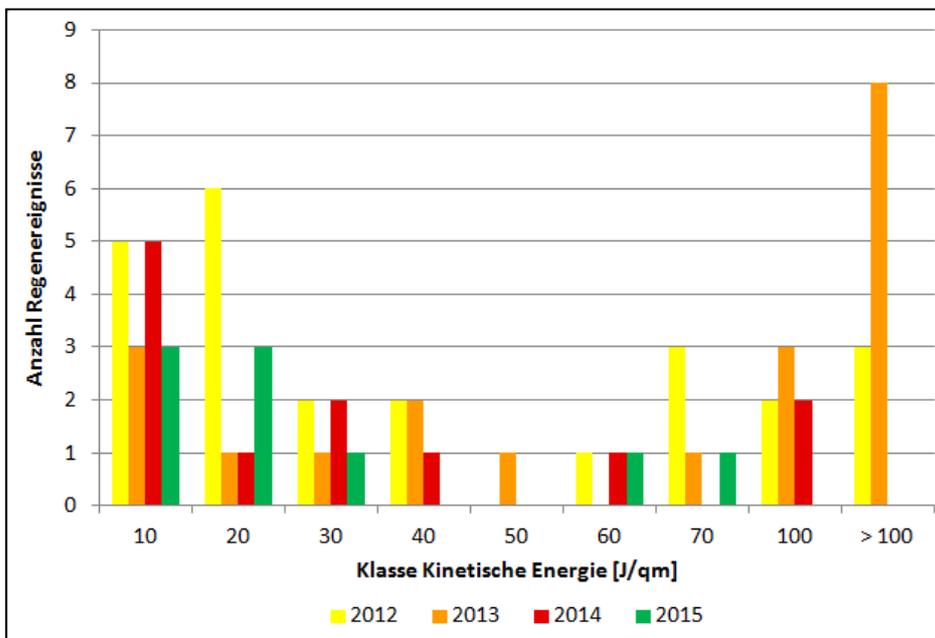


Abb. 41: Histogramm der kinetischen Energie der einzelnen sporenflugauslösenden Regenereignisse der Primärsaison der Jahre 2012-2015.

Hinsichtlich der erforderlichen Höhe der kinetischen Energien bis zum Maximum der Sporenausstöße wurde eine Abhängigkeit von der Feuchtigkeit der Blätter festgestellt. Der Anteil an kinetischer Energie des Regens bis zum Maximum des Sporenflugs war bei feuchten Blättern in den Sporenfallendepots signifikant höher ($p=0,04$, one-way ANOVA, $\alpha = 0,05$) als bei trockenen Blättern (s. Abb. 42). Trockene Blätter zeigten eine helle Farbe und brachen leicht bei Biegebelastung. Feuchte Blätter hatten

eine dunklere Farbe und waren biegsam, sie zerbrachen nicht bei Biegebelastung. Die Luftfeuchte wurde innerhalb der 24 h vor Regenbeginn gemittelt.

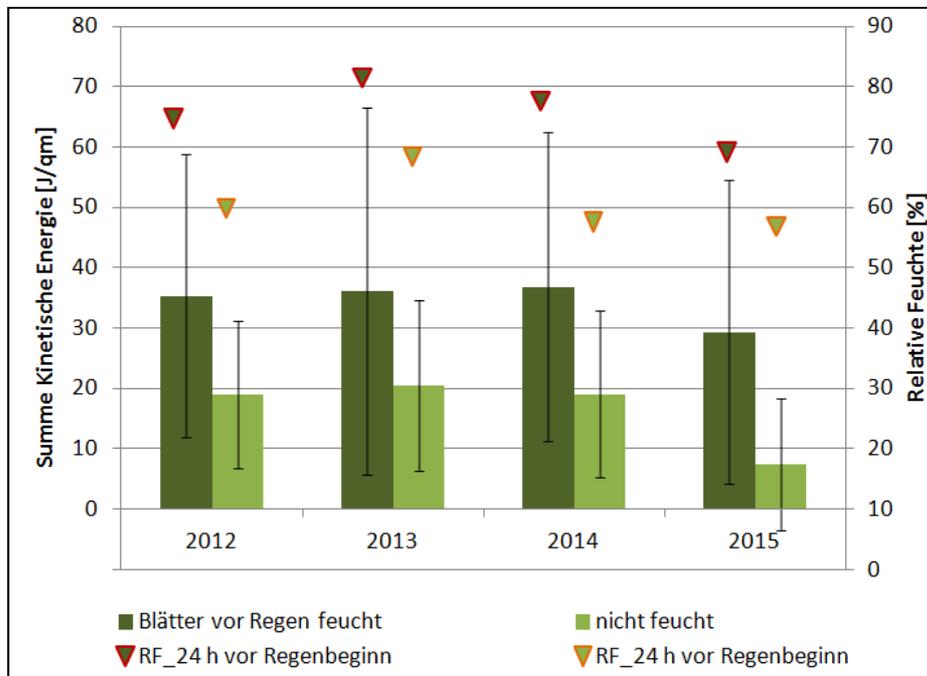


Abb. 42: Mittelwert der Summe der kinetischen Energie von Regenereignissen ohne Starkregen der Jahre 2012-2015 sowie Mittelwerte der relativen Luftfeuchte (RF) innerhalb von 24 h vor Beginn des sporenflugauslösenden Regens.

3.3.2 Lufttemperatur

Der Zusammenhang zwischen der Lufttemperatur und dem Sporenflug wurde anhand der Steigung der Temperatur innerhalb von 30 und 60 min zu Beginn jedes Sporenflugs untersucht. Die Steigung der einzelnen Temperaturwerte (s. 2.1) wurde jeweils für die einzelnen Sporenflugereignisse der Jahre 2012-2015 grafisch aufgetragen (s. Abb. 43). Die Temperaturänderungen waren jeweils sehr gering. In allen Jahren war der Anteil an negativen und positiven Steigungen ähnlich (s. Abb. 44) und änderte sich innerhalb der Primärsaison nicht. Eine Abhängigkeit des Beginns eines Sporenfluges von der Änderung der Lufttemperatur konnte nicht festgestellt werden.

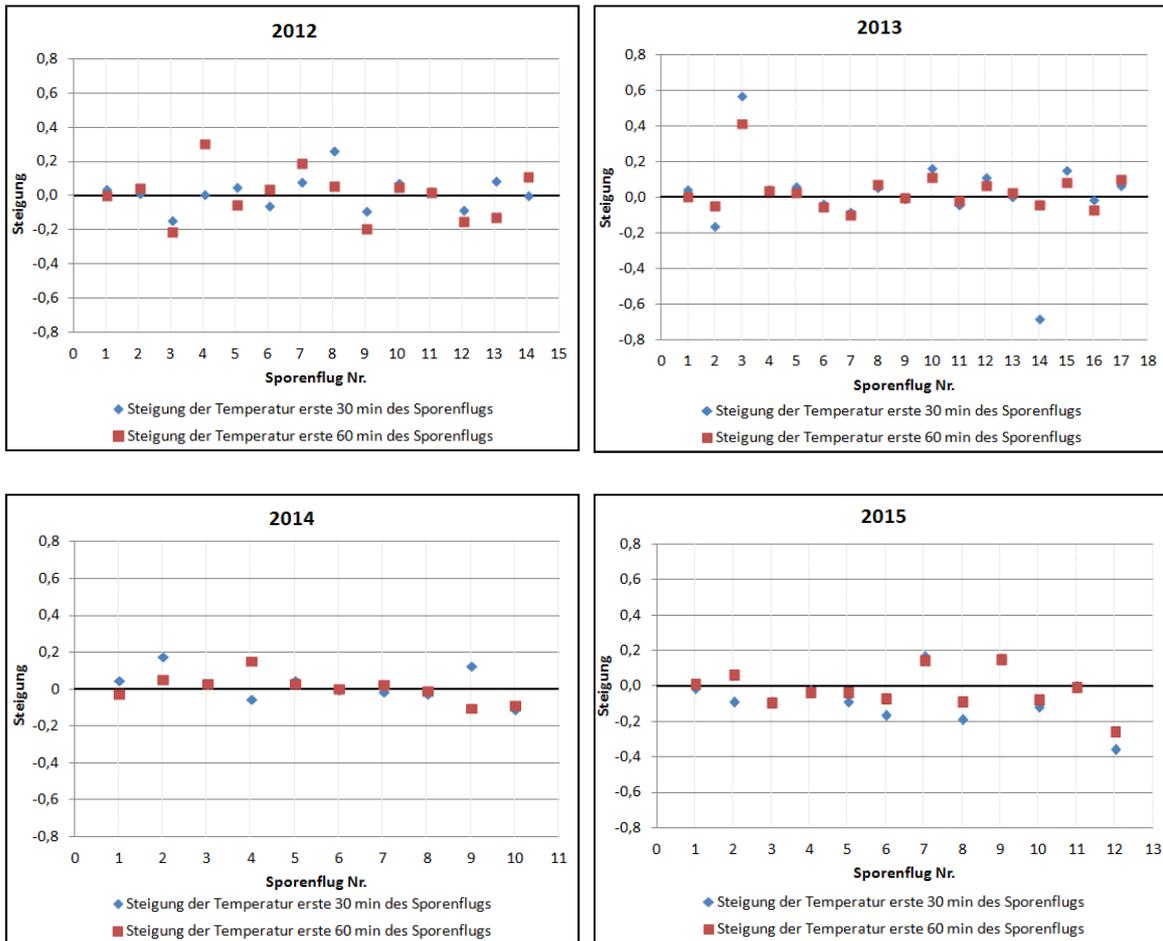


Abb. 43: Steigung der Temperaturkurve in den ersten 30 min (blau) bzw. 60 min (rot) vor Beginn der einzelnen Sporenflüge von *Venturia inaequalis* der Jahre 2012-2015.

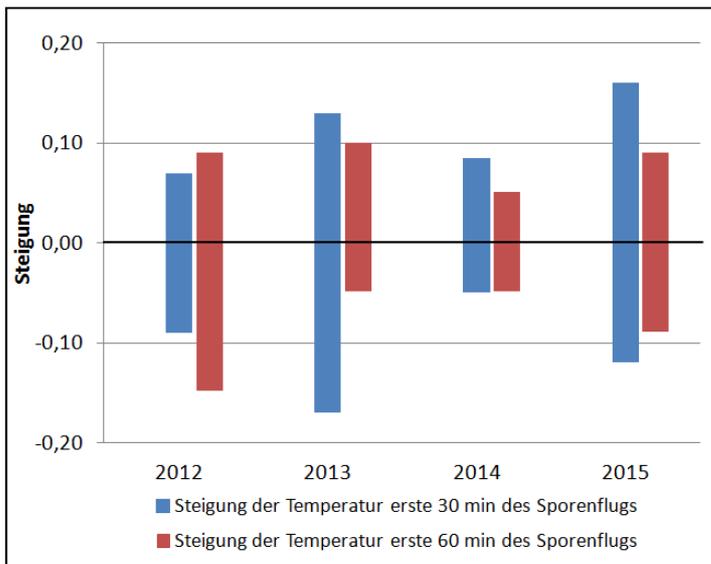


Abb. 44: Durchschnittliche Steigung der Temperaturkurve in den ersten 30 min (blau) bzw. 60 min (rot) vor Beginn der einzelnen Sporenflüge von *Venturia inaequalis* der Jahre 2012-2015.

3.3.3 Licht

Die absolute Anzahl der mit der Sporenfalle registrierten Sporen variierte von Jahr zu Jahr (s. Tab. 2). Der Anteil der in der Dunkelheit registrierten Sporen an den insgesamt registrierten Sporen lag dabei im Durchschnitt unter 15 %. In den Jahren 2004–2010 wurde hinsichtlich der Zahl der bei Dunkelheit registrierten Sporen ein durchschnittlicher Wert von 7,3 % ermittelt und in den Jahren 2011 – 2014 waren es 11,25 bzw. 12,16 %. Die Anteile der in der Nacht registrierten Sporen waren im Durchschnitt der Jahre 2004-2010 bei Sporenfalle A und Sporenfalle W vergleichbar. In den Jahren 2011-2014 war dieser Anteil bei Sporenfalle W (ohne Beleuchtung) und der künstlich beleuchteten Sporenfalle A ebenfalls vergleichbar. Im Jahr 2015 stieg der Anteil der nächtlichen Sporen bei der mit einer Glühbirne beleuchteten Sporenfalle A auf 46,99 % an, im Gegensatz zu einem Anteil von 16,75 % bei Sporenfalle W (ohne Beleuchtung). Die absolute Anzahl an Sporen war in diesem Jahr bei beiden Sporenfallen ähnlich.

Tab. 2: Sporenflüge der Jahre 2004-2015 und der Anteil der nächtlich gefangenen Sporen von *Venturia inaequalis* in den Sporenfallen A und W. Die Sporenfallen unterschieden sich nur durch das Beleuchtungsprogramm an Sporenfall A.

Sporenfall A					Sporenfall W			
Jahr	Beleuchtung	Sporenanzahl absolut	Sporenanzahl in der Nacht	Anteil [%]	Beleuchtung	Sporenanzahl absolut	Sporenanzahl in der Nacht	Anteil [%]
2004	natürlich	6473	281	4,43	natürlich	3566	167	4,68
2005	natürlich	29147	983	3,37	natürlich	defekt		
2006	natürlich	6373	998	15,66	natürlich	7637	478	6,62
2007	natürlich	7583	564	7,44	natürlich	5470	213	3,89
2008	natürlich	3734	264	7,07	natürlich	7966	1232	15,47
2009	natürlich	13073	1062	9,75	natürlich	16908	953	5,58
2010	natürlich	18061	593	3,28	natürlich	25644	1962	7,65
Mittelwert				7,29	7,32			

Sporenfall A - beleuchtet					Sporenfall W			
Jahr	Beleuchtung	Sporenanzahl absolut	Sporenanzahl Tageshelligkeit unter 2000 lx	Anteil [%]	Beleuchtung	Sporenanzahl absolut	Sporenanzahl unter 2000 lx	Anteil [%]
2011	ESL* - 400 lx	8641	858	9,93	natürlich	9037	598	6,62
2012	ESL* > 2000 lx	3734	264	7,07	natürlich	7966	1232	15,47
2013	LED > 10000 lx	13006	1371	10,54	natürlich	7312	392	5,36
2014	LED + Blau-filter >10000 lx	6470	1129	17,45	natürlich	7334	1216	16,58
Mittelwert				11,25	12,16			

2015	Glühbirne 10000 lx	8383	3939	46,99		8916	1493	16,75
------	--------------------	------	------	-------	--	------	------	-------

* Energiesparleuchte

Die Verteilung der durchschnittlichen Sporenzahl pro Stunde über den 24-Stunden-Tag in den Jahren 2004-2015 der Sporenfall W ist in Abbildung 45 dargestellt. Die meisten Sporen wurden in allen Jahren während der Tageshelligkeit registriert, mit einem Maximum in den Mittagsstunden. Vereinzelt waren die Maxima in den Vormittag (2015) oder Nachmittag (2006) verschoben. Die Mittelwertskurve aller Sporenfänge erreichte ebenfalls das Maximum in den Mittagsstunden, mit einem leichten Einbruch um 13 Uhr und einem Nachlauf des Sporenflugs bis etwa 22 Uhr.

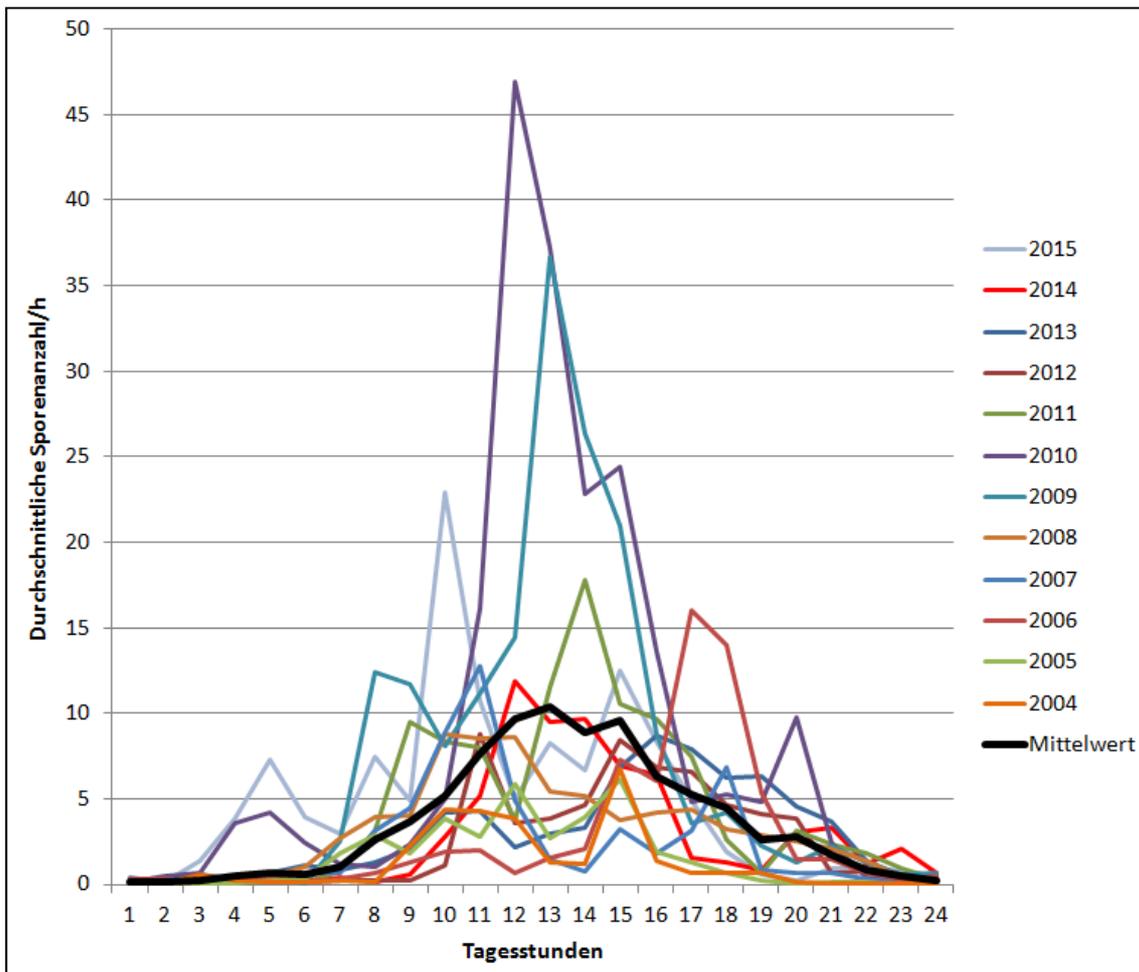


Abb. 45: Sporenflüge von *Venturia inaequalis* der Jahre 2004-2015 an Sporenfalle W unter natürlichen Lichtbedingungen. Stundenmittelwerte über die Primärsaison und Mittelwert über alle Jahre.

Die Chronosporogramme der Jahre 2011-2015 (s. Abb. 46-50) geben für jede Sporenfalle und jedes Jahr einen zeitlichen Überblick über die registrierten Sporen, Regenereignisse und den natürlichen Hell-Dunkelwechsel. In den Jahren 2011-2014 wurde kein Unterschied in der zeitlichen Verteilung der Sporenflüge über den 24-Stunden-Tag bei den beiden Sporenfällen beobachtet. Die Sporenflüge waren abhängig von Regenereignissen. Bei nächtlichem Regen war das Maximum des Sporenausstoßes in die hellen Tagesstunden verschoben oder es wurden nur wenige Sporen (etwa 1-5) registriert. Bei Regen in den hellen Tagesstunden wurde ein Sporenflug meist zeitgleich mit Regenbeginn oder kurze Zeit später festgestellt. Ein Einfluss der Beleuchtung auf den Sporenausstoß wurde bei Sporenfalle A in den Jahren 2010-2014 nicht festgestellt.

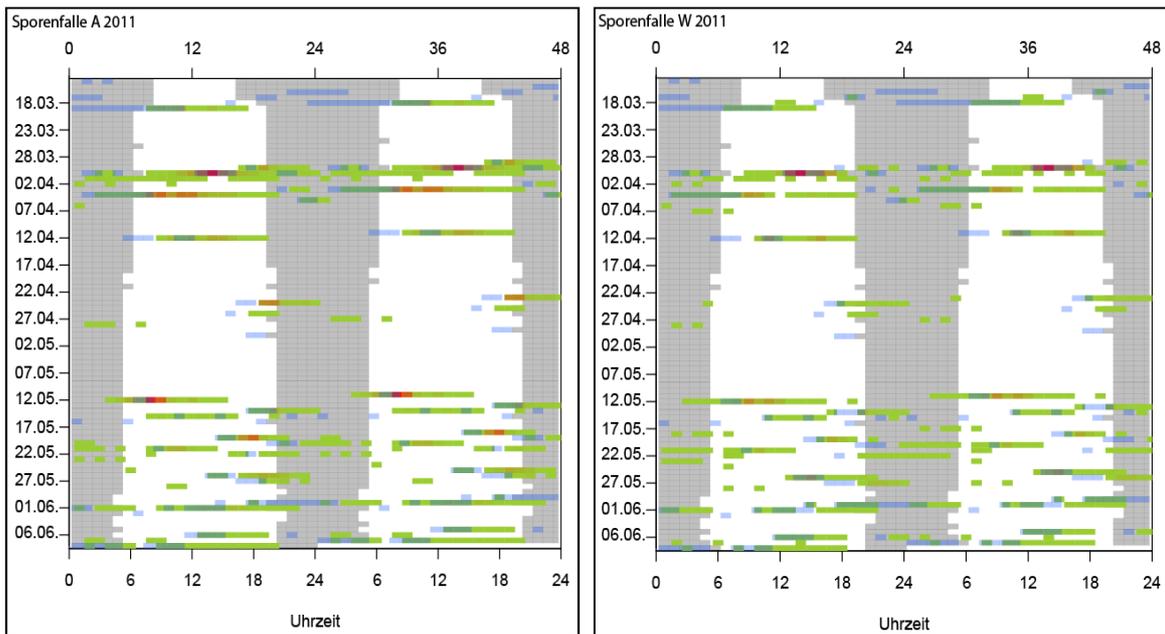


Abb. 46: Chronosporogramme 2011 der mit 400 Lux Energiesparlampe beleuchteten Sporenfalle A (links) und der unbeleuchteten Sporenfalle W (rechts). Dunkelgrau: Stunden mit Helligkeit unter 2000 Lux (stündlich gemittelt); Blau: Regen; Grün-Rot-Verlauf: Sporenflug von *Venturia inaequalis*, Anzahl der Sporen zunehmend von Grün nach Rot.

