

Quantifizierung des Befalls von Trauben durch *Botrytis cinerea* mit Hilfe des Enzyms Laccase

HELMUT REDL und ARMIN KOBLER

Universität für Bodenkultur
A-1190 Wien, Peter Jordan-Straße 82

An Hand von Traubenmaterial fünf verschiedener Klone der Sorte Riesling (W21, 378DN, H65, TR356 und Gm239) aus niederösterreichischen, burgenländischen und Wiener Rebanlagen wurde untersucht, inwieweit eine von *Botrytis cinerea* Pers. verursachte Fäulnis des Lesegutes analytisch durch das von diesem Pilz ausgeschiedene Enzym Laccase quantifiziert werden kann. Wie die Korrelations- und Regressionsrechnungen ergaben, korrelierten die Aktivitätswerte der im Most ermittelten Laccase zu den Ergebnissen der traditionellen visuellen Bonitierung des Krankheitsbefalls, dem durch kombinierte Zählung und Schätzung hervorgegangenen Befallsindex, hoch abgesichert positiv ($P \leq 0,001$). Dies galt für die Bestimmungsmethode mit DMPD ebenso wie für den Syringaldehydazin verwendenden NOVO-TEST-*Botrytis* bei photometrischer Auswertung. Die Enge der Abhängigkeitsbeziehungen war bei der hier durchgeführten stock- bzw. parzellenweisen Befallsbonitierung und Mostgewinnung jedoch nicht so stark ausgeprägt wie bei den vorangegangenen Untersuchungen mit Einzeltrauben. Zudem stand mit Riesling eine Sorte im Versuch, die bekannt wenig Laccaseaktivität zeigt. Für den Enzym-Test sprach die große Übereinstimmung der Laccase mit den Analyseergebnissen von Mostinhaltsstoffen, deren eindeutiges Verhalten bei *Botrytis*-befall aus der Literatur allgemein bekannt ist. Die neben der Befallsintensität aufgedeckte starke Beeinflussung der Laccasegehalte durch Rebsorte und Klon sowie in abgeschwächter Form auch durch den Standort gestattet zur Zeit jedoch nicht, Laccasewerte einzelnen *Botrytis*-befallsklassen zuzuordnen.

Quantification of *Botrytis* attack by means of the enzyme laccase. Using grape material of five different clones of the grape cultivar Riesling (W21, 378DN, H65, TR356 and Gm239) from vineyards of Lower Austria, Burgenland and Vienna it was investigated, to which extent rot of grapes caused by *Botrytis cinerea* Pers. can be quantified analytically by laccase, the enzyme secreted by this mold. Calculations of correlation and regression showed that the values of laccase activity in the must correlate significantly positive with results of a traditional visual evaluation of disease attack, the attack index determined by a combination of counting and estimate. This could be proved for the determination by DMPD as well as for the NOVO-TEST-*Botrytis* using syringaldazine with photometric evaluation. The closeness of the correlations with this attack evaluation per vine and per allotment, resp., and the must yield, however, was not as distinctive as with investigations carried out earlier with single grapes. Furthermore the Riesling cultivar is known for its low laccase activity. The high correspondence of laccase with the analytical results of must contents, whose specific behaviour at *Botrytis* attack is generally known in literature, favoured the enzyme test. Besides attack intensity also cultivar and clone as well as location (to a lesser extent) influence laccase contents. Therefore laccase values cannot be related to specific classes of *Botrytis* attack.

Quantification de la contamination de la vendange par *Botrytis cinerea* au moyen de l'enzyme laccase. Nous avons examiné sur la vendange de cinq clones différents de la sorte Riesling (W21, 378DN, H65 et Gm239) de vignobles de Basse-Autriche, du Burgenland et de Vienne dans quelle mesure une pourriture des raisins causée par *Botrytis cinerea* peut être quantifiée analytiquement au moyen de l'enzyme laccase éliminé par ce champignon. D'après les calculs de corrélation et de régression, les valeurs de l'activité laccase constatée dans le moût correspondaient très exactement ($P \leq 0,001$) aux résultats de l'évaluation visuelle traditionnelle de la contamination et à l'index de contamination établi grâce à la calculation et estimation combinées. Ceci a valu aussi bien pour la méthode de détermination par DMPD que pour la méthode NOVO-TEST-*Botrytis* utilisant la syringaldazine à évaluation photométrique. Cependant, l'étroitesse des rapports de dépendance n'est pas aussi marquée dans l'évaluation de la contamination réalisée sur plant ou sur parcelle que dans les tests précédents sur grappes. On sait de plus que la sorte Riesling a peu d'activité laccase. En faveur du test d'enzyme a été la concordance de laccase avec les résultats de l'analyse des substances de moût, dont la réaction en cas de contamination par *Botrytis* est bien connue dans la littérature. À côté de l'intensité de la contamination, la forte influence qu'ont la sorte de vigne et de clone, ainsi qu'à un degré moindre le site, sur les teneurs en laccase ne permet pas encore actuellement de faire correspondre les valeurs laccase aux classes de contamination par *Botrytis*.

Die Quantifizierung des von *Botrytis cinerea* Pers. befallenen Anteils am Traubengut erfolgt traditionell visuell mittels zählender oder schätzender Auswertungsverfahren. Das Schadensausmaß wird dabei mehrheitlich in Prozenten ausgedrückt, gelegentlich auch in Wertzahlen oder Boniturnoten (5, 20, 22).

Wie die Durchsicht der einschlägigen Literatur zeigt, resultieren diese Werte jedoch häufig aus unterschiedlichsten Bezugsgrößen und Verrechnungsweisen.

So ist eine pauschale Beurteilung ganzer Traubenchargen ebenso anzutreffen wie eine traubenweise Klassifizierung (64). Teils stellen diese Befallsangaben das Verhältnis zwischen der Zahl befallener und gesunder Trauben, die sogenannte

Darüber hinaus ist grundsätzlich jede visuelle Bonitur eines Krankheitsbefalls mit individuellen und objektbedingten Fehlern behaftet (30).

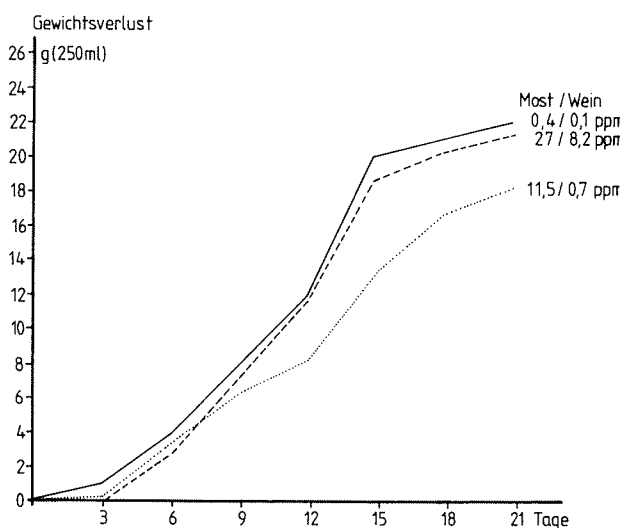
Eine objektivere, quantitative Bewertung des Botrytisbefalls käme aber nicht nur im Rahmen des Integrierten Rebschutzes überaus gelegen, sondern wäre auch von Seite der Kellerwirtschaft gewünscht, wo zunehmend eine umfassendere Bewertung der Qualität und eine nach Fäulnisanteil differenzierte Verarbeitung angestrebt wird.

