

# Abschlussbericht

Zum LMS L/a-7346-244 vom 19.03.2013; Förderzeichen: A/09/15; Kapitel 08 03, Titel 547 72

## Integrierte Kontrollstrategien gegen die Späte Rübenfäule der Zuckerrübe

### Ausführende Stelle

**Prof. Dr. Michael Zellner**, Arbeitsgruppe IPS 3c, Krankheiten in Blattfrüchten und Mais, Schädlinge und Wachstumsregler in Ackerbaukulturen, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz, Lange Point 10, 85354 Freising, Tel.: 08161/71-5664, Fax: 08161/71-5735, E-mail: Michael.Zellner@LfL.bayern.de

### Laufzeit

**01.01.2013 - 30.06.2016**

### Projektbearbeitung

**Dr. Barbara Boine** (2013), **Anne-Catherine Renner** (2014-2016)

### Zusammenarbeit

#### mit anderen Stellen

#### LfL:

**Robert Brandhuber**, Arbeitsgruppe IAB 1a, Bodenphysik, Standortbeurteilung, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Agrarökologie, Ökologischen Landbau und Ressourcenschutz, Lange Point 12, 85354 Freising, Tel.: 08161/71-5589, Fax: 08161/71-3618, E-mail: Robert.Brandhuber@LfL.bayern.de

#### IfZ:

**Dr. Heinz-Josef Koch**, Abteilung Pflanzenbau, Institut für Zuckerrübenforschung an der Universität Göttingen (Dir.: Prof. Dr. B. Märkländer), Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen, Tel: +49 (0) 551 505 62 50, Fax: +49 (0) 551 505 62 99, E-Mail: koch@ifz-goettingen.de

#### ARGE Regensburg:

**Dr. Rudolf Apfelbeck**, Arbeitsgemeinschaft zur Förderung des Zuckerrübenanbaues Regensburg, Sandstraße 4, 93092 Barbing, Tel: +49 (0) 9401 / 9304-0, E-Mail: dr.apfelbeck@bayernruebe.de

#### Deutscher Wetterdienst (DWD):

**Dr. Harald Maier**, Abteilung Agrarmeteorologie, Außenstelle Weißenstephan, Alte Akademie Nr. 16, Weißenstephaner Berg, 85354 Freising, Tel: 08161 / 53769 – 0, Fax: 08161 / 53769 – 50, Email: LW.Weißenstephan@DWD.de



### 1 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

Ziel des Forschungsprojektes „Integrierte Kontrollstrategien gegen die Späte Rübenfäule der Zuckerrübe (*Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB)“ war es, das Zusammenwirken der Faktoren, die zum Auftreten der Späten Rübenfäule führen, erstmals mit neuesten geo-informatischen sowie molekularbiologischen Methoden zu untersuchen. Dabei sollte neben praxisrelevanten Erkenntnissen zu Fruchtfolge und Bodenbearbeitung, das Verständnis der Populationsdynamik des Erregers weiter vertieft werden und es sollte untersucht werden, inwiefern sich das Auftreten der Späten Rübenfäule schlagspezifisch vorhersagen lässt. Langjährige Vermutungen über die ursächlichen Faktoren der Späten Rübenfäule sollten nun sukzessiv überprüft und untersucht werden. Parallel dazu wurden umfassende pflanzenbauliche Studien anhand mehrfaktorieller Fruchtfolgeversuche, unter intensiver phytopathologischer Begleitung, angelegt und ausgewertet. Es wurden Feldversuche mit Mais, Sorghumhirse und Soja angelegt, um Hinweise auf die wirtsabhängige Populationsdynamik von *R. solani* und damit auch auf den fruchtfolgeübergreifenden Befall der Zuckerrübe zu erhalten. Die im Vorgängerprojekt entwickelten Quantifizierungsmethoden sollten dabei die Veränderung des *Rhizoctonia*-Inokulumpotentials, bedingt durch natürliche und produktionstechnische Einflüsse, zeitnah dokumentieren und helfen, die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Einflussfaktoren aufzudecken. Die Ziele der drei von der Arbeitsgruppe IPS 3c der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) innerhalb des Forschungsprojektes bearbeiteten Teilprojekte (TPs), können wie folgt zusammengefasst werden:

#### **Teilprojekt 2 (TP 2): Quantifizierung des *Rhizoctonia*-Bodeninokulums**

Unter Verwendung des quantitativen Quinoa-qPCR-Tests sollte an Hand von Bodenproben von identifizierten Risikostandorten (TP1) und den Experimenten im Phytotron (TP 3B) und Feld (TP 3A + TP 4) der Zusammenhang zwischen Symptomausbildung an der Pflanze und der *Rhizoctonia*-Konzentration im Boden bestätigt und nachverfolgt werden. Zudem sollte die Methode bezüglich ihres Einsatzes für die Erfassung von *Rhizoctonia*-Konzentrationen auf Praxis schlägen validiert werden.

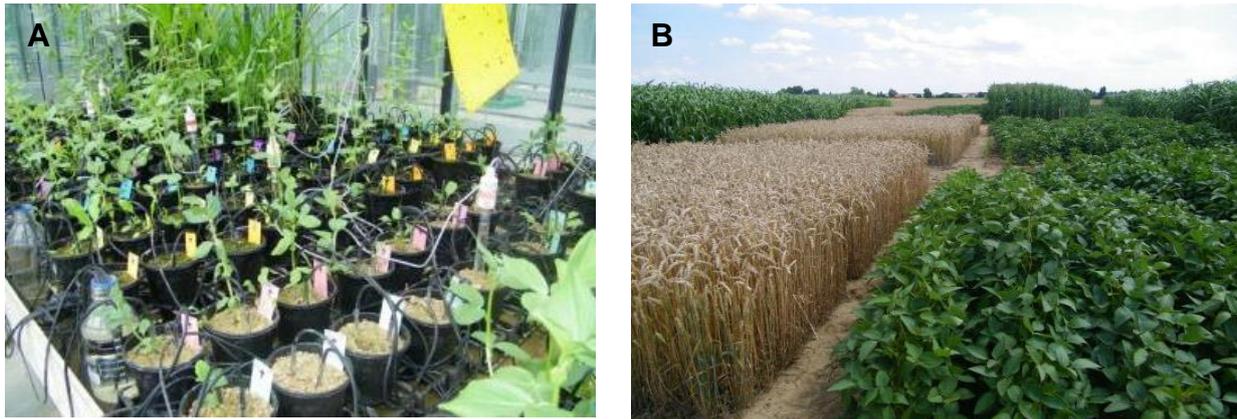
#### **Teilprojekt 3B (TP 3B): Untersuchung des Zusammenhanges zwischen Bodendichte, Bodenfeuchte, infizierten Ernteresten und dem *Rhizoctonia*-Bodeninokulumpotential unter kontrollierten Bedingungen**

Ergänzend zu den Feldversuchen (TP 3A, IfZ) sollten unter kontrollierten Umweltbedingungen (Phytotron und Gewächshaus) erste Tastversuche durchgeführt werden, um den Zusammenhang zwischen den Umweltfaktoren Bodenfeuchte, Bodendichte, Bodentemperatur und organischer Bodensubstanz und dem *Rhizoctonia*-Bodeninokulumpotential zu untersuchen (Abb. 1A).

#### **Teilprojekt 4 (TP 4): Untersuchung des Einflusses neuer bzw. anderer landwirtschaftlich wichtiger Kulturen (wie Soja) auf das *Rhizoctonia*-Bodeninokulumpotential innerhalb von Zuckerrüben-Fruchtfolgen**

Es sollte in einem mehrfaktoriellen Feldversuch geprüft werden, ob Energie- und Eiweißpflanzen wie Mais, Sorghumhirse und Soja in Fruchtfolge mit Zuckerrüben das Bodeninokulum von *R. solani* sowie das Auftreten der Späten Rübenfäule beeinflussen (durchgeführt in Zusammenarbeit mit der ARGE Regensburg) (Abb. 1B).

## 2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes



**Abbildung 1:** A Gewächshausversuch zum Einfluss der Bodenfeuchte auf *R. solani* (TP3B). B Feldversuch zum Einfluss der Fruchtfolge auf *R. solani* (TP4).

### 1.1 Planung und Ablauf des Projektes

Das Forschungsprojekt begann wie geplant im Jahr 2013 mit der Anlage eines mehrfaktoriellen Feldversuchs durch die ARGE Regensburg innerhalb des TP 4 (Fruchtfolgeversuch). Dazu wurde der Standort Haardorf geteilt. Auf den Parzellen der Feldhälfte A wurden Weizen, Mais, Sorghumhirse und Sojabohne angebaut, auf Feldhälfte B wurden Zuckerrüben angebaut. In den folgenden zwei Jahren wurden die Feldhälften jeweils gewechselt (siehe Tabelle 1). Vor der Aussaat der Kulturpflanzen wurde die Versuchsfläche künstlich mit *Rhizoctonia*-infizierter Gerste (50 kg/ha) inokuliert, um homogene Befallsvoraussetzungen zu schaffen. Als Kontrolle wurde ein paralleler Versuch unter natürlichen, nicht-inokulierten, Bedingungen angelegt. Alle notwendigen begleitenden acker- und pflanzenbaulichen Maßnahmen sowie der Pflanzenschutz in den Kulturen wurden 2013, 2014 und 2015 von der ARGE Regensburg veranlasst und durchgeführt. Die Bonituren der Kulturpflanzen und der Indikatorpflanzen sowie die Bodenprobenahmen für die Untersuchungen mit dem Quinoa-qPCR-Test wurden wie geplant in allen Jahren an drei bis vier Terminen im monatlichen Abstand von der LfL durchgeführt und ausgewertet.

Innerhalb des TP 2 (Quantifizierungssysteme) wurden wie geplant in allen drei Versuchsjahren die beiden Quantifizierungsmethoden (Indikatorpflanzentest und Quinoa-qPCR-Methode) erfolgreich sowohl im Rahmen der Feldversuche als auch zur Quantifizierung in Gewächshaus- und Phytotronversuchen eingesetzt. Der Zusammenhang zwischen Symptomausbildung an der Pflanze und der *Rhizoctonia*-Konzentration im Boden konnte bestätigt und nachverfolgt werden. Die Quinoa-qPCR-Methode wurde außerdem in den Jahren 2013 und 2014 für den großflächigen Einsatz auf Praxisschlägen optimiert und eine geeignete Beprobungsstrategie wurde erarbeitet. Aufgrund der Verzögerungen in TP1 (Risikomodell) und da in diesem Teilprojekt nicht wie geplant ein Risikomodell aufgestellt werden konnte, entfiel die Verschneidung von *Rhizoctonia*-Konzentrationswerten mit den Risikofaktoren aus dem Modell, was ursprünglich zu einer Verbesserung des geostatistischen Modells hätte beitragen sollen. Die Risikoflächen wurden aufgrund dessen alternativ anhand der bekannten Faktoren Vorfrucht und Risikoregion ausgewählt und 2015 in zwei Wiederholungen beprobt und mit der Quinoa-qPCR-Methode analysiert.

Innerhalb des TP 3B (Gewächshaus- und Phytotronversuche) wurden in allen drei Projektjahren planmäßig und parallel zu den Feldversuchen des IfZ (TP 3A) zahlreiche Versuche zum Einfluss von Umweltbedingungen auf die *Rhizoctonia* Virulenz unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt. Hierbei kamen sowohl die vollautomatisierten

Klimakammern (Phytotrone) der LfL als auch die neueste Gewächshaustechnik wie beispielsweise die KLIWADU-Bewässerungsanlage, zum Einsatz. Die Versuche wurden mittels Indikatorpflanzenmethode und mit dem Quinoa-qPCR-Test ausgewertet.