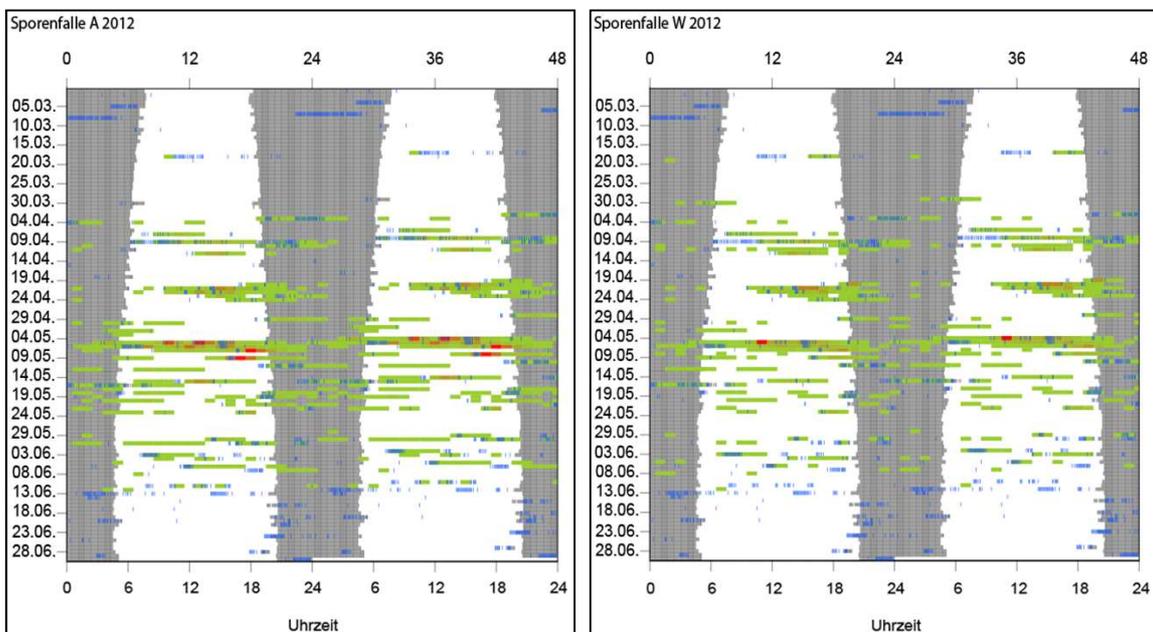


Abb. 47: Chronosporogramme 2012 der mit >2000 Lux Energiesparlampe beleuchteten Sporenfalle A (links) und der unbeleuchteten Sporenfalle W (rechts). Dunkelgrau: Zeiten mit Helligkeit unter 2000 Lux; Blau: Regen; Grün-Rot-Verlauf: Sporenflug, Anzahl der Sporen von *Venturia inaequalis* zunehmend von Grün nach Rot.

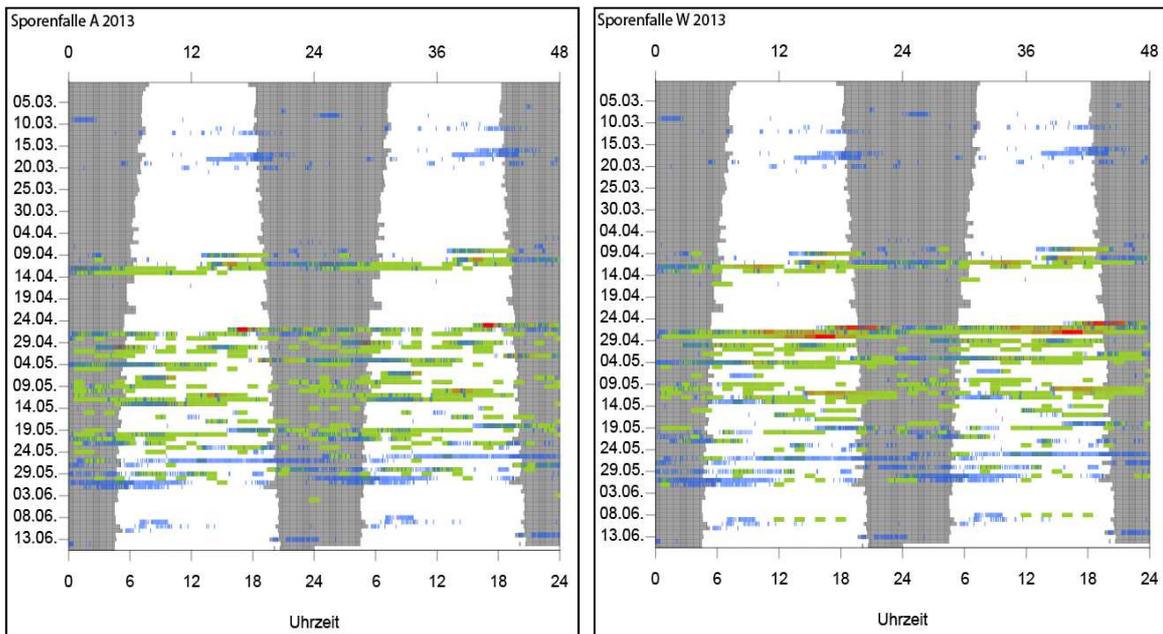


Abb. 48: Chronosporogramme 2013 der mit 10000 Lux LED beleuchteten Sporenfalle A (links) und der unbeleuchteten Sporenfalle W (rechts). Dunkelgrau: Zeiten mit Helligkeit unter 2000 Lux; Blau: Regen; Grün-Rot-Verlauf: Sporenflug, Anzahl der Sporen von *Venturia inaequalis* zunehmend von Grün nach Rot.

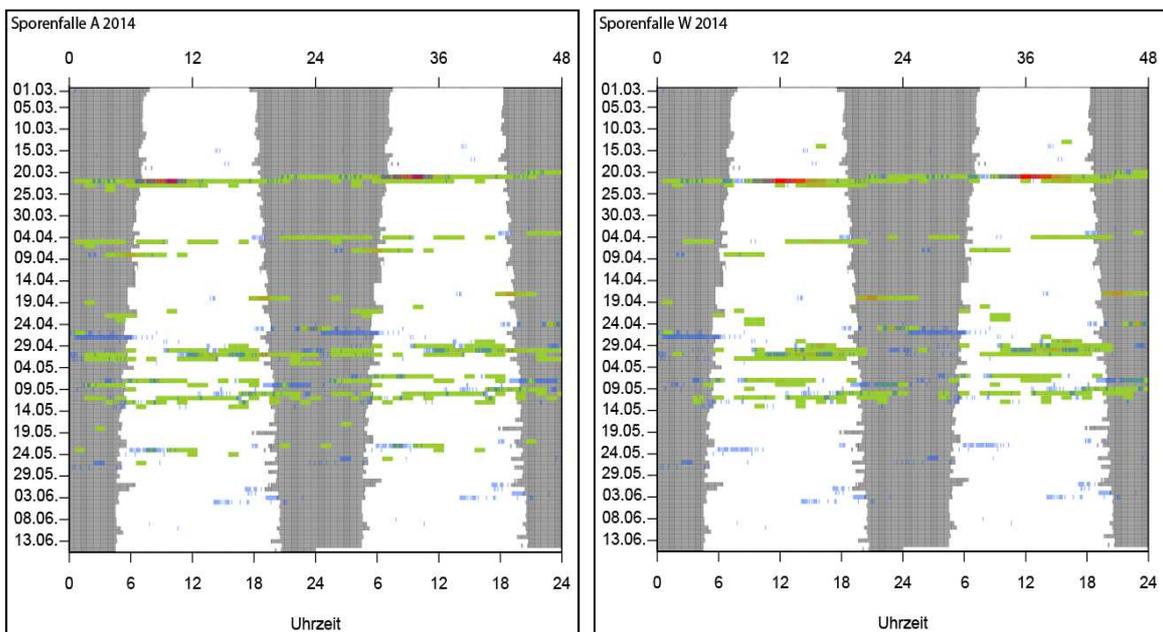


Abb. 49: Chronosporogramme 2014 der mit 10000 Lux LED mit Blaufilter beleuchteten Sporenfalle A (links) und der unbeleuchteten Sporenfalle W (rechts). Dunkelgrau: Zeiten mit Helligkeit unter 2000 Lux; Blau: Regen; Grün-Rot-Verlauf: Sporenflug, Anzahl der Sporen von *Venturia inaequalis* zunehmend von Grün nach Rot.

Im Jahr 2015 wurde ebenfalls bei beiden Sporenfallen eine Abhängigkeit der Sporenflüge von Regenereignissen festgestellt. Bei nächtlichem Regen war das Maximum des Sporenausstoßes bei Sporenfalle W in die hellen Tagesstunden verschoben oder es wurden nur wenige Sporen (etwa 1-5) registriert. Im Gegensatz dazu wurden bei Sporenfalle A auch in den Nachtstunden maximale Sporenzahlen registriert. Bei nächtlichen Regenereignissen war das Maximum des Sporenausstoßes nicht in die hellen Tagesstunden verschoben. Der Anteil der Sporen, die bei Helligkeiten unter 2000 lx registriert wurden, lag bei 46,77 % und war damit vergleichbar mit dem Anteil der Sporen, die in den hellen Tagesstunden gefangen wurden (s. Tab. 2). Es war ein deutlicher Einfluss des verwendeten Leuchtmittels (Glühbirne 60 W) auf die Registrierung des Sporenausstoßes bei Sporenfalle A im Jahr 2015 festzustellen.

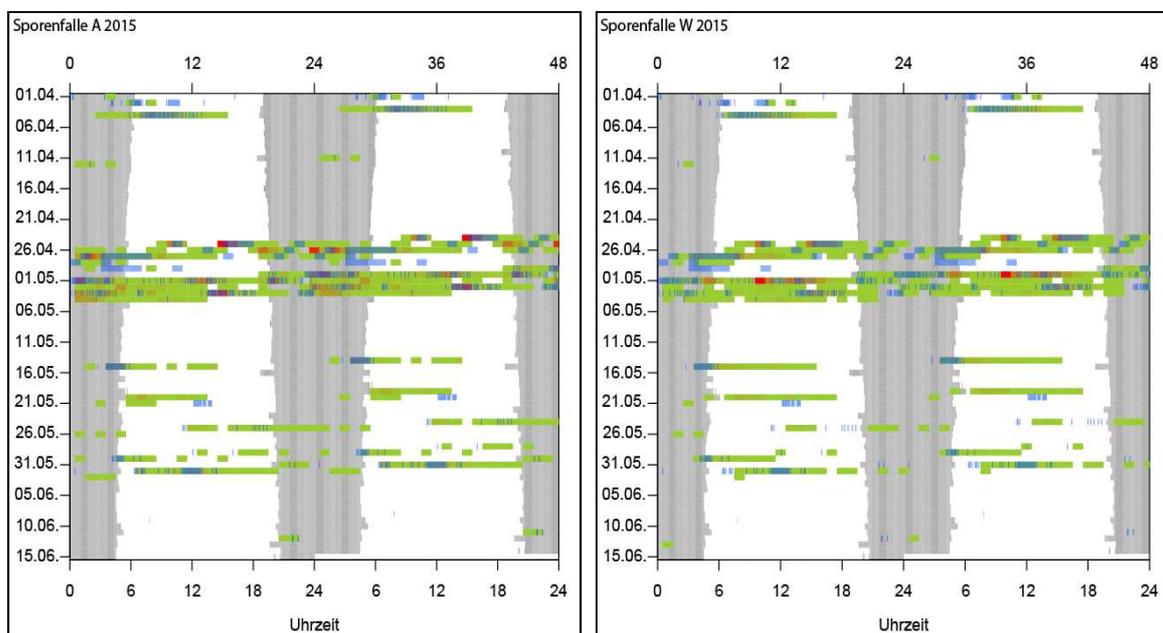


Abb. 50: Chronosporogramme 2015 der mit 10000 Lux Glühbirne beleuchteten Sporenfalle A (links) und der unbeleuchteten Sporenfalle W (rechts). Dunkelgrau: Zeiten mit Helligkeit unter 2000 Lux; Blau: Regen; Grün-Rot-Verlauf: Sporenflug, Anzahl der Sporen von *Venturia inaequalis* zunehmend von Grün nach Rot.

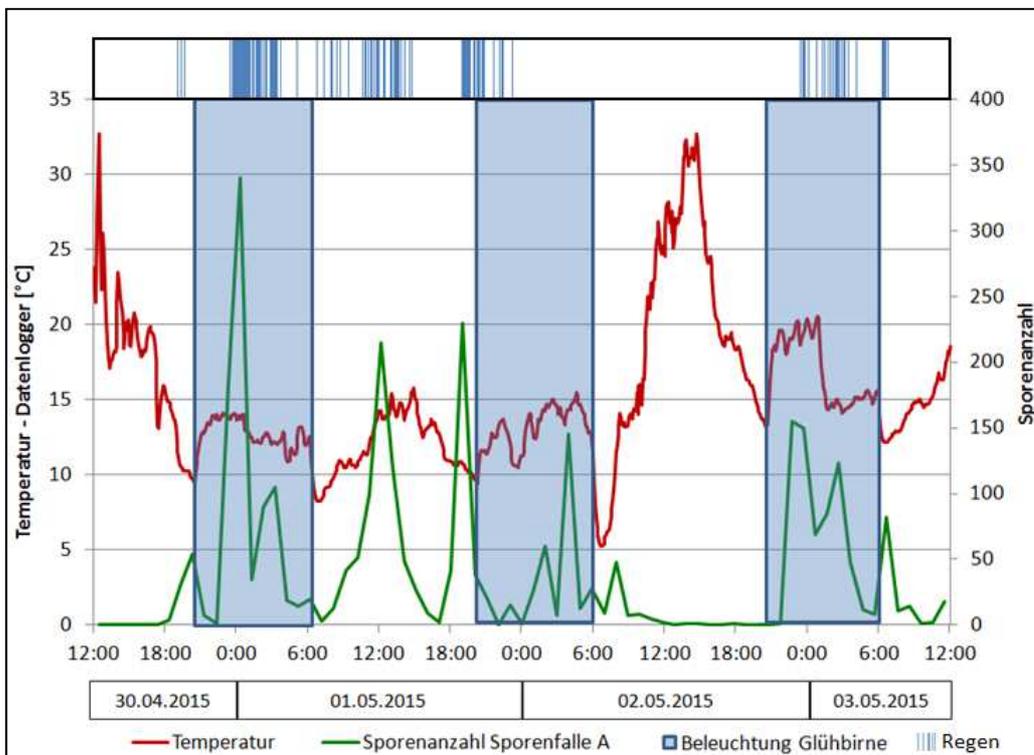
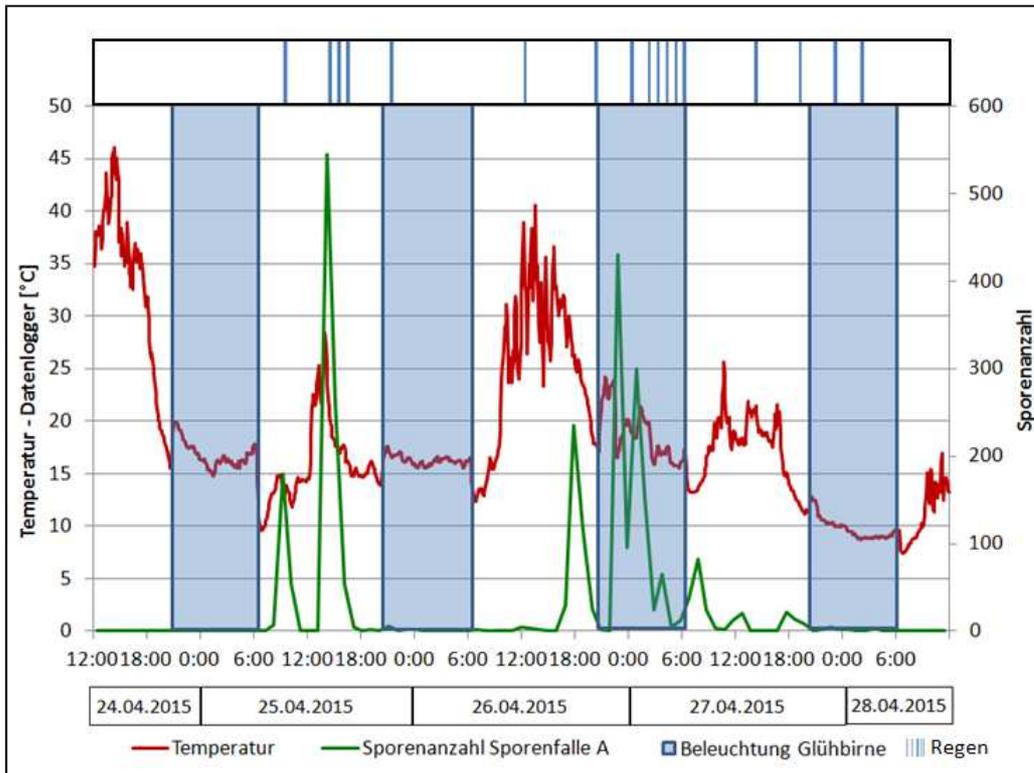


Abb. 51: Sporenflug von *Venturia inaequalis* und Temperaturverlauf im Blattdepot der Sporenfalle A von 24.04.-28.04.2015 (oben) und von 30.04.-03.05.2015 (unten), gemessen mit Datenlogger HOBO Pendant Temperature & Light.

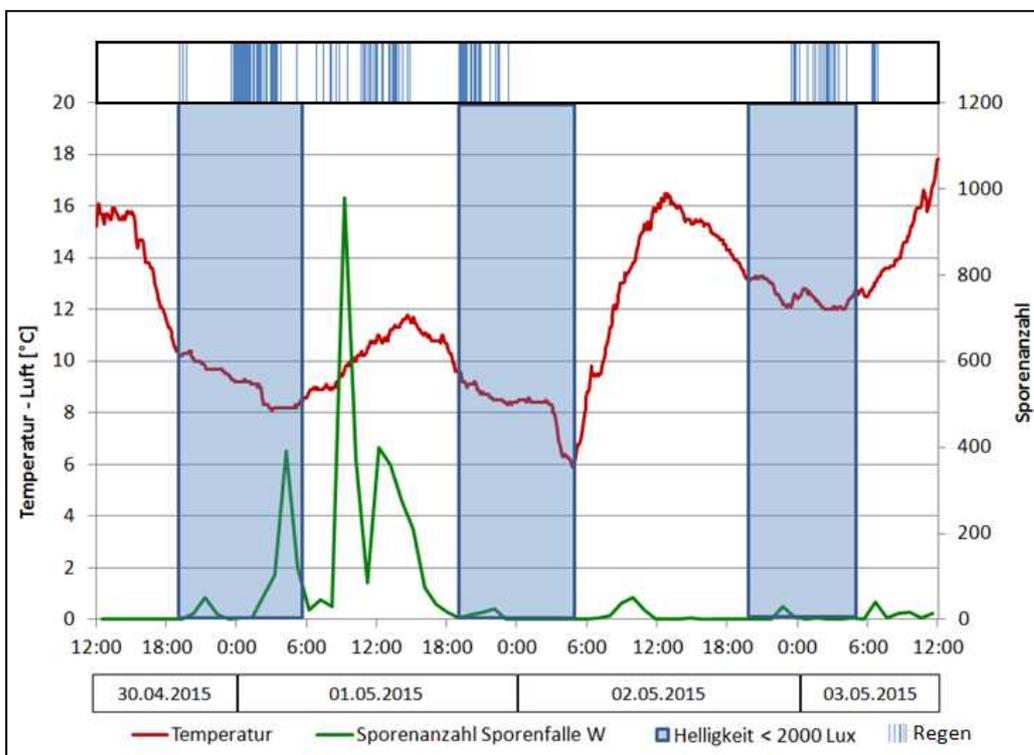
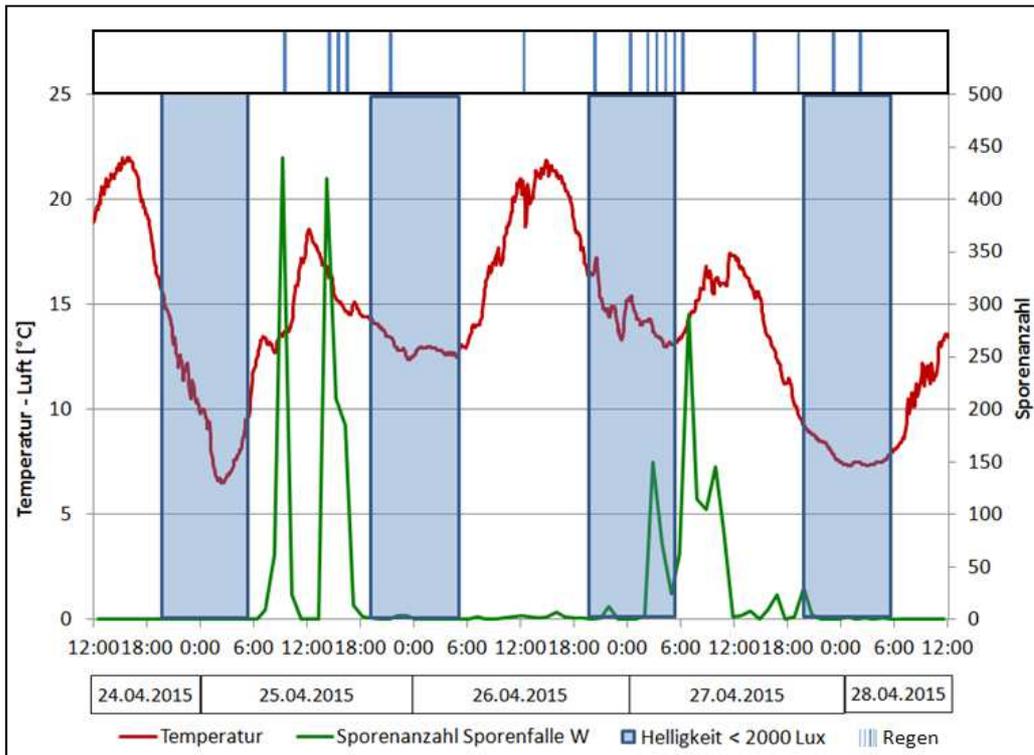


Abb. 52: Sporenflug von *Venturia inaequalis* bei Sporenfalle W und Lufttemperatur von 24.04.-28.04.2015 (oben) und von 30.04.-03.05.2015 (unten).

Der Datenlogger für Temperatur und Helligkeit im vorgesetzten Blattdepot der Sporenfalle zeigte jeweils direkt zu Beginn der Beleuchtungsphase einen Anstieg von Temperatur und Helligkeit innerhalb von 15 Minuten an sowie einen Abfall von Temperatur und Helligkeit innerhalb von 15 Minuten direkt nach Abschluss der Beleuchtungsphase (s. Abb. 51-52). An Sporenfalle A wurde nach jedem Regenereignis, mit Ausnahme der Nachtstunden vom 27.-28.04.2015, ein Sporenflug registriert. Das Maximum des Sporenflugs folgte dabei auf den Regenbeginn. Mit Ausnahme vom 27.04. und 01.05.2015 wurden bei Sporenfalle W Sporenflüge nur zu Tageshelligkeiten von über 2000 lx angezeigt. Das Maximum des Sporenflugs folgte nur auf Regenbeginn, wenn dieser in den hellen Tagesstunden einsetzte.

3.4 Einfluss der Umweltparameter auf die Ascosporenausschleuderung im Labor

3.4.1 Licht

Die Wasserbadmethode wurde in mehreren Vorversuchen zur Erreichung der Dunkelhemmung eingesetzt. In keinem der Versuche konnte die im Freiland beobachtete Lichtabhängigkeit der Sporenausschleuderung festgestellt werden. Es gab weiterhin keinen Unterschied in den Ergebnissen bei der Durchführung der Versuche im Dunkeln oder im Licht. Mit der Fixierung des Blattmaterials durch Gitter wurde mit Anwendung der modifizierten Wasserbadmethode (s. 2.4.2) eine Hemmung der Sporenausschleuderung bei konstanten Bedingungen im Labor und bei Dunkelheit erreicht (s. Abb. 53).