Dies haben mehrere Autoren in der letzten Zeit zum Anlaß genommen, auf den grundlegenden Arbeiten von DUBERNET (15) aufbauend, Versuche anzustellen, inwieweit das Enzym Laccase, das nur in Traubenbeeren vorkommt, welche botrytiserkrankt sind (16), geeignet wäre, durch seine Aktivitätsbestimmung als Methode zur Quantifizierung des Botrytisbefalls zu dienen.

Während GUERZONI et al. (28) nach photometrischen Messungen mit Kaliumhexacyanoferrat als Substrat zunächst keine eindeutigen Zusammenhänge erkennen konnten, ermittelten CORDONNIER et al. (12) mit Benzidin (4,4-Diamino-biphenyl) eine gute Übereinstimmung zwischen Botrytisbefall und der Aktivität dieser Phenoloxidase. FREGONI et al. (24) und FREGONI und IACONO (25) erkannten sowohl mittels des photometrischen, DMPD (4-Amino-N,N-dimethylanilin-dihydrochlorid bzw. N,N-Dimethyl-p-phenylendiammoniumdichlorid) verwendenden Verfahrens nach DUBERNET (15) als auch mit dem von SALGUES et al. (56) vorgestellten, auf der Basis des Sauerstoffverbrauches arbeitenden Technolyseur-2000-Gerätes enge Beziehungen zwischen dem Botrytisbefall, der Aktivität der Laccase und ihren Auswirkungen auf die Farbveränderung des Mostes.

Als eine Methode mit größerer Empfindlichkeit, insbesondere in niedrigen Befallsbereichen, beschreiben DUBOURDIEU et al. (17) sowie GRASSIN und DUBOURDIEU (26, 27) das von ihnen entwickelte, auf der Oxidation von Syringaaldehydazin (3–5-Dimethoxy-4-hydroxybenzaldehydazin) beruhende Verfahren. Syringaaldehydazin wurde erstmals von HARKIN und OBST (29) zum Nachweis holzzerstörender Pilze, später von KOVAC et al. (38) bei der Entwicklung von Nährböden für *B. cinerea* benützt. Neuerdings wird dieses Verfahren als praxisgerechtes Set unter dem Namen NOVO-TEST-Botrytis von der Firma NOVO FERMENT (Schweiz) AG auf dem Markt angeboten.

In der vorliegenden Arbeit sollte nun, aufbauend auf den bei eigenen Untersuchungen über die quantitativen Veränderungen von Traubeninhaltsstoffen bei klassifizierter Botrytis-Sauerfäule gewonnenen Erkenntnissen (54), an Hand von Traubenmustern österreichischer Herkunft ermittelt werden, inwieweit die Bestimmungen der Laccaseaktivität mit den Substraten DMPD nach DUBERNET (15) und Syringaaldehydazin nach DUBOURDIEU et al. (17), enthalten im NOVO-TEST-Botrytis (45), zur Quantifizierung des von *B. cinerea* an Trauben verursachten Schadens geeignet sind.



Beeinflussung der Gärung durch Kupferfungizide bei der Sorte Grüner Veltliner (Mittel aus 4 Wiederholungen, Gärtemperatur 15° C)

Befallshäufigkeit dar (1, 7, 9, 19, 32, 33, 51, 54, 55, 57, 58, 67), teils bringen sie das prozentuale Schädigungsausmaß der faulen Trauben unter dem Terminus Befallsstärke, Befallsgrad oder Schädigungsintensität zum Ausdruck. Dabei sind wiederum die verschiedensten Befallsklasseneinteilungen in Anwendung zu finden (3, 6, 8, 13, 20, 28, 33, 40, 51, 62, 69). Es gibt auch Fälle, wo die Quantifizierung erst ab einer bestimmten Schwelle vorgenommen wird (55, 67). Nicht selten gehen die dargelegten Schadgrößen aus einer kombinierten Zählung und Bonitierung hervor (4, 40, 47, 69), wobei dann von Befallsindex, Krankheitsindex oder erneut von Befallsgrad gesprochen wird (48, 63, 66). Vereinzelt wird auch direkt der geschätzte Traubengewichtsverlust ausgedrückt (57). Letztlich kommt es auch immer wieder vor, daß ohne weitere erklärende Angaben von Befallsprozenten gesprochen wird (2, 8, 18, 34, 36, 42).

Diese von der unterschiedlichen Bildung der Schadenswerte und der Bezeichnungsvielfalt herrührenden Unzulänglichkeiten verhindern natürlich den Vergleich und die Bewertung der Resultate vieler bisher vorgelegter Arbeiten.

Material und Methode

Wie in einer vorangegangenen Arbeit aufgezeigt werden konnte (54), unterliegt die Aktivität des von *B. cinerea* ausgeschiedenen Enzyms Laccase einem starken Einfluß durch die Rebsorte. In besonderem Maße hob sich *Riesling* durch deutlich geringere Aktivitätswerte hervor, obwohl auch hier, wie bei den übrigen Sorten, ein Trend zu steigenden Laccasewerten bei zunehmendem Botrytisbefall klar erkennbar war.

Demzufolge gelangten für die angestrebten Untersuchungen im Jahre 1989 ausschließlich Trauben der Sorte *Riesling* zur Analyse. Sie stammten aus burgenländischen (Eisenstadt), niederösterreichischen (Weissenkirchen, Krems, Retz) und Wiener (Nußdorf) Weingärten, die im Rahmen einer Klonenleistungsprüfung angelegt worden waren (52).

Die Bonitierung des Befalls der Trauben durch *B. cinerea* erfolgte nach folgendem Schema:

Befallsklasse 0 = gesunde Beeren

Befallsklasse 1 = 1–5 % erkrankte Beeren je Traube

Befallsklasse 2 = 6–10 % erkrankte Beeren je Traube

Befallsklasse 3 = 11–25 % erkrankte Beeren je Traube

Befallsklasse 4 = 26–50 % erkrankte Beeren je Traube

Befallsklasse 5 = 51–100 % erkrankte Beeren je Traube

Das Ausmaß des Botrytisbefalls im Erntegut wurde mit Hilfe des Befallsindex nach folgender Formel ermittelt:

$$BI\% = \frac{5 \times n_{k1} + 2 n_{k2} + 5 n_{k3} + 10 n_{k4} + 20 n_{k5}}{N}$$

n = Anzahl der Trauben in der jeweiligen Befallsklasse

k = Befallsklasse

N = Anzahl aller bonitierten Trauben

Die Messung der Laccaseaktivität erfolgte in den aus dem Erntegut der einzelnen Wiederholungen (4×10 Rebstöcke) gewonnenen und durch eine Laborzentrifuge geklärten Mosten photometrisch, wobei das Verfahren von DUBERNET (15) sowie der NOVO-TEST-Botrytis zur Anwendung gelangten (45).

Bestimmung der Laccaseaktivität mit DMPD nach DUBERNET (15):

In Pufferlösung von

5,53 g Zitronensäure (MERCK Nr. 244),

16,98 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (MERCK Nr. 6579) und

dest. Wasser, mit dem auf 1000 ml aufgefüllt wird, gelangen 1,00 g/l DMPD (FLUKA Nr. 07770) zur Lösung.

