

Institut für Pflanzenkrankheiten  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

---

**Visualisierung der Krankheitsentwicklung von Falschem Mehltau an Gurken  
durch *Pseudoperonospora cubensis* mittels Thermografie**

**I n a u g u r a l – D i s s e r t a t i o n**

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Agrarwissenschaften

(Dr.agr.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt am 25. April 2005

von

Dipl.-Ing. agr. Miriam Lindenthal

aus Leonberg

Referent: Prof. Dr. H.-W. Dehne

Korreferent: Prof. Dr. P. Schulze Lammers

Tag der mündlichen Prüfung: 09. September 2005

**Meinen Eltern  
und  
meinem Freund Oliver**

„Nicht weil die Dinge schwierig sind,  
wagen wir sie nicht,  
sondern weil wir sie nicht wagen,  
sind sie schwierig.“

(Danke, Grete)

Miriam Lindenthal

**Visualisierung der Krankheitsentwicklung von Falschem Mehltau an Gurken durch *Pseudoperonospora cubensis* mittels Thermografie**

Der Epidemieverlauf des Falschen Gurkenmehltaus durch den obligat biotrophen Erreger *Pseudoperonospora cubensis* ist in starkem Maße von Umweltbedingungen abhängig. In der vorliegenden Arbeit ermöglichte die kleinräumige Erfassung des Mikroklimas von Gurkenbeständen eine Einschätzung der Infektionsgefahr einzelner Teilflächen. Die tatsächliche Krankheitsentwicklung des Falschen Gurkenmehltaus stand mit dem berechneten Infektionsrisiko der Teilbereiche in engem Zusammenhang. Auf Basis von Mikroklimakarten kann demnach die räumliche Ausbreitung von Falschem Mehltau in einem Gurkenbestand prognostiziert werden.

Im Verlauf der Pathogenese von *P. cubensis* kommt es zu physiologischen Veränderungen der Wirtspflanze, die in einer Veränderung der aktuellen Transpirationsrate des infizierten Gewebes zum Ausdruck kommen. Aufgrund der negativen linearen Korrelation zwischen Blatttemperatur und Transpirationsrate konnte mittels digitaler Infrarot-Thermografie die Krankheitsentwicklung von Falschem Mehltau an Gurkenblättern zerstörungsfrei erfasst und indirekt in Thermogrammen visualisiert werden. In Abhängigkeit des Stadiums der Pathogenese reduzierte bzw. erhöhte ein Befall mit *P. cubensis* die Temperatur des infizierten Blattgewebes. Die räumliche und zeitliche Dynamik im Temperaturmuster infizierter Gurkenblätter ließ unter kontrollierten Bedingungen eine Differenzierung zwischen infizierten und gesunden Gurkenblättern bereits vor Auftreten der ersten Symptome von Falschem Mehltau zu. Demgegenüber traten Temperaturanomalien bei mit Echtem Mehltau befallenen Gurkenblättern erst mit der Entstehung von Mehltaupusteln auf der Blattoberfläche auf. Im Weiteren wiesen insbesondere die Umweltbedingungen zum Zeitpunkt der thermografischen Aufnahmen sowie die Wasserversorgung und das Blattalter einen Einfluss auf die Blatttemperatur auf. Versuchsbedingungen, welche die Transpirationsrate des Gewebes steigern, erwiesen sich in Laborexperimenten als günstig, Veränderungen in der Blatttemperatur infizierter Blätter möglichst frühzeitig nachzuweisen.

Unterschiedliche Befallsstärken des Falschen Gurkenmehltaus führten in Freilandexperimenten zu Abweichungen in der Oberflächentemperatur innerhalb eines Gurkenbestands, die mittels Thermografie erfasst werden konnten. Der Einfluss von Umweltfaktoren und die Unspezifität des Parameters Bestandestemperatur erschweren allerdings die Interpretation der Thermogramme hinsichtlich einer Objektivierung der Erfassung des Krankheitsbefalls.

Miriam Lindenthal

**Visualisation of downy mildew development of cucumber due to *Pseudoperonospora cubensis* using thermography**

The epidemic of downy mildew of cucumber, caused by the obligate biotrophic oomycete *Pseudoperonospora cubensis*, is strongly depending on environmental conditions. In this study, small-scale measurements of the microclimate in cucumber fields allowed estimation of intra-field variation referring to the risk of downy mildew infection. The development of downy mildew disease under field conditions was closely related to the heterogeneity of the calculated infection risk. Hence, the distribution of downy mildew within cucumber fields is predictable applying maps of the microclimate.

Pathogenesis of *P. cubensis* resulted in various changes in the metabolic processes within cucumber leaves including changes in the transpiration rate of infested tissue. Due to the negative correlation between transpiration rate and leaf temperature, digital infrared thermography permitted a non-invasive monitoring and an indirect visualisation of downy mildew development on cucumber leaves. Depending on the stage of pathogenesis, the infection of *P. cubensis* resulted either in a decrease or in an increase in leaf temperature. Under controlled conditions these changes in leaf temperature of infected leaves allowed the discrimination between healthy and infected leaves in thermograms, even before visible symptoms of downy mildew appeared. In contrast, first distinct changes in the temperature of the cucumber leaves infected with powdery mildew only occurred with the appearance of symptoms on the upper leaf side. In addition, the environmental conditions during thermographic measurement in particular air temperature and humidity, as well as the water content and the age of the leaf influenced the temperature of its' surface. In laboratory assays environmental conditions enhancing the transpiration rate of leaf tissue facilitated the detection of changes in leaf temperature of infected leaves at early stages of infection.

Under field conditions differences in the incidence of downy mildew within a cucumber field caused deviations in the canopy temperature as visualised by digital infrared thermography. The application of thermography in the field in order to improve an objectivity and reliability of disease assessment is limited due to the influence of environmental conditions and the lack of specificity of the parameter canopy temperature, and thermograms have to be analysed thoroughly in order to avoid misinterpretations.

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>9</b>
<b>2.1</b>	<b>Pflanzen</b>	<b>9</b>
<b>2.2</b>	<b>Pathogene</b>	<b>10</b>
2.2.1	<i>Pseudoperonospora cubensis</i> (Berk. et Curt.) Rostovzev	10
2.2.2	<i>Sphaerotheca fuliginea</i> Pollacci und <i>Erysiphe cichoracearum</i> D.C.	10
<b>2.3</b>	<b>Pflanzenschutzmittel</b>	<b>10</b>
2.3.1	Wirkstoffe	10
2.3.1.1	Fosetyl-Al	10
2.3.1.2	Imidacloprid	10
2.3.2	Applikationstechnik	11
2.3.2.1	Kontrollierte Bedingungen	11
2.3.2.2	Freiland	11
<b>2.4</b>	<b>Pflanzenanzucht unter kontrollierten Bedingungen</b>	<b>11</b>
<b>2.5</b>	<b>Pathogenanzucht</b>	<b>12</b>
2.5.1	Erhaltung und Vermehrung	12
2.5.2	Inokulumgewinnung von <i>P. cubensis</i>	13
<b>2.6</b>	<b>Inokulation und Inkubation</b>	<b>13</b>
2.6.1	Inokulationsverfahren für <i>P. cubensis</i>	13
2.6.1.1	Tropfeninokulation	13
2.6.1.2	Sprühinokulation einzelner Blatthälften	14
2.6.1.3	Sprühinokulation von Blättern	14
2.6.2	Inokulationsverfahren für das Gemisch aus <i>S. fuliginea</i> und <i>E. cichoracearum</i>	14
2.6.3	Inkubation von mit <i>P. cubensis</i> inokulierten Pflanzen	15
<b>2.7</b>	<b>Bewertung des Pathogenbefalls</b>	<b>15</b>
2.7.1	Erfassung unter kontrollierten Bedingungen	15
2.7.2	Erfassung im Freiland	16
<b>2.8</b>	<b>Thermografische Messungen</b>	<b>17</b>
2.8.1	Erstellung der Thermogramme	17
2.8.2	Bildanalytische Auswertung	19

<b>2.9</b>	<b>Gaswechselfmessungen</b> .....	<b>20</b>
2.9.1	Messapparatur .....	20
2.9.2	Durchführung der Messungen .....	20
<b>2.10</b>	<b>Mikroskopische Untersuchungen</b> .....	<b>21</b>
2.10.1	Fixierung von biologischem Material .....	21
2.10.1.1	Zoosporangiensuspension .....	21
2.10.1.2	Totalpräparate .....	21
2.10.2	Einbettung .....	22
2.10.3	Färbung .....	22
2.10.4	Epidermisabzüge .....	23
<b>2.11</b>	<b>Untersuchungen zur Zellmembranstabilität</b> .....	<b>23</b>
2.11.1	Messung des Elektrolytverlusts .....	23
2.11.2	Bestimmung der Schädigung von Zellmembranen .....	24
2.11.3	Bestimmung des Wassergehalts von Blattgewebe .....	24
<b>2.12</b>	<b>Freilandversuche an Einlegegurken</b> .....	<b>25</b>
2.12.1	Marhof .....	25
2.12.1.1	Versuchsanlage .....	25
2.12.1.2	Versuchsdurchführung .....	26
2.12.1.3	Versuchsauswertung .....	26
2.12.2	Poppelsdorf .....	26
2.12.2.1	Versuchsanlage .....	27
2.12.2.2	Versuchsdurchführung .....	27
2.12.2.3	Versuchsauswertung .....	28
<b>2.13</b>	<b>Statistische Auswertung</b> .....	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>29</b>
<b>3.1</b>	<b>Krankheitsverlauf durch <i>Pseudoperonospora cubensis</i></b> .....	<b>29</b>
3.1.1	Pathogenese unter kontrollierten Bedingungen .....	29
3.1.1.1	Untersuchungen zur Morphologie .....	29
3.1.1.2	Einfluss der Inokulumdichte .....	33
3.1.1.3	Einfluss der Lufttemperatur auf den Zoosporenschlupf .....	34
3.1.1.4	Einfluss der Umweltbedingungen direkt nach der Inokulation .....	35
3.1.1.5	Einfluss der Lufttemperatur während der Inkubationszeit .....	37



3.1.1.6	Einfluss von <i>P. cubensis</i> auf den Gaswechsel der Wirtspflanze .....	38
3.1.2	Zeitliche und räumliche Entwicklung von <i>P. cubensis</i> an Freilandgurken .....	41
3.1.2.1	Symptome des Falschen Gurkenmehltaus .....	41
3.1.2.2	Erstauftreten und Ausbreitung im Vegetationsverlauf .....	42
3.1.2.3	Einfluss des Mikroklimas auf den Epidemieverlauf .....	44
<b>3.2</b>	<b>Einflussfaktoren auf die Temperatur von Gurkenblättern .....</b>	<b>47</b>
3.2.1	Blattalter .....	47
3.2.2	Genotyp .....	47
3.2.3	Lufttemperatur und relative Luftfeuchtigkeit .....	49
3.2.4	Wasser- und Nährstoffversorgung .....	51
3.2.5	Pflanzenschutzmittel .....	52
3.2.6	Falscher Mehltau durch <i>P. cubensis</i> .....	52
3.2.6.1	Zeitliche Dynamik der Blatttemperatur von infiziertem Gewebe .....	53
3.2.6.2	Ausbildung von Temperaturzonen infizierter Gurkenblätter .....	54
<b>3.3</b>	<b>Bedeutung der Transpiration für die Blatttemperatur .....</b>	<b>55</b>
3.3.1	Temperaturdifferenzen nach Sprühinokulation einzelner Blatthälften .....	55
3.3.2	Veränderung von Blatttemperatur und Transpirationsrate .....	57
3.3.3	Zusammenhang zwischen Blatttemperatur und Transpirationsrate .....	58
<b>3.4</b>	<b>Einfluss von <i>Pseudoperonospora cubensis</i> auf die Transpiration .....</b>	<b>58</b>
3.4.1	Einfluss auf das Blattgewebe .....	59
3.4.2	Einfluss auf die Stomaöffnung .....	60
3.4.2.1	Veränderung der Stomaöffnung im Verlauf der Pathogenese .....	60
3.4.2.2	Unterschiede in der Stomaöffnung um eine Befallsstelle .....	62
3.4.3	Einfluss auf die Permeabilität von Zellmembranen .....	63
3.4.4	Einfluss auf den Wassergehalt des Blattgewebes .....	64
<b>3.5</b>	<b>Differenzierung gesunder und infizierter Gurkenblätter .....</b>	<b>65</b>
3.5.1	Temperaturmuster nach Sprühinokulation ganzer Blätter .....	65
3.5.2	Einfluss von <i>P. cubensis</i> auf die Maximale Temperaturdifferenz .....	67
3.5.2.1	Entwicklung der Maximalen Temperaturdifferenz im Verlauf der Pathogenese .....	67
3.5.2.2	Zusammenhang zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und Befallsstärke .....	68
3.5.3	Einfluss von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit .....	70

3.5.4	Einfluss von Falschem Mehltau und Echtem Mehltau auf das Temperaturmuster .....	75
<b>3.6</b>	<b>Einfluss von <i>Pseudoperonospora cubensis</i> auf die Pflanzenentwicklung im Freiland .....</b>	<b>78</b>
3.6.1	Befallsstärke .....	78
3.6.2	Chlorophyllgehalt .....	80
3.6.3	Bestandestemperatur .....	81
3.6.4	Auswirkung der Befallsstärke auf den Chlorophyllgehalt .....	81
3.6.5	Einfluss der Befallsstärke auf die Bestandestemperatur .....	83
3.6.6	Zusammenhang zwischen Chlorophyllgehalt und Bestandestemperatur .....	83
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>84</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>112</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>115</b>

## 1 EINLEITUNG

Falscher Mehltau an Gurkengewächsen, verursacht durch den obligat biotrophen Erreger *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostovzev, gehört in gemäßigten Klimazonen zu den wichtigsten Krankheiten im Freilandgurkenanbau (PALTÍ & COHEN 1980). Unter günstigen Witterungsbedingungen kann sich die Krankheit epidemieartig innerhalb kürzester Zeit im gesamten Bestand ausbreiten und durch weitgehende Zerstörung des Blattapparats ausgeprägte Ertragsverluste bis zu Totalausfällen verursachen (BRUNO 1996). In Europa trat die Krankheit in größerem Umfang seit 1970 auf. Seit Mitte der 80er Jahre wurden aus mehreren europäischen Ländern erste große Ertragsausfälle im Anbau von Einlegegurken berichtet, die durch Falschen Mehltau verursacht wurden (BEDLAN 1987).

Berkeley und Curtis entdeckten den Parasit erstmalig 1868 auf Kuba und beschrieben ihn als *Peronospora cubensis*. Da die Keimung der Sporangien mittels Zoosporen erfolgt, wurde der Erreger 1891 von Humphrey in *Plasmopora cubensis* umbenannt. 1903 fand Rostovzev in seinen Untersuchungen, dass die Struktur der Sporangienträger allerdings den der Gattung *Peronospora* entsprechen und stellte eine neue Gattung mit dem Namen *Pseudoperonospora* auf (BEDLAN 1987). *Pseudoperonospora cubensis* konnte bislang weltweit nachgewiesen werden und erfasst ein Wirtspflanzenspektrum von mehr als 40 Cucurbitaceen (WEIT & NEUHAUS 1990). Der Erreger gehört zu den niedrigen Pilzen in die Klasse der Oomyceten. Da die Zellwände der Oomyceten hauptsächlich aus Cellulose und Hemicellulose bestehen, anstatt aus Chitin, wie bei echten Pilzen vorzufinden, werden sie dem Reich der Chromista zugeordnet (LEBEDA & SCHWINN 1994). Oomyceten sind daher näher mit den Algen verwandt als mit den echten Pilzen und stellen den Übergang vom Wasser- zum Landleben dar. Einige Entwicklungsstadien des Erregers sind noch an tropfbares Wasser gebunden (SPENCER 1981).

Für eine erfolgreiche Infektion ist bei einer Mindesttemperatur von 20 °C ein geschlossener Wasserfilm für mindestens zwei Stunden auf der Blattunterseite der Wirtspflanze nötig, damit sich die Zoosporen auf die Spaltöffnungen hin aktiv zu bewegen und mit einem Keimschlauch durch die Stomata in das Wirtsgewebe eindringen können. Bei einer Lufttemperatur von 15 °C werden dagegen schon Blattnässedauern von sechs Stunden für eine erfolgreiche Infektion benötigt (COHEN 1977). Nach BEDLAN (1987) sind dagegen Blattnässedauern von 90 Minuten bei Lufttemperaturen von 20 °C ausreichend. Nach der Penetration breitet sich der Erreger mit einem interzellulären Myzel im Mesophyllgewebe aus

und bildet bereits nach wenigen Stunden intrazelluläre Haustorien zur Nahrungsaufnahme (SPENCER 1981).

Für die Inkubationszeit werden in Abhängigkeit der Lufttemperatur unterschiedliche Zeitspannen veranschlagt. Bei Temperaturen von 22 °C bis 26 °C können bereits nach zwei Tagen auf der Blattoberseite erste Symptome sichtbar werden. Je weiter die Lufttemperatur von diesem Optimumbereich abweicht, desto länger dauert die Inkubationszeit. Bei Temperaturen beispielsweise von 16 °C bzw. 30 °C treten die ersten Symptome frühestens nach sechs Tagen auf (BEDLAN 1987). Diese schmutzig-grünen, runden Ölflecke entwickeln sich schnell zu gelblichen, von den Blattadern scharf begrenzten, eckigen Blattflecken weiter. Blattunterseits bildet der Pilz nachts, wenn für mindestens sechs Stunden eine relative Luftfeuchtigkeit von über 95 % gegeben ist, an den Befallsstellen einen violettschwarzen Sporenrasen aus. Die Zoosporangien werden durch Wind im Bestand verbreitet und rufen bei ausreichender Blattnässedauer Neuinfektionen hervor (COHEN *et al.* 1971, COHEN 1977). Die chlorotischen Blattflecken breiten sich bei Temperaturen über 20 °C rasch aus und werden mit der Zeit nekrotisch. Durch das Zusammenfließen der Blattflecken kann letztendlich ein ganzes Blatt braunverfärbt sein und schließlich absterben (PALTÍ & COHEN 1980).

Eine Überwinterung der Oosporen im Freiland konnte bisher in unseren Klimaten noch nicht beobachtet werden. Primärinfektionen müssen demnach jedes Jahr durch Luftverfrachtung von Sporangien aus wärmeren Gebieten Europas, vermutlich aus dem Mittelmeerraum, oder durch Windzuflug aus Gewächshäusern erfolgen (BEDLAN 1988, 1989).

Die Krankheitsausbreitung von Falschen Mehltaupilzen im Bestand ist aufgrund ihrer spezifischen Infektions- und Sporulationsbedingungen ausgesprochen stark von Umweltbedingungen abhängig. Das Erstauftreten und die Verbreitung des Falschen Gurkenmehltaus sind demzufolge an das Bestandesmikroklima geknüpft. Da dieses selten für ein gesamtes Feld einheitlich ist, wird meistens ein nesterweises Auftreten von Falschen Mehltaupilzen in einem Gurkenbestand beobachtet. Die Nester breiten sich im Folgenden aus, bis schließlich der gesamte Bestand mehr oder weniger stark befallen ist (BRUNO 1996). Diese Abhängigkeit der Epidemie von Klimadaten ermöglicht eine zeitliche Präzisierung der Applikation von Pflanzenschutzmitteln gegen Oomyceten auf Basis von Prognosemodellen, die pathogeneserelevante Parameter wie Blattnässedauer und Lufttemperatur miteinbeziehen (BEDLAN 1987). Obwohl die epidemische Entwicklung der Falschen Mehltaupilze auch eine hohe räumliche Variabilität innerhalb eines Schlags aufweist, wird ihr Auftreten bisher von

regional erhobenen Klimadaten abgeleitet und einheitlich auf den gesamten Bestand bezogen. Dabei werden oft auch solche Teilflächen behandelt, in denen keine Infektions- bzw. Sporulationsbedingungen gegeben sind und dementsprechend auf die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln verzichtet werden könnte.

Pflanzenschutzmittel werden in der Praxis vorwiegend ganzflächig auf landwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Flächen ausgebracht. Da viele Schaderreger allerdings oft nicht einheitlich in einem Bestand auftreten und ihre Ausbreitung sich in Abhängigkeit von Mikroklima, Bestandesdichte und Pflanzenzustand auf bestimmte Bereiche des Schlags konzentriert, ist eine einheitliche Applikation in vielen Fällen ökologisch und ökonomisch als nachteilig zu werten, da hierbei auch Bereiche behandelt werden, auf denen die Dichte des Schaderregers unterhalb der wirtschaftlichen Schadensschwelle liegt (NORDMEYER 1999).

Ziel von präzisiertem Pflanzenschutz ist es, zur richtigen Zeit und am richtigen Ort die richtige Menge an Pflanzenschutzmitteln auszubringen. Mit dem Konzept der teilschlagspezifischen Bewirtschaftung ist man bestrebt, auf unterschiedliche Boden- und Bestandesparameter mit dem variablen Einsatz von landwirtschaftlichen Betriebsmitteln innerhalb eines Schlags optimal zu reagieren, indem eine an die natürliche Heterogenität angepasste Landbewirtschaftung betrieben wird (HELLEBRAND 1997). Hierfür müssen die in einem Bestand natürlich vorkommenden Heterogenitäten erfasst und in Entscheidungsprozessen berücksichtigt werden. Je heterogener die Verteilung von Pflanzenkrankheiten in einem Bestand ist, desto effektiver wird ein teilflächenspezifischer Pflanzenschutz sein (WEST *et al.* 2003). Die teilflächenspezifische Applikation von Betriebsmitteln kann zum einen auf dem Mapping-Ansatz beruhen oder mittels Online-Sensorik erfolgen. Beim Mapping-Ansatz werden im Vorfeld Informationen über die Eigenschaften der verschiedenen Teilflächen erfasst und mit Hilfe des Globalen Positionierungssystems (GPS) ein Ortsbezug hergestellt. In einem weiteren Arbeitsschritt werden aus den gesammelten Informationen Karten erstellt und die vorhandenen Datenquellen in einem Geografischen Informationssystem (GIS) verknüpft. Anschließend können mit computergestützten Entscheidungshilfen Applikationskarten, unter Berücksichtigung der in sich einheitlichen Teilflächen, erzeugt werden (KORDUAN *et al.* 2000).

Die hohe räumliche und zeitliche Variabilität von Pflanzenkrankheiten im Gegensatz zu Bodeneigenschaften oder Unkräutern erschwert allerdings die Möglichkeit einer teilflächenspezifischen Fungizidapplikation auf Basis von Applikationskarten. Im Weiteren sind die räumliche Erfassung und Differenzierung von Pflanzenkrankheiten zur Erstellung

von Applikationskarten mit einem hohen Bonituraufwand verbunden (NORDMEYER 1999). Wünschenswert wären Online-Verfahren, die einen Erregerbefall bzw. den aktuellen Pflanzenzustand mit einem Sensor erfassen und bewerten und in Echtzeit eine Applikation des Pflanzenschutzmittels vornehmen könnten.

Optische Sensoren können selten direkt die eigentliche Zielgröße, wie beispielsweise Pilzbefall, messen, sondern weisen meist nur indirekt über Hilfsgrößen auf die Zielgröße hin, mit der sie in einem kausalen Zusammenhang stehen (THIESSEN 2002). So geben Reflexionsmessungen von Pflanzenbeständen Auskunft über deren Chlorophyllkonzentration, wodurch sich Rückschlüsse über die Stickstoffversorgung des Bestands ziehen lassen. Auf diesem Prinzip beruht der in der Praxis bereits angewendete Hydro N-Sensor. Das Sensorsystem besteht aus mehreren Reflexionssensoren, von denen einer, nach oben gerichtet die spektrale Sonneneinstrahlung misst, während die anderen, nach unten gerichtet, die von den Pflanzen zurückgestrahlte Lichtintensität detektieren. Aus der Analyse der Spektralverteilung des vom Bestand reflektierten Sonnenlichts kann auf den Chlorophyllgehalt der Blätter und weiter auf die Stickstoffversorgung des Bestands geschlossen werden. Daraufhin kann der Stickstoffbedarf dieser Teilfläche berechnet und die Stickstoffdüngung variabel mit Hilfe eines elektronisch ansteuerbaren Düngestreuers angepasst werden. Diese Schritte laufen praktisch zeitgleich und vollautomatisch ab (REUSCH 1997).

Bislang gibt es für den teilflächenspezifischen Fungizideinsatz in der Praxis keine vergleichbaren Sensorsysteme (KTBL-Schrift 2001). Indirekte Ansätze über eine Steuerung der Applikationsmenge durch die Messung der zu benetzenden Blattflächen stehen zur Verfügung, indem mit Hilfe eines Pendelsensors die Bestandesdichte erfasst wird (HAMMEN & EHLERT 1999). Eine direkte Sensorik zur Online-Steuerung einer Pflanzenschutzspritze müsste sofort und berührungslos den Pathogenbefall identifizieren und quantifizieren können bzw. eine entsprechende Hilfsgröße erfassen.

Der Befall eines Erregers führt im Verlauf der Pathogenese zu zahlreichen physiologischen Veränderungen der Wirtspflanze, die noch vor visuellen Symptomen auftreten können. Diese Veränderungen in der Wirtspflanze können zum einen in einer Veränderung der aktuellen Respirations-, Photosynthese- und Transpirationsrate des infizierten Gewebes zum Ausdruck kommen oder zum anderen eine Umverteilung der Nährstoffe zu Gunsten des Pathogens verursachen (LUCAS 1998). Die sensorische Erfassung einer durch Pflanzenkrankheiten hervorgerufenen physiologischen Veränderung der Wirtspflanze sowie deren sichere

Unterscheidung von anderen Stressfaktoren wie beispielsweise Wasser- und Nährstoffmangel wäre für die Durchführung von teilflächenspezifischen Fungizidapplikationen eine Grundvoraussetzung. Ansätze sind die Detektion des bei Pathogenbefalls von der Wirtspflanze freigesetzten Ethylens (BOLLER 1983) oder optische Methoden der Reflexions- bzw. Fluoreszenzmessung, die in Zusammenhang mit der photosynthetischen Aktivität stehen. Beispielfhaft sei hier der *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI) erwähnt, der in Multispektralenbildern als Quotient von Nah-Infrarot minus Rot zu Nah-Infrarot plus Rot dargestellt werden kann. Blattkrankheiten, die in einzelnen Kanälen nicht deutlich zu erkennen sind, können teilweise in NDVI-Bildern durch eine Verstärkung des Kontrasts zwischen infiziertem und gesundem Gewebe hervorgehoben werden. Durch die Quotientenbildung tritt im Weiteren eine positive Korrelation zum Chlorophyllgehalt und zum Blattflächenindex auf, so dass mit Hilfe dieses Reflexionsindizes die Vitalität von Pflanzenbeständen quantifiziert werden kann (KTBL-Schrift 2001). Auch für die Infektion von Oomyceten wurden Veränderungen im Chlorophyllgehalt sowie in der photosynthetischen Aktivität im Verlauf der Pathogenese für verschiedene Wirtspflanzen beschrieben (INGRAM 1981).

Ein weiterer vielversprechender Ansatz ist die Berechnung von Fluoreszenzquotienten aus dem Emissionsspektrum der Blattfluoreszenz. So eignet sich nach THIESEN (2002) das Verhältnis der Fluoreszenzen bei 690 nm und 730 nm allgemein für die Bestimmung der Chlorophyllkonzentration von Pflanzenblättern. Zwischen dem Fluoreszenzquotienten F440/F730 und dem Infektionsgrad von mit Echtem Mehltau und Rost befallenen Weizenblättern zeigte sich unter kontrollierten Bedingungen eine starke Korrelation. Da aber andere Stressfaktoren und die Blattstellung ebenfalls einen Einfluss auf das Fluoreszenzverhältnis besitzen, konnten auf der Basis von Fluoreszenzquotienten bislang noch keine praxisreifen Sensoren entwickelt werden (THIESEN 2002). Teilflächenspezifischer Pflanzenschutz beschränkt sich daher im Allgemeinen immer noch weitestgehend auf Unkrautbekämpfung, da bisher noch keine praxisreifen Verfahren zur direkten Erfassung von Schaderregern bzw. von physiologischen Veränderungen der Wirtspflanze zur Verfügung stehen (KTBL-Schrift 2001).

Veränderungen in der Transpirationsrate von infiziertem gegenüber gesundem Gewebe können auf eine Vielzahl von Ursachen zurückgeführt werden. Zerstörungen der Kutikula (SMITH *et al.* 1986, SHTIENBERG 1992) sowie eine Steigerung der Permeabilität von Zellmembranen oder eine Beeinträchtigung der Regulation der Stomata führen gegenüber intaktem Gewebe zu einem erhöhten Wasserverlust des infizierten Gewebes (BASSANEZI *et*

al. 2002). Auch eine abnormale Stomaöffnung induziert durch das Pathogen kann die Ursache für eine erhöhte Transpirationsrate von infiziertem Gewebe sein (FELLE *et al.* 2004). Eine Infektion von Kartoffelpflanzen mit *Phytophthora infestans* bewirkte eine weitere Öffnung der Stomata im Licht und verhinderte das Schließen der Stomata im Dunkeln, wodurch die Transpirationsrate von infiziertem Gewebe deutlich erhöht wurde (FARRELL *et al.* 1969). CRUICHSANK & RIDER (1961) berichteten, dass eine Infektion von Tabakblättern mit *Peronospora tabacina* im Licht zu einer geringen Erhöhung der Transpirationsrate führte, im Dunkeln dagegen vor der Sporulation die Transpirationsrate durch den Befall verdoppelt wurde. Eine erregerinduzierte Verringerung der Transpirationsrate dagegen kann die Folge von gestörter Stomaregulation oder zerstörten bzw. verstopften Xylemelementen sein. Aber auch der Verlust an transpirierender Blattfläche, infolge von abgestorbenem Gewebe oder Blattfall, führt zu einer Reduktion der Transpirationsrate infizierter Pflanzen (LUCAS 1998, SHTIENBERG 1992).

Diese Veränderungen der Transpirationsrate von infiziertem Gewebe im Verlauf der Pathogenese mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung berührungsfrei zu erfassen, ist mit Gaswechsellmessungen nicht möglich. Aufgrund des linearen negativen Zusammenhangs zwischen Transpirationsrate und Blatttemperatur (INOUE *et al.* 1990) können anhand von Thermogrammen eines Laubblatts Rückschlüsse auf die aktuelle Transpirationsrate verschiedener Blattbereiche sowie über dynamische Veränderungen in der Transpirationsrate gezogen werden. Die Blatttemperatur kann somit als Hilfsgröße herangezogen werden, um Aussagen über die aktuelle Transpirationsrate einzelner Pflanzenblätter oder eines Bestands zu machen.

Die digitale Infrarot-Thermografie erfasst die von Objekten in einem Wellenlängenbereich von 8 bis 12,5  $\mu\text{m}$  emittierte thermische Infrarotstrahlung und wandelt diese in ein Falschfarbenbild, ein Thermogramm, um. Hauptanwendungsgebiete der Thermografie sind in der Bauphysik und der Wärmedämmung von Gebäuden zu finden. Aber auch in der Elektrotechnik, der Fernerkundung und im Umweltschutz sowie in anderen Bereichen der Forschung, wie Humanmedizin und Tierverhalten, wird Thermografie bereits eingesetzt (DITTIE 1997). Im Bereich der Pflanzenwissenschaften wurde bislang Thermografie erfolgreich angewendet, um den Wasserbedarf von Kulturpflanzen zu bestimmen (GEBHARDT 1990) und somit die Bewässerung zu automatisieren. Im Weiteren konnte mittels Thermografie die Bildung und Ausbreitung von Eiskristallen in pflanzlichem Gewebe beobachtet (WISNIEWSKI *et al.* 1997) und auf Mutanten gescreent werden, die sich



bezüglich ihrer Stomaregulation von den übrigen Pflanzen unterschieden (MERLOT *et al.* 2002).

Verschiedene Untersuchungen über den Einfluss von Wirt-Pathogen-Interaktionen auf die Temperatur infizierter Pflanzen wurden ebenfalls durchgeführt. Mit Nematoden infizierte Getreidepflanzen konnten aufgrund höherer Blatttemperaturen infolge von Wassermangel mit Hilfe von Thermografie detektiert werden (LILI *et al.* 1991). Pinter *et al.* (1979) stellten höhere Blatttemperaturen von Zuckerrüben und Baumwollpflanzen fest, deren Wurzeln durch *Phytium aphanidermatum* bzw. *Phymatotrichum omnivorum* beschädigten waren. Zahlreiche weitere Erreger, die Wurzeln befallen bzw. Welkeerscheinungen, hervorrufen wie *Rhizoctonia solani*, *Phytium ultimum* und *Verticillium dahliae*, konnten in thermografischen Untersuchungen an verschiedenen Kulturpflanzen erfolgreich nachgewiesen werden (NILSSON 1995). Aber auch die Auswirkung von Blattpathogenen auf die Temperatur von infiziertem Gewebe wurde mit Hilfe von Infrarotthermometern und digitalen Thermokameras untersucht. Eine Infektion von *Puccinia striiformis* an Weizenblättern führte mit der Bildung von Rostpusteln zu einem Rückgang der Temperatur des infizierten Gewebes, da die Kutikula zerstört wurde und die Transpiration anstieg. Auf die Abkühlung folgte mit dem Auftreten der ersten Nekrosen ein Temperaturanstieg, weil die Nekrosen einen Verlust an transpirierender Blattfläche darstellten (SMITH *et al.* 1986). Eine Abkühlung der Blatttemperatur von mit *Erwinia amylovora* infiziertem Gewebe vor Sichtbarwerden der Symptome berichteten BOCCARA *et al.* (2001) und erklärten dieses Phänomen mit einer abnormalen erreger-induzierten Stomaöffnung. Zeitgleich mit dem Absterben der Zellen war die Temperatur des infizierten Gewebes allerdings höher als von gesundem Gewebe. CHAERLE *et al.* (2001) beschrieben dagegen, dass die Blatttemperatur von mit Tabakmosaikvirus infizierten Tabakpflanzen einige Stunden vor Eintreten des Zelltods höher war als von nicht infiziertem Gewebe. Die in der Abwehrreaktion der Pflanze eine Rolle spielende Salicylsäure veranlasste eine Schließung der Stomata des infizierten Gewebes, wodurch die Blatttemperatur anstieg. Sichtbarer Zelltod wurde dagegen mit niedrigeren Blatttemperaturen, aufgrund erhöhtem Wasserverlust aus den geschädigten Zellen in Verbindung gebracht. Erst mit der Austrocknung des toten Gewebes stieg dessen Blatttemperatur über die Temperatur des gesunden Gewebes an. Mittels Thermografie können Veränderungen in der Oberflächentemperatur eines Pflanzenblatts mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung berührungsfrei gemessen und die Transpirationsrate für das menschliche Auge indirekt sichtbar gemacht werden (GEBHARDT 1984).

Dass sich in der landwirtschaftlichen Praxis ein teilflächenspezifischer Fungizideinsatz bisher noch nicht etablieren konnte, liegt hauptsächlich in der Tatsache begründet, dass noch keine praxisreifen Sensoren existieren, die in der Lage sind Pilzbefall zu identifizieren. Erschwerend kommt hinzu, dass für die Durchführung einer Pflanzenschutzmaßnahme, nach Richtlinien des Integrierten Pflanzenschutzes, nicht das Vorhandensein eines Schaderregers ausschlaggebend ist, sondern das Erreichen der wirtschaftlichen Schadensschwelle. Der Sensor müsste demnach neben einer Identifizierung des Krankheitserregers auch in der Lage sein, eine Quantifizierung der Befallsstärke zu ermitteln. Im Weiteren müsste der Schaden frühzeitig erfasst werden können, um mit den zur Verfügung stehenden Pflanzenschutzmitteln noch eine erfolgreiche Bekämpfung durchführen zu können (WEST *et al.* 2003).

Grundlagenuntersuchungen zum Einfluss eines Erregers auf die spektralen Eigenschaften seiner Wirtspflanze sind daher dringend nötig, um mittels berührungsloser Sensorik einen Erreger eindeutig identifizieren, und letztendlich zwischen infiziertem und nicht infiziertem Blattgewebe differenzieren zu können. Aufgrund der kausalen Verknüpfung zwischen Blattemperatur und aktueller Transpirationsrate weist die digitale Infrarot-Thermografie Potenzial zur Erfassung des aktuellen Pflanzenzustands auf.

Ziel dieser Arbeit war (I) die Erfassung der Heterogenität des Bestandesklimas in Freilandgurken und dessen Auswirkung auf den Epidemieverlauf von *P. cubensis* zu untersuchen, und (II) die Eignung der digitalen Infrarot-Thermografie für die Erfassung des Befalls im Freiland zu bewerten. In Laborversuchen sollte (III) der Einfluss verschiedener Entwicklungsstadien von *P. cubensis* auf die Blattemperatur von Gurkenblättern mittels Thermografie visualisiert und (IV) die Möglichkeit der Differenzierung zwischen gesunden und befallenen Gurkenblättern anhand von Thermogrammen untersucht werden.

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Pflanzen

Die Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen wurden vorwiegend an Einlegegurken (*Cucumis sativus* L.) der Sorte ‘Vorgebirgstraube‘ durchgeführt. Aufgrund ihrer hohen Anfälligkeit gegen Echten und Falschen Gurkenmehltau wurde diese alte Landsorte für Versuchszwecke ausgewählt. Im Erwerbsgemüseanbau findet die Sorte heute dagegen keine Verwendung mehr. Das ungebeizte Saatgut wurde von der Saatzüchtfirma Juliwa-Enza GmbH (Heidelberg, D) bezogen. Für ein Laborexperiment wurden verschiedene Genotypen benötigt. Hierfür wurden zusätzlich zur Sorte ‘Vorgebirgstraube‘ auch die Sorten aus den Freilandversuchen ‘Jazzer F1‘, ‘Octopus F1‘ und ‘Pasalimo F1‘ im Gewächshaus mit angezogen (Tab. 1).

In den Freilandversuchen wurden vier verschiedene Gurkensorten verwendet. Kriterien für die Auswahl der Genotypen waren neben der Eignung für Freilandanbau sowohl die Empfindlichkeit gegenüber *Pseudoperonospora cubensis* als auch gegenüber anderen Pathogenen an Gurke. Die ausgewählten Sorten und ihre Eigenschaften sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tab. 1: Ausgewählte Gurkensorten und ihre Eigenschaften gegenüber phytopathogenen Erregern nach Angaben des Züchters.

<b>Gurkensorte</b>	<b>Sorteneigenschaften</b>	<b>Züchter</b>
Jazzer F1	sehr widerstandsfähig gegen Falschen Mehltau; Toleranz gegen Echten Mehltau und Gurkenmosaikvirus	Juliwa-Enza GmbH (Heidelberg, D)
Octopus F1	Resistenz gegen Falschen und Echten Mehltau; Toleranz gegen Gurkenmosaikvirus	Syngenta-Seeds GmbH (Kleve, D)
Pasalimo F1	Toleranz gegen Falschen Mehltau und Gurkenmosaikvirus; Resistenz gegen Echten Mehltau	Syngenta-Seeds GmbH (Kleve, D)
Vorgebirgstraube	weder Resistenz noch Toleranz bekannt	Juliwa-Enza GmbH (Heidelberg, D)

## 2.2 Pathogene

### 2.2.1 *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostovzev

Im Oktober 2001 wurden zwei mit Falschem Gurkenmehltau stark befallene Gurkenpflanze von der Firma Bayer CropScience (Monheim, D) zur Verfügung gestellt. Der Erreger *Pseudoperonospora cubensis* wurde in Kultur genommen und vermehrt.

### 2.2.2 *Sphaerotheca fuliginea* Pollacci und *Erysiphe cichoracearum* D.C.

Echter Mehltau an Gurkengewächsen wird durch mindestens zwei Spezies verursacht. Ein Gemisch der beiden Erreger konnte für Versuchszwecke der institutseigenen Erhaltung und Vermehrung für Echte Mehltaupilze entnommen werden.

## 2.3 Pflanzenschutzmittel

### 2.3.1 Wirkstoffe

#### 2.3.1.1 Fosetyl-Al

Fosetyl-Al ist ein vollsystemischer Wirkstoff aus der chemischen Stoffgruppe der Ethylphosphonate mit protektiver und kurativer Wirkung gegen Oomyceten. Die Wirkungsweise wird in einer Hemmung der Sporenkeimung sowie einer Blockierung des Myzelwachstums beschrieben. Die Pflanze nimmt den Wirkstoff überwiegend über das Blatt auf. In geringem Maße findet auch eine Aufnahme über die Wurzel statt (PERKOW & PLOSS 1988). Der Wirkstoff lag in handelsüblicher Formulierung unter dem Handelsnamen Aliette<sup>®</sup> (Bayer CropScience, Monheim, D) vor. Neben einer direkten Wirkung auf Oomyceten stimuliert Aliette<sup>®</sup> zusätzlich die natürlichen Abwehrkräfte der Pflanze (ANONYM 2005).

#### 2.3.1.2 Imidacloprid

Der Wirkstoff Imidacloprid lag in handelsüblicher Formulierung als wasserdispergierbares Granulat unter dem Handelsnamen Confidor<sup>®</sup> (Bayer CropScience, Monheim, D) vor. Das Insektizid besitzt systemische Eigenschaften, wirkt als Kontakt- und Fraßgift und wird zur Bekämpfung von saugenden Insekten eingesetzt. Für Confidor<sup>®</sup> sind eine beachtliche Wirkungsdauer sowie eine gute Pflanzenverträglichkeit beschrieben (ANONYM 2005).

## 2.3.2 Applikationstechnik

### 2.3.2.1 Kontrollierte Bedingungen

In einem Laborexperiment sollte der Einfluss eines Pflanzenschutzmittels auf die Blatttemperatur von Gurkenpflanzen untersucht werden. Zwei Wochen alte Jungpflanzen wurden hierfür folgender Pflanzenschutzmittelanwendung unterzogen: Pro Pflanze wurden 0,1 g Aliette<sup>®</sup> unmittelbar vor der Applikation in 20 ml Leitungswasser gelöst. 10 ml der Fungizidlösung wurden mit Hilfe eines Pumpzerstäubers aus 20 cm Entfernung auf das erste Laubblatt gesprüht. Es wurde darauf geachtet, dass der Fungizidbelag gleichmäßig war. Die restlichen 10 ml der wässrigen Fungizidlösung wurden angegossen.

### 2.3.2.2 Freiland

Das Fungizid Aliette<sup>®</sup> wurde in der praxisüblichen Aufwandmenge von 2 kg/ha Aliette<sup>®</sup> in 400 l/ha Wasser appliziert. Die wässrige Lösung des Fungizids wurde unmittelbar nach dem Ansetzen mit einer Rückenspritze auf die Blätter der Sorte 'Vorgebirgstraube' in einem Abstand von 30 cm ausgebracht.

Das Insektizid Confidor<sup>®</sup> wurde in der vom Hersteller empfohlenen Aufwandmenge von 150g/ha in 600 l/ha Wasser angewandt. Das Insektizid wurde in dieser Konzentration als wässrige Lösung angesetzt und direkt im Anschluss mit Hilfe einer Rückenspritze einheitlich auf die Blätter der Versuchspflanzen ausgebracht.

## 2.4 Pflanzenanzucht unter kontrollierten Bedingungen

Gurkensamen der Sorte 'Vorgebirgstraube' wurden auf feuchtem Filterpapier in luftdicht verschließbaren Plastikboxen bei Temperaturen von  $22 \pm 5$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % vorgekeimt. Nach vier Tagen wurden gleichmäßig gekeimte Pflanzen mit zwei sich entwickelnden Keimblättern in Plastiktöpfe (9 x 9 x 8 cm) in ein Erde-Sand-Gemisch (Klasmann 'Spezialmischung' mit 70 % Vol. Weißtorf und 30 % Vol. Schwarztorf, pH 5,5; Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste-Groß Hesepe, D) im Verhältnis 3:1 pikiert. Die Pflanzen wurden im Gewächshaus bei Temperaturen von  $22 \pm 5$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von  $70 \pm 10$  % weiter kultiviert. Eine Tageslänge von 16 Stunden mit einer Lichtstärke von  $> 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  wurde durch Zusatzlicht von Natriumdampflampen Typ SGR 140 (Philips, Hamburg, D) sichergestellt. Täglich wurden die Pflanzen über eine Tischbewässerung mit Wasser versorgt. Soweit nicht anders erwähnt, wurden für die

Versuche zwei Wochen alte Jungpflanzen verwendet, deren erstes Laubblatt vollständig ausgebildet war.

Vier Wochen alte Versuchspflanzen mit fünf voll entwickelten Laubblättern wurden angezogen, um den Einfluss des Blattalters auf die Blatttemperatur zu messen. Die Pflanzenanzucht in den ersten zwei Wochen erfolgte wie oben beschrieben, anschließend wurden die Pflanzen zusätzlich einmal wöchentlich mit 0,2 %-iger „Flory 2 Spezial“-Nährlösung (16 % N, 9 % P, 22 % K; Fa. Euflor, München, D) versorgt. Sich entwickelnde Ranken, Seitentriebe und Blüten wurden manuell entfernt.

Der Einfluss unterschiedlicher Anzuchtbedingungen auf die Blatttemperatur von Gurken wurde bewertet, indem zwei Wochen alte Jungpflanzen nach einheitlicher Anzucht unterschiedlichen Behandlungen zugeführt wurden. Folgende Varianten wurden angelegt:

1. täglich 100 ml Leitungswasser (Kontrolle)
2. täglich 50 ml Leitungswasser und 50 ml 0,2 %-ige „Flory 2 Spezial“-Nährlösung (16 % N, 9 % P, 22 % K)
3. täglich 50 ml Leitungswasser

## 2.5 Pathogenanzucht

### 2.5.1 Erhaltung und Vermehrung

Mit *Pseudoperonospora cubensis* befallene Gurkenpflanzen wurden zur Anregung der Sporulation für 18 Stunden bei einer Lufttemperatur von  $22 \pm 3$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % in einem Dunkelschrank feucht inkubiert. Anschließend wurde der Sporenrasen mit Leitungswasser von der Unterseite der Gurkenblätter mit einem Borstenpinsel in ein Becherglas abgewaschen. In einem weiteren Schritt wurde die Sporensuspension durch mehrere Lagen Mull-Gaze filtriert, um die Sporensuspension von Blattresten und sonstigen Verunreinigungen zu befreien. Für die Erhaltung und Vermehrung des Pathogens wurde mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Kammer eine Konzentration von  $1 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  eingestellt. Eine Zugabe von 0,01 % Tween 20 bewirkte eine Verringerung der Oberflächenspannung mit dem Ziel, eine bessere Benetzbarkeit des Blattgewebes mit der Sporensuspension sicherzustellen.

Die ersten Laubblätter der im Gewächshaus angezogenen Gurkenpflanzen wurden mit der Sporensuspension blattunterseits mit Hilfe eines Pumpzerstäubers tropfnass besprüht. Optimale Inkubationsbedingungen wurden gewährleistet, indem die behandelten Pflanzen für

sechs Stunden bei einer Lufttemperatur von  $22 \pm 3$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % in einem Feuchteschrank bei Tageslicht inkubiert wurden. Anschließend wurden die Gurkenpflanzen im Gewächshaus bei einer Lufttemperatur von  $22 \pm 5$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von  $70 \pm 10$  % aufgestellt. Nach vier Tagen war mit den ersten Befallssymptomen zu rechnen.

Wiederum wurden die infizierten Gurkenpflanzen für 18 Stunden bei einer Lufttemperatur von  $22 \pm 3$  °C feucht und dunkel inkubiert, um den Erreger zur Sporulation anzuregen. Die Stärke der Sporulation wurde anschließend mittels Binokular auf der Blattunterseite der abgetrennten Gurkenblätter überprüft. Gurkenblätter mit stark sporulierenden Befallsstellen wurden in Gefrierbeuteln bei -80 °C eingefroren. Die Zoosporangien an derart eingefrorenen Gurkenblättern waren für mehrere Monate haltbar.

Für die Erhaltung und Vermehrung der Erreger von Echem Mehltau wurden zwei Wochen alte Gurkenpflanzen neben stark sporulierenden Gurkenpflanzen bei einer Lufttemperatur von  $22 \pm 5$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von  $60 \pm 10$  % mehrere Tage im Gewächshaus aufgestellt. Nach vier bis fünf Tagen war mit den ersten Symptomen des Echten Mehltaus an den jungen Gurkenpflanzen zu rechnen.

### **2.5.2 Inokulumgewinnung von *P. cubensis***

Die Zoosporangien von *P. cubensis* wurden mit einem Borstenpinsel von gefrorenen Gurkenblättern in lauwarmem Leitungswasser abgewaschen und über mehrere Lagen Gaze-Mull in ein Becherglas überführt. Nach der Filtration wurde mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Kammer in Abhängigkeit der Versuchsfrage eine Konzentration von  $2,5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$  bzw.  $1 \times 10^5$  und  $5 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  eingestellt und 0,01 % Tween 20 zugegeben.

## **2.6 Inokulation und Inkubation**

### **2.6.1 Inokulationsverfahren für *P. cubensis***

In Abhängigkeit der Fragestellung wurden für die Inokulation von *P. cubensis* unterschiedliche Inokulationsverfahren gewählt.

#### **2.6.1.1 Tropfeninokulation**

Töpfe mit zwei Wochen alten Gurkenpflanzen wurden horizontal auf die Seite gelegt und mit einer Gitterkonstruktion stabilisiert. Beide Keimblätter wurden mit einem Streifen Tesafilm<sup>®</sup> an dem Gitter fixiert, so dass die ersten Laubblätter mit der Blattoberseite nach unten zum Liegen kamen und sich auch während den nächsten sechs Stunden nicht aufrichten konnten.

Sowohl auf der rechten als auch auf der linken Blatthälfte der ersten Laubblätter wurden  $5 \times 10^4$  Zoosporangien von *P. cubensis* in einem 0,1 ml-Tropfen auf der Blattunterseite abgelegt.

### 2.6.1.2 Sprühinokulation einzelner Blatthälften

Ausschließlich auf die rechte Hälfte der ersten Laubblätter der Versuchspflanzen wurden 2 ml Sporangiensuspension von *P. cubensis* ( $1 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ) blattunterseits mit einem Pumpzerstäuber aus einem Abstand von 20 cm appliziert. Die linke Blatthälfte wurde während dem Sprühvorgang mit einem saugfähigen Papiertuch abgedeckt, um einem Kontakt mit der Sporangiensuspension vorzubeugen.

### 2.6.1.3 Sprühinokulation von Blättern

Ein Großteil der Versuche wurde an ersten Laubblättern durchgeführt, deren gesamte Fläche inokuliert wurde. Die Blattunterseite wurde diesbezüglich je nach Versuchsfrage mit 1 bzw. 2 ml Sporangiensuspension von *P. cubensis* unterschiedlicher Zoosporangiedichten ( $2,5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$  bzw.  $1 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ) gleichmäßig mit einem Pumpzerstäuber aus 20 cm Entfernung besprüht.

## 2.6.2 Inokulationsverfahren für das Gemisch aus *S. fuliginea* und *E. cichoracearum*

Für die Inokulation der Versuchspflanzen mit dem Gemisch aus *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* wurden 24 Stunden vor der Inokulation sechs stark befallene Gurkenpflanzen aus der Erhaltung für Echten Mehltau entnommen. Bevor die befallenen Pflanzen auf einem Drahtgestell in halber Höhe in einer Wirbelkammer aufgestellt wurden, wurden durch kräftiges Schütteln der Pflanzen alte Konidien entfernt. Nach weiteren 24 Stunden wurden die zu inokulierenden Versuchspflanzen auf dem Boden der Wirbelkammer bei  $23 \pm 2$  °C und  $40 \pm 10$  % relativer Luftfeuchtigkeit gleichmäßig verteilt. Nachdem die Wirbelkammer verschlossen worden war, wurde durch einen Ventilator für eine Minute eine starke Luftbewegung in der Wirbelkammer erzeugt. Durch den Wind wurden die frischgebildeten Konidien auf die zu infizierenden Pflanzen übertragen. Nach weiteren 24 Stunden wurden die Versuchspflanzen der Wirbelkammer entnommen und im Gewächshaus bei 16 Stunden Licht ( $> 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), einer Lufttemperaturen von  $22 \pm 5$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von  $70 \pm 10$  % weiter kultiviert. Spezifische Inkubationsbedingungen waren nicht mehr nötig.