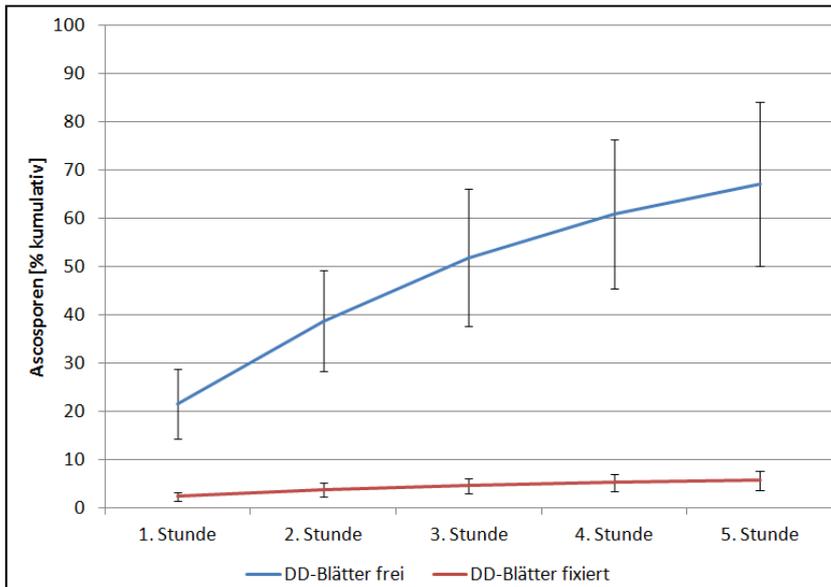


Abb. 53: Von Pseudothecien auf überwinterten Blättern von *Malus domestica* ausgestoßene Ascosporen von *Venturia inaequalis* in Prozent des Gesamtpotenzials bei der Durchführung mit der Wasserbadmethode (blau) und der modifizierten Wasserbadmethode mit Fixierung der Blätter durch Gitter (rot) im 20 °C Raum. DD: Dauerdunkel.

Eine Freisetzung der Ascosporen bei Beleuchtung mit sichtbarem Licht (LED, Kaltlichtleuchte, Glühbirne mit Isolierscheibe und PHILIPS 730 nm) konnte nicht festgestellt werden (s. Abb. 54). Ihr Anteil am Gesamtpotenzial bei der Beleuchtung mit LED-Licht entsprach weitgehend dem in Dunkelheit ($p > 0,05$). Der Einsatz der Kaltlichtleuchte führte im Vergleich dazu zu einem etwas höheren Anteil an Sporen, jedoch keinem signifikanten Unterschied ($p > 0,05$). Auch die Beleuchtung der Proben mit Licht von 730 nm brachte keinen signifikanten Unterschied im Sporenausstoß im Vergleich zur Dunkelheit. Die Bestrahlung der Proben mit durch Glas gefiltertem und dadurch weitgehend von infraroten Anteilen freiem Licht einer Glühbirne führte ebenfalls zu diesem Ergebnis. Wurden die Proben jedoch mit dem gesamten Lichtspektrum der Glühbirne oder ihrem infraroten Lichtanteil ab 730 nm bestrahlt (Glühbirne mit IR-Filter), so wurde ein signifikanter Unterschied in der Anzahl der ausgeschleuderten Ascosporen festgestellt (s. Abb. 55-56 und Tab. 3). Die Temperatur der Proben erwärmte sich dabei um bis zu 8 °C.

Tab. 3: Varianzanalyse (one-way ANOVA, Alpha = 0,01) der Anzahl an ausgestoßenen Ascosporen von *Venturia inaequalis* auf überwinternten Blättern von *Malus domestica* bei der Durchführung mit der Wasserbadmethode (DD_Blätter frei) und der modifizierten Wasserbadmethode mit Fixierung der Blätter durch Gitter im 20 °C Raum, unter dem Einfluss von den verschiedenen eingesetzten Leuchtmitteln und im Dauer-Dunkel (DD). IR: Infrarot, Hellgrau: signifikante Unterschiede zwischen der Anzahl ausgeschleuderter Ascosporen in den verschiedenen Versuchsansätzen, $p < 0,01$.

Alpha = 0,01		Proben-Beleuchtung*		
		DD_Blätter fixiert*	Glühbirne	Glühbirne_IR-Filter
Proben- Beleuchtung*	DD_Blätter frei	sign.	ns	ns
	DD_Blätter fixiert*	-	sign.	sign.
	LED	ns	sign.	sign.
	Kaltlichtleuchte	ns	sign.	sign.
	Philips 730 nm	ns	sign.	sign.
	Glühbirne mit Scheibe	ns	sign.	sign.
	Glühbirne	sign.	-	ns
	Glühbirne_IR-Anteil	sign.	ns	-
	Glühbirne_Kühlraum	sign.	ns	ns

* modifizierte Wasserbadmethode - Blätter fixiert

ns = nicht signifikant

sign. = $p < 0,01$

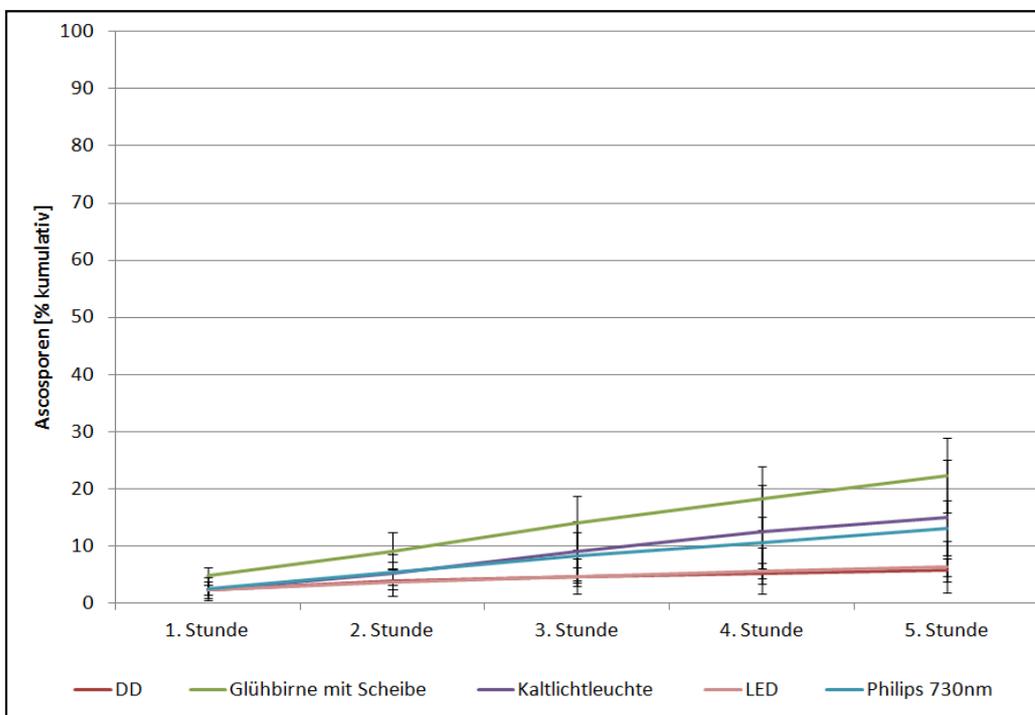


Abb. 54: Ascosporen von *Venturia inaequalis* in Prozent des Gesamtpotenzials bei der Durchführung mit der modifizierten Wasserbadmethode und der Wirkung des sichtbaren Lichts im 20 °C Raum. DD: Dauerdunkel.

3.4.2 Infrarotstrahlung und Wärme

Die Bestrahlung der überwinterten Apfelblätter mit Pseudothecien von *V. inaequalis* mit den infraroten Lichtanteilen oder mit dem gesamten Spektrum (einschl. IR) der Glühbirne bewirkte eine Erwärmung der Proben und die Ausschleuderung der Ascosporen. Dabei gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Bestrahlung der Proben mit der Glühbirne und mit dem IR-Anteil der Glühbirne (s. Abb. 55). Es wurden signifikant mehr Sporen ausgeschleudert als bei der Beleuchtung mit nur sichtbaren Lichtanteilen oder im Dunkeln.

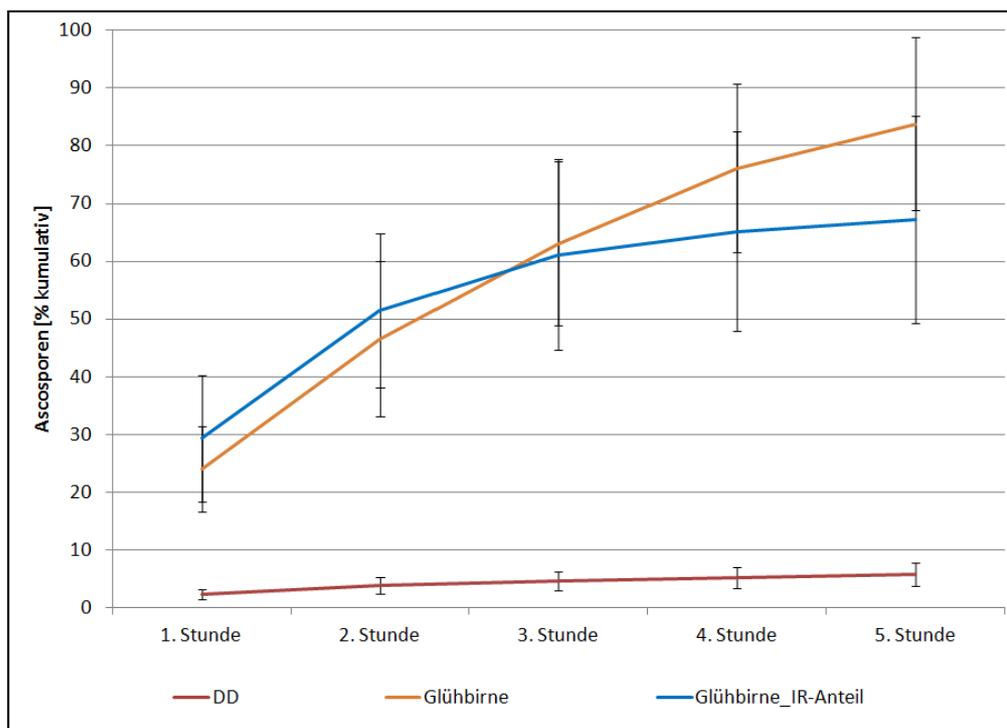


Abb. 55: Ascosporen von *Venturia inaequalis* in Prozent des Gesamtpotenzials bei der Durchführung mit der modifizierten Wasserbadmethode (Fixierung der Blätter) und der Wirkung des infraroten Lichtanteils im 20 °C Raum. DD: Dauerdunkel.

Wurde nach der Durchführung eines Versuchs mit ausschließlich sichtbaren Lichtanteilen anschließend eine Stunde mit der Glühbirne beleuchtet, so wurde ein starker Anstieg in der Sporenzahl registriert (s. Abb. 56). Eine Wirkung der sichtbaren

Lichtanteile konnte ausgeschlossen werden (s. 3.4.1). Die Bestrahlung mit infraroten Lichtanteilen der Wellenlängen 850 nm und 940 nm zeigte in den Versuchen keine Wirkung. Die Strahlung der LED-Dioden mit den Wellenlängen 1050 nm, 1200 nm und 1450 nm hatte in der verwendeten Strahlungsintensität ebenfalls keine Auswirkungen, auch eine Erwärmung der Proben konnte nicht festgestellt werden.

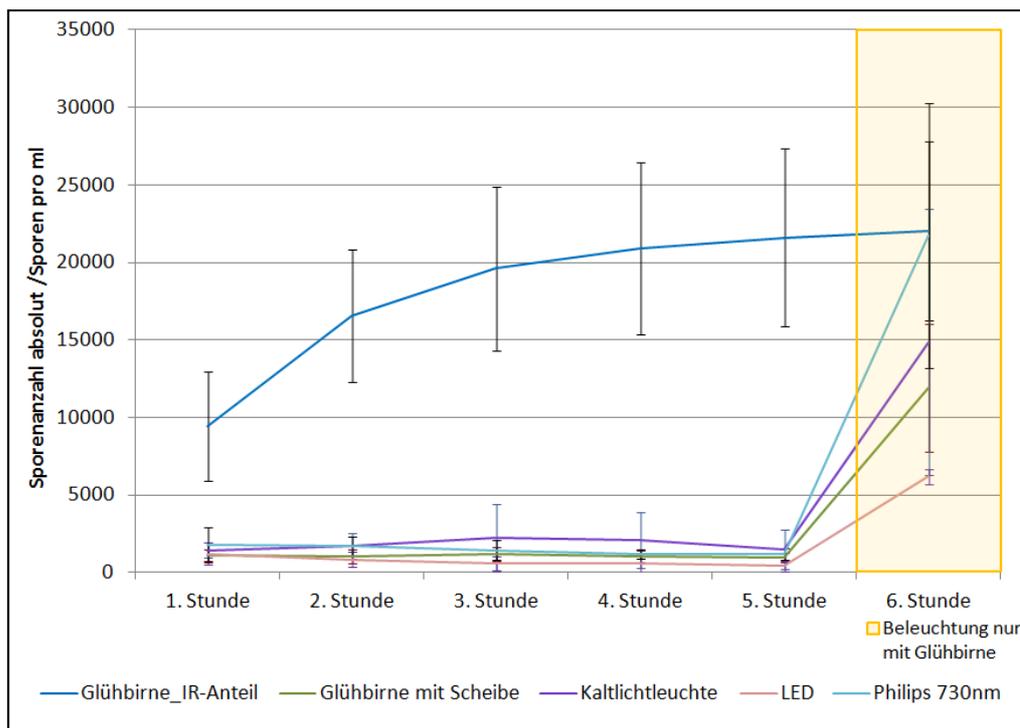


Abb. 56: Absolute Sporenzahlen von *Venturia inaequalis* bei der Durchführung der modifizierten Wasserbadmethode (Fixierung der Blätter) und der Wirkung des infraroten Lichtanteils im Anschluss an die Bestrahlung mit sichtbaren Lichtanteilen im Vergleich zu der durchgehenden Bestrahlung mit infraroten Lichtanteilen. Versuchsdurchführung im 20 °C Raum.

Hinsichtlich des Anteils der ausgeschleuderten Ascosporen am Gesamtpotenzial wurde unter Bestrahlung mit der Glühbirne bei 20 °C und in einem Raum mit 4 °C im Vergleich kein Unterschied festgestellt (Abb. 57). Die absolute Anzahl der Sporen (kumulativ) lag in den Versuchen mit Vorinkubation und Durchführung im 4 °C-Raum im Durchschnitt leicht unter der absoluten Anzahl an Sporen bei den Versuchen

mit Vorinkubation und Durchführung bei 20 °C. Wurden die Proben bei 20 °C vorinkubiert und der Versuch im 4 °C- Raum durchgeführt, entsprachen die Ergebnisse den weiteren Versuchen im Kühlraum.

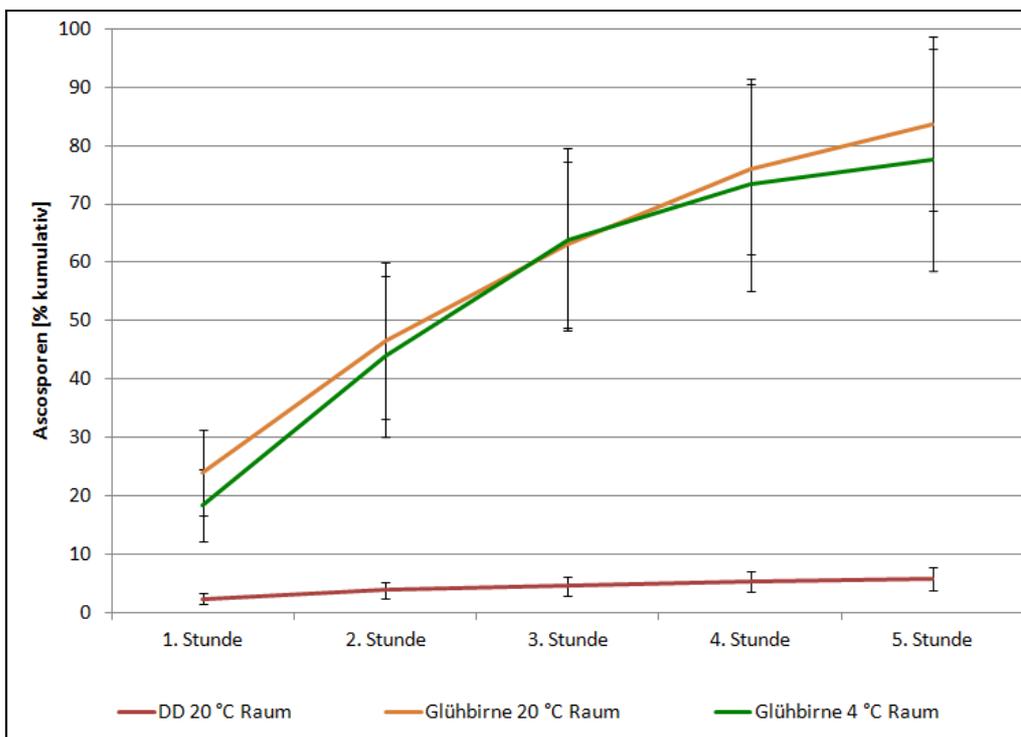


Abb. 57: Ausgestoßene Ascosporen von *Venturia inaequalis* in Prozent des Gesamtpotenzials bei der Durchführung mit der modifizierten Wasserbadmethode und der Wirkung des infraroten Lichtanteils bei unterschiedlichen Temperaturen. DD: Dauerdunkel.

3.5 Einfluss des sichtbaren Lichts auf das Myzelwachstum von *Venturia inaequalis*

Die Wirkung des Lichts auf die Sporenausschleuderung ist nur ein Teilbereich in dem das Licht auf den Organismus wirken kann. Um weitere Einflüsse des Lichts auf *V. inaequalis* zu untersuchen, wurden das Myzelwachstum, die Aktivität der Pektinasen und der Nahrungsverbrauch anhand der Glucoseverwertung unter verschiedenen Lichtbedingungen betrachtet.

3.5.1 Myzelwachstum

Myzelien wurden direkt nach dem Beimpfen von PDA-Medium in unterschiedlichen Lichtbedingungen kultiviert und ihr Wachstum nach 21 und 54 Tagen ausgewertet. Die im Dauerlicht (LL) kultivierten Myzelien zeigten nach 21 Tagen eine Braunfärbung im inneren Myzelbereich (s. Abb. 58), im Gegensatz zu den Kulturen im Hell-Dunkel-Wechsel (LD) und Dauerdunkel (DD). Bei LD und DD war die Wachstumszone nicht gefärbt und es war keine Guttation zu beobachten. Die Myzelien, die im Dauerdunkel (DD) kultiviert wurden, zeigten nach 21 Tagen durchgehend keine Färbung und keine Guttation. Die Myzelien, die im Licht-Dunkel-Wechsel kultiviert wurden, waren kaum gefärbt, zeigten jedoch Guttation. Nach 54 Tagen waren alle Myzelien einheitlich gefärbt mit einer dunklen Wachstumszone. Die LD-Myzelien zeigten starke Guttation und mittelstarke Einkerbungen im älteren Myzelbereich. Die Myzelien, die im DD gewachsen waren, zeigten wenig Guttation und starke Einkerbungen. Dagegen waren die Myzelien im LL kaum eingekerbt und sie hatten eine mittelstarke Guttation. In der Guttationsflüssigkeit der LD-Kultur konnte eine hohe Pektinaseaktivität nachgewiesen werden. Die Guttationsflüssigkeiten der LL- und DD-Kultur zeigten nur geringe Pektinaseaktivität.

Im Hinblick auf das Gewicht wurde bei den in Flüssigkultur gewachsenen Myzelien kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen beleuchteten Kulturansätzen festgestellt. Das durchschnittliche Gewicht der V1-Myzelien betrug in LL 0,09 g, in LD 0,07 g und in DD 0,08 g. Das Gewicht der V2015-Kulturen war geringer und lag durchschnittlich bei 0,04 g in LL, 0,01 g in LD und 0,05 g in DD.

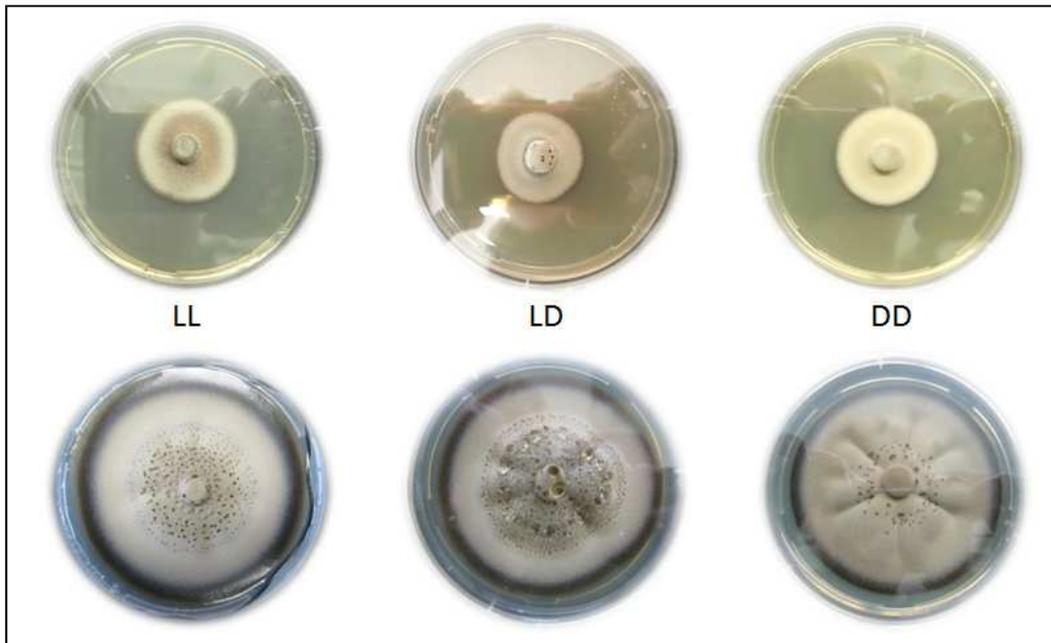


Abb. 58: Myzelien von *Venturia inaequalis* auf PDA, kultiviert unter verschiedenen Lichtbedingungen, 21 Tage (oben) und 54 Tage (unten). DD: Dauerdunkel, LD: Hell-Dunkel-Wechsel, LL: Dauerlicht.

3.5.2 Analysen der Kulturfiltratproteine

Die Konzentration der Kulturfiltratproteine lag bei der Methode nach Bradford bei allen eingesetzten Proben unterhalb der Nachweisgrenze von 1 µg/ml. In den IEF-Analysen der Kulturfiltrate konnten keine Proteine sichtbar gemacht werden. Auch eine erneute Aufkonzentrierung der Proben steigerte die Menge an Protein nicht über die Nachweisgrenze.

3.5.2.1 Pektinaseaktivität

Die Aktivität der Pektinasen, die unter den verschiedenen Lichtbedingungen in den Kulturen gebildet wurden, war unterschiedlich (s. Abb. 59). Die höchste Aktivität wurde bei den Kulturen beobachtet, die dem Licht-Dunkel-Wechsel ausgesetzt waren, die niedrigste Aktivität bei den Dauer-Dunkel-Kulturen. Dabei war die Pektinaseaktivität der LD-Kulturen 5-10-fach höher als in den DD-Kulturen. In den LL-Kulturen war die Aktivität im Durchschnitt halb so hoch wie in den LD-Kulturen.