In Tabelle 1 ist ergänzend eine Übersicht zu den jeweils 2013, 2014 und 2015 durchgeführten Versuchen aufgeführt.

**Tabelle 1:** Übersicht der durchgeführten Versuche

<b>Teilprojekt</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>
<b>TP 4: Frucht- folgeversuch</b>	Inokulation mit 50 kg/ha Gersten- Inokulum		
<b>Feldhälfte A (Oben)</b>	Weizen, Mais, Sorghumhirse, Sojabohne	Zuckerrübe	Weizen, Mais, Sorghumhirse, Sojabohne
<b>Feldhälfte B (Unten)</b>	Zuckerrübe	Weizen, Mais, Sorghumhirse, Sojabohne	Zuckerrübe
<b>Gesamt</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Schadbonituren an den Kulturpflanzen Mais, Sorghumhirse, Sojabohne und Zuckerrübe</li> <li>• Schadbonituren an Indikatorpflanzen (Ackerbohne)</li> <li>• Molekularbiologische Untersuchung von Bodenproben mit dem Quinoa-qPCR-Test</li> </ul>		
<b>TP 2: Etablierung &amp; Evaluierung von <i>Rhizoctonia</i>- Quantifizierungs- systemen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Optimierung des Quinoa-qPCR-Testsystems für den großflächigen Einsatz</li> <li>• Erarbeitung einer Beprobungsstrategie für mehrere ha große Praxis schläge</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Risikoflächen Beprobung und Analyse mit dem Quinoa-qPCR-Test</li> </ul>
<b>TP 3B: Gewächshaus- und Phytotron- versuche</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Durchführung diverser Versuche zum Einfluss von Temperatur, Bodenfeuchte, Bodendichte und organischer Masse unter kontrollierten Bedingungen</li> <li>• Kontinuierliche Betreuung der Versuche und Auswertung über Schadbonituren an Indikatorpflanzen (Ackerbohne) und molekularbiologischen Untersuchung von Bodenproben mit dem Quinoa-qPCR-Test</li> </ul>		

## 4 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

### 1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand zu Beginn des Forschungsvorhabens

#### 1.2.1 Allgemeine Einleitung

Der Anbau von Zuckerrüben (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *altissima*) hat in Deutschland seit mehr als 200 Jahren Tradition und nimmt mit einer Anbaufläche von ca. 400.000 ha in Europa, neben Frankreich, eine Spitzenposition ein. Circa 32.000 Landwirte produzieren auf 3,5 % der deutschen Ackerfläche 25 Millionen Tonnen Zuckerrüben pro Jahr. Dabei ist der Zuckerrübenanbau in Deutschland nicht nur unverzichtbar für die Bereitstellung von Zucker, sondern spielt auch eine immer wichtiger werdende Rolle als klimaneutraler nachwachsender Rohstoff in der Bio-Energie-Industrie. Neben Mais, Raps und Getreide ist die Zuckerrübe ein wichtiger Rohstoff für die Bioenergiegewinnung und könnte zukünftig auch eine Rolle als Rohstoff für Biopolymer Kunststoffe und weiteres einnehmen.

Seit Anfang der 1990er Jahre tritt die Späte Rübenfäule (*Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB) verstärkt in bayerischen Rübenanbaugebieten (v.a. Raum Plattling) auf und verursacht zunehmende ökonomische Schäden. Sie ist neben der *Cercospora*-Blattfleckenkrankheit und *Rizomania* die wirtschaftlich wichtigste Zuckerrübenkrankheit. Zwanzig Prozent der südbayerischen Anbaufläche (etwa 8.000 ha) weisen zum Teil hohe und weitere dreißig Prozent schwankende Ertragsverluste aufgrund des *Rhizoctonia*-Befalls auf. Nach Erhebungen der Südzucker AG bei der Rübenannahme sowie einer Umfrage des Rings südbayerischer Zuckerrübenanbauer e.V. (RSZ) waren in den Jahren 2010 und 2011 überdurchschnittlich viele Bauern erstmals von der Späten Rübenfäule betroffen. Da die Zuckerertragsverluste sich auf 30 % und mehr belaufen können, ist die Rentabilität des Zuckerrübenanbaus zunehmend eingeschränkt. Weiterhin verschärft sich diese Situation durch den verstärkten Anbau von Biomasse-Mais, da Mais ebenfalls von der *R. solani* Anastomosegruppe AG2-2IIIB befallen wird. Neben dem breiten Wirtsspektrum von *R. solani* stellen die Bodenbürtigkeit und das unberechenbare nesterweise Auftreten sowie das Fehlen von chemischen Bekämpfungsmöglichkeiten die Hauptgründe für die schwierige Kontrolle des Pilzes dar. Hinzu kommt, dass *R. solani* ubiquitär im Boden vorkommt und dort viele Jahre infektiös überdauert. Es wird des Weiteren davon ausgegangen, dass die Witterungsveränderungen durch den Klimawandel, insbesondere höhere Temperaturen und extremer werdende Niederschläge die Vermehrung des Schaderregers fördern.

Innerhalb des vorangegangenen Projektes „Erarbeitung von integrierten Kontrollstrategien gegen die Späte Rübenfäule der Zuckerrübe“ (2010-2013) wurde daher unter anderem untersucht, inwiefern sich ackerbauliche Maßnahmen auf die *Rhizoctonia*-Bodeninokulumdichte auswirken und welche Methoden am besten geeignet sind, um das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum abzuschätzen und zu überwachen.

#### 1.2.2 Quantifizierung des *Rhizoctonia*-Bodeninokulums (TP2)

Es ist allgemein akzeptiert, dass der Befall von Wirtspflanzen mit dem Erreger stark von seinem Inokulumpotential im Boden abhängt. Auch wenn nur begrenzt vorhersehbare kleinräumige klimatische Faktoren den schlussendlich auftretenden Befall maßgeblich mit beeinflussen, sind für eine Risikoabschätzung der Nachweis und die Quantifizierung von *R. solani* von großer Bedeutung. Der Nachweis von bodenbürtigen Mikroorganismen im Lebensraum Boden ist jedoch grundsätzlich sehr schwierig. Eine Vielzahl von Techniken und Methoden wurden zu diesem Zweck bereits in der Vergangenheit angewandt. Dazu gehören beispielsweise die direkte Isolation aus der organischen Bodensubstanz und die Verwendung

von *Rhizoctonia*-anfälligen pflanzlichen Ködermaterial (Papavizas & Davey, 1962; van Bruggen & Arneson, 1986; Neate & Schneider, 1996; Salazar et al., 2000; Paulitz & Schroeder, 2005;). Für eine molekulare Detektion und Quantifizierung von *R. solani* kann die DNA durch direkte oder indirekte Extraktion aus dem Boden gewonnen werden. Bei der direkten DNA-Isolation aus dem Boden werden bisher in der Regel ca. 0,5 bis 1 g Feldboden verwendet. Um bei der zu erwartenden, kleinräumig stark heterogenen Verteilung von *R. solani* innerhalb einer Parzelle das Inokulumpotential repräsentativ zu erfassen, müssten unverhältnismäßig viele Proben gezogen und untersucht werden. Daher ist der direkten DNA-Isolation die indirekte, die ein höheres Probenvolumen ermöglicht, vorzuziehen. Die indirekte DNA-Isolationmethode benutzt pflanzliches Ködermaterial, um *R. solani* aus dem Boden zu extrahieren, wobei sich das pilzliche Myzel abhängig von der *Rhizoctonia*-Bodenkonzentration im Köderpflanzengewebe unterschiedlich stark anreichert. Mit Hilfe von standardisierten Eichreihen kann das Bodeninokulum zuverlässig quantifiziert werden. Es ist möglich, Bodenprobenmengen von 100 g bis 1 kg (je Probe) zu untersuchen. Damit wird eine große Mischprobe gewährleistet, die das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum einer Feldparzelle ausreichend gut widerspiegelt.

Innerhalb des vorangegangenen Projektes (2010-2013) wurde untersucht, welche Methoden am besten geeignet sind, um das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum abzuschätzen und zu überwachen. Zwei Methoden erwiesen sich dabei als besonders vielversprechend: 1) Die Verwendung von Ackerbohnen als Indikatorpflanzen und 2) Eine molekularbiologische Quantifizierungsmethode (qPCR), die Quinoa-Samen als Ködermaterial verwendet. Obwohl beide Methoden ähnliche Ergebnisse erbrachten, zeigte die qPCR deutliche Vorteile gegenüber der Indikatorpflanzen-Methode. Diese umfassten beispielsweise eine kürzere Untersuchungsdauer, weitgehende Unabhängigkeit von Umwelteinflüssen und eine höhere Sensitivität in der Detektion. Mit Hilfe des neu entwickelten qPCR-Systems kann nun unter anderem der Einfluss von Umwelt- bzw. Bodeneigenschaften (z.B. Staunässe, Temperatur, Bodenstruktur) auf die *Rhizoctonia*-Bodenkonzentration systematisch nachverfolgt werden.

### **1.2.3 Untersuchung des Zusammenhanges zwischen Bodendichte, Bodenfeuchte, Ernteresten und dem *Rhizoctonia*-Bodeninokulum unter kontrollierten Bedingungen (TP 3B)**

Seit vielen Jahren ist bekannt, dass die physikalischen und chemischen Bodeneigenschaften, in Verbindung mit Witterungsbedingungen, Einfluss auf den Befall von Ackerkulturen mit *R. solani* haben. Die Bodeneigenschaften werden dabei vom Verfahren der Bodenbearbeitung wesentlich beeinflusst. Deshalb liegen Erfahrungen und Ergebnisse zur Wirkung der bodenphysikalischen und -chemischen Bedingungen auf den *Rhizoctonia*-Befall vorrangig aus Experimenten mit differenzierter Bodenbearbeitung vor. Reduzierte Bodenbearbeitung erhöhte in Untersuchungen von Rovira (1986), Pumphrey et al. (1987) und Paulitz (2006) den Befall an Getreide, während Sturz & Carter (1995) einen geringeren *Rhizoctonia*-Besatz an Soja und Gerste fanden. Demgegenüber hatte in Untersuchungen von Buhre et al. (2009) die konventionell pflügende Bearbeitung vor Zuckerrübe nur unter den stark befallsfördernden Bedingungen einer zweimaligen Mais-Vorfrucht einen befallsmindernden bzw. ertragserhöhenden Effekt. Bei Vorliegen eines erhöhten *Rhizoctonia*-Inokulumpotentials im Boden kann die oberflächennahe Anreicherung wenig verrotteter organischer Substanz das Überleben des Pathogens fördern, andererseits aber auch Antagonisten begünstigen und so zu einer Reduktion des Inokulumpotentials beitragen (Sumner et al. 1981, Sturz et al. 1997). Kühn et al. (2009) fanden Hinweise auf einen verstärkten *Rhizoctonia*-Befall an Zuckerrübe