3,00 ml dieses Reagens sowie 0,3 ml zentrifugierter Most werden in eine Küvette von 1 cm Schichtdicke pipettiert. Die Laccase oxidiert das DMPD zu einer rotvioletten Verbindung. Die Extinktion wird bei 520 nm Wellenlänge genau eine Minute (E_1) und zwei Minuten (E_2) nach Zugabe des Mostes gemessen. Die abgelesenen Werte finden dann in folgende Formel Eingang:

$$\text{Laccaseaktivität} = (E_2 - E_1) \times 2000$$

Das Reagens wird wegen seiner leichten Oxidierbarkeit unmittelbar vor der Bestimmung hergestellt. Die Pufferlösung wird im Kühlschrank aufbewahrt.

Bestimmung der Laccaseaktivität mit dem NOVO-TEST-Botrytis nach DUBOURDIEU et al. (17):

Der Basiskoffer des von der Firma NOVO FERMENT (Schweiz) AG, CH-4243 Dittingen, hergestellten NOVO-TEST-Botrytis enthält neben den Reagenzien für zehn Bestimmungen alle Geräte zur Feststellung der Laccaseaktivität von Mosten und Weinen mittels visuellen Farbwertvergleichs. Die Nachfüllpackungen reichen jeweils für 25 Bestimmungen.

Dieses Meßverfahren beruht auf dem Prinzip, daß die Laccase aus dem vorher mit Polyvinyl-Polypyrrolidon von störenden Phenolen befreiten Most oder Wein das gelbe, in Äthanol gelöste Syringaaldehydazin zu seinem malvenrot-farbigem Chinon oxidiert.

Die Durchführung des NOVO-TEST-Botrytis nach der Anleitung der NOVO FERMENT (Schweiz) AG (45):

1. Ca. 5 ml des zu untersuchenden Mostes/Weines mit beigelegter Pipette in die NOVO-TEST-Filtrations-spritze geben.
2. Filtrations-spritze mit dem beigelegten Kolben schließen und genau 1 ml (bis zur ersten Markierung) in das NOVO-TEST-Reagenzglas durchdrücken.
3. Zugabe von 1,4 ml Puffer (bis zur 2. Markierung) und 0,6 ml NOVO-TEST-Reagenz-Laccase (bis zur 3. Markierung), danach mischen.
4. Aktivitätsmessung

Methode A: Visueller Farbwertvergleich:

Nach genau drei Minuten Farbwert bzw. Laccase-Wert auf beigelegter Farbskala ablesen.

Methode B: Photometrische Bestimmung:

Eine Minute (E_1) und drei Minuten (E_3) nach Zugabe des Reagens

$$\frac{(E_3 - E_1) 530 \text{ nm}}{2 \text{ min}} \times 46,15 = U \text{ Laccase/ml}$$

Aufgrund der in Vorversuchen aufgezeigten unzureichenden Schärfe unterblieb der visuelle Farbvergleich (Methode A) in der vorliegenden Arbeit.

Da Probemessungen mit den beiliegenden Filtrations-spritzen und ohne diese annähernd gleiche Resultate erbrachten, war es möglich, die Reagenzienmenge proportional zu reduzieren, die Probenanzahl zu verdoppeln und damit die Untersuchungskosten zu senken.

Die Bestimmung von Mostgewicht, titrierbarer Säure, Weinsäure, L-Äpfelsäure und pH-Wert erfolgte nach den bereits früher (54) beschriebenen Methoden.

Die statistische Auswertung geschah mittels linearer Korrelations- und Regressionsrechnung, wobei die Programme 6D und 1R des Statistikpaketes BMDP eingesetzt wurden.

Ergebnisse

Nachdem in einer vorangegangenen Arbeit (54) an Hand der visuellen Befallsbeurteilung und der chemischen Analyse einzelner Trauben gezeigt werden konnte, daß

mit zunehmender Fäulnis der Beeren durch *B. cinerea* die Aktivität des Enzyms Laccase deutlich ansteigt (Tab. 1), wurde jetzt mittels Korrelations- und Regressionsrechnung geprüft, ob auch bei parzellenweiser Bonitur und Errechnung des Befallsindex die Laccase-Bestimmung zur praxisnahen Quantifizierung des Botrytisbefalls an Weintrauben herangezogen werden kann.

Tabelle 1:

Laccaseaktivität in Traubenbeeren verschiedener Botrytis-Befallsabstufungen

Botrytisbefall	Laccaseaktivität U/ml	
	abs.	rel.
Gesunde Beeren	0,39 a	100,0
1– 5 % gefaulte Beeren pro Traube	0,78 b	202,6
6– 10 % gefaulte Beeren	2,25 c	581,5
11– 25 % gefaulte Beeren	6,56 d	1695,7
26– 50 % gefaulte Beeren	8,12 e	2099,1
51–100 % gefaulte Beeren	15,86 f	4102,6

Das Datenmaterial von fünf Klonen der Sorte *Riesling* in vierfacher Wiederholung auf fünf Standorten erlaubte es, 100 Wertepaare und bei der getrennten Beobachtung des Standort- und Klonverhaltens jeweils 20 Wertepaare zur Prüfung auf lineare Abhängigkeiten heranzuziehen.

Wie in Tabelle 2 dargestellt, korrelierten die Laccasewerte, gleich welcher Bestimmungsmethode, zu den visuellen Bonitierungsergebnissen positiv und hoch abgesichert ($P \leq 0,001$). Die Koeffizienten waren aber mit $r = 0,36$ (NOVO-TEST) bzw. $r = 0,38$ (DMPD-Methode) relativ gering. Weitaus enger standen die beiden Analysemethoden untereinander in Beziehung ($r = +0,68^{+++}$).

Durch die Einbeziehung weiterer Mostinhaltsstoffe, deren Verhalten bei Botrytisbefall hinlänglich bekannt ist, in die Verrechnung ergaben sich zusätzliche Indizien, die auf eine Eignung der Laccase zur Befallsschätzung von *B. cinerea* deuten. So korrelierten sowohl der Befallsindex als auch die Laccaseaktivität, soweit die Zusammenhänge statistisch absicherbar waren, mit dem Mostgewicht, der Weinsäure und dem Phenolindex negativ, mit dem pH-Wert, der titrierbaren Säure und der Äpfelsäure positiv. Die Bezie-

Tabelle 2:

Beziehungen zwischen dem Botrytis-Befallsindex, der Laccaseaktivität (NOVO-Test und DMPD) und anderen Parametern der Sorte *Riesling* (über alle Klone und Standorte).