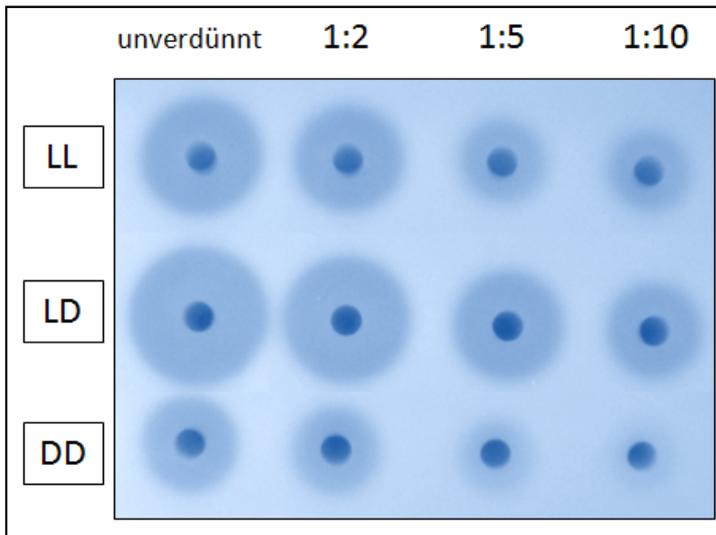


Abb. 59: Pektinaseaktivität von *Venturia inaequalis* unter verschiedenen Lichtbedingungen für nicht-myzelgebundene Pektinasen, unverdünnt, 1:2, 1:5 und 1:10. DD: Dauerdunkel, LD: Hell-Dunkel-Wechsel, LL: Dauerlicht.

3.5.2.2 Zymogramm

Qualitative Unterschiede im Isoenzymmuster der Pektinasen des Isolates V1 konnten bei den verschiedenen Lichtbedingungen nicht festgestellt werden.

3.5.3 HPLC – Zuckeranalyse

Der Unterschied im Verbrauch der zum MS-Medium zugegebenen Glucose war unter den verschiedenen Lichtbedingungen nicht signifikant verschieden (s. Abb. 60-61). Bezogen auf 1 g gebildetes Myzel verbrauchte das Isolat V2015 unter Licht-Dunkel-Wechsel (LD) den größten Anteil an Glucose, in LL (Dauerlicht) und DD (Dauerdunkel) etwa gleich viel. Das Isolat V1 verbrauchte unter allen Lichtregimen weniger als 100 mg/ml/g Myzel mit einem Mehrverbrauch von 12 bzw. 36 mg/ml/g Myzel in LD im Vergleich zu DD bzw. LL.

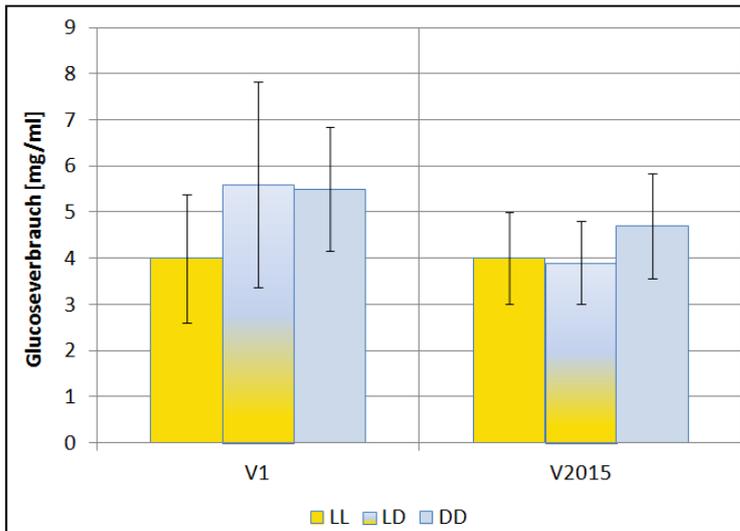


Abb. 60: Glucoseverbrauch von *Venturia inaequalis* unter verschiedenen Lichtbedingungen für das Isolat V1 und das Direktisolat V2015 mit einer Kulturdauer von 40 Tagen bei 20 °C. DD: Dauerdunkel, LD: Hell-Dunkel-Wechsel, LL: Dauerlicht.

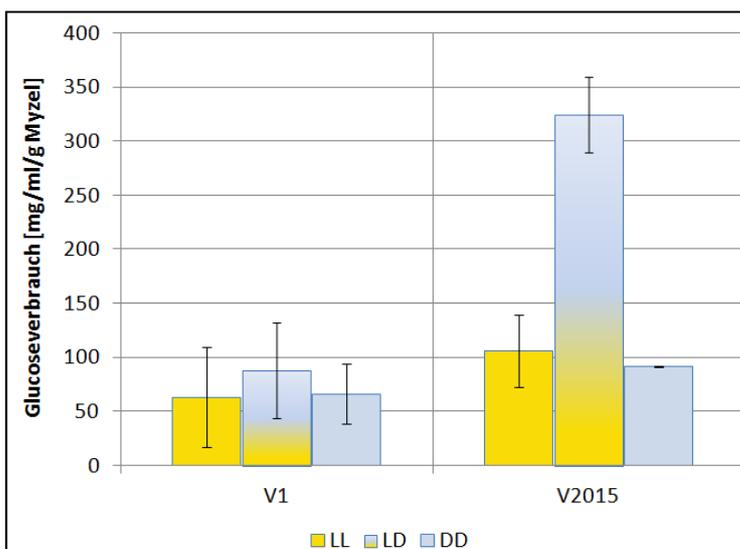


Abb. 61: Glucoseverbrauch von *Venturia inaequalis* pro Gramm gebildetes Myzel unter verschiedenen Lichtbedingungen für das Isolat V1 und das Direktisolat V2015 nach einer Kulturdauer von 40 Tagen bei 20 °C. DD: Dauerdunkel, LD: Hell-Dunkel-Wechsel, LL: Dauerlicht.

3.6 Rezeptoren für die Wahrnehmung von Licht und Wärme bei *Venturia inaequalis*

3.6.1 Lichtrezeptoren

Für die Wahrnehmung von Licht vom UV-Bereich bis zum fernroten Wellenlängenbereich sind verschiedene Klassen an Photorezeptoren bekannt, die außer bei den Pilzen auch in anderen Reichen bekannt sind. Dies sind Phytochrom, Opsin, Phototropin und Cryptochrom. Mittels Blast-Suche konnten im Genom von *Venturia inaequalis* homologe Proteine zu bekannten pilzlichen Lichtrezeptoren gefunden werden.

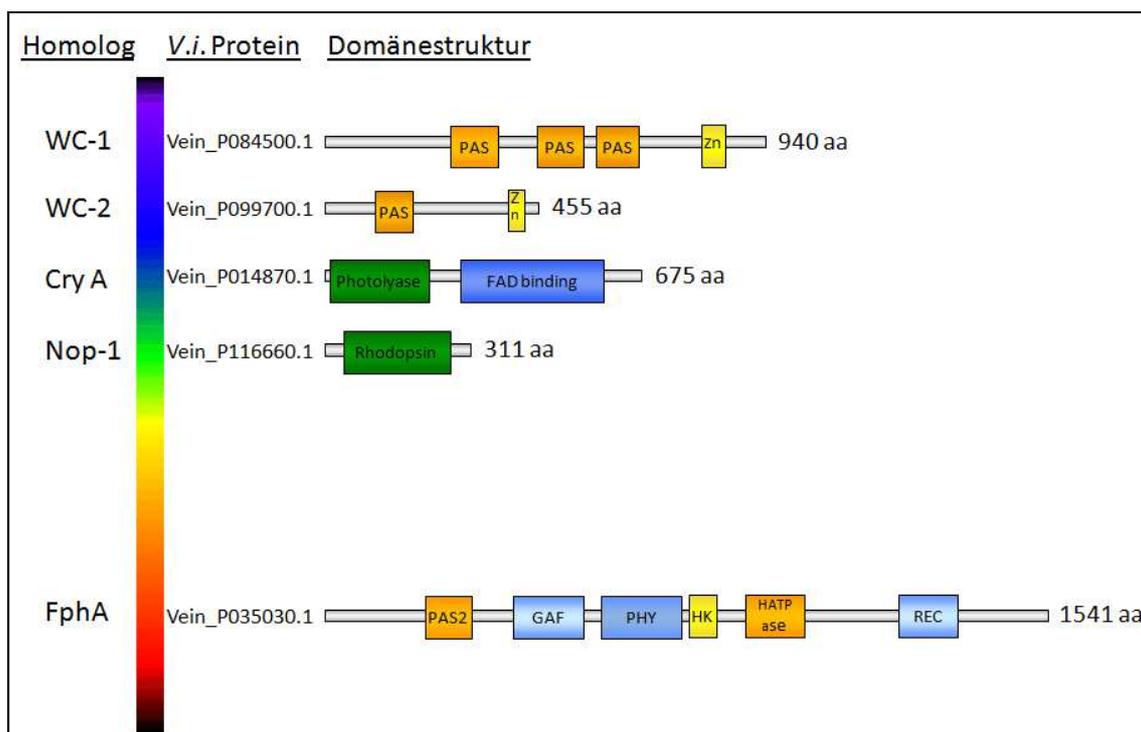


Abb. 62: Homologe zu bekannten Lichtrezeptoren und -regulatoren bei *Venturia inaequalis*. Hinter der Domänenstruktur ist die Anzahl der Aminosäuren angegeben.

Für die Perzeption im Blaulichtbereich wurden homologe Proteine zu den Rezeptoren WC-1 und WC-2 sowie dem Cryptochrom von *Neurospora crassa* identifiziert. Im Bereich der Rotlichtperzeption wurde ein dem Phytochrom FphA aus *Aspergillus nidulans* homologes Protein gefunden. Für den grünen Lichtbereich existiert bei *V. inaequalis* ein Protein, das homolog zu Nop-1 aus *Neurospora crassa* ist. Eine starke Ähnlichkeit des Proteins wurde auch zu dem Rhodopsin von *Macrophomina phaseolina* bzw. dem homologen Opsin von *Leptosphaeria maculans* gefunden. Die Proteine zeigen eine sehr ähnliche Domänenstruktur wie die entsprechenden Proteine bei *Neurospora crassa* und *A. nidulans* (s. Abb. 62).

Für die Blaulichtwahrnehmung wurden drei vermutliche Blaulichtrezeptoren gefunden. Dabei entsprechen die Proteine *Vein_P084500.1* und *Vein_P099700.1* den Proteinen *White Collar 1* und *2* von *Neurospora crassa*. Auch die Art, Anzahl und Lage der Proteindomänen von *Vein_P084500.1* und *Vein_P099700.1* ähneln stark den entsprechenden Proteinen von *N. crassa*. *Vein_P084500.1* beinhaltet wie WC-1 drei PAS-Domänen und eine GATA-Zinkfinger-Domäne zur DNA-Bindung. *Vein_P099700.1* besitzt wie auch WC-2 eine PAS-Domäne und eine GATA-Zinkfinger-Domäne. Das dritte Blaulicht-Protein *Vein_P014870.1* hat homolog zu Cry A aus *Neurospora crassa* eine Photolyasedomäne und eine FAD-Bindedomäne. Auch für den Grünlichtbereich wurde ein zu NOP-1 homologes Protein, *Vein_P116660.1*, bei *Venturia inaequalis* gefunden. Dieses Protein beinhaltet - wie auch bei *Neurospora crassa* - eine Rhodopsin-Domäne. *Aspergillus nidulans* besitzt ein Phytochrom-Protein, das als Homolog zu dem Protein *Vein_P035030.1* betrachtet wurde. Das Protein *Vein_P035030.1* besitzt - wie auch das von *A. nidulans* - eine PAS-, eine GAF- und eine PHY-Domäne im N-terminalen Bereich sowie eine Histidinkinasedomäne (HK), eine HATPase- und eine REC-Domäne.

3.6.2 Rezeptoren für Infrarotstrahlung und Temperaturanstieg

Für die Rezeption von Infrarotstrahlung und Wärme bzw. die Rezeption von Temperaturanstieg sind Ionenkanäle der TRP-Familie verantwortlich. Bei *Venturia inaequalis* wurde mittels Blast-Suche ein Protein der TRP-Familie (*transient receptor potential*) gefunden (*Vein_P085460.1*). Verwendet wurde die Sequenz FG04178.1 von *Gibberella zeae* (Ihara et al 2013). Dabei betrug die Übereinstimmung 59 %. Das Protein *Vein_P085460.1* von *Venturia inaequalis* beinhaltet eine trp-Domäne (s. Abb. 63).

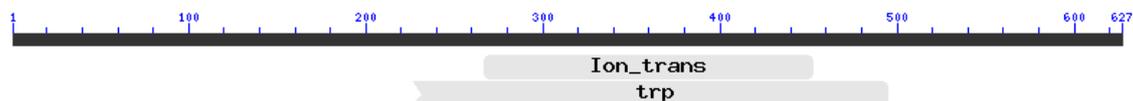


Abb. 63: Domänenstruktur des TRP-Proteins *Vein_P085460.1* von *Venturia inaequalis*.

4. Diskussion

4.1 Blattnässe-Sensoren

Der Zusammenhang zwischen Blattnässe und dem Auftreten von Pflanzenkrankheiten ist seit langem bekannt (De Bary 1853). Bei vielen phytopathogenen Pilzen ist eine ausreichende Blattnässedauer für die Keimung der Sporen und die Initiation einer Infektion ein wesentlicher Faktor (Jones 1986). Vor diesem Hintergrund war bei der vorliegenden Arbeit die Registrierung der Blattnässedauer ein wichtiger Parameter für die Entwicklung von Prognosemodellen. Eine aussagekräftige Prognose kann die Anzahl der Anwendungen von Pflanzenschutzmitteln reduzieren, wenn eine geeignete Qualität und Zuverlässigkeit der eingesetzten Sensoren gegeben ist. Bei der Apfelschorfprognose nach Mills (1944) werden die Lufttemperatur und die Dauer der Blattnässe verwendet. Für die Messung der Temperatur sind in der Wetterdatenerfassung Standards von der WMO (*World Meteorological Organisation*) definiert, so dass eine weltweite Vergleichbarkeit der Daten gegeben ist. Solche Standards existieren für Blattnässesensoren bis heute nicht. Die Gründe hierfür könnten teilweise durch eine anzustrebende Verwendung der Sensoren für verschiedene Wirtspflanzen gegeben sein und eine Standardisierung wäre nur mit einer technischen Variabilität oder Modellierung der Sensorik zu definieren. In der Praxis haben sich gegenwärtig verschiedene Blattnässesensoren mit im Wesentlichen zwei elektronischen Messprinzipien etabliert, deren Zuverlässigkeit vor allem hinsichtlich realer Blattnässezeiten diskutiert wird. Der Begriff der Blattnässe, ihr Beginn und Ende sind nicht einheitlich und exakt definiert. In der vorliegenden Arbeit wurde das erste sichere Zeichen von Tropfen bzw. Glanz durch einen Wasserfilm auf den Blättern als Beginn von Blattnässe definiert. Dementsprechend wurde die Blattnässe-Schwelle für die DECAGON- und PESSL-Sensoren definiert, für die keine technische Schwelle von Herstellerseite angegeben war. Es wurde zuerst der Winkel definiert, in dem der Sensor

zur Horizontalen geneigt war, wobei der Neigungswinkel der weiteren Sensoroberflächen als Orientierungspunkt herangezogen wurde. Ein Blattnässesensor sollte nicht horizontal angebracht werden, da sich hier zu viel Wasser ansammeln kann, das schwer abläuft (Rawlandson et al. 2015). Dies konnte in dieser Arbeit durch die entsprechende Anbringung des DECAGON-Sensors gezeigt werden und damit wird auch deutlich, wie wichtig vorgegebene Standards sind. Ohne diese Vorgaben kann ein Sensor von jedem Nutzer individuell eingesetzt werden, wodurch eine hohe Variabilität der Messwerte entsteht (Batzner et al. 2008). Letztere führen zu einer unterschiedlichen Bewertung eines Sensors seitens der Nutzer und somit sind die fehlenden Standards ursächlich für die kontroversen Diskussionen. Die Probleme im Zusammenhang mit der Messung von Blattnässe sind, wie bereits gezeigt, nicht immer in der Technik der Sensoren begründet, entscheidend können auch die Orientierung der geneigten Sensoroberfläche hinsichtlich der Himmelsrichtung, die Höhe über dem Boden und die örtliche Lage und Umgebung der Wetterstation bzw. der Sensoren sein (Rawlandson et al. 2015).

Die Entwicklung eines wartungsarmen Sensors war für die vorliegende Arbeit eine wichtige Vorgabe. Ein geringer Aufwand an Routinewartungsarbeit sollte ein wichtiges Merkmal von Sensoren in einer Wetterstation sein (Getz 1992). Bei den auf dem Leitfähigkeitsprinzip beruhenden Sensoren wird häufig ein Wartungsintervall von 1-2 Wochen (LUFFT HP100) zum Wechseln der Vliese angegeben. Bei einer einzelnen Wetterstation in räumlicher Nähe ist diese Vorgabe weniger problematisch. Für Betreiber mit einem großen Netz von Wetterstationen ist diese Empfehlung nur mit entsprechendem Aufwand einzuhalten, da oft weit entfernte Stationen angefahren werden müssen. Bei den stoff- oder vliesbasierten Sensoren kann es auch vorkommen, dass Tiere das Material als Nist- oder Baumaterial entwenden. Während der vorliegenden Untersuchung wurde dies nicht beobachtet. Auch bei längeren

Wartungsintervallen waren die Messwerte nicht abweichend und die Vliese nicht beschädigt.

Bei den kapazitiven Sensoren wurden Alterungserscheinungen beobachtet. Die unzureichende Einbettung der Leiterbahnen führte bei ADCON zu Korrosion und die Beständigkeit der Trägerfolien bei HOFFMANN war für den Langzeitbetrieb nicht ausreichend. Beides führte innerhalb der Vergleichsdauer nicht zu messbaren Unterschieden, jedoch kann aufgrund des Ausmaßes der Alterung angenommen werden, dass nach weiterer Exposition ein Einfluss auf die Blattnässeanzeigen festzustellen wäre. Bei dem im Projekt entwickelten Sensor kam bei Prototyp 3 eine glaskeramische Einbettung der Leiterbahnen zum Einsatz, wodurch Korrosion ausgeschlossen wurde. Die glatte Oberfläche verringert auch das Anhaften von Algen oder Schmutzpartikeln, wie bei den DECAGON-Sensoren festgestellt wurde. Dadurch könnte auch die Schwelle für die Registrierung von Nässe verändert werden (Rawlandson et al. 2015). Der Neigungswinkel der Sensorfläche des THIES-Sensors wurde aus den Erfahrungen mit Produkten wie „Regenwächtern“ aus der Haustechnik übernommen, der ein Abfließen großer Tropfen weitgehend ermöglicht und eine größere Wasseransammlung verhindert. Die Schwelle für die Registrierung von Nässe war durch den steilen Übergang zu höheren Messwerten einfach zu definieren und galt als technisch eingestellt, ohne die Notwendigkeit von Nacheichungen bei längeren Betriebs- oder Expositionszeiten oder Fertigungstoleranzen. Alle Prototypen für Freilandtestungen wurden auf freier Fläche und nicht im Bestand angebracht, denn die Messung im Bestand führt, bedingt durch das Kleinklima in und zwischen den Bäumen, je nach Anbringungshöhe und -ort zu stark abweichenden Nässezeiten (Batzer et al. 2008). Bei Batzer et al. (2008) zeigte die Anbringung über freier grasbewachsener Fläche die beste Übereinstimmung mit den Werten an der am längsten nassen Stelle der Anlage.

Bei der Entwicklung der Sensoren wurde zuerst die Oberfläche optimiert. Prototyp 1 besaß eine Oberfläche mit metallischen Leiterbahnen, die korrosions- und verschmutzungsanfällig war. Die keramische Einbettung der Leiterbahnen bei Prototyp 2 wirkte dem entgegen, war jedoch selbst anfällig für Witterungseinflüsse. Bei Prototyp 3 war mit der glaskeramischen Einbettung eine korrosionsgeschützte und widerstandsfähige Oberfläche entstanden, die bei Bedarf leicht zu reinigen war. Diese Oberfläche war auch für den Einsatz des Peltierelements und der Beheizung günstig, da die thermische Leitfähigkeit eine einfache und schnelle Regelung der Oberflächentemperatur zuließ.

Bei den Prototypen 3 a-d wurde im Freiland eine Abhängigkeit der Abtrocknungszeit von den Windverhältnissen festgestellt. Der zu gering dimensionierte Kühlkörper gab die vom Peltierelement erzeugte, hochsteigende Wärme direkt unterhalb der Sensoroberfläche ab. Bei Windgeschwindigkeiten ab etwa 2,5 m/s wurde die Wärme durch den Wind vom Sensor abgeführt und dadurch verlängerten sich die angezeigten Abtrocknungszeiten. Bei Prototyp 4 sollte ein Ventilator zusammen mit einem veränderten Kühlkörper die Abführung der Wärme gewährleisten. Während der Exposition im Freiland wurde der Ventilator versuchsweise ausgeschaltet. Da die dann angezeigten Blattnässezeiten weitgehend den realen entsprachen, wurde bei Prototyp 5 weiterhin ein Kühlkörper mit großer Oberfläche verwendet, jedoch ohne Ventilator. Der von der Firma Thies entwickelte Kühlkörper, der ab dem Prototyp 5 eingesetzt wurde, hatte eine größere Oberfläche, jedoch im Vergleich zu dem Kühlkörper von Prototyp 4 eng zueinander stehende Kühlrippen. Bei der Durchführung der Tests mit Prototyp 6 in der Klimakammer wurde aufsteigende warme Luft durch die Verwendung von Rauchstäbchen nachgewiesen. Der Einfluss dieser aufsteigenden Luft wurde durch die experimentelle Abschirmung durch einen Kragen gezeigt. Die weitgehende Übereinstimmung mit den realen Blattnässezeiten des Prototyps 4 ohne Ventilator ist aus heutiger Sicht nicht nur auf die Form des Kühlkörpers

zurückzuführen, sondern auch auf die zumindest einseitige Abschirmung der Sensoroberfläche durch den Ventilatorvorbau. Die Abführung der warmen Luft wurde bei dem marktreifen Prototyp 7 durch einen Ventilator gewährleistet, der während der Kühlung der Sensoroberfläche aktiviert ist.

Die Bildung von größeren Wassertropfen am unteren Rand der Messfläche wurde im Freiland bei den Prototypen 3 und 4 beobachtet sowie in den Klimakammertests bei Prototyp 5. Das unregelmäßige Auftreten dieser Tropfenbildung nach dem „Chaosprinzip“ führte zu unregelmäßigen und starken Verlängerungen der vom Sensor angezeigten Blattnässezeit. Bei weiteren Tests wurde an Prototyp 6 ein Ablaufschild angebracht. Die Tropfen wurden dadurch abgeleitet und es konnte eine einheitliche Abtrocknungszeit erreicht werden. Der Ablaufschild war jedoch anfällig für Verschmutzungen. Bei Prototyp 7 wurde zur Vermeidung des Schildes durch Verkürzung der Leiterbahnen die Messfläche verkleinert. Es entstand dabei am unteren Rand ein Streifen, der nicht mehr der Messwerterfassung dienen konnte. Damit wurde der Bereich der Tropfenbildung von der Messung der Blattnässe ausgeschlossen und beeinflusste die Blattnässeanzeige nicht mehr.