## 6 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

bei einem engeren C/N-Verhältnis in der Oberkrume, während der Effekt der Höhe des Humusgehaltes uneinheitlich war. Auch hohe Temperaturen zwischen 25 bis 28 °C sollen die Entwicklung einer *Rhizoctonia*-Fäule begünstigen und den Krankheitsverlauf beschleunigen (Wolf & Verreet, 1999; Zens et al., 2002; Führer Ithurrart et al., 2004). Weiterhin sollen hohe Bodenfeuchte und Staunässe, die natürlicherweise besonders oft in Senken oder nach Starkregen-Ereignissen auftreten, die Zuckerrüben zusätzlich für die Späte Rübenfäule sensibilisieren (Heyland, 1996; Wolf & Verreet, 1999). Des Weiteren wurde Bodenverdichtung als befallsfördernd an Zuckerrübe (Buddemeyer & Märländer, 2004) und Bohnen (Tu & Tan, 1991) beschrieben. Auch fand sich ein erhöhtes Auftreten von *R. solani* in verdichteten Fahrspuren und auf Vorgewenden (Wolf & Verreet, 1999). Andererseits wurde die weitere Ausdehnung des Erregers durch nicht verdichtete Bodenbedingungen gefördert (Glenn & Sivasithamparam, 1990; Otten & Gilligan 2006). Kühn et al. (2009) berichteten von widersprüchlichen Beziehungen zwischen dem Auftreten von *R. solani* an Zuckerrübe im Feld und der Bodenwasserspannung, der Lagerungsdichte und der Bodentemperatur; ohne Einfluss waren Textur, Karbonatgehalt, pH-Wert, Redox-Potential und P- und K-Gehalt des Bodens. Insgesamt zeigen diese Untersuchungen ein heterogenes Bild zum Einfluss der wesentlichen Bodenparameter auf das *Rhizoctonia*-Inokulumpotential und den Befall an Zuckerrübe auf. Dabei sind wichtige Kenngrößen der Bodenstruktur in den zu Grunde liegenden Experimenten nur punktuell und unvollständig quantifiziert. Vor dem Hintergrund der Besiedlung des Rübenkörpers durch den Pilz an bzw. nahe der Bodenoberfläche sind die Bedingungen in der oberflächennahen Bodenschicht insbesondere vor und zum Zeitpunkt der Besiedlung im Mai und Juni von besonderem Interesse. Um diese Wissenslücke zu schließen, sollen parallel zu den Feldversuchen des IfZ mit einer hohen Untersuchungsichte an bodenchemischen und physikalischen Kenngrößen, an der LfL unter kontrollierten Bedingungen Gewächshaus- und Phytotronversuche durchgeführt werden. Dem vorhandenen Methodenrepertoire (Quinoa-qPCR Test und Indikatorpflanzenmethode) zur Analyse des *Rhizoctonia*-Inokulumpotentials fällt hierbei eine bedeutende Rolle zu.

### 1.2.4 Untersuchung des Einflusses neuer landwirtschaftlich wichtiger Kulturen (wie Soja) auf das *Rhizoctonia*-Bodeninokulumpotential innerhalb Zuckerrüben-Fruchtfolgen (TP4)

Da *R. solani* ein breites Wirtsspektrum hat, ubiquitär im Boden vorkommt und dort viele Jahre infektiös überdauern kann, spielt die Fruchtfolge bei der integrierten Kontrolle von *R. solani* eine herausragende Rolle (Rush & Winter, 1990; Agrios, 2005; Windels & Brantner, 2005; Boine et al., 2014). Neben der Zuckerrübe ist auch Mais eine Wirtspflanze von *R. solani* AG2-2IIIB. In den USA ist Mais schon länger als Wirtspflanze für *R. solani* AG2-2 bekannt (Sumner & Bell, 1982), ebenso wie in Neuseeland (Fowler, 1980) und Japan (Nishimura et al., 1991). Ein erster Zusammenhang zwischen dem Umfang des Maisanbaus und einer verstärkten Problematik durch *R. solani* konnte in Bayern in der Region Plattling durch eine Betriebsumfrage demonstriert werden (Bürcky & Zellner, 2000). In weiteren Untersuchungen wurde Mais als Wirt von *R. solani* AG2-2IIIB identifiziert sowie ein Einfluss der Fruchtfolge und der darin enthaltende Anteil von Mais auf das Befallsgeschehen in Zuckerrüben festgestellt (Buddemeyer & Märländer, 2004; Führer Ithurrart et al., 2005; Boine et al., 2014). Auch Windels und Brantner (2005) beobachteten negative Effekte durch Mais und positive Effekte durch Weizen als Vorfrucht zur Zuckerrübe. Man geht davon aus, dass der wiederholte Anbau von *R. solani*-anfälligen Wirtspflanzen zu einer Anreicherung des *Rhizoctonia*-Inokulum im Boden führt, wobei es genotypische Unterschiede in der Anfälligkeit geben soll (Zens, 2000; Buddemeyer, 2005; Garbeva et al., 2006; Boine et al., 2014). Der verstärkte Anbau von Mais

seit Beginn des Biogasbooms in Deutschland verschärft nicht nur die *Rhizoctonia*-Problematik in Rübenanbaugebieten, sondern auch hinsichtlich anderer Phytopathogene und Schaderreger (z.B. *Fusarium* spp. und Maiswurzelbohrer) treten zunehmend Probleme durch zu enge Mais-Fruchtfolgen auf. Als eine lukrative Alternative zum Mais rückte in den letzten Jahren Sorghumhirse als sehr massenwüchsige und trockentolerante Pflanze in den Fokus von Wissenschaft und Praxis. Die Pflanzen erreichen Wuchshöhen bis zu 5 m und können als Energiepflanze oder Futter verwendet werden. Erste Berichte aus typischen Zuckerrübenanbauregionen (Straubing, Niederbayern) meldeten eine Anfälligkeit von Sorghumhirse auf *R. solani* AG2-2IIIB (Roller et al., 2012). Neben Zuckerrübe und Mais ist unter anderem auch Soja eine *Rhizoctonia*-Wirtspflanze (Dorrance et al., 2003). Der Anbau von Soja nimmt in Bayern in den letzten Jahren deutlich zu. Um die Landwirte unabhängiger von Eiweißfuttermittel-Importen zu machen und regionale Wirtschaftskreisläufe zu stärken, wird der Anbau von Soja in Deutschland im Rahmen der Eiweißinitiative gefördert. Der Ausbau der Versorgung mit heimischem Futtereiweiß stellt ein erhebliches Potential für die bayerische Landwirtschaft dar und leistet zusätzlich einen Beitrag zum Klimaschutz. Neben der Reduzierung der Stickstoffdüngung wird zusätzlich die Fruchtfolge aufgelockert und somit die Bodengesundheit verbessert. Inwiefern der zunehmende Anbau von Soja und Sorghumhirse in Zuckerrübenfruchtfolgen das Bodeninokulum von *R. solani* beeinflussen, wurde bisher nicht geklärt. Dies soll nun mit der neu entwickelten Quantifizierungsmethode (Quinoa-qPCR-Test) in Kombination mit der Indikatorpflanzenmethode untersucht werden.

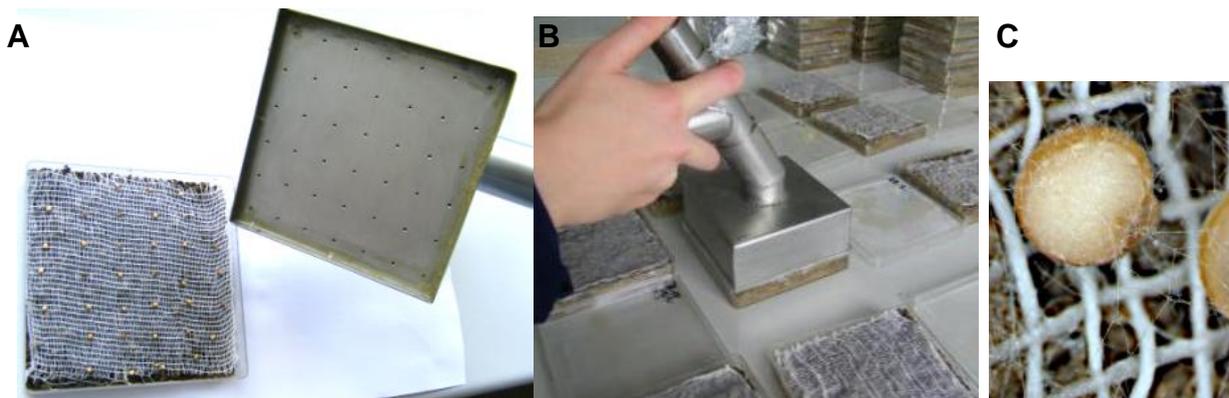
## 2 Material und Methoden

### 2.1 Molekularbiologische Quantifizierung von *R. solani* AG2-2IIIB mit dem Quinoa-qPCR-Test

#### 2.1.1 Methodik Quinoa-qPCR-Test

Der Quinoa-qPCR-Test beruht auf der Kombination aus einem Köderverfahren und der spezifischen Quantifizierung von *R. solani* AG2-2IIIB mittels quantitativer Real-Time-PCR (qPCR). Als Ködermaterial dienen die Samen der Quinoa-Pflanze (*Chenopodium quinoa*), wie bei Thornton et al. (1999) und Lees et al. (2002) beschrieben. Der Test beinhaltet folgende Schritte:

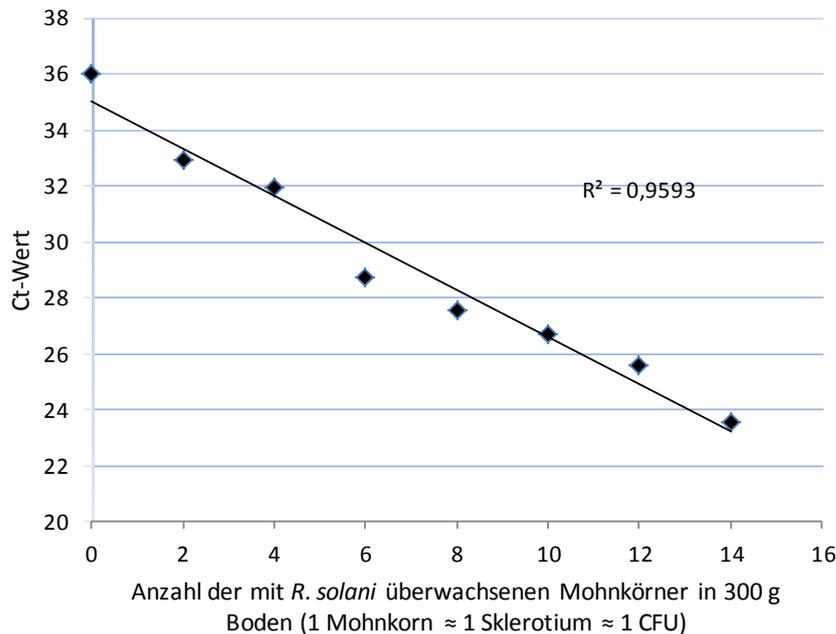
- 1) Bodenproben (Mischprobe ca. 3 kg) werden gesiebt (Maschenweite 4 mm) und homogenisiert
- 2) Anschließend werden Teilproben von 2 x 150 g Erde in sterile Petrischalen (10 x 10 mm) portioniert
- 3) Zur schnelleren und einfacheren Abnahme der Quinoa-Samen und um das Anhaften von Erdpartikeln an den Ködern zu vermeiden, wird auf die Erdoberfläche eine sterile Mullbinde (Baumwolle, unelastisch) ausgelegt
- 4) Anschließend wird der Boden ausreichend befeuchtet und pro Petrischale 36 autoklavierte Quinoa-Samen mit einem Vakuum-Saatgut-Auslegegerät (Abb. 2 A+B) gleichmäßig auf der Oberfläche verteilt
- 5) Nach 6 Tagen Inkubation bei 25°C werden pro Petrischale 18 mit *R. solani* AG2-2IIIB überwachsene Quinoa-Samen (Abb. 2C) in 2 ml-Eppendorfgefäße überführt und bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert
- 6) Aus den Quinoa-Ködern wird dann die DNA mit dem ZR Plant/Seed-DNA-MiniPrep-Kit (ZymoResearch) extrahiert und der Gehalt an *R. solani* DNA im Anschluss mittels qPCR quantifiziert (Primerdesign und PCR-Programm siehe Budge et al. 2009; weitere Details zum Quinoa-qPCR-Test siehe Boine et al. 2014)



**Abbildung 2:** A und B: Auslegen der Quinoa-Köder auf der sterilen Mullbinde mit einem standardisiertem Vakuum-Saatgut-Gerät. C: Nahaufnahme eines mit *R. solani* AG2-2IIIB überwachsenen Quinoa-Köders.