Abhängige Variable	Befallsindex %	Unabhängige Variable Laccaseaktivität NOVO-Test U/ml	Laccaseaktivität DMPD
Mostgewicht °Oe	$r = -0,18^-$ $y = 85,37 - 0,10x$	$r = -0,41^{+++}$ $y = 87,97 - 5,59x$	$r = -0,45^{+++}$ $y = 88,13 - 0,08x$
pH-Wert	$r = +0,22^+$ $y = 2,94 + 0,0008x$	$r = +0,20^+$ $y = 2,94 + 0,020x$	$r = +0,34^{+++}$ $y = 2,93 + 0,0004x$
Tit. Säure g/l	$r = +0,43^{+++}$ $y = 13,30 + 0,06x$	$r = +0,32^{++}$ $y = 13,38 + 1,11x$	$r = +0,47^{+++}$ $y = 13,06 + 0,022x$
Äpfelsäure g/l	$r = +0,35^{+++}$ $y = 6,83 + 0,045x$	$r = +0,44^{+++}$ $y = 6,54 + 1,41x$	$r = +0,50^{+++}$ $y = 6,45 + 0,022x$
Weinsäure g/l	$r = +0,06^-$ $y = 7,22 + 0,004x$	$r = -0,36^{+++}$ $y = 7,73 - 0,61x$	$r = -0,38^{+++}$ $y = 7,73 - 0,009x$
Phenolindex E_{280nm}	$r = -0,01^-$ $y = 10,3 - 0,001x$	$r = -0,21^+$ $y = 10,7 - 0,60x$	$r = -0,01^-$ $y = 10,3 - 0,0003x$
Befallsindex %		$r = +0,36^{+++}$ $y = 11,36 + 9,24x$	$r = +0,38^{+++}$ $y = 10,76 + 0,13x$
Laccaseakt. NOVO-Test U/ml	$r = +0,36^{+++}$ $y = 0,46 + 0,014x$		$r = +0,68^{+++}$ $y = 0,17 + 0,011x$
Laccaseakt. DMPD	$r = +0,38^{+++}$ $y = 34,9 + 1,1x$	$r = +0,68^{+++}$ $y = 20,2 + 42,3x$	
niedrigster Wert	0,50	0,23	14,0
höchster Wert	40,80	2,47	184,0
Mittelwert	17,96	0,72	53,1

hungen zwischen der mittels DMPD gemessenen Laccaseaktivität und den Mostinhaltsstoffen waren dabei von einem höheren Grad an linearem Zusammenhang geprägt, als dies bei den beiden anderen unabhängigen Variablen, der mit dem NOVO-TEST bestimmten Laccaseaktivität und insbesondere dem Befallsindex, der Fall war.

Durch die Ausschaltung des Standorteinflusses ergaben sich höhere Korrelationskoeffizienten (Befallsindex vs. Laccase bis $r = +0,85^{+++}$), mitunter aber ein Verlust an Signifikanz durch die Reduzierung der Wiederholungszahl auf $n = 20$. Dies zeigt Tabelle 3, in der (über alle Klone) nur die statistisch abgesicherten Zusammenhänge ($P \leq 5\%$) zwischen dem Botrytis-Befallsindex, der Laccaseaktivität und den anderen Mostparametern an den fünf Versuchsstandorten wiedergegeben sind.

Mit Ausnahme des Mostgewichtes am Standort Weißenkirchen verhielten sich alle abhängigen Variablen in ihrer

Tendenz gleich wie in den vorher in Tabelle 2 angeführten alle Klone und Standorte einbeziehenden Regressionen. Zwischen den beiden Methoden zur Bestimmung der Laccaseaktivität konnten zwar durchwegs statistisch gesicherte Zusammenhänge festgestellt werden, die große Variationsbreite der Korrelationskoeffizienten ($r = +0,51$ bis $r = +0,90$) und Regressionskoeffizienten ($b = 23,7$ bis $b = 91,9$) dokumentiert allerdings eine standortspezifisch bedingte Verschiedenheit der Abhängigkeiten.

Die separate Betrachtung der einzelnen Klone brachte deutlich mehr statistisch gesicherte Beziehungen mit sich (Tab. 4). Auf diese Weise ergaben sich im Durchschnitt auch höhere Korrelationskoeffizienten und weniger stark streuende Regressionsgerade ($b = 27,3$ bis $b = 68,5$) zwischen den beiden Laccasebestimmungsmethoden. Dies läßt erkennen, daß der Einfluß der Klone auf die infektionsbedingten Veränderungen der Traubeninhaltsstoffe ausgeprägter war

Tabelle 3:

Lineare, statistisch gesicherte ($P \leq 5\%$) Zusammenhänge zwischen dem Botrytis-Befallsindex, der Laccaseaktivität (NOVO-Test und DMPD) und anderen Parametern bei der Sorte *Riesling* auf den verschiedenen Standorten (über alle Klone)

Variable x	Variable y	Standort	Korrelations- koeffizient r	Regressions- gleichung	Variationsbreite von x		
					min	max	$\bar{x}$
Befallsindex %	Mostgewicht °Oe	Weißenkirchen	$+0,61^{++}$	$y = 74,23 + 0,17x$	4,8	40,8	21,0
	pH-Wert	Weißenkirchen	$+0,53^{+}$	$y = 2,96 + 0,0014x$	4,8	40,8	21,0
	Laccaseakt. NOVO-Test	Krems	$+0,66^{++}$	$y = 0,48 + 0,028x$	0,5	32,1	9,1
	Laccaseakt. DMPD	Krems	$+0,85^{+++}$	$y = 20,0 + 1,8x$	0,5	32,1	9,1
		Unterretzbach	$+0,57^{++}$	$y = 28,0 + 0,6x$	2,0	40,5	13,6
Laccaseakt. NOVO-Test	Befallsindex %	Krems	$+0,66^{++}$	$y = 2,27 + 15,39x$	0,28	1,41	0,74
	Weinsäure g/l	Eisenstadt	$-0,58^{++}$	$y = 8,70 - 0,77x$	0,32	2,47	0,84
	Äpfelsäure g/l	Unterretzbach	$+0,51^{+}$	$y = 4,32 + 5,30x$	0,23	0,48	0,33
	Laccaseakt. DMPD	Weißenkirchen	$+0,86^{+++}$	$y = 65,6 + 23,7x$	0,48	1,82	1,42
		Krems	$+0,51^{+}$	$y = 12,3 + 27,4x$	0,28	1,41	0,74
		Unterretzbach	$+0,54^{+}$	$y = 4,9 + 91,9x$	0,23	0,48	0,33
		Wien	$+0,77^{+++}$	$y = 8,6 + 61,3x$	0,48	1,25	0,63
Laccaseakt. DMPD		Eisenstadt	$+0,90^{+++}$	$y = 29,3 + 24,8x$	0,32	2,47	0,84
	Befallsindex %	Krems	$+0,85^{+++}$	$y = 5,53 + 0,40x$	14	70	36,3
		Unterretzbach	$+0,57^{++}$	$y = 7,15 + 58x$	18	54	35,6
	Mostgewicht °Oe	Weißenkirchen	$+0,46^{+}$	$y = 73,92 + 0,04x$	48	184	99,2
	Weinsäure g/l	Weißenkirchen	$-0,48^{+}$	$y = 7,08 - 0,004x$	48	184	99,2
		Eisenstadt	$-0,59^{++}$	$y = 9,46 - 0,028x$	30	82	50,0
	Äpfelsäure g/l	Weißenkirchen	$+0,48^{+}$	$y = 7,01 + 0,016x$	48	184	99,2
	Laccaseakt. NOVO-Test	Weißenkirchen	$+0,86^{+++}$	$y = -1,67 + 0,031x$	48	184	99,2
		Krems	$+0,51^{+}$	$y = 0,45 + 0,010x$	14	70	36,3
		Unterretzbach	$+0,54^{+}$	$y = 0,22 + 0,003x$	18	54	35,6
		Wien	$+0,77^{+++}$	$y = 0,17 + 0,010x$	28	80	47,4
		Eisenstadt	$+0,90^{+++}$	$y = -0,78 + 0,032x$	30	82	50,0

Tabelle 4:

Lineare, statistisch gesicherte ($P \leq 5\%$) Zusammenhänge zwischen dem Botrytis-Befallsindex, der Laccaseaktivität (NOVO-Test und DMPD) und den anderen Parametern der verschiedenen *Riesling*-Klone (über alle Standorte).