Durch die Verwendung einer Oberflächenheizung konnte die Registrierung von einem Nässebeginn durch Tau ab Prototyp 3 ausgeschlossen werden, was für die Schorfprognose wesentlich ist, da Tau keine Sporenausschleuderung bewirkt (Frey & Keitt 1925, Moore 1958, Miller & Waggoner 1958, Hirst & Stedman 1962a, Brook 1966, Brook 1969a, MacHardy & Gadoury 1986, Kohl 1993, Gadoury et al 1994, Kollar 1996-2000, Rossi et al. 2001). Durch die ständige geringfügige Beheizung der Sensoroberfläche konnten bei Taubedingungen Nässefilme verhindert werden. Entsteht Tau im Anschluss an einen Regen, so führt er zu einer Verlängerung der Nässezeit auf den Blättern, wodurch die Auskeimung der ausgeschleuderten Ascosporen begünstigt wird. Genauso führt Tau im Anschluss an einen Regen zu einer Verlängerung der angezeigten Nässezeit auf dem bereits nassen Sensor. Der entwickelte

THIES-Sensor ist mit Prototyp 7 für die Apfelschorf-Prognose - ausgehend von den Ergebnissen aus der vorliegenden Arbeit - voreingestellt. Die Leistung von Heizung und Kühlung können bei Bedarf von zukünftigen Anwendern weitgehend verändert werden. Dies könnte auch die Anpassung der Nässeanzeige bezüglich der verschiedenen anderen Pflanzenorgane wie Knospen, Kelchblättern und Früchten im Verlauf der Reife betreffen. Diese neuen Möglichkeiten könnten *per se* die Wissenschaft und die angewandte Forschung zu neuen Perspektiven motivieren. Der Sensor kann bei Aufstellungsorten von Wetterstationen, die bezogen auf den Zielort, die Apfelplantage, ungünstig oder ungeeignet sind, entsprechend modelliert und angepasst werden oder auch für weitere Anwendungen im Bereich Pflanzenschutz verwendet und optimiert werden. Bei der Infektion mit verschiedenen Phytopathogenen, wie z.B. mit Rostpilzen, ist die Registrierung von Blattnässe im Allgemeinen wesentlich (Huber & Gillespie 1992). Ohne die Beheizung der Sensoroberfläche kann auch ein Nässebeginn durch Tau registriert werden. Durch die Änderung der Kühlleistung kann die Abtrocknungszeit an das jeweilige Pflanzenorgan angepasst werden. Hierzu müssten weitere Versuche empirisch oder unter standardisierten Bedingungen mit den jeweiligen Wirtspflanzen durchgeführt werden.

4.2 Einfluss von Lufttemperatur und kinetischer Regenenergie auf die Sporenausschleuderung im Freiland

Kinetische Energie des Regens

Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen der kinetischen Energie des Regens und der Epidemiologie eines Erregers wurden bisher weitgehend auf Sporenausbreitung durch Spritzwasser beschränkt (Madden 1997, Lovell et al. 2002). Alt (2003) und Alt & Kollar (2010) konnten erstmals einen Zusammenhang zwischen kinetischer Energie und der Sporenfreisetzung bei *V. inaequalis* nachweisen. Sie stellten fest, dass schon geringe Mengen an kinetischer Energie durch bewegtes Wasser

ausreichen, um eine Sporenausschleuderung auszulösen. Dieser Effekt liegt auch der Wasserbadmethode (Kollar 1998a) zur Bestimmung des Ascosporenpotenzials zu Grunde. Die dabei auf die Blätter wirkende kinetische Energie kann jedoch nicht quantifiziert werden, da durch Reibung und Wirbelbildung Energie verloren geht. Alt (2003) stellte selbst bei schwachen Wasserströmungen einen messbaren Sporenausstoß fest, der mit der Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit zunahm. Im Freiland wird die kinetische Energie durch den Regen verursacht. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigten auch im Freiland eine niedrige Auslöseschwelle. Insgesamt wurden die induzierenden Regenereignisse von über 50 Sporenflügen untersucht. Die niedrigste Auslöseschwelle lag dabei bei $0,003 \text{ J/qm}$, was etwa der kinetischen Energie von einem größeren Tropfen mit mittlerer Geschwindigkeit entspricht. Bei diesem Ereignis wurden zeitgleich über 2600 Tropfen auf 25 cm^2 gezählt (THIES Niederschlagswächter) und eine Niederschlagsmenge von $0,1 \text{ mm}$ erfasst (THIES Niederschlagsgeber). Diese Werte liegen in einem Bereich, bei dem eine höhere kinetische Energie zu erwarten wäre. Es ist möglich, dass bei diesem Ereignis eine korrekte Messung des Laser-Niederschlags-Monitors durch eine andere Störung, wie z.B. eine Spinne vor dem Laserfeld, verhindert wurde. Aufgrund der Anzahl der Tropfen im Verhältnis zu der Niederschlagsmenge ist bei diesem Ereignis von einem Nieselregen auszugehen. Eine niedrige Auslöseschwelle belegen jedoch auch weitere sporenflugauslösende Regenereignisse, deren gesamte kinetische Energie jeweils unter 1 J/qm lag. Einzelne große Regentropfen mit hoher Geschwindigkeit erreichen bereits Werte über 1 J/qm . Die Messung der Höhe der kinetischen Energie und damit die Nutzung der minimalen Auslöseschwelle zu Prognosezwecken ist aufgrund der niedrigen festgestellten Auslöseschwelle möglich, aber nicht sinnvoll. Je nach Tropfengröße wird die geringe Menge an kinetischer Energie bereits nach wenigen Tropfen erreicht. In den Auswertungen wurden daher Starkregenereignisse nicht berücksichtigt, da hier davon

auszugehen war, dass innerhalb kürzester Zeit jede erforderliche Menge an kinetischer Energie zur Verfügung stand und so eine Maskierung entstehen konnte.

Die bei einem Sporenflug bis zum Maximum an Sporen aufsummierte kinetische Energie war größer, wenn die Blätter vor dem Regen bereits feucht waren. Dies könnte daran liegen, dass ein bereits auf den Blättern vorhandener Feuchtfilm den Aufprall der Tropfen abdämpft oder das feuchte Blatt die kinetische Energie anders aufnimmt und weiterleitet als ein trockenes, denn feuchte Blätter sind biegsamer und geben leichter nach als trockene Blätter.

Lufttemperatur

Im Bereich von 4-30 °C gibt es nur geringe Auswirkungen der Temperatur auf die Sporenfreisetzung und die Sporenzahlen (Hirst & Stedman 1962a, MacHardy & Gadoury 1986, Seem et al. 1979, Gadoury et al. 1994). Bei Temperaturen unter 4 °C ist die Ausschleuderung von Ascosporen reduziert und kommt unter 2 °C fast vollständig zum Erliegen (Stensvand et al. 1997). In der vorliegenden Arbeit konnte kein Einfluss der Lufttemperatur auf den Beginn der Sporenausschleuderung im Freiland festgestellt werden. Neben der Lufttemperatur zum Zeitpunkt der Sporenfreisetzung wurde der Temperaturverlauf innerhalb von 30 bzw. 60 min ab Beginn des Sporenfluges betrachtet. Die Temperaturverläufe waren unterschiedlich und es konnte kein Zusammenhang zwischen einem Anstieg oder Abfall der Lufttemperatur und der Sporenfreisetzung beobachtet werden. Die Änderung der Temperatur war teilweise im Bereich von 0,01 °C, was unterhalb der Genauigkeit des Thermometers lag. Da die Temperaturänderungen oftmals im Bereich von 0,01 °C lagen und eine Detektion dieser kleinen Temperaturschwankungen durch einen pilzlichen Organismus weitgehend ausgeschlossen werden kann, ist eine Abhängigkeit der Sporenfreisetzung von einem Anstieg oder Abfall der Lufttemperatur als

unwahrscheinlich anzusehen. Das Blatt und der Pilz werden durch die auftreffende solare Strahlung zusätzlich beeinflusst und erwärmt. Die Lufttemperatur wird standardmäßig unabhängig von der solaren Strahlung innerhalb eines ventilierten Gehäuses gemessen, um die realen Werte zu erhalten. Die Blätter, auf denen der Pilz wächst, sind jedoch vollständig der solaren Strahlung im Bereich von etwa 240 nm bis 3000 nm sowie anderen Witterungseinflüssen ausgesetzt. Ein nasses Blatt könnte durch die Absorption bestimmter Wellenlängen ein anderes Temperaturverhalten zeigen als ein trockenes. Möglicherweise besteht hierbei auch ein Zusammenhang zu der Höhe an kinetischer Energie, die bis zum Maximum des Sporenfluges aufläuft (s.o.). Neben der solaren Strahlung sind die Pseudothecien auf den Blättern auch der Wärmestrahlung der Erdoberfläche (> 3000 nm) ausgesetzt. Die dadurch entstehende Erwärmung der Pseudothecien ist nicht messbar und geschieht unabhängig von der Lufttemperatur. Der Einfluss von dieser infraroten Wärmestrahlung auf die Sporenausschleuderung wurde bisher noch nicht untersucht (s.o.).

4.3. Einfluss des sichtbaren und nicht sichtbaren Lichts

Einfluss des sichtbaren Lichts auf das Myzelwachstum

Bei den Myzelien auf PDA-Kulturmedium war nach 21 Tagen im LL eine Braunfärbung zu beobachten, im LD eine leichte Braunfärbung und im DD waren die Myzelien weiß. Dies spricht für eine lichtinduzierte Bildung von Farbstoffen. Bei *V. inaequalis* ist bekannt, dass in Kultur ein melaninhaltiges dunkelbraunes Protein ausgeschieden wird, das als Melanoprotein bezeichnet wird (Hignett & Kirkham 1967, Hignett et al. 1977). Das Aufbringen des Proteins auf Testpflanzen nach dem Inokulum bewirkt eine deutliche Zunahme an Schorf läsionen auf den Pflanzen (Hignett & Kirkham 1967). Melanine sind Pigmente, die die Färbung von Geweben bewirken. Sie kommen im gesamten Tierreich sowie in Mikroorganismen und Pflanzen vor. Beim Menschen wird die Melaninbildung durch UV-B-Strahlung angeregt und

dient als Schutz vor der UV-Strahlung der Sonne. Bei den vorliegenden Untersuchungen könnte die Braunfärbung der Myzelien durch das Licht angeregt worden sein. Da die verwendeten Lichtquellen kein UV-Licht enthielten, könnte der Blaulichtanteil die Bildung des Farbstoffes angeregt haben.

Es gibt für die Absonderung von Guttationsflüssigkeiten und ihrer physiologischen Bedeutung bei Pilzen bisher keine sichere wissenschaftliche Erklärung (Hutwimmer et al. 2010). Trotz der weiten Verbreitung der Guttation bei Basidiomyceten und Ascomyceten gibt es nur wenige Arbeiten, die sich mit diesem Phänomen beschäftigt haben. Die Zusammensetzung der Guttationsflüssigkeit wird durch die Umgebungsbedingungen wie Temperatur und pH-Wert wesentlich beeinflusst und sie ist häufig reich an primären und sekundären Stoffwechselprodukten, anorganischen Substanzen und Proteinen (Gareis & Gareis 2007). Auch Mykotoxine werden über Guttationstropfen abgesondert (Gareis & Gareis 2007). Bei *Fusarium culmorum* und *Sclerotinia sclerotiorum* ist bekannt, dass die Absonderungen zum raschen Abbau von Pflanzengewebe führen können (McPhee & Colotelo 1976, Colotelo 1978). Bei *V. inaequalis* wurde in der Guttationsflüssigkeit der LD-Kultur eine hohe Pektinaseaktivität nachgewiesen. Die Guttation könnte auch als Maß für die Stoffwechselaktivität angenommen werden, denn bei manchen Pilzen wird Guttation vor allem in Zeiten starken Wachstums beobachtet. In diesem Zusammenhang könnte Guttation der Aussonderung von Abfallprodukten aus dem Stoffwechselprozess dienen (Hutwimmer et al. 2010). In der vorliegenden Arbeit wurden die stärkste Guttation und die höchste Pektinaseaktivität beobachtet, wenn der Pilz in LD kultiviert wurde. Möglicherweise wird der Stoffwechsel durch Licht angeregt und schwächt sich mit der Zeit im LL ab, während er in LD regelmäßig durch den Hell-Dunkel-Wechsel abgesenkt wird und in jeder Lichtphase auf hohem Niveau läuft. Der Verbrauch an Glucose war in Bezug auf die gebildete Myzelmasse bei dem Isolat V1 leicht erhöht und bei Isolat V2015 stark erhöht. Auch dies könnte ein Hinweis auf eine stärkere

Stoffwechselaktivität im Licht-Dunkel-Wechsel sein. Die Ergebnisse geben jedoch nur Hinweise auf eine mögliche Lichtreaktion und die Annahmen müssten in weiteren Versuchen belegt werden.

Einfluss des Lichts auf die Sporenausschleuderung im Freiland

Erste Hinweise auf eine diurnale Periodik des Ascosporenflugs bei *V. inaequalis* stellten Frey & Keitt (1925) fest. Hirst & Stedman (1962) beobachteten eine Tagesperiodik im Sporenflug, wobei die Anzahl der Sporen in der Luft in der Dunkelheit viel geringer war als am Tag, und schlossen auf eine Abhängigkeit der Sporenausschleuderung vom Licht. Brook berichtet 1966 nach einer Freilandstudie in Auckland (Neuseeland), dass nur 0,51 % aller registrierten Ascosporen in der Dunkelheit gefangen wurden. Weitere Arbeiten bestätigen diese Beobachtung (MacHardy & Gadoury 1986, Aylor & Sutton 1992, Kohl et al. 1994, Stensvand et al. 1998). Auch bei *Venturia pirina* wurde eine diurnale Periodik des Sporenflugs beobachtet (Washington 1988). In dieser Arbeit wurde versucht die Unterdrückung des Sporenflugs in Dunkelheit in Freilandexperimenten aufzuheben sowie die Hemmung der Sporenausschleuderung in Dunkelheit in Laborversuchen zuverlässig mit der Wasserbadmethode nachzuvollziehen. Bisher wurden weltweit viele Experimente durchgeführt, jedoch konnte die diurnale Periodizität der Ascosporenfreisetzung und deren Hemmung in Dunkelheit im Labor bisher nicht zuverlässig nachgebildet werden (Gadoury et al. 1994). Erfolgreiche Versuche zur Aufhebung der diurnalen Periodizität der Sporenfreisetzung im Freiland werden in der vorliegenden Arbeit erstmals dokumentiert.

In die vorliegende Arbeit wurden die Aufzeichnungen über die Sporenflüge am Julius Kühn-Institut in Dossenheim ab dem Jahr 2004 mit einbezogen, um eine breitere Datengrundlage zur Verfügung zu haben. Vor dem Bau der Wetterstation im Jahr

2009 wurde die Unterscheidung von Tag und Nacht über den Zeitpunkt des Sonnenauf- und Sonnenuntergangs bestimmt. Mit der Implementierung der Helligkeitsmessung in der Wetterstation im Juli des Jahres 2010 wurde die Hell-Dunkel-Schwelle aufgrund der Ergebnisse von Palm (1988) und Gadoury et al. (1994) auf 2000 lx festgelegt. Wie bei Gadoury et al. (1994) wurden in der vorliegenden Untersuchung etwa eine Stunde vor Sonnenuntergang bzw. nach Sonnenaufgang 2000 lx erreicht. Die definierte Nacht war in den Jahren 2011-2015 somit zwei Stunden länger. Die Zahl der während der Nacht registrierten Sporen lag vermutlich aus diesem Grund in den Jahren 2011-2015 bei Sporenfalle W bei über 10 % und damit höher als der Anteil von 7,32 bzw. 7,29 % der in den Jahren 2004-2010 an beiden Sporenfallen in der Nacht registrierten Sporen. Die in den Jahren 2011-2015 beleuchtete Sporenfalle A zeigte im Vergleich zu Sporenfalle W im Jahr 2011 einen etwas geringeren Anteil an Nachtsporen und in 2012 einen etwa doppelt so hohen Anteil. In diesem Jahr wurde die Lichtintensität im Vergleich zum Vorjahr auf über 2000 lx stark erhöht. Im Jahr 2013 wurde mit noch stärkerer Intensität von 10000 lx beleuchtet. Dabei wurde ein Anteil an Nachtsporen von lediglich etwa 5 % im Gegensatz zu der unbeleuchteten Sporenfalle W mit 10 % registriert. Auch im Jahr 2014 wurde mit hoher Intensität von 10000 lx beleuchtet. Der Anteil der in der definierten Nacht an Sporenfalle A gefangenen Sporen lag in diesem Jahr unter dem Anteil von Sporenfalle W. Diese Ergebnisse bestärken die Annahme, dass die Lichtintensität nicht für die Auslösung des Sporenflugs verantwortlich ist. Bei beiden Sporenfallen wurde im Jahr 2014 mit 17,45 % und 16,58 % der höchste Anteil an Nachtsporen in allen 10 Beobachtungsjahren registriert. Andere Autoren berichten ebenfalls von Anteilen von bis zu 18 % der jährlichen Ascosporenzahl bei Nacht (Warner & Braun 1992, Kohl et al. 1994).

Die Beleuchtung des Sporendepots an Sporenfalle A wurde aufgrund der Ergebnisse von Jahr zu Jahr geändert. Im Jahr 2011 wurde die Dunkelhemmung der

Sporenausschleuderung durch die Beleuchtung mit einer 400 lx Energiesparlampe nicht aufgehoben. Vereinzelt nächtliche Sporenflüge, die im Anschluss an einen Sporenflug bei Tag folgten, können als Nachlaufen bezeichnet werden. In dieser Zeit schleudern bereits vorbereitete Asci noch ihre Sporen aus und es werden weitere Sporen gefangen, die sich noch in der Luft befinden und nach und nach von der Sporenfalle angesaugt werden. Nach Palm (1988) und Gadoury et al. (1994) reichte die Lichtstärke von 400 lx im Jahr 2011 nicht aus. Die Bestrahlung mit demselben Leuchtmittel mit über 2000 lx im Jahr 2012 verursachte keine Änderung der Ergebnisse. Im Vergleich zeigte Sporenfalle A wie auch Sporenfalle W die Maxima der Sporenflüge in den hellen Tagesstunden. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde ein anderes Leuchtmittel gewählt, um ein einheitliches homogenes Spektrum zu verwenden, das dem Tageslicht ähnlicher ist. Durch die Beleuchtung mit der LED-Lampe konnte sowohl die Helligkeit erreicht als auch ein kontinuierliches Spektrum angeboten werden. Die Blätter wurden dabei nicht erwärmt, da das LED-Licht im Gegensatz zum Tageslicht keinen infraroten Wellenlängenanteil besitzt. Darüber hinaus ist im LED-Wellenlängenspektrum im Verhältnis zu den anderen Farbanteilen ein hoher Blauanteil vorhanden. Da auch im Jahr 2013 keine Veränderung im zeitlichen Sporenflugverhalten im Vergleich zu Sporenfalle W festzustellen war, wurde dieser Blaulichtanteil 2014 eliminiert, da in verschiedenen Untersuchungen (Brook 1969b, Gadoury et al 1998) festgestellt wurde, dass die Ausschleuderung der Sporen durch blaues Licht blockiert wurde. Die Änderung der Lichtqualität führte nicht zu einer Änderung in der diurnalen Periodizität oder der Sporenzahl im Vergleich der beiden Sporenfallen. Aufgrund der Ergebnisse aus den Laborversuchen wurde das Blattdepot an Sporenfalle A im Jahr 2015 mit einer 60 W Glühbirne beleuchtet. Die Beleuchtungsstärke lag bei > 10000 lx und das Spektrum der Glühbirne war dem des Tageslichts am ähnlichsten, denn es enthält im Gegensatz zu den zuvor verwendeten Leuchten einen infraroten Strahlungsanteil. Im Jahr 2015 konnte im Freiland weltweit

erstmals eine Aufhebung der diurnalen Periodizität durch die Beleuchtung mit der Glühbirne erreicht werden. Aufgrund der Versuche aus dem Labor konnte eine Wirkung des sichtbaren Lichts ausgeschlossen werden (s. u.). In diesem Jahr waren die infraroten Wellenlängenanteile für die Aufhebung der Dunkelhemmung relevant, was auch die Ergebnisse der Vorjahre erklärt, in denen nur Lichtquellen ohne infrarote Strahlungsanteile verwendet wurden. In der Natur ist die Infrarotstrahlung auf zwei Strahlungsquellen beschränkt. Die Sonne emittiert Infrarot im Bereich bis 3000 nm und die erwärmte Erdoberfläche sendet langwellige Wärmestrahlen im Bereich ab etwa 3000 nm aus. Ein Großteil der Sporen wird bei *V. inaequalis* während des Tages ausgeschleudert, womit der Einfluss der kurzwelligen Infrarotstrahlung durch die Sonne auf die Sporenausschleuderung als wahrscheinlich angenommen werden kann. Da durch die Bewölkung während der Regenereignisse die von der Sonne eintreffende Infrarotstrahlung abgemildert wird, scheinen schon geringe Intensitäten wirksam zu sein. Als Auslöser für eine Sporenfreisetzung funktionierte die Wärmestrahlung jedoch nur nach oder während eines Regenereignisses.

Einfluss des Lichts auf die Sporenausschleuderung im Labor

Brook erweiterte seine Experimente und untersuchte die Ausschleuderung der Ascosporen in aufwändigen Laborexperimenten (Brook 1969a, 1969b, 1975). Er klebte überwinterte Apfelblätter, die mit Pseudothecien des Apfelschorfpilzes besetzt waren, mit Silikonfett auf einen einstellbaren Temperaturblock in einem kleinen Windtunnel. Über Schläuche konnte er beliebig befeuchten und über eine Glasöffnung beleuchten. Für die Beleuchtung verwendete er eine 100 W Glühlampe mit Reflektor. Für die Abgrenzung verschiedener Wellenlängenbereiche setzte er Farbfilter ein und behielt dabei durch die Veränderung des Abstandes zur Probe die Lichtintensität bei. Die Lichtdurchlässigkeit wurde mit einem Spektrometer im Bereich von 390-800 nm gemessen. Im infraroten Bereich gibt Brook keine Transmissionswerte der Filter an, da

eine Messung der Infrarotstrahlung in dieser Form zu seiner Zeit nicht möglich war. Als Ergebnis seiner Forschungen zeigte sich eine Hemmung der Sporenausschleuderung im Dunkeln und im Blau- und Grünlicht sowie eine Förderung der Sporenausschleuderung im Bereich von 710-750 nm und in weißem Licht. Zu denselben Ergebnissen kommen Gadoury et al. 1998 und Stensvand 2000. Auch für andere Ascomyceten wurde der Einfluss des Lichts auf die Sporenausschleuderung untersucht (Leach 1975, Brook 1975).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte in Vorversuchen mit der Wasserbadmethode (Kollar 1998) die im Freiland beobachtete Lichtabhängigkeit der Sporenausschleuderung nicht nachvollzogen werden. Im Vergleich mit den Arbeiten der genannten Autoren waren die Blätter bei der Wasserbadmethode nicht fixiert. Dies legt eine Übertriggerung der auslösenden Rezeptoren (s. u.) bei dieser Methode nahe, die z.B. durch die mechanische Belastung der Blätter, die frei im Wasser bewegt wurden, entstehen könnte. Die Änderung der Ausrichtung der auf den Blattstückchen sitzenden Pseudothecien im Schwerfeld der Erde könnte ebenfalls die Ausschleuderung der Sporen beeinflussen. Bei *Phycomyces blakesleeanus* ist bekannt, dass sich der Pilz bei der Ausrichtung der Sporangiochore am Schwerfeld der Erde orientiert (Schimek et al. 1999). Durch die Entwicklung der modifizierten Wasserbadmethode wurden die Blätter während der Versuchsdurchführung einerseits fixiert und gleichzeitig in einer Orientierungslage gehalten, so dass beide Einflussfaktoren weitgehend ausgeschlossen werden konnten. Durch die Fixierung konnte unter der Verwendung der Wasserbadmethode eine Hemmung der Sporenausschleuderung in Dunkelheit erreicht werden. Damit konnten weitere Versuche zur Wirkung von Licht und seinen Komponenten durchgeführt werden. Bei der Beleuchtung mit weißem Licht, ausschließlich in sichtbaren Wellenlängenbereichen mit der Energiesparleuchte MEGAMAN Clusterlite, der Kaltlichtleuchte und der LED, konnte kein Sporenausstoß ausgelöst werden. Alle drei

Leuchtmittel besitzen jedoch nur einen geringen Anteil im roten Wellenlängenbereich, wie er von Brook (1969b), Gadoury et al. (1998) und Stensvand (2000) als stimulierend beschrieben wurde. In diesem Wellenlängenbereich von etwa 710-750 nm werden Pflanzen künstlich beleuchtet, da entsprechende Phytochrome auf diesen Bereich ansprechen und Wachstum und Blühverhalten beeinflussen. Phytochrome wirken sich durch ihre Reaktion auf rotes Licht bei dem Ascomycet *Aspergillus nidulans* ebenfalls auf die Sporenkeimung und die sexuelle Entwicklung aus (Mooney & Yager 1990, Blumenstein et al. 2005, Röhrig et al. 2013). Auch *V. inaequalis* besitzt ein Phytochrom (s. 3.6.1). Mit der Bestrahlung der Proben mit Licht im Wellenlängenbereich von 710-750 nm mit der Pflanzenleuchte Green Power von PHILIPS konnte die Stimulierung der Sporenausschleuderung in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Da diese Leuchte in der Gärtnerei in einem Abstand von > 1 m verwendet wird, war die Intensität bei dem hier gewählten Abstand von etwa 50 cm als ausreichend hoch anzunehmen. Um eine Intensität der Beleuchtung durch die Pflanzenleuchte zu gewährleisten, die dem Intensitätsniveau der Glühbirne im selben Wellenlängenbereich entspricht, wurde der Abstand zu den Proben über die Messung mit dem Spektrometer angepasst. Durch den Einsatz der Glühbirne mit einer Wärmeschutzscheibe wurde ebenfalls eine Strahlungsquelle mit einem hohen roten Wellenlängenanteil verwendet. Auch hier konnte keine signifikante Sporenfreisetzung im Vergleich zu den Versuchen im Dunkeln festgestellt werden.