### 2.6.3 Inkubation von mit *P. cubensis* inokulierten Pflanzen

Die mit *P. cubensis* inokulierten Pflanzen wurden, wenn nicht anders erwähnt, unmittelbar nach der Inokulation für vier Stunden bei  $22 \pm 3$  °C Lufttemperatur und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % in einer transparenten Feuchtekammer inkubiert. Anschließend wurden die Pflanzen im Gewächshaus bei 16 Stunden Licht ( $> 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), einer Lufttemperatur von  $22 \pm 5$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von  $70 \pm 10$  % weiter kultiviert. Die Pflanzen wurden täglich über eine Tischbewässerung mit Wasser versorgt.

Der Einfluss der Umweltbedingungen direkt nach der Inokulation auf den Befallsverlauf von *P. cubensis* wurde untersucht, indem inokulierte Versuchspflanzen unterschiedlichen Inkubationsbedingungen ausgesetzt wurden. Hierfür wurde die Blattnässedauer unmittelbar nach der Inokulation variiert. Die Pflanzen wurden für eine Zeit von 40, 80, 120, 180 bzw. 240 Minuten bei einer Lufttemperatur von 20 °C im Feuchteschrank aufgestellt, bevor sie anschließend im Gewächshaus unter gleichen Bedingungen (s.o.) weiter kultiviert wurden. Im Weiteren wurde der Einfluss der Lufttemperatur zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten während der Pathogenese von *P. cubensis* untersucht. Zum einen wurden Versuchspflanzen unmittelbar nach der Inokulation für vier Stunden unter transparenten Hauben bei 100 % relativer Luftfeuchtigkeit in drei Klimakammern aufgestellt, die sich hinsichtlich ihrer Lufttemperatur unterschieden (18 °C, 25 °C bzw. 32 °C). Zum anderen wurden direkt nach der Inokulation für alle Pflanzen für vier Stunden optimale Infektionsbedingungen geschaffen (Lufttemperatur  $22 \pm 3$  °C und 100 % relative Luftfeuchtigkeit) und anschließend die Versuchspflanzen elf Tage in Klimakammern mit unterschiedlichen Lufttemperaturen (15 °C, 20 °C bzw. 25 °C) weiter kultiviert.

Für alle Versuche wurden nicht inokulierte Pflanzen des gleichen Alters nur mit Wasser und 0,01 % Tween 20 besprüht unter gleichen Bedingungen als Kontrollpflanzen gehalten.

## 2.7 Bewertung des Pathogenbefalls

### 2.7.1 Erfassung unter kontrollierten Bedingungen

In den Versuchen mit *P. cubensis* wurden die ersten Laubblätter der inokulierten Pflanzen während der gesamten Versuchsdauer täglich bzw. jeden zweiten Tag bonitiert. Der prozentuale Anteil der Blattfläche mit Symptomen jeglicher Art von Falschem Mehltau (Ölflecke, Chlorosen bzw. Nekrosen) wurde zusammengefasst und im Verhältnis zur gesamten Blattfläche optisch bewertet. Zusätzlich wurde bei einigen Versuchen die

Zusammensetzung der Blattfläche mit Symptomen hinsichtlich des Stadiums der Symptomausprägung (Ölfleck, Chlorose bzw. Nekrose) in Prozentangaben festgehalten.

Bei mit Echtem Mehltau infizierten Pflanzen wurde täglich der Anteil der Blattfläche mit weißem Sporenrasen im Verhältnis zur gesamten Blattfläche geschätzt und als Prozentangabe für jede Versuchspflanze erfasst.

### **2.7.2 Erfassung im Freiland**

#### **Marhof**

In den Freilandversuchen zur Ausbreitung von *P. cubensis* in einem Freilandgurkenbestand wurde im Juli der Jahre 2002 und 2003 der Befall mit Falschem Mehltau an Einlegegurken wöchentlich bewertet. Der prozentuale Anteil chlorotischer und nekrotischer Blattfläche wurde im Verhältnis zur gesamten Blattfläche optisch abgeschätzt.

Im Jahr 2002 wurde in der Zeit vom 5.7. bis 25.7. jede zweite Pflanze in der ersten, vierten, siebten und zehnten Gurkenreihe zu Bonitierzwecken herangezogen. Insgesamt waren somit 72 Boniturstellen auf der 800 m<sup>2</sup> großen Versuchsfläche verteilt.

Im Jahr 2003 wurde der prozentuale Anteil der Blattfläche mit Symptomen vom Falschem Mehltau vom 3.7. bis 31.7. wöchentlich in jeder Gurkenreihe für jede zweite Pflanze geschätzt, wodurch sich insgesamt eine Anzahl von 200 Boniturstellen auf der 720 m<sup>2</sup> großen Versuchsfläche ergab.

#### **Poppelsdorf**

Der Einfluss verschiedener Gurkensorten sowie einer Fungizidbehandlung auf die Befallsstärke von *P. cubensis* und die Auswirkungen des Befalls auf pflanzenphysiologische Parameter wurden in zwei Freilandversuchen auf dem Standort Poppelsdorf erfasst.

Dazu wurde am 5.8.2003 sowie am 8.9.2004 jede Pflanze auf Falschen Mehltau bonitiert, indem der prozentuale Anteil der Blattfläche mit Symptomen von Falschem Mehltau im Verhältnis zur gesamten Blattfläche der Pflanze geschätzt wurde. Die Pflanzen befanden sich zu diesen Terminen im Entwicklungsstadium EC 72-74 (VOGEL *et al.* 1996).

## 2.8 Thermografische Messungen

### 2.8.1 Erstellung der Thermogramme

#### Laborversuche

Thermogramme von Laubblättern der Versuchspflanzen wurden mit der digitalen Thermokamera VARIOSCAN *high resolution* 3201 ST (Jenoptic Laser, Jena, D) angefertigt. Die Thermokamera erfasst die Wärmestrahlung in einem Wellenlängenbereich zwischen 8 und 12  $\mu\text{m}$  und besitzt eine geometrische Auflösung von 1,5 mrad bzw. ein thermisches Auflösungsvermögen von  $\pm 0,03$  K. Gekühlt wird die Thermokamera mit einem integrierten Stirling-Kühler. Für alle Aufnahmen wurde ein Standardobjektiv mit einem Objektfeld von  $30^\circ \times 20^\circ$  verwendet, welches eine minimale Objektentfernung von bis zu 0,2 m ermöglichte. Eine hohe Zahl von Bildpunkten (360 Pixel pro Zeile und 240 Zeilen pro Bild) erlaubte die Erstellung hoch auflösender Thermogramme mit 86.400 Einzelinformationen über die Temperaturverteilung pro Aufnahme. Mit Ausnahme der Untersuchungen zum Einfluss von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit auf die Blattemperatur und die Maximale Temperaturdifferenz, wurden die thermografischen Aufnahmen bei einer Lufttemperatur von  $23 \pm 6$  °C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von  $60 \pm 10$  % und einer photosynthetisch aktiven Strahlung von  $250 \pm 50$   $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in einer Messkabine erstellt. Durch die geschlossene Messkabine konnten Veränderungen der Umweltbedingungen sowie Windbewegungen während eines Versuchs so gering wie möglich gehalten werden, ließen sich aber nicht ganz ausschließen. Deswegen wurden die Wiederholungen einer Variante nicht hintereinander aufgenommen, sondern in alternierender Reihenfolge mit den Pflanzen der anderen Varianten, so dass eventuelle Veränderungen im Raumklima alle Varianten in gleichem Ausmaße beeinflussten.

Durch eine gezielte Steuerung des Klimas in der Messkabine wurden die Auswirkungen von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit auf die Blattemperatur und die Maximale Temperaturdifferenz innerhalb eines Laubblatts untersucht. In der Messkabine wurden Lufttemperaturen von 16 °C, 21 °C und 26 °C eingestellt, kombiniert mit relativen Luftfeuchtigkeiten von 60 %, 80 % bzw. 90 %.

Die Pflanzen wurden mindestens eine Stunde bevor die Messungen durchgeführt wurden in der Messkabine aufgestellt, damit sie sich an die Umweltbedingungen in der Messkabine anpassen konnten.

Zum Erstellen eines Thermogramms wurde die Pflanze auf einer schiefen Ebene aufgestellt und entsprechend justiert, damit das aufzunehmende Laubblatt frontal aufgenommen werden konnte. Die Thermokamera war in einem 50° Winkel auf dem Stativ befestigt und der Abstand zwischen Thermokamera und Objekt betrug 1,5 m. Die Pflanze wurde während der Aufnahme durch eine Pappe beschattet, um ein ungleichmäßiges Erwärmen des Laubblatts durch die Lampen in der Messkabine zu verhindern.

Je nach Versuchsfrage wurden täglich bzw. jeden zweiten oder dritten Tag Thermogramme der ersten Laubblätter von behandelten Pflanzen sowie von Kontrollpflanzen erstellt.

Der Einfluss des Blattalters auf die Blatttemperatur wurde an Gurkenpflanzen mit fünf vollentwickelten Laubblättern untersucht. Thermogramme der vier Wochen alten Gurkenpflanzen wurden angefertigt, indem die Versuchspflanze auf den Boden gestellt und aus zwei Meter Höhe die komplette Pflanze senkrecht aufgenommen wurde.

Bei allen Versuchen wurden Lichtbilder der Objekte unmittelbar nach den thermografischen Aufnahmen aus gleicher Entfernung und mit gleichem Aufnahmewinkel mit einer digitalen Kamera (JD 4100 Z3, Jenoptic, D) angefertigt.

### **Freiland**

In Poppelsdorf wurden am 5.8.2003 sowie am 8.9.2004 um die Mittagszeit von einer Plattform aus acht Meter Höhe mit der Thermokamera VARIOSCAN *high resolution* 3201 ST (s.o.) Thermogramme der einzelnen Parzellen erstellt. Es wurde versucht, pro Thermogramm eine Parzelle möglichst mit senkrecht gehaltener Kamera aufzunehmen. Da dies aus technischen Gründen nicht immer möglich war, kann sich der Aufnahmewinkel zwischen den einzelnen Thermogrammen geringfügig unterscheiden. Die thermografischen Messungen im Freiland wurden an Terminen durchgeführt, an denen die Pflanzen bereits abgetrocknet waren. Der Himmel war während der gesamten Messdauer unbedeckt, so dass sich die Sonneneinstrahlung im Verlauf der Messdauer (ca. 20 Minuten) nicht wesentlich veränderte. Auf diese Weise wurde sichergestellt, dass die Bestandestemperaturen der einzelnen Parzellen in gleichem Ausmaß von den Umweltbedingungen beeinflusst wurden, so dass die an einem Termin erstellten Thermogramme miteinander vergleichbar waren.

## **2.8.2 Bildanalytische Auswertung**

### **Laborversuche**

Nach der Aufnahme der Thermogramme erfolgte die Datenbearbeitung am PC mit der Software IRBIS Plus V 2.2 (Infratec, Dresden, D). Diese Software erlaubt eine nachträgliche Korrektur der Emission. Obwohl verschiedene Blattgewebe optisch sehr unterschiedliche Eigenschaften besitzen können, ist ihr Emissionsfaktor nach ACCETTA & SHUMAKER (1993) sehr ähnlich und bewegt sich zwischen 0,98 und 0,99. Bei gegebener Lufttemperatur würde dies zu Unterschieden in der absoluten Blatttemperatur von weniger als 0,05 K führen und wurde demnach vernachlässigt.

Um die Durchschnittstemperatur von Gurkenblättern oder von einzelnen Blattbereichen innerhalb eines Gurkenblatts zu erhalten, wurde in IRBIS Plus V 2.2 die Umriss des Gurkenblatts bzw. des entsprechenden Blattbereichs im Thermogramm nachgezeichnet, so dass jedes Laubblatt und jeder Blattbereich durch ein Polygon beschrieben werden konnte. Die Durchschnittstemperaturen für die entstandenen Polygone wurden durch IRBIS Plus V 2.2 automatisch berechnet. Waren Maximum- und Minimumtemperatur bzw. die Maximale Temperaturdifferenz innerhalb eines Laubblatts von Interesse, so wurde zusätzlich zur Durchschnittstemperatur eines Polygons dessen Maximum- und Minimumtemperatur angegeben und die Differenz zwischen den Temperaturextremen innerhalb eines Polygons als Maximale Temperaturdifferenz für jedes Laubblatt bestimmt. Für weitere Berechnungen wurden die Werte für Durchschnitts-, Maximum- und Minimumtemperatur sowie für die Maximale Temperaturdifferenz in die Software SPSS 11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) übertragen.

### **Freilandversuche**

Die vom Hubsteiger aus erstellten Thermogramme wurden anschließend am PC ausgewertet. Unter Benutzung der Software IRBIS Plus V 2.2 wurden in jedes Thermogramm vier Rechtecke gelegt, so dass jede Parzelle durch diese Rechtecke beschrieben wurde. Die vier Rechtecke wurden so angeordnet, dass möglichst die Bestandestemperatur der gesamten Parzelle erfasst, und die Hintergrundfläche minimiert wurde. Die Durchschnittstemperatur der Rechtecke wurde als Bestandestemperatur für die entsprechende Stelle festgehalten.

## 2.9 Gaswechselfmessungen

In welchem Ausmaß *P. cubensis* während der Pathogenese physiologische Parameter der Wirtspflanze beeinflusst und in welchem Zusammenhang diese mit der Blatttemperatur stehen sollte mit Hilfe von Gaswechselfmessungen an inokuliertem und nicht inokuliertem Gurkenblattgewebe untersucht werden.

### 2.9.1 Messapparatur

Die stomatäre Leitfähigkeit für Wasserdampf ( $G$  [ $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]) und der Gehalt an interzellulärem  $\text{CO}_2$  ( $c_i$  [ $\mu\text{mol CO}_2$ ]) unterschiedlicher Blattgewebe wurde mit einem tragbaren Porometer des Typs CIRAS-1 (PP System, Hitchin, UK) bestimmt. Durch die automatische Gasmischung des Porometers wurde sichergestellt, dass in der verwendeten Parkinson Blattkammer Typ PLC-B mit einer Messfläche von  $2,5 \text{ cm}^2$  (PP System, Hitchin, UK) die gewünschten  $\text{H}_2\text{O}$ - und  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen angeliefert wurden und somit die Messungen unter konstanten Bedingungen durchgeführt werden konnten. Unter Berücksichtigung der aktuellen Licht- und Temperaturverhältnisse sowie der angelieferten  $\text{H}_2\text{O}$ - und  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen wurde zusätzlich die Assimilations- ( $A$  [ $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]) und Transpirationsrate ( $E$  [ $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]) nach EBC (energy balance calculation) (PARKINSON 1983) berechnet.

### 2.9.2 Durchführung der Messungen

Während den Gaswechselfmessungen wurde eine Durchflussrate der Gase vom Porometer in die Blattkammer und wieder zurück zum Porometer von  $290 \text{ ml min}^{-1}$  eingestellt. Eine  $\text{CO}_2$ -Konzentration von 480 ppm in der Parkinson Blattkammer wurde mittels Sodakapseln (ISI, Wien, A) und fest eingebauten Soda-Kalk-Absorptionssäulen ( $> 75 \% \text{ Ca(OH)}_2$ ,  $< 3,5 \% \text{ NaOH}$ ) gewährleistet. Die Kaltlichtlampe KL 1500 electronic (Schott, Mainz, D) wurde an einem Stativ direkt über der Parkinson Blattkammer befestigt, so dass die Messungen bei  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  photosynthetisch aktiver Strahlung erfolgen konnten, ohne dass eine Erwärmung des Blattgewebes stattfand.

Kurz vor der Inokulation sowie vom ersten bis zum sechsten Tag nach der Inokulation der gesamten Blattfläche wurden täglich die stomatäre Leitfähigkeit für Wasserdampf und der Gehalt an interzellulärem  $\text{CO}_2$  an je zwei Stellen ( $2,5 \text{ cm}^2$ ) pro Blatt bestimmt und die Transpirations- und Assimilationsrate berechnet. Unmittelbar danach wurden unter gleichen Bedingungen Gaswechselfmessungen an Kontrollpflanzen gleichen Alters durchgeführt.

Am dritten, vierten und fünften Tag nach der Inokulation von Blättern, die nur auf einer Blatthälfte inokuliert worden waren, wurde die Transpirationsrate von nicht infiziertem und infiziertem Blattgewebe an je drei Stellen ( $2,5 \text{ cm}^2$ ) pro Blatthälfte bestimmt.

## 2.10 Mikroskopische Untersuchungen

Mikroskopische Untersuchungen zur pilzlichen Entwicklung sowie zum Einfluss von *P. cubensis* auf die Stomaöffnung wurden mit einem Leitz DMRB Fotomikroskop (Leica, Wetzlar, D), welches für die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen mit einem Filterblock A (BP 340-380 nm, LP 425 nm) ausgestattet war, mit 40facher und 100facher Vergrößerung durchgeführt. Mit einer digitalen Kamera (SONY, Tokio, J) wurden Bilder erstellt.

Die Öffnungsweite der Stomata wurde anschließend am PC mit der Software DISCUS Version 4.2 (Hilgers, Königswinter, D) analysiert. Hierzu wurde zum einen der maximale Abstand zweier benachbarter Schließzelle (Stomaapertur [ $\mu\text{m}$ ]) gemessen und zum anderen die Fläche der Spaltöffnungen (Stomaöffnung [ $\mu\text{m}^2$ ]) bestimmt, indem die Umrisse der Spaltöffnung in DISCUS nachgezeichnet und die Größe der umrandeten Fläche automatisch berechnet wurde.

### 2.10.1 Fixierung von biologischem Material

#### 2.10.1.1 Zoosporangiensuspension

Die frühen Entwicklungsstadien von *P. cubensis* wurden an einer Zoosporangiensuspension mit einer Dichte von  $5 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  untersucht. Je 50 ml der Zoosporangiensuspension wurden für drei Stunden bei  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $18 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  bzw.  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  Lufttemperatur aufgestellt, bevor die pilzliche Entwicklung durch Zugabe von 0,1 ml Fixierlösung (0,02 % Formaldehyd, 12 % Essigsäure, 50 % Methanol) gestoppt wurde. Tropfen der fixierten Zoosporangiensuspension wurden auf Objektträger appliziert und konnten ungefärbt unter dem Mikroskop ausgewertet werden. Ausgezählt wurde wie viel Prozent der Zoosporangien bereits die Zoosporen entlassen hatten.

#### 2.10.1.2 Totalpräparate

Encystierte Zoosporen, Myzelwachstum und Haustorienbildung von *P. cubensis* wurden an entfärbten Blattstückchen aufgenommen. Hierzu wurden in regelmäßigen Abständen bis 24 Stunden nach Applikation einer Zoosporangiensuspension ( $5 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ) auf Gurkenblattgewebe mit einem Korkbohrer Blattscheiben mit 8 mm Durchmesser ausgestanzt.

Die Blattproben wurden zum Fixieren und Entfärben in eine gesättigte Chloralhydratlösung mit 250 g Chloralhydrat auf 100 ml Aqua dest. überführt. Nach 48 Stunden bei Raumtemperatur war das Blattgewebe vollständig aufgehellt, und die unterschiedlichen Stadien des Erregers konnten unter dem Mikroskop beobachtet werden.

### **2.10.2 Einbettung**

Von nicht inokuliertem Blattgewebe und von Blattgewebe nach Applikation einer Zoosporangiensuspension ( $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ) wurden in regelmäßigen Abständen bis sieben Tage nach der Inokulation mit einer Rasierklinge Blattstückchen ( $1 \times 2 \text{ mm}^2$ ) genommen und nach KARNOVSKY (1965) fixiert. Hierzu wurden die Blattproben in einer Lösung aus 8 % Paraform- und Glutaraldehyd in 0,2 M Natriumcacodylat-Puffer (pH 7,2) für acht Stunden bei Raumtemperatur eingelegt. Das Eindringen der Fixierlösung in die Gewebeproben wurde beschleunigt, indem mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe ein Vakuum produziert und die Gewebestücke entlüftet wurden. Anschließend wurden die Proben dreimal zehn Minuten mit 0,1 M Natriumcacodylat-Puffer (pH 7,2) gewaschen und bei 4 °C für mehrere Tage mit Natriumcacodylat-Puffer (pH 7,2) inkubiert. Nach diesen Arbeitsschritten wurden die fixierten Gewebeproben in einer aufsteigenden Ethanol-Reihe von 30, 50, 70, 90, bis 99,8 % für jeweils 20 Minuten entwässert. Die Einbettung wurde in ERL-Harz (10 g ERL 4206 (Vinylcyclohexandioxid), 6 g D.E.R. (Diglycidylether von Polypropylenglycol), 26 g NSA (Nonenylsuccinatanhydrid), 0,4 g S-1 (Dimethylaminoethanol)) nach SPURR (1969) vorgenommen. Dazu wurden die Proben in eine aufsteigende ERL-Harz / Propylenoxid-Reihe (1:3 für 12 Stunden, 1:1 für 4 Stunden, 1:1 für 4 Stunden) bei 4 °C überführt. Die darauffolgende Polymerisation in 100 %igen ERL-Harz in Flachbettschalen erfolgte bei 70 °C für acht Stunden. Zur Anfertigung von Semidünnschnitten mit einer Dicke von 0,5 bis 1,0  $\mu\text{m}$  wurden die eingebetteten Proben nach der Polymerisation mit einem Diamantmesser auf einem Reichert Ultracut E Ultramikrotom (Leica Mikrosystem Nussloch GmbH, Nussloch, D) geschnitten. Sechs bis acht Schnitte einer Gewebeprobe wurden jeweils auf Glasobjektträger in einen Tropfen Aqua dest. übertragen und auf einer Wärmebank bei 70 bis 80 °C abgetrocknet.

### **2.10.3 Färbung**

Durch die Beschichtung eines Tropfens fixierter Zoosporangiensuspension auf dem Objektträger mit einem Tropfen 0,05 %igem Diethanol ließen sich Zoosporangienträger und Zoosporangien blau anfärben.



Die Semidünnschnitte wurden mit 0,1 %igem Toluidinblau eingefärbt. Anschließendes Eintauchen des Objektträgers in Xylol führte zu einer Klärung bzw. Aufhellung der Schnitte. Ein luftdichter Einschluss der Schnitte wurde durch Auflage eines Deckglases mit einem Tropfen Entellan erzielt.

#### **2.10.4 Epidermisabzüge**

Nachdem Gurkenpflanzen zwei Stunden Dunkelheit bzw. einer Lichtstärke von  $> 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ausgesetzt waren, wurde vom zweiten bis zum sechsten Tag nach der Inokulation täglich eine Blattfläche von ca.  $4 \text{ cm}^2$  von inokulierten Gurkenblättern zu unterschiedlichen Krankheitsstadien (Chlorose, Nekrose) sowie von nicht inokulierten Blättern blattunterseits mit durchsichtigem Nagellack bestrichen. Nachdem der Nagellack getrocknet war, konnte mit einem durchsichtigen Tesafilm<sup>®</sup> vorsichtig die Epidermis abgezogen und auf Objektträger überführt und unter dem Mikroskop ausgewertet werden.

### **2.11 Untersuchungen zur Zellmembranstabilität**

#### **2.11.1 Messung des Elektrolytverlusts**

Am fünften Tag nach der Inokulation wurde der Elektrolytverlust von nicht inokuliertem Gurkenblattgewebe sowie von mit *P. cubensis* infiziertem Blattgewebe bestimmt. Der Einfluss des Krankheitsstadiums auf die infizierten Zellen wurde berücksichtigt, indem zusätzlich der Elektrolytverlust von Blattgewebe mit unterschiedlich weit entwickelten Symptomen gemessen wurde (direkt um Chlorosen, von Chlorosen). Die Messung erfolgte nach einer von PROHENS *et al.* (2004) beschriebenen Methode, musste aber für Gurkenblattgewebe etwas abgewandelt werden. Pro Gurkenblatt wurden acht Blattscheiben mit einem Korkbohrer ( $\text{Ø } 22 \text{ mm}$ ) ausgestanzt und dreimal mit Aqua dest. gewaschen, um Unreinheiten sowie Elektrolyte aus angeschnittenen Zellen zu entfernen. Die Blattscheiben wurden für drei Stunden bei  $25 \text{ °C}$  in  $100 \text{ ml } 0,4 \text{ M}$  Mannitollösung aufgestellt. Anschließend wurde mit einem Mikroprozessor-Präzisions-Konduktometer des Typs LF 539 (WTW, Weilheim, D), ausgestattet mit einer Standard-Leitfähigkeitsmesszelle Tetra Con 96 (WTW, Weilheim, D), die elektrische Leitfähigkeit (EL [ $\mu\text{S cm}^{-1}$ ]) der Lösung bestimmt. Als Blindwert wurde die elektrische Leitfähigkeit einer reinen  $0,4 \text{ M}$  Mannitollösung gemessen. Die Differenz zwischen elektrischer Leitfähigkeit der  $0,4 \text{ M}$  Mannitollösung mit Blattstückchen zum Blindwert gibt an, wie viele Elektrolyte aus dem Blattgewebe durch die Zellmembran in drei Stunden diffundieren konnten ( $\text{EL}_1$ ).

Im Anschluss an die erste Leitfähigkeitsmessung wurden die Proben in der Mannitollösung 21 Minuten bei 121 °C autoklaviert, um die Zellen vollständig zu zerstören. Nachdem die Mannitollösung wieder auf 25 °C abgekühlt war, wurde erneut die elektrische Leitfähigkeit der Mannitollösung mit Blattgewebe sowie der Blindlösung gemessen. Die Differenz der zweiten Leitfähigkeitsmessung zum Blindwert ergibt, wie viele Elektrolyte sich insgesamt im Blattgewebe befanden (EL<sub>2</sub>). Das Verhältnis EL<sub>1</sub> zu EL<sub>2</sub> gibt den Elektrolytverlust in Prozent an.

### 2.11.2 Bestimmung der Schädigung von Zellmembranen

Nach PREMACHANDRA & SHIMADA (1987) kann aus den gemessenen Werten für den Elektrolytverlust von gesundem und behandeltem Blattgewebe vor und nach dem Autoklavieren der Grad der Zellmembranschädigung in Prozent nach folgender Formel berechnet werden:

$$\text{M.S.} = [1 - (1 - B_1 / B_2) / (1 - K_1 / K_2)] \times 100$$

mit

M.S. = Membranschäden (%)

B<sub>1</sub> = Elektrolytverlust der behandelten Gewebeprouben vor dem Autoklavieren

B<sub>2</sub> = Elektrolytverlust der behandelten Gewebeprouben nach dem Autoklavieren

K<sub>1</sub> = Elektrolytverlust der nicht behandelten Gewebeprouben vor dem Autoklavieren

K<sub>2</sub> = Elektrolytverlust der nicht behandelten Gewebeprouben nach dem Autoklavieren

### 2.11.3 Bestimmung des Wassergehalts von Blattgewebe

Kurz vor der Inokulation bis zum siebten Tag nach der Inokulation mit *P. cubensis* wurden täglich Blattscheiben einer Fläche von 3,2 cm<sup>2</sup> mit einem Korkbohrer von inokulierten Blättern genommen. Unmittelbar nach der Probenahme wurde das Frischgewicht der Blattscheiben mit Hilfe einer Laborwaage bestimmt. Anschließend wurden die Blattscheiben für 24 Stunden in einem Trockenschrank bei 110 °C getrocknet, bevor durch Rückwiegen das Trockengewicht bestimmt wurde. Aus der Differenz zwischen Frischgewicht und Trockengewicht wurde der Wassergehalt der Blattscheiben vor dem Trocknen berechnet. Auf die gleiche Weise wurde mit Blattscheiben von nicht inokulierten Gurkenblättern vorgegangen.

## 2.12 Freilandversuche an Einlegegurken

In Freilandversuchen wurden zum einen Untersuchungen zum Epidemieverlauf von *P. cubensis* in Abhängigkeit des Mikroklimas in einem praxisüblich geführten Gurkenbestand durchgeführt und zum anderen die Eignung der Thermografie für Boniturzwecke unter Freilandbedingungen getestet.

### 2.12.1 Marhof

In der Vegetationsperiode 2002 und 2003 wurden auf dem Versuchsgut Marhof zwei Feldversuche durchgeführt, bei denen in einem betriebsüblich geführten Gurkenbestand auf das Auftreten und die Ausbreitung von Falschem Mehltau an der anfälligen Sorte ‘Vorgebirgstraube‘ bonitiert wurde. Zusätzlich wurde das Mikroklima möglichst kleinräumig erfasst, um die Abhängigkeit zwischen Bestandesklima und der Krankheitsentwicklung von *P. cubensis* zu beschreiben.

#### 2.12.1.1 Versuchsanlage

Um Unkräuter zu unterdrücken und eine höhere Bodentemperatur zu erzielen, erfolgte der Anbau der Gurkensorte ‘Vorgebirgstraube‘ in beiden Jahren auf Folie. Die Aussaat wurde als Horstsaat in Kreuzschlitze mit Abständen in der Reihe von 1 m durchgeführt. Der Abstand der Gurkenreihen betrug 1,7 m. Bei einer Saattiefe von 3 cm wurden drei bis vier Gurkensamen pro Kreuzschlitz manuell im Boden abgelegt. Die Aussaat fand am 3.6.2002 bzw. am 5.6.2003 statt. Nach zwei Wochen wurden die aufgelaufenen Gurkenpflanzen im Entwicklungsstadium EC 15-19 vereinzelt. Durch eine Tröpfchenbewässerung wurden die Pflanzen täglich mit Wasser und Nährlösung optimal versorgt.

Im Jahr 2002 wurden auf einer 38 m langen und 20 m breiten Fläche zehn Gurkenreihen mit jeweils 36 Pflanzen angelegt. Auf der Versuchsfläche wurden insgesamt sechs Wetterstationen des Typs HP – 100 (Lufft, Fellbach, D) im Bestand verteilt (zwischen Reihe drei und vier sowie zwischen Reihe sieben und acht im Abstand von 10 m). Die Wetterstationen waren insgesamt mit elf Sensoren zur Erfassung der Lufttemperatur sowie zehn Sensoren zur Erfassung der Blattnässe ausgestattet, die in gleichmäßigen Abständen um die Wetterstationen in einer Höhe von 40 cm im Versuchsfeld aufgebaut wurden.

Der Freilandversuch im Jahr 2003 wurde mit zehn Gurkenreihen zu jeweils 40 Pflanzen auf einer Fläche von 40 m x 18 m angelegt. Die sechs Wetterstationen wurden zwischen Reihe drei und vier sowie zwischen Reihe sieben und acht im Abstand von 10 m aufgestellt. Die

Sensoren wurden gleichmäßig im Bestand verteilt (s.o.), so dass Lufttemperatur und Blattnässedauer möglichst kleinräumig aufgezeichnet werden konnten.

### **2.12.1.2 Versuchsdurchführung**

Vom 12.7. bis 25.7.2002 wurden Lufttemperatur und Blattnässe im Bestand stündlich erfasst und von einem Datalogger in der Wetterstation aufgezeichnet. Zusätzlich wurden wöchentlich Befallserhebungen durchgeführt.

In der Vegetationsperiode 2003 wurden vom 1.7. bis 31.7. ebenfalls stündlich Lufttemperatur und Blattnässe gemessen und der Pathogenbefall ab dem 3.7. wöchentlich durch optische Bonituren festgehalten.

### **2.12.1.3 Versuchsauswertung**

In beiden Versuchsjahren wurden nach Beendigung der Freilandversuche die Datalogger der Wetterstationen am PC ausgelesen und die Werte für Lufttemperatur und Blattnässedauer in MS-Excel-Tabellen übertragen. Aus den aufgezeichneten Werten zum Bestandesklima wurden mit Hilfe der Software ArcView GIS 3.2 (ESRI, Redlands, USA) Karten zur räumlichen Verteilung der Durchschnittstemperatur sowie zur Verteilung der Blattnässedauer im Bestand während des Versuchszeitraums erstellt. Durch die Verknüpfung der Werte für Lufttemperatur und Blattnässedauer wurde zusätzlich eine Karte angefertigt, aus der die Anzahl der Stunden mit hoher Infektionswahrscheinlichkeit für die einzelnen Teilbereiche ersichtlich wurde. Als Stunden mit hoher Infektionswahrscheinlichkeit wurden die Stunden gewertet, bei denen Blattnässe durch die Sensoren eindeutig detektiert und zusätzlich eine Bestandestemperatur über 15 °C gemessen wurde (BEDLAN 1987).

Im Weiteren wurde aus den wöchentlichen Boniturdaten über den Pathogenbefall zu jedem Boniturtermin eine Karte der räumlichen Verteilung der Befallsstärke erstellt. Die Differenz der Befallsstärken zwischen erstem und letztem Boniturtermin für jede Boniturstelle wurde als Zuwachs befallener Blattfläche in Prozent berechnet. Die Verteilung des Zuwachses an befallener Blattfläche wurde ebenfalls in einer Karte dargestellt.

## **2.12.2 Poppelsdorf**

In den Jahren 2003 und 2004 wurden auf den Versuchsfeldern in Poppelsdorf Feldversuche angelegt, um die Eignung der Thermografie zur Erfassung von Pathogenbefall im Freiland zu überprüfen. Der Zusammenhang zwischen Befallsstärke und Bestandestemperatur sollte an

unterschiedlichen Einlegegurkensorten sowie unter Applikation eines Pflanzenschutzmittels untersucht werden.

### 2.12.2.1 Versuchsanlage

Beide Versuche waren als Blockanlage mit vierfacher Wiederholung und vier Varianten konzipiert. In den 12 m<sup>2</sup> großen Parzellen (3 m x 4 m) wurden je drei Reihen à sechs Pflanzen, mit einem Pflanzabstand von 0,5 m in der Reihe und 1 m zwischen den Reihen angelegt. Um an den einzelnen Messterminen unterschiedliche Befallstärken für die thermografischen Messungen sicherzustellen, wurden folgende Varianten gewählt:

1. anfällige Sorte 'Vorgebirgstraube'
2. widerstandsfähige Sorte 'Jazzer F1'
3. 2003: tolerante Sorte 'Pasalimo F1'  
2004: resistente Sorte 'Octopus F1'
4. anfällige Sorte 'Vorgebirgstraube' behandelt mit Fosetyl-Al

Im Jahr 2003 erfolgte die Aussaat der verschiedenen Gurkensorten als Horstsaat. Diesbezüglich wurden drei bis vier Samen pro Pflanzstelle 3 cm tief im Boden manuell abgelegt. Nach der Aussaat am 18.6.2003 wurden die aufgelaufenen Gurkenpflanzen im Entwicklungsstadium EC 15-19 am 1.7.2003 vereinzelt.

Im Jahr 2004 wurden Gurkenpflanzen unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus für eine Woche vorgezogen, bevor sie dann zur Abhärtung weitere zehn Tage im Freien unter Glas gehalten wurden. Täglich wurden die Pflanzen mit einer Brause gewässert, um optimale Wasserversorgung sicherzustellen und einen Schutz gegenüber Echtem Gurkenmehltau zu gewähren. Am 28.7.2004 wurden die Jungpflanzen im Entwicklungsstadium EC 21 in die Versuchspartellen gepflanzt.

Der Anbau fand in beiden Jahren ohne Folie statt. Unkräuter wurden regelmäßig manuell beseitigt. Eine Tröpfchenbewässerung gewährleistete, dass die Gurkenpflanzen optimal mit Wasser versorgt wurden. Eine Düngung war nicht nötig, da der Boden des Versuchsfelds Bonn-Poppelsdorf sehr nährstoffreich ist.

### 2.12.2.2 Versuchsdurchführung

In den Jahren 2003 und 2004 wurde das Fungizid Aliette® in der Variante „anfällige Sorte 'Vorgebirgstraube' mit Fosetyl-Al“ dreimal im Abstand von zehn Tagen während des

Versuchszeitraums ausgebracht. Die erste Anwendung erfolgte im Entwicklungsstadium EC 23.

Aufgrund starken Blattlausbefalls wurde einmalig am 15.7.2003 zusätzlich das Insektizid Confidor<sup>®</sup> im Entwicklungsstadium EC 22 in allen Varianten appliziert.

Am 5.8.2003 sowie am 8.9.2004 wurden Thermogramme aller Parzellen erstellt und der Pathogenbefall für jede Pflanze optisch bewertet. Im Weiteren wurde an diesen Terminen der SPAD-Wert (= Soil Plant Analysis Development) 20 repräsentativer Gurkenblätter pro Parzelle mit einem Chlorophyllmeter (SPAD – 502, Minolta, Osaka, J) erfasst. Der SPAD-Wert ist positiv linear mit dem Chlorophyllgehalt der Blätter korreliert (KAPOTIS *et al.* 2003).

### **2.12.2.3 Versuchsauswertung**

Die Daten für Befallsstärke, Bestandestemperatur sowie SPAD-Werte wurden in MS-Excel-Tabellen übertragen und mit Hilfe der Software ArcView GIS 3.2 Karten zur Verteilung der Befallsstärke, der Bestandestemperatur und der SPAD-Werte angefertigt.

### **2.13 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software SPSS 11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). Daten wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf Normalverteilung und mit dem Levene-Test auf Varianzgleichheit überprüft. Anschließend wurden die Messwerte durch einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) verrechnet. Unterschiede zwischen zwei Mittelwerten wurden mit dem t-Test nach Student, bei mehr als zwei Varianten mit dem Tukey-Test bestimmt. Es wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p \leq 0,05$  angenommen. Unterschiedliche Buchstaben sowie „\*“ in den Abbildungen und Tabellen kennzeichnen signifikante Unterschiede der Mittelwerte.

Die Korrelation zweier Datenserien erfolgte mit dem Pearson-Koeffizient (r). Es wurde ein Test auf zweiseitige Signifikanz bei einem Signifikanzniveau von 0,05 bzw. 0,01 vorgenommen.

Alle Laborversuche wurden mindestens zweimal durchgeführt. In der Arbeit sind Ergebnisse einzelner, repräsentativer Versuche dargestellt.

### 3 ERGEBNISSE

Der Erreger des Falschen Gurkenmehltaus, *Pseudoperonospora cubensis*, kann sich in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen in einem Gurkenbestand epidemieartig ausbreiten und starke Ertragsverluste hervorrufen. Eine zeitliche Präzisierung der Pflanzenschutzmaßnahmen auf Basis von Prognosemodellen, die pathogeneserelevante Parameter berücksichtigen, wird vielerorts vollzogen. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss des Mikroklimas auf die räumliche Ausbreitung des Falschen Gurkenmehltaus untersucht, indem zusätzlich zum Epidemieverlauf das Bestandesmikroklima kleinräumig erfasst wurde. Unter kontrollierten Bedingungen wurde im Vorfeld eine Reihe von Inokulationsexperimenten an Gurkenpflanzen durchgeführt, um die Auswirkungen der Umweltbedingungen auf den Befallsverlauf von *P. cubensis* zu bestimmen. Im Weiteren wurde der Einfluss des Pathogenbefalls auf die Wirtspflanze bewertet und die Möglichkeit einer Visualisierung der Krankheitsentwicklung von Falschem Gurkenmehltau mittels Thermografie überprüft. Die Untersuchungen wurden sowohl unter kontrollierten Bedingungen als auch im Freiland durchgeführt.

#### 3.1 Krankheitsverlauf durch *Pseudoperonospora cubensis*

Zur Charakterisierung des Krankheitsverlaufs durch *P. cubensis* wurden die verschiedenen Entwicklungsstadien des Erregers mikroskopisch erfasst und Untersuchungen zur Abhängigkeit der Krankheitsentwicklung von Umweltbedingungen sowie zum Einfluss von *P. cubensis* auf den Gaswechsel der Wirtspflanze im Verlauf der Pathogenese durchgeführt. Zusätzlich wurde der Epidemieverlauf des Falschen Gurkenmehltaus im Freiland dargestellt und dem Bestandesklima gegenübergestellt.

##### 3.1.1 Pathogenese unter kontrollierten Bedingungen

###### 3.1.1.1 Untersuchungen zur Morphologie

Die Sporangien des Erregers des Falschen Gurkenmehltaus besitzen eine zitronenförmige Gestalt und messen zwischen 15 und 25 µm in der Breite und 20 bis 35 µm in der Länge. Sie haben eine bräunliche Farbe und sind von einer stabilen Hülle umgeben. Das Innere der Sporangien wirkt im unreifen Stadium unstrukturiert. Am spitzen Ende des Sporangiums ist deutlich eine Papille zu erkennen (Abb. 1B und 1C). Bei Kontakt mit tropfbarem Wasser, bilden sich nach wenigen Minuten einzelne kugelförmige Kompartimente im Inneren der Sporangien aus.

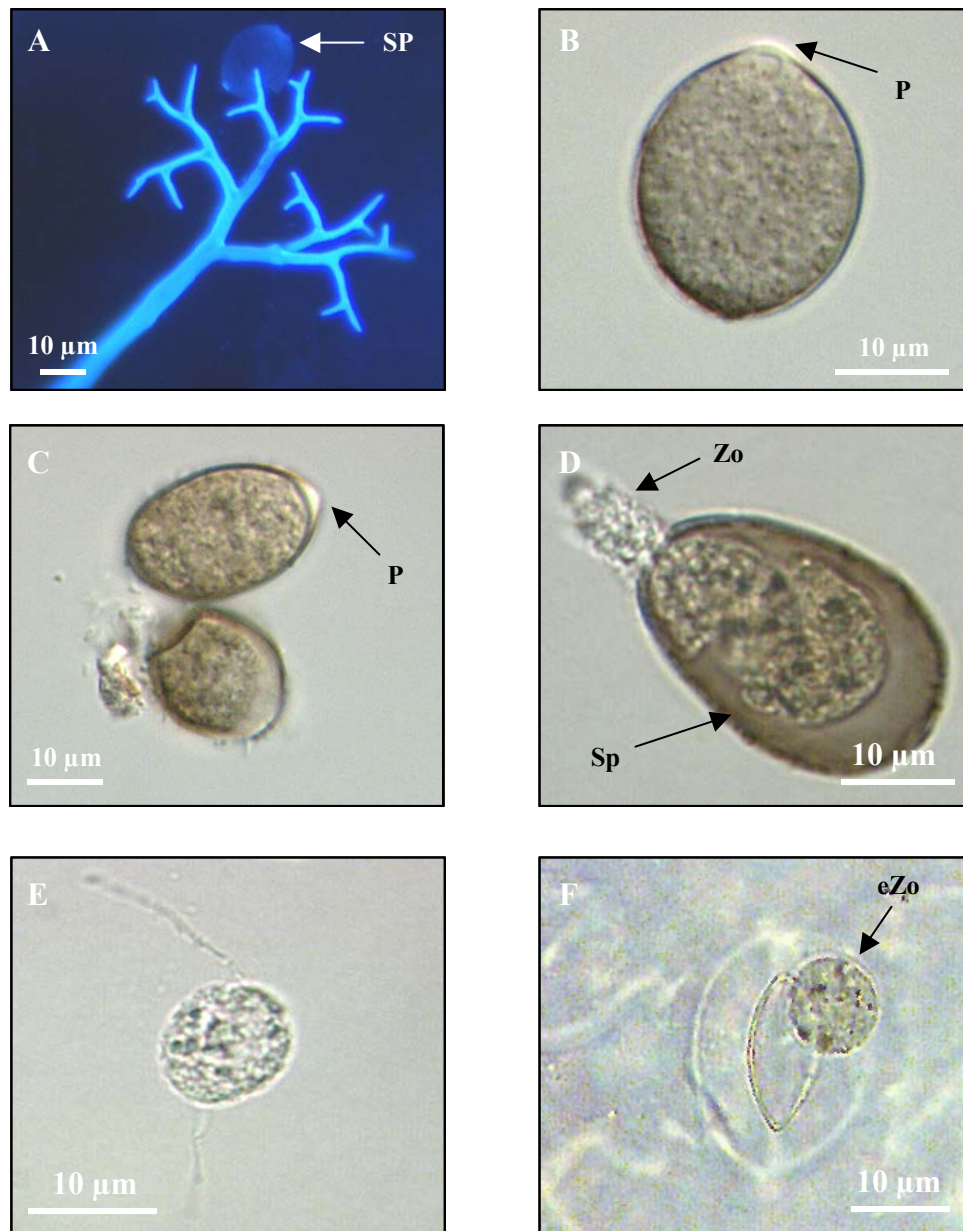


Abb. 1: Unterschiedliche Entwicklungsstadien von *Pseudoperonospora cubensis* nach dreistündiger Entwicklung einer Zoosporangiensuspension in Leitungswasser (A–E) bzw. zwei Stunden nach Applikation einer Zoosporangiensuspension auf einem Gurkenblatt (F):

A: Sporangienträger mit Sporangium (Sp); Fluoreszenzmikroskopie, Diethanol-Färbung

B: unreifes Sporangium mit Papille (P); Durchlichtmikroskopie

C: unreifes Sporangium mit Papille (P) und Sporangium mit aufgeplatzter Sporangienhülle; Durchlichtmikroskopie

D: keimendes Sporangium (Sp) entlässt Zoospore (Zo); Durchlichtmikroskopie

E: zweigeißelige Zoospore; Durchlichtmikroskopie

F: auf Stoma encystierte Zoospore (eZo); Durchlichtmikroskopie

(A–E:  $5 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ;  $23 \text{ }^\circ\text{C}$ ; F:  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ;  $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ )



Sind die Sporangien reif, platzt die Sporangienhülle an der Papille auf und entlässt mehrere Zoosporen (Abb. 1C und 1D). Pro Sporangium schlüpfen vier bis zehn zweigeißelige, farblose Zoosporen ohne feste Hülle. Die kugeligen Zoosporen haben einen Durchmesser von 8 bis 12  $\mu\text{m}$  und können sich durch schnelles Bewegen ihrer fadenförmigen,  $15 \pm 3 \mu\text{m}$  langen Geißel aktiv in einem Wasserfilm fortbewegen (Abb. 1E). Erreichen die Zoosporen eine Spaltöffnung, encystieren sie direkt auf bzw. in unmittelbarer Nähe, indem eine dünne Hülle ausgebildet wird und die Geißel eingezogen werden (Abb. 1F). Pro Stoma encystiert jeweils nur eine Zoospore. Die encystierte Zoospore keimt und dringt mit einem ungekammerten Keimschlauch in die Atemhöhle unter der Spaltöffnung ein (Abb. 2A).

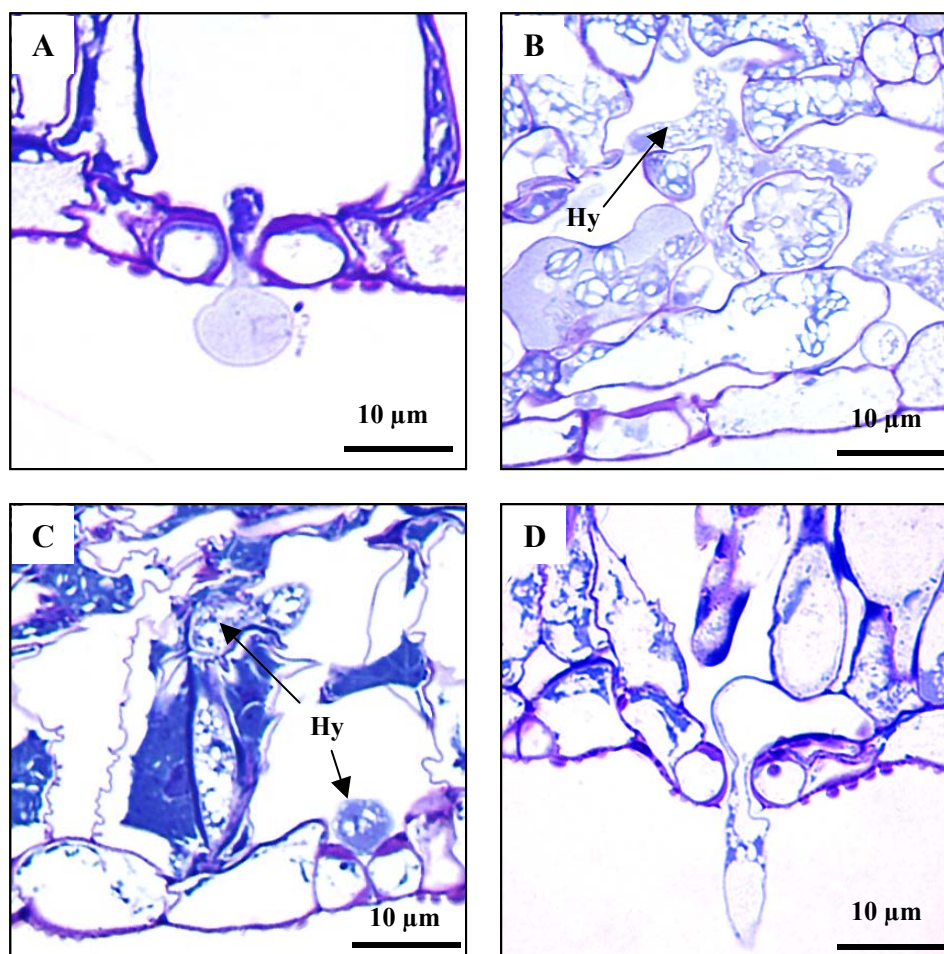


Abb. 2: Entwicklungsstadien von *Pseudoperonospora cubensis* im Gurkenblattgewebe 1,5, 48, 72 bzw. 96 Stunden nach Applikation einer Zoosporangiensuspension:  
 A: Eindringen der keimenden Zoospore in die Atemhöhle unter dem Stoma nach 90 Minuten  
 B: Ausbreitung der interzellulären Hyphen (Hy) nach 48 Stunden  
 C: Ausbreitung der interzellulären Hyphen (Hy) nach 72 Stunden  
 D: Ausbildung eines Sporangienträgers nach 96 Stunden  
 ( $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ;  $22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ; Durchlichtmikroskopie, Toluidinblau-Färbung)

Zur flächigen Ausbreitung im Wirtsgewebe bildet der Erreger ein unseptiertes, hyalines Myzel mit einem Durchmesser von durchschnittlich 5  $\mu\text{m}$  aus (Abb. 2B und 2C). Der Erreger besiedelt vorerst ausschließlich die Zwischenräume des Schwammparenchyms. Mit fortschreitendem Wachstum und zunehmender Zerstörung des Wirtsgewebes werden aber auch Teile des Palisadenparenchyms parasitiert. Zur Nahrungsaufnahme werden Haustorien ausgehend vom interzellulären Myzel in die Wirtszellen eingesenkt. Vor der Penetration bildet die Hyphe hierfür an der Kontaktstelle mit der Zellwand eine stempelförmige Verdickung aus und es kommt zu einer Anreicherung von Fetttröpfchen im Hyphenende (Abb. 3A und 3B). Die intrazellulär gebildeten Haustorien sind baumartig verzweigt und weisen eine Ausdehnung von bis zu 15  $\mu\text{m}$  auf (Abb. 3C und 3D). In einer Zelle konnten bis zu vier Haustorien nachgewiesen werden.