Variable x	Variable y	Klon	Korrelations- koeffizient r	Regressions- gleichung	Variationsbreite von x		
					min	max	$\bar{x}$
Befallsindex %	Mostgewicht °Oe	W21	-0,47 ⁺	$y = 88,39 - 0,42x$	0,5	27,8	13,9
	Titration Säure g/l	W21	+0,58 ⁺⁺	$y = 13,21 + 0,11x$	0,5	27,8	13,9
		378DN	+0,58 ⁺⁺	$y = 12,57 + 0,08x$	5,1	40,0	22,2
		H65	+0,51 ⁺	$y = 13,91 + 0,02x$	1,4	38,0	12,7
		TR356	+0,61 ⁺⁺	$y = 12,65 + 0,07x$	2,0	40,8	23,4
	Äpfelsäure g/l	W21	+0,52 ⁺	$y = 6,36 + 0,112x$	0,5	27,8	13,9
		378DN	+0,56 ⁺	$y = 6,45 + 0,058x$	5,1	40,0	22,2
		H65	+0,50 ⁺	$y = 7,04 + 0,055x$	1,4	38,0	12,7
	Laccaseakt. NOVO-Test	H65	+0,75 ⁺⁺⁺	$y = 0,30 + 0,040x$	1,4	38,0	12,7
	Laccaseakt. DMPD	H65	+0,74 ⁺⁺⁺	$y = 29,8 + 1,9x$	1,4	38,0	12,7
Laccaseakt. NOVO-Test	Befallsindex %	H65	+0,75 ⁺⁺⁺	$y = 1,37 + 14,12x$	0,32	1,82	0,80
	Mostgewicht °Oe	W21	-0,46 ⁺	$y = 86,74 - 4,91x$	0,30	0,92	0,75
		Gm239	-0,53 ⁺	$y = 90,06 - 9,68x$	0,25	1,22	0,64
	Titration Säure g/l	Gm239	+0,49 ⁺	$y = 12,70 + 1,97x$	0,25	1,22	0,64
	Äpfelsäure g/l	W21	+0,55 ⁺	$y = 6,79 + 1,38x$	0,30	0,92	0,75
		378DN	+0,47 ⁺	$y = 7,12 + 0,46x$	0,23	2,47	1,19
		H65	+0,51 ⁺	$y = 6,88 + 1,07x$	0,32	1,82	0,80
		TR356	+0,56 ⁺⁺	$y = 6,67 + 1,80x$	0,25	1,04	0,61
	Laccaseakt. DMPD	W21	+0,91 ⁺⁺⁺	$y = 18,2 + 45,3x$	0,30	0,92	0,75
		378DN	+0,88 ⁺⁺⁺	$y = 30,0 + 27,3x$	0,23	2,47	1,19
		H65	+0,92 ⁺⁺⁺	$y = 18,5 + 43,3x$	0,32	1,82	0,80
		TR356	+0,72 ⁺⁺⁺	$y = 5,4 + 68,5x$	0,25	1,04	0,61
Laccaseakt. DMPD	Mostgewicht °Oe	Gm239	+0,50 ⁺	$y = 19,1 + 47,9x$	0,25	1,22	0,64
	Befallsindex %	H65	+0,74 ⁺⁺⁺	$y = -3,02 + 0,30x$	26	102	53,3
	Titration Säure g/l	W21	-0,58 ⁺⁺	$y = 89,49 - 0,12x$	22	170	52,5
		TR356	-0,54 ⁺	$y = 88,78 - 0,08x$	16	138	50,1
		Gm239	-0,45 ⁺	$y = 88,08 - 0,09x$	14	116	51,7
	pH-Wert	H65	+0,60 ⁺⁺	$y = 2,95 + 0,0001x$	26	102	53,3
	Weinsäure g/l	W21	+0,48 ⁺	$y = 13,50 + 0,023x$	22	170	52,5
		378DN	+0,49 ⁺	$y = 12,67 + 0,021x$	20	184	66,1
		TR356	+0,58 ⁺⁺	$y = 13,01 + 0,025x$	16	138	50,1
		Gm239	+0,52 ⁺⁺	$y = 12,89 + 0,022x$	14	116	51,7
	Äpfelsäure g/l	H65	-0,45 ⁺	$y = 8,21 - 0,017x$	26	102	53,3
		Gm239	-0,52 ⁺	$y = 7,95 - 0,012x$	14	116	51,7
		W21	+0,58 ⁺⁺	$y = 6,28 + 0,030x$	22	170	52,5
		378DN	+0,52 ⁺	$y = 6,62 + 0,017x$	20	184	66,1
	Laccaseakt. NOVO-Test	H65	+0,55 ⁺	$y = 6,45 + 0,024x$	26	102	53,3
		TR356	+0,61 ⁺⁺	$y = 6,79 + 0,021x$	16	138	50,1
		W21	+0,91 ⁺⁺⁺	$y = 0,21 + 0,018x$	22	170	52,5
		378DN	+0,88 ⁺⁺⁺	$y = 0,59 + 0,028x$	20	184	66,1
	Laccaseakt. DMPD	H65	+0,92 ⁺⁺⁺	$y = 0,23 + 0,019x$	26	102	53,3
		TR356	+0,72 ⁺⁺⁺	$y = 0,26 + 0,008x$	16	138	50,1
		Gm239	+0,50 ⁺	$y = 0,39 + 0,005x$	14	116	51,7

als jener der einzelnen Standorte. Die größte Anzahl an statistisch signifikanten Beziehungen zwischen den geprüften Variablen ging aus den Analysewerten des Klonen W21 und insbesondere aus jenen des Klonen H65 hervor.

Diskussion

In der Frage des vielerorts lautgewordenen Wunsches nach Objektivierung der Befallsschätzung von *B. cinerea* an Traubenbeeren erwies sich die Bestimmung des Enzyms Laccase als aufschlußreich.

Während in einer früheren Arbeit (54) auch bei schwachem Befall und geringer Stichprobenzahl ein signifikanter Anstieg der Laccase mit zunehmender Botrytisbefallsstärke festgestellt werden konnte, kam bei den vorliegenden Untersuchungen diese Beziehung zwischen der visuellen Beurteilung des Botrytisbefalles in Form des Befallsindex und der analysierten Aktivität dieses Enzyms nicht so ausgeprägt zutage. Die Korrelationskoeffizienten waren zwar statistisch sehr gut abgesichert ($P \leq 0,001$), doch verfügen sie nur über eine relativ geringe Höhe.

Die Ursache für diese scheinbare Divergenz der Ergebnisse ist zunächst einmal sicherlich in der nunmehr ausschließlich auf die Sorte *Riesling* konzentrierten Prüfung zu sehen. Wie REDL und KOBLER (54) zeigten, läßt *Riesling* allgemein nur eine geringe Aktivitätsausprägung der Laccase erkennen. Auch CORDONNIER et al. (12), FREGONI und IACONO (23), CANTAGREL et al. (11) sowie GRASSIN und DUBOURDIEU (27) betonen das ausgeprägte sortenspezifische Verhalten der Laccase.

Des weiteren trug die verhältnismäßig schmale Bandbreite bzw. die relativ geringe Intensität des Befalls der Trauben durch *B. cinerea* (nur 0,5 bis 40,8 % BI) zum Ergebnis des Jahres 1989 bei. Die früheren Untersuchungen (54) erstreckten sich hingegen bis zu einer Befallsstärke von 100 %.