Um einen Einfluss der Inkubationstemperatur auszuschließen, wurden Versuche unternommen, bei denen die Proben bei 20 °C inkubiert wurden, der Versuch selbst jedoch im 4 °C-Raum durchgeführt wurde. Die Ergebnisse entsprachen den weiteren Versuchen im Kühlraum. Eine Beeinflussung durch die Inkubationstemperatur wurde daher ausgeschlossen.

Infrarotstrahlung und Wärme

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals gezeigt, dass sich nicht das sichtbare Licht auf die Sporenfreisetzung auswirkt, sondern ausschließlich Infrarotanteile im Licht.

In diesem Zusammenhang wurde keine Wirkung der 850 nm- und 940 nm-Strahlung auf die Sporenausschleuderung festgestellt. Bei den verwendeten Strahlern handelte es sich um handelsübliche Geräte zur Videoüberwachung mit hoher Strahlungsintensität. Die fehlende Wirkung der Strahler auf die Sporenfreisetzung war daher nicht auf die Intensität der Strahlungsquelle zurückzuführen, sondern auf ihren Wellenlängenbereich und/oder deren Bandbreite. Es konnte kein Sporenausstoß unter Beleuchtung mit den Dioden der Wellenlängen 1050 nm, 1200 nm und 1450 nm beobachtet werden. Die Intensität der Dioden konnte nicht absolut bestimmt, sondern nur abgeschätzt werden und war in den Versuchen möglicherweise zu gering. Die Wirkung einzelner wasserabsorbierter Wellenlängenbereiche könnte in den Versuchen auch durch die Wasserschicht auf den Blättern abgeschwächt worden sein. Eine weitere Möglichkeit ist die Notwendigkeit einer breitbandigen IR-Strahlung, um die Sporenausschleuderung zu stimulieren. Diese Breitbandigkeit wurde nur durch die Glühbirne bereitgestellt. Bis zu der Einführung der LED-Technik wurden in den Experimenten in der Regel Glühbirnen verwendet (Brook 1969b, Brook 1975, Hirst & Stedman 1962, Leach 1975), die bis zu 98 % ihrer Strahlung im infraroten Bereich abgeben. Auch war die Messung der unsichtbaren Strahlung im infraroten Bereich lange nicht möglich. Der komplette Ausschluss der infraroten Strahlungsanteile während der Versuche war damals somit nicht nachweisbar. Gadoury et al. (1998) verwendeten eine Kaltlichtleuchte und führten keine Messungen im infraroten Lichtbereich durch, um das Vorhandensein kleiner Infrarotanteile komplett auszuschließen. In der vorliegenden Arbeit wurde bei der Untersuchung zum Einfluss des sichtbaren Lichts darauf geachtet, dass keine infraroten Wellenlängen durch die Leuchtmittel zum Einsatz kamen. Die genannten Autoren (Brook 1996a, Gadoury et

al. 1996, Hirst & Stedman 1962) stellten alle einen Anstieg in der Anzahl der ausgeschleuderten Ascosporen nach einer gesteuerten Erhöhung der Temperatur fest. Sie führten jedoch, mit Ausnahme von Brook (1969a), keine Untersuchungen ausschließlich mit infraroten Lichtanteilen durch. Brook berichtete von einer inhibitorischen Wirkung der infraroten Lichtanteile auf die Sporenausschleuderung, wobei er keine Intensität oder Wellenlängen angibt und auch keinen Abstand seiner Glühbirne zu den Proben. Bei seiner Versuchsdurchführung war die Strahlungsintensität der IR-Strahlung jedoch möglicherweise zu gering und es wurde daher keine Sporenausschleuderung ausgelöst. Auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde bei zu geringer IR-Strahlungsintensität der Glühbirne durch die Glasscheibe keine Förderung des Sporenausstoßes festgestellt. Die Scheibe filterte einen Großteil des IR-Strahlungsanteils und nur ein kleiner Anteil konnte bis zu den Proben gelangen. Dieser reichte jedoch nicht aus, um eine deutliche Sporenfreisetzung zu veranlassen. Bei einer IR-Bestrahlung mit der Glühbirne wurde immer auch eine Erwärmung des Probenwassers gemessen. Dies lag an der hohen Strahlungsintensität und an dem breiten Wellenlängenbereich, mit dem beleuchtet wurde. Da einzelne Wellenlängenbereiche durch Wasser absorbiert werden, konnte die Erwärmung des Wassers dabei nicht verhindert werden. Jedoch kann auch die Anwesenheit von bestimmten infraroten Wellenlängen zu einer Erwärmung von Geweben führen (Heslich et al. 2012), ohne die Umgebung messbar zu erwärmen. Im Tierreich ist die Detektion von Infrarot ohne messbare Erwärmung bei Schlangen (Gracheva et al. 2010), Fledermäusen (Kürten & Schmidt 1982) und Käfern (Schmitz & Beckmann 1998) nachgewiesen (Campbell et al. 2002). Es ist daher unklar, ob die Erwärmung des Wassers in den Proben, die Erwärmung des pilzlichen Gewebes durch bestimmte Wellenlängen oder die Detektion des Infrarots durch bestimmte Rezeptoren die Sporenfreisetzung bewirkt haben. Nahes Infrarot (NIR) kann tief in lebende Gewebe eindringen und dort grundlegende Energieprozesse in den Mitochondrien der Zellen

stimulieren. Dies ist aufgrund der Cytochrom C Oxidase (COX) als Hauptabsorber von NIR möglich, was zu einem Anstieg im Metabolismus der Atmungskette in den Zellen führt. Cytochrom C Oxidase könnte zwischen Mitochondrien und Zellkern als Photosignal-Umwandler agieren und so die Transkription regulieren (Heselich et al. 2012, Karu 2008). Interessant wären Folgeversuche mit Bandpassfiltern, um die Wirkung einzelner Wellenlängen und ihrer für die Sporenausschleuderung benötigten Intensität zu untersuchen. Die Ergebnisse aus dem Freiland (s.o) sprechen für eine direkte Wirkung des Infrarots über spezielle Rezeptoren oder über die Erwärmung des Schorfgebietes durch bestimmte Wellenlängen. Möglich wäre auch noch die Erwärmung des durch Osmose aufgenommenen Wassers in den Asci. Die Ergebnisse deuten auf das Vorhandensein eines Rezeptors hin, der auf Temperaturerhöhung oder Infrarot reagiert. Für die Existenz eines IR-Rezeptors sprechen auch die Versuchsergebnisse aus dem Freiland im Jahr 2015. Im Verlauf der Temperaturkurve im Blattdepot konnte kein Temperaturplateau registriert werden. Die Temperatur schwankte je nach Lufttemperatur und war auch im Laufe der Nacht unregelmäßig. Der Temperaturanstieg zu Beginn einer Beleuchtungsphase war unterschiedlich hoch und der Anstieg um eine bestimmte Temperaturdifferenz wie in den Laborversuchen war nicht gegeben. Das Erreichen einer bestimmten Temperatur oder die Registrierung einer bestimmten Temperaturdifferenz als Parameter für das Auslösen der Sporenausschleuderung konnten somit weitgehend ausgeschlossen werden. Die Intensität der auftreffenden Infrarotstrahlung durch die Glühbirne war jedoch konstant und wurde nicht beeinflusst.

Rezeptoren bei *Venturia inaequalis*

Aufgrund der diurnalen Periodik des Sporenfluges wurde auf eine lichtabhängige Steuerung der Sporenfreisetzung bei *V. inaequalis* geschlossen (s.o.). Ein solcher Zusammenhang ist bei der Freisetzung von Konidiosporen bei *Aspergillus nidulans* sehr

gut untersucht (Purschwitz et al. 2008). Eine große Anzahl von Konidiosporen wird nur im Licht produziert, aber weder rotes (680 nm) noch blaues (450 nm) Licht allein induzieren die Sporulation in einem Ausmaß wie weißes Licht. Durch die Kombination beider Lichtquellen wird die volle Konidienbildung erreicht (Purschwitz et al. 2008). Für die Lichtwahrnehmung wurden bei Pilzen verschiedene Rezeptoren nachgewiesen, wobei diese Wahrnehmung innerhalb des Reiches der Pilze weitgehend konserviert zu sein scheint (Dunlap & Loros 2006). Bei *V. inaequalis* konnten alle vier Klassen an Photorezeptoren *in silico* bestimmt werden. Das Ergebnis gibt jedoch keinen Aufschluss über die Rolle oder die Aktivität der Rezeptoren. Ein Hinweis auf die Aktivität eines Photorezeptors wurde bei der Färbung und Pektinasebildung der Myzelien gefunden (s.o.). Es wird vermutet, dass der hier aktive Photorezeptor seine Absorption im Blaulichtbereich hat, da die Bildung von melaninhaltigen Proteinen in der Regel dem Schutz vor UV-Licht dient und der Strahlungsbereich von UV im tiefblauen Bereich liegt. Die Ergebnisse früherer Arbeiten deuten darauf hin, dass ein Rezeptor für blaues Licht vorhanden und in die Sporenausschleuderung involviert ist, da blaues Licht nach Brook (1969b) die Sporenausschleuderung hemmt.

Im Bereich des grünen Lichts konnte das Protein *Vein_P116660.1* bei *V. inaequalis* als Rhodopsin identifiziert werden. Es hat dabei eine starke Ähnlichkeit mit dem Rhodopsin von *Macrophomina phaseolina* bzw. dem homologen Opsin von *Leptosphaeria maculans*. Rhodopsine sind siebenfach in die Membran eingelagerte Photorezeptorproteine. Sequenzähnlichkeiten haben es möglich gemacht, drei Gruppen von Opsinen bei Ascomyceten zu unterscheiden: (a) eine Gruppe mit Ähnlichkeit zu dem *L. maculans* protonenpumpenden Opsin, (b) eine Gruppe mit Ähnlichkeit zum *N. crassa* Opsin, das wahrscheinlich ein langsam-zyklischer Photosensor ist, (c) eine Gruppe von Opsin-ähnlichen Proteinen (Rodriguez-Romero et al. 2010). Die Ähnlichkeit des Opsins von *V. inaequalis* und dem von *L. maculans* legt nahe, dass das Opsin auch bei *V. inaequalis* als Protonenpumpe agiert.

Die Ergebnisse der Forschungsarbeiten von Brook (1969b) und Stensvand (2000) weisen auch auf das Vorhandensein eines Photorezeptors für den Bereich des roten Lichts hin, wobei Licht in einem Wellenlängenbereich von 710-730 nm (Fernrot) die Sporenfreisetzung stimulierte und in Bereichen von 650-700 nm (hellrot) und über 730 nm (Infrarot) inhibierte (s.o.). Brook (1969b) vermutete hier aufgrund des stimulierenden und inhibierenden Wellenlängenbereichs ein Phytochrom als Photorezeptor, der die Sporenausschleuderung steuert. Das bei *V. inaequalis* gefundene Gen *Vein_P035030.1* weist dieselbe Domänenstruktur auf wie das Phytochrom von *A. nidulans*. Eine Steuerung der Sporenausschleuderung über einen Rotlichtrezeptor würde mit der teilweise frühmorgendlich erhöhten Sporenfreisetzung insofern übereinstimmen, als die längeren roten Wellenlängen des Sonnenlichts aufgrund der Brechung in der Atmosphäre vor den anderen Wellenlängen die Erdoberfläche erreichen. Ebendies gilt auch für die Wellenlängen im infraroten Bereich.

Welche Rolle die einzelnen *in silico* bestimmten Photorezeptoren bei *V. inaequalis* spielen, müsste in weiteren Versuchen geklärt werden.

Die Wahrnehmung von Wärme und Temperaturänderungen ist evolutiv gesehen sehr alt, überlebensnotwendig und in allen Reichen verbreitet. Für die Wahrnehmung von Wärme und Temperaturänderungen wurden Rezeptoren der TRP (Transient receptor potential)-Rezeptor-Familie identifiziert (Clapham 2003). TRP-Kanäle sind nicht-selektive Calcium-Ionenkanäle, die in einer großen Vielfalt bei Tieren und Pilzen vorkommen und meist in der Plasmamembran lokalisiert sind. Man unterscheidet sieben Unterfamilien, die alle sechs Transmembranregionen besitzen. TRP-Kanäle sind an der Wahrnehmung verschiedener Umweltstimuli wie Temperatur, chemische Substanzen, Schmerz und Geschmack beteiligt (Ihara 2013). Die *in silico*-Vergleiche zeigten, dass auch *V. inaequalis* ein Protein mit einer TRP-Domäne besitzt. Welche Funktion dieses Protein hat und welchen Typ das Protein vertritt, bleibt dabei unklar. Der bei Fledermäusen und Schlangen festgestellte infrarotempfindliche Rezeptor ist

auch vom Typ TRP (Gracheva et al. 2010, Gracheva et al. 2011). Ein Rezeptor vom Typ TRPA1 reagiert vor allem auf Temperaturänderungen oder Temperaturstrahlung wie Infrarot, kann jedoch auch, wie bei *Drosophila* (Tracey et al 2003), in die mechanosensitive Wahrnehmung eingebunden sein und im Zusammenhang mit der inneren Uhr stehen (Lee & Montell 2013). Auch bei der Schlange *Python reticulatus* ist ein multimodaler TRP-Rezeptor nachgewiesen, der außer auf Temperaturerhöhung auch als Mechanorezeptor auf Berührung reagiert (de Cock Buning 1983). Das gleichzeitige Ansprechen eines Rezeptors auf Temperaturänderungen oder Infrarotstrahlung und auf mechanische Reize, wie z.B. von Wasserströmungen, könnte die Reaktion von *V. inaequalis* in den Versuchen erklären. Die Charakterisierung des Rezeptortyps, der bei *V. inaequalis* im Zusammenhang mit der Sporenausschleuderung aktiv ist, erfordert weitere Versuche, in denen in einem ersten Schritt z.B. durch das Ansprechen auf verschiedene Stoffe wie Capsaicin (TRPA1) oder AICT (Allyl-Isothiocyanat) (TRPV1) der Rezeptortyp eingegrenzt wird. In Zukunft könnte im Falllaub durch die Hemmung dieses Rezeptors die Sporenausschleuderung gezielt verhindert oder durch aktivierende Substanzen eine Sporenausschleuderung zu geplanten Zeitpunkten absichtlich herbeigeführt werden. Dies könnte einen weiteren Fortschritt in der Schorfbekämpfung initiieren.

Literaturverzeichnis

- Aderhold, R. (1896): Die Fusicladien unserer Obstbäume. I. Teil. Landwirtschaftliche Jahrbücher 25, 875-914.
- Agrios, G.N. (1988): Plant Pathology. 3. Auflage. Academic Press, Inc.
- Alt, S. (2003): Kinetische Auslöser der Ascosporenausschleuderung von *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.. Dissertation Universität Heidelberg. <http://www.ub.uni-heidelberg.de/archiv/4093>
- Alt, S. & Kollar, A. (2010): Hydrodynamics of raindrop impact stimulate ascospore discharge of *Venturia inaequalis*. Fungal Biology 114, 320-324.
- Ambra, R., Grimaldi, B., Zamboni, S., Filetici, P., Macino, G. & Ballario, P. (2004): Photomorphogenesis in the hypogeous fungus *Tuber borchii*: isolation and characterization of Tbwc-1, the homologue of the blue-light photoreceptor of *Neurospora crassa*. Fungal Genetics and Biology 41, 688-697.
- Arx von, J. A. (1970): The genera of fungi sporulating in pure culture. Lehre. Verlag von J. Cramer.
- Aschoff, J., Assmann, J., Blaser, J.P., Cancik, H., Colpe, K., Eigen, M., Epstein, D., Grüsser, O.J., Häberle, P., Heimann, H., Lüscher, E., Pöppel, E., Seibt, F., Wheller, J.A. (1992): Die Zeit – Dauer und Augenblick. 3. Aufl.. München, R. Piper GmbH & Co. KG. S. 132-144.
- Avalos, J. & Estrada, A. F. (2010): Regulation by light in *Fusarium*. Fungal Genetics and Biology 47, 930-938.
- Aylor, D. E. & Anagnostakis, S. L. (1991): Active discharge distance of ascospores of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 81, 548-551.
- Aylor, D. E. & Sutton, T. B. (1992): Release of *Venturia inaequalis* ascospores during unsteady rain: Relationship to spore transport and deposition. Phytopathology 82, 532-540.

- Bailey, L. H. (1894): The recent apple failures of western New York. Cornell University Agricultural Experiment Station Bulletin 84, 1-34.
- Batzer, J. C., Gleason, M. L., Taylor, S. E., Koehler, K. J., & Monteiro, J. E. B. A. (2008): Spatial heterogeneity of leaf wetness duration in apple trees and its influence on performance of a warning system for sooty blotch and flyspeck. *Plant Disease* 92(1), 164-170.
- Bradford, M.M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Brook, P. (1966): The ascospore production season of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., the apple black spot fungus. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 9, 1064-1069.
- Brook, P. J. (1969a): Effects of light, temperature, and moisture on release of ascospores by *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 12, 214-227.
- Brook, P.J. (1969b): Stimulation of ascospore release in *Venturia inaequalis* by far red light. *Nature* 222, 390-392.
- Brook, P. J. (1975): Effect of light on ascospore discharge by five fungi with bitunicate asci. *New Phytologist* 74, 85-92.
- Brook, P.J. (1976): Seasonal pattern of maturation of *Venturia inaequalis* ascospores in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 19, 103-109.
- Campbell, A. L., Naik, R. R., Sowards, L. & Stone, M. O. (2002): Biological infrared imaging and sensing. *Micron*, 33(2), 211-225.
- Casas-Flores, S., Rios-Momberg, M., Rosales-Saavedra, T., Martinez-Hernandez, P., Olmedo-Monfil, V. & Herrera-Estrella, A. (2006): Cross talk between a fungal blue-light perception system and the cyclic AMP signaling pathway. *Eukaryotic cell* 5, 499-506.

- Clapham, D. E. (2003): TRP channels as cellular sensors. *Nature* 426, 517-524.
- Colotelo, N. (1978): Fungal exudates. *Canadian Journal of Microbiology* 24, 1173-1181.
- Crosthwaite, S. K., Dunlap, J. C. & Loros, J. J. (1997): *Neurospora* wc-1 and wc-2: transcription, photoresponses, and the origins of circadian rhythmicity. *Science* 276, 763-769.
- DeBary, H.A. (1853): Untersuchungen über die Brandpilze und die durch sie verursachten Krankheiten der Pflanzen mit Rücksicht auf das Getreide und andere Nutzpflanzen. Habilitationsschrift. Berlin.
- De Cock Buning, T. (1983): Thermal sensitivity as a specialization for prey capture and feeding in snakes. *American Zoology* 23, 363-375.
- Dunlap, J. C. & Loros, J. J. (2004): The *Neurospora* circadian system. *Journal of biological rhythms* 19, 414-424.
- Dunlap, J. C., & Loros, J. J. (2006): How fungi keep time: circadian system in *Neurospora* and other fungi. *Current Opinion in Microbiology* 9(6), 579-587.
- Fleissner, G. & Fleissner, G. (1993): Seeing Time. In: Wiese, K. et al. (Hrsg.): *Sensory Systems of Arthropods*. Basel. Birkhäuser Verlag.
- Fleissner, G. (1996): Rhythmicität, circadiane Rhythmik und Schlaf. In: Dudel, J., Menzel, R., Schmidt, R.F. (Hrsg.): *Neurowissenschaften*, 519-537.
- Frey, C. & Keitt, G. (1925): Studies of spore dissemination of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. in relation to seasonal development of apple scab. *Journal of Agricultural Research* 30, 529-540.
- Gadoury, D. M. & MacHardy, W. E. (1982): A model to estimate the maturity of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 72, 901-904.
- Gadoury, D. M. & MacHardy, W. E. (1986): Forecasting ascospore dose of *Venturia inaequalis* in commercial apple orchards. *Phytopathology* 76, 112-118.

- Gadoury, D. M., Seem, R. C. & Stensvand, A. (1994): Ascospore discharge in *Venturia inaequalis*. Norwegian Journal of Agricultural Sciences, Supplement No. 17, 205-219.
- Gareis, M. & Gareis, E. (2007): Guttation droplets of *Penicillium nordicum* and *Penicillium verrucosum* contain high concentrations of the mycotoxins ochratoxin A and B. Mycopathologia 163, 207-214.
- Getz, R. (1992): Report on the measurement of leaf wetness. World Meteorological Organisation, Agricultural Meteorology. CAgM Report 38. Genf.
- Golba, B. (2001): Die Wirkung pflanzlicher Phenole auf die Proteine und zellwandabbauenden Enzyme des Apfelschorfpilzes *Venturia inaequalis*. Dissertation, Universität Heidelberg.
- Gracheva, E. O., Ingolia, N. T., Kelly, Y. M., Cordero-Morales, J. F., Hollopeter, G., Chesler, A. T., Sanchez, E. E., Perez, J. C., Weissman, J. S., Julius, D. (2010): Molecular basis of infrared detection by snakes. Nature 464, 1006-1011.
- Gracheva, E. O., Cordero-Morales, J. F., Gonzales-Carcacia, J. A., Ingolia, N. T., Manno, C., Aranguren, C. I., Weissman, S. W. & Julius, D. (2011): Ganglion-specific splicing of TRPV1 underlies infrared sensation in vampire bats. Nature 476, 88-92.
- Heslich, A., Frohns, F., Frohns, A., Naumann, S. C. & Layer, P. G. (2012): Near-infrared exposure changes cellular responses to ionizing radiation. Photochemistry and Photobiology 88: 135-146.
- Hignett, R. C. & Kirkham, D. S. (1967): The role of extracellular melanoproteins of *Venturia inaequalis* in host susceptibility. Journal of General Microbiology 48, 269-275.
- Hignett, R. C., Carder, J. H. & Smith, A. R. W. (1977): Origins and characteristics of *Venturia inaequalis* melanoproteins active in the apple scab disease. Journal of General Microbiology 102, 207-210.