Die qPCR liefert am Ende jeder Analyse sogenannte Ct-Werte (threshold Cycle). Diese Ct-Werte korrelieren negativ mit dem Erreger-DNA-Gehalt der Quinoa-Samen und somit auch indirekt mit der Pilzkonzentration im Boden; d.h. je höher der Ct-Wert, desto niedriger der Erregerbesatz im Boden. Um die Ct-Werte, die man aus der qPCR-Analyse erhält, einer Anzahl Sklerotien bzw. Verbreitungseinheiten (CFU= colony forming units) von *R. solani*

zuordnen zu können, wurde eine Eichgerade (Abb. 3) mit künstlich inokulierter Erde und mit bekannten Konzentrationen an *R. solani* erstellt.



**Abbildung 3:** Quinoa-qPCR-Test Eichgerade. Gemittelte Werte aus 5 Ansätzen. Je kleiner der Ct-Wert desto größer die Pilzkonzentration im Boden.  $R^2$ = Bestimmtheitsmaß (1=100%).

Zur künstlichen Inokulation wurden mit *R. solani*-bewachsene Mohnsamen verwendet, da diese den typischen Sklerotien von *R. solani* AG2-2IIIB in Größe und Form sehr ähnlich sind (siehe Abb. 4). Zudem wurde mittels PCR-Analyse nachgewiesen, dass die *R. solani*-DNA Mengen von jeweils zwei Sklerotien im Vergleich zu zwei bewachsenen Mohnsamen im Mittel einer zehnfachen Wiederholung gleich groß sind.



**Abbildung 4:** Links typische *R. solani* AG2-2IIIB Sklerotien, rechts mit *R. solani* überwachsene Mohnsamen

Es wurde in allen Versuchen (Labor, Feld und Gewächshaus) das *R. solani* AG2-2IIIB Isolat RS580, das ursprünglich von einer befallenen Zuckerrübe aus Norddeutschland stammt, verwendet. Das Isolat wurde gängiger Weise auf Malzextrakt-Agar (MEA, 20 g Agar-Agar + 20 g Malzextrakt-Pulver) kultiviert. Für die Inokulumherstellung wurden 20 g Mohnsamen mit 8 ml Wasser zweifach autoklaviert und anschließend mit zwei vollständig mit *R. solani* bewachsenen MEA-Platten gemischt. Nach zwei Wochen bei 25°C im Dunkeln wurden die Mohnsamen unter sterilen Bedingungen getrocknet. Zur Erstellung der Eichgeraden wurde

## 10 Material und Methoden

jeweils 300 g natürlicher Boden aus Haardorf mit einer bekannten Menge „Sklerotien“ (Mohninokulum) in dreifacher Wiederholung inokuliert. Anschließend wurde der Test wie oben beschrieben durchgeführt und ausgewertet. Die daraus resultierende Eichgerade (Abb. 3) wurde im weiteren Verlauf des Projekts zur Auswertung zahlreicher Feld- und Gewächshausversuche sowie zur Analyse der Bodenproben von Praxisschlägen verwendet. Die Ct-Werte, die man aus der qPCR-Analyse einer unbekannt Probe erhält, lassen sich damit schnell einer Anzahl Sklerotien bzw. Verbreitungseinheiten (CFU) von *R. solani* im Boden zuordnen.

### 2.1.2 Beprobung der Risikoflächen

Insgesamt fünfzig Zuckerrüben-Flächen in Bayern wurden anhand der Risikofaktoren „Vorfrucht“ (high risk: Körnermais, low risk: Winterweizen) und „Region“ (high risk: Großraum Plattling, low risk: Landkreis Donau-Ries) ausgewählt. Das Einzugsgebiet der Zuckerfabrik Plattling ist ein bekanntes Risikogebiet für die Späte Rübenfäule, wohingegen im Donau-Ries, einer Region, die sich durch trockene Witterung auszeichnet, bisher nur vereinzelt *Rhizoctonia* auftrat. Die ausgewählten Flächen wurden bezüglich Bodenart (L, Ls), Hangneigung (<4%) und Flächengröße (~1-2 ha) vereinheitlicht. Die Flächen wurden vermessen (Google Maps), in DIN A4 Größe ausgedruckt und Probenahmepunkte manuell markiert (Abb. 5A).



**Abbildung 5:** A Flächenvermessung der ausgewählten Praxisschläge B Bodenprobenahme mit dem Pürckhauer Bohrstock Ø 40 mm und einem Einstich bis 15 cm Tiefe direkt an einer Zuckerrübe.

Die Bodenproben wurden im Jahr 2015 im Juli und im September jeweils innerhalb eines Zeitraums von 14 Tagen gezogen. Dabei wurden die oberen 15 cm Boden mit einem Pürckhauer Bohrstock (Durchmesser 40 mm) entnommen (Abb. 5B). Beprobt wurde nach der Rastermethode und mit 45 Einstichen pro ha (in Anlehnung an Ophel-Keller et al. 2008). Größere Schläge über 2 ha wurden geteilt und zwei Bodenproben à 45 Einstiche entnommen. Bei der ersten Beprobung im Juli wurde das Befallsausmaß der Flächen grob geschätzt und nach einer Skala von 0-3 bewertet: 0= kein Befall sichtbar, 1= einzelne Zuckerrüben befallen, 2= deutlich Befall sichtbar, 3= starker Befall mit größeren Nestern. Bei der zweiten Beprobung im September wurde, nach Absprache mit den Anbauern, an jedem Probenahmepunkt eine Zuckerrübe auf Oberflächenbefall in 10%-Schritten bonitiert (insgesamt 45 pro Fläche). Die Boniturdaten wurden bei der Auswertung mit den Bodenkonzentrationen verglichen, wobei nach anfälligen und toleranten Sorten unterteilt wurde. Die Bodenproben wurden homogenisiert, gesiebt und 300 g Teilproben mit dem Quinoa-qPCR Test analysiert. Die aus der qPCR stammenden Ct-Werte wurden anschließend mittels der beschriebenen Eichgerade in Verbreitungseinheiten (CFU) pro kg Boden umgerechnet. Zusätzlich wurden für diverse Bodenarten wie oben beschrieben Eichgeraden erstellt und diese mit dem Standard (schluffiger Lehm) verglichen. Zur weiteren

Interpretation der Inokulumkonzentrations- und Zuckerrüben-Bonitur-Daten wurden Niederschläge in den jeweiligen Regionen mit einbezogen.

## 2.2 Gewächshaus- und Phytotronversuche

### 2.2.1 Genereller Versuchsaufbau

Zur Untersuchung des Einflusses verschiedener Umweltfaktoren auf *Rhizoctonia* im Boden wurden Tastversuche unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt. Zunächst wurden zahlreiche Vorversuche zur Ermittlung einer geeigneten Versuchsanstellung (Inokulationsmethode, geeignetes Pflanzsubstrat, Inkubationsdauer etc.) durchgeführt.

Anschließend wurden die folgenden Faktoren untersucht und teilweise miteinander kombiniert:

Faktor A: Bodenfeuchte

A1 trocken (-350 hPa)

A2 feucht (-200 hPa)

A3 nass (-150 hPa)

Faktor B: Bodendichte

B1 unverdichtet (1,1 MPa)

B2 verdichtet (1,7 MPa)

Faktor C: organisches Material

C1 Zuckerrübe

C2 Mais

C3 Sorghumhirse

C4 Sojabohne

C5 Weizen

C6 ohne org. Mat.

Faktor D: Temperatur

D1 15°C

D2 25°C

Der generelle Versuchsaufbau lässt sich folgendermaßen darstellen: es wurde natürliche Erde (Lößlehm, Haardorf, unbehandelt) verwendet, diese in 11 Pflanzgefäße abgefüllt und mit 0,75 g Mohninokulum je Liter Erde inokuliert (Herstellung Mohninokulum wie in 2.1.1 beschrieben). Anschließend erfolgte die Einsaat von Indikatorpflanzen (Ackerbohnen und Zuckerrüben). Die Umweltfaktoren wurden wie oben aufgelistet variiert, die jeweils übrigen Umweltfaktoren bzw. Versuchsbedingungen (Temperatur, Bodenfeuchte etc.) wurden dabei konstant gehalten. Für die Gewächshaus- und Phytotronversuche wurde, wie auch für die Feldversuche, die Ackerbohne (Sorte: Espresso) als Indikatorpflanze verwendet. Zudem wurden bei Gewächshaus- und Phytotronversuchen Zuckerrüben (anfällige Testsorte von

## 12 Material und Methoden

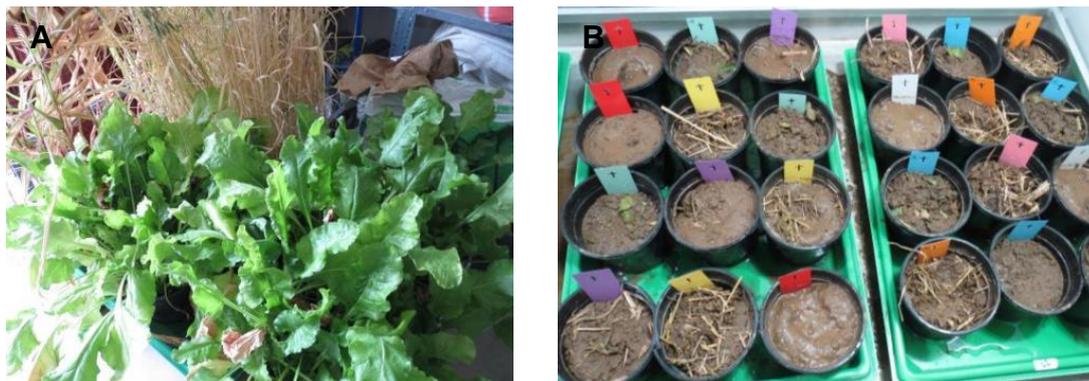
KWS) in die Töpfe eingesät. Der Auflauf der Indikatorpflanzen wurde erfasst und die Pflanzen anschließend fortlaufend auf Symptomausbildung und Mortalität kontrolliert und die Ergebnisse protokolliert. Die Abschlussbonitur der Indikatorpflanzen erfolgte nach 8 Wochen Inkubation. Die Pflanzenwurzeln wurden abgewaschen und nach Oberflächenbefall in 10%-Schritten bonitiert (vgl. Abb. 6). Die Erde wurde in 300 g Portionen abgewogen und anschließend mit dem Quinoa-qPCR-Test analysiert.