Aber auch die Befallsbonitierung ist als Ursachenfaktor zu nennen. Neben den bei visueller Erfassung eines Krankheitsbefalls unvermeidbaren subjektiven Fehlern durch den Beurteiler (39) sind objektbedingte zusätzliche Zähl- und Schätzfehler infolge der Dichte der Blattmasse auf den Rebstöcken nicht auszuschließen. Fehler rühren aber ebenso daher, daß bei einer Bonitierung der Trauben kaum das Alter des Pilzbefalles berücksichtigt werden kann. Damit ergeben sich bei gleichem Prozentsatz befallener Beeren Unterschiede in der Konzentration der Laccase, wie GRASSIN und DUBOURDIEU (27) zeigen konnten.

Letztlich sind die hier aufgezeigten weniger engen Abhängigkeitsbeziehungen auch durch die Art der Probenziehung bedingt. Während früher (54) Einzeltrauben bonitiert und analysiert wurden, erfolgte nun die Bestimmung der Laccase und der Mostinhaltsstoffe stets aus einer Stichprobe, welche aus einer vollständig bonitierten, zehn Rebstöcke umfassenden Parzelle entstammte. Durch die bekannt starke Variabilität der einzelnen Rebstöcke in ihrer Mostzusammensetzung sowie Botrytisbefallshäufigkeit und -stärke (20, 49, 50) sind die hier dargelegten Ergebnisse mit einem mehr

oder weniger großen Stichprobenfehler behaftet, obwohl durchwegs auf eine exakte, repräsentative Probenziehung geachtet wurde.

Die in dieser Arbeit errechneten Korrelationskoeffizienten sollten jedoch nicht Anlaß sein, die Eignung der Laccase zur Botrytisbefallsschätzung negativ zu beurteilen. Die Resultate, die bei Einbeziehung der anderen analysierten Mostinhaltsstoffe in die statistische Verrechnung zustande kamen, sprechen nämlich sehr wohl für diesen Enzym-Test. So spiegeln titrierbare Säure, Äpfelsäure, Weinsäure und pH-Wert bei steigenden Laccasewerten die für einen Botrytisbefall typischen, in der Literatur angegebenen Veränderungen wider (10, 13, 14, 24, 31, 43, 44, 54, 59, 60, 61, 65).

Einzig das Mostgewicht scheint mit seiner leichten Abnahme auf den ersten Blick nicht mit den befallsbedingten Gehaltsverschiebungen konform zu gehen. Dieser vermeintliche Widerspruch wird aber dadurch relativiert, daß bei dem hier untersuchten unteren Befallsbereich ($BI_x = 18\%$ und $BI_{max} = 40\%$) auch andere Arbeiten (10, 13, 54, 68) noch keine signifikante Erhöhung des Zuckergehaltes hervorbrachten. Stärkerer Befall wirkte sich, den Literaturangaben entsprechend, auch bei dem vorliegenden Probenmaterial erhöhend auf die Zuckerkonzentration aus, wie die positiven Zusammenhänge zwischen Mostgewicht und Befallsindex bzw. Laccaseaktivität am Standort Weißenkirchen belegen.

Wie die getrennte korrelative Verrechnung der Standorte und Klone an den Tag brachte, bestehen im Verhältnis Laccaseaktivität zu Mostinhaltsstoffen neben Sortenunterschieden auch genotypisch bedingte klonenspezifische sowie in abgeschwächter Form auch standortbeeinflusste Eigenheiten. Hinsichtlich der auch von CANTAGREL et al. (11) aufgezeigten Einflußgröße „Standort“ ist noch aufklärungsbedürftig, welche Rolle dabei die große genetische Variabilität des Graufäulepilzes spielt. KOVAC (37) machte nämlich bei Laccasebestimmungen mit Syringaaldehydazin die Beobachtung, daß die von ihm untersuchten, auf Nährlösung gezogenen Botrytisherkünfte von beträchtlichen Aktivitätsunterschieden gekennzeichnet waren. Die von FLECK et al. (21) bearbeiteten Botrytisstämmen unterschieden sich im Gegensatz dazu nicht nennenswert in der Produktion dieser Phenolase.

Um Laccasewerte in Zukunft den einzelnen Botrytis-Befallsklassen in Form von Bandbreiten zuordnen zu können, bedarf es noch weitgehender Untersuchungen, welche neben der Sorten-, Klon- und Standortabhängigkeit auch die gesamte Skala an Befallsstärke erfassen. Das Vorhandensein von Traubenmaterial aller vergebenen Klassen könnte weiters auch zur Überprüfung dienen, ob möglicherweise nichtlineare Korrelationen und Regressionen besser geeignet wären, die chemischen Veränderungen in befallenen Beeren quantitativ zu beschreiben. Eine Schwachstelle bei der praktischen Anwendung der Laccasebestimmung zur Befallsschätzung wird aber dennoch, wie vorher bereits erwähnt, auf Grund der Vielzahl an Reife- und Befallsstadien im selben Weingarten die exakte Probenziehung bleiben.

Im Vergleich der Laccasebestimmungsverfahren stellte sich heraus, daß die auf DMPD beruhende Methode nach DUBERNET (15) etwas genauer einzustufen ist als der mit Syringaldehydazin nach DUBOURDIEU et al. (17) arbeitende NOVO-TEST. Neben tendenziell höheren Korrelationskoeffizienten brachte ersteres Verfahren bei der getrennten Betrachtung aller Klone und Standorte auch häufiger statistisch absicherbare Regressionen hervor. Von der Handhabung her gesehen ist jedoch die NOVO-TEST-Methode im Vorteil, muß doch das Reagens des im übrigen stark humantoxischen DMPD wegen seiner leichten Oxidierbarkeit in kurzen Abständen neu hergestellt werden.

Eine eindeutige Aussage über die Beziehung zwischen dem Phenolindex, nach PARONETTO (46) ein Schätzwert für den Gesamtphenolgehalt bzw. die Bräunungsanfälligkeit, und dem visuell bonitierten oder über die Laccaseaktivität bestimmten Botrytisbefall läßt sich an Hand dieser Arbeit nicht tätigen. Einzig mit dem NOVO-TEST gelang es, zwischen der Laccaseaktivität und dem Phenolindex einen schwach gesicherten, negativen Zusammenhang herzustellen.

Wesentlich deutlichere Abhängigkeitsbeziehungen mit Korrelationskoeffizienten von $r = -0,88$ bis $-0,97$ errechneten hingegen FREGONI und IACONO (23) unter Verwendung des Technolyseur-2000-Gerätes. DITTRICH et al. (14) beobachteten in faulen Trauben Leucoanthocyanabnahmen zwischen 35 und 90 %, GUERZONI et al. (28) konnten hingegen keine Zusammenhänge zwischen dem Anteil erkrankter Beeren und dem nach FOLIN CIOCALTEAU bestimmten Phenolgehalt erkennen.

Abschließend sei festgehalten, daß der Gebrauch eines Photometers für eine genaue Aktivitätsmessung der Laccase zur Zeit unumgänglich ist. Besonders bei wenig laccasesensiblen Sorten, wie z. B. *Riesling* und *Müller-Thurgau*, hat sich nämlich der visuelle Farbwertvergleich des NOVO-TEST als unzureichend erwiesen.