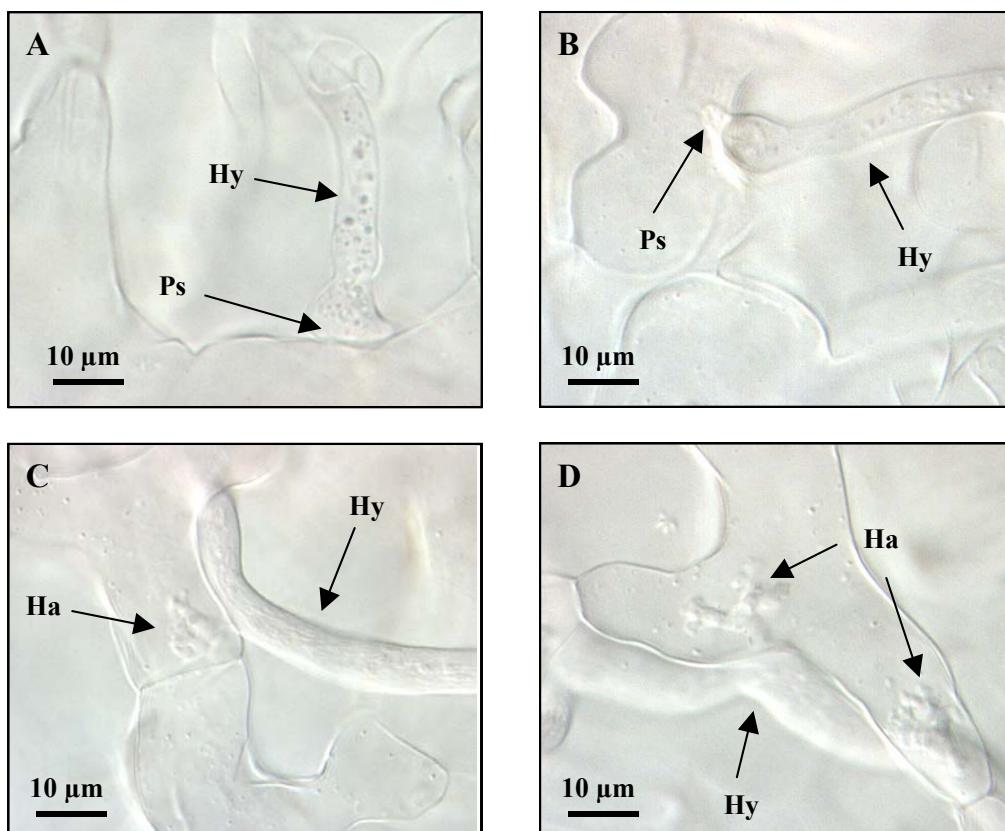


Abb. 3: Besiedlung des Wirtsgewebes durch *Pseudoperonospora cubensis* 24 Stunden nach Applikation einer Zoosporangiensuspension auf Gurkenblättern:

A, B: interzelluläre Hyphe (Hy) mit verdicktem Hyphenende an der Penetrationsstelle (Ps)

C, D: interzelluläre Hyphe (Hy) mit intrazellulär gebildetem Haustorium (Ha)  
( $5 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ;  $22 \pm 5$  °C; Durchlichtmikroskopie)

Nach sechs Stunden absoluter Dunkelheit und bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von mindestens 95 % wird der Erreger zur Sporulation angeregt (Abb. 2D). Die Bildung der Sporangienträger findet hauptsächlich blattunterseits statt, aber auch auf der Blattoberseite konnten Sporangienträger nachgewiesen werden. Bis zu acht Sporangienträger können aus einer Spaltöffnung hervortreten. Die Sporangienträger haben eine Länge von 100 bis 300  $\mu\text{m}$ , einen Durchmesser von 5 bis 8  $\mu\text{m}$  und sind im oberen Drittel mehrfach verzweigt (Abb. 1A). Endständig bilden die Sporangienträger einzeln stehende Sporangien aus.

### 3.1.1.2 Einfluss der Inokulumdichte

Der Einfluss der Inokulumkonzentration auf die Krankheitsentwicklung von *P. cubensis* wurde an Gurkenblättern beobachtet, die gleichmäßig mit 2 ml Zoosporangiensuspension unterschiedlicher Zoosporangiedichten ( $2,5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$  bzw.  $1 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ) sprüheinokuliert worden waren, bevor sie unter optimalen Bedingungen inkubiert wurden. Anschließend wurde bis zum elften Tag nach der Inokulation in regelmäßigen Abständen der prozentuale Anteil befallener Blattfläche ermittelt.

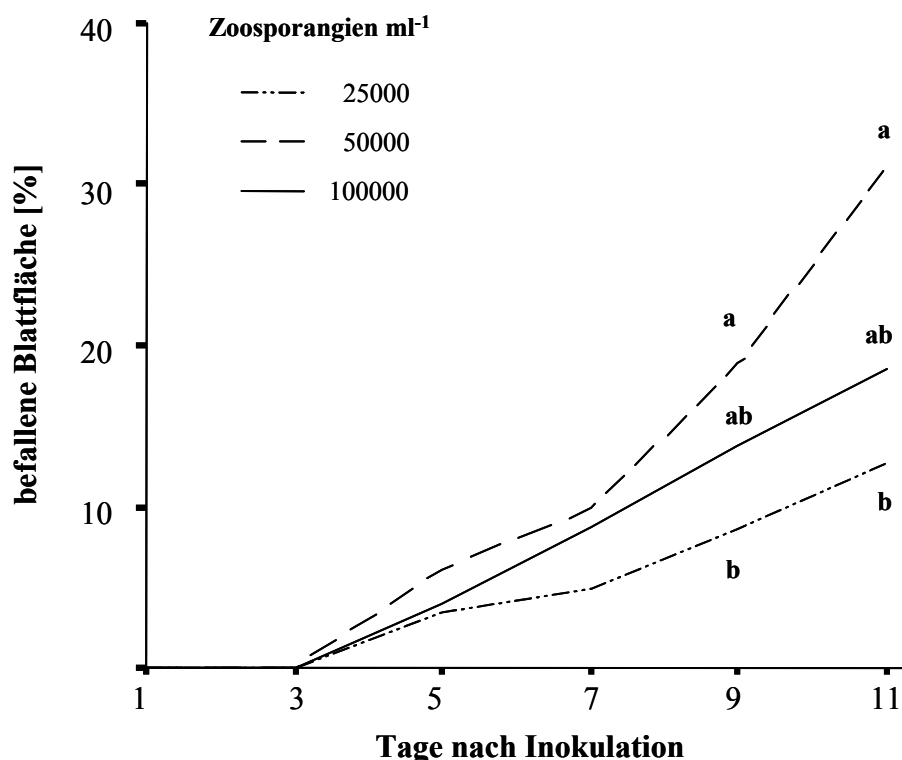


Abb. 4: Einfluss der Inokulumdichte von *Pseudoperonospora cubensis* auf die Entwicklung von Falschem Mehltau an Gurkenblättern bei  $22 \pm 5$  °C ( $n = 6$ ; unterschiedliche Buchstaben zu einem Boniturtermin kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

Wie in Abbildung 4 zu erkennen ist, traten bei allen drei Inokulumdichten die ersten Symptome fünf Tage nach der Inokulation auf. Bis zum siebten Tag nach der Inokulation unterschieden sich die Laubblätter der drei Varianten hinsichtlich der befallenen Blattfläche nicht voneinander; im Durchschnitt zeigten 8 % der Blattfläche Symptome des Falschen Mehltaus. Am neunten Tag nach der Inokulation waren die Blätter, die mit  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  inokuliert worden waren doppelt so stark befallen (19 %) wie die Blätter, die mit einer halb so stark konzentrierten Zoosporangiensuspension inokuliert wurden (9 %). Die Blätter, die mit der höchsten Zoosporangiedichte inokuliert worden waren, nahmen mit 14 % befallener Blattfläche eine Mittelstellung ein.

In den folgenden Tagen breiteten sich die Symptome in allen Varianten weiter aus. Am elften Tag nach der Inokulation zeigte ein Drittel der Blattfläche der Blätter, die mit  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  inokulierten worden waren, Symptome des Falschen Mehltaus. Die mit der niedrigsten Sporangiedichte inokulierten Blätter waren immer noch deutlich weniger befallen (13 %). Auf den Blättern, die mit  $1 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  inokuliert worden waren, traten auf 18 % der Blattfläche Symptome auf.

### 3.1.1.3 Einfluss der Lufttemperatur auf den Zoosporenschlupf

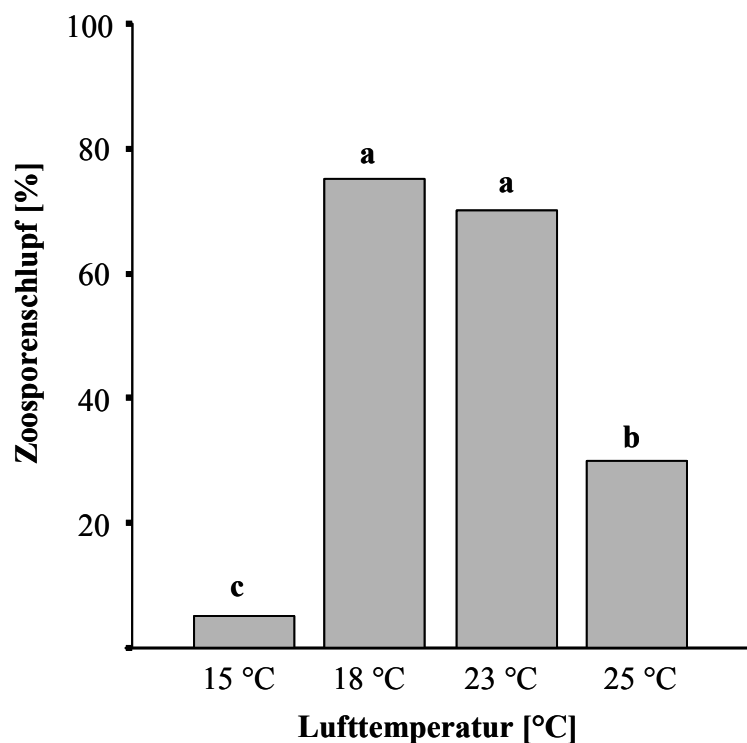


Abb. 5: Zoosporenschlupf von *Pseudoperonospora cubensis* nach dreistündiger Entwicklung in Leitungswasser in Abhängigkeit der Lufttemperatur ( $n = 3 \times 50$  Zoosporangien; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

Der Einfluss der Lufttemperatur auf den Zoosporenschlupf wurde *in vitro* untersucht, indem Zoosporangiensuspensionen gleicher Dichte ( $5 \times 10^5$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ) bei vier unterschiedlichen Lufttemperaturen (15, 18, 23 bzw. 25 °C) aufgestellt wurden. Nach drei Stunden wurde die Entwicklung des Erregers durch Zugabe einer Fixierlösung gestoppt und bewertet. Bei 18 °C und 23 °C hatte bei über 70 % der Zoosporangien bereits der Zoosporenschlupf stattgefunden. Dagegen waren bei 15 °C in über 95 % der Zoosporangien noch Zoosporen nachzuweisen. In der Zoosporangiensuspension, die bei 25 °C aufgestellt worden war, waren die Zoosporen aus 30 % der Zoosporangien geschlüpft (Abb. 5).

#### 3.1.1.4 Einfluss der Umweltbedingungen direkt nach der Inokulation

Zur Beschreibung der Abhängigkeit des Befallsverlaufs von den Umweltbedingungen direkt nach der Inokulation wurden Gurkenblätter mit 2 ml Zoosporangiensuspension ( $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ) inokuliert und zum einen bei einer Lufttemperatur von 20 °C für 40, 80, 120, 180 bzw. 240 Minuten einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % ausgesetzt und zum anderen während einer Blattnässedauer von vier Stunden bei Lufttemperaturen von 18 °C, 25 °C bzw. 32 °C aufgestellt. Anschließend wurden die Pflanzen unter einheitlichen Umweltbedingungen im Gewächshaus weiter kultiviert und die Befallsstärke vom ersten bis neunten Tag nach der Inokulation regelmäßig bonitiert. Folgende Abhängigkeit des Infektionserfolgs von den Umweltbedingungen konnte nachgewiesen werden:

Unterschiedliche **Blattnässedauern** zeigten ab dem fünften Tag nach der Inokulation einen Einfluss auf den Befallsgrad. Auf allen Blättern hatten sich Symptome entwickelt, allerdings unterschieden sich die Blätter hinsichtlich der Befallsstärke. Die Blätter, die nach der Inokulation für mindestens 180 Minuten bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % inkubiert worden waren, waren mit 50 bis 60 % am stärksten befallen. 20 % befallene Blattfläche hatten die Blätter, die 120 Minuten bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % gehalten worden waren. Am wenigsten Symptome wiesen die Blätter auf, die für maximal 80 Minuten bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % aufgestellt worden waren. Bis zum siebten Tag nach der Inokulation nahm die Befallsstärke der Blätter aller Varianten weiter zu. Am stärksten breiteten sich allerdings die Symptome auf den Blättern aus, die für 120 Minuten bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % inkubiert worden waren, so dass sieben Tage nach der Inokulation kein Unterschied mehr zu den Blättern, die einer längeren Blattnässedauer nach der Inokulation ausgesetzt worden waren, nachzuweisen war. In den folgenden zwei Tagen konnte weiterhin ein leichter Zuwachs an befallener Blattfläche bonitiert werden, so dass am Ende des Versuchs die Blätter, die für mindestens 120 Minuten

bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % gehalten worden waren mit über 70 % den stärksten Befall zeigten, wohingegen bei den Blättern, die maximal 80 Minuten bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % inkubiert worden waren, weniger als 30 % der Blattfläche befallen war (Abb. 6).

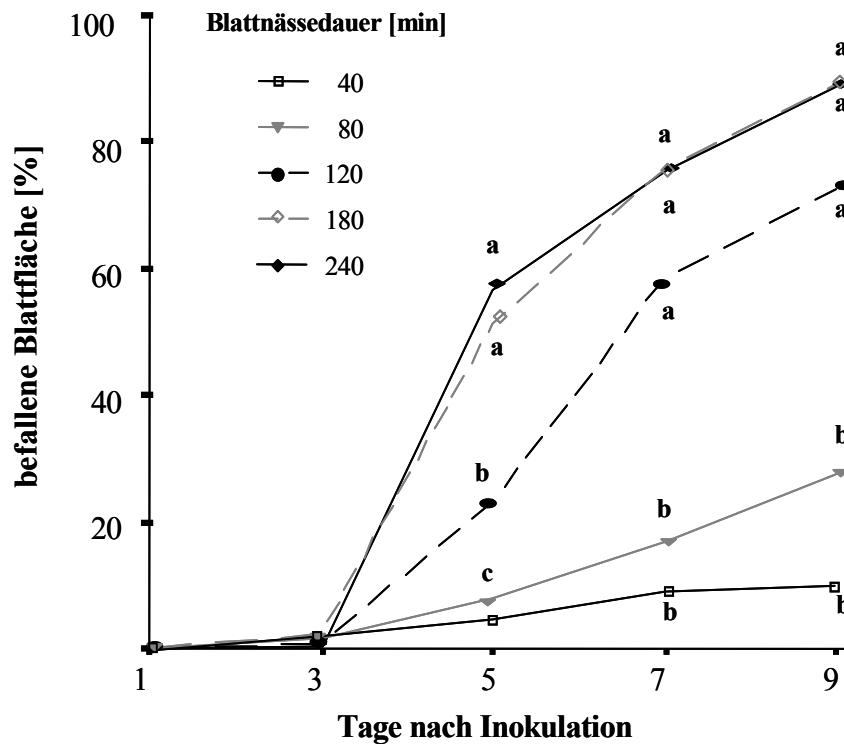


Abb. 6: Einfluss der Blattnässedauer bei 20 °C auf die Entwicklung von Falschem Mehltau an Gurkenblättern (n = 6; 22 ± 5 °C; Inokulumkonzentration 5 x 10<sup>4</sup> Zoosporangien ml<sup>-1</sup>; unterschiedliche Buchstaben zu einem Boniturtermin kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey p ≤ 0,05).

Der Einfluss der **Lufttemperatur** direkt nach der Inokulation auf den Infektionserfolg ist in Abbildung 7 dargestellt. Bereits am dritten Tag nach der Inokulation traten die ersten Symptome auf, allerdings konnte erst am siebten Tag nach der Inokulation ein Einfluss der Lufttemperatur auf die Befallsstärke nachgewiesen werden. Fast die Hälfte der Blattflächen der Blätter, die direkt nach der Inokulation bei 18 °C und 25 °C aufgestellt worden waren, wies Symptome auf. Bei den Blättern, die während der Blattnässedauer von sechs Stunden einer Lufttemperatur von 32 °C ausgesetzt worden waren, waren dagegen unter 5 % der Blattfläche befallen. Im weiteren Verlauf der Pathogenese breiteten sich die Symptome auf den Blättern, die bei 25 °C aufgestellt worden waren, am stärksten aus. Neun Tage nach der Inokulation waren diese mit über 80 % befallener Blattfläche am stärksten befallen. Den geringsten Befall (10 %) wiesen die Blätter auf, die während der Blattnässedauer bei 32 °C

inkubiert worden waren. Eine mittlere Befallsintensität von 58 % hatten die Blätter, die direkt nach der Inokulation für sechs Stunden bei 18 °C aufgestellt worden waren.

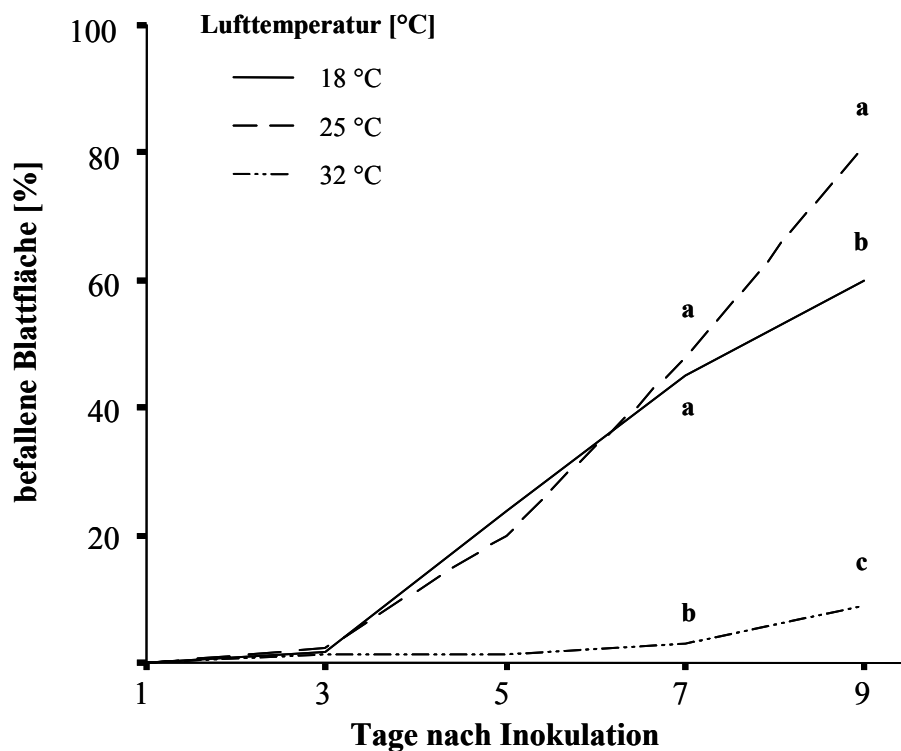


Abb. 7: Einfluss der Lufttemperatur während einer Blattnässedauer von vier Stunden auf die Entwicklung von Falschem Mehltau an Gurkenblättern ( $n = 8$ ; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; unterschiedliche Buchstaben zu einem Boniturtermin kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

### 3.1.1.5 Einfluss der Lufttemperatur während der Inkubationszeit

Die Untersuchungen zum Einfluss der Lufttemperatur nach der Infektion von *P. cubensis* auf die Symptomentwicklung wurden an Blättern durchgeführt, die während der Inkubationszeit Lufttemperaturen von 15 °C, 20 °C bzw. 25 °C ausgesetzt waren. Die Entwicklung der Befallsstärke wurde über eine Zeitspanne von elf Tagen bonitiert. Der Befallsverlauf ist in Abbildung 8 dargestellt. Die Blätter, die nach vier Stunden Blattnässe bei 20 °C bei Lufttemperaturen von 20 °C und 25 °C weiterkultiviert wurden, zeigten bereits drei Tage nach der Inokulation die ersten Symptome (4 %). Dagegen traten bei den Pflanzen, die bei 15 °C weiterkultiviert wurden, erst am siebten Tag nach der Inokulation die ersten Symptome auf (3 %). Bis zu diesem Zeitpunkt hatte sich die befallene Blattfläche der Pflanzen, die bei mindestens 20 °C aufgestellt waren, bereits mehr als verdoppelt (11 %). In den folgenden Tagen breiteten sich die Symptome auf der Blattfläche aller Varianten weiter aus, so dass elf

Tage nach der Inokulation mit über 20 % befallener Blattfläche der Befall der Blätter bei 20 °C und 25 °C mehr als doppelt so hoch war wie bei 15 °C (10 %). Die befallene Blattfläche der Blätter, die bei 20 °C bzw. 25 °C aufgestellt waren, unterschied sich im Laufe des Versuchs nicht.

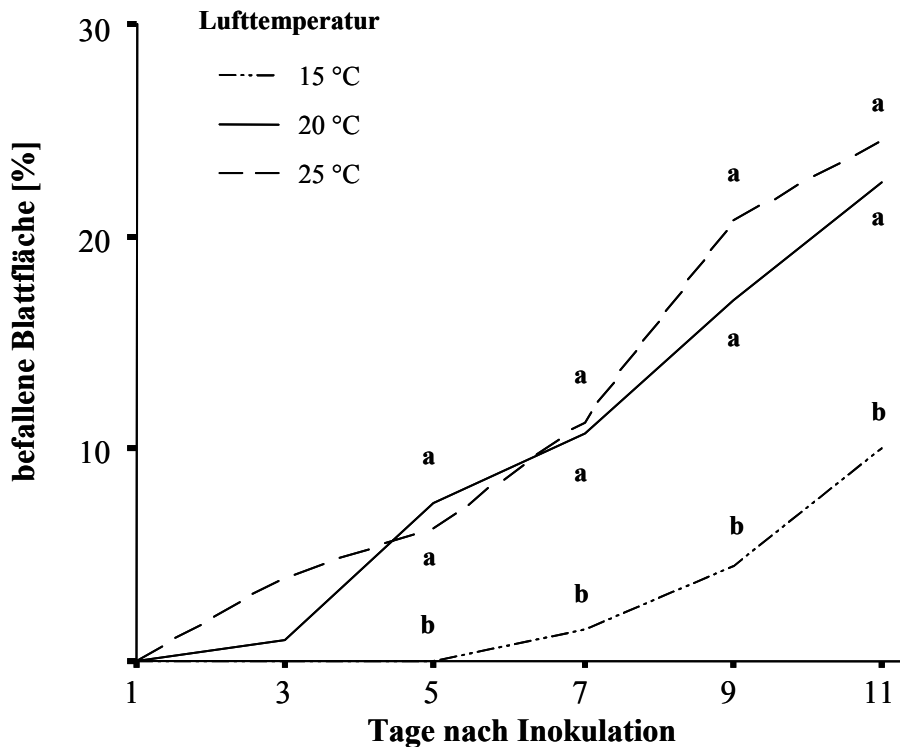


Abb. 8: Einfluss der Lufttemperatur nach einer Blattnässedauer von vier Stunden bei 20 °C auf die Entwicklung von Falschem Mehltau an Gurkenblättern ( $n = 6$ ; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; unterschiedliche Buchstaben zu einem Boniturtermin kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

### 3.1.1.6 Einfluss von *P. cubensis* auf den Gaswechsel der Wirtspflanze

Der Einfluss von *P. cubensis* auf die  $\text{CO}_2$ -Assimilation ( $A$  [ $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ]) und die Transpirationsrate ( $E$  [ $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ]) der Wirtspflanze im Verlauf der Pathogenese wurde untersucht, indem mit einem Porometer kurz vor der Inokulation sowie in den darauffolgenden sechs Tagen täglich Gaswechsellmessungen durchgeführt wurden. Zusätzlich wurde der Gehalt an interzellulärem  $\text{CO}_2$  ( $c_i$  [ $\mu\text{mol CO}_2$ ]) und die stomatare Leitfähigkeit für Wasserdampf ( $G$  [ $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ]) von inokuliertem und nicht inokuliertem Gurkenblattgewebe an den einzelnen Messungen berechnet. In den Abbildungen 9 und 10 sind die Auswirkungen eines Befalls von *P. cubensis* auf den Gaswechsel der Wirtspflanze dargestellt.



Ab dem zweiten Tag nach der Inokulation wirkte sich ein Befall von *P. cubensis* auf den CO<sub>2</sub>-Gaswechsel der Wirtspflanze aus. Der Gehalt an interzellulärem CO<sub>2</sub> war in inokuliertem Gewebe um 20 % höher als in nicht inokuliertem Gewebe. Im Verlauf der Pathogenese stieg der Gehalt an interzellulärem CO<sub>2</sub> in inokuliertem Gewebe weiter an und entsprach zu Versuchsende 150 % des Gehalts an interzellulärem CO<sub>2</sub> in nicht inokuliertem Gewebe. Im Gegensatz zu dem Gehalt an interzellulärem CO<sub>2</sub> machte sich ein Einfluss von *P. cubensis* auf die Assimilationsrate erst drei Tage nach der Inokulation bemerkbar. Die Assimilationsrate inokulierter Blätter entsprach an diesem Tag nur noch 25 % der Assimilationsrate nicht inokulierter Blätter. Ab dem vierten Tag war die Assimilationsrate inokulierter Blätter sogar negativ, d.h. die Respirationsrate des inokulierten Gewebes war ab diesem Zeitpunkt höher als die Assimilationsrate und es konnte keine Netto-Photosynthese der inokulierten Blätter mehr festgestellt werden (Abb. 9).

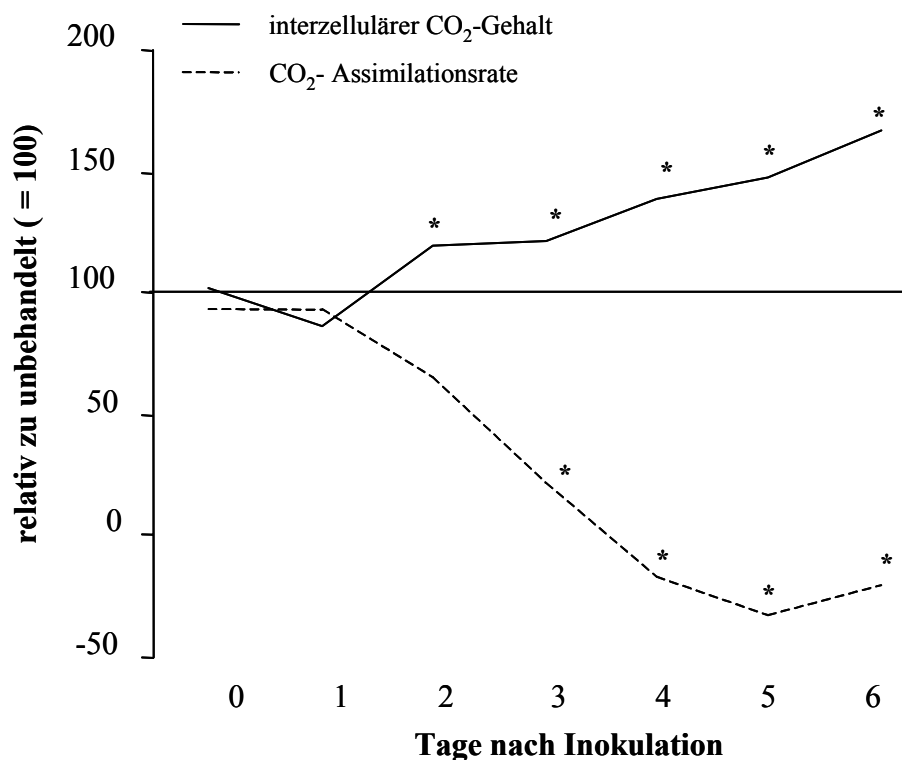


Abb. 9: Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf den Gehalt an interzellulärem CO<sub>2</sub> und die CO<sub>2</sub>-Assimilation von Gurkenblättern im Verlauf der Pathogenese. Die prozentualen Veränderungen im Gehalt an interzellulärem CO<sub>2</sub> sowie in der CO<sub>2</sub>-Assimilationsrate von inokuliertem zu nicht inokuliertem Gewebe werden angegeben (n = 6; 22 ± 5 °C; Inokulumkonzentration 5 × 10<sup>4</sup> Zoosporangien ml<sup>-1</sup>; „\*“ kennzeichnet signifikanten Unterschied zwischen inokuliertem und nicht inokuliertem Gewebe nach t-Test, p ≤ 0,05).

*P. cubensis* erhöhte die stomatäre Leitfähigkeit für Wasserdampf der Wirtspflanze ab dem dritten Tag nach der Inokulation um ca. 20 %. An diesem Tag war die Transpirationsrate inokulierter Blätter noch nicht von der Transpirationsrate nicht inokulierter Blätter zu unterscheiden. Nach einem weiteren Tag führte ein Befall mit *P. cubensis* sowohl zu einer Steigerung der stomatären Leitfähigkeit für Wasserdampf als auch zu einem Anstieg der Transpirationsrate des Wirtsgewebes um 200 % bzw. 50 %. Der größte Einfluss von *P. cubensis* sowohl auf die stomatäre Leitfähigkeit für Wasserdampf (870 %) als auch auf die Transpirationsrate (420 %) des Wirtsgewebes wurde am fünften Tag nach der Inokulation nachgewiesen. Einen weiteren Tag später führte dagegen der Befall mit *P. cubensis* zu einer Reduktion der beiden Parameter. Die stomatäre Leitfähigkeit für Wasserdampf und die Transpirationsrate inokulierter Blätter entsprachen sechs Tage nach der Inokulation nur noch 10 % der stomatären Leitfähigkeit bzw. der Transpirationsrate nicht inokulierter Blätter (Abb. 10).

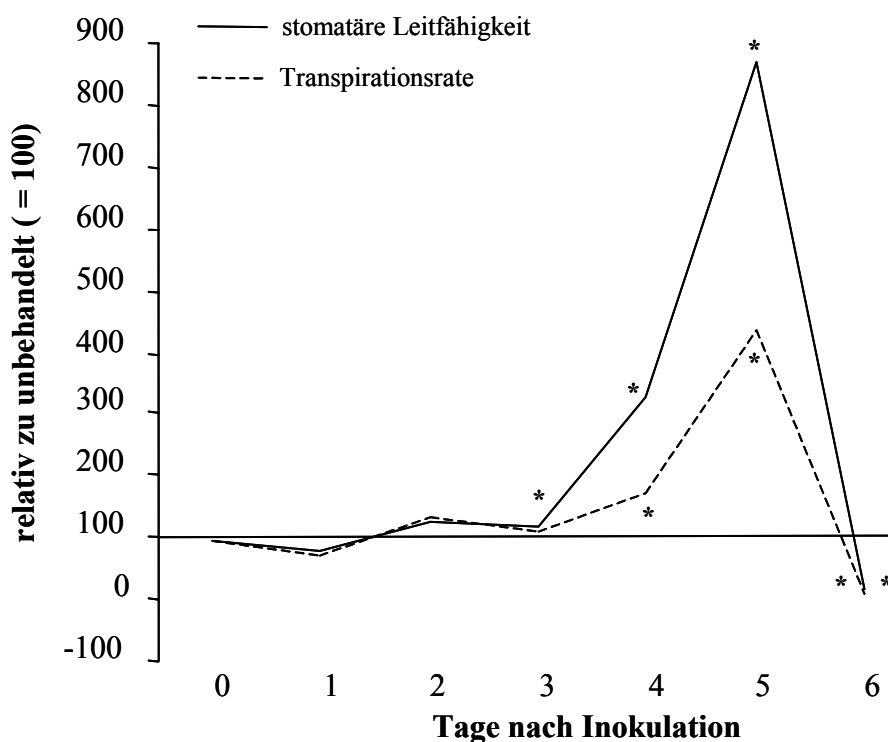


Abb. 10: Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf die stomatäre Leitfähigkeit für Wasserdampf und die Transpirationsrate von Gurkenblättern im Verlauf der Pathogenese. Die prozentualen Veränderungen der stomatären Leitfähigkeit sowie der Transpirationsrate von inokuliertem zu nicht inokuliertem Gewebe werden angegeben ( $n = 6$ ;  $22 \pm 5$  °C; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; „\*“ kennzeichnet signifikanten Unterschied zwischen inokuliertem und nicht inokuliertem Gewebe nach t-Test,  $p \leq 0,05$ ).

### 3.1.2 Zeitliche und räumliche Entwicklung von *P. cubensis* an Freilandgurken

In der Vegetationsperiode 2002 und 2003 wurden auf dem Versuchsgut Marhof Untersuchungen zum Krankheitsverlauf durch *P. cubensis* unter Praxisbedingungen durchgeführt. Wöchentlich wurde die Befallsentwicklung des Falschen Mehltaus in einem Gurkenbestand erfasst und mit der räumlichen Verteilung des Mikroklimas im Bestand verglichen. Ziel war es, die Abhängigkeit des Epidemieverlaufs vom Mikroklima in einem Bestand von Einlegegurken zu beschreiben.

#### 3.1.2.1 Symptome des Falschen Gurkenmehltaus

Als erstes makroskopisch sichtbares Befallssymptom entstanden auf der Blattoberseite kleine schmutzig-grüne Flecke, die ein wässriges Erscheinungsbild aufwiesen. Diese sogenannten Ölflecke vergrößerten sich im Laufe eines Tags und verfärbten sich gelblich (Abb. 11A). Die Blattflecken waren von Blattadern scharf begrenzt und sahen deshalb eckig aus. Auf der Blattunterseite war an den chlorotischen Befallsstellen bei feucht-warmem Wetter ein violett-schwarzer Sporangienrasen zu erkennen (Abb. 11B).

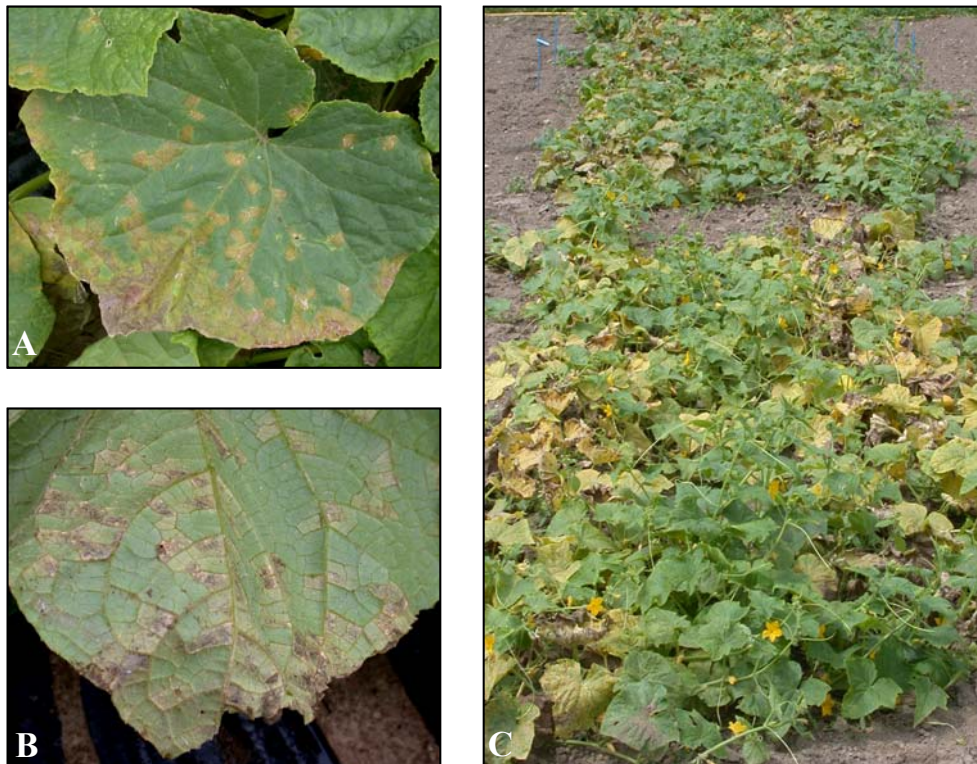


Abb. 11: Durch *Pseudoperonospora cubensis* hervorgerufene Symptome des Falschen Mehltaus an Einlegegurken:

- A: Blattoberseite: Chlorosen und Nekrosen im fortgeschrittenen Stadium der Pathogenese
- B: Blattunterseite: violett-schwarzer Sporangienrasen auf eckigen Blattflecken
- C: starker Befall einzelner Blätter in einem Gurkenbestand

Im Verlauf der Pathogenese wuchsen die Interkostalchlorosen zusammen, so dass ganze Blattbereiche verfärbt waren. Die gelblichen Flecken verfärbten sich zunehmend braun, nekrotisierten vom Zentrum des Befallsherds ausgehend und trockneten mit der Zeit aus. Ein starkes Zusammenrollen des nekrotischen Blattgewebes von den Blatträndern her war die Folge. Auf dem nekrotisierten Gewebe war der Erreger nicht mehr in der Lage zu sporulieren. Bis zur Totalnekrose des jeweiligen Befallsherds sporulierte der Erreger nur noch auf dem angrenzenden, noch nicht abgestorbenen Gewebe. Mit zunehmendem Befall starb schließlich die gesamte Blattfläche ab und hing eingetrocknet am intakten Blattstiel (Abb. 11C).

### 3.1.2.2 Erstaufreten und Ausbreitung im Vegetationsverlauf

Das Erstaufreten sowie der weitere Epidemieverlauf von *P. cubensis* im Jahr 2002 sind in Abbildung 12 dargestellt. Erste Befallssymptome traten am 12.7. im Entwicklungsstadium EC 22-24 auf. Bis auf wenige Bereiche, die noch keinerlei Symptome zeigten, war der Großteil des Bestands mit 1 bis 5 % befallener Blattfläche relativ einheitlich befallen. Einige Pflanzen waren in der Mitte des Bestands sowie am nordöstlichen Rand des Felds mit 6 bis 8 % befallener Blattfläche etwas stärker befallen (Abb. 12A). Eine Woche später wurden an allen Pflanzen Symptome festgestellt, mindestens 10 % der Blattfläche war befallen. Eine maximale Befallsstärke von 20 bis 25 % hatte sich ausgehend von den mittig gelegenen Befallsnestern in nordwestlicher Richtung entwickelt. Die übrigen Randbereiche waren mit 11 bis 16 % weniger stark befallen (Abb. 12B). Die übrigen Randbereiche waren mit 11 bis 16 % weniger stark befallen (Abb. 12B).

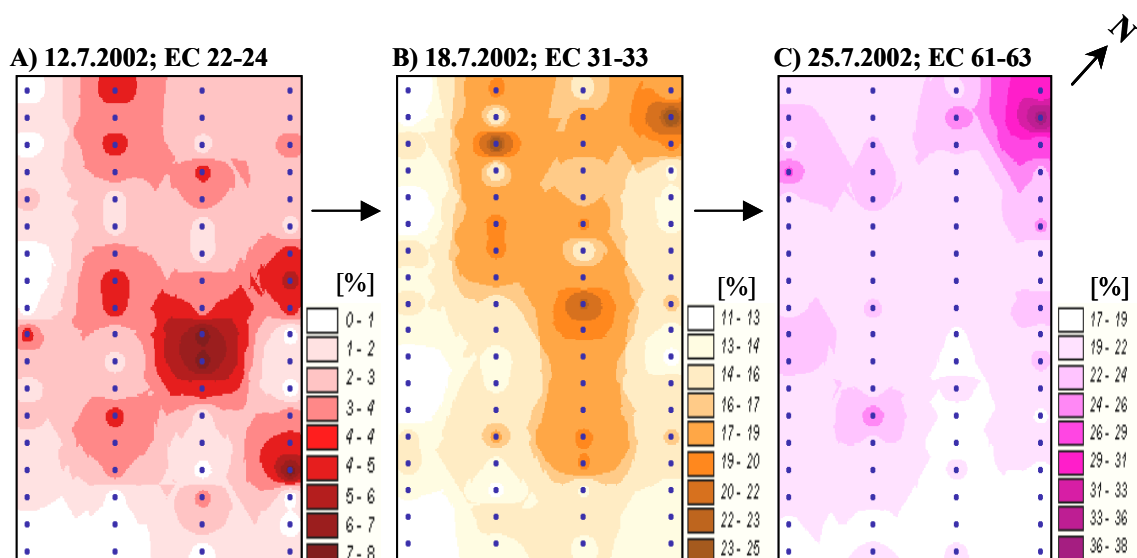


Abb. 12: Auftreten von Symptomen des Falschen Mehltaus in einem Freilandgurkenbestand der Sorte 'Vorgebirgstraube' am Standort Marhof in der Vegetationsperiode 2002. Dargestellt ist der prozentuale Anteil der befallenen Blattfläche zur gesamten Blattfläche im Entwicklungsstadium EC 22-24 am 12.7. (A), EC 31-33 am 18.7. (B) bzw. EC 61-63 am 25.7. (C).

Bis zum letzten Boniturtermin war eine allgemeine Zunahme der Befallsstärke festzustellen, so dass am 25.7. minimale Befallsstärken von 17 % erfasst wurden. Bis auf wenige Bereiche waren die Pflanzen mit 17 bis 24 % sehr einheitlich befallen. Bereiche mit höheren Befallsstärken konzentrierten sich auf nur wenige Teilflächen. Mit 36 bis 38 % befallener Blattfläche waren die Pflanzen in der nördlichsten Ecke des Felds am stärksten befallen (Abb. 12C).

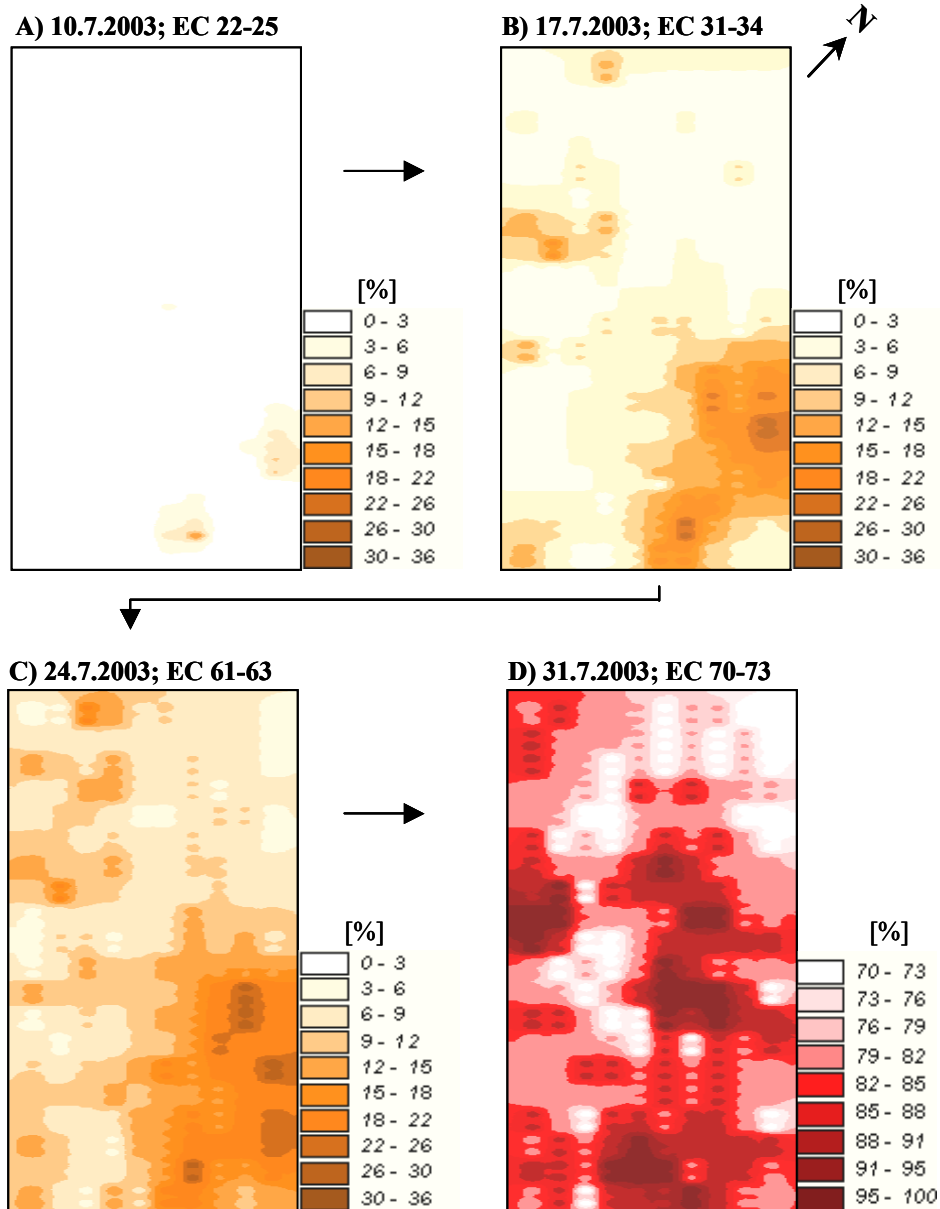


Abb. 13: Auftreten von Symptomen des Falschen Mehltaus in einem Freilandgurkenbestand der Sorte 'Vorgebirgstraube' am Standort Marhof in der Vegetationsperiode 2003. Dargestellt ist der prozentuale Anteil der befallenen Blattfläche zur gesamten Blattfläche im Entwicklungsstadium EC 22-25 am 10.7. (A), EC 31-34 am 17.7. (B), EC 61-63 am 24.7. (C) bzw. EC 70-73 am 31.7. (D).

Im Jahr 2003 traten die ersten Symptome von Falschem Mehltau ebenfalls Anfang Juli im Entwicklungsstadium EC 22-25 auf. Am 10.7. zeigten sich zwei kleine Befallsnester an der östlichen Ecke des Felds mit einer befallenen Blattfläche von maximal 10 % (Abb. 13A). Eine Woche später war bei allen Pflanzen mindestens 3 % der Blattfläche befallen. Die Primärinfektionen breiteten sich im Laufe der Woche aus und erreichten im Zentrum der Befallsnester eine Befallsstärke von bis zu 30 % (Abb. 13B). Bis zum nächsten Boniturtermin nahm die Befallsstärke weiter zu. Am 24.7. wiesen alle Pflanzen, bis auf wenige Ausnahmen in der Nordecke des Felds, einen Befall von über 9 % auf. Die stark befallenen Bereiche in der Ostecke des Bestands hatten sich weiter in Richtung Feldmitte ausgebreitet und wiesen nun maximale Befallsstärken von bis zu 36 % auf (Abb. 13C). Innerhalb der kommenden Woche breiteten sich die Befallssymptome schlagartig im ganzen Bestand aus, so dass am 31.7. über 70 % der gesamten Blattfläche Symptome aufwiesen. Vereinzelt waren einige Pflanzen vollständig abgestorben (Abb. 13D).

### **3.1.2.3 Einfluss des Mikroklimas auf den Epidemieverlauf**

Die Bestandestemperatur und die Blattnässedauer im Bestand wurden mit Hilfe von mehreren Sensoren kleinräumig erfasst, so dass Verteilungskarten des Bestandesklimas erstellt werden konnten. Aus den Daten des Mikroklimas wurde für die jeweiligen Teilbereiche des Bestands das Infektionsrisiko während der Vegetationsperiode berechnet und das Ergebnis ebenfalls in einer Karte dargestellt. Der Karte der Stunden mit hohem Infektionsrisiko wurde eine Karte des Zuwachses an befallener Blattfläche während des Versuchszeitraums gegenübergestellt, um die Abhängigkeit des Krankheitsverlaufs vom Mikroklima für den Falschen Mehltau an Freilandgurken zu veranschaulichen.

In Abbildung 14 ist das Ergebnis des Feldversuchs im Jahr 2002 dargestellt. Die Durchschnittstemperatur variierte im Bestand zwischen 16,90 °C und 18,25 °C. Im Nordosten wurden insgesamt die höchsten Bestandestemperaturen erfasst (Abb. 14A). Das Aufsummieren der Stunden mit Blattnässe ergab eine deutliche Heterogenität in der Verteilung der Blattnässedauer im Bestand. Bis auf die nördliche Ecke wiesen die Pflanzen in den Eckbereichen des Bestands mit Blattnässedauern von weniger als 21 Stunden wesentlich seltener Blattnässe auf als die Blätter im Zentrum des Felds (Abb. 14B). Die berechnete Verteilung der Anzahl an Stunden mit hohem Infektionsrisiko ist in Abbildung 14C gezeigt. In der nördlichen Ecke des Bestands war an 40 Stunden ein Infektionsrisiko gegeben. Das Infektionsrisiko nahm über die Mitte des Bestands in südliche Richtung ab. An den restlichen Randbereichen wurde für weniger als 14 Stunden ein Infektionsrisiko ermittelt.

Ein Vergleich der Verteilung der Bereiche mit hohem Infektionsrisiko mit der Karte des Zuwachses der befallenen Blattfläche während des Versuchszeitraums zeigte, dass die Bereiche, für die eine hohe Infektionswahrscheinlichkeit berechnet wurde, auch den stärksten Befallszuwachs aufwiesen (Abb. 14C und 14D).

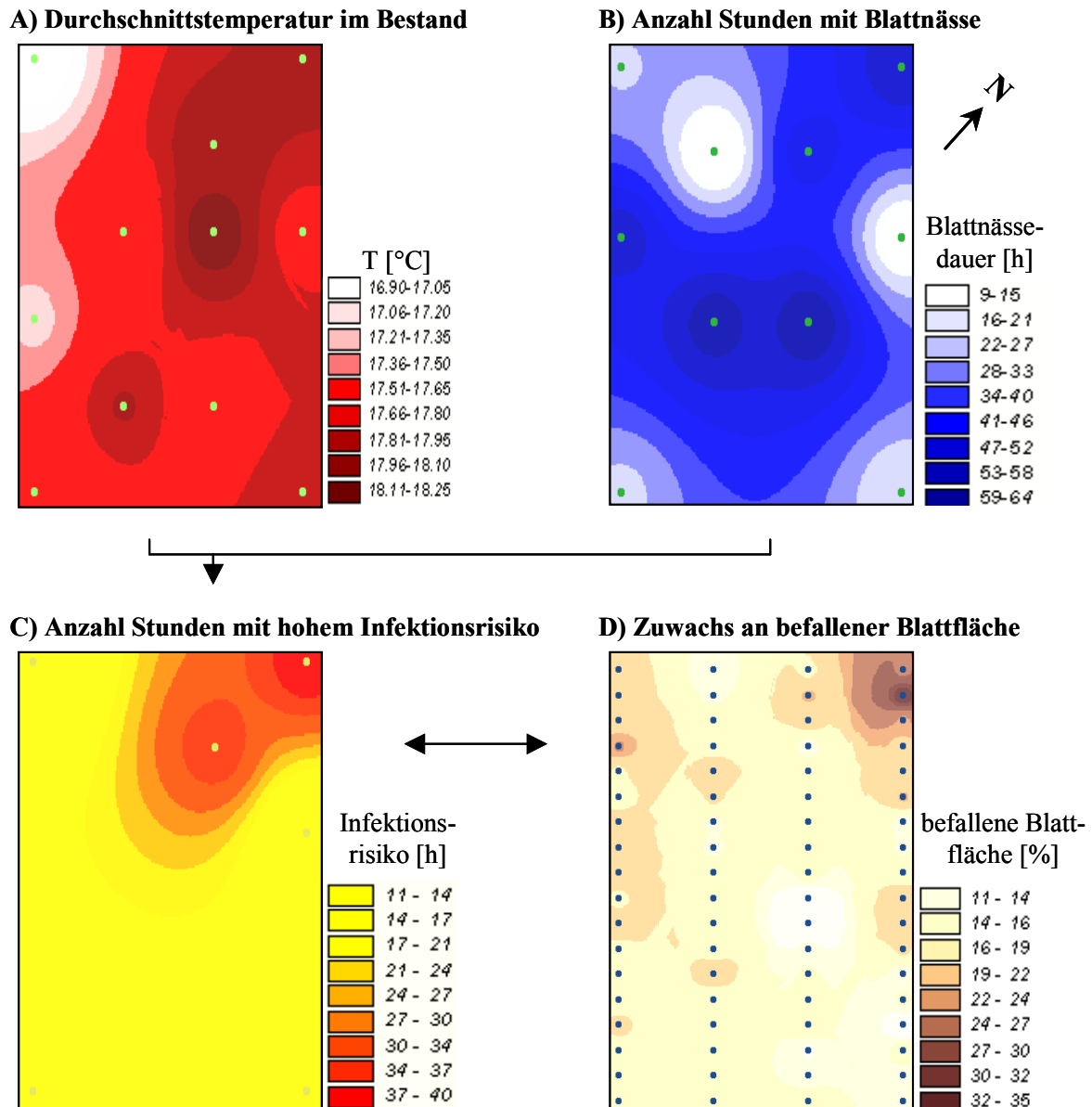


Abb. 14: Räumliche Heterogenität der Durchschnittstemperatur (A) und der Blattnässedauer (B) in einem Freilandgurkenbestand der Sorte 'Vorgebirgstraube' am Standort Marhof sowie die Verteilung der Anzahl Stunden mit hohem Infektionsrisiko (Stunden mit Lufttemperatur > 15 °C und Blattnässe; C) und der prozentuale Zuwachs an Blattfläche mit Symptomen des Falschen Gurkenmehltaus (D) in der Zeit vom 12.07. bis 25.07.2002.