- Hillman, W. S. (1967): The physiology of phytochrome. *Annual Review of Plant Physiology* 18, 301-324.
- Hirst, J. M. & Stedman, O. J. (1962a): The epidemiology of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.). *Annals of Applied Biology* 50, 525-550.
- Huber, L., & Gillespie, T. J. (1992): Modeling leaf wetness in relation to plant disease epidemiology. *Annual Review of Phytopathology* 30(1), 553-577.
- Hutwimmer, S., Wang, H., Strasser, H. & Burgstaller, W. (2010): Formation of exudates droplets by *Metarhizium anisopliae* and the presence of destruxins. *Mycologia* 102, 1-10.
- Huygens, C. (1690): *Traité de la lumière*.
- Idnurm, A. & Heitman, J. (2005): Photosensing fungi: phytochrome in the spotlight. *Current biology* 15, R829-R832.
- Idnurm, A., Rodríguez-Romero, J., Corrochano, L. M., Sanz, C., Iturriaga, E.A., Eslava, A.P. & Heitman, J. (2006): The phycomyces madA gene encodes a blue-light photoreceptor for phototropism and other light responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 4546-4551.
- Ihara, M., Hamamoto, S., Miyanoiri, Y., Takeda, M., Kainosho, M., Yabe, I., Uozumi, N. & Yamashita, A. (2013): Molecular bases of multimodal regulation of a fungal Transient Receptor Potential (TRP) Channel. *J. Biol. Chem.* 288, No. 21, 15303-15317.
- Index Fungorum: The Index Fungorum Database. URL: <http://www.indexfungorum.org> (Stand 25.06.2014)
- Jones, A. L. (1986): Role of wet periods in predicting foliar diseases. In: *Plant Disease Epidemiology*. K. J. Leonard and W. E. Fry (Ed.). MacMillan Publishing Company, New York., 87-100.

- Kamada, T., Sano, H., Nakazawa, T. & Nakahori, K. (2010): Regulation of fruiting body photomorphogenesis in *Coprinopsis cinerea*. *Fungal Genetics and Biology* 47, 917-921.
- Karu, T. (2008): Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-ir radiation. *Photochemistry and Photobiology* 84, 1091-1099.
- Keitt, G. W. & Jones, L. K. (1926): Studies of the Epidemiology and Control of Apple Scab. Wisconsin Agricultural Experiment Station Research Bulletin 73.
- Kohl, R. (1993): Untersuchungen zur Epidemiologie des Apfelschorfs (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.). Diplomarbeit Universität Heidelberg. Unveröffentlicht.
- Kollar, A. (1979a): Aktuelle Forschung an dem bedeutendsten Erreger im Apfelanbau, dem Apfelschorfpilz *Venturia inaequalis*. *Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes* 49, 131-136.
- Kollar, A. (1994): Characterization of specific induction, activity and isozyme polymorphism of extracellular cellulases from *Venturia inaequalis* detected in vitro and on the host plant. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 7, 603-611.
- Kollar, A. (1996): Primäre Infektionsperioden des Apfelschorfs (*Venturia inaequalis*) und die Bewertung der biologischen und meteorologischen Faktoren. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft* 321, 543.
- Kollar, A. (1997): Present research on the most important pathogen on apple, the apple scab fungus *Venturia inaequalis*. *Plant research and Development* 46, 88-96.
- Kollar, A. (1998a): A simple method to forecast the ascospore discharge of *Venturia inaequalis*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 105, 489-495.
- Kollar, A. (1998b): Characterization of an endopolygalacturonase produced by the apple scab fungus, *Venturia inaequalis*. *Mycological Research* 102, 313-319.
- Kollar, A. (2000): A waterbath method for detection of potential ascospore discharge of *Venturia inaequalis*. *IOBC wrps Bulletin* 23, 53-60.
- Koller, L.R. (1965): Ultraviolet radiation. Wiley, New York.

- Kuerten, L. & Schmidt, U. (1982): Thermopereception in the Common Vampire Bat (*Desmodus rotundus*). *Journal of Comparative Physiology* 146, 223-228.
- Leach, C.M. (1975): Influence of relative humidity and red-infrared radiation on violent spore release by *Drechslera turcica* and other fungi. *Phytopathology* 65, 1303-1312.
- Lee, K., Singh, P., Chung, W., Ash, J., Kim, T., Hang, L. & Park, S. (2006): Light regulation of asexual development in the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *Fungal Genetics and Biology* 43, 694-706.
- Lee, Y. & Montell, C. (2013): Drosophila TRPA1 functions in temperature control of circadian rhythm in pacemaker neurons. *Journal of Neuroscience* 33(16), 6716-6725.
- Lovell, D. J., Parker, S. R., Van Peteghem, P., Webb, D. A., & Welham, S. J. (2002): Quantification of raindrop kinetic energy for improved prediction of splash-dispersed pathogens. *Phytopathology*, 92(5), 497-503.
- MacHardy, W. E. & Gadoury, D.M. (1986): Patterns of ascospore discharge by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 76, 985-990.
- MacHardy, W. E. & Gadoury, D.M. (1989): A revision of Mill's criteria for predicting apple scab infection periods. *Phytopathology* 79, 304-310.
- MacHardy, W.E. (1996): *Apple Scab. Biology, Epidemiology and Management*. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Madden, L. V. (1997): Rainfall and the dispersal of fungal spores. *Advances in Plant Pathology* 19, 225-230.
- Maxwell, J. C. (1865): *A Dynamical Theory of the Electromagnetic Field*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 155, 459-512.
- McPhee W. J. & Colotelo, N. (1976): Fungal exudates I. Characteristics of hyphal exudates in *Fusarium culmorum*. *Canadian Journal of Botany* 55, 358-365.

- Miller, P. & Waggoner, P. (1958): Dissemination of *Venturia inaequalis* ascospores. *Phytopathology* 48, 416-419.
- Mills, W. D. (1944): Efficient use of sulfur dusts and sprays during rain to control apple scab. *Cornell Ext. Bulletin* 630, 2-4.
- Mooney, J. L. & Yager, L. N. (1990): Light is required for conidiation in *Aspergillus nidulans*. *Genes & development* 4, 1473-1482.
- Moore, M. (1958): The release of ascospores of apple scab by dew. *Plant Pathology* 7, 4-5.
- Müller, E. & Loeffler, W. (1982): *Mykologie. Grundriss für Naturwissenschaftler und Mediziner*. 4. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15, 473-497.
- Olmedo, M., Navarro-Sampedro, L., Ruger-Herreros, C., Kim, S., Jeong, B., Lee, B. & Corrochano, L.M. (2010): A role in the regulation of transcription by light for RCO-1 and RCM-1, the *Neurospora* homologs of the yeast Tup1–Ssn6 repressor. *Fungal Genetics and Biology* 47, 939-952.
- Palm, G. (1988): Untersuchungen über den Einfluss der Belichtungsstärke für den Ascosporenausstoß des Schorfpilzes (*Venturia inaequalis*, *Venturia pirina*). *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft* 245, 420.
- Paul, V. (1981): Zur Biologie von *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter, dem Erreger des Apfelschorfs. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 34, 60-74.
- Porsche, F. (2015): Erforschung und Entwicklung alternativer Mittelzubereitungen für die Apfelschorfbekämpfung im Falllaub. Dissertation TU München. Julius Kühn Institut, Quedlinburg.

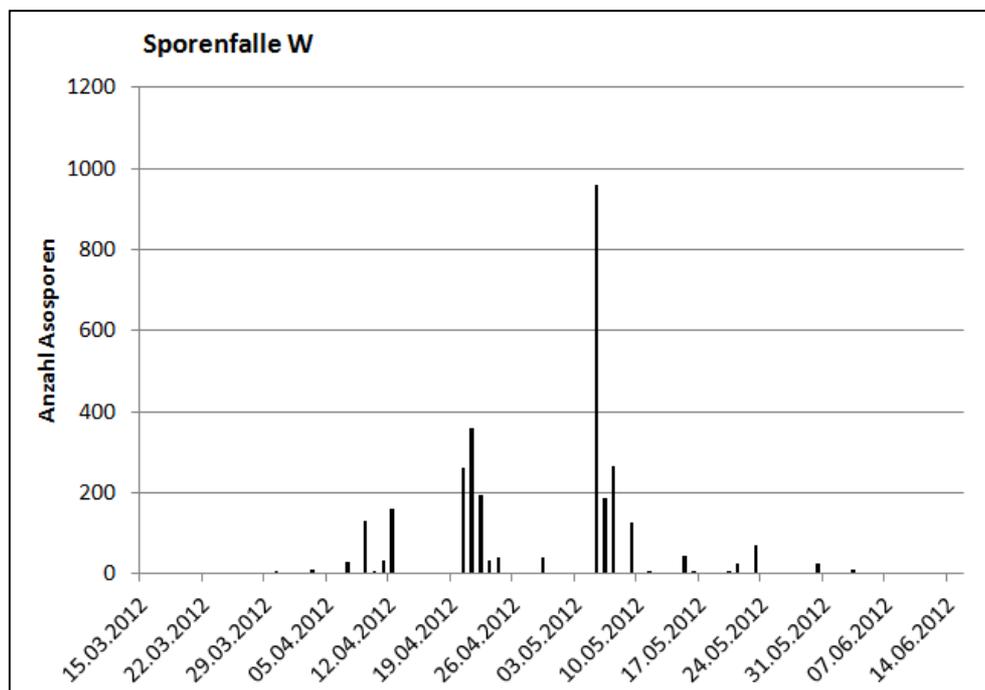
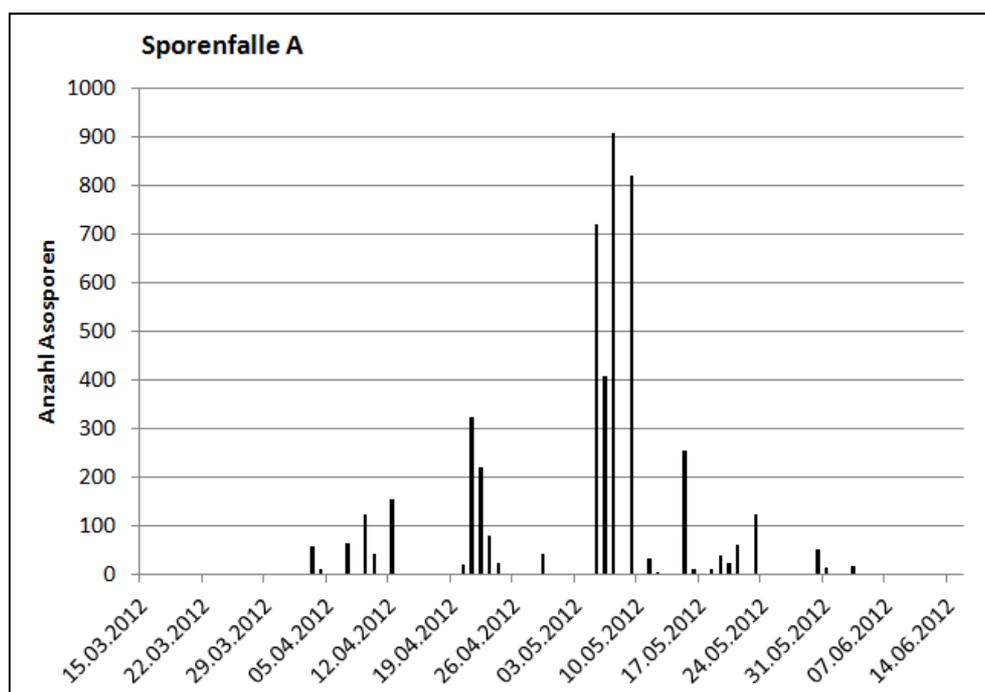
- Purschwitz, J., Müller, S., Kastner, C., Schöser, M., Haas, H., Espeso, E. A. & Fischer, R. (2008): Functional and physical interaction of blue- and red-light sensors in *Aspergillus nidulans*. *Current biology* 18(4), 255-259.
- Rodriguez-Romero, J., Hedtke, M., Kastner, C., Müller, S. & Fischer, R. (2010): Fungi, hidden in soil or up in the air: light makes a difference. *Annual review of microbiology* 64, 585-610.
- Röhrig, J., Kastner, C. & Fischer, R. (2013): Light inhibits spore germination through phytochrome in *Aspergillus nidulans*. *Current genetics* 59, 55-62.
- Roßberg, D. (2009): Neptun 2007 – Obstbau. *Berichte aus dem Julius Kühn-Institut Heft 147*, 71 S.
- Roßberg, D. & Harzer, U. (2015): Erhebungen zur Anwendung von Pflanzenschutzmitteln im Apfelanbau. *Journal für Kulturpflanzen* 67 (3), 85-91.
- Rossi, V., Ponti, I., Marinelli, M., Giosue, S. & Bugiani, R. (2001): Environmental factors influencing the dispersal of *Venturia inaequalis* ascospores in the orchard air. *Journal of Phytopathology* 149, 11-19.
- Rowlandson, T., Gleason, M., Sentelhas, P., Gillespie, T., Thomas, C. & Hornbuckle, B. (2015): Reconsidering leaf wetness duration determination for plant disease management. *Plant Disease* 99 (3), 310-319.
- Rudloff, C. F. & Schmidt, M. (1935): Der Erreger des Apfelschorfes, *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderh. Grundlagen und Möglichkeiten für seine Bekämpfung auf züchterischem Wege. I. *Der Züchter* 7, 30-37.
- Sand, S. (2011): Charakterisierung eines Blaulichtrezeptors in *Alternaria alternata*. Dissertation Universität Karlsruhe. <http://digbib.ubka.uni-karlsruhe.de/volltexte/1000022276>.
- Schimek, C., Eibel, P., Grolig, F., Horie, T., Ootaki, T. & Galland, P. (1999): Gravitropism in *Phycomyces*: a role for sedimenting protein crystals and floating lipid globules. *Planta* 210, 132-142.

- Schmitz, H. & Bleckmann, H. (1998): The photomechanic infrared receptor for the detection of forest fires in the beetle *Melanophila acuminata* (Coleoptera: Buprestidae). *Journal of Comparative Physiology A* 182, 647-657.
- Schönbeck, F. (1979): Pflanzenkrankheiten. Einführung in die Phytopathologie. Teubner, Stuttgart.
- Seem, R. C., Gilpatrick, J. D. & Szkolnik, M. (1979): Quantitative effects of microclimate on spore development and dispersal systems of apple scab. *Proc. Symp. 9th Int. Congr. Plant Prot.*, 135-137.
- Sentelhas, P.C., Gillespie, T.G., Gleason, M.L., Monteiro, J.E.B.A. & Helland, S.T. (2004): Operational exposure of leaf wetness sensors. *Agricultural and Forest Meteorology* 126, 59-72.
- Sitte, P., Weiler, E., Kadereit, J.W., Bresinsky, A. & Körner, C. (2002): *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen*. Begründet von Eduard Strasburger. 35. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Stensvand, A., Gadoury, D. M., Amundsen, T., Semb, L. & Seem, R. C. (1997): Ascospore release and infection of apple leaves by conidia and ascospores of *Venturia inaequalis* at low temperatures. *Phytopathology* 87, 1046-1053.
- Stensvand, A., Amundsen, T., Semb, L., Gadoury, D. M. & Seem, R. C. (1998): Discharge and dissemination of ascospores by *Venturia inaequalis* during dew. *Plant disease* 82, 761-764.
- Stensvand, A., Gadoury, D. M., Amundsen, T. & Seem, R. C. (2000): Recent research on ascospore discharge in *Venturia inaequalis*. *IOBC / WPRS Bulletin* 23, 39-51.
- Tracey, W.D. Jr, Wilson, R.I., Laurent, G. & Benzer, S. (2003): Painless, a *Drosophila* gene essential for nociception. *Cell* 113, 261-273.
- Trapman M.C. (1995): Integrierte Schorfbekämpfung - das Schorfsimulationsprogramm RIMpro. *Obstbau* 2, 63-66.

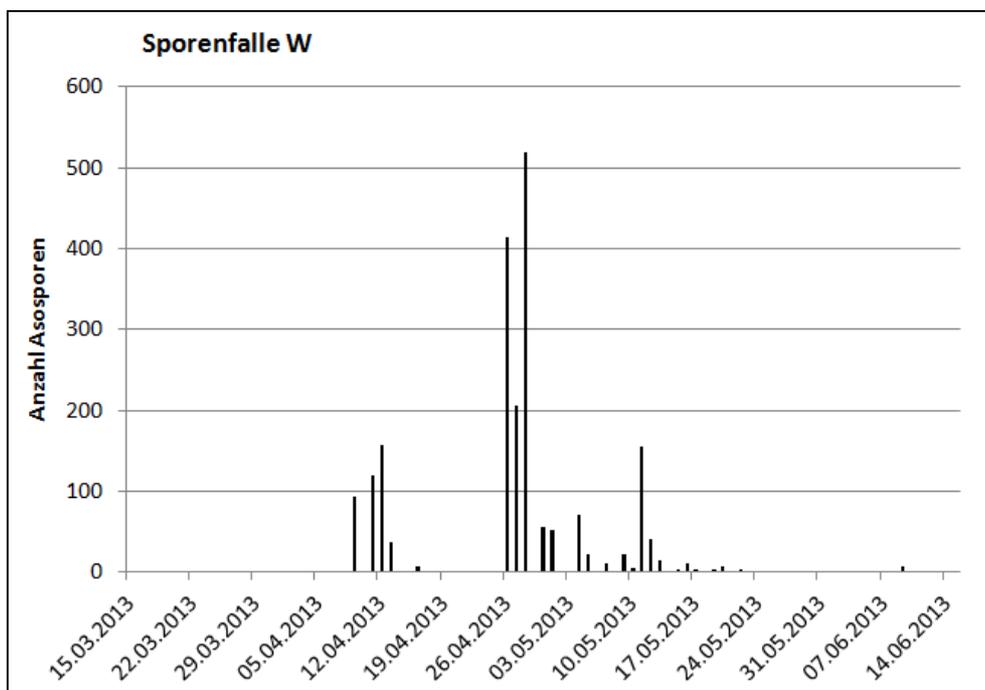
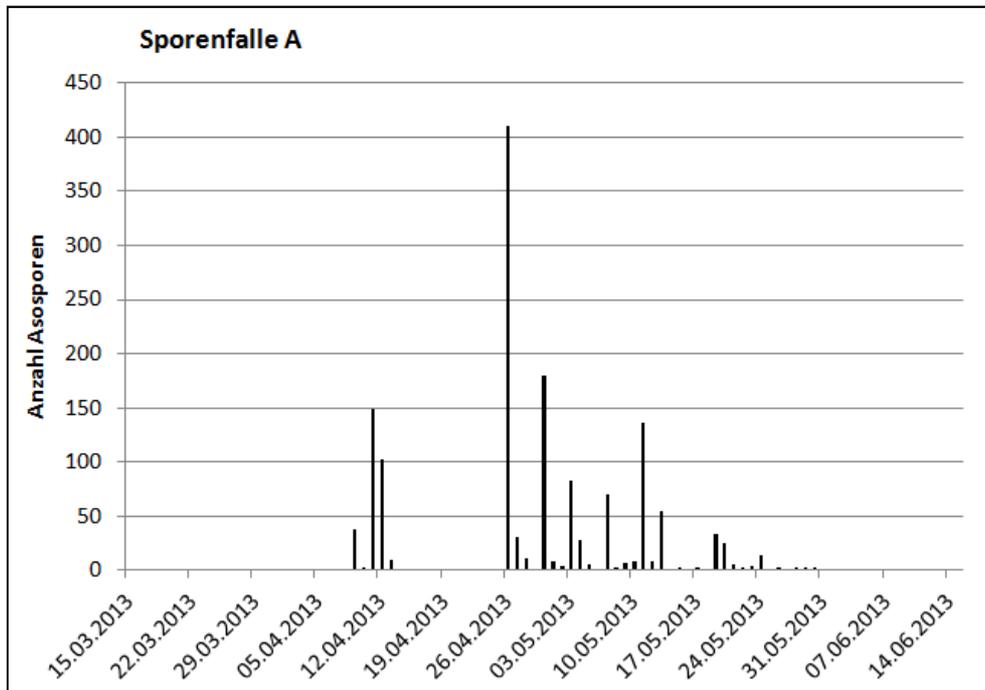
- Vukovits, G. (1980): Die wichtigsten Obstkrankheiten, Teil II: Kernobst. Leopold Stocker Verlag, Graz und Stuttgart.
- Wallace, E. (1913): Scab disease of apple. Cornell University Agricultural Experiment Station Bulletin 335.
- Warner, J. & Braun, P. G. (1992): Discharge of *Venturia inaequalis* ascospores during daytime and nighttime wetting periods in Ontario and Nova Scotia. Canadian Journal of Plant Pathology 14, 315-321.
- Washington, W. S. (1988): Diurnal periodicity of ascospore discharge of *Venturia pirina*. Transactions of the British Mycological Society, 90(1), 112-114.
- Wiesmann, R. (1932): Untersuchungen über die Überwinterung des Apfelschorfpilzes im toten Blatt sowie die Ausbreitung der Sommersporen des Apfelschorfpilzes. Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz 36, 620-679.
- Wilson, E. (1928): Studies of the ascigerous stage of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. in relation to certain factors of the environment. Phytopathology 18, 375-418.