Literatur

- (1) ANTONACCI, E., FARETRA, F. e PIGLIONICA, V. 1986. Prove pluriennali con antibiotritici in un „tendone“ ad uva da vino in Puglia. *Vignevini* 13 (5): 53–56
- (2) BEETZ, K. J. 1969. Zum Problem der Bodentrauben im modernen Weinbau. *Dt. Weinbau* 24: 263–268
- (3) BERTRAND, A., PISSARD, R., SARRE, C. et SAPIS, J. C. 1976. Etude de l'influence de la pourriture grise des raisins (*Botrytis cinerea*) sur la composition chimique et la qualité des vins. *Conn. Vigne Vin* 10: 427–446
- (4) BISIACH, M., MINERVINI, G. and ZERBETTO, F. 1986. Possible integrated control of grapevine sour rot. *Vitis* 25: 118–128
- (5) BLEIHOLDER, H., GEIDEL, H., GRIGO, E., KOMINEK, H., LYRE, H., MOGK, M., O'SVATH, J., RESCHKE, M., RIEPERT, F., ROTHERT, H., SCHICKE, P. und STELZER, G. Richtlinie für Planung, Durchführung und Auswertung von Versuchen mit Pflanzenbehandlungsmitteln. Teil 3: Auswertung des Einzelversuches. Berlin-Braunschweig: Biolog. Bundesanst., 1984
- (6) BOLLE, F. 1953. Über die Auswertung von pflanzenschutzlichen Versuchen. *Angewandte Botanik* 27: 16–23
- (7) BOURQUIN, H. D. und HOLZ, B. 1983. Empfehlungen zur Botrytisbekämpfung im Jahr 1983. *Dt. Weinbau* 38: 1097–1100
- (8) BOURQUIN, H. D. und MADER, H. 1982. Botrytisbekämpfung mit Dicarboximiden trotz Resistenz? *Rebe & Wein* 35: 264–270
- (9) BRECHBUHLER, C. 1969. Indirekte Maßnahmen bei der Botrytisbekämpfung. *Dt. Weinbau* 24: 619–620
- (10) CANTAGREL, R., DESACHÉ, F., VIDAL, J.-P. et LURTON, L. 1989. Incidences du développement de la pourriture grise sur la qualité des eaux-de-vie. *Rev. Paysan Français* (857/858): 52–55
- (11) CANTAGREL, R., LACOUTURE, J., VIDAL, J.-P. et DESACHÉ, F. 1989. Pourriture grise et qualité. *Rev. Paysan Français* (857/858): 44–51
- (12) CORDONNIER, R., HURTREL, J. et BIRON, C. 1980. Relation entre le taux de pourriture de la vendange, l'activité laccase et l'aptitude à la casse oxydative des moûts et des vins. *Conn. Vigne Vin* 14: 19–28
- (13) DITTRICH, H. H. 1989. Die Veränderungen der Beereninhaltsstoffe und der Weinqualität durch *Botrytis cinerea* – Übersichtsreferat. *Wein-Wiss.* 44: 105–131
- (14) DITTRICH, H. H., SPONHOLZ, W. R. und KAST, W. 1974. Vergleichende Untersuchungen von Mosten und Weinen aus gesunden und aus Botrytis-infizierten Traubenbeeren. I. Säurestoffwechsel, Zuckerstoffwechselprodukte, Leucoanthocyangehalte. *Vitis* 13: 36–49
- (15) DUBERNET, M. Recherches sur la tyrosinase de *Vitis vinifera* et la laccase de *Botrytis cinerea*. Applications technologiques. Thèse Univ. Bordeaux II, 1974
- (16) DUBERNET, M. et RIBERAU-GAYON, P. 1973. Les „polyphenoloxydases“ du raisin sain et du raisin parasité par *Botrytis cinerea*. *C. R. Acad. Sci. Paris* 227, Serie D: 975–978
- (17) DUBOURDIEU, D., GRASSIN, C., DERUCHE, C. et RIBERAU-GAYON, P. 1984. Mise au point d'une mesure rapide de l'activité laccase dans les moûts et dans les vins par la méthode à la syringaldazine. Application à l'appréciation de l'état sanitaire des vendanges. *Conn. Vigne Vin* 18: 237–252
- (18) EICHHORN, K. W. 1978. Erfahrungen aus der Botrytisbekämpfung 1977. *Dt. Weinbau* 33: 398–403
- (19) ENGLISH, J. T., THOMAS, C. S., MAROIS, J. J. and GUBLER, W. D. 1989. Microclimates of grapevine canopies associated with leaf removal and control of Botrytis bunch rot. *Phytopathology* 79: 395–401
- (20) FEURER, G. J. Optimierung von Rebschutzversuchen nach biometrischen Gesichtspunkten. Diss. Univ. Stuttgart-Hohenheim, 1989
- (21) FLECK, A., WENZEL, K. und DITTRICH, H. H. Bestimmung der Laccase-Aktivität in Most aus Botrytis-befallenen Traubenbeeren. In: Jahresbericht 1987 der FA Geisenheim. Geisenheim, 1988
- (22) FLICK, G., HOLZ, B., HUBER, W., KASSEMAYER, H. H., KAST, W. K., LIPPS, H. P. und LORENZ, D. Richtlinie für die Prüfung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren. Teil 2, 22 – 1.4: Prüfung von Fungiziden zur Bekämpfung von *Botrytis cinerea* Pers. an Reben (Ertragsanlagen). Braunschweig: Biolog. Bundesanst., 1989
- (23) FREGONI, M. e IACONO, F. 1987. Evoluzione della laccasi e possibilità di impiego come indice di intervento antibiotritico. *Vignevini* 14 (9): 39–44
- (24) FREGONI, M., IACONO, F., DOROTEA, G. e BORDONI, C. 1985. Influenza della *Botrytis cinerea* sulle caratteristiche fisico-chimiche dell'uva. *Vignevini* 12 (10): 19–25
- (25) GAY, B. et CANTAGREL, R. 1989. Incidences du développement de la pourriture grise sur la qualité du Pineau des Charentes. *Rev. Paysan Français* (857/858): 56–57
- (26) GRASSIN, C. et DUBOURDIEU, D. 1986. Optimisation de la méthode de dosage de l'activité laccase de *Botrytis cinerea* par la syringaldazine. *Conn. Vigne Vin* 20: 125–130