Auch im Jahr 2003 unterschieden sich die Durchschnittstemperaturen im Bestand. In der Mitte des Felds waren sie mit 20,9 °C etwas höher als am Rand des Bestands (Abb. 15A). Die Verteilung der Anzahl der Stunden mit Blattnässe wies stark heterogenen Charakter auf. Im Südwesten und Nordosten des Felds existierten Teilbereiche, die im Laufe der Messungen für über 90 Stunden Blattnässe aufwiesen, wohingegen der nördlichste Blattnässesensor in der gleichen Zeit nur 18 Stunden Blattnässe erfasste (Abb. 15B).

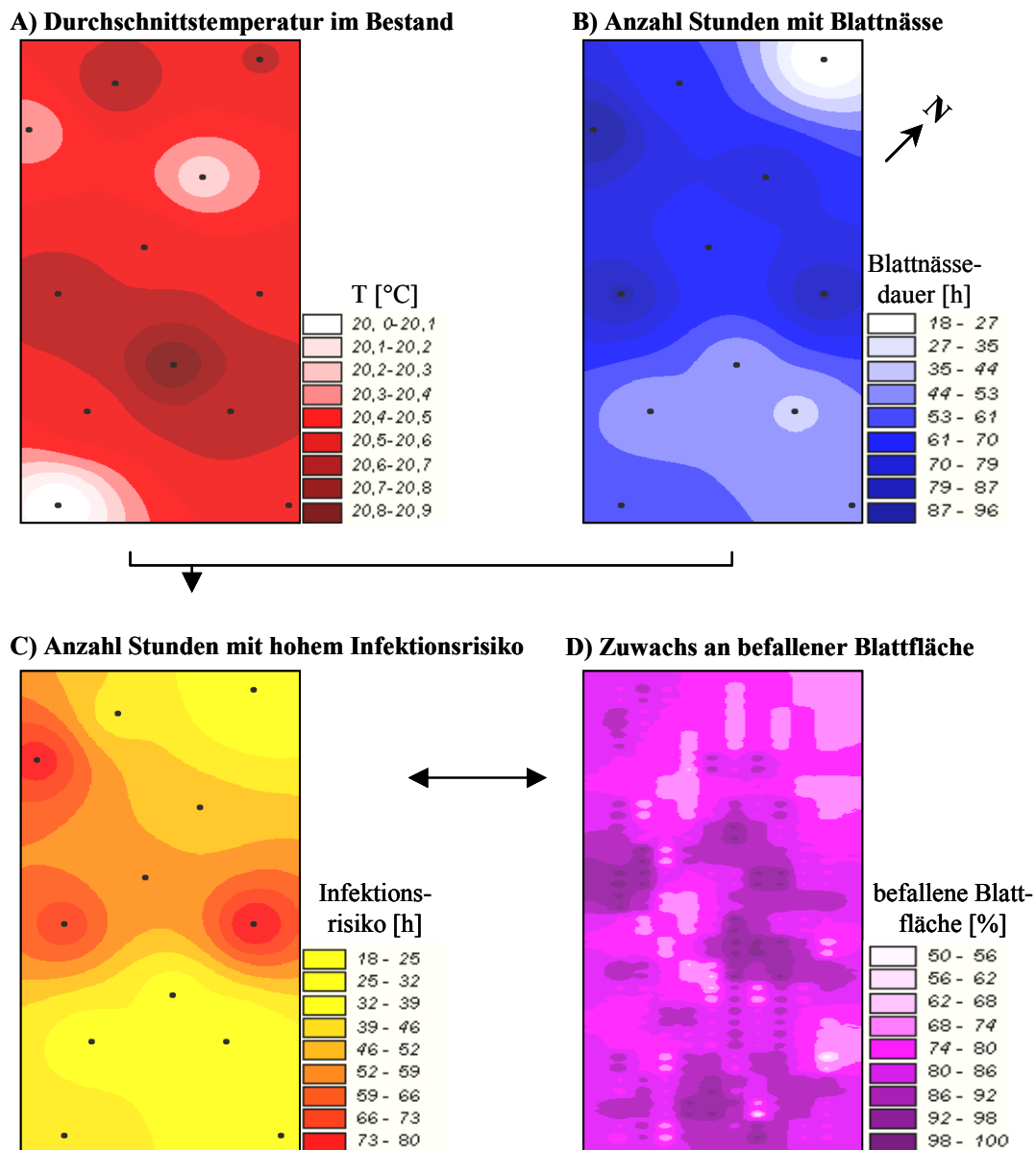


Abb. 15: Räumliche Heterogenität der Durchschnittstemperatur (A) und der Blattnässedauer (B) in einem Freilandgurkenbestand der Sorte 'Vorgebirgstraube' am Standort Marhof sowie die Verteilung der Anzahl Stunden mit hohem Infektionsrisiko (Stunden mit Lufttemperatur > 15 °C und Blattnässe; C) in der Zeit vom 1.07. bis 31.07.2003 und der prozentuale Zuwachs an Blattfläche mit Symptomen des Falschen Gurkenmehltaus in der Zeit vom 10.07. bis 31.07.2003 (D).



Die Mikroklimakarten belegen deutlich eine Heterogenität der Verteilung von Lufttemperatur und Blattnässedauer im Bestand, mit der Folge, dass die Anzahl der Stunden mit hoher Infektionswahrscheinlichkeit in der Zeit vom 1.7. bis 31.7. zwischen 18 und 80 Stunden variierten (Abb. 15C).

Stellt man der Karte des Infektionsrisikos der einzelnen Teilbereiche die Karte des Zuwachses an befallener Blattfläche in der Zeit vom 10.7. bis 31.7. gegenüber, so wird deutlich, dass in den Teilbereichen mit hohem Infektionsrisiko auch ein starker Befallszuwachs stattgefunden hatte. Allerdings existierten auch am südöstlichen Feldrand Bereiche, die trotz geringerem Infektionsrisiko hohe Zuwachsraten von bis zu 90 % aufwiesen (Abb. 15C und 15D).

### **3.2 Einflussfaktoren auf die Temperatur von Gurkenblättern**

Eine Voraussetzung für die berührungsfreie Visualisierung des Krankheitsverlaufs von *P. cubensis* an Gurkenblätter mittels Thermografie bestand darin, genaue Kenntnisse der Einflussfaktoren auf die Blatttemperatur von Gurkenpflanzen zu erhalten. Aus diesem Grund wurde anhand mehrerer Laborexperimente der Einfluss abiotischer und biotischer Faktoren auf die Blatttemperatur untersucht.

#### **3.2.1 Blattalter**

Der Einfluss des Blattalters auf die Blatttemperatur wurde an vier Wochen alten Gurkenpflanzen mit fünf voll ausgebildeten Laubblättern untersucht. Es zeigte sich, dass das jüngste Blatt unter den gegebenen Messbedingungen mit 18,88 °C wärmer als das älteste Blatt (18,23 °C) war. Die Blatttemperaturen der anderen Blattetagen ließen sich statistisch nicht signifikant voneinander unterscheiden. Es bestätigte sich jedoch auch bei den übrigen Laubblättern der Trend, dass ein jüngeres Blatt wärmer als ein älteres Blatt war (Abb. 16).

#### **3.2.2 Genotyp**

Die in den Freilandversuchen verwendeten Gurkensorten wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die durchschnittliche Blatttemperatur zusätzlich in Laborversuchen untersucht. Thermogramme der ersten Laubblätter der verschiedenen Genotypen wurden unter gleichen Bedingungen erstellt. Wie in Abbildung 17 zu erkennen ist, unterschieden sich die Blatttemperaturen der verschiedenen Gurkensorten nicht signifikant voneinander.

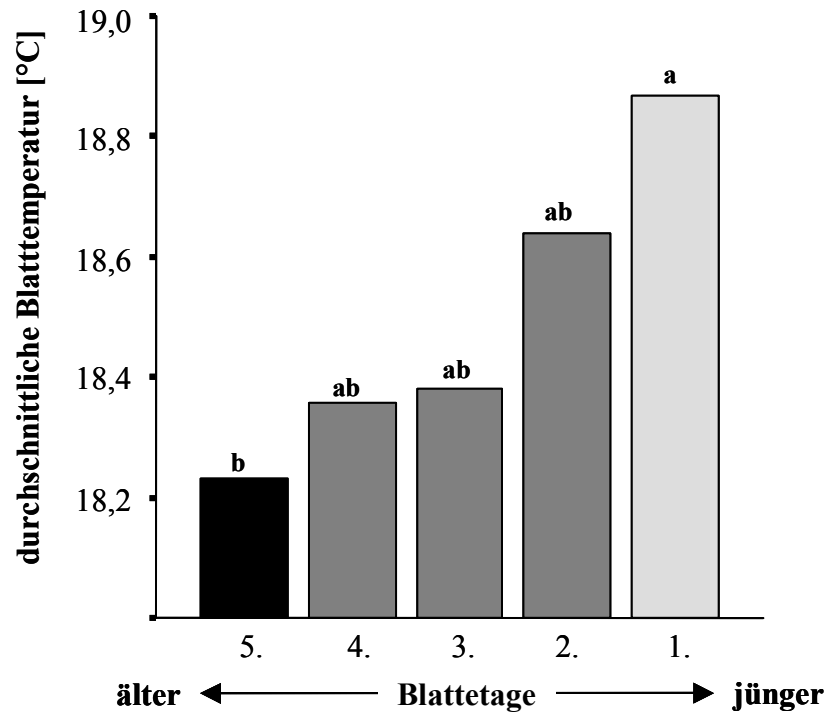


Abb. 16: Einfluss der Blatttage auf die durchschnittliche Blattemperatur von vier Wochen alten Gurkenpflanzen ( $n = 6$ ; Messbedingungen:  $21 \pm 1$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 5$  % relative Luftfeuchtigkeit; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

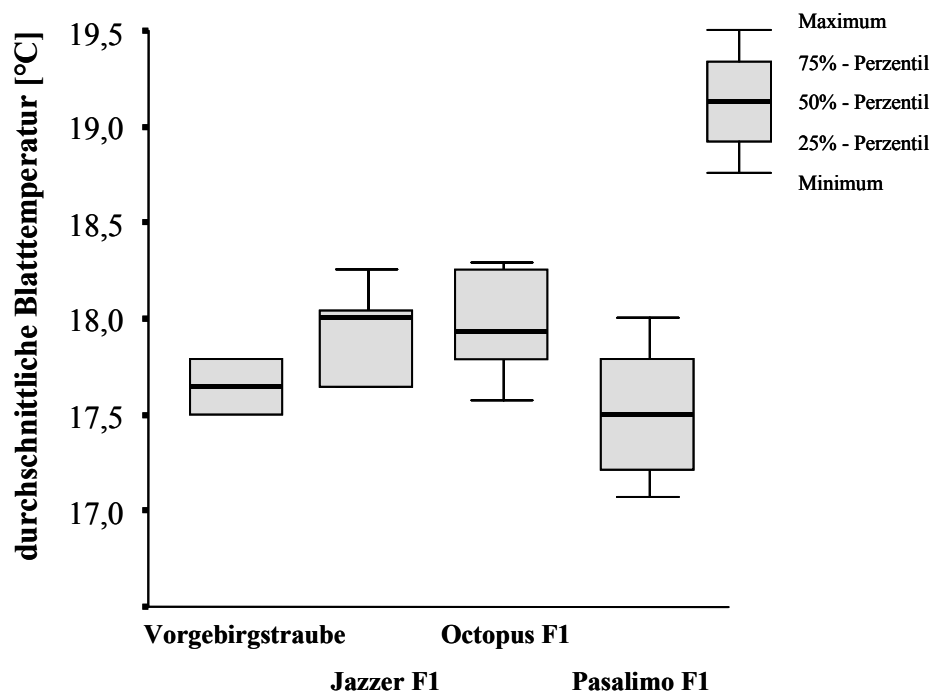


Abb. 17: Einfluss des Genotyps auf die durchschnittliche Blattemperatur der ersten Laubblätter von zwei Wochen alten Gurkenpflanzen ( $n = 5$ ; Messbedingungen:  $21 \pm 1$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 5$  % relative Luftfeuchtigkeit; keine signifikanten Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

### 3.2.3 Lufttemperatur und relative Luftfeuchtigkeit

Der Einfluss von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit auf die Blatttemperatur von Gurkenblättern, wurde anhand von zwei Wochen alten, nicht inokulierten Jungpflanzen untersucht. Thermogramme der ersten Laubblätter wurden unter fünf verschiedenen Szenarien erstellt:

- 16 °C Lufttemperatur, 80 % relative Luftfeuchtigkeit
- 21 °C Lufttemperatur, 60 % relative Luftfeuchtigkeit
- 21 °C Lufttemperatur, 80 % relative Luftfeuchtigkeit
- 26 °C Lufttemperatur, 60 % relative Luftfeuchtigkeit
- 26 °C Lufttemperatur, 90 % relative Luftfeuchtigkeit

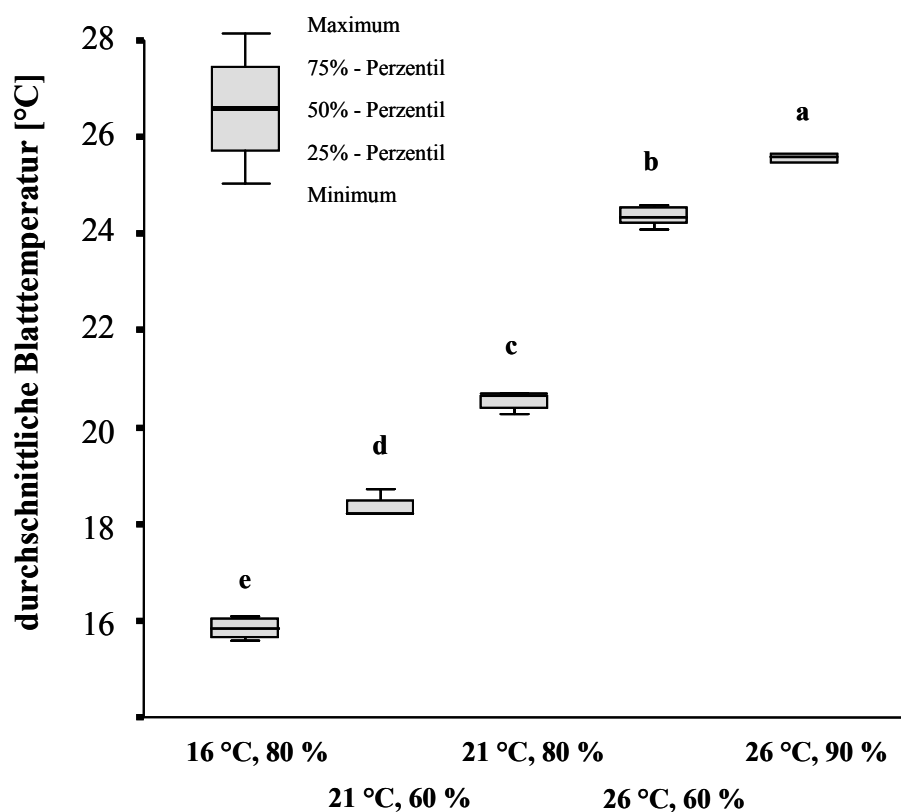


Abb. 18: Einfluss von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit auf die durchschnittliche Blatttemperatur erster Laubblätter von zwei Wochen alten Gurkenpflanzen (n = 5; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

Die Gurkenblätter waren bei 16 °C Lufttemperatur und 80 % relativer Luftfeuchtigkeit mit einer durchschnittlichen Blatttemperatur von 15,9 °C am kältesten. Unter diesen Messbedingungen konnte eine Abkühlung der Blätter gegenüber der Raumtemperatur von 0,1 °C nachgewiesen werden. Bei einer Lufttemperatur von 21 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % kühlten die Blätter gegenüber der Raumtemperatur mit 2,7 °C am stärksten ab und erreichten unter diesen Umweltbedingungen eine durchschnittliche Blatttemperatur von 18,3 °C. Stieg bei gleichbleibender Lufttemperatur die relative Luftfeuchtigkeit um 20 % an, so kühlten die Gurkenblätter gegenüber der Lufttemperatur um nur noch 0,5 °C ab. Wurden die Messungen bei einer Lufttemperatur von 26 °C und 60 % relativer Luftfeuchtigkeit durchgeführt, fand eine Abkühlung der Blätter gegenüber der Lufttemperatur von 1,6 °C auf 24,4 °C statt. Die höchste durchschnittliche Blatttemperatur von 25,5 °C wurde bei 26 °C Lufttemperatur kombiniert mit 90 % relativer Luftfeuchtigkeit gemessen. Die Blätter kühlten unter diesen Umweltbedingungen um 0,4 °C gegenüber der Lufttemperatur ab (Abb. 18 und 19).

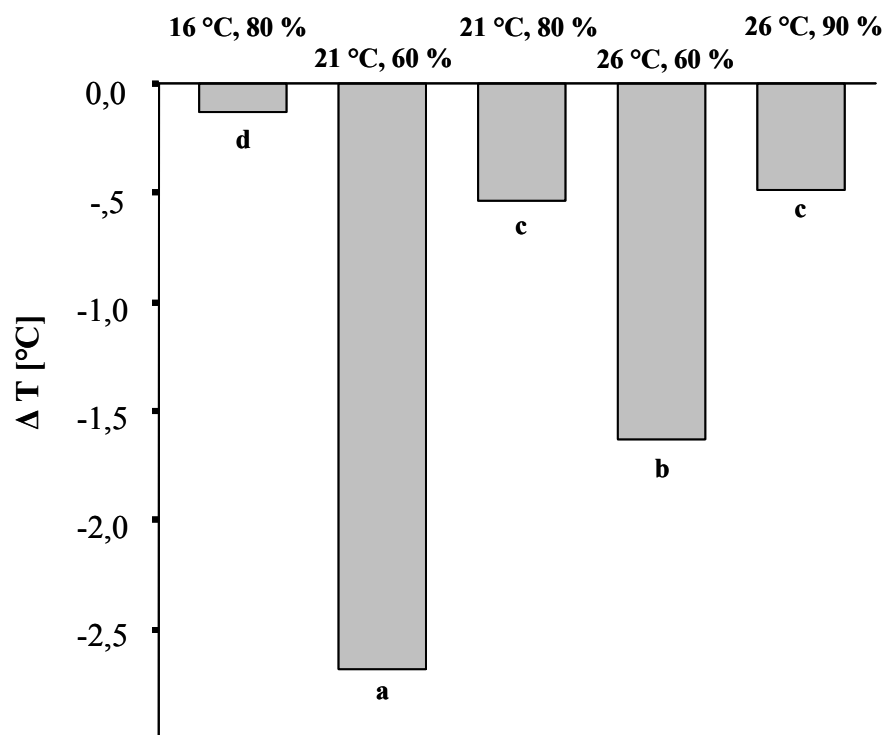


Abb. 19: Einfluss von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit auf die Abkühlung der durchschnittlichen Blatttemperatur erster Laubblätter von zwei Wochen alten Gurkenpflanzen gegenüber der Lufttemperatur ( $\Delta T$  [°C];  $n = 5$ ; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

### 3.2.4 Wasser- und Nährstoffversorgung

Inwieweit sich der Versorgungszustand der Gurkenpflanzen mit essentiellen Nährstoffen und Wasser auf die durchschnittliche Blatttemperatur der ersten Laubblätter auswirkt, wurde an Pflanzen untersucht, die unter verschiedenen Anzuchtbedingungen aufwuchsen. Während einem Zeitraum von zwölf Tagen wurden regelmäßig Thermogramme der ersten Laubblätter der Versuchspflanzen erstellt und ihre durchschnittliche Blatttemperatur bestimmt. Die Blatttemperatur der Kontrollpflanzen wurde verglichen mit der Blatttemperatur gedüngter Pflanzen sowie der Blatttemperatur von Pflanzen mit Wasserdefizit. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 aufgeführt. Zu Beginn der unterschiedlichen Anzuchtbedingungen waren die Blätter der zwei Wochen alten Pflanzen gleich warm. Auch am dritten und sechsten Tag, nachdem die Pflanzen unterschiedlichen Anzuchtbedingungen ausgesetzt waren, konnten keine unterschiedlichen Blatttemperaturen festgestellt werden. Erst ab dem neunten Tag nach Versuchsbeginn waren die Blätter der Pflanzen mit Wasserunterversorgung bis zu Versuchsende deutlich wärmer als die Blätter der Kontrollpflanzen und der stark gedüngten Pflanzen. Die Blätter der gedüngten Pflanzen unterschieden sich in ihrer Temperatur zu keinem Messtermin von den Blättern der Kontrollpflanzen.

Tab. 2: Einfluss regelmäßiger Nährstoffgaben und von Wasserdefizit auf die durchschnittliche Blatttemperatur der ersten Laubblätter von Gurkenpflanzen (n = 6; Messbedingungen:  $20 \pm 1$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 10$  % relative Luftfeuchtigkeit; unterschiedliche Buchstaben an einer Messung kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

durchschnittliche Blatttemperatur [°C]					
Variante	T a g e n a c h V e r s u c h s b e g i n n				
	0	3	6	9	12
‘Kontrolle‘	17,19a	19,11a	18,42a	18,21 b	18,31 b
‘+ Düngung‘	17,37a	19,37a	18,48a	18,46 b	18,36 b
‘- Wasser‘	17,32a	18,96a	18,39a	18,84 a	19,66 a

### 3.2.5 Pflanzenschutzmittel

Die Auswirkung einer Applikation des Pflanzenschutzmittels Aliette® auf die Blatttemperatur wurde anhand von Thermogrammen der ersten Laubblätter unbehandelter sowie behandelter Gurkenpflanzen ermittelt. Die Anwendung des systemischen Fungizids zeigte an keiner der vier Messungen einen Einfluss auf die Blatttemperatur der behandelten Pflanzen (Abb. 20).

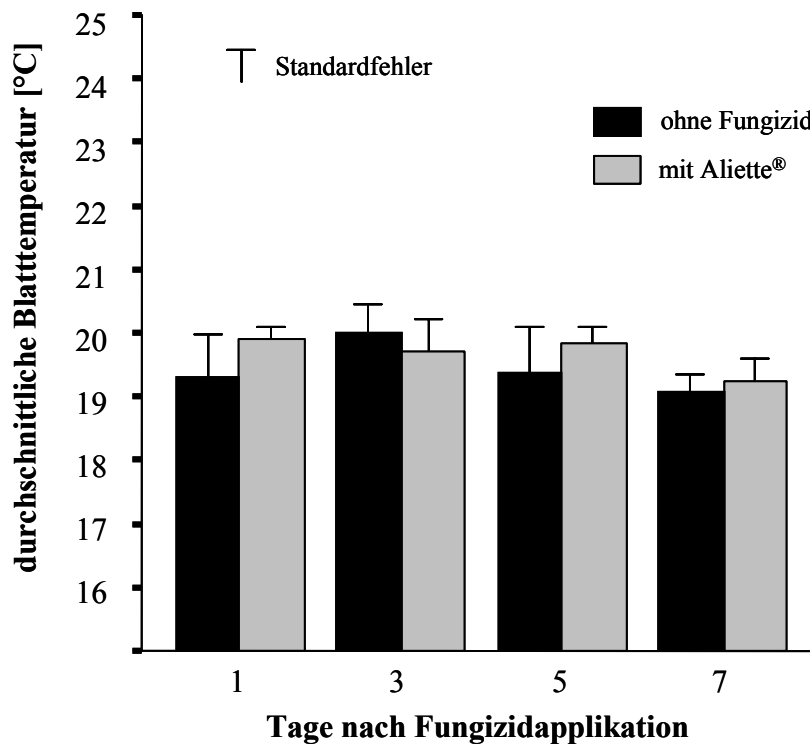


Abb. 20: Einfluss einer Applikation des Fungizids Aliette® auf die durchschnittliche Blatttemperatur der ersten Laubblätter von Gurkenpflanzen (n = 10; Messbedingungen:  $21 \pm 1$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 10$  % relative Luftfeuchtigkeit; keine signifikanten Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

### 3.2.6 Falscher Mehltau durch *P. cubensis*

In einer Reihe von Laborexperimenten wurde der Einfluss von *P. cubensis* während der Krankheitsentwicklung auf die Blatttemperatur von Gurkenblättern *in vivo* untersucht. Thermogramme der inokulierten Gurkenblätter wurden während der Inkubationszeit des Erregers sowie zum Zeitpunkt der Symptomentwicklung bis zum Absterben des infizierten Blattgewebes erstellt. Anschließend wurden die Temperaturen der unterschiedlichen Blattbereiche zu jedem Stadium der Krankheitsentwicklung berechnet und mit den Temperaturen nicht inokulierter Gewebereiche verglichen. Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Untersuchungen dargestellt.

### 3.2.6.1 Zeitliche Dynamik der Blatttemperatur von infiziertem Gewebe

Nach der Inokulation von Gurkenblättern mit einem 0,1 ml-Tropfen einer Zoosporangien-suspension ( $= 5 \times 10^4$  Zoosporangien) waren drei Tage nach der Inokulation noch keine charakteristischen Symptome des Falschen Mehltaus an den Inokulationsstellen makroskopisch nachweisbar. Als erstes Zeichen einer erfolgreichen Infektion von *P. cubensis* traten am vierten Tage nach der Inokulation die ersten Ölflecke mit einem Durchmesser von 0,5 cm auf. Die Ölflecke verfärbten sich im Laufe eines Tags gelblich und nahmen an Größe zu, so dass am fünften Tag nach der Inokulation deutlich Chlorosen an allen Inokulationsstellen bonitierte werden konnten. Die Chlorosen breiteten sich aus und Gewebebereiche, die an die Inokulationsstelle angrenzten, zeigten ebenfalls Symptome des Falschen Mehltaus. Vom Zentrum des Befallsherds ausgehend verfärbten sich die Chlorosen zunehmend braun und ein Nekrotisieren des inokulierten Gewebes setzte ein. Am siebten Tag nach der Inokulation war das Gewebe an den Inokulationsstellen teilweise bereits pergamentartig braun und vertrocknet, wohingegen sich die chlorotischen Ränder des Befallsherds noch weiter in benachbartes Gewebe hin ausbreiteten.

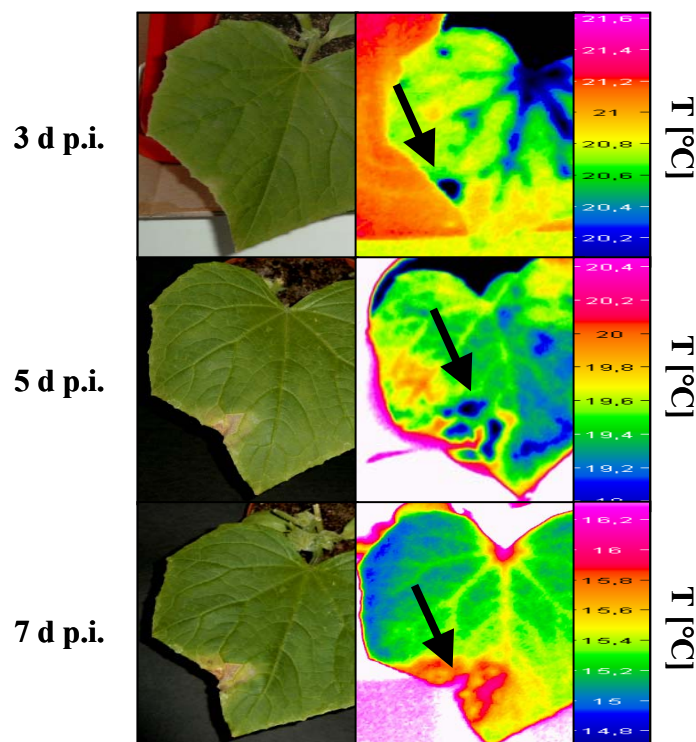


Abb. 21: Veränderungen der Blatttemperatur von Gurkenblättern im Verlauf der Pathogenese von *Pseudoperonospora cubensis*. Lichtbilder (links) und Thermogramme (rechts) von einem Gurkenblatt am dritten, fünften bzw. siebten Tag nach Applikation (d p.i.) von  $5 \times 10^4$  Zoosporangien in einem 0,1 ml-Tropfen auf der Blattunterseite (Messbedingungen:  $19 \pm 3$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 10$  % relative Luftfeuchtigkeit).

In den Thermogrammen konnte dagegen bereits drei Tage nach der Inokulation eine deutliche Temperaturveränderung des infizierten Gewebes nachgewiesen werden. Das Gewebe an den Inokulationsstellen war bis zu 0,8 °C kälter als das nicht inokulierte Blattgewebe. Erst 24 Stunden später zeigten diese kälteren Blattbereiche die ersten Symptome von Falschem Mehltau. Mit der Ausbreitung der Chlorosen in benachbartes Gewebe verschob sich auch dementsprechend der Bereich, in dem kältere Temperaturen thermografisch erfasst wurden, in die angrenzenden Blattbereiche. Zeitgleich mit der Nekrotisierung der Inokulationsstellen stiegen die Temperaturen des infizierten Gewebes über die Temperaturen des nicht infizierten Gewebes an. Die Blatttemperatur des abgestorbenen Gewebes war ab dem siebten Tag nach der Inokulation um ca. 1 °C wärmer als nicht infiziertes Gewebe und blieb bis zu Versuchsende auch wärmer (Abb. 21).

### 3.2.6.2 Ausbildung von Temperaturzonen infizierter Gurkenblätter

Dass die unter 3.2.6.1 beschriebene zeitliche Dynamik der Blatttemperatur von mit *P. cubensis* infiziertem Gewebe im Verlauf der Pathogenese auch zu einem Zeitpunkt auf einem Blatt nebeneinander auftreten kann, ist in Abbildung 22 dargestellt. Wie in dem Lichtbild eines tropfeninokulierten Gurkenblatts sieben Tage nach der Inokulation deutlich zu erkennen ist, war das Gewebe an beiden Inokulationsstellen bereits abgestorben. Die Nekrosen waren von einem schmalen Band chlorotischem Gewebe eingefasst, welches bis zur Totalnekrose der Befallsherde einen Übergang zwischen nekrotischem zu grünem Blattgewebe darstellte.

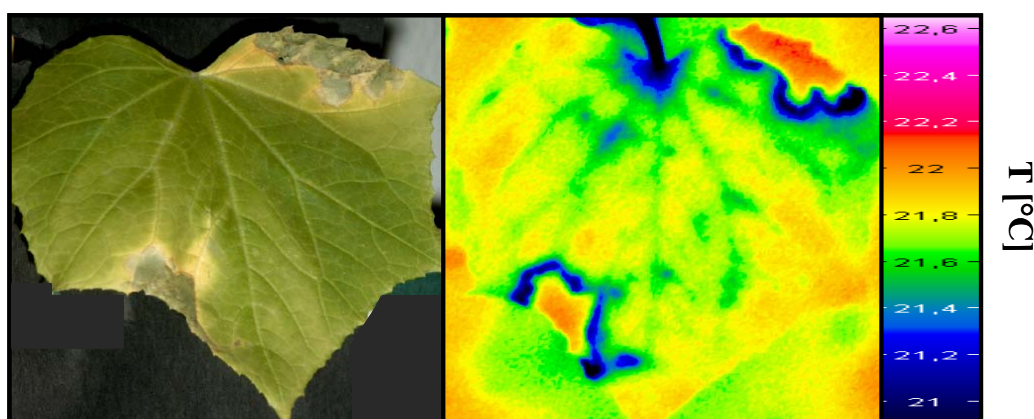


Abb. 22: Unterschiedliche Temperaturzonen eines Gurkenblatts sieben Tage nach Inokulation mit *Pseudoperonospora cubensis*. Lichtbild (links) und Thermogramm (rechts) von einem Blatt nach Applikation zweier 0,1 ml-Tropfen à  $5 \times 10^4$  Zoosporangien auf der Blattunterseite (Messbedingungen:  $22 \pm 1$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 5$  % relative Luftfeuchtigkeit).



In dem zugehörigen Thermogramm können den drei verschiedenen Gewebebereichen (keine Symptome, Chlorosen, Nekrosen) unterschiedliche Temperaturbereiche zugeordnet werden. Das Blattgewebe, welches noch keine Symptome zeigte, besaß eine Durchschnittstemperatur von 21,66 °C. Demgegenüber war das schmale chlorotische Band um die Inokulationsstelle um bis zu 1,2 °C kälter als das noch grüne Gewebe. Die Nekrosen an den Inokulationsstellen waren dagegen bis zu 0,6 °C wärmer als das noch grüne Gewebe und demzufolge 1,8 °C wärmer als das angrenzende chlorotische Gewebe.

### 3.3 Bedeutung der Transpiration für die Blatttemperatur

Die Ursache für die unterschiedlichen Temperaturzonen infizierter Blätter im Verlauf der Pathogenese von *P. cubensis* wurde in den folgenden Laborexperimenten an Gurkenblättern untersucht, die lediglich auf einer Blatthälfte inokuliert worden waren. Zusätzlich zur Veränderung der Blatttemperatur inokulierter gegenüber nicht inokulierter Gewebebereiche wurden die Transpirationsraten der beiden Blatthälften im Verlauf der Pathogenese bestimmt.

#### 3.3.1 Temperaturdifferenzen nach Sprühinokulation einzelner Blatthälften

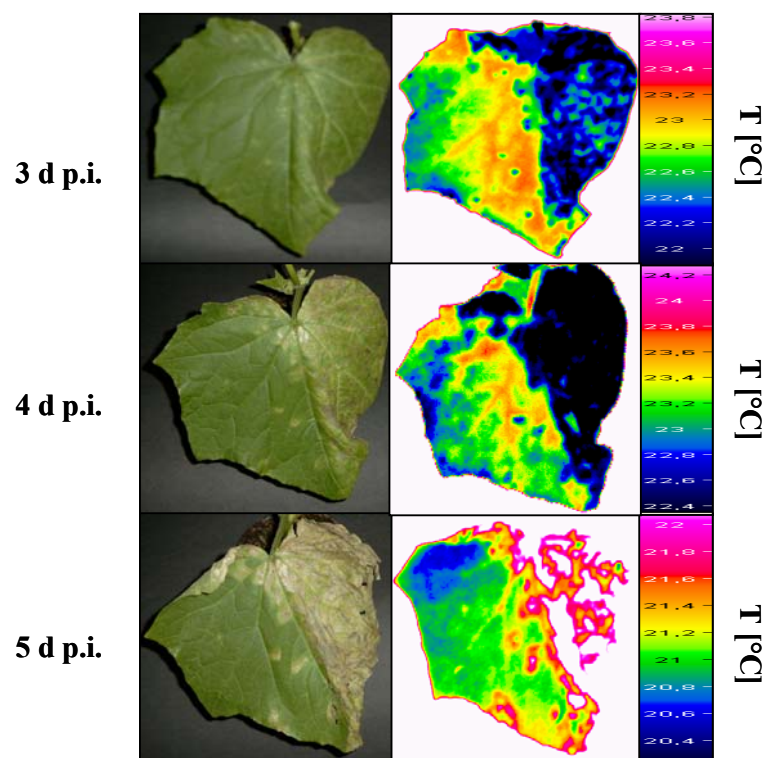


Abb. 23: Veränderungen in der Blatttemperatur von halbseitig mit *Pseudoperonospora cubensis* inokulierten Gurkenblättern. Lichtbilder (links) und Thermogramme (rechts) von einem Blatt am dritten, vierten bzw. fünften Tag nach Applikation (d p.i.) von  $2 \times 10^5$  Zoosporangien auf der rechten Blatthälfte (Messbedingungen:  $24 \pm 1$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 10$  % relative Luftfeuchtigkeit).

Die Gurkenblätter, die nur auf der rechten Blatthälfte mit 2 ml Zoosporangiensuspension (=  $2 \times 10^5$  Zoosporangien) inokuliert worden waren, zeigten drei Tage nach der Sprühinokulation bereits erste Symptome: auf 40 % der inokulierten Blatthälfte wurden Ölflecke bonitiert. Die Blattspreite links von der Mittelrippe war bis auf wenige Ausnahmen frei von Symptomen. Vereinzelt traten direkt an der Mittelrippe Befallsstellen auf. Diese wurden für die weiteren Berechnungen nicht mit in Betracht gezogen. Die Ölflecke entwickelten sich rasch weiter. Vier Tage nach der Inokulation waren 80 % der inokulierten Seite chlorotisch. Die inokulierte Seite wurde zunehmend brauner. Fünf Tage nach der Inokulation war fast das gesamte inokulierte Gewebe abgestorben.

Die Thermogramme der Blätter zeigten, dass drei Tage nach der Inokulation das infizierte Gewebe um  $0,8 \text{ }^\circ\text{C}$  kälter war als die nicht inokulierte Blatthälfte. Die Blatttemperatur des infizierten Gewebes nahm im Verlauf der Pathogenese weiter ab. Am vierten Tag nach der Inokulation betrug der Unterschied in der Gewebetemperatur zwischen inokulierter und nicht inokulierter Blatthälfte  $1,8 \text{ }^\circ\text{C}$ . Mit der Nekrotisierung der Befallsstellen ging eine Temperaturerhöhung des infizierten Blattgewebes einher. Am fünften Tag nach der Inokulation lag die Blatttemperatur der inokulierten Blattseite um  $0,7 \text{ }^\circ\text{C}$  über der Blatttemperatur der nicht inokulierten Hälfte (Abb. 23). Die Temperaturdifferenzen zwischen inokulierter und nicht inokulierter Blatthälfte sind in Abbildung 24 für die drei Messstermine dargestellt.

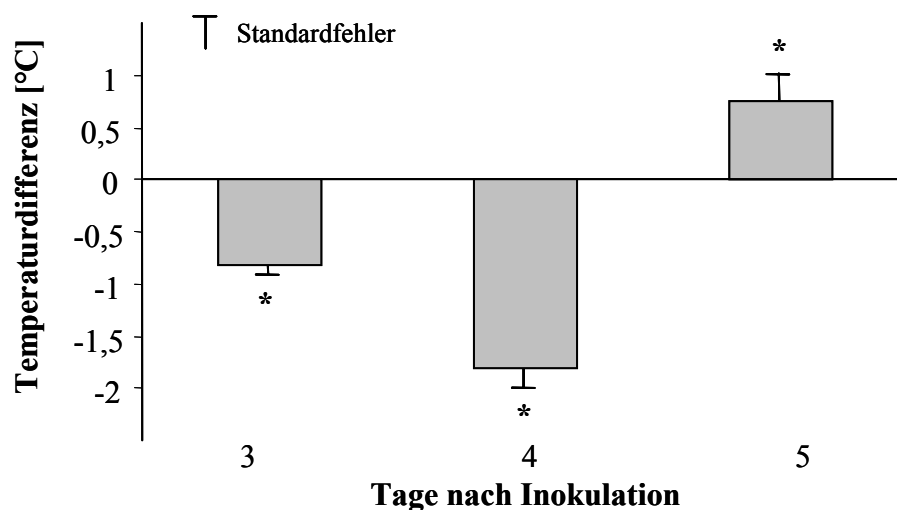


Abb. 24: Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf die Blatttemperatur von Gurken- gewebe drei, vier und fünf Tage nach Inokulation der rechten Blatthälfte. Angegeben ist die Temperaturdifferenz zwischen nicht inokuliertem und inokuliertem Gewebe ( $n = 9$ ; Inokulumkonzentration  $2 \times 10^5$  Zoosporangien; Messbedingungen:  $24 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  Lufttemperatur und  $60 \pm 10 \text{ } \%$  relative Luftfeuchtigkeit; Säulen mit „\*“ kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen inokuliertem und nicht inokuliertem Gewebe nach t-Test  $p \leq 0,05$ ).

### 3.3.2 Veränderung von Blatttemperatur und Transpirationsrate

In Abbildung 25 ist neben dem Einfluss von *P. cubensis* auf die Blatttemperatur im Verlauf der Pathogenese die Auswirkung des Befalls auf die Transpirationsrate der inokulierten Blatthälften abgebildet. Am dritten und vierten Tag nach der Inokulation, an denen die inokulierten Blatthälften 0,8 °C bzw. 1,8 °C geringere Temperaturen aufwiesen, gab das inokulierte Gewebe 0,5 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (= 35 %) mehr als das nicht inokulierte Blattgewebe ab. Mit dem Anstieg der Blatttemperatur des inokulierten Gewebes ging ein Rückgang der Transpirationsrate einher. Fünf Tage nach der Inokulation war die Transpirationsrate der inokulierten Blatthälften um 0,8 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (= 55 %) geringer als die Transpirationsrate der nicht inokulierten Blatthälften.

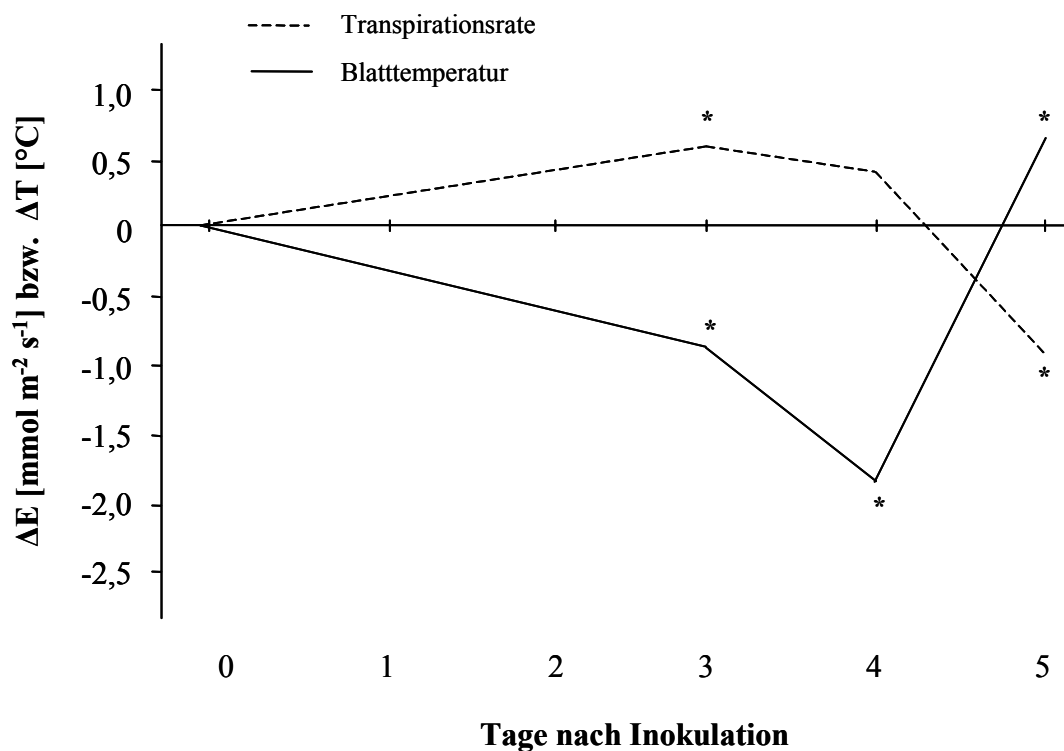


Abb. 25: Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf die Transpirationsrate und die Blatttemperatur von Gurkengewebe nach Inokulation der rechten Blatthälfte. Transpirationsrate und Blatttemperatur werden als Differenz ( $\Delta E$  bzw.  $\Delta T$ ) zwischen nicht inokuliertem und inokuliertem Gewebe angegeben ( $n = 9$ ; Inokulumkonzentration  $2 \times 10^5$  Zoosporangien; Messbedingungen:  $24 \pm 1$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 10$  % relative Luftfeuchtigkeit; „\*“ kennzeichnet signifikante Unterschiede, t-Test  $p \leq 0,05$ ).

### 3.3.3 Zusammenhang zwischen Blatttemperatur und Transpirationsrate

In welchem Zusammenhang der gegensätzliche Verlauf von Blatttemperatur und Transpirationsrate steht, wird in dem Streudiagramm in Abbildung 26 verdeutlicht. An sechs aufeinanderfolgenden Tagen wurde die Transpirationsrate von nicht inokuliertem und inokuliertem Blattgewebe gemessen und der entsprechenden Blatttemperatur gegenübergestellt. Es ergab sich eine starke negative lineare Korrelation zwischen den beiden Parametern mit einem Korrelationskoeffizienten von -0,84.

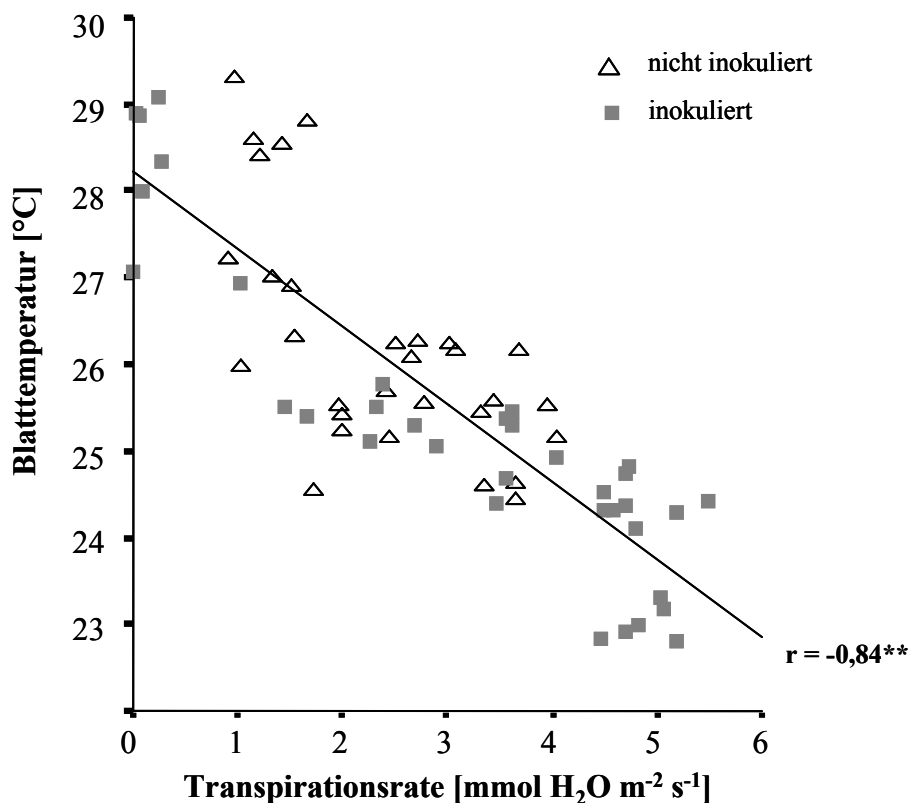


Abb. 26: Korrelation zwischen thermografisch erfasster Blatttemperatur und Transpirationsrate von nicht inokuliertem und mit *Pseudoperonospora cubensis* inokuliertem Gurkenblattgewebe an sechs aufeinanderfolgenden Tagen ( $n = 6$ ; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ;  $r = -0,84$ ;  $p \leq 0,01$ ).

### 3.4 Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf die Transpiration

Aus den bisherigen Untersuchungen wurde deutlich, dass sich die unterschiedlichen Blatttemperaturen während der Pathogenese von *P. cubensis* auf Transpirationsunterschiede zwischen nicht infiziertem und infiziertem Blattgewebe zurückführen lassen. Welche Einflüsse das Wachstum des Erregers auf das Wirtsgewebe besitzt, die für diese Schwankungen in der Transpirationsrate im Verlauf der Krankheitsentwicklung durch *P. cubensis* verantwortlich sein könnten, wurde in den folgenden Experimenten untersucht.

### 3.4.1 Einfluss auf das Blattgewebe

Der Einfluss der Entwicklung von *P. cubensis* auf das Gewebe von Gurkenblättern wurde mittels Semidünnschnitten von gesundem und von infiziertem Gewebe zu unterschiedlichen Krankheitsstadien untersucht. An nicht inokuliertem Gurkenblattgewebe war der typische Aufbau dikotyler Laubblätter zu erkennen. Das Blattgewebe wurde an Blattober- und -unterseite von der Epidermis begrenzt. Die Epidermiszellen enthielten keine Chloroplasten, waren voll turgeszent und lagen lückenlos nebeneinander. Die untere Epidermis wies zahlreiche Spaltöffnungen auf, aber auch auf der Blattoberseite konnten bei Gurkenblättern teilweise Spaltöffnungen nachgewiesen werden (im Verhältnis 4:1). Im Anschluss an die obere Epidermis folgte das Palisadenparenchym – eine Lage langgestreckter, chloroplastenreicher Zellen – die in engem Kontakt zueinander standen. Die darunter liegenden Zellen des Schwammparenchyms hatten eine gedrungene Gestalt, enthielten weniger Chloroplasten und waren weniger dicht angeordnet (Abb. 27A).

Im Vergleich zu gesundem Gewebe waren in den Gewebeproben, die zwei Tage nach der Inokulation mit *P. cubensis* entnommen wurden und makroskopisch noch keine Symptome zeigten, mikroskopisch bereits deutlich Unterschiede festzustellen. Der Gewebeverband zeigte bereits erste Auflösungserscheinungen. Es lag keine klare Trennung in Palisaden- und Schwammparenchym mehr vor und in den Interzellularen des gesamten Mesophylls waren Pilzhypen nachzuweisen. Sowohl Mesophyll- als auch Epidermiszellen waren noch turgeszent. Die Zellen des Palisadenparenchyms waren deutlich geschrumpft, der Kontakt zwischen benachbarten Zellen dadurch oft aufgehoben. Zusätzlich war die Anzahl der Chloroplasten deutlich reduziert, was als erstes Anzeichen des Zellabbaus angesehen werden kann (Abb. 27B).

In Semidünnschnitten von chlorotischem Gewebe fünf Tage nach der Inokulation konnte mikroskopisch eine Störung der Zellintegrität der Mesophyllzellen festgestellt werden. Sowohl Mesophyll- als auch Epidermiszellen waren nicht mehr turgeszent. Die Chloroplasten der Mesophyllzellen waren zu diesem Zeitpunkt vollständig abgebaut. In den Interzellularen war reichlich Pilzmyzel vorhanden (Abb. 27C).