**Abbildung 6:** Beispiele für verschiedene Befallsniveaus des *R. solani* AG2-2 Oberflächenbefalls an der Indikatorpflanze Ackerbohne.

### 2.2.2 Versuche zur Einarbeitung von organischem Material

Um die Effekte der Einarbeitung von organischem Material unterschiedlicher Pflanzenarten (Vorfrüchte) auf die *R. solani*-Inokulumkonzentration im Boden zu imitieren, wurde Pflanzenmasse von Zuckerrüben, Mais, Sorghumhirse und Weizen zerkleinert und in Erde eingearbeitet (1,5 kg Pflanzenmasse pro 10 l Erde) (Abb. 7 A+B). Es wurden je Variante 16 Wiederholungen mit Inokulation und 10 ohne künstliches Inokulum angesetzt. Die Pflanzen wurden im Phytotron bei einer Raumtemperatur von 25°C tags und 18°C nachts mit Tageslichtdauer von 12 h und Beleuchtung mit 7000 Lux sowie angepasster Bewässerung inkubiert.

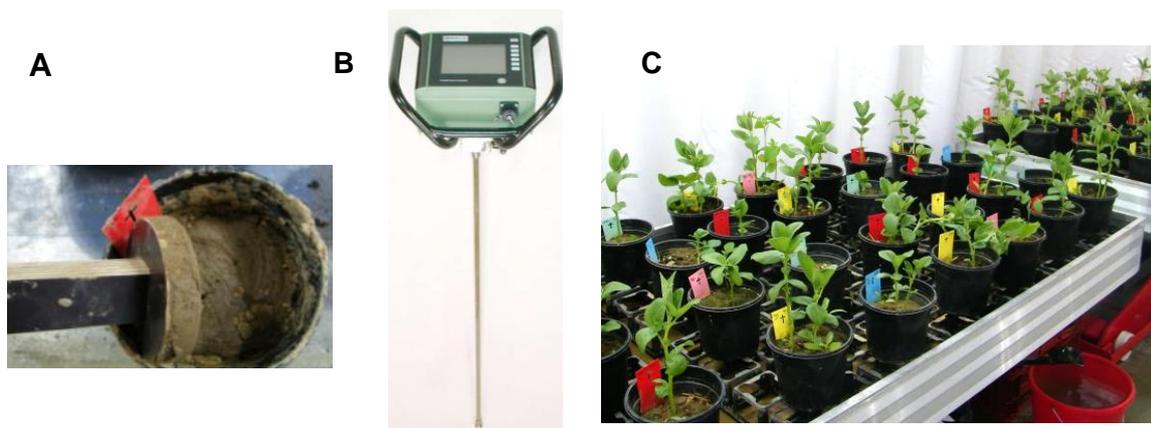


**Abbildung 7:** A Zuckerrüben und Weizen „Biomasse“ vor der Zerkleinerung und Einarbeitung in den Boden. B Phytotronversuch mit verschiedenen Varianten an organischem Material in 1l Gefäßen.

### 2.2.3 Versuche zum Umweltfaktor Bodendichte

Zum Einfluss des Faktors Bodenverdichtung auf *Rhizoctonia* wurden verschiedene Verdichtungsverfahren getestet. Unter anderem wurden Stechzylinder auf der Versuchsfläche in Haardorf I entnommen und danach verdichtet oder direkt von verdichteten Parzellen auf Haardorf II im Vergleich zu Stechzylinder-Proben aus unverdichteten Parzellen getestet. Das gemeinsame Problem aller Vorversuche war, dass die künstliche Inokulation bei verdichtetem Boden schwierig war, die Indikatorpflanzen in ihrem Wachstum (z.B. im

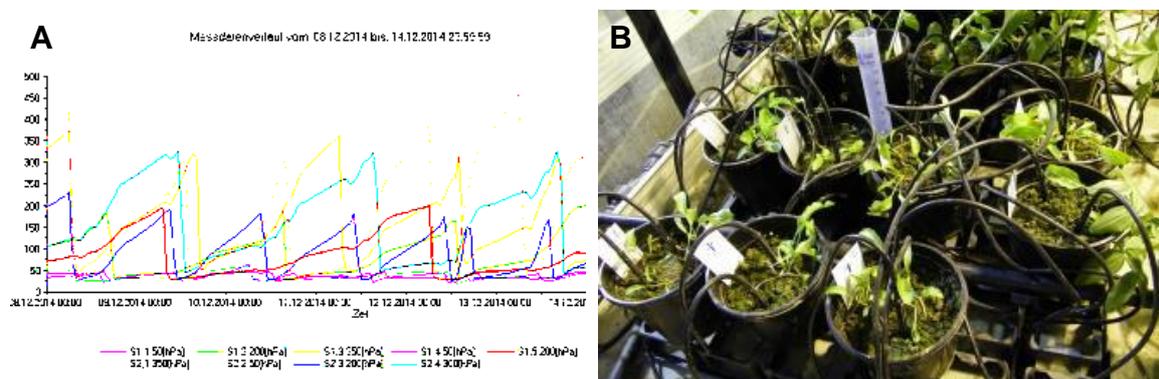
verdichteten Stechzylinder) stark eingeschränkt waren und die Bodenaufbereitung für den Quinoa-qPCR-Test erschwert durchzuführen war. Die Inokulation von natürlicher Erde mit bekannter Menge *Rhizoctonia*-Mohninokulum vor der manuellen Verdichtung mit einem speziell hierfür angefertigten „Stopfen“ (Abb. 8A) auf 1,7 hPa und die anschließende Messung mit einem Penetrologger (Abb. 8B), zur Sicherung einer einheitlichen Verdichtungsstufe in allen Wiederholungen, stellte sich als geeignete Methodik zur Simulation des Umweltfaktors Bodendichte heraus. Der Versuch wurde im Phytotron bei einer Raumtemperatur von 25°C tags und 18°C nachts mit Tageslichtdauer von 12h und Beleuchtung mit 7000 Lux sowie angepasster Bewässerung durchgeführt (Abb. 8C). Es wurden je Variante 20 Wiederholungen mit Inokulation und 10 ohne künstliches Inokulum angesetzt.



**Abbildung 8:** A Manuelle Verdichtung der einzelnen Gefäße mittels einem speziell angefertigten „Stopfen“. B Penetrologger zum Einstellen der Bodendichte. C Phytotronversuch zum Einfluss der Bodendichte auf *Rhizoctonia*.

#### 2.2.4 Versuche zum Umweltfaktor Bodenfeuchte

Mittels der automatischen Bewässerungsanlage KLIWADU wurden im Gewächshaus drei verschiedene Bodenfeuchtestufen (-150 hPa, -200 hPa, -300 hPa) eingestellt und die Auswirkungen auf das *Rhizoctonia*-Inokulumpotential sowie den Befall an Indikatorpflanzen untersucht. Die Raumtemperatur betrug ungefähr 25°C tags und 18°C nachts mit einer Tageslichtdauer von 12 h (bei Bedarf in den Wintermonaten Beleuchtung mit Natriumdampflampen). Es wurden je Variante 20 Wiederholungen mit Inokulation und 10 ohne künstliches Inokulum angesetzt. Die Bodenfeuchte wurde stündlich in Form von Saugspannung über Tensiometer in Referenzgefäßen von der Bewässerungsanlage gemessen und protokolliert (Abb. 9 A+B).



**Abbildung 9:** A Bodenfeuchte Aufzeichnungen der KLIWADU-Bewässerungsanlage. B Phytotronversuch zum Einfluss der Bodenfeuchte auf *Rhizoctonia* mit automatischer Bewässerung in drei Feuchtestufen.

### 2.2.5 Versuche zum Umweltfaktor Temperatur

Im Rahmen eines Versuchsansatzes zum Einfluss der Temperatur auf das *R. solani* Bodeninokulum-Potential und den Befall von Indikatorpflanzen wurden je 20 Wiederholungen inokuliert und 10 Wiederholungen ohne künstliches Inokulum in zwei verschiedenen Klimakammern (Phytotron) bei 15°C Raumtemperatur und bei 27°C Raumtemperatur über acht Wochen mit Beleuchtung über 12 h und mit Bewässerung nach Bedarf inkubiert.

Bei den Kombinationsversuchen wurden die beschriebenen Umweltfaktoren entsprechend miteinander kombiniert, die restlichen Versuchsbedingungen blieben konstant.

### 2.3 Feldversuch zum Einfluss der Fruchtfolge (TP4)

In einem umfangreichen, mehrjährigen Feldversuch wurde getestet, ob und inwieweit sich verschiedene Fruchtfolgen mit den Vorfrüchten Mais, Sorghumhirse, Sojabohne und Winterweizen vor Zuckerrübe auf das Erregerpotential von *Rhizoctonia* im Boden auswirken. Die Anlage und Durchführung des Feldversuchs oblag der ARGE Regensburg (ausführliche Beschreibung siehe Abschlussbericht der ARGE Regensburg). Um eine ausreichende und gleichmäßige Inokulation der Flächen zu gewährleisten, wurden vor der Aussaat 50 kg/ha *Rhizoctonia*-infizierte Gerstenkörner ausgebracht. Die Herstellung des Gersteninokulums wurde von der Arbeitsgruppe IPS 3c an der LfL nach bekanntem Protokoll (siehe Boine et al. 2014) durchgeführt. Als Versuchskontrolle wurden ebenfalls nicht-inokulierte Flächen (natürlich infiziert) angelegt (Abb. 10).

Jede Versuchsparzelle enthielt dabei einen Bereich für die Probenahme sowie für die Beerntung. Um zu gewährleisten, dass die Zuckerrübe (anfällige Sorte) in jedem Versuchsjahr angebaut wird, wurde der Versuch zweigeteilt. Versuchsteil A begann im Jahr 1 (2013) mit dem Anbau der Vorfrüchte Mais (Sorte: Banguy), Hirse (Sorte: Freya), Soja (Sorte: Merlin) und Weizen. Im zweiten Versuchsjahr (2014) wurde auf der gesamten Fläche Zuckerrübe ausgesät, um dann anschließend im Jahr 3 (2015) das Anbauschema von Jahr 1 zu wiederholen. Im Versuchsteil B wurde antizyklisch zu Teil A Zuckerrüben auf allen Parzellen in den Jahren 1 und 3 angebaut. Zusätzlich zu Winterweizen, Mais, Hirse und Soja wurde hier nach der Rübenernte Triticale (als GPS (=Ganzpflanzensilage)) angebaut, wobei Triticale im Mai des Folgejahres geerntet und sofort Mais nachgesät wurde (typische Biogas-Fruchtfolge). Der Versuchsplan ist dem Abschlussbericht der ARGE Regensburg angefügt.