- (27) GRASSIN, C. et DUBOURDIEU, D. 1989. Quantitative determination of *Botrytis* laccase in musts and wines by the syringaldazine test. *J. Sci. Food Agric.* 48: 369–376
- (28) GUERZONI, M. E., ZIRONI, R., SUZZI, G. e GIUDICI, P. 1978. Influenza del grado di infezione da *Botrytis cinerea* sulle attività tirosinasi dei mosti. *Informatore agrario* 27: 2301–2305
- (29) HARKIN, J. K. und OBST, J. R. 1973. Syringaldehydazine, an effective reagent for detecting laccase and peroxidase in fungi. *Experientia* 29: 381–387
- (30) HAU, B. und KRANZ, J. 1989. Fehler beim Schätzen von Befallsstärken bei Pflanzenkrankheiten. *Z. Pflkrank. Pflschutz* 96: 649–674
- (31) HEINDL, G. Untersuchungen über die Schadensschwelle von *Botrytis cinerea* bei Verwendung eines Dicarboximides. Dipl.-Arbeit Univ. Bodenkultur, Wien 1989
- (32) HOLZ, B. 1983. Über die Wirksamkeit der Pflanzenpflegemittel „Bio-S“ und „Algifert“ gegen *Peronospora*, *Oidium* und *Botrytis* im Weinbau. *Wein-Wiss.* 38: 126–140
- (33) JERMINI, M., JELMINI, G. et GESSLER, C. 1986. La lutte contre le *Botrytis cinerea* du Merlot au Tessin. Le rôle des infections latentes. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 18: 161–166
- (34) KAST, W. K. 1985. Botrytisabwehr im integrierten Rebschutz. *Rebe & Wein* 38: 252–254
- (35) KAST, W. K. 1985. Wirkung alternativer Spritzfolgen auf pilzliche Schaderreger bei Reben 1984. *Gesunde Pflanzen* 37: 494–501
- (36) KIEFER, W. 1969. Weinbautechnische Maßnahmen zur Verminderung des Botrytisbefalls. *Dt. Weinbau* 24: 616–618
- (37) KOVAC, V. 1982. Production de laccase par *Botrytis cinerea* sur milieu de culture artificiel. *Progr. Agric. Vitic.* 99: 407–414
- (38) KOVAC, V., LEGRAND, G., NEUMANN, J. et LAVOLLAY, J. Sur la laccase de *Botrytis cinerea* cultivé sur milieu artificiel. Substrats spécifiques. In: *Assemblée annuelle 1975 du Groupe Polyphénols*, 367–376. Gargnano sul Garda, 1975
- (39) KRANZ, J. 1970. Schätzklassen für Krankheitsbefall. *Phytopath. Z.* 69: 131–139
- (40) LÖCHER, F. J., LORENZ, G. and BEETZ, K. J. 1987. Resistance management strategies for dicarboximide fungicides in grapes: results of six years' trial work. *Crop Protection* 6: 139–147
- (41) LOINGER, C., COHEN, S., DROR, N. and BERLINGER, M. J. 1977. Effect of grape cluster rot on wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.* 28: 196–199
- (42) MATHYS, G. 1982. Importance économique de la pourriture grise de la vigne. *Bull. OEPP* 12 (2): 3–14
- (43) MÜLLER-THURGAU, H. 1888. Die Edelfäule der Trauben. *Thiels Landwirtschaftliche Jahrbücher* 17: 83–160
- (44) NELSON, K. E. and OUGH, C. S. 1966. Chemical and sensory effects of microorganisms on grape musts and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 17: 38–47
- (45) NOVO FERMENT. Gebrauchsanleitung Novo-Test Botrytis. Dittingen, 1989
- (46) PARONETTO, L. Polifenoli e tecnica enologica. Bologna: Edagricole, 1977
- (47) PEREZ MARIN, J. L. 1982. La lutte chimique contre la pourriture grise de la vigne dans La Rioja (Espagne). *Bull. OEPP* 12 (2): 81–85
- (48) OSCHMANN, M. 1982. Zur Bildung und Anwendung von Indexwerten in der Phytopathologie. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* 18: 275–282
- (49) REDL, H. 1984. Die Variabilität von Traubenertrag und Traubenqualität bei konstant gehaltener Gesamtaugenanzahl in Abhängigkeit von Erziehungshöhe und Fruchtholzlänge bei der Rebsorte *Grüner Veltliner*. *Bodenkultur* 35: 247–256
- (50) REDL, H. 1989. Die Lokalisation des Fruchtholzes bei zweiarmig waagrecht Kordonerziehung und deren Bedeutung für Traubengewicht, Traubenqualität und Blattmassebildung bei der Rebsorte *Grüner Veltliner*. *Mitt. Klosterneuburg* 39: 45–51
- (51) REDL, H. 1990. Zeitpunkt und Stärke des Einkürzens der Rebtriebe in Weitraum-Hochkulturanlagen und deren Auswirkungen auf Blattmassebildung, Krankheitsauftreten und Traubenertragsleistung. *Mitt. Klosterneuburg* 40: 51–59
- (52) REDL, H. 1991. Standort- und klonenbedingte Einflüsse auf die Jungrebenentwicklung am Beispiel der Sorte *Riesling*. *Mitt. Klosterneuburg* 41: 1–6
- (53) REDL, H. Untersuchungen zur Befalls-Verlust-Relation von *Botrytis cinerea*. (unveröffentlicht)
- (54) REDL, H. und KOBLER, A. 1991. Quantitative Veränderungen von Traubeninhaltsstoffen bei klassifizierter Botrytis-Sauerfäule. *Mitt. Klosterneuburg* 41: 177–185
- (55) REYNOLDS, A. G., POOL, R. M. and MATTICK, L. R. 1986. Influence of cluster exposure on fruit composition and wine quality of *Seyval blanc* grapes. *Vitis* 25: 85–95
- (56) SALGUES, M., OLIVIERI, C., CHABAS, M. et PINEAU, J. 1984. Présentation d'un matériel de mesure de la pourriture grise des rasins. *Bull. OIV* (638): 308–311
- (57) SAVAGE, S. D. and SALL, M. A. 1984. Botrytis bunch rot of grapes: Influence of trellis type and canopy microclimate. *Phytopathology* 74: 65–70
- (58) SCHLAMP, H. A. 1988. Spritzfolgen gegen Botrytis im Praxistest. *Dt. Weinbau* 43: 486–487
- (59) SPONHOLZ, W. R., DITTRICH, H. H. und LINSSEN, U. 1987. Die Veränderungen von Mostinhaltsstoffen durch *Botrytis cinerea* in edelfaulen Traubenbeeren definierter Auslese-Stadien. *Wein-Wiss.* 42: 266–284
- (60) SOTOMAYOR SOLER, J. P. 1982. Efecto de diferentes grados de ataque de Botrytis en frutos de vid cv. *Sauvignonasse* sobre las características del vino. *Agricultura Técnica* 42: 223–226
- (61) STALDER, L. 1955. Untersuchungen über die Graufäule (*Botrytis cinerea* Pers.) an Trauben. 2. Mitteilung: Über den Zucker- und Säureverbrauch des Pilzes und die Wirkung einiger Nährstoffe auf das Wachstum. *Phytopath. Z.* 22: 345–380
- (62) STEIN, U. und BLAICH, R. 1985. Untersuchungen über Stilbenproduktion und Botrytisanfälligkeit bei Vitis-Arten. *Vitis* 24: 75–87
- (63) TOWNSEND, G. R. and HEUBERGER, J. W. 1934. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Reporter* 27: 340–343
- (64) UNTERSTENHÖFER, G. 1976. Die Grundlagen des Pflanzenschutz-Freilandversuches. *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer* 29: 83–182
- (65) WEBER, J., BRECHBUHLER, C. und MEYER, E. 1978. Einfluß der *Botrytis cinerea* auf die Qualität des Weines. *Rebe & Wein* 31: 96–100
- (66) WENZL, H. 1968. Grundfragen der schätzenden Ermittlung des Befalles durch Krankheiten. *Bodenkultur* 19: 63–78
- (67) WOLF, T. K., POOL, R. M. and MATTICK, L. R. 1986. Responses of young *Chardonnay* grapevines to shoot tipping, Ethephon, and basal leaf removal. *Am. J. Enol. Vitic.* 37: 263–267
- (68) WURM, R. Veränderungen wichtiger Inhaltsstoffe von Weintrauben und Äpfeln durch verschiedene Schaderreger. Dipl.-Arbeit Univ. Bodenkultur, Wien 1989
- (69) ZERBETTO, F. e BISIACHI, M. 1986. Schemi non convenzionali di difesa antibotritica. *Vignevini* 13 (5): 39–45

Manuskript eingelangt am 12. August 1991