In den Proben von nekrotischem Gewebe sieben Tage nach der Inokulation konnte unter mikroskopischer Betrachtung das Kollabieren der Mesophyllzellen nachgewiesen werden. Das Gewebe war vollständig zerstört und ausgetrocknet. Pilzmyzel war in diesem fortgeschrittenen Stadium der Krankheitsentwicklung kaum noch nachzuweisen (Abb. 27D).

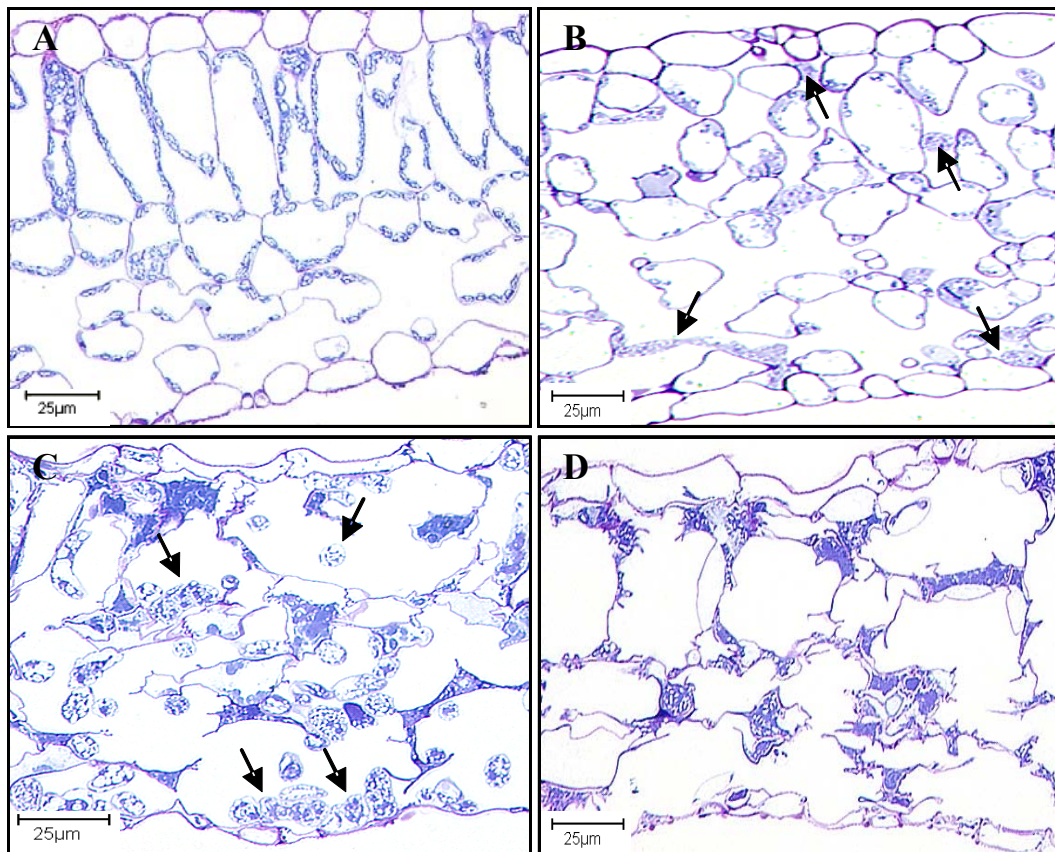


Abb. 27: Gurkenblattgewebe zu unterschiedlichen Stadien der Krankheitsentwicklung durch *Pseudoperonospora cubensis*:

A: nicht inokuliertes Gurkenblattgewebe

B: inokuliertes Gurkenblattgewebe frei von makroskopischen Symptomen des Falschen Mehltaus zwei Tage nach der Inokulation mit interzellulären Hyphen (Pfeile) und ersten Anzeichen von Zellabbau (Reduktion der Chloroplasten, geschrumpfte Mesophyllzellen)

C: chlorotisches Gewebe fünf Tage nach Inokulation mit interzellulären Hyphen (Pfeile) und nicht mehr turgeszenten Zellen

D: nekrotisches Gewebe sieben Tage nach der Inokulation mit vollständig kollabierten Zellen

(Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ;  $22 \pm 5$  °C; Durchlichtmikroskopie, Toluidinblau-Färbung)

### 3.4.2 Einfluss auf die Stomaöffnung

#### 3.4.2.1 Veränderung der Stomaöffnung im Verlauf der Pathogenese

Vom zweiten bis zum sechsten Tag nach der Inokulation wurden täglich Epidermisabzüge der Blattunterseite von Kontrollpflanzen und mit *P. cubensis* inokulierten Pflanzen entnommen, nachdem sie zwei Stunden Dunkelheit bzw. einer Lichtstärke von  $> 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ausgesetzt worden waren. Die Fläche der Stomaöffnungen wurde anschließend am Mikroskop bestimmt. Am zweiten Tag nach der Inokulation waren sowohl bei den Pflanzen, die bei

Dunkelheit aufgestellt worden waren, als auch bei Pflanzen, die einer Lichtstärke von  $> 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ausgesetzt waren, zwischen inokulierten und nicht inokulierten Blättern keine Unterschiede in der Stomaöffnung festzustellen. Bei den Pflanzen, die für zwei Stunden im Dunkeln gestanden hatten, war die Stomaöffnung der inokulierten Blätter am dritten Tag nach der Inokulation mit fast  $50 \mu\text{m}^2$  erstmalig deutlich größer als die Stomaöffnungen der nicht inokulierten Pflanzen ( $30 \mu\text{m}^2$ ). Auch an den darauffolgenden drei Tagen konnte nachgewiesen werden, dass die Stomata der inokulierten Pflanzen nach einer Dunkelperiode von mindestens zwei Stunden ungefähr doppelt so groß waren wie die Spaltöffnungen der Kontrollpflanzen. Die Stomaöffnungen der Kontrollpflanzen blieben mit  $25 \pm 5 \mu\text{m}^2$  im Laufe des Versuchs konstant, wohingegen die Stomaöffnungen inokulierter Pflanzen von  $24 \mu\text{m}^2$  zwei Tage nach der Inokulation auf Öffnungsweiten bis zu  $60 \mu\text{m}^2$  sechs Tage nach der Inokulation anstiegen (Abb. 28A).

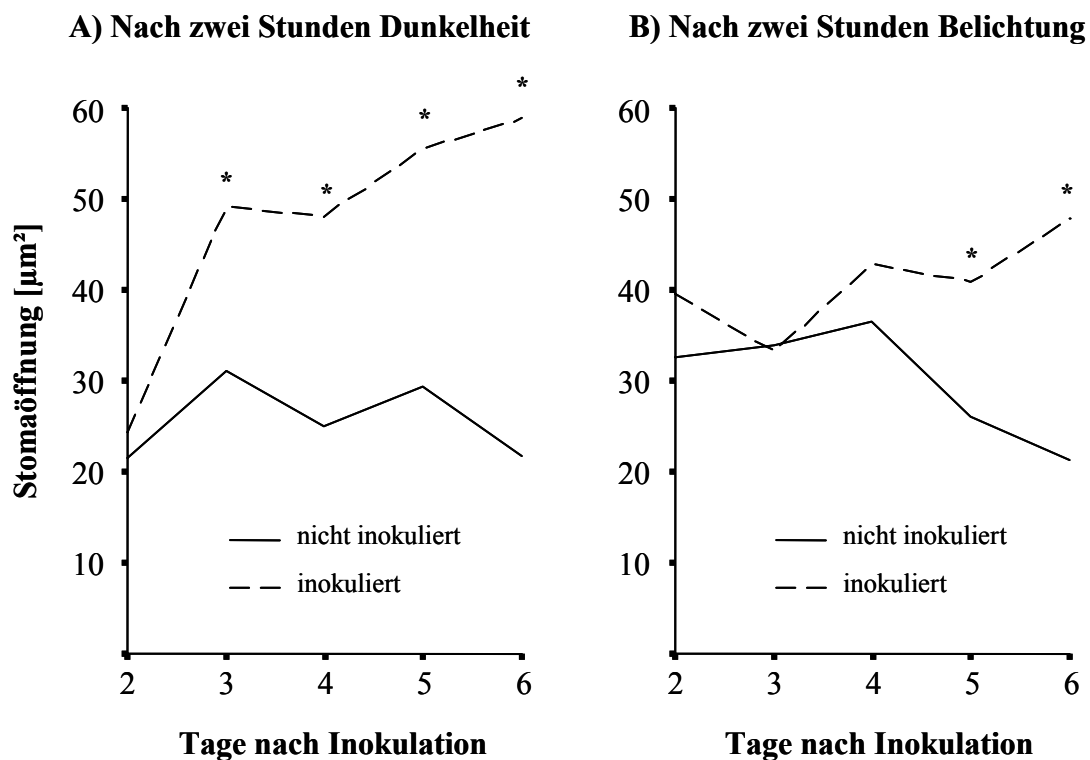


Abb. 28: Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf die Stomaöffnung nach zwei Stunden Dunkelheit (A) bzw. Belichtung (B) im Verlauf der Pathogenese untersucht an Epidermisabzügen der Blattunterseite ( $n = 30$  Stomata;  $22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; „\*“ kennzeichnet signifikante Unterschiede, t-Test  $p \leq 0,05$ ).

Nach mindestens zwei Stunden Belichtung zeigten die inokulierten Blätter bis zum vierten Tag nach der Inokulation bezüglich der Stomaöffnungen keine Unterschiede zu den Kontrollpflanzen. Stomaöffnungen von  $38 \pm 5 \mu\text{m}^2$  wurden sowohl bei inokuliertem als auch bei nicht inokuliertem Gewebe gemessen. Erst ab dem fünften Tag konnte eine größere Stomaöffnung der inokulierten Blätter im Vergleich zur Stomaöffnung der Kontrollpflanzen nachgewiesen werden. Sechs Tage nach der Inokulation waren die Stomaöffnungen der inokulierten Blätter nach mindestens zwei Stunden Belichtung mit  $48 \mu\text{m}^2$  zwar kleiner als die Stomaöffnung der inokulierten Blätter nach zwei Stunden Dunkelheit ( $58 \mu\text{m}^2$ ) aber mehr als doppelt so groß wie die Stomaöffnung der Kontrollpflanzen nach zwei Stunden Belichtung (Abb. 28B).

### 3.4.2.2 Unterschiede in der Stomaöffnung um eine Befallsstelle

In Abbildung 29 ist die Weite der Stomaapertur, als maximaler Abstand zweier benachbarter Schließzellen, von nicht infiziertem sowie von chlorotischem und nekrotischem Gurkenblattgewebe sechs Tage nach der Inokulation dargestellt.

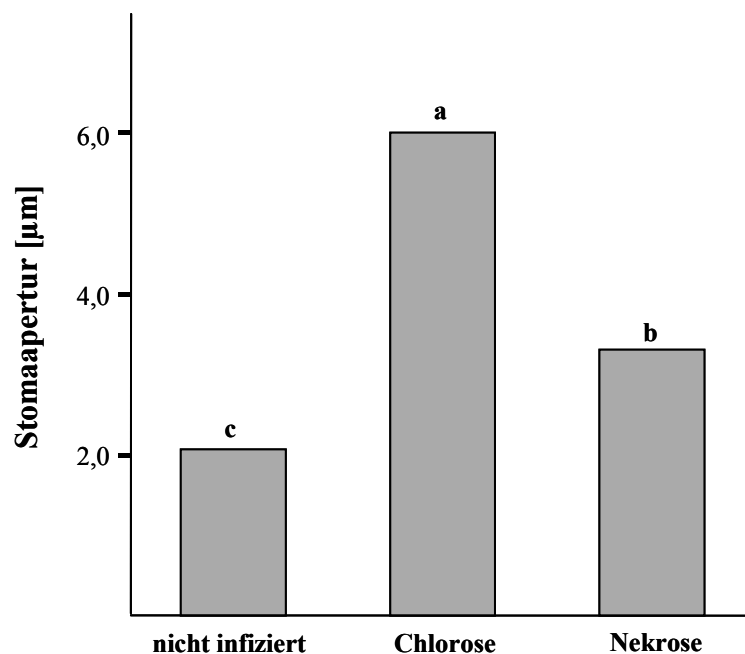


Abb. 29: Stomaaperture von nicht infiziertem sowie chlorotischem und nekrotischem Gurkenblattgewebe sechs Tage nach der Inokulation mit *Pseudoperonospora cubensis* bestimmt an Epidermisabzügen der Blattunterseite ( $n = 30$  Stomata;  $22 \pm 5$  °C; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).



Die Stomaapertur betrug bei nicht infiziertem Gewebe  $2 \pm 0,4 \mu\text{m}$ . Am weitesten waren die Stomata von chlorotischem Gewebe geöffnet. Eine Öffnungsweite der Stomata von  $6 \pm 1,4 \mu\text{m}$  wurde bei Chlorosen gemessen. Bei nekrotisiertem Gewebe waren die Stomata mit  $3,5 \pm 0,8 \mu\text{m}$  zwar noch weiter geöffnet als die Spaltöffnungen von nicht infiziertem Gewebe, aber weniger weit als von chlorotischem Gewebe.

### 3.4.3 Einfluss auf die Permeabilität von Zellmembranen

Der Einfluss von *P. cubensis* auf die Permeabilität von Zellmembranen wurde untersucht, indem die elektrische Leitfähigkeit der Mannitollösungen mit Blattgewebe von Kontrollpflanzen bzw. von inokulierten Versuchspflanzen vor und nach dem Autoklavieren bestimmt und der Verlust an Elektrolyten aus den Zellen in Prozent berechnet wurde. Der Elektrolytverlust von Zellen unterschiedlicher Blattbereiche wurde fünf Tage nach der Inokulation bestimmt. Der Elektrolytverlust von nicht infiziertem Blattgewebe wurde berechnet und zum einen mit dem Elektrolytverlust von Blattgewebe, welches direkt an Chlorosen angrenzte, aber noch keine sichtbaren Symptome von Falschem Mehltau aufwies (um Chlorose), und zum anderen mit dem Elektrolytverlust von chlorotischem Blattgewebe (Chlorose) verglichen. In Abbildung 30A ist das Ergebnis in Boxplots dargestellt.

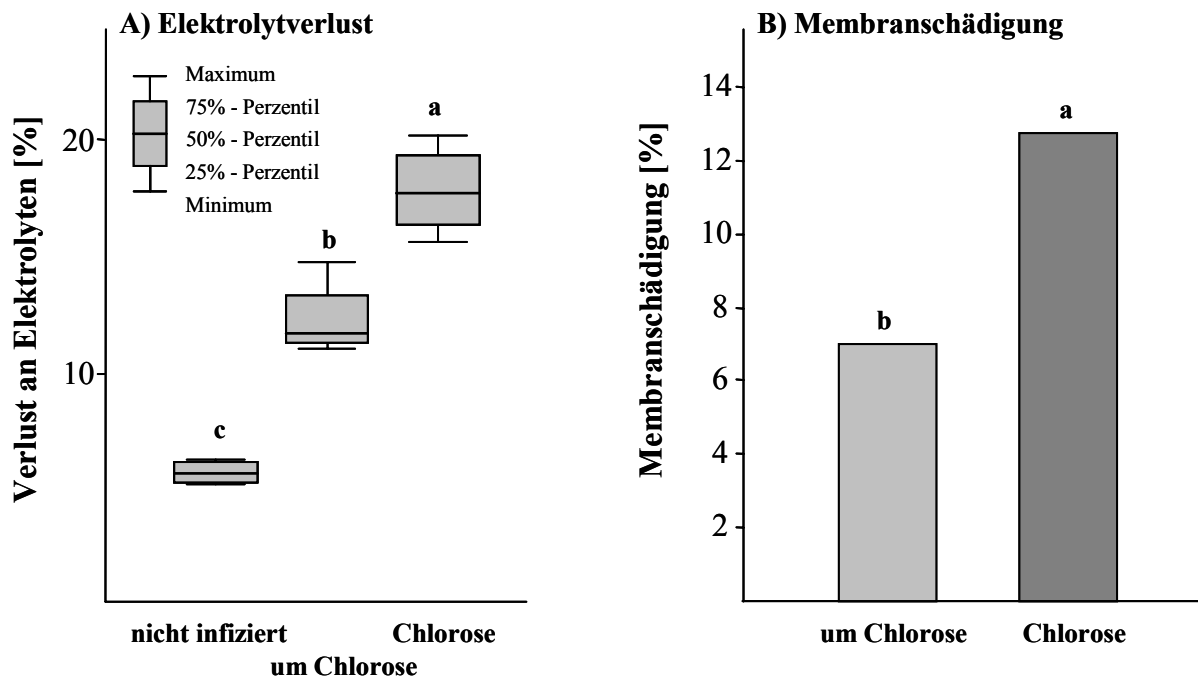


Abb. 30: Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf den Elektrolythaushalt von Gurkenblättern (A) bzw. Grad der Zellmembranschädigung (B) unterschiedlicher Blattbereiche (nicht infiziert, um Chlorosen, Chlorosen) fünf Tage nach der Inokulation ( $n = 6$ ;  $22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

Aus Zellen des nicht infizierten Gewebes traten mit 6 % am wenigsten Elektrolyte aus. Bei Gewebeproben die von Blattbereichen um eine Chlorose stammten, aber noch keine sichtbaren Symptome aufwiesen, konnte ein doppelt so großer Elektrolytverlust von ca. 12 % nachgewiesen werden. Der größte Elektrolytverlust von 17 % wurde bei Gewebeproben aus chlorotischen Blattbereichen festgestellt.

Berechnet man aus diesen Elektrolytverlusten für die verschiedenen Blattbereiche nach PREMACHANDRA & SHIMADA (1987) den Grad der Membranschädigung der infizierten Zellen, so ergibt sich für das Gewebe um Chlorosen eine Membranschädigung von 7 % bzw. eine Membranschädigung von 12,5 % für chlorotisches Gewebe (Abb. 30B).

#### **3.4.4 Einfluss auf den Wassergehalt des Blattgewebes**

Neben dem Einfluss von *P. cubensis* auf die Stomaöffnung und die Membranschädigung infizierter Blattbereiche, wurden Untersuchungen zum Wassergehalt infizierter Blattgewebe im Verlauf der Pathogenese durchgeführt. Der Wassergehalt des Gewebes von Gurkenblättern blieb bei Kontrollpflanzen während des gesamten Versuchszeitraums unverändert. Im Blattgewebe schwankte die Wassermenge an den sieben Messungen um  $18 \pm 1 \text{ mg cm}^{-2}$  (= 91 % des Frischgewichts). Bis zum zweiten Tag nach der Inokulation lag der Wassergehalt der inokulierten Blattproben ebenfalls bei  $18 \text{ mg cm}^{-2}$ . Am dritten Tag nach der Inokulation traten makroskopisch die ersten Symptome auf, 80 % der ausgestanzten Blattproben zeigten Ölflecke. Der Wassergehalt der inokulierten Blattproben war in diesem Stadium der Pathogenese mit  $21 \text{ mg cm}^{-2}$  höher als der Wassergehalt der nicht inokulierten Blattproben. Anschließend ging der Wassergehalt der inokulierten Blattproben stetig zurück. Am vierten Tag nach der Inokulation waren die Blattproben zu 80 % chlorotisch. Der Wassergehalt zwischen inokuliertem und nicht inokuliertem Blattgewebe unterschied sich zu diesem Zeitpunkt nicht. Ab dem fünften Tag nach der Inokulation verfärbten sich die Chlorosen zunehmend braun bis am siebten Tag nach der Inokulation schließlich 70 % der Blattscheiben nekrotisch war. Zeitgleich mit dem Erscheinen der ersten Nekrosen war der Wassergehalt der inokulierten Blattproben geringer als der Wassergehalt der nicht inokulierten Blattstückchen. Zu Versuchsende machte der Wassergehalt der inokulierten Blattstückchen lediglich  $9 \text{ mg cm}^{-2}$  aus und war somit 50 % geringer als der Wassergehalt nicht inokulierter Blattstückchen (Abb. 31).

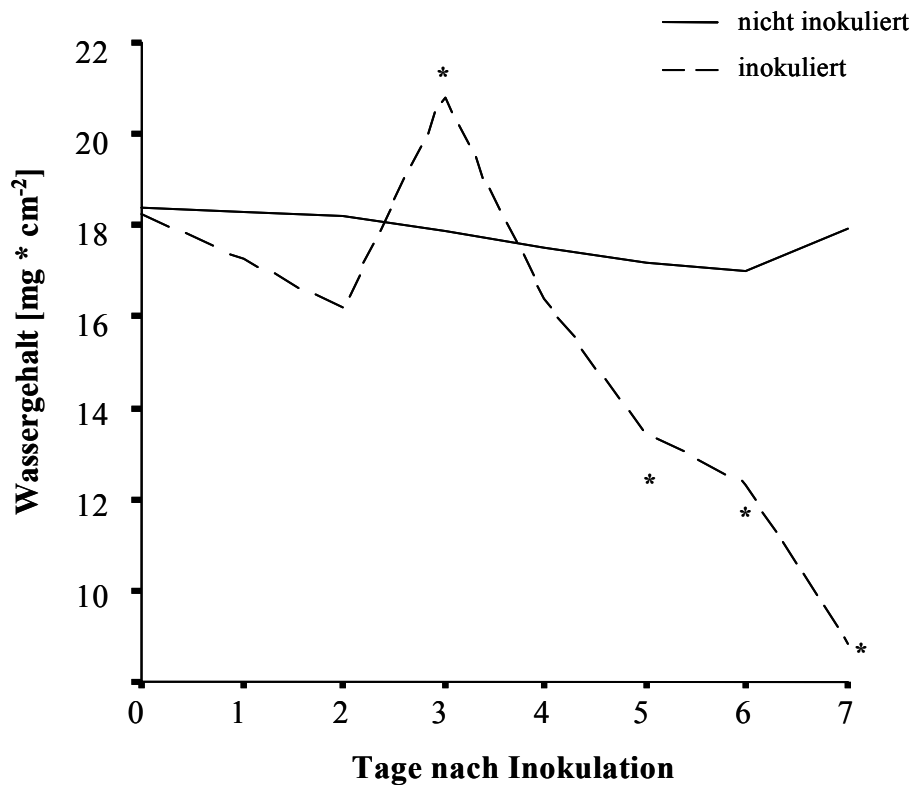


Abb. 31: Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf den Wassergehalt pro cm<sup>2</sup> Blattgewebe im Verlauf der Pathogenese (n = 6; 22 ± 5 °C; Inokulumkonzentration 5 x 10<sup>4</sup> Zoosporangien ml<sup>-1</sup>; „\*“ kennzeichnen signifikante Unterschiede, t-Test p ≤ 0,05).

### 3.5 Differenzierung gesunder und infizierter Gurkenblätter

Die bisherigen Untersuchungen haben gezeigt, dass der Erreger *P. cubensis* während der Besiedlung des Wirtsgewebes zu physiologischen Veränderungen der Wirtspflanze führt, die in veränderten Transpirationsraten der infizierten Gewebebereiche zum Ausdruck kommen. Die Ergebnisse ließen weiterhin erkennen, dass eine indirekte Visualisierung der Transpirationsrate in Thermogrammen möglich ist. Die Auswirkungen eines Befalls mit *P. cubensis* auf die Blatttemperatur wurde in den folgenden Laborexperimenten genutzt, um eine Differenzierung gesunder und infizierter Gurkenblättern anhand von Thermogrammen vor zu nehmen.

#### 3.5.1 Temperaturmuster nach Sprühinokulation ganzer Blätter

Die Charakterisierung der räumlichen und zeitlichen Dynamik der Blatttemperatur von mit *P. cubensis* infiziertem Gewebe im Verlauf der Pathogenese wurde an Gurkenblättern untersucht, deren gesamte Blattunterseite einheitlich inokuliert wurde, bevor sie bei optimalen Inkubationsbedingungen weiter kultiviert wurden.

Bei der Applikation von 2 ml Zoosporangiensuspension ( $= 2 \times 10^5$  Zoosporangien) auf die gesamte Blattfläche mit Hilfe eines Pumpzerstäubers traten nach vier Tagen über die ganze Blattspreite der Gurkenblätter verteilt die ersten Ölflecke auf (10 %). Diese nahmen an Größe zu, flossen teilweise zusammen und entwickelten sich weiter zu Chlorosen, die fünf Tage nach der Inokulation die Hälfte der Blattfläche bedeckten. Im weiteren Verlauf der Pathogenese breiteten sich die Chlorosen weiter aus und verfärbten sich zunehmend braun. Am sechsten Tag nach der Inokulation wiesen bereits 70 % der Blattfläche Symptome auf, wovon 30 % Chlorosen und 40 % Nekrosen zuzuordnen waren. Nach weiteren zwei Tagen waren 80 % der Blattfläche abgestorben, 10 % waren noch chlorotisch. Die Kontrollpflanzen wiesen während des gesamten Versuchszeitraums weder biotische noch abiotische Schäden auf (Abb. 32).

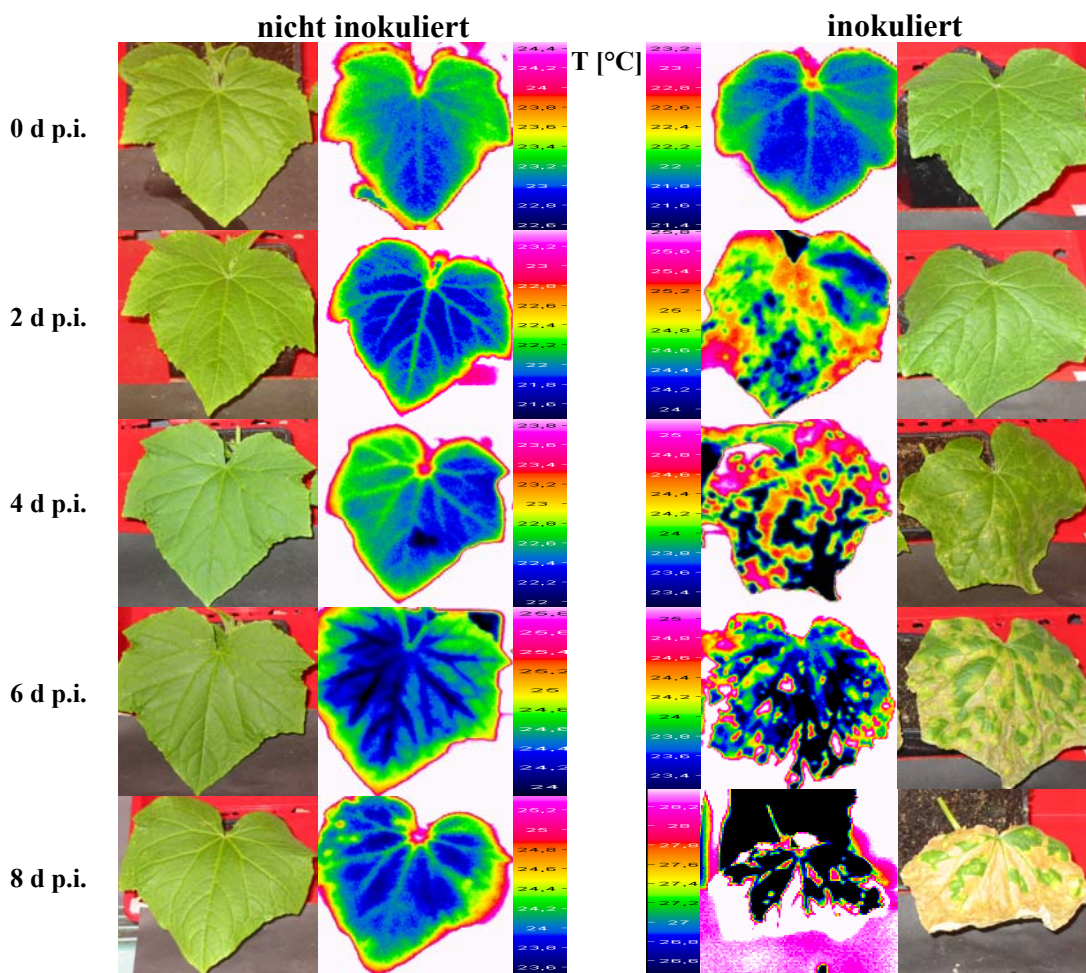


Abb. 32: Lichtbilder (außen) und Thermogramme (innen) von nicht inokulierten (links) und mit *Pseudoperonospora cubensis* inokulierten Gurkenblättern (rechts) im Abstand von 48 Stunden bis zum achten Tag nach der Inokulation (d p.i; Inokulation der gesamten Blattfläche mit  $2 \times 10^5$  Zoosporangien; Messbedingungen:  $26 \pm 2$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 5$  % relative Luftfeuchtigkeit).

Über einen Versuchszeitraum von acht Tagen wurden jeden zweiten Tag Thermogramme der Kontrollpflanzen und der inokulierten Gurkenblätter erstellt. Die Thermogramme der unbefallenen Pflanzen wiesen bei jeder Messung eine sehr homogene Temperaturverteilung auf. Es bestanden geringe Unterschiede zwischen den Temperaturextremen innerhalb einer Blattspreite.

Kurz vor der Inokulation war die Verteilung der Blattemperatur innerhalb der inokulierten Blätter ebenfalls homogen, die Thermogramme der zu inokulierenden Blätter nicht von denen der Kontrollpflanzen zu differenzieren. Bereits am zweiten Tag nach der Inokulation konnten dagegen anhand der Thermogramme in der Temperaturverteilung inokulierter und nicht inokulierter Gurkenblätter Unterschiede festgestellt werden. Die Temperaturverteilung der inokulierten Blätter war deutlich heterogener. Es bildete sich ein typisches Verteilungsmuster der Temperatur aus. Auch in den Thermogrammen der inokulierten Gurkenblätter vom vierten, sechsten und achten Tag nach der Inokulation war diese Heterogenität der Temperaturverteilung zu beobachten. Sowohl die Form des Temperaturmusters als auch die Größe der Temperaturdifferenzen innerhalb der Blattspreite veränderte sich im Verlauf der Pathogenese, die ungleichmäßige Temperaturverteilung blieb aber vom zweiten Tag bis zum Versuchsende erhalten (Abb. 32).

### **3.5.2 Einfluss von *P. cubensis* auf die Maximale Temperaturdifferenz**

Um die Temperaturverteilung innerhalb eines Gurkenblatts mit einem einfachen Parameter quantifizieren zu können, wurde die Hilfsgröße der Maximalen Temperaturdifferenz definiert. Die Maximale Temperaturdifferenz eines Gurkenblatts ist die Differenz zwischen den beiden Temperaturextremen innerhalb des Polygons, welches in dem dazugehörigen Thermogramm das Gurkenblatt beschreibt.

#### **3.5.2.1 Entwicklung der Maximalen Temperaturdifferenz im Verlauf der Pathogenese**

Die homogene Temperaturverteilung der nicht inokulierten Gurkenblätter resultierte in einer Maximalen Temperaturdifferenz von  $0,9 \pm 0,2$  °C. Dieser Wert blieb für nicht inokulierte Gurkenblätter während des gesamten Versuchszeitraums konstant.

Die Maximale Temperaturdifferenz der zu inokulierenden Blätter betrug kurz vor der Inokulation ebenfalls 0,8 °C und unterschied sich nicht signifikant von dem Wert der Kontrollpflanzen. Die ungleichmäßige Temperaturverteilung und die größeren Unterschiede in der Blattemperatur der inokulierten Gurkenblätter zwei Tage nach der Inokulation ließen sich mit der Maximalen Temperaturdifferenz quantitativ erfassen. Mit 1,2 °C war die

Maximale Temperaturdifferenz der inokulierten Blätter am zweiten Tag nach der Inokulation, also bereits zwei Tage bevor erste Symptome sichtbar wurden, um 0,4 °C größer als die der Kontrollpflanzen. Im Verlauf der Krankheitsentwicklung durch *P. cubensis* nahm die Maximale Temperaturdifferenz der inokulierten Blätter weiter zu und die Differenz zwischen Temperaturmaximum und Temperaturminimum der inokulierten Gurkenblätter erreichte acht Tage nach der Inokulation mit 3,8 °C ihren höchsten Wert (Abb. 33).

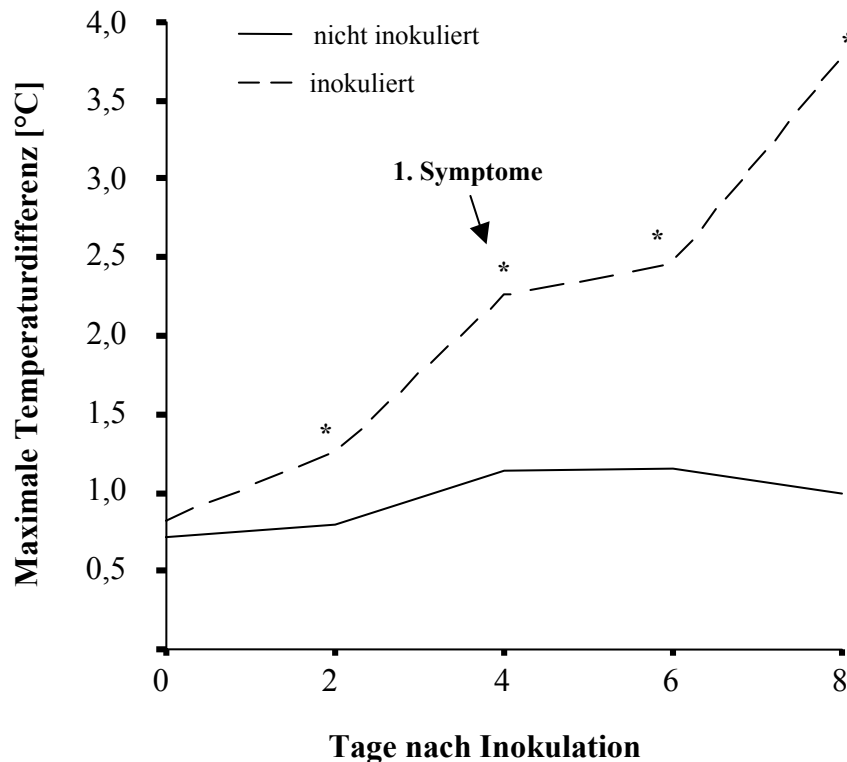


Abb. 33: Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf die Maximale Temperaturdifferenz von Gurkenblättern im Verlauf der Pathogenese (n = 6; Inokulation der gesamten Blattfläche mit  $2 \times 10^5$  Zoosporangien; Messbedingungen:  $26 \pm 2$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 5$  % relative Luftfeuchtigkeit; Pfeil kennzeichnet Auftreten der ersten Symptome; „\*“ kennzeichnet signifikante Unterschiede, t-Test  $p \leq 0,05$ ).

### 3.5.2.2 Zusammenhang zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und Befallsstärke

Die Abhängigkeit der Maximalen Temperaturdifferenz von der Befallsstärke wurde an Gurkenblättern untersucht, die nicht inokuliert bzw. mit vier unterschiedlichen Inokulumdichten von *P. cubensis* inokuliert worden waren. Die Ergebnisse sind in Abbildung 34 für den sechsten (Abb. 34A), siebten (Abb. 34B) bzw. achten (Abb. 34C) Tag nach der Inokulation dargestellt. An allen drei Tagen bestand ein starker positiver Zusammenhang zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und Befallsstärke. Es wurde sowohl eine lineare als auch eine quadratische Regression durchgeführt. An allen drei Messterminen ergab die

nichtlineare Kurvenanpassung höhere Regressionskoeffizienten als die lineare Regression und war daher besser geeignet, den Zusammenhang zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und Befallsstärke zu beschreiben.

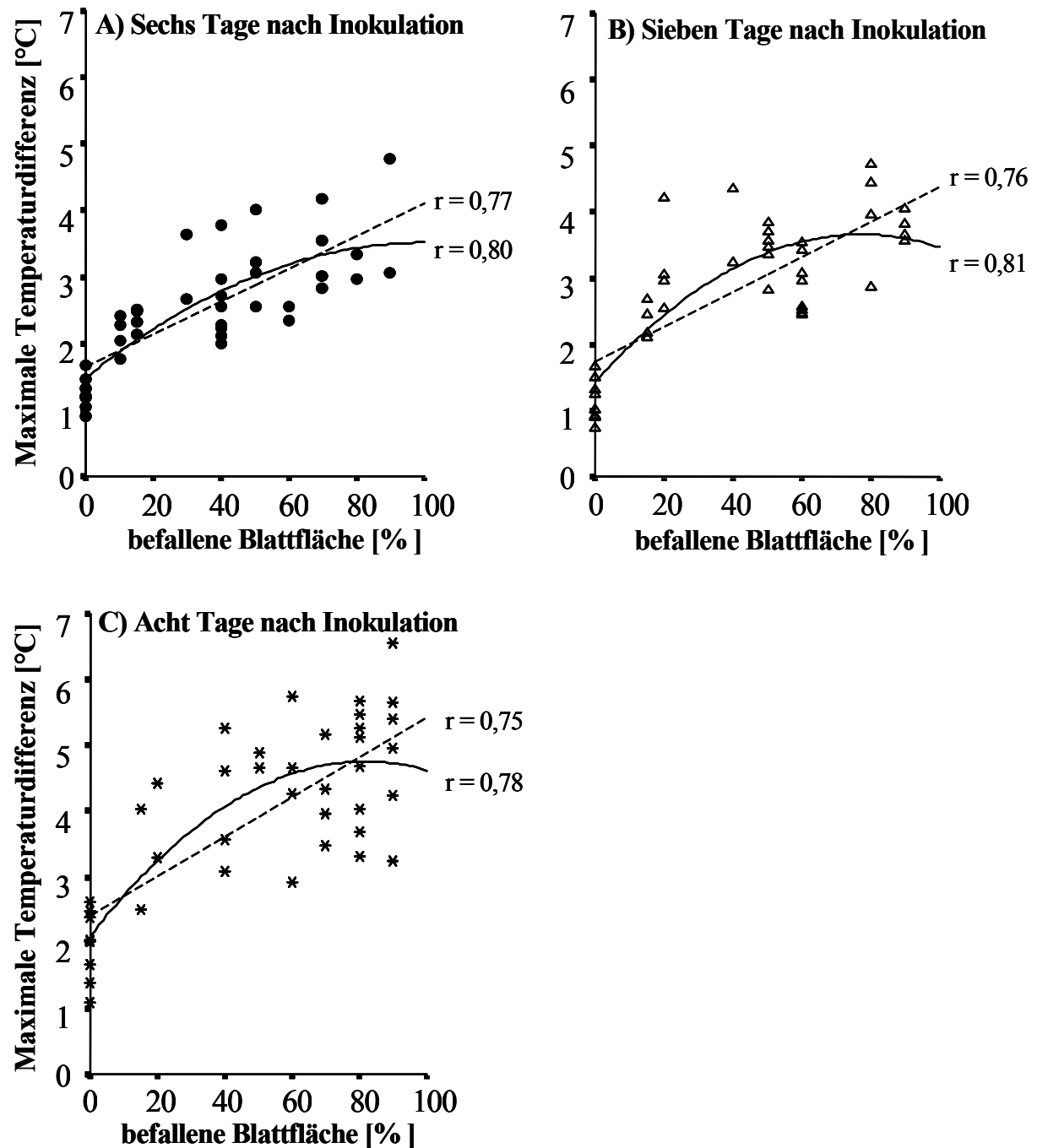


Abb. 34: Lineare und quadratische Regression zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und Befallsstärke von nicht inokulierten und mit vier Dichten von *Pseudoperonospora cubensis* inokulierten Gurkenblättern am sechsten (A), siebten (B) und achten (C) Tag nach der Inokulation ( $n = 8$ ; Inokulation der gesamten Blattfläche mit  $2,5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  bzw.  $2 \times 10^5$  Zoosporengien; Messbedingungen:  $26 \pm 2$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 10$  % relative Luftfeuchtigkeit;  $p \leq 0,05$ ).

### 3.5.3 Einfluss von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit

Untersucht wurde an nicht inokulierten und mit *P. cubensis* inokulierten Gurkenblättern, ob die Verteilung der Blatttemperatur eine von Umweltbedingungen unabhängige Größe ist. Hierfür wurden täglich bis zum sechsten Tag nach der Inokulation bei unterschiedlichen Umweltbedingungen Thermogramme inokulierter und nicht inokulierter Gurkenblätter angefertigt und die Maximale Temperaturdifferenz berechnet. Folgende Szenarien konnten in der zur Verfügung stehenden Messkammer realisiert werden:

- 26 °C Lufttemperatur, 60 % relative Luftfeuchtigkeit
- 26 °C Lufttemperatur, 90 % relative Luftfeuchtigkeit
- 16 °C Lufttemperatur, 80 % relative Luftfeuchtigkeit
- 21 °C Lufttemperatur, 80 % relative Luftfeuchtigkeit

Am vierten Tag nach der Inokulation traten auf 20 % der inokulierten Blattfläche die ersten Symptome von Falschem Mehltau auf. Einen Tag später wiesen 40 % der Blattfläche Chlorosen und weitere 20 % Nekrosen auf. Sechs Tage nach der Inokulation waren 40 % der Blattfläche abgestorben und 30 % des Blattgewebes waren chlorotisch. Die Kontrollpflanzen zeigten während des gesamten Versuchszeitraums weder abiotische noch biotische Schäden.

Der Einfluss der Umweltbedingungen auf die Maximale Temperaturdifferenz nicht inokulierter sowie inokulierter Blätter ist in Tabelle 3 dargestellt. Kurz vor der Inokulation sowie einen Tag nach der Inokulation hatten weder die unterschiedlichen Umweltbedingungen zum Aufnahmezeitpunkt noch die Inokulation mit *P. cubensis* einen Einfluss auf die Maximale Temperaturdifferenz der Gurkenblätter. Sie belief sich an den ersten zwei Versuchstagen bei allen Messungen auf  $0,63 \pm 0,11$  °C. Am zweiten Tag nach der Inokulation wiesen die Umweltbedingungen und die Inokulation erstmalig einen Einfluss auf die Maximale Temperaturdifferenz auf. Die Maximale Temperaturdifferenz inokulierter Gurkenblätter war bei 26 °C Lufttemperatur und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % größer als die nicht inokulierter Gurkenblätter bei gleichbleibender Lufttemperatur und 90 % relativer Luftfeuchtigkeit. Ab dem dritten Tag nach der Inokulation, ein Tag vor Sichtbarwerden der ersten Symptome, waren die Maximalen Temperaturdifferenzen inokulierter Gurkenblätter größer als die nicht inokulierter Gurkenblätter. Eine Ausnahme stellten die Maximalen Temperaturdifferenzen dar, die bei 16 °C Lufttemperatur und 80 % relativer Luftfeuchtigkeit gemessen wurden. Unter diesen Messbedingungen konnte anhand der Maximalen Temperaturdifferenz drei Tage nach der Inokulation nicht zwischen inokulierten und nicht



inokulierten Gurkenblätter differenziert werden. Ab dem vierten Tag nach der Inokulation war die Maximale Temperaturdifferenz inokulierter Gurkenblätter unter allen Umweltbedingungen größer als die nicht inokulierter Gurkenblätter. Weder Lufttemperatur noch relative Luftfeuchtigkeit zu den sieben Messterminen hatten einen Einfluss auf die Maximale Temperaturdifferenz nicht inokulierter Gurkenblätter. Die Maximale Temperaturdifferenz inokulierter Gurkenblätter wurde dagegen von den Umweltbedingungen in der Messkabine beeinflusst.

Tab. 3: Einfluss der Messbedingungen sowie der Inokulation mit *Pseudoperonospora cubensis* auf die Maximale Temperaturdifferenz innerhalb eines Gurkenblatts im Verlauf der Pathogenese (n = 6; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

Maximale Temperaturdifferenz [ °C ]								
Tage nach Inokulation								
Umwelt	inokuliert	0	1	2	3	4	5	6
26 °C,	-	0,71a	0,61a	0,76 ab	0,77 bc	0,74 cd	0,82 cd	0,68 d
60 % rLF	+	0,67a	0,62a	0,80 a	1,00 a	1,14 a	3,18 a	3,37 a
26 °C,	-	0,74a	0,59a	0,57 b	0,53 c	0,52 d	0,73 cd	0,60 d
90 % rLF	+	0,66a	0,63a	0,68 ab	0,79 b	0,81 c	1,94 b	2,34 b
16 °C,	-	0,70a	0,52a	0,60 ab	0,50 c	0,60 d	0,66 d	0,49 d
80 % rLF	+	0,62a	0,62a	0,64 ab	0,69 c	0,94 bc	1,21 c	1,11 c
21 °C,	-	0,60a	0,58a	0,61 ab	0,56 c	0,53 d	0,58 d	0,58 d
80 % rLF	+	0,57a	0,63a	0,69 ab	1,00 a	1,08 ab	1,16 c	2,65 b

Wie sich der Einfluss von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit auf die Maximale Temperaturdifferenz der Gurkenblätter bemerkbar machte, wird in Abbildung 35 beispielhaft für den sechsten Tag nach der Inokulation verdeutlicht. Bei einer Lufttemperatur von 26 °C wurde durch die Erhöhung der relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % auf 90 % die Maximale Temperaturdifferenz inokulierter Gurkenblätter von 3,37 °C auf 2,34 °C reduziert (Abb. 35A). Eine Steigerung der Lufttemperatur von 16 °C auf 21 °C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit um 80 % führte dagegen zu einer Erhöhung der Maximalen Temperaturdifferenz inokulierter Blätter von 1,11 °C auf 2,65 °C (Abb. 35B).

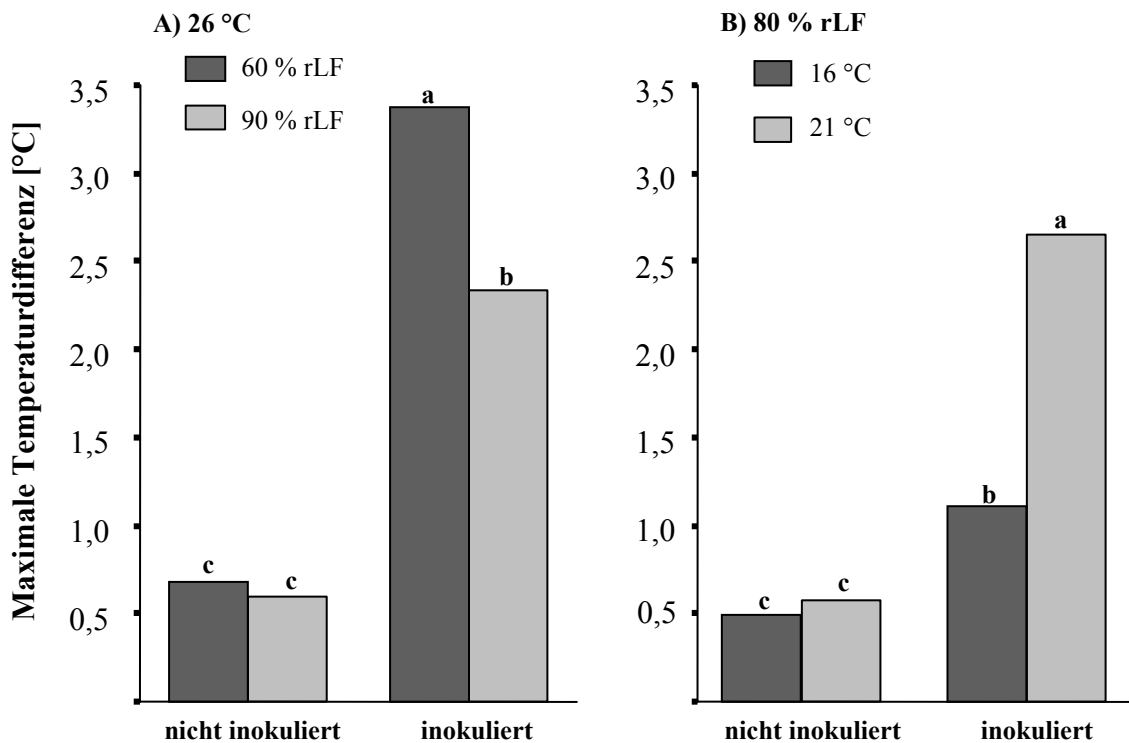


Abb. 35: Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit (A) und der Lufttemperatur (B) auf die Maximale Temperaturdifferenz nicht inokulierter und mit *Pseudoperonospora cubensis* inokulierter Gurkenblätter sechs Tage nach der Inokulation ( $n = 6$ ; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede nach Tukey  $p \leq 0,05$ ).

Die Abhängigkeit des Temperaturmusters inokulierter Gurkenblätter von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit zum Zeitpunkt der thermografischen Aufnahme wird in Abbildung 36 veranschaulicht. In Abhängigkeit der Umweltbedingungen unterlag die Maximale Temperaturdifferenz des inokulierten Gurkenblatts starken Schwankungen. Beispielsweise war die Maximale Temperaturdifferenz bei 26 °C Lufttemperatur und 60 % relativer Luftfeuchtigkeit mit 2,35 °C fast dreimal so groß wie bei 16 °C Lufttemperatur und 80 % relativer Luftfeuchtigkeit (0,75 °C).

Demgegenüber unterschieden sich die Maximale Temperaturdifferenzen des nicht inokulierten Gurkenblatts in den verschiedenen Umwelten nicht voneinander. Unter allen vorgestellten Umwelten besaß das nicht inokulierte Gurkenblatt eine Maximale Temperaturdifferenz von  $0,58 \pm 0,04$  °C (Abb. 37).

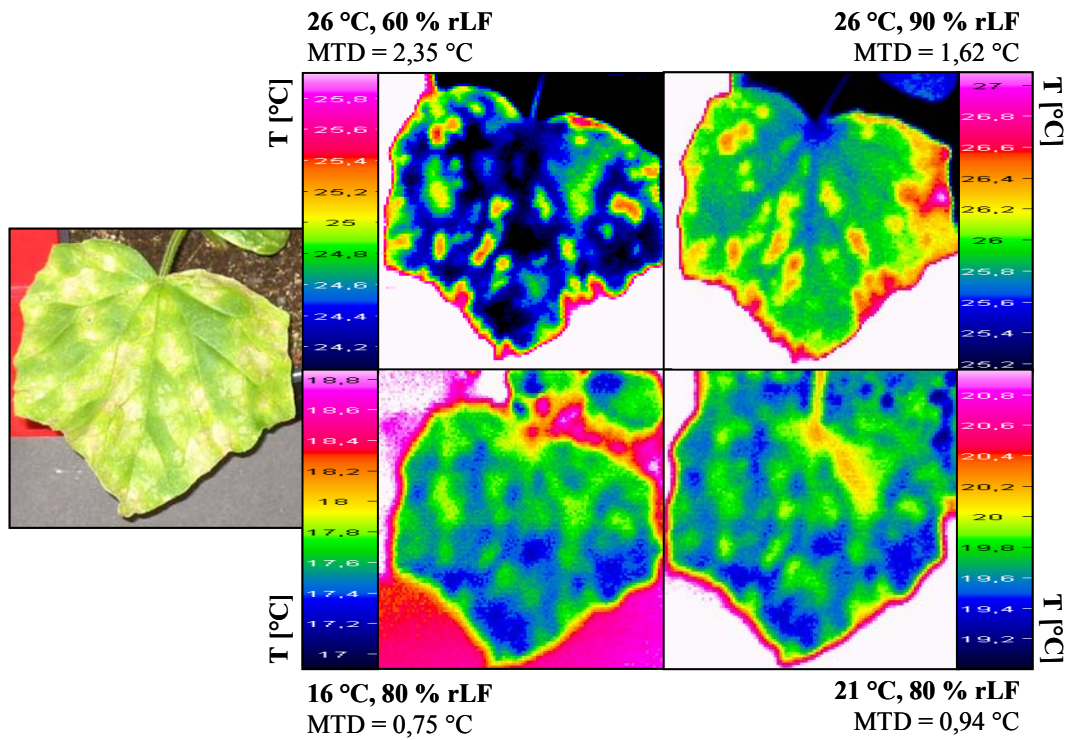


Abb. 36: Lichtbild und unter unterschiedlichen Messbedingungen aufgenommene Thermogramme mit Maximaler Temperaturdifferenz (MTD) eines mit *Pseudoperonospora cubensis* inokulierten Gurkenblatts fünf Tage nach der Inokulation (Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ).