**Abbildung 10:** Luftaufnahme der Feldhälfte A (Oben) in Haardorf mit den Kulturpflanzen Mais, Sorghumhirse, Weizen und Sojabohne in inokulierten und in natürlichen, nicht inokulierten (Kontrolle) Feldbereichen in 2015

Die Bodenproben zur Analyse der *R. solani*-Konzentration mit dem Quinoa-qPCR Test wurden 2013, 2014 und 2015 im Mai, Juni und September (teilweise zusätzlich im Juli und August) in allen Parzellen entnommen. Hierbei wurde stets dieselbe Beprobungsstrategie angewandt: pro Parzelle fünf Probenahmepunkte in W-Form. An der LfL wurden die Proben aufbereitet (homogenisiert und durch einen 4 mm Sieb gesiebt) und anschließend molekularbiologisch untersucht. Im Juni und Juli jeden Versuchsjahres wurden weiterhin Ackerbohnen als Indikatorpflanzen zwischen die Reihen von Mais, Soja, Weizen und Hirse zur parallelen Überwachung des *Rhizoctonia*-Befalls unter natürlichen Umweltbedingungen (bei natürlicher und künstlicher Infektion mit *R. solani*) gesät. Zur besseren Abdeckung der Gesamtparzelle wurden die Ackerbohnen jeweils bei beiden Aussaat-Terminen in zwei Reihen versetzt in die Parzellen eingesät. Die jeweiligen Zeiternten/Bonituren zum Erregernachweis an Kulturpflanzen sowie an Indikatorpflanzen wurden dann im Juli, August und September durch die LfL durchgeführt. Es wurden jeweils 10 Ackerbohnen pro Parzelle ausgegraben, die Wurzeln vor Ort gewaschen und in 10%-Schritten von 10% bis 100% Oberflächenbefall bonitiert (siehe Kapitel 2.2). Die Bonituren an den Kulturpflanzen Zuckerrübe, Mais und Sorghumhirse wurden ebenfalls in 10%-Schritten nach Oberflächenbefall eingestuft (Abb. 11 A+B). Die Winterweizenpflanzen wurden nicht bonitiert, da hier kein Befall durch *R. solani* zu erwarten war. Für die Sojabohnen wurde ein vereinfachtes Boniturschema nach Befallsniveau des Hypokotyl und der Wurzeln von 1-4 angewandt: 1 kein Befall, 2 einzelne Symptome sichtbar, 3 eindeutiger Befall, 4 sehr starker Befall. Die Bestimmung der Ertrags- und Qualitätsparameter aller Kulturen (Mais, Sorghumhirse, Sojabohne, Weizen) wurde durch die ARGE Regensburg durchgeführt. Die Zuckerrüben-spezifischen Ertrags- und Qualitätsdaten wurden vom IfZ in Göttingen erhoben.



**Abbildung 11:** **A** Unterschiedlich stark mit *R. solani* AG2-2IIIB befallene Zuckerrüben. **B** *Rhizoctonia*-Befallsbonitur an Maiswurzeln mit von links nach rechts zunehmendem Befall, der durch dunkelbraune Nekrosen und deutlich reduzierte Wurzelmasse gekennzeichnet ist.

### 3 Ergebnisse

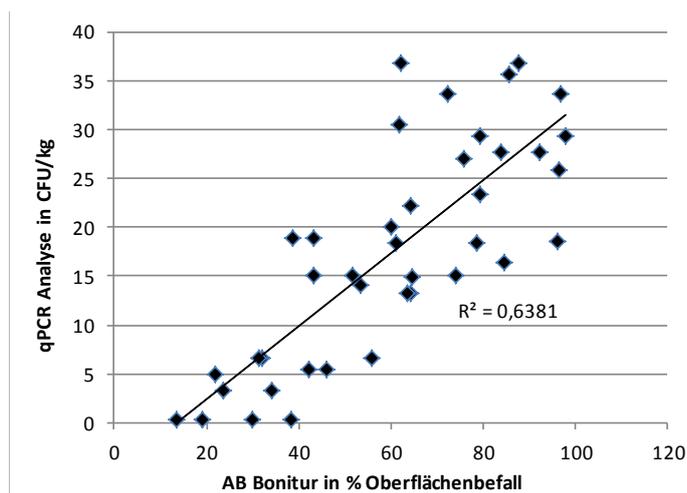
#### 3.1 Molekularbiologische Quantifizierung von *R. solani* AG2-2IIIB mit dem Quinoa-qPCR-Test (TP 2)

Die einzelnen Ziele des Teilprojektes 2 „Quantifizierung von *R. solani* AG2-2IIIB“ waren zum einen die Quantifizierungs-Methoden (Quinoa-qPCR- und Indikatorpflanzen-Methode) zur Analyse der Veränderungen des *Rhizoctonia*-Inokulumpotentials in diversen Versuchen (Feldversuche, Gewächshaus-/Phytotron-Versuche) einzusetzen. Ein weiteres Ziel war es, die im Vorgängerprojekt (2010-2013) an der LfL entwickelte Quinoa-qPCR-Methode zur molekularenbiologischen Quantifizierung von *R. solani* AG2-2 zu optimieren sowie die Methode für den großflächigen Einsatz zur Erfassung von *Rhizoctonia*-Konzentrationen auf Praxisschlägen zu validieren und *R. solani*-gefährdete Risikogebiete mit dem Quinoa-qPCR-Test zu untersuchen.

##### 3.1.1 Einsatz der Quantifizierungs-Methoden zur Analyse der Veränderungen des *Rhizoctonia*-Inokulumpotentials in diversen Versuchen

Die Veränderungen des *Rhizoctonia*-Inokulumpotentials wurden im gesamten Projektzeitraum erfolgreich mit dem Quinoa-qPCR-Test und der Indikatorpflanzenmethode erfasst (Feldversuche + Gewächshausversuche).

Die Ergebnisse der beiden Methoden für die Feldversuche korrelierten in allen drei Jahren signifikant (Abb. 12). Niedrige Ackerbohnen-Boniturwerte, wie beispielsweise im schwachen Befallsjahr 2014, die im Bereich von 10%-30% Wurzeloberflächenbefall lagen, entsprachen demnach niedrigen CFU-Werten pro kg Erde im Bereich von 0-7 CFU. Ebenso verhält es sich für die Jahre 2013 und 2015 mit relativ starkem *Rhizoctonia*-Befall an Indikatorpflanzen und Boniturwerten im Bereich von 40%-100% Oberflächenbefall und CFU Werten bis 40 CFU/ kg Boden.



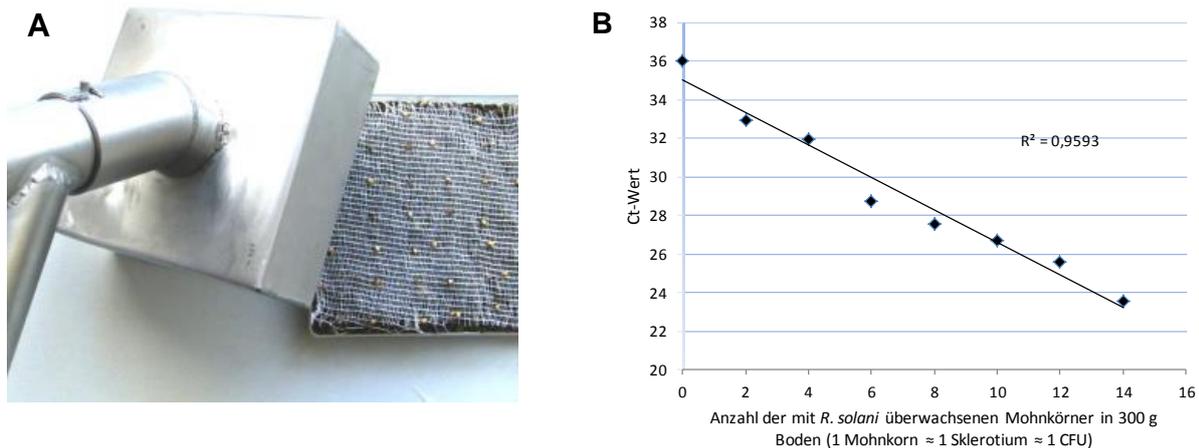
**Abbildung 12:** Feldversuchsergebnisse von natürlichen und inokulierten Parzellen in den Jahren 2013, 2014 und 2015, aufgeführt sind jeweils die Mittelwerte Juli/August, signifikante Korrelation ( $P < 0,0001$ ) zwischen den Ergebnissen der beiden Quantifizierungsmethoden (statistische Auswertung: Korrelationsanalyse nach Pearson).

Die einzelnen Ergebnisse der beiden Methoden (Quinoa-qPCR-Test und Indikatorpflanzenentest) werden in den zu den jeweiligen Versuchen zugehörigen Kapiteln der Teilprojekte (TP 3B Gewächshausversuche und TP 4 Feldversuche) vorgestellt.

### 3.1.2 Optimierung der Quinoa-qPCR-Methode für den großflächigen Einsatz

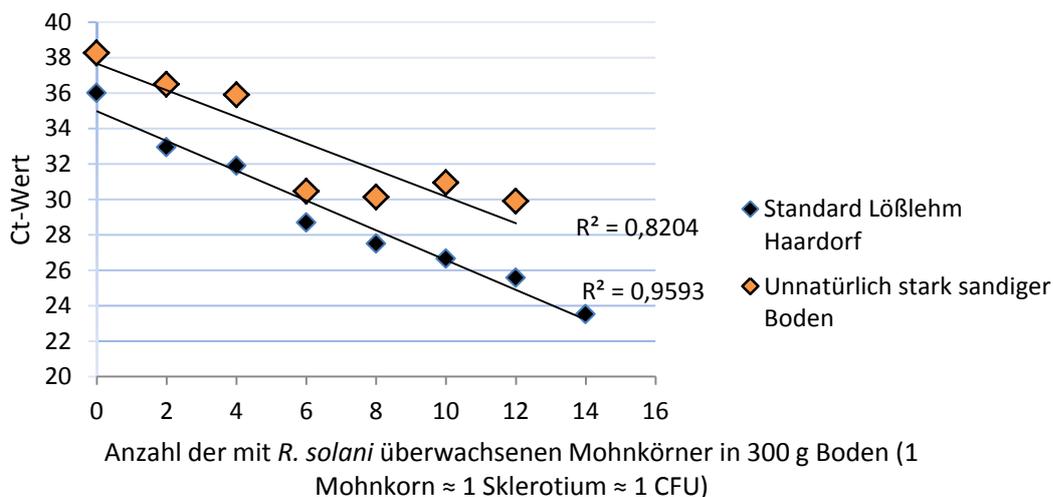
Um den Quinoa-qPCR-Test für den großflächigen Feldeinsatz zu optimieren, wurde die Methodik des Tests im Laufe der ersten beiden Projektjahre (2013 und 2014) kontinuierlich verbessert. Wichtige Veränderungen waren beispielweise das Erhöhen des Probenvolumens auf 300 g Boden durch die Verwendung größerer und quadratischer (raumeffizienter) Petrischalen. Kleine Probenmengen (0,5 g – 60 g), wie bisher für direkte DNA-Extraktionsverfahren aus dem Boden beschrieben (z.B. Larsen et al. 2002; Lees et al. 2002; Kernaghan et al. 2007; Brierley et al. 2009), sind nicht zur Untersuchung von Feldschlägen geeignet. Dies gilt insbesondere für *R. solani* mit seiner nesterweisen Verteilung im Feld und einer hohen Varianz der Proben innerhalb eines Felds. Des Weiteren wurde der Test hinsichtlich eines erhöhten Probendurchsatzes weiterentwickelt, z.B. durch das automatisierte Auslegen der Quinoa-Köder mittels Vakuumsaatgut-Gerät (Abb. 13A). Mit diesem Gerät ist es möglich, 36 Quinoa-Köder mit einem Handgriff in einheitlichem Abstand sauber auf der Erdoberfläche abzulegen, was die zeitliche Effizienz des Quinoa-qPCR-Assays deutlich verbessert. Ein einzelnes Auslegen jedes Quinoa-Samen sowie Unterschiede an der Verteilung der Samen auf der Erdoberfläche je nach Bearbeiter, entfallen. Bezüglich der Eichgeraden, die eine zentrale Rolle im Rahmen der Quantifizierung des *Rhizoctonia*-Bodeninokulums spielt, wurden zahlreiche Versuchsansätze durchgeführt. Es zeigte sich bei mehrfacher Wiederholung eindeutig, dass sich natürliche Erde aus Haardorf (Lößlehm, sL), die nicht autoklaviert wird, deutlich besser zur Erstellung der Eichgeraden eignet als thermisch sterilisierte Erde. Dies könnte damit zusammenhängen, dass ein sterilisierter Boden durch die Störung des mikrobiellen Gleichgewichtes verstärkt anfällig für die Besiedelung mit Pionierarten (z.B. Schimmelpilze u. Ä.) ist. Durch das thermische Sterilisieren eines Bodens wird vermutlich die Mikroorganismen-Gesellschaft und die Bodenstruktur zerstört, was sich im Falle von Untersuchungen mit *R. solani* durch zahlreiche Kontaminationen mit anderen Organismen als Nachteil heraus gestellt hatte. Auch in anderen Studien wurde ein unbehandelter Boden dem sterilen Boden vorgezogen (Bienkowski et al., 2010, Ophel-Keller et al., 2008). Da sich der Pilz im natürlichen Boden mit intakter Mikroflora anders verhält als in sterilem Boden unter kontrollierten Bedingungen, können besonders die Testergebnisse, die in sterilem Boden gewonnen wurden, nicht direkt auf Anwendungen unter natürlichen Bedingungen übertragen werden (Singleton et al., 1992). Mit natürlicher Erde war es möglich, die Eichgerade mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,96 deutlich zu verbessern (Abb. 13B). Zudem zeigte die Eichgerade der natürlichen Erde im Vergleich zur bisher verwendeten Eichgerade mit autoklavierter Erde eine geringere Steigung in einem Ct- Bereich von Ct 25 bis Ct 35. Dies entspricht dem Bereich, in dem sich ein Großteil der bisher untersuchten Feldbodenproben befindet.