AnhangA. Ascosporenflüge 2012-2015

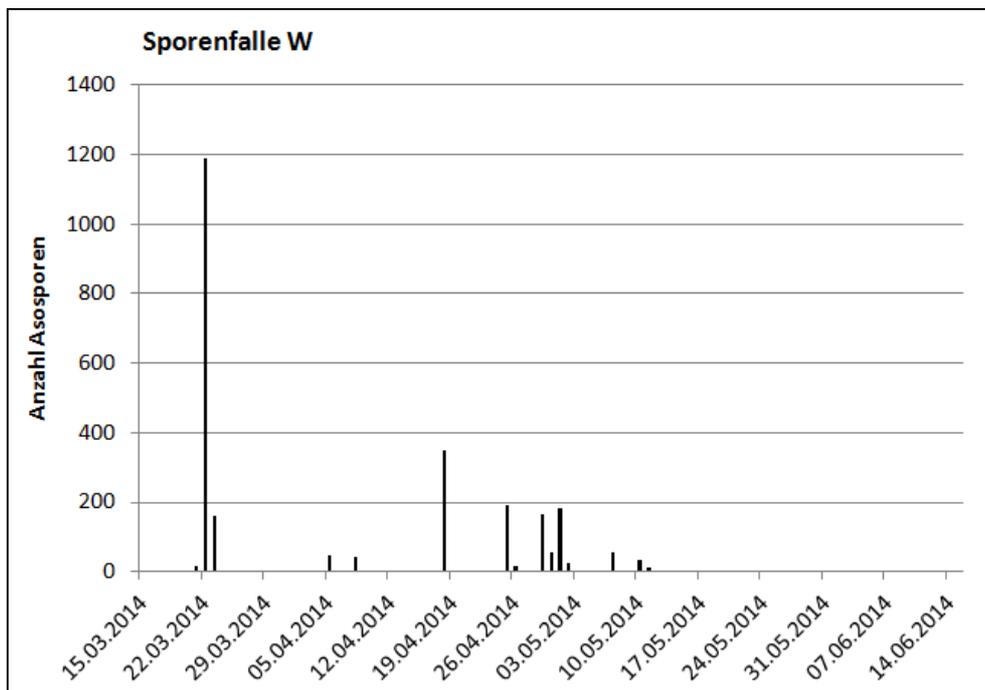
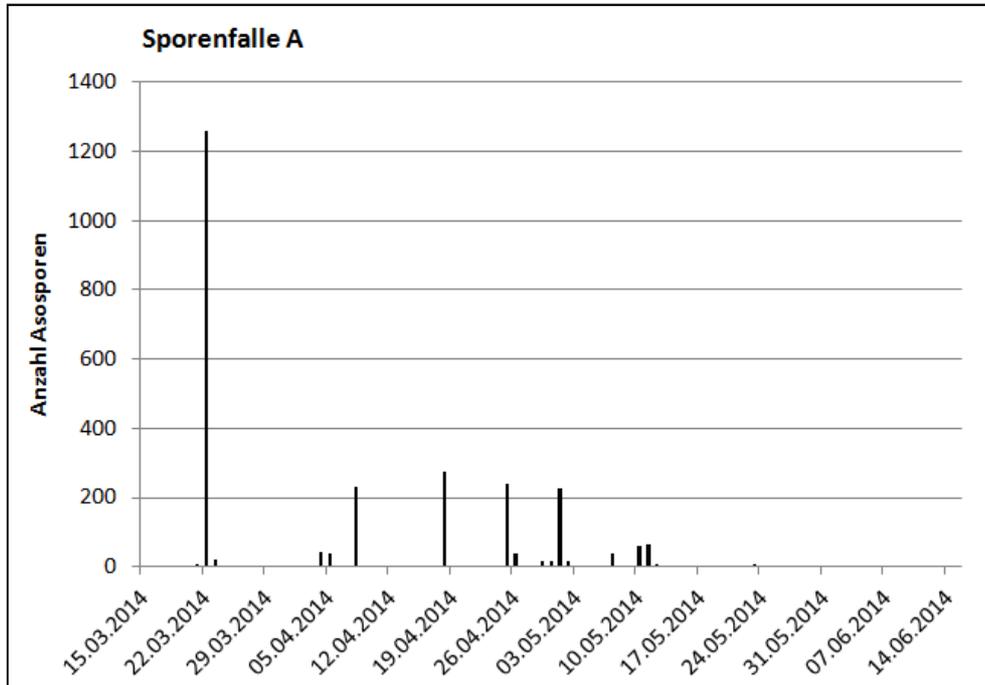
2012



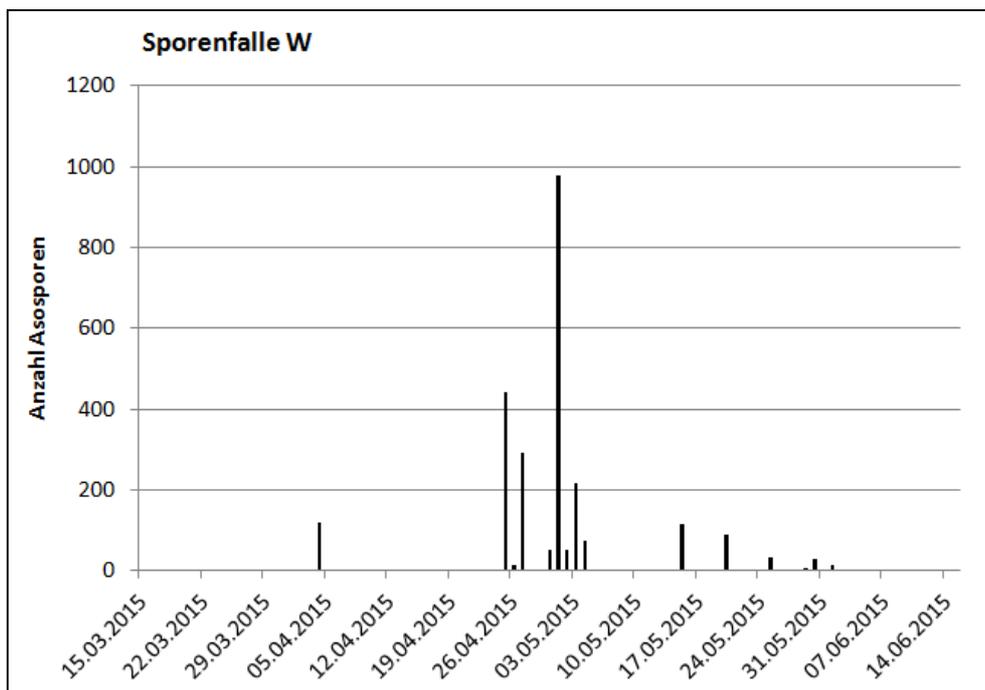
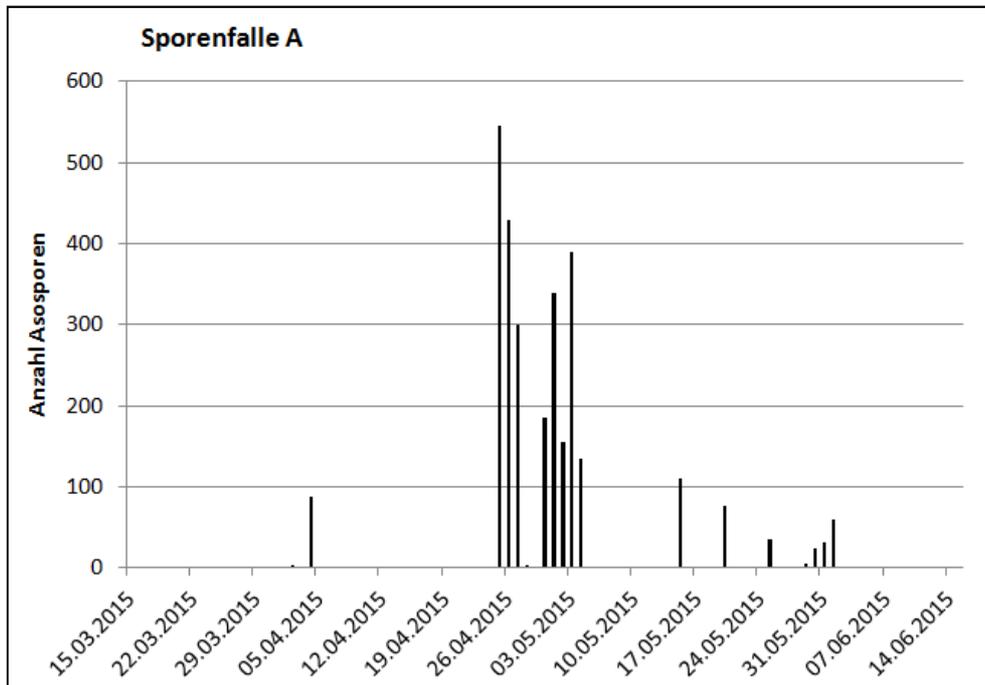
2013



2014

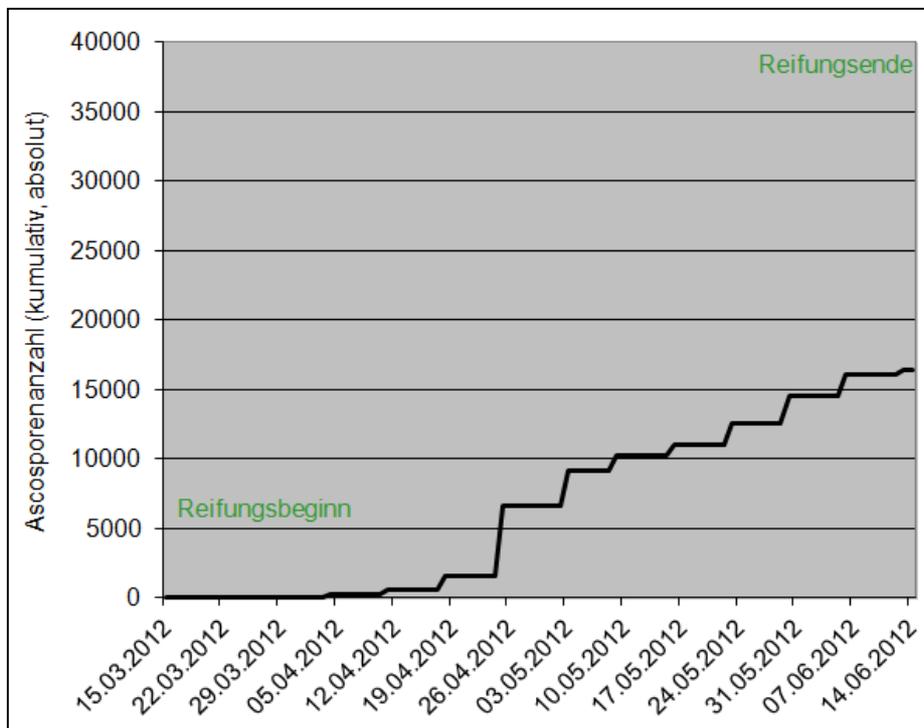


2015

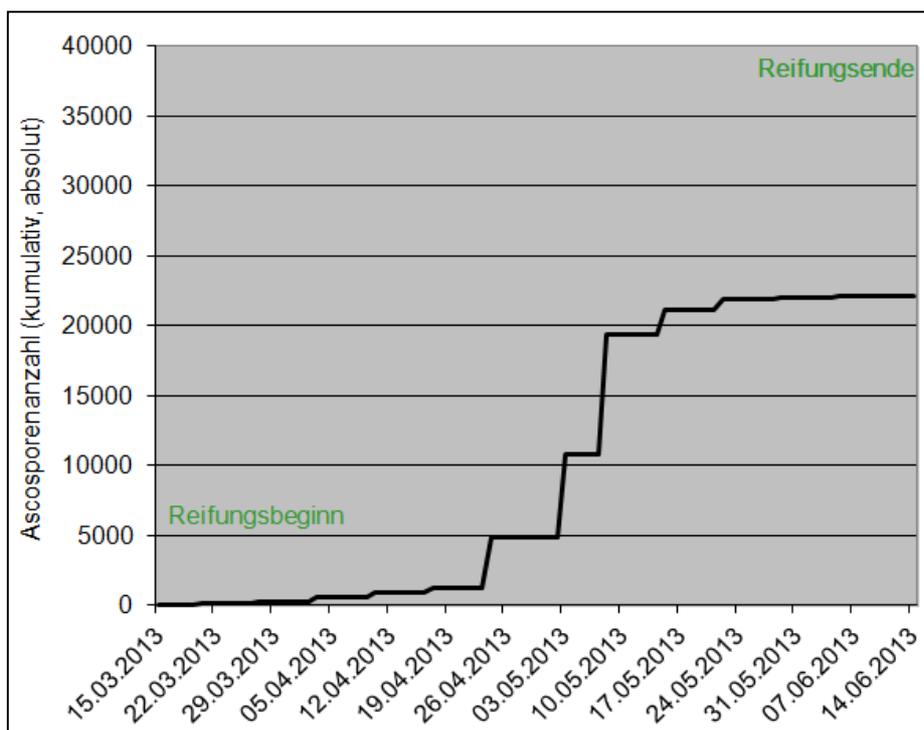


B. Ascosporenpotential in der Primärsaison 2012-2015

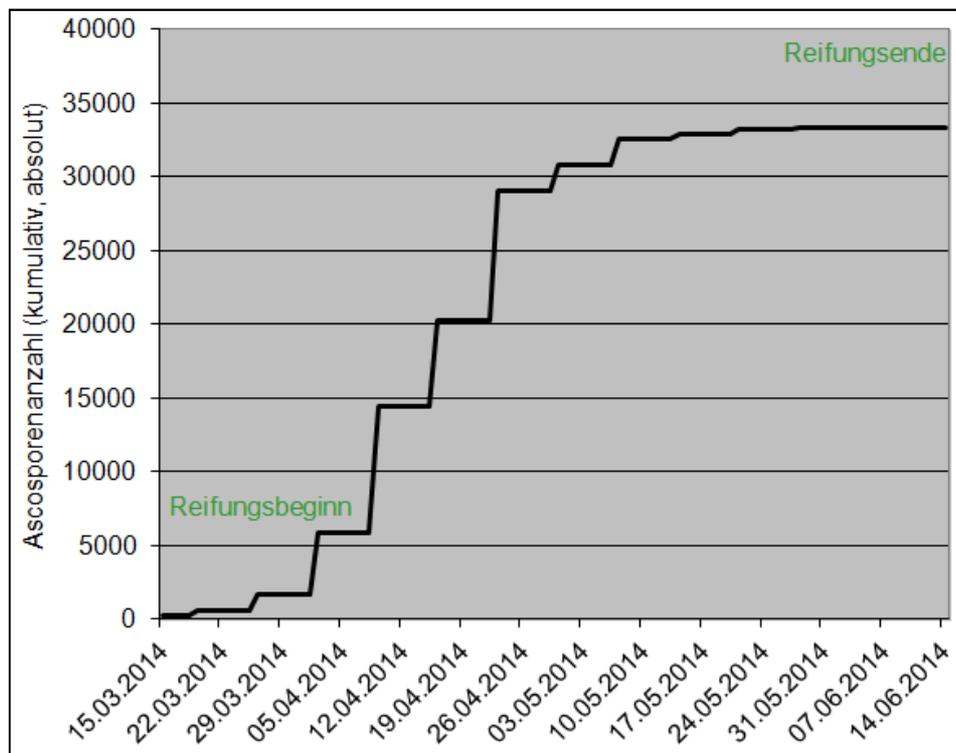
2012



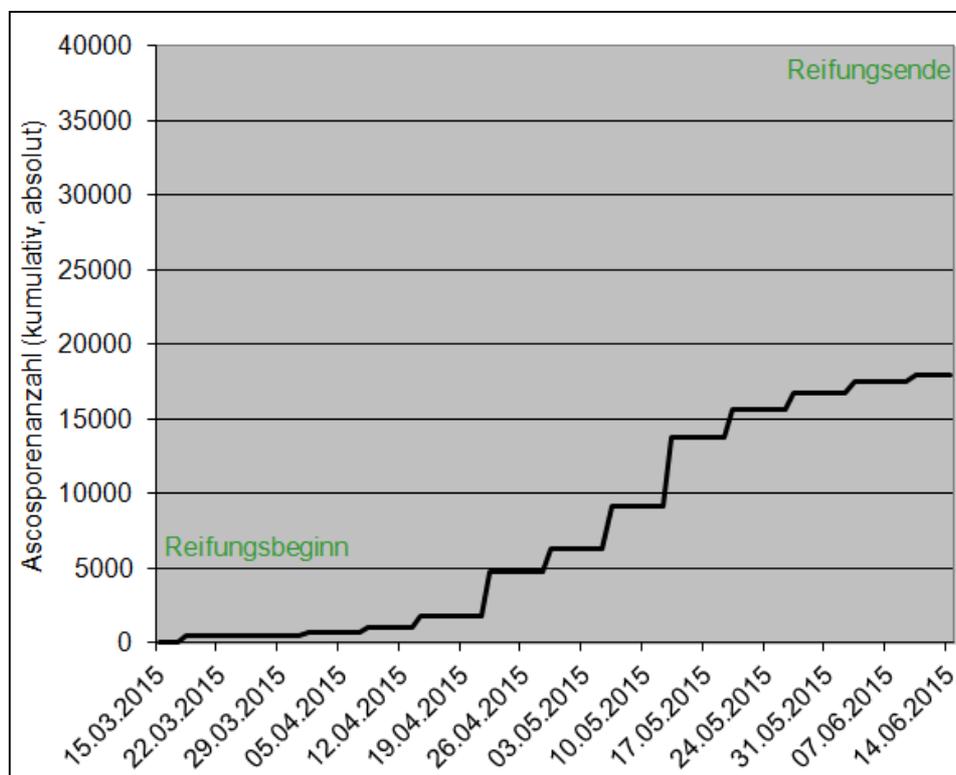
2013



2014



2015



C. Regenereignisse in der Primärsaison 2012-2015

*Werte bis zur maximalen Sporenzahl eines Sporenfluges

2012*

	Ekin_Sum	Luftfeuchte	Regen	Tropfen
	[Joule/m ²]	[%]	[mm]	[Anzahl]
1	66,67	64	5,5	358
2	6,77	80	0,9	581
3	59,27	50	5	3033
4	23,99	74	2,2	684
5	4,07	75	0,4	63
6	12,11	80,7	0,5	25
7	21,88	73	0,9	213
8	30,78	73	2,2	2249
9	111	85	4,7	414
10	13,69	74	0,6	57
11	19,4	71	0,9	371
12	33,66	35	1,8	562
13	7,11	59	0,6	649
14	65,87	92	5,7	1454
15	15,84	86	1,7	15
16	1,34	67	0,2	391
17	163,9	69	7,6	2643
18	284,71	71	9,5	1394
19	12,12	55	0,9	410
20	68,14	75	4	831
21	1,59	75	0,1	1
22	19,5	56,5	1,1	31
23	76,53	57	3,7	245
24	72,73	78	5,7	199

2013*

	Ekin_Sum	Luftfeuchte	Regen	Tropfen
	[Joule/m ²]	[%]	[mm]	[Anzahl]
1	123,44	93,09	3,9	4828
2	72,06	79,03	3	5700
3	42,29	73,53	2,2	4712
4	175,86	68,26	11	31832
5	417,31	74,8	27,1	84500
6	263,12	74,82	5,6	18071
7	68,08	85,03	4,7	15890
8	35,09	79,93	2,9	9887
9	200,03	61,05	11	39717
10	27,98	85,27	2,3	9506
11	194,51	82,78	13,45	56007
12	129,99	83,03	8,1	36310
13	82,95	74,35	5,9	27521
14	130,98	74	10,2	52598
15	30,52	80,63	3,7	19100
16	73,75	92,3	5,7	30398
17	9,38	80,25	0,6	5997
18	10,47	59,95	1,1	17565
19	0,3	96,2	0	192
20	0,33	92,45	0	2

2014*

	Ekin_Sum	Luftfeuchte	Regen	Tropfen
	[Joule/m ²]	[%]	[mm]	[Anzahl]
1	84,87	66,72	8,4	19163
2	0,003	87,59	0,1	2673
3	2,39	74,89	0,2	769
4	19,08	65,99	0,9	907
5	22,73	58,58	0,9	287225
6	76,95	50,13	6,55	2038
7	8,4	91,6	0,6	1953
8	0,17	88,24	0,5	2886
9	53,95	88,17	4,4	16549
10	9,48	97,1	0,4	499
11	28,9	61,5	2,1	8636
12	36,13	70,17	1,5	25715

2015*

	Ekin_Sum	Luftfeuchte	Regen	Tropfen
	[Joule/m ²]	[%]	[mm]	[Anzahl]
1	5,514	49,93	0,1	2486
2	3,7	73,71	3	12514
3	69,86	66,64	0,6	29561
4	23,14	81,82	2	12403
5	59,99	63,75	5,4	23149
6	18,62	51,72	1,2	11175
7	9,25	65,32	0,5	3813
8	14,19	70,55	1,5	12837
9	15,97	61,63	1,3	13487

D. Technische Daten der Infrarot-Dioden

Typ	Peak-Wellenlänge	Strahlungsleistung	Lichtintensität	Strahlungswinkel	Durchlassstrom
	[nm]	[mW]	[mW/sr]	[°]	[mA]
L1050G-04*	1050	19	43	± 22	100
L1200-04*	1200	5	5	± 35	100
L1450-04*	1450	2,5	2,5	± 35	100

* Muevo UG

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

An erster Stelle danke ich Dr. Andreas Kollar für die Möglichkeit meine Promotionsarbeit unter seiner Betreuung durchführen zu können. Ich danke ihm für die freundliche und humorvolle Arbeitsumgebung, seine Gemütsruhe und dafür, dass er immer ein offenes Ohr für Fragen, Probleme und Diskussionen hatte.

Prof. Dr. Meike Piepenbring danke ich für die Bereitschaft zur Betreuung dieser Arbeit sowie für ihre Fairness und Offenheit. Mein Dank gilt auch Dr. Michael Fischer für die Übernahme des Koreferates und den damit verbundenen Zeitaufwand.

Ich danke Herrn Dr. W. Jelkmann als Leiter des Institutes für Pflanzenschutz im Obstbau für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

In der AG Mykologie des Julius Kühn-Institutes bedanke ich mich bei allen Personen, die mich technisch und theoretisch unterstützt haben. Hierbei gilt mein besonderer Dank meiner Kollegin Dr. Franziska Porsche. Herrn Prof. Dr. Lin Himmelmann danke ich für die Hilfe bei den statistischen Auswertungen. Den Mitarbeitern der Firma Thies Clima GmbH & Co. KG Joachim Beinhorn, Sebastian Neumann und Edgar Grimme danke ich für die freundliche Zusammenarbeit.

Meiner Mutter Marianne Ehlert gilt mein Dank für das Korrekturlesen sowie für ihre immerwährende Unterstützung in jeder Hinsicht.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinem Ehemann Tobias Ehlert für seine Unterstützung in fachlicher und persönlicher Hinsicht, dafür, dass er mich immer wieder ermutigt hat weiterzumachen und ich mich immer auf ihn verlassen konnte.

Der „Deutschen Innovationspartnerschaft Agrar“ und der Rentenbank danke ich für die finanzielle Unterstützung.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Katja Ehlert
 Diplom-Biologin
 Anschrift: Buchenweg 8, 68535 Edingen-Neckarhausen
 Familienstand: verheiratet, zwei Kinder
 Geburtsdaten: geboren am 22.07.1979 in Heidelberg

Berufliche Tätigkeit

08/2011 – heute Julius Kühn-Institut , Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau Dossenheim: Biologin (Wissenschaftliche Mitarbeiterin)
 05/2011 - 06/2011 Institut für Agrarökologie und Biodiversität (IFAB), Mitarbeit im Rahmen eines Projekts zum High-Nature-Value-Farming in Europa: Biologin
 02/2011 – 07/2011 Hundepension Ehlert: Biologin (freie Mitarbeiterin Tierpflege)
 07/2006 - 09/2008 Durchführung ethologischer Forschungen an Mähnenrobben im Tiergarten Heidelberg; Biologin
 05/2008 - 07/2008 Volontariat in der Abt. Marketing und Public Relations im Tiergarten Heidelberg
 01/2007 - 04/2007 Volontariat in der Wiss. Abteilung im Tiergarten Heidelberg
 04/2005 - 08/2005 Erstellung eines botanisch-bionischen Lehrpfades an der Technischen Universität Darmstadt

Hochschulausbildung

10/2001 - 01/2005 Hauptstudium der Biologie an der J. W. Goethe-Universität Frankfurt
 Fächer: Spezielle Zoologie, Ökologie, Spezielle Botanik
 10/1999 - 09/2001 Grundstudium der Biologie an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Schule

08/1990 - 06/1999 Lessing-Gymnasium in Mannheim
 08/1986 - 07/1990 Pestalozzi-Grundschule in Edingen-Neckarhausen

EDV-Kenntnisse MS Office Word, Excel, PowerPoint, Adobe Illustrator, Photoshop CS

Sprachenkenntnisse Englisch (Gut), Französisch (Grundkenntnisse)