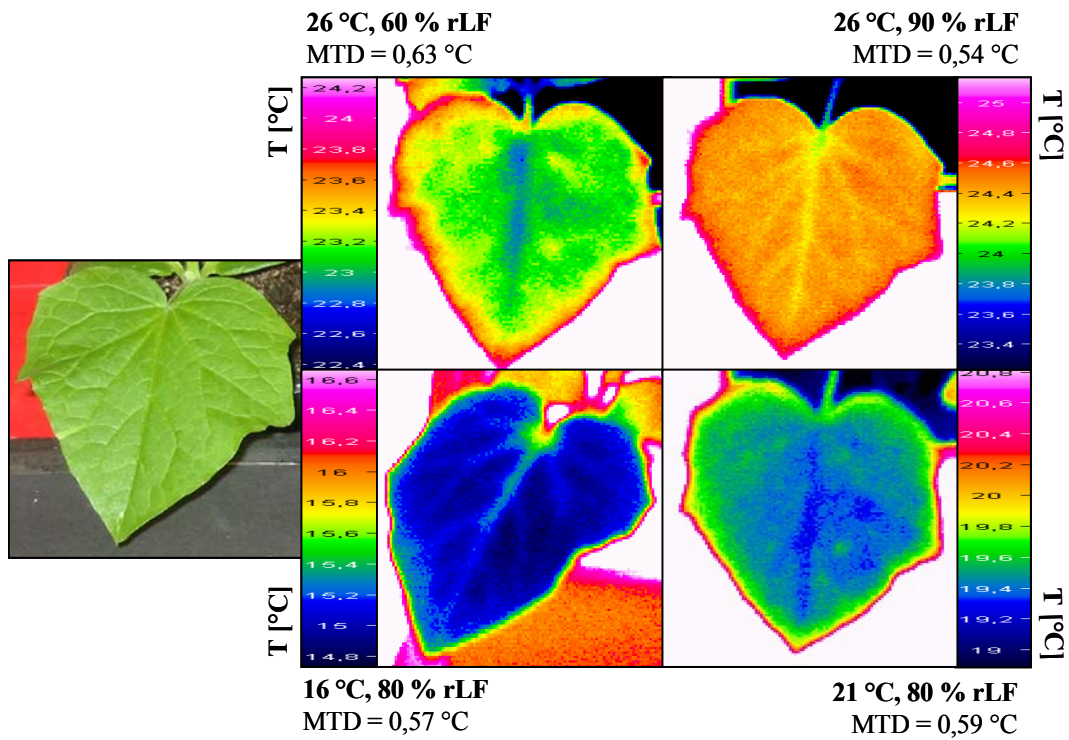


Abb. 37: Lichtbild und unter unterschiedlichen Messbedingungen aufgenommene Thermogramme mit Maximaler Temperaturdifferenz (MTD) eines nicht inokulierten Gurkenblatts.

Auch auf den Zusammenhang zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und befallener Blattfläche hatten die Umweltbedingungen, wie in Abbildung 38 dargestellt, einen Einfluss. Wie aus dem Streudiagramm hervorgeht, bestand unabhängig von den Umweltbedingungen eine positive lineare Korrelation zwischen den beiden Größen. Allerdings besaßen die Umweltbedingungen, unter denen die thermografischen Messungen gemacht wurden, einen Einfluss auf die Stärke der Korrelation. Bei einer Lufttemperatur von 26 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % bestand eine sehr starke positive Korrelation zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und Befallsstärke ( $r = 0,92$ ). Wurden die Thermogramme dagegen bei 16 °C Lufttemperatur und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 80 % erstellt war der Korrelationskoeffizient deutlich kleiner ( $r = 0,37$ ).

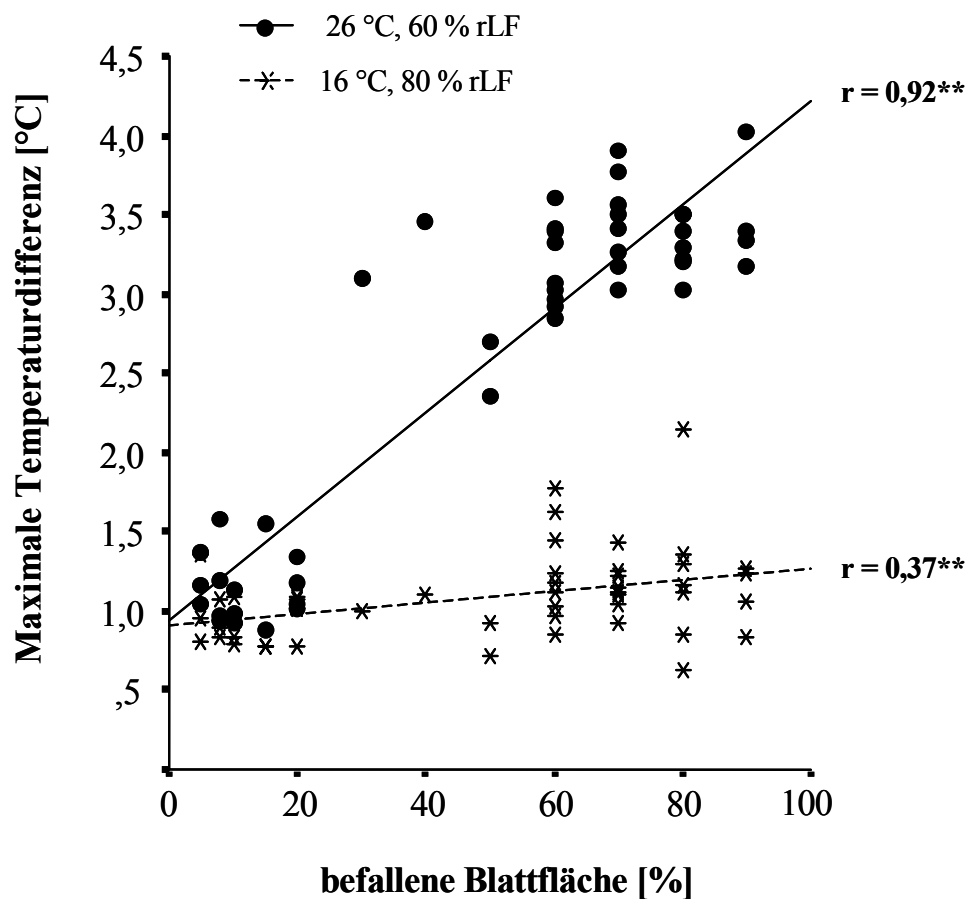


Abb. 38: Einfluss der Messbedingungen auf die Korrelation zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und Befallsstärke mit Falschem Mehltau befallener Gurkenblätter vier, fünf und sechs Tage nach der Inokulation ( $n = 16$ ; Inokulumkonzentration  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$ ;  $p \leq 0,01$ ).

### 3.5.4 Einfluss von Falschem Mehltau und Echem Mehltau auf das Temperaturmuster

Nachdem die Differenzierung nicht inokulierter und mit *P. cubensis* inokulierter Gurkenblätter mit Hilfe von Thermogrammen und dem Parameter der Maximalen Temperaturdifferenz bereits vor Auftreten der ersten Symptome erfolgreich war, wurden vergleichende Untersuchungen mit den Erregern des Echten Gurkenmehltaus durchgeführt.

In Abbildung 39 sind Thermogrammen eines nicht inokulierten Gurkenblatts an sechs aufeinanderfolgenden Tagen Thermogramme eines mit *P. cubensis* bzw. mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* inokulierten Gurkenblatts gegenübergestellt. Rot umrandet sind die Thermogramme der Tage, an denen erstmalig makroskopisch sichtbare Symptome auftraten. Zusätzlich ist das Lichtbild des entsprechenden Gurkenblatts zu Versuchsende abgebildet.

Die Temperaturverteilung der Kontrollblätter war während des gesamten Versuchszeitraums sehr einheitlich, das Temperaturmuster innerhalb der Blattspreite sehr uniform. Im Gegensatz dazu wies das Thermogramm des mit *P. cubensis* inokulierten Gurkenblatts bereits einen Tag nach der Inokulation eine heterogenere Temperaturverteilung auf. Einige Blattbereiche wichen in ihrer Temperatur zu diesem Zeitpunkt deutlich von der Durchschnittstemperatur der Blattfläche ab. Die ersten Symptome des Falschen Mehltaus wurden erst am darauffolgenden Tag bonitiert. Die Unterschiede in der Temperaturverteilung nahmen im weiteren Verlauf an Fläche und Stärke zu. Ab dem dritten Tag nach der Inokulation war die gesamte Blattfläche durch kleine – in sich einheitliche – Temperaturzonen gekennzeichnet. Diese Temperatur-zonen unterschieden sich in Form und Größe voneinander und waren hinsichtlich ihrer Temperatur deutlich von den benachbarten Temperaturzonen abgrenzbar. Die Form des Temperaturmusters veränderte sich von einem Messtermin zum nächsten und die Unterschiede in der Temperatur zwischen den Temperaturzonen nahmen zu.

Demgegenüber war das Temperaturmuster des mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* inokulierten Gurkenblatts bis zum dritten Tag nach der Inokulation sehr einheitlich. Das Thermogramm war nicht von dem Thermogramm des nicht inokulierten Gurkenblatts zu unterscheiden. Erste Unregelmäßigkeiten in der Temperaturverteilung traten am vierten Tag nach der Inokulation auf. An diesem Tag waren auch deutlich erste Symptome des Echten Mehltaus, weißer Sporenbelag auf der Blattoberseite, zu erkennen. Am fünften und sechsten Tag nach der Inokulation konnten in den Thermogrammen Punkte mit niedrigeren Temperaturen identifiziert werden, die auf nur wenige Pixel begrenzt waren. Zu Versuchsende waren 15 % der Blattfläche mit weißem Sporenbelag überzogen.

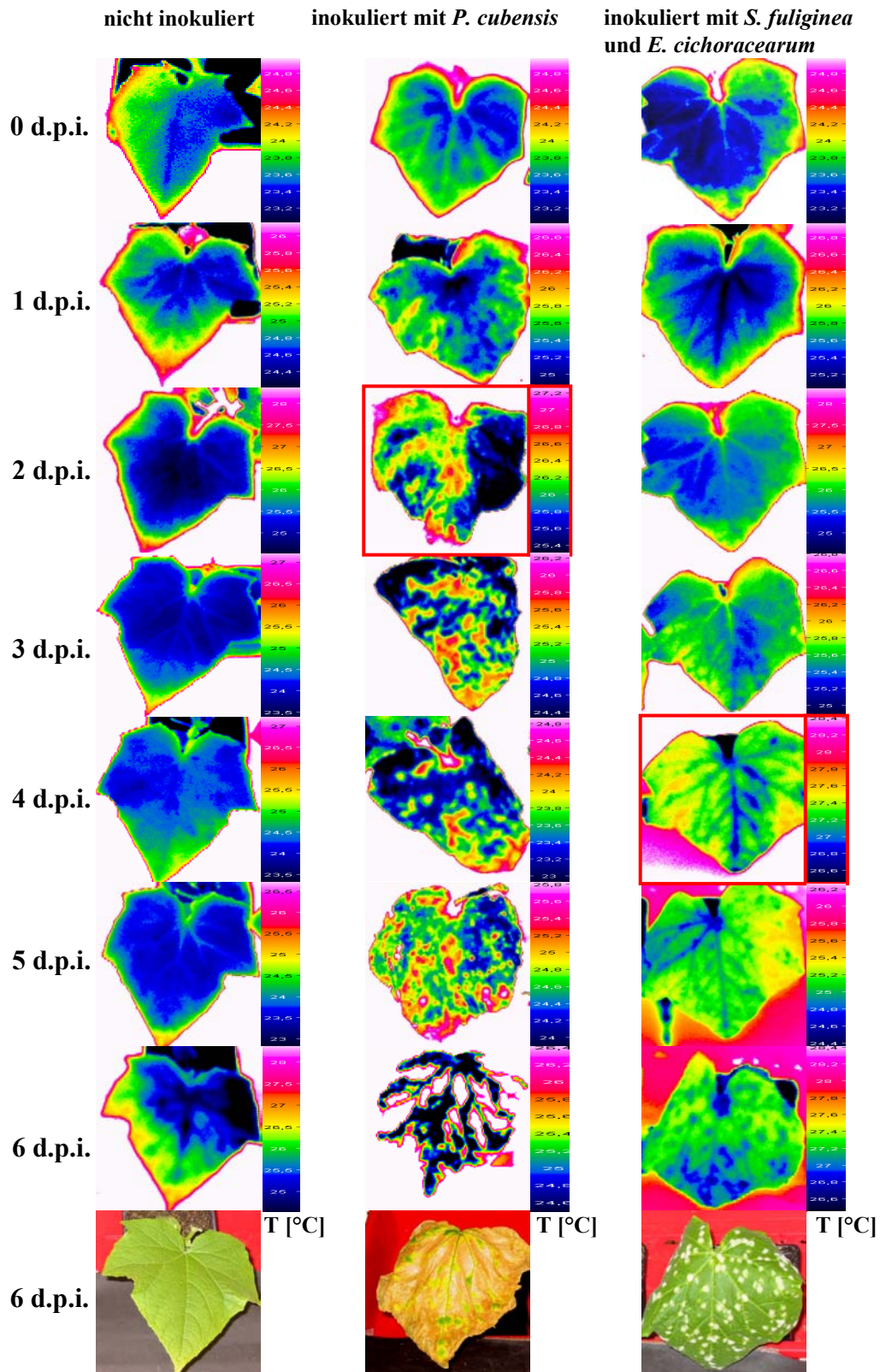


Abb. 39: Thermogramme eines nicht inokulierten (links) bzw. eines mit *Pseudoperonospora cubensis* inokulierten (Mitte) sowie eines mit *Sphaerotheca fuliginea* und *Erysiphe cichoracearum* inokulierten Gurkenblatts (rechts) an sieben aufeinanderfolgenden Tagen und Lichtbilder der Gurkenblätter am sechsten Tag nach der Inokulation (d p.i.; Messbedingungen:  $27 \pm 2$  °C Lufttemperatur und  $60 \pm 10$  % relative Luftfeuchtigkeit; rote Umrandung kennzeichnet Zeitpunkt des Auftretens der ersten Symptome).

Die Temperaturmuster der Thermogramme von nicht inokulierten und inokulierten Gurkenblättern an den verschiedenen Tagen resultierten in einer unterschiedlichen Entwicklung der Maximalen Temperaturdifferenz der Blätter. Kurz vor der Inokulation war die Maximale Temperaturdifferenz aller Gurkenblätter unter 1 °C. Signifikante Unterschiede konnten zu diesem Zeitpunkt nicht festgestellt werden. Am ersten Tag nach der Inokulation stieg die Maximale Temperaturdifferenz der mit *P. cubensis* inokulierten Gurkenblätter auf 1,8 °C und war damit deutlich größer als die Maximale Temperaturdifferenz der nicht inokulierten und mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* inokulierten Gurkenblätter (1,1 °C). In den folgenden Tagen stieg die Maximale Temperaturdifferenz der mit *P. cubensis* inokulierten Blätter weiter an und war vier Tage nach der Inokulation mit 2,7 °C fast doppelt so groß wie die Maximale Temperaturdifferenz der nicht inokulierten bzw. mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* inokulierten Gurkenblätter (1,4 °C).

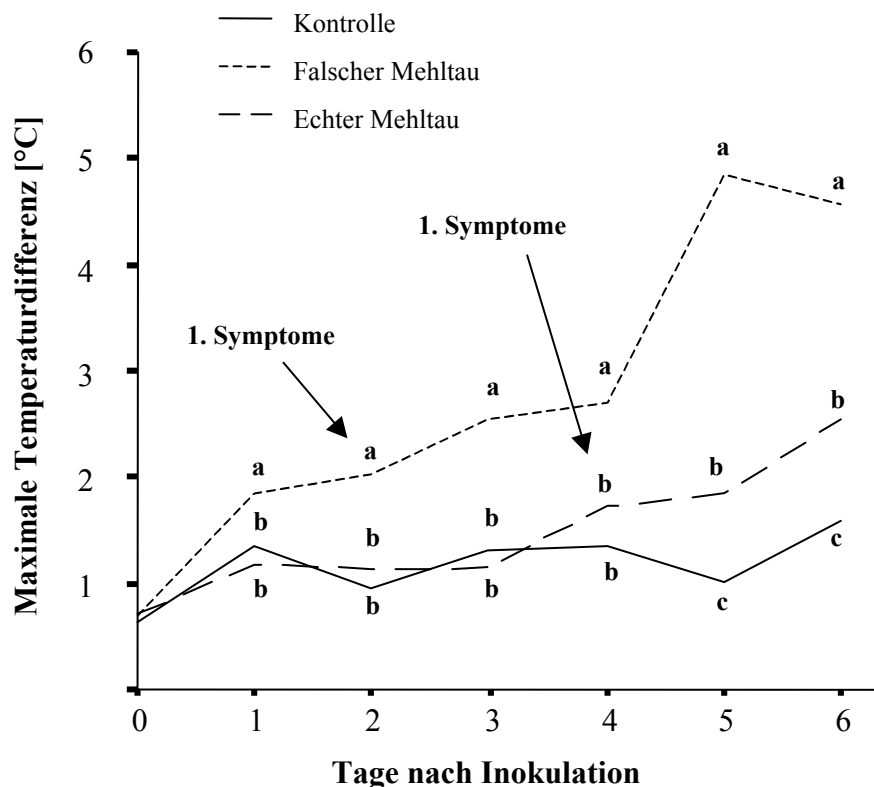


Abb. 40: Einfluss von Falschem bzw. Echem Mehltau auf die Maximale Temperaturdifferenz von Gurkenblättern im Verlauf der Pathogenese (n = 5; Messbedingungen: 27 ± 2 °C Lufttemperatur und 60 ± 10 % relative Luftfeuchtigkeit; Pfeil kennzeichnet Zeitpunkt des Auftretens der ersten Symptome; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede an einem Tag nach Tukey p ≤ 0,05).

Ab dem fünften Tag nach der Inokulation konnten anhand der Maximalen Temperaturdifferenz auch befallsfreie Gurkenblätter von mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* inokulierten Gurkenblättern differenziert werden. Gurkenblätter, die mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* inokuliert waren, wiesen eine um 0,8 °C größere Maximale Temperaturdifferenz als Gurkenblätter auf, die nicht inokuliert waren (1,8 °C bzw. 1 °C). An diesem Tag erreichte die Maximale Temperaturdifferenz der mit *P. cubensis* inokulierten Gurkenblätter mit 5 °C ihr Maximum. Während den nächsten 24 Stunden ging sie auf 4,8 °C zurück. Die Maximale Temperaturdifferenz der anderen Varianten stieg dagegen an. Mit 2,5 °C war die Maximale Temperaturdifferenz der mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* inokulierten Gurkenblätter allerdings immer noch deutlich kleiner als die Maximale Temperaturdifferenz der mit *P. cubensis* inokulierten Gurkenblätter, aber weiterhin größer als die Maximale Temperaturdifferenz der nicht inokulierten Gurkenblätter (Abb. 40).

### **3.6 Einfluss von *Pseudoperonospora cubensis* auf die Pflanzenentwicklung im Freiland**

Die Auswirkungen eines Befalls mit Falschem Mehltau auf die Entwicklung von Einlegegurken wurden am Standort Poppelsdorf in den Jahren 2003 und 2004 in Freilandexperimenten erfasst. Ziel war es, den Einfluss der Befallsstärke von *P. cubensis* auf die Bestandestemperatur von Freilandgurken zu bestimmen. Drei Gurkensorten wurden angebaut, die sich hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber *P. cubensis* unterschieden. Auf diese Weise sollten Unterschiede im Befallsniveau am Boniturtermin sichergestellt werden. Um eine möglichst große Variabilität in der Befallsstärke zu erreichen, wurden in einer weiteren Variante zusätzlich Fungizidbehandlungen an der anfälligen Sorte durchgeführt. Die Auswirkungen der Befallsstärke auf den Chlorophyllgehalt der Blätter sowie auf die Bestandestemperatur wurden im Entwicklungsstadium EC 72-74 erfasst. Die Ergebnisse aus den Jahren 2003 und 2004 sind in den Abbildungen 41 bzw. 42 dargestellt.

#### **3.6.1 Befallsstärke**

Im Jahr 2003 war zu EC-Stadium 72-74 ein deutlicher Unterschied im Befallsniveau zwischen der anfälligen Gurkensorte und der toleranten bzw. widerstandsfähigen Sorte erkennbar. Die Sorten 'Pasalimo F1' und 'Jazzer F1' wiesen, mit einer durchschnittlichen Befallsstärke von 25 %, einen deutlich geringeren Befall auf als die anfällige Sorte 'Vorgebirgstraube' (80 %). Die Anwendungen von Aliette® konnten die Pathogenentwicklung an der anfälligen Sorte deutlich um mehr als die Hälfte auf 38 % unterdrücken.



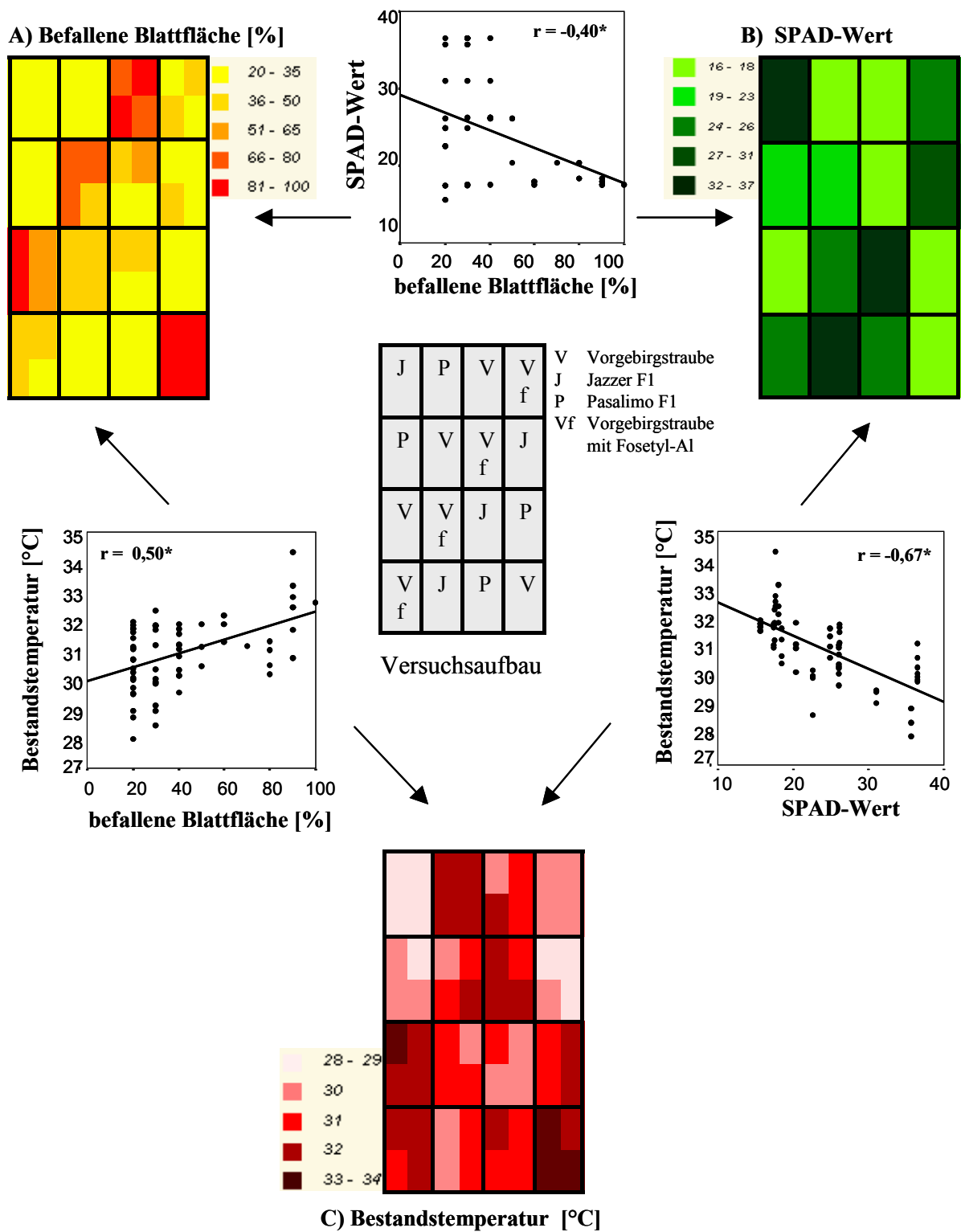


Abb. 41: Einfluss verschiedener Gurkensorten bzw. Fungizidbehandlungen auf die mit *Pseudoperonospora cubensis* befallene Blattfläche (A), den Chlorophyllgehalt der Blätter (B) und die Bestandstemperatur (C) der Gurkenpflanzen im Entwicklungsstadium EC 72-74 am 05.08.2003. Streudiagramme zeigen den Zusammenhang zwischen den Parametern anhand von Korrelationskoeffizienten ( $n = 64$ ;  $p \leq 0,05$ ).

Im Jahr 2004 wiesen ebenfalls die unbehandelten Pflanzen der anfälligen Sorte ‘Vorgebirgstraube‘ im Entwicklungsstadium EC 72-74 mit im Mittel von 75 % befallener Blattfläche den höchsten Befall auf. Der Einsatz des Fungizids führte zu einer signifikanten Verringerung des Pathogenbefalls an den Blättern der anfälligen Sorte. Durch die Anwendungen von Aliette<sup>®</sup> wurde eine durchschnittliche Reduktion der befallenen Blattfläche von 10 % erreicht. Das Befallsniveau der Sorte ‘Jazzer F1‘ lag im Jahr 2004 mit einer durchschnittlichen Befallsstärke von 47 % über dem der Sorte ‘Jazzer F1‘ im Jahr 2003. Die resistente Sorte ‘Octopus F1‘ wies im Durchschnitt mit 33 % befallener Blattfläche den geringsten Befall mit Falschem Mehltau auf.

### 3.6.2 Chlorophyllgehalt

Bezüglich der Chlorophyllgehalte der Gurkenblätter konnten im Jahr 2003 deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Gurkensorten im Entwicklungsstadium EC 72-74 festgestellt werden. Mit SPAD-Werten von  $32 \pm 5$  wiesen die Blätter der widerstandsfähigen Sorte ‘Jazzer F1‘ die höchsten Chlorophyllgehalte auf. Deutlich geringere Chlorophyllgehalte wurden in den Blättern der anfälligen Sorte ‘Vorgebirgstraube‘ nachgewiesen. Die anfällige Sorte ohne Fungizidbehandlungen wies im Durchschnitt mit SPAD-Werten von 17 halb so große SPAD-Werte wie die Sorte ‘Jazzer F1‘ auf. Die Blätter der toleranten Sorte unterschieden sich hinsichtlich ihrer SPAD-Werte nicht signifikant von denen der Sorte ‘Vorgebirgstraube‘ und wiesen ebenfalls sehr niedrige Chlorophyllgehalte auf. Der Einsatz des Fungizids führte zu einer geringeren Reduktion der Chlorophyllgehalte in den Blättern. Durchschnittliche SPAD-Werte von 24 waren für die Pflanzen der anfälligen Sorte, die mit Aliette<sup>®</sup> behandelt worden waren, charakteristisch.

Die Anwendungen von Aliette<sup>®</sup> hatten im Jahr 2004 keinen Einfluss auf den Chlorophyllgehalt der Blätter. Im Entwicklungsstadium EC 72-74 wiesen die Blätter der anfälligen Sorte ‘Vorgebirgstraube‘ mit und ohne Fungizidbehandlungen mit durchschnittlichen SPAD-Werten von 16 die niedrigsten Chlorophyllgehalte auf. Die widerstandsfähige Sorte ‘Jazzer F1‘ wies doppelt so hohe SPAD-Werte als die anfällige Sorte auf und nahm hinsichtlich der Chlorophyllgehalte in den Blättern eine Mittelstellung bei den verwendeten Gurkensorten ein. Am höchsten waren die SPAD-Werte (40) – und damit auch die Chlorophyllgehalte der Blätter – der resistenten Sorte ‘Octopus F1‘.

### 3.6.3 Bestandestemperatur

Die thermografischen Aufnahmen wurden im Jahr 2003 bei einer Lufttemperatur von  $35 \pm 1$  °C und  $40 \pm 5$  % relativer Luftfeuchtigkeit erstellt. Es war ein deutlicher Unterschied in der Bestandestemperatur zwischen den Parzellen der widerstandsfähigen Sorte und den restlichen Parzellen zu erkennen. Mit einer mittleren Bestandestemperatur von  $29,5$  °C fand eine Abkühlung der Sorte 'Jazzer F1' gegenüber der Umgebungstemperatur von über  $5$  °C statt und lag damit deutlich unter dem Temperaturniveau der anderen Parzellen. Die Bestandestemperaturen der übrigen Parzellen ließen sich statistisch nicht voneinander unterscheiden. Mit einer durchschnittlichen Bestandestemperatur von  $31,5$  °C waren sie um  $2$  °C wärmer als die Parzellen der widerstandsfähigen Sorte. Gegenüber der Umgebungstemperatur kühlte sich die Sorte 'Vorgebirgstraube' mit und ohne Fungizidbehandlung sowie die Sorte 'Pasalimo F1' um  $3,5$  °C ab.

Die Erstellung der Thermogramme erfolgte im Jahr 2004 bei einer Lufttemperatur von  $26 \pm 1$  °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von  $50 \pm 5$  %. Es konnte kein Einfluss der Fungizidapplikationen auf die Bestandestemperatur der Sorte 'Vorgebirgstraube' nachgewiesen werden. Sowohl die unbehandelten als auch die behandelten Parzellen der anfälligen Sorte wiesen Bestandestemperaturen von im Mittel  $21,7$  °C auf und waren signifikant wärmer als die Parzellen der widerstandsfähigen und resistenten Sorte. Mit durchschnittlich  $19,3$  °C wurden bei der Sorte 'Octopus F1' die niedrigsten Bestandestemperaturen gemessen. Eine Abkühlung von über  $6$  °C gegenüber der Lufttemperatur konnte nachgewiesen werden. Die Sorte 'Jazzer F1' nahm mit durchschnittlichen Bestandestemperaturen von  $20,4$  °C eine Mittelstellung ein.

### 3.6.4 Auswirkung der Befallsstärke auf den Chlorophyllgehalt

Die Untersuchungen zur Abhängigkeit des Chlorophyllgehalts in den Blättern von der Befallsstärke ergaben, dass im Jahr 2003 im Entwicklungsstadium EC 72-74 eine negative lineare Korrelation zwischen Befallsstärke und Chlorophyllgehalt der Blätter bestand. Der Zusammenhang zwischen dem Befallsniveau und dem Chlorophyllgehalt der Blätter war mit einem Korrelationskoeffizienten von  $-0,40$  als gering einzustufen. Hohe Befallsintensitäten von über  $70$  % befallener Blattfläche reduzierten die Chlorophyllgehalte der Blätter und wiesen geringe SPAD-Werte von  $20$  auf. Dagegen war die Variabilität der SPAD-Werte bei niedrigem Befallsniveau sehr groß. Blätter, mit einer geringen Befallsstärke von beispielsweise  $20$  %, wiesen SPAD-Werte zwischen  $15$  und  $38$  auf. Der Chlorophyllgehalt der Blätter mit niedrigem Befallsniveau war demnach starken Schwankungen unterzogen.

Eine negative lineare Korrelation zwischen Befallsstärke und Chlorophyllgehalt konnte ebenfalls im Jahr 2004 festgestellt werden. Allerdings war in diesem Jahr die Korrelation wesentlich stärker (-0,87). Stark befallene Blätter wiesen immer geringere SPAD-Werte und demzufolge geringere Chlorophyllgehalte als weniger stark befallene Blätter auf.

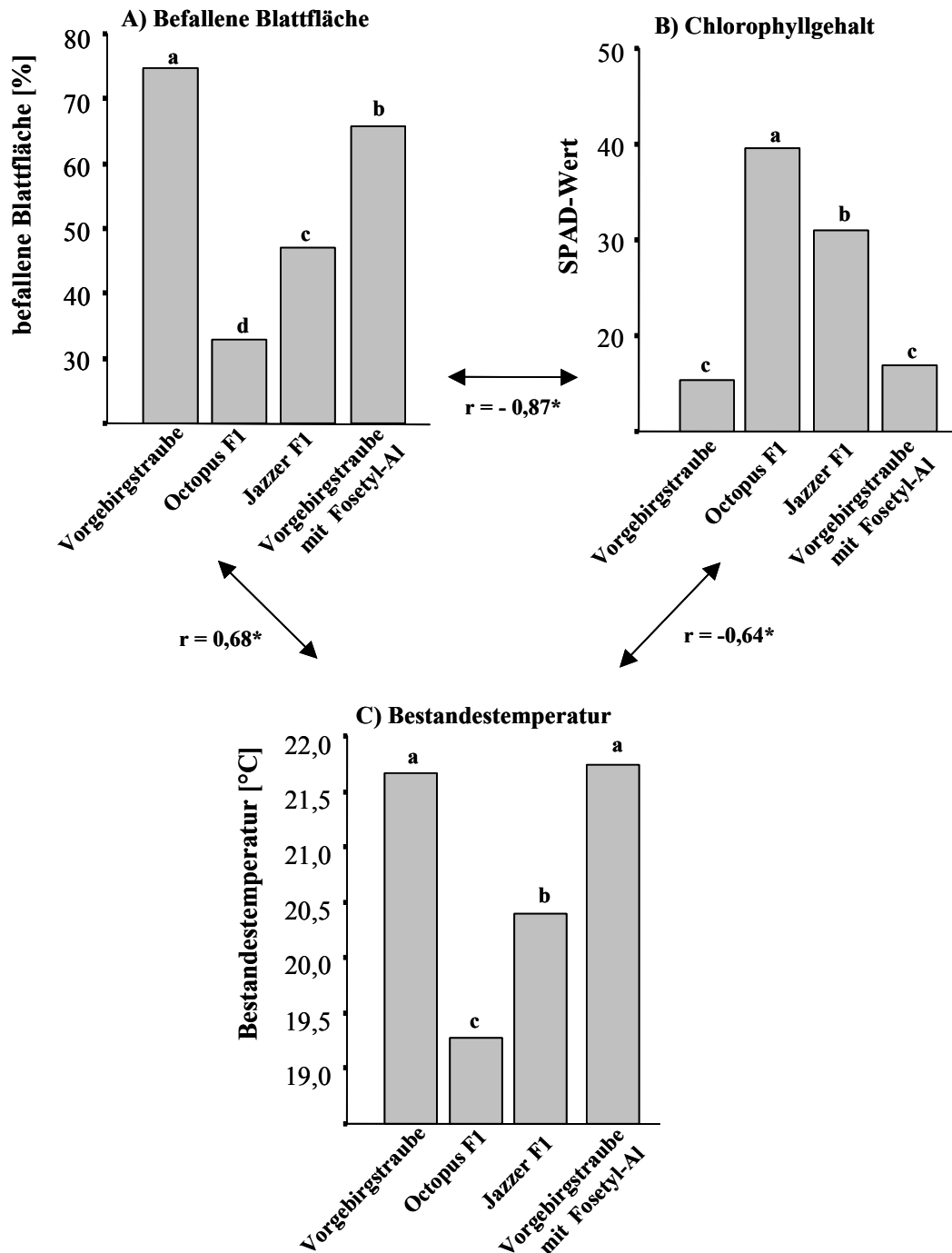


Abb. 42: Einfluss verschiedener Gurkensorten bzw. Fungizidbehandlungen auf die mit *Pseudoperonospora cubensis* befallene Blattfläche (A), den Chlorophyllgehalt der Blätter (B) und die Bestandestemperatur (C) der Pflanzen im Entwicklungsstadium EC 72-74 am 08.09.2004. Korrelationskoeffizienten geben den Zusammenhang zwischen den Parametern an ( $n = 64$ ;  $p \leq 0,05$ ).

### **3.6.5 Einfluss der Befallsstärke auf die Bestandestemperatur**

Untersuchungen zur Bestandestemperatur zeigten, dass zwischen Befallsstärke und Bestandestemperatur im Jahr 2003 eine mittlere positive Korrelation (0,50) bestand. Ein hohes Befallsniveau führte tendenziell zu hohen Bestandestemperaturen von über 30 °C. Jedoch lag die Temperaturspanne in den niedrigsten Befallsklassen zwischen 28 °C und 32 °C. Durch die große Spannbreite der Bestandestemperatur in den niedrigen Befallsklassen lässt sich der mittlere Korrelationskoeffizient erklären.

Im Jahr 2004 bestätigte sich das Ergebnis bezüglich des Zusammenhangs zwischen Befallsstärke und Bestandestemperatur aus dem Feldversuch im Jahr 2003. Eine Befallszunahme mit Falschem Mehltau führte tendenziell zu einem Anstieg der Bestandestemperatur.

### **3.6.6 Zusammenhang zwischen Chlorophyllgehalt und Bestandestemperatur**

Sowohl im Jahr 2003 als auch im Jahr 2004 wurde ein negativer linearer Zusammenhang zwischen SPAD-Wert und Bestandestemperatur mit Korrelationskoeffizienten von -0,67 bzw. -0,64 festgestellt. Geringere Bestandestemperaturen konnten auf höhere Chlorophyllgehalte in den Blättern zurückgeführt werden, wohingegen ein Rückgang des Chlorophyllgehalts in den Blättern mit höheren Bestandestemperaturen in Verbindung gebracht werden konnte.

#### 4 DISKUSSION

Pflanzenkrankheiten sind selten homogen auf einer Fläche verteilt. Aufgrund ihrer Populationsdynamik und Epidemiologie weisen sie eine hohe räumliche und zeitliche Variabilität auf. Ihre Ortsstabilität ist daher als gering einzustufen (NORDMEYER 1999). In der vorliegenden Arbeit wurde die heterogene Verteilung des Falschen Gurkenmehltaus in Freilandbeständen untersucht. Die in der Literatur verbreitete Meinung, dass eine starke Abhängigkeit der Krankheitsentwicklung durch *Pseudoperonospora cubensis* von Umweltbedingungen besteht, konnte in Freilandexperimenten bestätigt werden. Die einzelnen Erregerstadien im Rahmen der Krankheitsentstehung und -ausbreitung werden durch verschiedene Klimavariablen unterschiedlich beeinflusst (KRANZ 1996). Diesbezüglich wurden im Vorfeld eine Reihe von Gewächshausuntersuchungen durchgeführt, um den Einfluss von Lufttemperatur, Blattnässedauer und Inokulumdichte auf den Krankheitsverlauf von *P. cubensis* an Gurken zu bestimmen.

Bezüglich der Abhängigkeit von verschiedenen Umweltbedingungen werden für den Zoosporenschlupf in der Literatur unterschiedliche Daten angegeben. Bei einer Blattnässedauer von nur einer Stunde findet nach COHEN (1981) ein maximaler Zoosporenschlupf bei einer Lufttemperatur von 20 °C statt. Sank die Temperatur unter 10 °C, konnte nach einer Stunde Blattnässedauer kein Schlupf nachgewiesen werden. Bei einer Verlängerung der Blattnässedauer auf zwei bzw. sechs Stunden fand dagegen der maximale Zoosporenschlupf bei Lufttemperaturen von 15 °C bzw. 12 °C statt. Das Temperaturminimum für den Zoosporenschlupf wurde sowohl für zwei Stunden als auch für sechs Stunden Blattnässedauer von COHEN (1981) mit 5 °C angegeben. Untersuchungen von BEDLAN (1987) ergaben, dass bei einer Lufttemperatur von 25 °C bereits eine Blattnässedauer von 45 Minuten für den Zoosporenschlupf ausreicht. Allerdings wurden von BEDLAN (1987) keine Aussagen über den Anteil an geschlüpften Zoosporen unter den gegebenen Bedingungen gemacht. Eigene Untersuchungen zum Zoosporenschlupf nach drei Stunden in einer wässrigen Lösung ergaben ein Temperaturoptimum von 18 °C bis 23 °C. Unter diesen Bedingungen wurde ein maximaler Zoosporenschlupf von 75 % erreicht, wohingegen bei einer Lufttemperatur von 15 °C in der gleichen Zeit weniger als 5 % der Zoosporangien in der Lage waren Zoosporen zu entlassen. Da sich der Zoosporenschlupf in einer wässrigen Lösung auf einem Objektträger nicht vom Zoosporenschlupf in einem geschlossenen Wasserfilm auf der Blattoberfläche unterscheidet (COHEN 1981), ist die angewandte Methode für die Bestimmung des Zoosporenschlupfs nicht für das höhere Temperaturoptimum in den eigenen

Untersuchungen ausschlaggebend. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass die Zoosporensuspension in den eigenen Untersuchungen von eingefrorenem Blattmaterial gewonnen wurde. Die Lagerung von abgetrennten Blättern bei  $-18\text{ °C}$  für bis zu sechs Monate hat nach Literaturangaben zwar keinen Einfluss auf die Vitalität der Zoosporangien (COHEN 1981), führte jedoch zu einer Abkühlung der Sporangiensuspension während der Inokulumgewinnung. Die Abkühlung der Sporangiensuspension unter die Lufttemperatur könnte erklären, warum in den eigenen Untersuchungen höhere Lufttemperaturen für den maximalen Zoosporenschlupf ermittelt wurden als in den Untersuchungen von COHEN (1981) und BEDLAN (1987). Eine weitere Möglichkeit für die beobachteten Abweichungen hinsichtlich des Temperaturoptimums für den Zoosporenschlupf ist die Existenz unterschiedlicher Populationen von *P. cubensis*. Eventuell fand im Laufe der Zeit eine Adaption des Erregers an vorhandenen Umweltbedingungen statt. Geringfügige Unterschiede in der physiologischen Spezialisierung sowie in der Morphologie von *P. cubensis* belegen nach PALTÍ & COHEN (1980) die Existenz verschiedener Rassen in unterschiedlichen Regionen der Welt. Unterschiede im Temperaturoptimum für den Zoosporenschlupf können demnach in Abhängigkeit der Herkunft des Erregers als wahrscheinlich angesehen werden.

Auch das Enzystieren der Zoosporen und die Keimung der Zoosporen sind temperaturabhängige Größen im Verlauf der Pathogenese von *P. cubensis*. Als Temperaturoptimum für die Keimung der Zoosporen wurden  $25\text{ °C}$  angegeben (COHEN 1981). Da die Infektion der Wirtspflanze sowohl vom Zoosporenschlupf als auch von der Keimrate der enzystierten Zoosporen abhängig ist, ergeben sich für den Infektionserfolg von *P. cubensis* nach COHEN (1981) optimale Temperaturen von  $20\text{ °C}$  bis  $25\text{ °C}$ . Niedrigere Temperaturen reduzieren zum einen die Freisetzung der Zoosporen und verlängern zum anderen die Zeit bis zum Enzystieren, wodurch die Anzahl an erfolgreichen Infektionen für eine gegebene Blattnässedauer geringer ausfällt. Zu hohe Temperaturen beeinträchtigen den Zoosporenschlupf, die Beweglichkeit der Zoosporen sowie ihre Keimrate. In den eigenen Untersuchungen ließen sich diese Angaben bestätigen. Während einer Blattnässedauer von vier Stunden waren bei  $18\text{ °C}$  und  $25\text{ °C}$  deutlich mehr Infektionsstellen nachzuweisen als bei  $32\text{ °C}$ .

Neben der Lufttemperatur spielt die Blattnässedauer eine entscheidende Rolle bei der Infektion von Gurken mit *P. cubensis*. Je mehr die Lufttemperatur vom Optimumbereich für die Infektion abweicht, desto länger ist eine Benetzung der Blätter mit tropfbarem Wasser für eine erfolgreiche Infektion nötig. Nach COHEN (1981) sind bei optimalen Umgebungstemperaturen und hohen Inokulumdichten Blattnässedauern von mindestens zwei Stunden für eine erfolgreiche Infektion nötig. In Untersuchungen von BEDLAN (1987) konnten bereits

nach einer Blattnässedauer von 90 Minuten Infektionen nachgewiesen werden. In den eigenen Untersuchungen zum Einfluss der Blattnässedauer auf die Befallsstärke zeigte sich dagegen, dass eine Blattnässedauer der Gurkenblätter von nur 40 Minuten für eine erfolgreiche Infektion mit *P. cubensis* ausreichend war. Die Inokulumgewinnung und das Inokulationsverfahren nahm in den Experimenten allerdings eine Stunde in Anspruch. Während dieser Zeit waren die Zoosporangien bereits mit Wasser in Kontakt und der Zoosporenschlupf konnte bereits eingeleitet werden, so dass diese Zeit noch zu den angegebenen Blattnässedauern addiert werden müsste. Somit würde sich in den eigenen Untersuchungen eine minimale Blattnässedauer von 100 Minuten für eine erfolgreiche Infektion von Gurkenblättern mit *P. cubensis* ergeben. Eine Verlängerung der Blattnässedauer von 40 Minuten auf 180 Minuten wirkte sich positiv auf die Anzahl der Infektionsstellen aus, da bei längerer Blattnässe sowohl der Zoosporenschlupf zunimmt als auch den Zoosporen mehr Zeit zum Auffinden einer Spaltöffnung, zum Enzystieren und zum Auskeimen zur Verfügung steht. Eine weitere Verlängerung der Blattnässedauer auf 240 Minuten hatte dagegen bei einer Lufttemperatur von 20 °C und einer Inokulumdichte von  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  keine weitere Steigerung der Befallsstärke zur Folge. Bei einer Abweichung der Lufttemperatur vom Temperaturoptimum für die Infektion und einer geringeren Inokulumdichte würde dagegen eine Verlängerung der Blattnässedauer sicherlich noch zu einer weiteren Steigerung der Infektionsdichte führen können (COHEN 1981).

Eigene Untersuchungen zum Einfluss der Konzentration einer Zoosporangiensuspension von *P. cubensis* auf die Befallsstärke ergaben, dass eine Dichte von  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  den stärksten Befall mit Falschem Mehltau verursachte. Der Rückgang der Befallsstärke durch höhere Zoosporangiedichten ist vermutlich durch eine Hemmung des Myzelwachstums aufgrund einer intraspezifischen Konkurrenz um Nährstoffe im Blattgewebe zu sehen. Bei einer höheren Zoosporangiedichte können zwar mehr Infektionsstellen gesetzt werden, der weiteren Ausbreitung der Befallssymptome sind allerdings durch die rasche Ausbildung von Totalnekrosen frühzeitig Grenzen gesetzt. Auf die Inkubationszeit hatte die Zoosporangiedichte in eigenen Untersuchungen im Gegensatz zu Beobachtungen von COHEN (1977) keinen Einfluss. Dagegen variierte die Länge der Inkubationszeit in Abhängigkeit der Lufttemperatur, bei der die Gurken weiterkultiviert wurden, deutlich. Sowohl Symptomausbildung als auch Myzelwachstum im Pflanzengewebe sind temperaturabhängig Prozesse (COHEN 1981). Bei niedrigen Lufttemperaturen wird das Myzelwachstum im Gewebe gefördert, die Entstehung von Symptomen allerdings verzögert. Dagegen beschleunigen hohe Temperaturen die Ausbildung der Symptome, begrenzen aber die



Ausbreitung des Myzels. Optimal für eine schnelle Symptomausprägung sind Temperaturen um 25 °C, wohingegen Temperaturen um 15 °C sich auf das Myzelwachstum positiv auswirken (COHEN 1981). Nach BEDLAN (1987) treten bei einer Lufttemperatur von 25 °C bereits nach zwei Tagen die ersten Symptome von Falschem Gurkenmehltau auf, wohingegen sich die Inkubationszeit bei 20 °C auf drei Tage und bei 15 °C auf sieben Tage verlängert. Eigene Ergebnisse stimmen mit diesen Literaturangaben überein. Bei Temperaturen von mindestens 20 °C traten bereits am dritten Tag nach der Inokulation die ersten Symptome auf, wohingegen sich die Inkubationszeit bei 15 °C um vier Tage verlängerte.

Auf den Infektionsprozess von *P. cubensis* haben demzufolge Blattnässedauer und Lufttemperatur einen entscheidenden Einfluss, demgegenüber wird die Inkubationszeit ausschließlich durch die Lufttemperatur bestimmt. Anschließend sind nach COHEN (1981) für die Sporulation des Erregers Lufttemperatur und hohe relativen Luftfeuchtigkeiten bei Dunkelheit maßgebend. Für die Verbreitung der Zoosporangien im Bestand ist Wind die entscheidende Größe (BEDLAN 1987). JOHNSON *et al.* (1991, 2003) beschrieben eine starke Heterogenität sowohl in der zeitlichen Entwicklung als auch in der räumlichen Verbreitung von Pflanzenkrankheiten, die durch verschiedene Erreger aus der Klasse der Oomyceten hervorgerufen werden. Die in den Gewächshausuntersuchungen nachgewiesene starke Abhängigkeit der Krankheitsentwicklung durch *P. cubensis* von Lufttemperatur und Blattnässedauer führte zu der Annahme, dass die Epidemie vom Falschen Gurkenmehltau in Freilandbeständen in starkem Maße vom Mikroklima bestimmt wird. Das Bestandesklima hat einen ausschlaggebenden Einfluss auf den Verlauf der Epidemie, da es die Entwicklung von Wirtspflanze und Erreger unmittelbar beeinflusst. Das Mikroklima im Bestand wird durch Dichte, Struktur und Höhe des Pflanzenbestands bestimmt (KRANZ 1996). Aber auch Nachbarbestände oder Windschutzhecken sowie Heterogenitäten in Bodeneigenschaften und Relief können das Bestandesmikroklima verändern (BJERRE *et al.* 1998).

Das aktuelle Mikroklima kann erheblich von den Werten außerhalb des Bestands, die in agrometeorologischen Wetterstationen erfasst werden, abweichen. Blattnässe, relative Luftfeuchtigkeit und Lufttemperatur werden sowohl vertikal als auch horizontal im Bestand modifiziert. Die Dauer der Benetzung ist eine der wichtigsten meteorologischen Größen in der Epidemiologie. Je nach vertikaler Verteilung der Blattnässe im Pflanzenbestand, Himmelsrichtung und Struktur der Blattfläche trocknen die Pflanzen unterschiedlich schnell ab. Im oberen Bereich des Bestands kann infolge der nächtlichen Abkühlung die Taubildung stärker ausfallen als in den unteren Teilen des Bestands, wo sich allerdings die Benetzung durch Regen länger hält. Für eine exakte Bestimmung der Blattnässedauer im Bestand wäre

demnach neben einer horizontalen Verteilung der Blattnässesensoren auch eine differenzierte vertikale Erfassung nötig. Auch die Tagestemperaturen können in Abhängigkeit der Bestandeshöhe erheblichen Schwankungen unterliegen. Obere Blattetagen sind tagsüber aufgrund der Globalstrahlung wärmer als darunter liegende Blattetagen (KRANZ 1996). Da das Wachstum der Einlegegurken allerdings flächig verläuft und die Bestandeshöhe nicht über 40 cm erreicht, wurde die vertikale Erfassung von Blattnässedauer und Lufttemperatur in den vorliegenden Untersuchungen vernachlässigt.