## 18 Ergebnisse



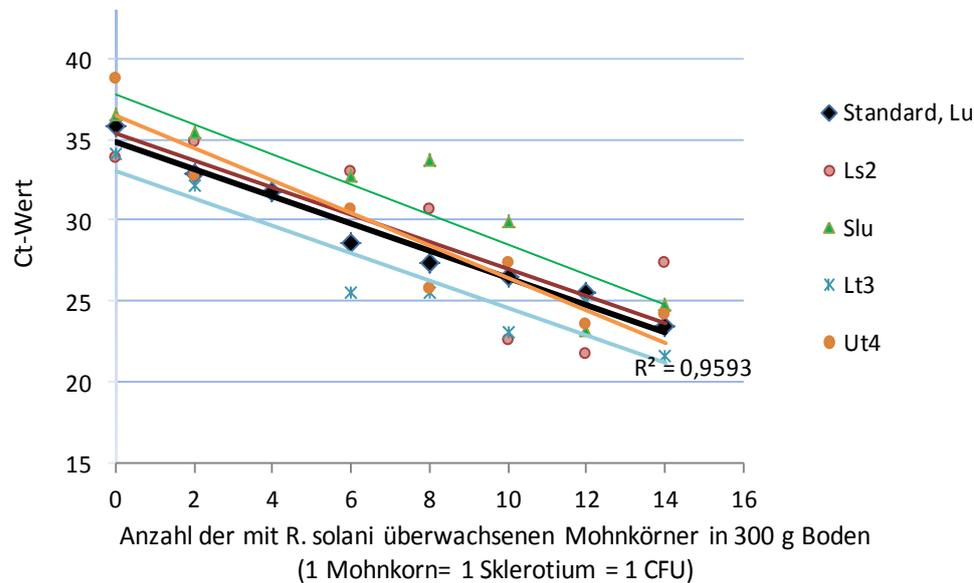
**Abbildung 13:** Ausgewählte Stationen des optimierten Quinoa-qPCR-Tests: **A** Erhöhtes Probenvolumen (300 g Boden) in quadratischer Petrischale und vereinfachtes und automatisiertes Auslegen der Quinoa-Köder mit einem Vakuum-Saatgutgerät. **B** Verbesserte Eichgerade mit natürlicher Erde und hohem  $R^2$ .

In einem weiteren Vorversuch zum Thema „Einsatz des Quinoa-qPCR-Tests auf Praxisschlägen“ wurde untersucht, inwieweit der Test für den Einsatz bei verschiedenen Bodenarten geeignet ist. Eine der Überlegungen war, ob für jede beprobte Fläche eine separate Eichreihe notwendig wäre. Im Labor wurde zunächst ein Eichgerade mit einem künstlich hergestellten Sandboden (Mischung aus lehmiger Felderde mit Quarzsand 1:2) mit der Standard-Geraden verglichen. Nach der Inokulation mit bekannten Mengen Mohninokulum und der Durchführung des Quinoa-qPCR-Tests, zeigte sich ein Unterschied der beiden Geraden von ungefähr 4 Ct Werten (Abb. 14). Dabei verlief die Eichgerade mit dem künstlichen Sandboden oberhalb der Standard-Geraden, was zeigt, dass *Rhizoctonia* sich im stark sandigen Boden nicht so effektiv bzw. schnell ausbreiten kann und dadurch weniger Quinoa-Köder besiedelt werden. Hierbei handelte es sich um eine künstliche Extremsituation (sehr sandiger Boden), die so unter natürlichen Bedingungen nicht vorkommt. Nichtsdestoweniger bestätigt dieses Ergebnis den in der Literatur beschriebenen Einfluss unterschiedlicher Bodentypen auf die mikrobielle Diversität und den Einfluss sandiger Böden auf das Wachstum und Befallsausmaß von *R. solani* (Sneh et al., 1996, Garbeva et al. 2004, Tamm et al., 2010).



**Abbildung 14:** Vorversuch zum Einsatz des Quinoa-qPCR-Tests auf verschiedenen Bodenarten. Vergleich von stark sandigem Boden (unnatürlich!) in orange und dem Standard (Lößlehm aus Haardorf).

Da Zuckerrüben größtenteils auf guten Böden bzw. Lösslehm angebaut werden, war es nicht verwunderlich, dass die im Rahmen von TP1 und TP2 untersuchten Flächen zu 86% aus lehmigen Böden bestanden. Es wurden stichprobenartig von verschiedenen Böden, die im Rahmen des Risikoflächen-Monitorings 2015 beprobt wurden, Eichgeraden angesetzt und es zeigte sich, dass selbst für die Extrema lehmig schluffiger Sand (grüne Linie) und toniger Lehm (blaue Linie) die Abweichungen vom Standard (schwarze Linie) max. 2-3 Ct-Werte betragen (Abb. 15).



**Abbildung 15:** Quinoa-qPCR-Eichgeraden für verschiedene Böden, die im Rahmen der Risikoflächenbeprobung untersucht wurden.

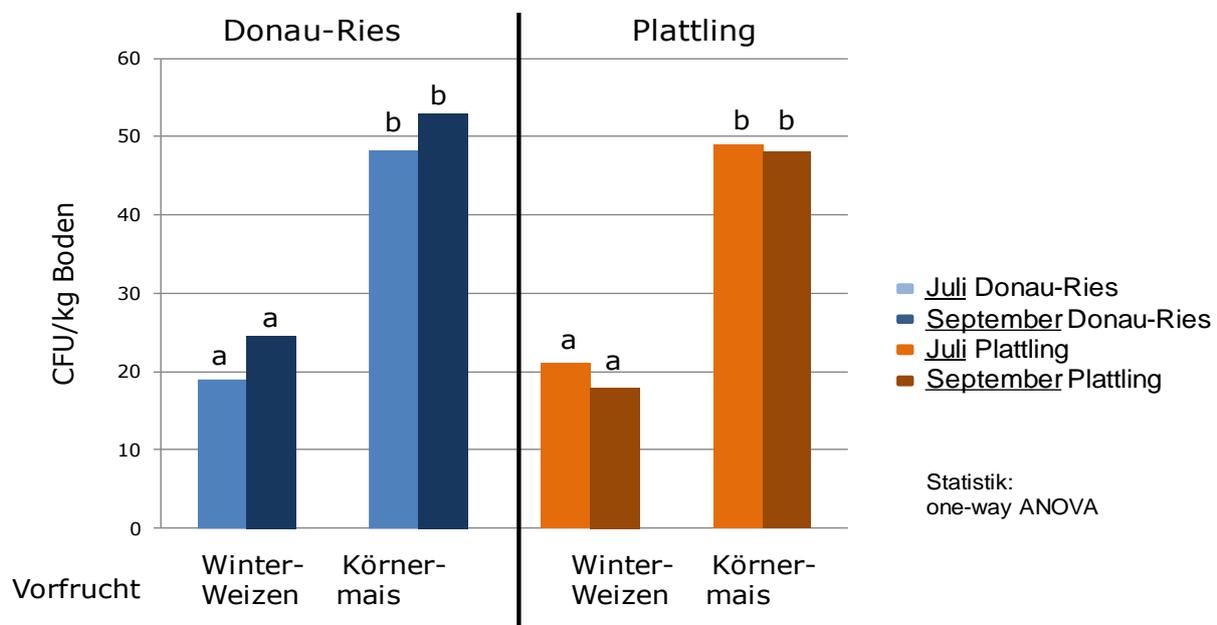
Es konnte hiermit gezeigt werden, dass der Feldeinsatz der Quinoa-qPCR-Methode bei verschiedenen Bodenarten möglich ist.

### 3.1.3 Großflächiger Einsatz der Quinoa-qPCR-Methode zur Erfassung von *Rhizoctonia*-Konzentrationen auf Praxisschlägen

Das Ziel dieses Vorhabens war es, *Rhizoctonia*-gefährdete sowie unbelastete Standorte durch molekularbiologische Bodenuntersuchung der Flächen mit der Quinoa-qPCR-Methode zu vergleichen und dabei zudem die Methode zu validieren. Eine Grundvoraussetzung, um Pathogen-Populationen in Praxisschlägen akkurat detektieren zu können, ist eine geeignete Beprobungsstrategie, die repräsentativ für das ganze Feld ist und dennoch realistisch ist im Hinblick auf Zeit und Kosten. Es wurde eine für *R. solani*, mit seiner nesterweisen Verteilung und spontanem Erscheinen, geeignete Beprobungsmethode für mehrere Hektar große Praxisschläge erarbeitet (siehe 2.1: Rastermethode in Anlehnung an Ophel-Keller et al., 2008). Es wurden insgesamt 50 Flächen, die nach den Risikofaktoren Vorfrucht und Risikoregion ausgewählt wurden, beprobt.