Das Mikroklima in Randbereichen unterscheidet sich oft deutlich vom übrigen Bestandesklima, wodurch heterogene Verteilungen von Pflanzenkrankheiten im Bestand erklärt werden können. SECHER *et al.* (1995) beschrieben eine erhebliche räumliche Variation im Befall von *Erysiphe graminis*, bedingt durch mikroklimatische Besonderheiten in Randbereichen. Hervorgerufen durch Windschutzhecken war die Infektion der Getreidepflanzen im Randbereich im Gegensatz zu windexponierten Lagen höher. BJERRE *et al.* (1998) brachten die Heterogenität im Auftreten von *Septoria tritici* und *nodorum* in Zusammenhang mit dem Einfluss der Bestandesdichte auf das Mikroklima im Bestand. Auch Untersuchungen von PAVELEY *et al.* (1996) ergaben eine ungleiche Verteilung von Gelbrost (*Puccinia striiformis*) in einem Weizenfeld.

Ursachen für teilflächendifferenzierbare Befallsintensitäten von Pflanzenkrankheiten können neben hemmenden oder fördernden Randbedingungen und dem Einfluss der Bestandesdichte auch in der Ausbreitungsart des Erregers gesehen werden. Für Oomyceten wurde häufig ein nesterweises Auftreten von Primärherden im Bestand beobachtet (BRUNO 1996, JOHNSON *et al.* 1991, 2003). Nach KRANZ (1996) ist für die Entstehung von primären Befallsherden durch windbürtiges Inokulum neben der Windrichtung die Entfernung von der Sporenquelle entscheidend. Anschließend entwickelt sich die räumliche Ausbreitung der Pflanzenkrankheit im Bestand ausgehend von den Primärherden über das Infizieren immer neuer Wirtspflanzen. Die Sekundärherde beschleunigen das Ausbreiten der Krankheit durch die Zunahme der Befallshäufigkeit. Zusätzlich dehnt sich jeder Herd mehr oder weniger kontinuierlich durch das Wachstum der Läsionen aus, wodurch ebenfalls die Befallsstärke zunimmt (KRANZ 1996).

Obwohl die epidemische Entwicklung von Oomyceten eine hohe räumliche und zeitliche Variabilität in Abhängigkeit des Bestandesmikroklimas aufweist (JOHNSON *et al.* 1991, 2003), wird ihr Auftreten in Prognosemodellen von regional erhobenen Klimadaten abgeleitet. Unter Berücksichtigung von Blattnässedauer und Lufttemperatur wurde von

BEDLAN (1987) eine Prognose für den Epidemieverlauf von Falschem Mehltau an Freilandgurken entwickelt. Voraussetzungen für eine epidemieartige Krankheitsentwicklung sind demnach, dass nachts bei einer Lufttemperatur von mindestens 15 °C während eines Zeitraums von sechs Stunden Blattnässe gegeben ist, um eine Sporulation des Erregers zu gewährleisten. Im Anschluss an die Sporulationsbedingungen müssen Infektionsbedingungen, d.h. eine Verlängerung der Blattnässedauer von mindestens zwei Stunden bei einer Lufttemperatur von 15 °C, gegeben sein. Im Rahmen eines Warndiensts wird der Zeitpunkt ermittelt, an dem nach Sporulationsbedingungen die Chance besteht, eine Infektion der abgegebenen Zoosporangien zu sichern (BEDLAN 1988). Behandlungsversuche bei Einlegegurken zeigten, dass die Prognosewerte mit dem Erstauftreten des Falschen Gurkenmehltaus in den Kontrollbeständen übereinstimmten und bei Beachtung des Warndiensts und richtigem Mitteleinsatz eine erfolgreiche Bekämpfung des Falschen Mehltaus im Einlegegurkenanbau erzielt werden konnte (BEDLAN 1989).

Eigene Untersuchungen sollten klären, ob diese bekannte zeitliche Abhängigkeit der Epidemieentwicklung vom Mikroklima genutzt werden kann, um die räumliche Heterogenität des Auftretens von Falschem Mehltau in einem Freilandgurkenbestand vorherzusagen. Teilflächenspezifische Befallsprognosen erfordern neben einer ausreichenden zeitlichen Erfassung der Mikroklimadaten auch eine hohe räumliche Auflösung, die von einer einzelnen Wetterstation nicht erbracht werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurde in zwei Jahren das Bestandesklima von Freilandgurken deshalb kleinräumig erfasst und durch Verknüpfung der Mikroklimakarten Aussagen über die Gefährdung einzelner, in sich homogener Teilflächen hinsichtlich des Auftretens von *P. cubensis* gemacht. Zusätzlich wurde der tatsächliche Krankheitsverlauf von Falschem Mehltau bonitiert. Dem Zuwachs an befallener Blattfläche während des Versuchszeitraums wurde eine Karte des errechneten Infektionsrisikos gegenübergestellt.

Im ersten Versuchsjahr bestätigt sich der vermutete große Einfluss des Mikroklimas in Freilandgurkenbeständen auf das Auftreten von *P. cubensis*. Das aggregierte Auftreten der primären Befallsherde war auf einige Pflanzen im Randbereich sowie einige Pflanzen in der Mitte des Bestands begrenzt. Der Zuflug des windbürtigen Inokulums aus einem benachbarten Zucchinibestand, der bereits Symptome von Falschem Mehltau aufwies, war vermutlich für die Primärinfektionen im Randbereich verantwortlich. Auch JOHNSON (2003) beobachtete ein verstärktes Auftreten von durch *Phytophthora infestans* befallenen Kartoffelpflanzen im Randbereich des Bestands. Die Tatsache, dass windbürtige Erreger über weite Distanzen Infektionen hervorrufen können (KRANZ 1996) und in der Feldmitte

infektionsfördernde Klimabedingungen herrschten, würde erklären, dass sich auch in der Mitte des Bestands einige Primärherde entwickeln konnten. Nach BEDLAN (1987) beträgt die Inkubationszeit bei Durchschnittstagestemperaturen von um 17 °C mindestens vier Tage, so dass die Primärinfektionen bereits zu einer Zeit gesetzt worden waren, als das Mikroklima noch gar nicht erfasst wurde. Trotzdem wird davon ausgegangen, dass sich die Tendenz der längeren Blattnässedauern in der Feldmitte während der Erfassung des Mikroklimas auch schon bereits in der Woche vor der Aufzeichnung der Mikroklimadaten abzeichnete. Die Anzahl der Stunden mit Blattnässedauer war in der Bestandesmitte deutlich höher als an den windexponierten Randlagen. Auch für die Bestandestemperatur zeichnete sich eine Heterogenität im Bestand ab, die vermutlich durch den vorherrschenden Westwind zu dieser Zeit verursacht wurde, indem er für eine Abkühlung des Bestands aus westlicher Richtung sorgte. Die Heterogenität im Bestandesmikroklima resultierte in der Ausbildung von Teilbereichen, die sich hinsichtlich des Infektionsrisikos deutlich unterschieden. Die Zunahme der Befallsintensität durch Ausbreitung der Primärherde sowie Neuinfektionen erstreckte sich im ersten Versuchsjahr ausschließlich auf Zonen mit hoher Infektionswahrscheinlichkeit. Eine Prognose über die räumliche Ausbreitung von Falschem Mehltau in einem Freilandgurkenbestand auf Basis des Bestandesmikroklimas, und die daraus resultierende Möglichkeit eine teilflächenspezifische Pflanzenschutzbehandlung durchzuführen, erschien demnach durchaus möglich.

JOHNSON (2003) zeigte ebenfalls, dass die Heterogenität der Epidemie von *Phytophthora infestans* in Kartoffelfeldern nicht zufällig war, sondern auf Unterschiede im Mikroklima sowie auf die Entfernung zum Infektionsherd zurückzuführen war. Auf ein aggregiertes Auftreten von Primärinfektionen vorwiegend im Randbereich folgte die Ausbreitung der Nester sowohl durch das Wachstum der Primärherde als auch durch die Entstehung von Neuinfektionen. Ein Zusammenwachsen der einzelnen Befallsnester führte letztendlich dazu, dass die gesamte Fläche befallen war. Ein Befallsgradient war allerdings in Abhängigkeit der Windrichtung und der Entfernung zur Bewässerungsanlage noch erkennbar.

Im zweiten Versuchsjahr wiederholte sich das nesterweise Auftreten der Primärherde, die sich im Verlauf einer Woche allerdings bereits deutlich ausgebreitet hatten. Die in diesem Jahr im ganzen Bestand relativ hohen durchschnittlichen Tagestemperaturen hatten zur Folge, dass die für Sporulation und Infektion benötigte Lufttemperatur praktisch immer gegeben war. Die Blattnässedauer war somit in diesem Versuchsjahr der begrenzende Faktor. Das Muster der Karte zur Verteilung des Infektionsrisikos im Bestand entsprach daher im Wesentlichen dem Muster der Verteilung der Blattnässedauer. Die Heterogenität in der Blattnässedauer im

Bestand ist auf die tägliche Überkopfberegnung des in südwestlicher Richtung angrenzenden Nachbarbestands zurückzuführen. Durch den vorherrschenden Westwind wurde von der Zusatzberegnung aus dem Nachbarbestand Feuchtigkeit in den Gurkenbestand eingetragen, wodurch eine ungleichmäßige Blattnässedauer und somit eine Heterogenität im Infektionsrisiko verursacht wurde.

Die Entstehung der Primärherde sowie ihre weitere Ausbreitung in den folgenden zwei Wochen sind allerdings nicht mit der Karte der Verteilung des Infektionsrisikos in Einklang zu bringen. Eine mögliche Erklärung für die starke Befallsintensität in der Ostecke des Felds ist in einer Unebenheit der Reliefneigung zu sehen. Aufgrund einer Bodensenke in diesem Feldbereich und der täglichen Tröpfchenbewässerung stand in der Ostecke des Felds fast ununterbrochen Staunässe an. Die unteren Blattetagen der Gurkenpflanzen waren infolgedessen ständig in Kontakt mit Wasser, wodurch eine permanente Infektionsgefahr gegeben war. Die im Bestand in einer Höhe von 40 cm angebrachten Blattnässesensoren waren nicht in der Lage, die Blattnässedauer, die durch extreme Bodenfeuchten hervorgerufen wurde, zu erfassen.

Erst ab dem dritten Boniturtermin waren die Gurkenpflanzen dem Einfluss der Bodenfeuchte auf die Blattnässe entwachsen. Ab diesem Zeitpunkt machte sich verstärkt der Einfluss der Zusatzberegnung des Nachbarfelds bemerkbar und die Befallsintensität am südwestlichen Feldrand nahm verstärkt zu. Durch Fehlerquellen bei der Erfassung des Bestandsmikroklimas können, wie die Ergebnisse dieses Versuchsjahr zeigten, Unterschiede im kalkulierten Infektionsrisiko der einzelnen Teilbereiche zum tatsächlichen Befallsverlauf entstehen. Zudem ist die räumliche Auflösung und dadurch die Genauigkeit der Mikroklimakarten durch die Zahl der zur Verfügung stehenden Messfühler begrenzt. Eine hohe Zahl von Messfühlern in einem Bestand wäre in der Praxis allerdings zu arbeits- und kostenintensiv. Eine fernerkundliche Erfassung der entscheidenden Mikroklimadaten mit hoher zeitlicher und räumlicher Auflösung wäre wünschenswert. Durch regelmäßiges „Abscannen“ des Bestands mit einer Thermokamera, gefolgt von einer Interpretation der Thermogramme, könnten eventuell Teilflächen mit überdurchschnittlichen Blattnässedauern detektiert werden, wodurch Bonituren zielgerichteter ablaufen könnten.

Allerdings besitzen neben den Umweltbedingungen und dem Ort und Zeit der Erstinfektion eine Vielzahl physikalischer, chemischer und biologischer Faktoren einen Einfluss auf die räumliche Verbreitung eines Pathogens und den Infektionsprozess und sind daher für eine erfolgreiche Vorhersage der Epidemieentwicklung zu beachten (RISTAINO & GUMPERTZ

2000). Nach WEST *et al.* (2003) müssen neben Größen wie Sporenverteilung und -produktion, Latenzzeit, Generationsdauer und Infektionsbedingungen des Erregers zusätzlich Eigenschaften der Wirtspflanze, wie beispielsweise Versorgungszustand, Entwicklungsstadium und Genotyp mit berücksichtigt werden, um die Krankheitsentwicklung prognostizieren zu können. Die Komplexität einer Epidemie erschwert die Erstellung eines Modells zur Vorhersage der räumlichen Ausbreitung von Blattkrankheiten.

Die Temperatur eines Laubblatts ist die Folge verschiedener Energieströme, die in bzw. aus einem Blatt fließen, und von zahlreichen externen und internen Parametern beeinflusst werden (KÜMMERLEN *et al.* 1999). Diese Parameter lassen sich unterteilen in Faktoren, die zum einen die Energiebilanz eines Blatts erhöhen („Energieinflux“) und zum anderen die Energiebilanz eines Blatts reduzieren („Energieefflux“) (THOFELT 1975). Die gespeicherte Energie im Blatt ergibt sich folglich aus der Differenz zwischen Energieinflux und Energieefflux. Der Energieinflux wird hauptsächlich bestimmt durch die direkte Sonnenstrahlung, die diffuse Himmelstrahlung sowie die atmosphärische Gegenstrahlung. Energieflüsse aus dem Blatt sind neben der emittierten Infrarotstrahlung im Wesentlichen in der Wärmeabgabe durch Transpiration zu sehen. Die gespeicherte Energie geht in die Photosynthese und andere metabolische Prozesse ein und ist im Übrigen für die Änderungen der Blatttemperatur verantwortlich (NOBEL 1983). Veränderungen in der Energiegleichung eines Blatts, die zu einer Veränderung der gespeicherten Energiemenge führen, bewirken demnach eine Temperaturveränderung des Blatts (STANGHELLINI 1987).

Im Gegensatz zu Säugetieren wird die Temperatur von Pflanzen hauptsächlich durch ihre Umgebung bestimmt, da interne Wärmequellen, wie metabolische Prozesse für die Energiebilanz von untergeordneter Bedeutung sind (NOBEL 1983). Temperaturverhältnisse in Pflanzen stehen in sehr engem Kontakt mit ihrem Wassergehalt. Zwischen dem Wärmehaushalt von Pflanzen und deren Wassergehalt besteht nach KÜMMERLEN *et al.* (1999) eine direkte Beziehung, da die Absorption von Infrarotstrahlen im pflanzlichen Gewebe hauptsächlich durch Wasser erfolgt. Der einzige Parameter, der in diesem Zusammenhang von der Pflanze kurzfristig selbst gesteuert werden kann, ist der Öffnungszustand der Stomata, wodurch sich ihre Transpirationsrate ändert. Durch eine Regulierung der Stomaöffnung kann die Wasserabgabe in einem gewissen Rahmen kontrolliert werden, da bei intaktem Blattgewebe die Transpiration fast ausschließlich durch die Spaltöffnungen stattfindet (KÜMMERLEN *et al.* 1999). Die Transpiration stellt einen Diffusionsprozess dar, dessen Stärke in Abhängigkeit der Konzentrationsunterschiede des Wasserdampfs innerhalb und außerhalb des Blatts verläuft. Höhere Lufttemperaturen und geringere relative

Luftfeuchtigkeiten steigern die Transpirationsrate, da der Unterschied im Wasserdampfgradienten an der Grenzschicht Blatt – Atmosphäre erhöht wird (NULTSCH 1991). Wind führt meist ebenfalls zu einer Zunahme der Transpiration, da er das Dampfdruckdefizit zwischen Blatt und Atmosphäre aufrechterhält. Äußere Faktoren, die das Öffnungsverhalten der Stomata beeinflussen, sind die Wasserversorgung der Pflanze, das Sättigungsdefizit und die CO<sub>2</sub>-Konzentration der Luft sowie die Lichtstärke (KUIPER 1961).

Die Wasserabgabe der Pflanzen stellt einen abkühlenden Prozess dar, da für die Verdunstung von Wasser viel Energie benötigt wird. So reicht beispielsweise die Energie, die benötigt wird um 1 mg Wasser zu verdunsten, aus, um 600 mg Wasser um 1 K abzukühlen (KÜMMERLEN *et al.* 1999). Bereits FUCHS & TANNER (1966) zeigten, dass die Blatttemperatur von der Transpirationsrate abhängig ist und somit hauptsächlich durch die stomatare Leitfähigkeit beeinflusst wird. Die Blatttemperatur ermöglicht demnach Rückschlüsse über die Öffnungsweite der Stomata (JONES 1999; PRYTZ *et al.* 2003). Die von INOUE *et al.* (1990) dokumentierte negative lineare Korrelation zwischen Transpirationsrate und Blatttemperatur für gesundes Gewebe wurde in dieser Arbeit bestätigt. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass diese Korrelation auch für infiziertes Gewebe gilt und nicht durch eine beeinträchtigte Stomaregulation aufgehoben wird. Nach BOCCARA *et al.* (2001) ist die Blatttemperatur neben der Öffnungsweite der Stomata und dem Diffusionsgradienten noch von den Gewebeeigenschaften sowie der Kutikuladicke abhängig. MERLOT *et al.* (2002) verweisen bezüglich der Blatttemperatur zusätzlich auf den Einfluss der Blattform und Blattposition sowie auf die Dichte der Stomata pro Blattfläche und den Wasserverlust durch die Kutikula.

Die in der Literatur anerkannte Meinung, dass die relative Luftfeuchtigkeit sowie die Lufttemperatur einen starken Einfluss auf die Blatttemperatur besitzen, konnte in den eigenen Untersuchungen bestätigt werden. Höhere Luftfeuchtigkeiten führten bei gleichbleibenden Lufttemperaturen zu einem Anstieg der Blatttemperatur, da die abkühlende Wirkung der Wasserverdunstung durch eine geringere Transpirationsrate, infolge des geringeren Wasserdampfgradienten an der Grenzschicht Blatt – Atmosphäre, zurückging. Bei gleichbleibender Luftfeuchtigkeit führte eine Zunahme in der Lufttemperatur von 16 °C auf 21 °C zu einer stärkeren Abkühlung des Blatts gegenüber der Umgebungstemperatur. Die stärkere Abkühlung im höheren Temperaturbereich kann durch die gesteigerte Transpirationsrate infolge des größeren Diffusionsgradienten erklärt werden. Erstaunlich war, dass eine weitere Zunahme der Lufttemperatur von 21 °C auf 26 °C bei gleichbleibender Luftfeuchtigkeit dagegen zu einem Rückgang der Transpiration führte. Eine mögliche

Erklärung für den Rückgang der Transpirationsrate trotz Zunahme des Diffusionsgradienten für Wasserdampf wäre, dass die Öffnungsweite der Stomata bei hohen Lufttemperaturen reduziert wurden. EHLERS (1996) bewertete den Einfluss der Temperatur innerhalb eines Temperaturbereichs zwischen 10 °C und 25 °C auf das Stomaverhalten als gering, wohingegen sich die Spaltöffnungen bei höheren Temperaturen schließen, um eine verstärkte CO<sub>2</sub>-Freisetzung infolge überhöhter Atmung zu verhindern. Eventuell machte sich dieser hemmende Einfluss auf die Öffnungsweite der Stomata bereits bei 26 °C bemerkbar.

Eigenen Untersuchungen zum Einfluss der Wasser- und Nährstoffversorgung auf die Blatttemperatur bestätigten die Ergebnisse von GEBHARDT (1990), in denen gezeigt wurde, dass die Aufzeichnungen der Bestandestemperatur Rückschlüsse auf die Wasserversorgung landwirtschaftlicher Kulturen zuließen, ein signifikanter Einfluss der Düngungsvarianten auf die Bestandestemperatur allerdings nicht nachweisbar war. Die Wasserversorgung der Pflanze hat einen entscheidenden Einfluss auf das Öffnungsverhalten der Stomata und somit auf die Transpirationsrate der Pflanze. Verliert das Pflanzengewebe Wasser, sinkt der Turgor und die Spaltöffnungen schließen sich (EHLERS 1996). Die gesteigerte Düngung führte dagegen offensichtlich zu keiner Änderung in der Transpirationsrate der Blätter. In Übereinstimmung mit der Literatur konnte ein messbarer Einfluss auf die Oberflächentemperatur von Blättern durch eine veränderte Assimilationsrate nicht festgestellt werden (BREIDENBACH *et al.* 1997). Eine eventuelle Erwärmung eines Laubblatts durch gesteigerte Stoffwechselaktivitäten stellt nach CHAERLE *et al.* (2002) höchstens 1 % der gesamten Temperaturveränderung eines Blattgewebes dar und kann demnach bei der Interpretation von Thermogrammen vernachlässigt werden.

Weitere Untersuchungen zur Blatttemperatur ergaben, dass jüngere Blätter einer vier Wochen alten Gurkenpflanze wärmer waren als ältere Blätter. Das jüngste Blatt ist kleiner und dünner als das älteste voll ausgebildete Blatt. Das Verhältnis Oberfläche zu Volumen ist bei kleinen Blättern geringer, wodurch die Transpiration reduziert und daher die Abkühlung gegenüber der Umgebungstemperatur geringer ist (THOFELT 1975). Nach diesem Autor steht das Verhältnis des Blattumfangs zur Blattfläche in direkter Beziehung zur Wärmeabgabe eines Blatts, wodurch sich die höhere Blatttemperatur des kleineren Blatts erklären ließe. Eventuell ist die höhere Temperatur des jüngeren Blatts aber auch auf einen geringeren Wassergehalt des Blattgewebes oder auf Unterschiede in der Exposition der Blätter zurückzuführen. Die Vermutung, dass die Kutikuladicke eines jungen Blatts noch nicht so stark ausgebildet ist und daher eine verstärkte kutikuläre Wasserabgabe stattfindet, konnte in den thermografischen Messungen nicht bestätigt werden.



MERLOT *et al.* (2002) und WANG *et al.* (2004) nutzten u.a. Thermogramme, um Mutanten von *Arabidopsis thaliana*, die sich hinsichtlich ihrer Stomaregulation und demzufolge in der Blatttemperatur unterschieden, nachzuweisen. In den eigenen Untersuchungen hatte der Genotyp der untersuchten Gurkensorten keinen Einfluss auf die Blatttemperatur. Die stomatäre Leitfähigkeit und die Anzahl der Stomata pro Blattfläche der untersuchten Gurkensorten unterschieden sich demnach nicht voneinander.

CHAEERLE *et al.* (2003) stellten in ihren Untersuchungen fest, dass eine Aufnahme der Phenylharnstoffherbizide Diuron und Linuron zu höheren Blatttemperaturen führte. Die Erklärung hierfür ist in der Hemmung des Photosystems II der Pflanze zu sehen. Der Rückgang der Photosyntheserate führt zu einem Mangel an ATP, wodurch die Öffnungsweiten der Stomata reduziert werden und die Blatttemperatur ansteigt. Eine Anwendung des Fungizids Aliette® hatte dagegen keinen messbaren Einfluss auf die Blatttemperatur. Die Pflanzenschutzmittelanwendung beeinträchtigt demzufolge weder die stomatäre Leitfähigkeit noch die Transpirationsrate der Gurkenpflanzen.

Nach LUCAS (1998) wird die stomatäre Leitfähigkeit maßgeblich durch abiotische Faktoren wie Wasserversorgung, Sonneneinstrahlung, Windgeschwindigkeit, Lufttemperatur und relative Luftfeuchtigkeit gesteuert, aber auch einige Pathogene sind in der Lage, die Transpirationsrate ihrer Wirtspflanzen zu beeinflussen. In Abhängigkeit des Stadiums der Pathogenese reduzierte bzw. erhöhte ein Befall mit dem obligat biotrophen Erreger *P. cubensis* die Temperatur des infizierten Blattgewebes. Niedrigere Blatttemperaturen im frühen Stadium der Pathogenese von *P. cubensis* an der Infektionsstelle waren mit einer gesteigerten Transpirationsrate korreliert. Eine erregerinduzierte Erhöhung der Transpirationsrate kann von Pathogenen hervorgerufen werden, die zum einen die Kutikula der Wirtspflanzen mechanisch zerstören, wodurch die kutikuläre Transpiration drastisch ansteigt, oder zum anderen durch die Produktion von Toxinen die Zellmembranpermeabilität verändern, wodurch ein unkontrollierbarer Wasserverlust aus den betroffenen Zellen eingeleitet wird (ELSTNER *et al.* 1996). FARRELL *et al.* (1969) stellten an Kartoffelblättern im Bereich der Befallsstellen von *Phytophthora infestans* eine abnormale Stomaöffnung fest, die sie auf eine Pathogen-induzierte Akkumulation löslicher Zucker zurückführten. Der erhöhte osmotische Wert der Schließzellen steigert den Turgor und verursacht das Öffnen der Stomata. Die stomatäre Leitfähigkeit wird dadurch erhöht und Wasserdampf kann verstärkt aus dem infizierten Wirtsgewebe austreten. Durch die abnormale Stomaöffnung im Bereich der Befallsstellen wird eine gesteigerte CO<sub>2</sub>-Fixierung ermöglicht, die wiederum der Ernährung des obligat biotrophen Erregers zu Gute kommt (FARRELL *et al.* 1969). So

wiesen TAKAHASHI *et al.* (1977) sofort nach der Begasung infizierter Pflanzen mit  $^{14}\text{CO}_2$  eine Aufnahme des radioaktivmarkierten Kohlenstoffs in die Haustorien von *P. cubensis* nach.

Falsche Mehltäupilze dringen allerdings durch Spaltöffnungen in das Wirtsgewebe ein und verbreiten sich dort interzellulär ohne Produktion von zellwandabbauenden Enzymen bzw. Toxinen oder einer Zerstörung der Kutikula (MICHELMORE *et al.* 1988). Vor Auftreten der ersten makroskopisch sichtbaren Symptome kann demnach die Beeinträchtigung des Wirtsgewebes durch den obligat biotrophen Erreger, der auf lebendes Wirtsgewebe angewiesen ist, nach LEBEDA & SCHWINN (1994) als gering eingestuft werden. In der vorliegenden Arbeit konnte allerdings in Thermogrammen gezeigt werden, dass bereits in der prä-symptomatischen Phase der Krankheitsentwicklung infiziertes Gewebe um bis zu  $0,8\text{ }^\circ\text{C}$  kälter war als angrenzendes nicht infiziertes Gewebe. Aufgrund der negativen Korrelation zwischen Blattemperatur und Transpirationsrate kann gefolgert werden, dass der Wasserverlust an den Befallsstellen vor Auftreten der ersten Symptome im Vergleich zu intaktem Blattgewebe deutlich größer war. In diesem frühen Stadium der Pathogenese von *P. cubensis* konnten am pflanzlichen Abschlussgewebe weder makroskopisch noch mikroskopisch Schäden nachgewiesen werden, die eine gesteigerte kutikuläre Transpiration erklären würden. Allerdings waren im Anfangsstadium der Pathogenese die Stomata infizierter Gewebebereiche weiter geöffnet als die Spaltöffnungen nicht infizierter Blattgewebe. Da in den Semidünnschnitten zu diesem Zeitpunkt der Pathogenese noch keine morphologischen Gewebeschäden zu erkennen waren, wird in Anlehnung an FARRELL *et al.* (1969) angenommen, dass physiologische Faktoren an den Befallsstellen für die abnormale Stomaöffnung verantwortlich sind.

Veränderungen im Stoffwechsel der Wirtspflanze sind während der Krankheitsentwicklung durch ein Pathogen bereits vor dem Auftreten zytologischer Abweichungen zu beobachten. Erste Veränderungen dieser Art haben weitere Störungen des normalen physiologischen Ablaufs der Wirtspflanze zur Folge, die schließlich zu makroskopisch sichtbaren Symptomen an der Wirtspflanze führen (HOFFMANN *et al.* 1985). So konnte im frühen Stadium der Pathogenese ein signifikanter Anstieg des Gehalts an interzellulären  $\text{CO}_2$  in mit *P. cubensis* infiziertem Gewebe nachgewiesen werden. Die Assimilationsrate des infizierten Gewebes lag zu diesem Zeitpunkt deutlich unter der Assimilationsrate des gesunden Gewebes. Zur Erklärung der im Verlauf von Pilzinfektionen häufig beobachteten reduzierten  $\text{CO}_2$ -Fixierung des befallenen Wirtsgewebes können nach ELSTNER *et al.* (1996) geringere Elektronentransportraten, verminderte Phosphorylierung sowie eine Hemmung im Calvinzyklus mit

herangezogen werden. MONTALBINI & BUCHANAN (1974) wiesen in mit *Uromyces fabae* infizierten Bohnenblättern eine Reduktion der Photosyntheseleistung nach, die durch eine Inhibierung der nicht-zyklischen Phosphorylierung hervorgerufen wurde. Der obligat biotrophe Erreger reduzierte den Gehalt an NADP in infiziertem Gewebe, wodurch die Rate des Elektronenflusses verringert und eine Hemmung der Assimilationsrate hervorgerufen wurde. Im Weiteren ist eine Reduktion des Chlorophyllgehalts (GOULD *et al.* 1996) und eine direkte Schädigung und Degeneration der Chloroplasten durch Veränderungen der Permeabilitätsverhältnisse für die Reduktion der Assimilationsrate im frühen Stadium des Krankheitsprozesses verantwortlich (ELSTNER *et al.* 1996). Die eigenen Ergebnisse bestätigten diese Literaturangaben. Vor Auftreten der ersten Symptome von Falschem Gurkenmehltau konnte eine gesteigerte Permeabilität der Zellmembranen mittels Leitfähigkeitsmessungen und ein Abbau von Chloroplasten in mikroskopischen Untersuchungen nachgewiesen werden. Zu einem weiter fortgeschrittenen Stadium der Pathogenese ist eine verringerte Photosyntheserate durch die Zerstörung der Gewebe- und Organellteile sowie durch einen Verlust an assimilatorisch wirksamer Blattfläche zu erklären (BASTIAANS 1991, LIVNE 1964).

Bezüglich des Wasserhaushalts der Wirtspflanze konnte am dritten Tag nach der Inokulation eine Zunahme der stomatären Leitfähigkeit für Wasserdampf nachgewiesen werden. Eine Erklärung hierfür ist die abnormale Stomaöffnung von mit *P. cubensis* infizierter Gewebebereiche im frühen Stadium der Pathogenese. Nach ESCHRICH (1995) ist der Öffnungszustand der Stomata eine Funktion der Turgordruckdifferenz zwischen den Schließzellen und den benachbarten Epidermiszellen, die der Ausdehnung der Schließzellen Widerstand leisten. Eine Turgorzunahme in den Schließzellen führt zu ihrer Krümmung, wodurch das Öffnen der Stomata eingeleitet wird. Die Schließung erfolgt, wenn der Turgorunterschied zu den Nachbarzellen wieder ausgeglichen wird. Die Öffnungsbewegung der Stomata wird demnach durch ein Absenken des Wasserpotenzials in den Schließzellen relativ zum Wasserpotenzial der angrenzenden Zellen ausgelöst. AYRES & JONES (1975) beobachteten einen übermäßigen Wasserverlust von Pflanzengewebe, der durch eine indirekte Beeinträchtigung der Stomaregulation durch das Pathogen *Rhynchosporium secalis* verursacht wurde. Das Myzelwachstum des Erregers beschädigte die Epidermiszellen, wodurch diese verstärkt Wasser verloren und eine Veränderung im Turgorverhältnis zwischen Epidermis- und Schließzellen eintrat, die in einer Öffnung der Stomata resultierte.

In früheren Literaturangaben betrachtete man die Akkumulation von osmotisch aktiven Molekülen als den wesentlichen Prozess für die Steigerung des osmotischen Potenzials in den

Schließzellen. Als osmotisch aktives Molekül wurde hauptsächlich die durch die Hydrolyse von Stärke gebildete Glucose angesehen (FARRELL *et al.* 1969). Allerdings ist die Freisetzung von Glucose nicht ausreichend, um den Anstieg des osmotischen Potenzials quantitativ zu erklären (MOHR & SCHOPFER 1992). Heutzutage geht man davon aus, dass Turgordruckänderungen in den Schließzellen vorwiegend durch Ionenflüsse verursacht werden. Ein selektiver, aktiver  $K^+$ -Einstrom erhöht das osmotische Potenzial der Schließzellen, wodurch der Turgor ansteigt und sich die Stomata öffnen (TALLMAN 2004). Die elektrische Neutralisation der einströmenden  $K^+$ -Ionen wird durch eine gleichzeitige Aufnahme von  $Cl^-$ -Ionen und Synthese von organischen Säuren, vorwiegend Malat, gewährleistet. Die selektive Akkumulation von KCL oder  $K_2$ -Malat ist demnach für die zur Öffnung führende Erhöhung des osmotischen Potenzials in den Schließzellen verantwortlich (OUTLAW 2003).

Veränderungen der Permeabilität der Zellmembran werden nach WIDMER *et al.* (1998) als früheste Wirtsreaktion auf einen Erregerbefall angesehen. Änderungen im Primär- und Sekundärstoffwechsel sind die Folge einer veränderten Zellmembranpermeabilität (LIBBERT 1993). Da eine Veränderung der semipermeablen Eigenschaften der Zellmembran zu einem erhöhten Elektrolytverlust aus den betroffenen Zellen führt (INABA & CRANDALL 1988), kann nach PREMACHANDRA & SHIMADA (1987) der Grad der Membranschädigung eines Gewebes durch Messung des Elektrolytverlusts bestimmt werden. Untersuchungen zur Zellmembranstabilität zeigten, dass mit *P. cubensis* infiziertes Blattgewebe bereits vor Ausbildung erster Chlorosen einen doppelt so hohen Elektrolytverlust wie nicht infiziertes Blattgewebe aufwies. Eine Infektion von *P. cubensis* führte demnach bereits im frühen Stadium der Pathogenese zu einer Membranschädigung der Wirtszellen. Falsche Mehlaupilze bilden zur Nahrungsaufnahme ausgehend vom interzellulären Myzel Haustorien in die Mesophyllzellen der befallenen Gewebebereiche aus, die in der Lage sind Zellinhaltsstoffe zu resorbieren. Im Laufe der Entwicklung des Haustoriums wird die Wirtszellmembran ins Zelllumen hineingestülpt, indem sich die Wirtszellmembran ausdehnt ohne zerstört zu werden (MICHELMORE *et al.* 1988). Die eigenen Ergebnisse zeigen aber deutlich, dass in diesem frühen Stadium der Pathogenese bereits ein erhöhter Elektrolytverlust aus den betroffenen Gewebebereichen stattfand. Eventuell wird durch die Einstülpung der Wirtszellmembran im Rahmen der Haustorienbildung die selektive Permeabilität der Zellmembran deutlich stärker beeinträchtigt als bisher angenommen. Dies könnte den Efflux von Zellinhaltsstoffen in die Interzellularen erklären. Folge derartiger Veränderungen sind große Verluste an Elektrolytmengen aus den betroffenen Mesophyllzellen. Mit erhöhtem Elektrolytverlust aus infizierten

Zellen sinkt ihr osmotischer Wert, was wiederum eine verstärkte Wasserabgabe aus den Zellen bewirkt (OUTLAW 2003). Dies hat zur Folge, dass Zellflüssigkeit aus dem angrenzenden gesunden Gewebe zum Infektionsort diffundiert, um den Wassermangel der Mesophyllzellen auszugleichen (SCHLÖSSER 1997).

Die Epidermiszellen am Infektionsort werden von diesen Veränderungen nicht erfasst, da sich der Erreger nur im Mesophyllgewebe ausbreitet. Der Turgor der Schließzellen nimmt somit gegenüber dem Turgor der angrenzenden Zellen zu. Zusätzlich wird vermutlich infolge des Turgorverlusts der Mesophyllzellen der Xylemtransport zu der Infektionsstelle hin von der Pflanze aktiv durch weit geöffnete Stomata erhöht. Durch den erregerinduzierten Transpirationssink werden gleichzeitig Nährstoffe zur Infektionsstelle transportiert, die dem Erreger für seine Entwicklung zur Verfügung stehen. Lokalisierte wasserdurchtränkte Gewebe infolge von Veränderungen im Wasserhaushalt durch den Befall eines Erregers sind oft das erste sichtbare Symptom im Krankheitsprozess (HOFFMANN *et al.* 1985). Ein kurzfristiges Ansteigen des Wassergehalts von infiziertem Gewebe zeitgleich mit der Entstehung der ersten Ölflecke konnte in den eigenen Untersuchungen beobachtet werden. Demzufolge ließe sich das typische wässrige Erscheinungsbild der Ölflecke mit einem höheren Wassergehalt des infizierten Gewebes aufgrund von Zellmembranschäden, die durch den Erreger hervorgerufen worden sind, erklären. Der höhere Wassergehalt führte im Vergleich zum benachbarten nicht infizierten Gewebe zu höheren Transpirationsraten, die dann als Zonen niedrigerer Temperaturbereiche in Thermogrammen visualisiert werden konnten.

Durch eine Beeinflussung des Phloemtransports führt die Infektion eines obligat biotrophen Erregers häufig zu einer Akkumulation von Assimilaten um die Befallsstelle (GOODMAN *et al.* 1986). Auch für *P. cubensis* wurde ein verstärkter Nährstofftransport zur Infektionsstelle beschrieben (INABA & KAJIWARA 1974, 1975). Nach SPENCER (1981) stellt ein mit Oomyceten infiziertes Gewebe einen starken Nährstoffsink dar. Dass infiziertes Gewebe einen Transpirationssink verursacht, um die Nährstoffversorgung des Wirtsgewebes und des obligat biotrophen Erregers sicher zu stellen (SCHLÖSSER 1997), kann ebenfalls als Erklärung für die prä-symptomatische Abkühlung der Blatttemperatur mit herangezogen werden.

Zeitgleich mit der Ausbreitung des Erregers in angrenzendes Gewebe verschob sich parallel zum Hyphenwachstum die Zone mit kälterer Blatttemperatur. Durch die Verbreitung des Myzels von *P. cubensis* im Laufe der Krankheitsentwicklung in benachbartes Mesophyll-

gewebe wurde auch die Membranstabilität der angrenzenden Zellen beeinträchtigt und der abkühlende Effekt einer gesteigerten Transpirationsrate ging auf die angrenzenden Gewebebereiche über. Ein „Gürtel“ mit geringerer Blatttemperatur breitete sich in Richtung gesundes Gewebe aus wobei eine immer größere Blattfläche von den Temperaturanomalien erfasst wurde.

Im weiteren Verlauf der Pathogenese kann eine gesteigerte Transpirationsrate durch das Pathogen hervorgerufen werden, indem zum einen der Erreger durch die Ausbildung von Myzel oder infektiösen Strukturen auf der Pflanzenoberfläche zu einer Vergrößerung der transpirierenden Oberfläche beiträgt, zum anderen durch die Zerstörung von Wirtsgewebe ein unkontrollierter Wasserverlust verursacht wird (BASSANEZI *et al.* 2002). Da *P. cubensis* kein Myzel außerhalb des Wirtsgewebes ausbildet und während des Versuchszeitraums keine Sporulationsbedingungen für den Erreger geschaffen wurden, kann eine Abkühlung aufgrund einer erregerbedingten Vergrößerung der transpirierenden Oberfläche ausgeschlossen werden. Wie sich in dieser Studie zeigte, waren für Chlorosen allerdings ebenfalls geringere Blatttemperaturen als für gesundes Gewebe charakteristisch. In den Semidünnschnitten von chlorotischem Gewebe war deutlich zu erkennen, dass in diesem fortgeschrittenen Stadium der Pathogenese bereits eine weitreichende Störung der Zellintegrität der Mesophyllzellen stattgefunden hatte. Die Zellen waren nicht mehr turgeszent, ein Großteil des Zellinhalts war entwichen und hatte zu einer gesteigerten Transpirationsrate mit beigetragen.

Die stomatäre Leitfähigkeit für Wasserdampf stieg während der Krankheitsentwicklung kontinuierlich weiter an, bis sie schlagartig mit Entstehen der ersten Nekrosen geringer war als die stomatäre Leitfähigkeit von gesundem Gewebe. Die Veränderung der Transpirationsrate verlief ab dem vierten Tag nach der Inokulation parallel zum Verlauf der stomatären Leitfähigkeit. Der drastische Rückgang der stomatären Leitfähigkeit sowie der Transpirationsrate im Endstadium der Pathogenese war auf den geringen Wassergehalt des absterbenden Gewebes zurückzuführen. Die Wasserversorgung des infizierten Gewebes konnte im Endstadium der Pathogenese nicht mehr sichergestellt werden, da größere Blattbereiche vollständig zerstört und die Leitgefäße unterbrochen waren. Der starke Wasserverlust des infizierten Gewebes in früheren Stadien der Pathogenese sowie die vollständige Zerstörung des infizierten Gewebes durch den Erreger führten zu einem allmählichen Austrocknen und schließlich zum Absterben des betroffenen Gewebes. Der Temperaturanstieg von infiziertem Gewebe während der Nekrotisierung lässt sich demnach durch das Fehlen des abkühlenden Effekts der Verdunstung erklären. Nekrosen waren daher wärmer als nicht infiziertes bzw. chlorotisches Gewebe. Von SCHLÖSSER (1997) werden Nekrosen als ein noch größerer

Transpirationssink als Chlorosen angesehen, wodurch der Nährstofftransport in Richtung des Pathogens sichergestellt wird. Wie aus eigenen Ergebnissen deutlich wurde, waren Nekrosen – zumindest bei mit Falschem Mehltau befallenen Gurkenblättern – allerdings keine Orte mit erhöhter Transpiration und trugen daher nicht mehr zur Ernährung des Pathogens bei.

Während die Blattemperatur von mit *P. cubensis* infiziertem Gewebe bereits vor Auftreten der ersten Symptome kälter war als angrenzendes nicht infiziertes Gewebe, konnte bei Gurkenblättern, die mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* infiziert waren erst nach der Ausbildung eines Sporenbelags auf der Blattoberseite eine Veränderung in der Blattemperatur festgestellt werden. Zonen mit kälteren Blattemperaturen waren auf die Flächen der Mehлтаupusteln begrenzt. Eine mögliche Erklärung für die unterschiedliche Beeinflussung der Blattemperatur durch Falschen bzw. Echten Gurkenmehltau kann in der Art der Wirtsbesiedelung gesehen werden. Bei Echten Mehлтаupilzen handelt es sich, im Gegensatz zu Falschen Mehлтаupilzen, um Ektoparasiten, die sich vorwiegend auf der Epidermis der Wirtspflanze ausbreiten, ohne die Zellen der Wirtspflanze zu zerstören (SPENCER 1978). Somit kommt es prä-symptomatisch im Wirt-Pathogen-System Gurke-*S. fuliginea* und *E. cichoracearum* zu keiner Beeinflussung der Transpirationsrate der Wirtspflanze. Eine Interaktion zwischen Erreger und Wirt kann im frühen Stadium der Pathogenese thermografisch nicht nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu der zeitlichen und räumlichen Dynamik in der Blattemperatur von mit *P. cubensis* infiziertem Gewebe blieben die Flächen mit Sporenbelag von Echem Gurkenmehltau bis zum Ende des Versuchs kälter als das unbesiedelte Gewebe. Höhere Transpirationsraten im Verlauf der Pathogenese von *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* sind demnach hauptsächlich auf eine Vergrößerung der transpirierenden Oberfläche aufgrund der Ausbildung von Pathogenstrukturen auf der Pflanzenoberfläche beschränkt. Während der gesamten Versuchsdauer konnte keine Erhöhung der Blattemperatur durch *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* nachgewiesen werden, die auf eine Zerstörung des Wirtsgewebes bzw. absterbende Gewebebereiche hinweisen würde. Die obligat biotrophen Ektoparasiten halten ihr Wirtsgewebe im Gegensatz zum obligat biotrophen Endoparasit demnach über eine längere Zeit funktionsfähig

Ob und in welchem Umfang die Transpirationsrate einer Wirtspflanze von einem Pathogen beeinflusst wird und somit mittels Thermografie erfasst werden kann, variiert nach Literaturangaben in Abhängigkeit des Pathosystems stark. Pathogene wie *Pythium aphanidermatum* und *Phymatotrichum omnivorum*, welche die Wurzeln ihrer Wirtspflanze zerstören und dadurch die Wasserversorgung beeinträchtigen, reduzieren die Transpirationsrate ihrer Wirtspflanzen erheblich. Infizierte Wirtspflanzen lassen sich demnach

von gesunden Pflanzen anhand höherer Blatttemperaturen unterscheiden (PINTER *et al.* 1979). Dagegen konnte bei einer Infektion mit *Puccinia striiformis* eine gesteigerte Transpirationsrate der befallenen Weizenblätter zu Beginn der Pathogenese nachgewiesen werden (SMITH *et al.* 1986). Zurückgeführt wurde diese auf eine Beeinträchtigung der Stomafunktion durch den Erreger sowie eine gesteigerte kutikuläre Transpiration infolge einer Zerstörung der Epidermis während der Ausbildung von Rostpusteln. Der sich anschließende Verlust an transpirierender Blattfläche durch das Absterben der infizierten Blätter resultierte in den Untersuchungen von SMITH *et al.* (1986) im weiteren Verlauf der Krankheitsentwicklung in einer Reduktion der Transpirationsrate der befallenen Weizenpflanzen. CRUICKSHANK & RIDER (1961) kamen in ihren Untersuchungen zur Transpirationsrate von mit *Peronospora tabacina* befallenen Tabakpflanzen zu ähnlichen Ergebnissen. Während die Transpirationsrate infizierter Blätter im Vergleich zu gesunden Blättern besonders nachts vor der Sporulation des Erregers höher war, ging die Transpirationsrate der infizierten Blätter nach der Sporulation des Erregers deutlich zurück. Von CRUICKSHANK & RIDER (1961) wurde vermutet, dass es sich hierbei hauptsächlich um eine Zunahme der kutikulären Transpiration handelte. Gründe für die gesteigerte kutikuläre Transpiration bei der Interaktion zwischen *P. tabacina* und Tabak wurden allerdings nicht aufgeführt. Der Rückgang der Transpirationsrate im Endstadium der Pathogenese wurde mit einem schnellen Zellokollaps der mit *P. tabacina* infizierten Gewebebereiche begründet.

BASSANEZI *et al.* (2002) beschrieben, dass *Uromyces appendiculatus* keinen Einfluss auf die Transpirationsrate von Bohnenblättern hatte, da dieser biotrophe Erreger, ebenso wie der Echte Mehltau an Gurken, nur eine geringe Beeinträchtigung des Wirtsgewebes darstellte. Dagegen reduzierten die hemibiotrophen Erreger *Phaeoisariopsis griseola* und *Colletotrichum lindemuthianum* zeitgleich mit Entstehung der ersten Symptome die Transpirationsrate der Wirtspflanze, indem die Öffnungsweite der Stomata reduziert wurde bzw. ein schneller Zelltod eintrat (BASSANEZI *et al.* 2002). CHAERLE *et al.* (1999) beobachteten eine erregerinduzierte Schließung der Stomata an Tabakpflanzen, die gegenüber dem Tabak-Mosaik-Virus resistent waren. Resistente Tabakpflanzen reagierten auf eine Infektion mit dem Tabak-Mosaik-Virus mit einer Hypersensitivitätsreaktion, die mit einem lokalen Zelltod der infizierten Zellen endete. In der ablaufenden Hypersensitivitätsreaktion kam es zu einer Anreicherung von Salicylsäure in den betroffenen Zellen. Die Salicylsäure führte zu einer Depolarisation der Zellmembran mit der Folge, dass der Turgor der Schließzellen abnahm, worauf sich die Stomata schlossen. Das dem Zelltod vorangehende Schließen der Stomata bewirkte einen punktuellen Rückgang der Transpirationsrate und war



gekoppelt mit einer kleinräumigen Temperaturerhöhung. Mittels Thermografie war es CHAERLE *et al.* (1999) möglich, diese „Hot – Spots“ vor Auftreten der ersten Nekrosen zu erfassen. Diese Zonen mit höheren Temperaturen breiteten sich mit der Zeit aus.

Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen waren bei Falschem Gurkenmehltau die ersten Temperaturanomalien durch eine Reduktion der Blattemperatur infizierter Gewebe gekennzeichnet, die sich im Folgenden ausbreiteten. Eine Erwärmung des infizierten Gewebes vor dem Kollabieren der Zellen konnte dagegen nicht beobachtet werden. Demzufolge geht dem Zelltod im Wirt-Pathogen-System Gurke-*P. cubensis* keine Schließung der Stomata voran, im Gegenteil, die Stomata des infizierten Gewebes waren weiter geöffnet als die des nicht infizierten Gewebes.

Im weiteren Verlauf der Hypersensitivitätsreaktion resistenter Tabakpflanzen auf eine Infektion mit dem Tabak-Mosaik-Virus entstanden erst mit der Ausbildung von Nekrosen im Zentrum der „Hot – Spots“ Bereiche mit kälteren Blattemperaturen. Durch eine irreparable Schädigung der Zellmembran im Verlauf der Nekrotisierung wurde ein unkontrollierbarer Efflux von Ionen und ein Austritt des Zellinhalts aus den betroffenen Zellen ausgelöst. Eine gesteigerte Transpirationsrate sowie eine Abkühlung der Gewebebereiche mit abgestorbenen Zellen war die Folge (CHAERLE *et al.* 2001). Die Ergebnisse eigener Untersuchungen ergaben dagegen, dass niedrigere Blattemperaturen von mit *P. cubensis* infiziertem Gewebe bereits deutlich vor Erscheinen der ersten Nekrosen auftraten. In thermografischen Untersuchungen zum Wirt-Pathogen-System Zuckerrübe-*Cercospora beticola* machten CHAERLE *et al.* (2004) die gleichen Beobachtungen wie in der vorliegenden Arbeit. Nach einer prä-symptomatischen Abkühlung der infizierten Blattbereiche folgte mit der Austrocknung des befallenen Gewebes ein Temperaturanstieg. Für die niedrigeren Blattemperaturen im frühen Stadium der Pathogenese werden von CHAERLE *et al.* (2004) zahlreiche Hypothesen diskutiert. Auf der einen Seite wird ein toxininduziertes Kollabieren der Mesophyllzellen sowie eine Veränderung der Membranpermeabilität der betroffenen Zellen bis hin zu einer Zerstörung der Zellmembran für möglich gehalten. Auf der anderen Seite wird eine mechanische Öffnung der Stomata durch eine Zunahme des Turgors der Schließzellen für den Anstieg der Transpirationsrate verantwortlich gemacht.

Der Hauptgrund für die Änderung der Blattemperatur ist in unterschiedlichen Transpirationsraten zu sehen (CHAERLE *et al.* 2002). Demzufolge macht es nur Sinn, die Blattemperatur zur Visualisierung von Pflanzenkrankheiten mit heran zu ziehen, wenn der Erreger einen Einfluss auf die Transpirationsrate der Wirtspflanze ausübt. Die indirekte Visualisierung der

Transpirationsrate mittels Thermografie lässt Rückschlüsse über bestehende Wirt-Pathogen-Interaktionen sowie Art und Verbreitung des Erregers im Wirtsgewebe und den Grad der Zerstörung zu.

Die räumliche und zeitliche Dynamik der Blatttemperatur im Verlauf der Pathogenese von Falschem Gurkenmehltau, die sich in einer vorläufigen Abkühlung, gefolgt von einer Zunahme der Temperatur des infizierten Gewebes gegenüber nicht infiziertem Gewebe charakterisieren ließ, führte dazu, dass innerhalb eines infizierten Gurkenblatts bereits vor Auftreten der ersten makroskopisch sichtbaren Symptome Zonen mit unterschiedlichen Temperaturen auftraten. Im Gegensatz dazu transpirierte ein gesundes, unverletztes Gurkenblatt über die gesamte Blattspreite mehr oder weniger gleich stark, so dass eine gleichmäßige Temperaturverteilung für ein gesundes Gurkenblatt kennzeichnend war. Größere Schwankungen zwischen den Temperaturextremen innerhalb eines gesunden Gurkenblatts traten in den eigenen Untersuchungen nicht auf.

Bereits vor Auftreten der ersten Symptome von Falschem Gurkenmehltau ergab sich dagegen, infolge der erregurbedingten Transpirationsänderung, eine deutlich heterogenere Temperaturverteilung innerhalb eines infizierten Gurkenblatts. Um diese Unterschiede in der Temperaturverteilung von gesunden und infizierten Gurkenblätter quantitativ erfassen und den zeitlichen Verlauf beschreiben zu können, wurde der Parameter der Maximalen Temperaturdifferenz definiert. Die Differenz zwischen Temperaturmaximum und -minimum eines nicht infizierten Gurkenblatts war stets geringer als 1 °C. Im Gegensatz dazu stieg die Maximale Temperaturdifferenz infizierter Gurkenblätter bereits vor Auftreten der ersten Symptome aufgrund der prä-symptomatischen Abkühlung der infizierten Blattbereiche auf über 1 °C an. Das Temperaturminimum des infizierten Blatts ging im Verlauf der Pathogenese zurück, wodurch die Maximale Temperaturdifferenz anstieg. Die Entstehung von Nekrosen resultierte in der Ausbildung von Zonen mit höheren Blatttemperaturen. Die zeitgleiche Existenz von Chlorosen und Nekrosen auf einer Blattspreite hatte demnach zur Folge, dass die Maximale Temperaturdifferenz weiter anstieg. Erst mit der vollständigen Nekrotisierung aller Befalls-herde auf der Blattspreite ging die Maximale Temperaturdifferenz wieder zurück. Mit Hilfe der Maximalen Temperaturdifferenz war es möglich, ab dem zweiten Tag nach der Infektion, noch vor Auftreten der ersten Befallssymptome, bis zum Versuchsende zwischen infizierten und nicht infizierten Blättern zu differenzieren.

Zwischen Befallsstärke und Maximaler Temperaturdifferenz bestand an allen Messterminen ein starker positiver Zusammenhang. Die quadratische Regression beschrieb diesen Zusam-

menhang besser als eine lineare Regression. Da die Temperaturextreme vom Auftreten der unterschiedlichen Befallssymptome – Ölfleck, Chlorose bzw. Nekrose – abhängig sind und nicht vom Anteil der befallenen Blattfläche, wurde dieses Ergebnis erwartet. Ein Blatt, mit beispielsweise 60 % chlorotischer Blattfläche und ohne Nekrosen, besitzt eine niedrigere Maximale Temperaturdifferenz als ein Blatt, das bei gleicher Befallsstärke neben Chlorosen auch Nekrosen aufweist, da sich hier die Temperaturextreme stärker unterscheiden. Der Rückgang der Maximalen Temperaturdifferenz bei sehr hohen Befallsstärken im fortgeschrittenen Stadium der Krankheitsentwicklung kann durch das gestiegene Temperaturminimum erklärt werden. Die abkühlende Wirkung der Chlorosen geht aufgrund der Ausbildung von Totalnekrosen zu diesem fortgeschrittenen Stadium der Pathogenese verloren. Demzufolge besitzen Blätter im Endstadium der Pathogenese oft geringere Maximale Temperaturdifferenzen als weniger stark befallene Blätter.

Im Gegensatz zum Temperaturmuster von mit *P. cubensis* infizierten Blättern zeigten mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* infizierte Blätter vor Auftreten der ersten makroskopisch sichtbaren Symptome von Echem Mehltau keine Heterogenität in ihrer Temperaturverteilung. Die Maximale Temperaturdifferenz der mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* infizierten Blätter war daher auch bis zum Auftreten der ersten Mehlaupusteln nicht von der Maximalen Temperaturdifferenz gesunder Blätter zu unterscheiden. Erst durch die Vergrößerung der transpirierenden Oberfläche durch den Sporenbelag kam es zu einem Rückgang des Temperaturminimums, wodurch die Maximale Temperaturdifferenz der mit *S. fuliginea* und *E. cichoracearum* infizierten Blätter zunahm. Demzufolge ist eine erfolgreiche Differenzierung zwischen infizierten und gesunden Blättern vor Auftreten der ersten Symptome mit Hilfe des Parameters der Maximalen Temperaturdifferenz nur zu erwarten, wenn der Erreger eine frühzeitige Veränderung der Transpiration der Blätter hervorruft.

Die Hypothese, dass die Maximale Temperaturdifferenz eine von Umweltfaktoren unabhängige Größe darstellt, da sie auf die Temperaturdifferenz innerhalb eines Blatts und nicht auf die absolute Blatttemperatur zurückzuführen ist, konnte für gesunde, nicht aber für infizierte Blätter bestätigt werden. Die homogene Temperaturverteilung und die geringe Maximale Temperaturdifferenz gesunder Blätter beruhen auf der einheitlichen Transpiration des Gewebes. Die Umweltbedingungen beeinflussen die Transpirationsrate des Gewebes, wodurch sich die absoluten Blatttemperaturen ändern. Da sich die transpirationsbeeinflussenden Faktoren auf alle Blattbereiche auswirken, bleibt die Maximale Temperaturdifferenz unbefallener Blätter in verschiedenen Umwelten sehr ähnlich. Für mit *P. cubensis* inokulierte Blätter sind bereits vor dem Auftreten der ersten Symptome Zonen unterschiedlicher

Transpirationsraten charakteristisch. Die Wasserabgabe von infiziertem Gewebe kurz vor Auftreten der ersten Symptome sowie von chlorotischem Gewebe ist höher als von gesundem und nekrotischem Gewebe. Demgegenüber findet bei abgestobenem Gewebe keine Transpiration mehr statt. Umweltbedingungen, die eine Steigerung der Transpirationsrate bewirken, haben zur Folge, dass der Unterschied in der Wasserabgabe zwischen den verschiedenen Transpirationszonen zunimmt. Je höher die Lufttemperatur bzw. je geringer die relative Luftfeuchtigkeit ist, desto größer ist der Wasserdampfgradient an der Grenzschicht zwischen Blatt und Atmosphäre und desto mehr Wasser kann pro Zeiteinheit von einer transpirierenden Fläche abgegeben werden (NULTSCH 1991). Die Differenz der Transpirationsraten zwischen potenziell stark transpirierendem Gewebe (Chlorosen) und nicht transpirierendem Gewebe (Nekrosen) ist demnach umso größer je stärker die Messbedingungen die Transpiration fördern. Folglich ist die Maximale Temperaturdifferenz inokulierter Blätter eine von Umweltbedingungen abhängige Größe. Um vergleichende Ergebnisse über die Maximale Temperaturdifferenz infizierter Laubblätter zu erhalten, ist es demnach unerlässlich, thermografische Messungen unter standardisierten Umweltbedingungen durchzuführen.

Auch auf den Zusammenhang zwischen Befallsstärke und Maximale Temperaturdifferenz hatten die Umweltbedingungen einen Einfluss. Eine Korrelation war in allen Umwelten gegeben, die Stärke des Zusammenhangs unterschied sich allerdings deutlich: Unter transpirationsfördernden Bedingungen – geringe relative Luftfeuchtigkeit und hohe Lufttemperatur – war die Korrelation zwischen Maximaler Temperaturdifferenz und Befallsstärke sehr hoch. Bei Bedingungen, welche die Transpirationsrate reduzierten, war der Korrelationskoeffizient dagegen deutlich niedriger. Um bereits geringe Veränderungen der Transpirationsrate thermografisch zu erfassen, müssen die Aufnahmen demnach unter transpirationsfördernden Umweltbedingungen erstellt werden.

Aufgrund der Unspezifität des Parameters eignete sich die Maximale Temperaturdifferenz nicht für eine Identifizierung der Ursache einer veränderten Transpirationsrate innerhalb eines Gurkenblatts. Diesbezüglich müssen zusätzlich ergänzende Untersuchungen durchgeführt werden, da auch mechanische Verletzungen der Kutikula durch beispielsweise Hagelschäden oder Insekten eine räumliche Veränderung der Transpirationsrate innerhalb eines Blatts bewirken (TARTACHNYK & BLANKE 2001, HOFFMANN *et al.* 1985). Durch eine Kombination verschiedener berührungsfreier Sensoren, verbunden mit Zeitreihenmessungen zur Dokumentation der Transpirationsdynamik, wäre eine Identifizierung der Ursache potenziell möglich. Der Einsatz von Multispektralkameras oder abbildende Messungen der Chlorophyllfluoreszenz, mit deren Hilfe Aussagen über Veränderungen in der Photosynthese-

rate gemacht werden können, wären hilfreich, um eine genaue Charakterisierung des Stressfaktors zu erzielen. Denkbar wäre auch, dass mit Hilfe von computergestützter Mustererkennung, in der sowohl Art, Form und Größe von entstehenden Temperaturanomalien innerhalb eines Laubblatts als auch ihre räumliche und zeitliche Entwicklung beschrieben wird, ein erregerspezifisches Temperaturmuster erstellt werden könnte. Durch den Vergleich mit anderen erregerspezifischen Temperaturmustern könnte auf diese Weise eine Identifizierung von Blattpathogenen mittels Thermografie erreicht werden.

Nach LEINONEN & JONES (2004) eignet sich die Thermografie zur Erfassung der Bestandestemperatur. Die Bestandestemperatur steht unabhängig von den Umweltbedingungen in direkter Beziehung mit der Transpiration des Bestands und kann daher als ein Indikator für stomatären Widerstand und Wassermangel genutzt werden. GEBHARDT (1986) wies Variationen in der Bestandestemperatur bei unterschiedlichen Wasserversorgungszuständen der Pflanzen von bis zu 10 °C nach, bevor eine visuelle Differenzierung möglich war. Höhere Bestandestemperaturen von Kartoffeln infolge einer erhöhten Nematodenbelastung konnten ebenfalls vor dem Auftreten von Wachstumsdepressionen thermografisch erfasst werden. Die Thermografie kann somit als ein wertvolles Hilfsmittel bei der Erkennung von Verdunstungsanomalien in Beständen eingesetzt werden (GEBHARDT 1986). Neben der Transpiration haben allerdings auch noch andere Faktoren wie Globalstrahlung, Windgeschwindigkeit, Lufttemperatur und -feuchtigkeit entscheidenden Einfluss auf die absolute Bestandestemperatur. Diese Abhängigkeit erfordert eine sorgfältige Auswahl der Aufnahmebedingungen und der Interpretation des Bildmaterials unter Berücksichtigung der komplexen energetischen Wechselbeziehungen auf die untersuchten Flächen.

Da großflächige Bonituren für Pflanzenkrankheiten zur Erstellung von Applikationskarten im Rahmen von teilflächenspezifischen Pflanzenschutzmaßnahmen arbeits- und kostenintensiv und in der Praxis deswegen oft nicht durchführbar sind, wäre es wünschenswert, fernerkundlich eine automatische und objektive Erfassung der Befallsintensität zu erzielen (JOHNSON 2003, NEWTON *et al.* 2004). In Reflexionsmessungen eines Pflanzenbestands sind die Charakteristika eines Einzelblatts zu erkennen, allerdings sind die Strahlungsverhältnisse in einem Pflanzenbestand komplizierter. Die gemessene spektrale Reflexion eines Pflanzenbestands wird durch die Blattstellung sowie unterschiedliche Winkel- und Spektralverteilung der Globalstrahlung bestimmt (THIESSEN 2002). Die Vielzahl der Einflussfaktoren auf die Oberflächentemperatur der Bestände erschwert den Einsatz der Thermografie unter unkontrollierbaren Bedingungen und unterliegt daher spezifischen Einsatzbedingungen, die bei der Erstellung von Thermogrammen berücksichtigt werden müssen. In der vorliegenden

Arbeit wurden die Thermogramme der Parzellen deswegen nur bei wolkenlosem Himmel zur Mittagszeit erstellt, wodurch diese Parameter kontrollierbar werden (MAWASSI 2000). Ein weiteres Problem ist die Temperatur des Hintergrunds (JONES 2002). Im Rahmen der bildanalytischen Auswertung der Thermogramme konnte diese Fehlerquelle minimiert werden, indem unter zu Hilfenahme von Digitalbildern nur die Oberflächentemperaturen berücksichtigt wurden, die auch tatsächlich den Bestand widerspiegeln.

Nach NEWTON *et al.* (2004) besteht ein Zusammenhang zwischen Reflexionsmessungen eines Gerstenbestands und der Befallsstärke durch Echten Mehltau. Um Aussagen über den Krankheitsbefall machen zu können, müssen Reflexionsmessungen allerdings für jede Pflanzenart neu kalibriert werden, da bereits geringste Unterschiede in Blattfarbe, Blattstellung und Versorgungszustand der Pflanze Veränderungen im Reflexionsspektrum des Pflanzenbestands bewirken können (NEWTON *et al.* 2004).

Unterschiedliche Anfälligkeit bei Gurkensorten gegenüber *P. cubensis* führte im Entwicklungsstadium EC 72-74 zu deutlichen Befallsunterschieden. Die gering befallenen Blätter der widerstandsfähigen Sorte 'Jazzler F1' besaßen im Jahr 2003 die höchsten Chlorophyllgehalte und waren am kühlest, wohingegen die am stärksten befallenen Blätter der anfälligen Sorte ohne Fungizidanwendung geringe Chlorophyllgehalte und hohe Bestandestemperaturen aufwiesen. Die Transpirationsraten stark befallener Pflanzen waren durch den Verlust an transpirierender Blattfläche, infolge von Nekrosen bzw. Absterben ganzer Blätter, deutlich geringer als die von weniger stark befallenen Pflanzen. Gering befallene Blätter mit hohen Chlorophyllgehalten waren dagegen physiologisch wesentlich aktiver und besaßen bei ausreichendem Wasserangebot des Bodens eine höhere Transpirationsrate als stark befallene Pflanzen. Zwischen dem Chlorophyllgehalt und der Befallsstärke bestand in diesem Jahr allerdings lediglich eine geringe Korrelation. Die resistente Sorte 'Pasalimo F1' wies aufgrund von Spritzschäden durch ein Insektizid starke Vergilbungen auf. Diese führten dazu, dass gering befallene Pflanzen der resistenten Sorte niedrige Chlorophyllgehalte aufwiesen. Infolgedessen ließen sich die Blätter der resistenten Sorte hinsichtlich ihres Chlorophyllgehalts nicht von solchen der anfälligen Sorte ohne Fungizidbehandlungen unterscheiden, obwohl sie deutlich weniger stark befallen waren. Die Parzellen der resistenten Sorte wiesen trotz geringer Befallsstärken genau so hohe Bestandestemperaturen wie die stark befallenen Pflanzen der anfälligen Sorte auf.

Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass Faktoren wie z.B. diverse andere Pflanzenkrankheiten oder abiotischer Stress, genetische Variabilität, mechanische Verletzungen und Unterschiede

im Bestandesmikroklima ebenfalls einen Einfluss auf die Bestandestemperatur besitzen (PINTER 1979). Demnach besteht die Gefahr, dass eine falsche Einschätzung der Befallsstärke bei der Interpretation von Thermogrammen vorgenommen wird.

Im Jahr 2004 bestätigten sich die Ergebnisse bezüglich der Zusammenhänge zwischen den einzelnen Parametern. Da in diesem Jahr allerdings kein weiterer Stressfaktor vorhanden war, der die Auswirkung des Pathogenbefalls auf die Transpirationsrate der Pflanzen maskierte, war die Abhängigkeit zwischen den untersuchten Parametern stärker als im Jahr zuvor. So war eine hohe Befallsstärke der Pflanzen in allen Parzellen mit einem geringen Chlorophyllgehalt der Blätter gekoppelt, die zu hohen Bestandestemperaturen führten.

Ein Problem beim Einsatz der Thermografie zur Erfassung von Pflanzenkrankheiten im Freiland ist die Unspezifität des Parameters Bestandestemperatur. Eventuelle Auswirkungen eines Pathogenbefalls auf die Pflanzentemperatur können von zahlreichen anderen Faktoren wie Seneszenz, abiotischer Stress, Wasserversorgung und Klimabedingungen überlagert werden. Hohe Bestandestemperaturen aufgrund reduzierter Transpirationsraten können zwar durch einen Erreger hervorgerufen worden sein, aber ohne ergänzende Untersuchungen kann dieser Rückschluss nicht mit Sicherheit gezogen werden, da eine Differenzierung der Ursache für die erhöhten Blatttemperaturen ausschließlich anhand der Thermogramme nicht möglich ist. Kann ein unterschiedlicher Einfluss anderer Faktoren auf die Bestandestemperatur einzelner Teilbereiche in einem Bestand ausgeschlossen werden, erscheint es durchaus möglich, aus Thermogrammen Aussagen über unterschiedliche Befallssituationen in einem Bestand machen zu können. Allerdings muss der Einfluss des Pathogens auf die Transpirationsrate der Wirtspflanze zu jedem Stadium der Pathogenese bekannt sein. So muss die Transpirationsänderung über die Zeit bei einem Befall mit *P. cubensis*, die in Laborexperimenten belegt wurde, berücksichtigt werden, wenn die Bestandestemperatur zur Bonitur der Krankheitsentwicklung vom Falschen Gurkenmehltau mit herangezogen werden soll. Infizierte Blätter besaßen im Anfangsstadium der Pathogenese in Laborexperimenten geringere Durchschnittstemperaturen, wodurch Primärherde im Bestand eventuell durch niedrigere Bestandestemperaturen gekennzeichnet sind. Da die ersten Symptome allerdings nur einen Bruchteil der gesamten Blattfläche ausmachen, bleibt es zweifelhaft, ob sich diese geringe Transpirationssteigerung mittels Thermografie fernerkundlich erfassen lässt. Im weiteren Verlauf der Pathogenese treten neben Chlorosen Nekrosen auf, wodurch die Durchschnittstemperatur der infizierten Blätter sich nicht von der Durchschnittstemperatur gesunder Blätter unterscheiden lassen dürfte. Vermutlich kann erst in einem weit fortgeschrittenen Stadium der Krankheitsentwicklung durch eine Zunahme der abgestorbenen

Blattfläche eine Temperaturanomalie im Bestand nachgewiesen werden. Der Zeitpunkt für eine effiziente Bekämpfung der Epidemie wäre in diesem Stadium allerdings längst überschritten.

Ob sich Teilflächenmaßnahmen bei Pflanzenkrankheiten in der Praxis durchführen lassen, hängt in hohem Maße von der Erkennung des Schaderregers und von seiner Populationsdynamik ab. Nach NORDMEYER (1999) ist teilflächenspezifischer Pflanzenschutz zur Bekämpfung von Blattkrankheiten an Raps und Zuckerrübe sowie gegenüber Echtem Mehltau, Roste und *Septoria* an Getreide und Kraut- und Knollenfäule an Kartoffeln aufgrund der hohen zeitlichen Variabilität und der geringen Ortsstabilität der Pflanzenkrankheiten nicht durchführbar. Ziel der Sensorik für den teilflächenspezifischen Fungizideinsatz ist es, den Befall online und mit einer Minimierung von Störgrößen zu bestimmen. Störgrößen können unterschiedliche Arten von Stress sein sowie die Tageszeitabhängigkeit des physiologischen Ausgangszustands der Pflanze, was bei Messungen über einen längeren Zeitraum zu Fehlinterpretationen führen könnten. Geeigneter wären spezifische Kenngrößen, die ausschließlich einem Pathogenbefall zu zuschreiben sind (THIESSEN 2002).

Die Thermografie gestattet als ein abbildendes Fernerkundungsverfahren die flächenhafte Aufzeichnung der Bestandestemperatur, die im Wesentlichen durch die Transpirationsrate bestimmt wird. Bildanalytische Auswertungen von Thermogrammen ermöglichen eine flächenhafte Bestandesdifferenzierung hinsichtlich veränderter Transpirationsraten. Nach GEBHARDT (1990) kann die Thermografie Feldbegehungen nicht ersetzen, sie kann jedoch dazu beitragen, Problemflächen frühzeitig zu erkennen und Bonituren gezielt durchzuführen. Die Ergebnisse der eigenen Parzellenversuche zeigten allerdings, dass der Anwendung der Thermografie für die Beurteilung der Befallsstärke im Freiland aufgrund der Unspezifität des Parameters Blatttemperatur Grenzen gesetzt sind. Im Übrigen müssen Fungizide für eine effektive Bekämpfung des Falschen Mehltaus in Gurken protektiv eingesetzt werden. Insofern ist für eine teilflächenspezifische Bekämpfung nicht die Erkennung der Primärherde ausreichend, sondern der Teilbereiche, in denen bei Vorhandensein von Inokulum in der Luft Infektionsbedingungen gegeben sind (BRUNO 1996). Der Einsatz der Thermografie zur Erfassung von Heterogenitäten im Bestandesmikroklima, auf dessen Basis dann teilflächenspezifische Prognosen entwickelt werden könnten, wäre demnach vielversprechender.

Trotz allem stellt die Thermografie eine interessante Methode dar, um im Rahmen phytomedizinischer Untersuchungen Grundlagenforschung durchzuführen. Diese Fernerkun-



dungstechnik beeinflusst die lebende Pflanze und ihre Umgebung minimal, da die Messungen berührungs- und zerstörungsfrei sind. Aufgrund der hohen räumlichen und zeitlichen Auflösung der Thermogramme können kleinräumige Veränderungen der Transpirationsrate in Zeitreihenmessungen indirekt visualisiert werden. Wie sich in der vorliegenden Arbeit zeigte, konnten anhand von – in Laborexperimenten erstellten – Thermogrammen Rückschlüsse über bestehende Wirt-Pathogen-Interaktionen sowie die räumliche Ausbreitung des Erregers im Wirtsgewebe gezogen werden. Im Allgemeinen erscheinen thermografische Messungen zur Differenzierung von gesunden und infizierten Blättern sinnvoll, wenn der Erreger die Transpirationsrate des Wirts beeinflusst. Vor allem, wenn die Wirtspflanze auf einen Erregerbefall mit veränderter Transpiration reagiert, bevor die ersten Symptome sichtbar werden, ist der Einsatz der Thermografie zu diagnostischen Zwecken erfolgversprechend. Häufig ist eine Erkennung makroskopisch sichtbarer Symptome im frühen Stadium der Krankheitsentwicklung schwierig, da nur ein geringer Farbkontrast zwischen gesundem und infiziertem Gewebe besteht. Im Gegensatz dazu können in Thermogrammen oft schon deutliche Unterschiede zwischen nicht infiziertem und infiziertem Gewebe präsymptomatisch festgestellt werden. Genauere Kenntnisse der physiologischen Prozesse in der Wirtspflanze und inwieweit diese von verschiedenen Erregern im Verlauf der Pathogenese beeinflusst werden, werden allerdings noch benötigt, um mit Hilfe von Thermografie Pflanzenkrankheiten erkennen und unterscheiden zu können.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde zum einen die Pathogenese des Falschen Gurkenmehltaus unter kontrollierten Bedingungen erfasst sowie der Einfluss der Heterogenität im Mikroklima auf die räumliche Ausbreitung von *Pseudoperonospora cubensis* in einem Gurkenbestand untersucht. Zum anderen wurde der Einfluss von *P. cubensis* auf die Transpirationsrate und die Blatttemperatur von Gurkenblättern im Verlauf der Krankheitsentwicklung mittels digitaler Infrarot-Thermografie visualisiert und die Möglichkeit einer Differenzierung zwischen gesunden und infizierten Gurkenblättern anhand von Thermogrammen in Labor-Experimenten beschrieben. Im Weiteren wurde die Eignung der Thermografie zur objektiven Erfassung unterschiedlicher Befallsstärken des Falschen Gurkenmehltaus im Freiland untersucht.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Unter kontrollierten Bedingungen ließ sich eine starke Abhängigkeit der Befallsstärke von *P. cubensis* an Einlegegurken von der Inokulumdichte sowie der Lufttemperatur und der Blattnässedauer nachweisen. Sowohl für die Inokulumdichte als auch für die Lufttemperatur ergaben sich Optimumbereiche von  $5 \times 10^4$  Zoosporangien  $\text{ml}^{-1}$  bzw. 18 °C bis 25 °C. Eine Verlängerung der Blattnässedauer über drei Stunden hatte dagegen keinen Einfluss auf die Krankheitsentwicklung.
- Die kleinräumige Erfassung des Mikroklimas der Gurkenbestände ermöglichte die Einschätzung der Infektionsgefahr einzelner Teilbereiche. Die tatsächliche Krankheitsentwicklung des Falschen Gurkenmehltaus stand mit dem berechneten Infektionsrisiko in engem Zusammenhang, so dass eine Prognose über die räumliche Ausbreitung von Falschem Mehltau in einem Gurkenbestand durchaus möglich erscheint. Allerdings erwiesen sich die Sensoren zur Erfassung der Blattnässedauer als nicht zufriedenstellend, da sie nicht in der Lage waren, die Blattnässedauer, die durch extreme Bodenfeuchte hervorgerufen wurde, zu erfassen.
- Die Blatttemperatur von Gurkenblättern war von zahlreichen Faktoren abhängig. In Laborexperimenten zeigte sich, dass neben dem Blattalter und der Wasserversorgung insbesondere die Messbedingungen zum Zeitpunkt der thermografischen Aufnahme einen Einfluss auf die Blatttemperatur hatten. Wohingegen der Genotyp, die Nährstoffversorgung sowie eine Fungizidapplikation die Blatttemperatur nicht beeinflussten.

- In Abhängigkeit des Stadiums der Pathogenese reduzierte bzw. erhöhte ein Befall mit *P. cubensis* die Temperatur des infizierten Blattgewebes. Auf eine prä-symptomatische Abkühlung des infizierten gegenüber nicht infizierten Gewebes folgte mit der Ausbildung der ersten Symptome ein weiterer Rückgang der Blatttemperatur. Zeitgleich mit der Nekrotisierung des befallenen Gewebes stieg die Blatttemperatur des infizierten Gewebes über die des nicht infizierten Gewebes an.
- Unterschiede in der Blatttemperatur ließen sich auf veränderte Transpirationsraten des Gewebes zurückführen. Eine lineare negative Korrelation zwischen thermografisch erfasster Blatttemperatur und Transpirationsrate konnte sowohl für gesundes als auch für infiziertes Gewebe nachgewiesen werden. Eine Steigerung der Transpirationsrate eines Blattbereichs führte demnach zu einem Rückgang der Blatttemperatur.
- In ergänzenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Veränderungen in der Transpirationsrate der Wirtspflanze im Verlauf der Pathogenese von *P. cubensis* durch eine Membranschädigung der Wirtszellen und eine erregerinduzierte abnormale Stomaöffnung sowie durch Veränderungen des Wassergehalts des infizierten Gewebes verursacht wurden.
- Mittels digitaler Infrarot-Thermografie war es unter kontrollierten Bedingungen möglich, Rückschlüsse über Wirt-Pathogen-Interaktionen sowie die räumliche und zeitliche Ausbreitung des Erregers im Wirtsgewebe und den Grad der Zerstörung durch *P. cubensis* zu ziehen. Die Thermografie ermöglichte die Lokalisierung von Infektionen, die zu einer veränderten Transpirationsrate führten. Eine Identifizierung des Stressfaktors ausschließlich auf Basis von Thermogrammen war nicht möglich.
- In bildanalytischen Auswertungen der Thermogramme erwies sich die Maximale Temperaturdifferenz eines Gurkenblatts als geeigneter Parameter, um infizierte von gesunden Gurkenblättern bereits vor Auftreten der ersten Symptome von Falschem Mehltau zu differenzieren. Für eine Identifizierung verschiedener Pathogene mittels Thermografie wäre es nötig, das räumliche und zeitliche Temperaturmuster verschiedener Erreger zu erfassen und diese mit Hilfe einer computergestützten Mustererkennung genauer zu beschreiben.
- Je höher die Lufttemperatur und je geringer die relative Luftfeuchtigkeit war, bei der die thermografischen Untersuchungen durchgeführt wurden, desto größer waren die Unterschiede in der Transpirationsrate zwischen potenziell stark transpirierendem und gering bzw. nicht transpirierendem Gewebe. Um Heterogenitäten in der Transpirationsrate

einzelner Blätter in Laborversuchen möglichst frühzeitig zu erkennen, ist es demzufolge sinnvoll, die thermografischen Aufnahmen unter Messbedingungen durchzuführen, welche die Transpirationsrate des Gewebes steigern.

- Im Freiland erschwerte die Vielzahl der Faktoren mit Einfluss auf die Bestandestemperatur den Einsatz der Thermografie zur Erfassung unterschiedlicher Befallsstärken von Falschem Mehltau in Gurkenbeständen. Auswirkungen eines Pathogenbefalls auf die Pflanzentemperatur können von zahlreichen anderen Faktoren überlagert werden. Aufgrund der Unspezifität des Parameters Bestandestemperatur, birgt die Interpretation der Thermogramme die Gefahr einer Fehleinschätzung des Befallsniveaus.

Aufgrund des berührungsfreien Messverfahrens und der hohen zeitlichen und räumlichen Auflösung war die digitale Infrarot-Thermografie geeignet, um im Rahmen von phytopathologischen Untersuchungen Veränderungen der Transpirationsrate von Wirtspflanzen indirekt zu visualisieren und auf diese Weise einen Informationsgewinn über Wirt-Pathogen-Interaktionen zu erhalten. Durch eine Kombination verschiedener berührungsfreier Sensoren könnte eine genaue Charakterisierung des Stressfaktors erreicht werden. Der Einsatz solcher technischer Sensoren wird dazu beitragen, die Erfassung von Pathogenbefall zu präzisieren, und dadurch eine teilflächenspezifische Bekämpfung heterogen auftretender Pflanzenkrankheiten ermöglichen.

## 6 LITERATURVERZEICHNIS

- ACCETTA, J.S., SHUMAKER, D.L. (1993). The Infrared and Electro-Optical Systems Handbook. SPIE Optical Engineering Press, Washington D.C..
- ANONYM (2005). Produktliste Pflanzenschutzmittel 2005. Bayer CropScience, Monheim. 541 pp.
- AYRES, P.G., JONES, P. (1975). Increased transpiration and the accumulation of root absorbed  $^{86}\text{Rb}$  in barley leaves infected by *Rhynchosporium secalis* (leaf blotch). *Physiological Plant Pathology* 7. 49-58.
- BASSANEZI, R.B., AMORIM, L., BERGAMIN, F. A., BERGER, R.D. (2002). Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. *Journal of Phytopathology* 150. 37-47.
- BASTIAANS, L. (1991). Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due to leaf blast. *Phytopathology* 81. 611-615.
- BEDLAN, G. (1987). Studien zur Verbesserung der Spritzterminbestimmung gegen *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rost. an Gurken in Österreich. *Pflanzenschutzberichte Band 48, Heft 3.* 1-11.
- BEDLAN, G. (1988). Der Einsatz eines Warndienstes für den Falschen Gurkenmehltau. *Gemüse* 24 (5). 248.
- BEDLAN, G. (1989). Erstmaliger Nachweis von Oosporen von *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rost. an Gewächshausgurken in Österreich. *Pflanzenschutzberichte* 50 (3). 119-120.
- BJERRE, K.D., JOERGENSEN, L.N., SECHER, B.J.M. (1998). Sygdomskort og positionsbestemt fungicidanvendelse. 15. Danske Planteværnskonference 1998. 131-144.
- BOCCARA, M., BOUE, C., GARMIER, M., DE PAEPE, R., BOCCARA, A.C. (2001). Infra-red thermography revealed a role for mitochondria in pre-symptomatic cooling during harpin-induced hypersensitive response. *Plant Journal* 28. 663-670.
- BÖRNER, H. (1990). Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. Verlag Ulmer, Stuttgart. 464 pp.

- BOLLER, T. (1983). Regulation of the production of stress ethylene and its significance. Hohenheimer Arbeiten: Schriftenreihe der Universität Hohenheim – Unterreihe: Pflanzliche Produktion 129. 167-188.
- BREIDENBACH, R.W., SAXTON, M.J., HANSEN, L.D., CRIDDLE, R.S. (1997). Heat generation and dissipation in plants: can the alternative oxidative phosphorylation pathway serve a thermoregulatory role in plant tissues other than specialized organs? *Plant Physiology* 114. 1137-1140.
- BRUNO, H. (1996). Falscher Mehltau – eine Gefahr für den Anbau von Gurken und Melonen. *TASPO Gartenbaumagazin* 5. 48-49.
- CHAERLE, L., CAENEGHEM, W.V., MESSENS, E., LAMBER, H., MONTAGU, M.V., VAN DER STREETEN, D. (1999). Presymptomatic visualization of plant-virus interactions by thermography. *Nature Biotechnology* 17. 813-816.
- CHAERLE, L., DE BOEVER, F., VAN MONTAGU, M., VAN DER STREETEN, D. (2001). Thermographic visualization of cell death in tobacco and Arabidopsis. *Plant, Cell and Environment* 24. 15-25.
- CHAERLE, L., DE BOEVER, F., VAN DER STREETEN, D. (2002). Infrared detection of early biotic and wound stress in plants. *Thermology International* 12 (3). 100-106.
- CHAERLE, L., HULSEN, K., HERMANS, C., STRASSER, R.J., VALCKE, R., HÖFTE, M., VAN DER STREETEN, D. (2003). Robotized time-lapse imaging to assess in-plant uptake of phenylurea herbicides and their microbial degradation. *Physiologia Plantarum* 118. 613-619.
- CHAERLE, L., HAGENBEEK, D., DE BRUYNE, E., VALCKE, R., VAN DER STREETEN, D. (2004). Thermal and chlorophyll-fluorescence imaging distinguish plant-pathogen interactions at an early stage. *Plant Cell Physiology* 45 (7). 887-896.
- COHEN, Y. (1977). The combined effects of temperature, leaf wetness and inoculum concentration on infection of cucumbers with *Pseudoperonospora cubensis*. *Canadian Journal of Botany* 55. 1478-1487.
- COHEN, Y., PERL, M., ROTEM, J. (1971). The effect of darkness and moisture on sporulation of *Pseudoperonospora cubensis* in cucumbers. *Phytopathology* 61. 594-595.
- COHEN, Y. (1981). Downy mildew of cucurbits. p. 341-353 in: *The Downy Mildews*. D.M. Spencer. Academic Press, London.

- CRUICKSHANK, I.A.M., RIDER, N.E. (1961). *Peronospora tabacina* on tobacco: transpiration, growth and related energy considerations. Australian Journal of Biological Science 14. 45-57.
- DITTIE, G. (1997). Thermografie – Frequently asked questions. Internet: <http://www.thermografie.de/faq.htm>
- EHLERS, W. (1996). Wasser in Boden und Pflanze: Dynamik des Wasserhaushalts als Grundlage von Pflanzenwachstum und Ertrag. Verlag Ulmer, Stuttgart. 272 pp.
- ELSTNER, E.F., OßWALD, W., SCHNEIDER, I. (1996). Phytopathologie: Allgemeine und biochemische Grundlagen. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford. 328 pp.
- ESCHRICH, W. (1995). Funktionelle Pflanzenanatomie. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 393 pp.
- FARRELL, G.M., PREECE, T.F., WREN, M. (1969). Effects of infection by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary on the stomata of potato leaves. Annals of Applied Biology 63. 265-275.
- FELLE, H.H., HERRMANN, A., HANSTEIN, S., HÜCKELHOVEN, R., KOGEL, K.H. (2004). Apoplastic pH signaling in barley leaves attacked by the powdery mildew fungus *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*. Molecular Plant-Microbe Interactions 17. 118-123.
- FUCHS, M., TANNER, C.B. (1966). Infrared thermometry of vegetation. Agronomy Journal 58. 597-601.
- GEBHARDT, A. (1984). Möglichkeiten zur Früherkennung phytopathologischer Erscheinungen mit Hilfe der Thermografie – Übersicht und erste Ergebnisse. Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz 20 (5). 437-445.
- GEBHARDT, A. (1986). Einsatz der Thermografie zur Bestandesdifferenzierung. Tagungsbericht, Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR, Berlin 245. 229-233.
- GEBHARDT, A. (1990). Differenzierte Einschätzung des Wasserversorgungszustandes landwirtschaftlicher Kulturen mittels thermografischer Luftaufnahmen. Archiv für Acker- und Pflanzenbau und Bodenkunde 34. 741-748.
- GOODMAN, R.N., KIRALY, Z., ZAITLIN, M. (1986). The biochemistry and physiology of plant disease. University of Missouri Press, Columbia. 433 pp.
- GOULD, A.B., ALDRICH, J.H., ANDERSEN, P.C. (1996). Influence of pecan scab on gas exchange and chlorophyll content of pecan leaves. Plant Disease 80. 317-321.

- HELLEBRAND, H.J. (1997). Messverfahren zur Informationsbeschaffung in der ortsspezifischen Landbewirtschaftung – Prinzipien und Tendenzen. *Zeitschrift für Agrarinformatik* 1/97. 2-8.
- HAMMEN, V. VON, EHLERT, D. (1999). The pendulum-meter: a new on-line sensor for determining grass yield for site-specific farming. *Precision Agriculture 1999*, Sheffield Academic Press. 781-787.
- HOFFMANN, G.M., NIENHAUS, F., SCHÖNBECK, F., WELTZIEN, H.C., WILBERT, H. (1985). *Lehrbuch der Phytomedizin*. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg. 488 pp.
- INABA, M., CRANDALL, G. (1988). Electrolyte leakage as an indicator of high-temperature injury to harvested mature green tomatoes. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 113 (1). 96-99.
- INABA, T., KAJIWARA, T. (1974). Fixation of  $^{14}\text{CO}_2$  in the dark by cucumber leaf infected with the cucumber downy mildew fungus. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 40. 295-298.
- INABA, T., KAJIWARA, T. (1975). Physiological studies of cucumber downy mildew disease, with special reference to the relationship between lesion development, sporulability in lesions, and photosynthesis of host cucumber leaves. *Bulletin of the National Institute of Agricultural Science* 29. 65-139.
- INGRAM, D.S. (1981). Physiology and biochemistry of host-parasite interaction. p 143-163 in: *The Downy Mildews*. D.M. Spencer. Academic Press, London.
- INOUE, Y., KIMBALL, B.A., JACKSON, R.D., PINTER, P.J., REGINATO, R.J. (1990). Remote estimation of leaf transpiration rate and stomatal resistance based on infrared thermometry. *Agricultural and Forest Meteorology* 51. 21-33.
- JOHNSON, D.A., ALLDREDGE, J.R., ALLEN, J.R., ALLWINE, R. (1991). Spatial pattern of downy mildew in hop yards during severe and mild disease epidemics. *Phytopathology* 81. 1369-1374.
- JOHNSON, D.A., ALLDREDGE, J.R., HAMM, P.B., FRAZIER, B.E. (2003). Aerial photography used for spatial pattern analysis of late blight infection in irrigated potato circles. *Phytopathology* 93. 805-812.
- JONES, H.G. (1992). *Plant and Microclimate* (2nd edn.). Cambridge University Press, Cambridge. 428 pp.
- JONES, H.G. (1999). Use of thermography for quantitative studies of spatial and temporal variation of stomatal conductance over leaf surfaces. *Plant, Cell and Environment* 22. 1043-1055.



- JONES, H.G., STOLL, M., SANTOIA, T., DE SOUSA, C., CHAVES, M.M., GRANT, O.M. (2002). Use of infrared thermography for monitoring stomatal closure in the field: application to grapevine. *Journal of Experimental Botany* 53. 2249-2260.
- KAPOTIS, G., ZERVOUDAKIS G., VELTSISTAS, T., SALAHAS, G. (2003). Comparison of chlorophyll meter readings with leaf chlorophyll concentration in *Amaranthus vlitus*: correlation with physiological processes. *Russian Journal of Plant Physiology* 50 (3). 395-397.
- KARNOVSKY, E. (1965). A formaldehyde glutaraldehyde fixative of osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27. 137-138.
- KORDUAN, P., GRENZDÖRFFER, G., BILL, R. (2000). Informationsmanagement und Informationsbeschaffung in der Modernen Landwirtschaft. Tagungsband zu den 2. Wismarer Wirtschaftsinformatiktagen. 282-291.
- KRANZ, J. (1996). Epidemiologie der Pflanzenkrankheiten: eine Einführung in Grundlagen, Methoden und praktische Anwendung. Verlag Ulmer, Stuttgart. 413 pp.
- KTBL-Schrift (2001). Precision Farming im Pflanzenschutz. KTBL-Schrift 402. 44 pp.
- KÜMMERLEN, B., DAUWE, S., SCHMUNDT, D., SCHURR, U. (1999). Thermography to measure water relations of plant leaves. 763-781. in: Handbook of Computer Vision and Applications, Volume 3. B. Jähne. Academic Press, London.
- KUIPER, P.J.C. (1961). The effects of environmental factors on the transpiration of leaves, with special reference to stomatal light response. *Mededelingen Landbouwhogeschool, Wageningen* 61 (7). 1-49.
- LEBEDA, A., SCHWINN, F.J. (1994). The downy mildews – an overview of recent research progress. *Journal of Plant Diseases and Protection* 101. 225-254.
- LEINONEN, I., JONES, H.G. (2004). Combining thermal and visible imagery for estimating canopy temperature and identifying plant stress. *Journal of Experimental Botany* 55 (401). 1423-1431.
- LIBBERT, E. (1993). Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Gustav Fischer Verlag, Jena. 434 pp.
- LILI, Z., DUCHESNE, J., NICOLAS, H., RIVOAL, R., BREGER, P. (1991). Détection infrarouge thermique des maladies du blé d'hiver. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 21. 659-672.
- LIVNE, A. (1964). Photosynthesis in healthy and rust-affected beans. *Plant Physiology* 39. 614-621.
- LUCAS, J.A. (1998). *Plant Pathology and Plant Pathogens*. Blackwell Science, Bristol.

- MAWASSI, E. (2000). Precision Farming – Erfassung von Teilschlägen mit verschiedenen Sensorsystemen. Diplomarbeit, Universität Hannover. 78 pp.
- MERLOT, S., MUSTILLI, A.C., GENTY, B., NORTH, H., LEFEBVRE, V., SOTTA, B., VAVASSEUR, A., GIRAUDT, J. (2002). Use of infrared thermal imaging to isolate *Arabidopsis* mutants defective in stomatal regulation. *The Plant Journal* 30. 601-609.
- MICHELMORE, R.W., ILOTT, T., HULBERT, S.H., FARRARA, B. (1988). The downy mildews. 54-79 in: *Advances in Plant Pathology*. Volume 6. Genetics of Plant Pathogenic Fungi. D.S. Ingram and P.H. Willimas, Academic Press, London.
- MOHR, H. & SCHOPFER, P. (1992). *Pflanzenphysiologie*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 659 pp.
- MONTALBINI, P., BUCHANAN, B.B. (1974). Effect of rust infection on photophosphorylation by isolated chloroplasts. *Physiological Plant Pathology* 4. 191-196.
- NEWTON, A.C., HACKETT, C.A., LOWE, R., WALE, S.J. (2004). Relationship between canopy reflectance and yield loss due to disease in barley. *Annals of Applied Biology* 145 (1). 95-106.
- NILSSON, H.E. (1995). Remote-sensing and image-analysis in plant pathology. *Annual Review of Phytopathology* 33. 489-527.
- NOBEL, P.S. (1983). *Biophysical plant physiology and ecology*. W.H. Freeman and Company, San Francisco. 608 pp.
- NORDMEYER, H. (1999). Teilflächenspezifischer Pflanzenschutz. 53-60 in: *Erfassung der kleinräumigen Heterogenität*. F. Klöpfer. KTBL-Schrift 264. 122 pp.
- NULTSCH, W. (1991). *Allgemeine Botanik: Kurzes Lehrbuch für Mediziner und Naturwissenschaftler*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 560 pp.
- OUTLAW, W.H. (2003). Integration of cellular and physiological functions of guard cells. *Critical Reviews in Plant Science* 22. 503-529.
- PALTI, J., COHEN, Y. (1980). Downy mildew of cucurbits (*Pseudoperonospora cubensis*): The fungus and its hosts, distribution, epidemiology and control. *Phytoparasitica* 8 (2). 109-147.
- PARKINSON, K.J. (1983). Porometry. in: *Symposium of Instrumentation for Environmental Physiology*. University Press, Cambridge. 171 pp.

- PAVELEY, N.D., CLARK, W.S., SYLVESTER-BRADLEY, R., BRYSON, R.J., DAMPNEY, P. (1996). Responding to inter- and intra-field variation to optimize foliar disease management in wheat. British Crop Protection Council 1996. 1227-1234.
- PERKOW, W., PLOSS, H. (1988). Wirkungssubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel; 2. Auflage. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.
- PINTER, P.J., STANGHELLINI, M.E., REGINATO, R.J., IDSO, S.B., JENKINS, A.D., JACKSON, R.D. (1979). Remote detection of biological stresses in plants with infrared thermometry. *Science* 205. 585-586.
- PREMACHANDRA, G.S., SHIMADA, T. (1987). The measurement of cell membrane stability using polyethylene glycol as drought tolerance test in wheat. *Japanese Journal of Crop Science* 56. 92-98.
- PROHENS, J., MIRO, R., RODRIGUEZ-BURRUEZO, A., CHIVA, S., VERDU, G., NUEZ, F. (2004). Temperature, electrolyte leakage, ascorbic acid content and sunscald in two cultivars of pepino, *Solanum muricatum*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 79 (3). 375-379.
- PRYTZ, G., FUTSAETHER, C.M., JOHNSON, A. (2003). Thermography studies of the spatial and temporal variability in stomatal conductance of *Avena* leaves during stable and oscillatory transpiration. *New Phytologist* 158. 259-258.
- REUSCH, S. (1997). Entwicklung eines reflexionsoptischen Sensors zur Erfassung der Stickstoffversorgung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Dissertation, Kiel.
- RISTAINO, J.B., GUMPERTZ, M.L. (2000). New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the Genus *Phytophthora*. *Annual Review of Phytopathology* 38. 541-576.
- SCHLÖSSER, E. (1997). Allgemeine Phytopathologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 356 pp.
- SECHER, B.J.M., MURALI, N.S., GADEGARD, K.E. (1995). Site specific control of plant diseases – a great potential. Seminar on Site Specific Farming, Danish Institute of Plant and Soil Sciences, SP-report No. 26. 165-169.
- SMITH, R.C.G., HERITAGE, A.D., STAPPER, M., BARRS, H.D. (1986). Effect of stripe rust (*Puccinia striiformis* West.) and irrigation on the yield and foliage temperature of wheat. *Field Crops Research* 14. 39-51.
- SPENCER, D.M. (1978). The Powdery Mildews. Academic Press, London. 565 pp.
- SPENCER, D.M. (1981). The Downy Mildews. Academic Press, London. 636 pp.

- SHTIENBERG, D. (1992). Effects of foliar diseases on gas exchange processes: a comparative study. *Phytopathology* 82. 760-765.
- SPURR, A.R. (1969). A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research* 26. 31-43.
- STANGHELLINI, C. (1987). Transpiration of greenhouse crops. An aid to climate management. Ph.D. Dissertation, Landbouwniversiteit Wageningen. 150 pp.
- TAKAHASHI, K., INABA, T., KAJIWARA, T. (1977). Distribution of  $^{14}\text{C}$  assimilated [ $^{14}\text{C}$ ]O $_2$  in cucumber leaves infected with downy mildew. *Physiological Plant Pathology* 11. 255-259.
- TALLMAN, G. (2004). Are diurnal patterns of stomatal movement the result of alternating metabolism of endogenous guard cell ABA and accumulation of ABA delivered to the apoplast around guard cells by transpiration? *Journal of Experimental Botany* 55 (405). 1963-1976.
- TARTACHNYK, I., BLANKE, M.M. (2001). Effect of mechanically-simulated hail on photosynthesis, dark respiration and transpiration of apple leaves. *Environmental and Experimental Botany* 48 (2). 169-175.
- THIESSEN, E. (2002). Optische Sensortechnik für den teilflächenspezifischen Einsatz von Agrarchemikalien. Dissertation, Kiel. 96 pp.
- THOFELT, L. (1975). Studies on leaf temperature recorded by direct measurement and by thermography. Doctoral thesis, Uppsala University, Almqvist & Wiksell International, Stockholm – New York. 143 pp.
- VOGEL, G., HARTMANN, H.D., KRAHNSTÖVER, K. (1996). *Handbuch des speziellen Gemüsebaues*. Verlag Ulmer, Stuttgart. 1128 pp.
- WANG, Y., HOLROYD, G., HETHERINGTON, A.M., NG, C.K.-Y. (2004). Seeing 'cool' and 'hot'-infrared thermography as a tool for non-invasive, high-throughput screening of *Arabidopsis* guard cell signalling mutants. *Journal of Experimental Botany* 55 (400). 1187-1193.
- WEIT, B., NEUHAUS, W. (1990). Biologie und Bekämpfung des Falschen Mehltaus der Gurke (*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curtis.) Rostov). *Nachrichtenblatt Pflanzenschutz DDR* 44 (1). 5-8.
- WEST, J.S., BRAVO, C., OBERTI, R., LEMAIRE, D., MOSHOU, D., McCARTNEY, H.A. (2003). The potential of optical canopy measurement for targeted control of field crop diseases. *Annual Review of Phytopathology* 41. 593-614.

- WIDMER, T.L., GRAHAM, J.H., MITCHELL, D.J. (1998). Histological comparison of fibrous root infection of disease-tolerant and susceptible citrus hosts by *Phytophthora nicotianae* and *P. palmivora*. *Phytopathology* 88. 389-395.
- WISNIEWSKI, M., LINDOW, S.E., ASHWORTH, E.N. (1997). Observations of ice nucleation and propagation in plants using infrared video thermography. *Plant Physiology* 113. 327-334.

## DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich noch bei all denjenigen bedanken, die mir während der Erstellung meiner Dissertation mit Rat und Tat zur Seite gestanden haben.

Mein Dank gilt Herrn Prof. H.-W. Dehne, der mir die Möglichkeit gegeben hat an der Thematik zu arbeiten. Besonders bedanke ich mich für die mir gewährte Selbstständigkeit und das mir entgegengebrachte Vertrauen.

Danken möchte ich Herrn Prof. P. Schulze Lammers vom Institut für Landtechnik der Universität Bonn für die Übernahme des Korreferats.

Mein besonderer Dank geht an Herrn E.-C. Oerke und Frau U. Steiner für die vielfältigen Anregungen, oft sehr zeitaufwendigen Diskussionen und für die kritische Durchsicht meiner Arbeit.

Außerdem möchte ich mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Pflanzenkrankheiten recht herzlich für die angenehme Arbeitsatmosphäre bedanken, insbesondere beim technischen Personal der Abteilung für ihre freundliche Unterstützung sowie bei den Gärtnern und „Feldleuten“ für ihre Mithilfe bei der Durchführung der Gewächshaus- und Freilandversuche.

Im Weiteren geht mein Dank an die Doktoranden des Instituts und die Mitglieder des Graduiertenkollegs für die regen Diskussionen während den netten, erholsamen Kaffeepausen im Institutsgarten bzw. den recht fröhlichen Feiern nach den anstrengenden Arbeitstagen. Vor allem Jan J. und Matthias B., ohne die ich nie auf die Idee gekommen wäre, mit einer Doktorarbeit anzufangen und sie nun, dank ihrer ständigen Hilfsbereitschaft, auch tatsächlich zu einem Ende gebracht habe, möchte ich auf diesem Wege meinen Dank aussprechen.

Dieses Projekt wurde im Rahmen des DFG-Graduiertenkollegs „Einsatz von Informationstechniken zur Präzisierung im Pflanzenbau auf landwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Flächen“ durchgeführt. Der DFG danke ich für die finanzielle Unterstützung.

Besonders danke ich meinen Eltern, die immer an mich geglaubt haben und immer hinter mir standen.

Dass aber jeder Tag, trotz der vielen, langen, einsamen Stunden vor dem Computer, ein schöner Tag war, habe ich meinem Freund Oliver zu verdanken, ohne den ich in den letzten Monaten meiner Arbeit mit Sicherheit des öfteren verzweifelt wäre.

Danke!