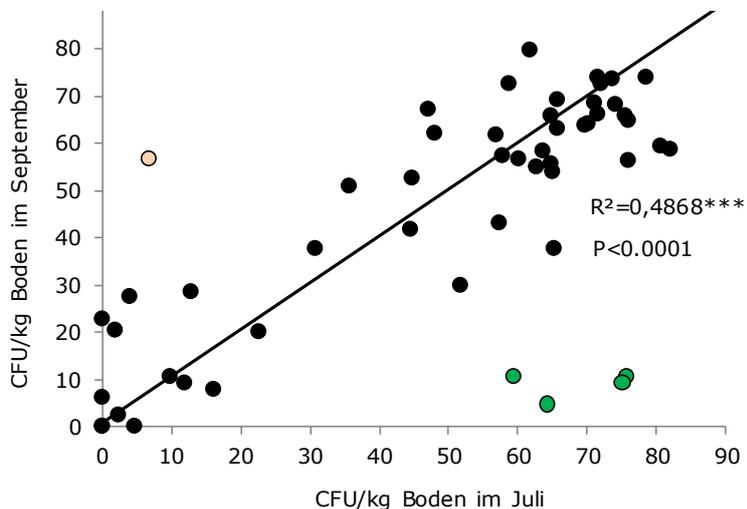
Der Quinoa-qPCR-Test zeigte signifikante Unterschiede im Faktor „Vorfrucht“ auf. An beiden Beprobungsterminen lag der *Rhizoctonia* Besatz der Flächen mit Körnermais als Vorfrucht im Durchschnitt doppelt so hoch wie der der Flächen mit Winterweizen als Vorfrucht (Abb. 16). Für die Vorfrucht Winterweizen lag die mittlere *Rhizoctonia*-Konzentration in beiden Regionen im Bereich von 20 CFU/kg Boden. Zuckerrüben-Flächen, auf denen im Vorjahr Körnermais angebaut wurde, lagen im Durchschnitt bei 48 CFU/kg Boden. Dieser hochsignifikante Unterschied der *Rhizoctonia*-Konzentration einer Praxisfläche in Abhängigkeit von der

Vorfrucht bestätigt sowohl die Ergebnisse der Feldversuche aus dem Vorgängerprojekt (Boine et al. 2014), als auch die Modellauswertung in TP 1 (siehe Abschlussbericht von IAB1a) und die Phytotronversuche in TP3B (siehe 3.2) sowie die Feldversuche in TP 4 (siehe 3.3). Demnach lässt sich schlussfolgern, dass der Anbau von Körnermais vor Zuckerrübe die *Rhizoctonia*-Menge im Boden im Durchschnitt verdoppelt. Was den zweiten Einflussfaktor „Risikoregion“ anbelangt, konnten keine Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Regionen festgestellt werden. Als Vergleichs-Regionen wurden zum einen das bekannte *Rhizoctonia*-Befallsgebiet im Großraum Plattling und zum anderen eine sich durch sehr trockene Witterung und bisher wenig *Rhizoctonia*-Befall auszeichnende Region im Landkreis Donau-Ries ausgewählt. Ein Vergleich der Niederschlagsdaten für das Beprobungsjahr 2015 ergab außergewöhnlich hohe Niederschläge im Mai und Juni für die sonst trockene Region Donau-Ries. Der mittlere Jahresniederschlag lag bis vor 5 Jahren in Donau-Ries im Bereich von 550 mm-650 mm (Jahresniederschlag Plattling: 850 mm (10-jähriges Mittel 2011)) (Datenquelle: Karte mit den mittleren jährlichen Niederschlägen in Bayern vom Bayerisches Landesamt für Umwelt basierend auf Daten von DWD und LWF). Die Niederschlagswerte in den beiden, für den *Rhizoctonia*-Befall entscheidenden Monaten, Mai und Juni, lagen in 2015 in Donau-Ries mit 194 mm höher als in Plattling mit 165 mm (Datenquelle: wetter-by.de). Zahlreiche Landwirte berichteten von Staunässe auf ihren Zuckerrübenflächen. Bekanntermaßen hat die Witterung erheblichen Einfluss auf *Rhizoctonia* und Starkregen-Ereignisse und Staunässe stehen seit jeher in Verdacht die Späte Rübenfäule zu begünstigen. Möglicherweise ist dies eine Erklärung dafür, dass sich die mittleren *Rhizoctonia*-Bodenkonzentrationen und der Befall an Zuckerrüben in den beiden untersuchten Regionen (high risk: Plattling, low risk: Donau-Ries) im Jahr 2015 nicht merklich unterschieden bzw. die *Rhizoctonia*-Konzentrationen im Boden sich in Donau-Ries nach Körnermais ebenso stark aufbauen, jedoch nur bei bestimmten Witterungsbedingungen bzw. bei ausreichend Feuchtigkeit aktiviert werden und Befall an der Zuckerrübe auslösen.



**Abbildung 16:** Ergebnis der Risikoflächen-Beprobung 2015 von 50 Zuckerrüben-Flächen in Donau-Ries (blaue Balken) und in Plattling (orangefarbene Balken), aufgeteilt nach Vorfrucht Winterweizen und Körnermais zu zwei Beprobungsterminen. Die helleren Balken stellen jeweils die Juli-Beprobung dar, die dunkleren Balken die Ergebnisse der September-Beprobung (Statistische Auswertung: one-way ANOVA).

Bezüglich der Validierung des Testsystems konnte mittels Korrelationsanalyse gezeigt werden, dass die Ergebnisse der Juli- und September-Beprobung signifikant positiv übereinstimmen ( $p < 0,0001$ ) (Abb. 17). Demnach entsprachen hohe CFU-Werte (über 50 CFU/kg Boden) im Juli hohen *Rhizoctonia*-Konzentrationen im September. Ebenso wurden niedrige *Rhizoctonia*-Konzentrationen unter 30 CFU/kg Boden im Juli durch ebenso niedrige CFU-Werte im September bestätigt.



**Abbildung 17:** Signifikanter Zusammenhang der Ergebnisse der Juli- (Werte auf der x-Achse) und September- (Werte auf der y-Achse) Probenahmen. Nichtschwarze Punkte: Statistische Ausreißer. (Statistische Auswertung: Korrelationsanalyse nach Pearson).

Vereinzelte Ausreißer (insgesamt 10% der ermittelten CFU-Werte) können zum einen durch das Probenahmesystem erklärt werden, bei dem die Probenahmepunkte im Juli nicht eindeutig markiert wurden (dies hätte z.B. manuell (Markierstab) oder durch ein GPS-System gemacht werden können), sondern nur mittels gleichem „Schrittmuster“ bzw. Einzeichnung auf ausgedruckter Karte im September ungefähr beibehalten wurden. Dadurch kann jedoch nicht garantiert werden, dass die Bodenprobenahme im Juli und im September an genau derselben Stelle stattfand, was Variationen zwischen den Monaten möglich macht. Zudem kann sich der *Rhizoctonia*-Gehalt erfahrungsgemäß innerhalb von zwei (Sommer-) Monaten beträchtlich verändern. Wie auch im Feldversuch (siehe Kapitel 3.3) gezeigt wurde, nahm das *Rhizoctonia*-Inokulumpotential über die Sommermonate in 2015 aufgrund extremer Dürre tendenziell ab. Dies veranschaulichen die grünen Punkte in Abbildung 17.

Ein weiteres Kriterium der Methodvalidierung war der Vergleich der mittels Quinoa-qPCR-Tests ermittelten CFU-Werte mit dem tatsächlich ausgelösten *Rhizoctonia*-Befall an den Zuckerrüben. Es konnte gezeigt werden, dass die bei der Wiederholungsbeprobung im September an allen Probenahmepunkten durchgeführten Zuckerrüben-Befallsbonituren zum Großteil mit den Ergebnissen der Quinoa-qPCR-Analyse übereinstimmten. Ein Beispiel ist die in Abbildung 18 gezeigte stark befallene Fläche mit zahlreichen durch *Rhizoctonia*-Befall vollständig verfaulten Zuckerrüben und einem durchschnittlichen Oberflächenbefall von 75% sowie einem entsprechenden Quinoa-qPCR-Testergebnis von 60 CFU/kg Boden. Die Fläche lag in der Region Plattling und hatte als Vorfrucht zur Zuckerrübe zwei Jahre Körnermais. Auf einer anderen Fläche im Großraum Plattling wurde Winterweizen als Vorfrucht angebaut und es war in diesem Fall keine einzige befallene Zuckerrübe sichtbar (Abb. 19). Auf dieser Fläche ergab die Zuckerrüben-Bonitur 14 % Oberflächenbefall (Anmerkung: 0% kommt bei

## 22 Ergebnisse

Feldbonituren nicht vor, kein Befall = 10%) und der Quinoa-qPCR-Wert lag bei 0,2 CFU/kg Boden und damit knapp über der unteren Nachweisgrenze.

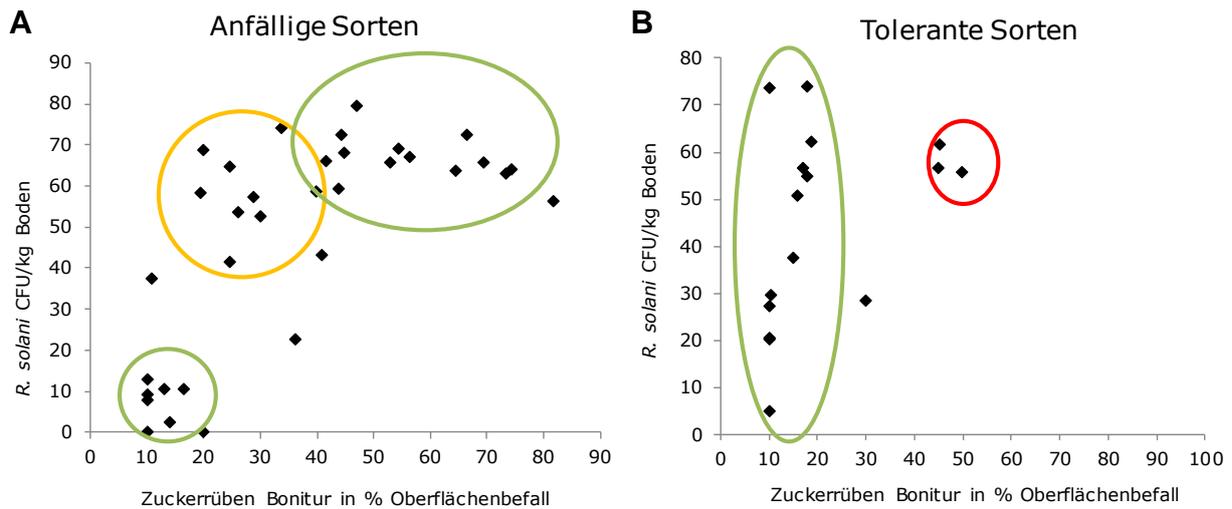


**Abbildung 18:** Vergleich der Zuckerrüben-Befallslage einer Fläche mit dem ermittelten Quinoa-qPCR-Testergebnis. Die Fläche befand sich in der Region Plattling mit der Vorfrucht Körnermais. Die Zuckerrüben-Bonitur ergab Ø 75 % Oberflächenbefall, das Quinoa-qPCR-Test Ergebnis lag bei ≈ 60 CFU/kg Boden.



**Abbildung 19:** Vergleich der Zuckerrüben-Befallslage einer Fläche mit dem ermittelten Quinoa-qPCR-Testergebnis. Die Fläche befand sich in der Region Plattling mit der Vorfrucht Winterweizen. Die Zuckerrüben-Bonitur ergab Ø 14 % Oberflächenbefall, das Quinoa-qPCR-Test Ergebnis lag bei ≈ 0,2 CFU/kg Boden.

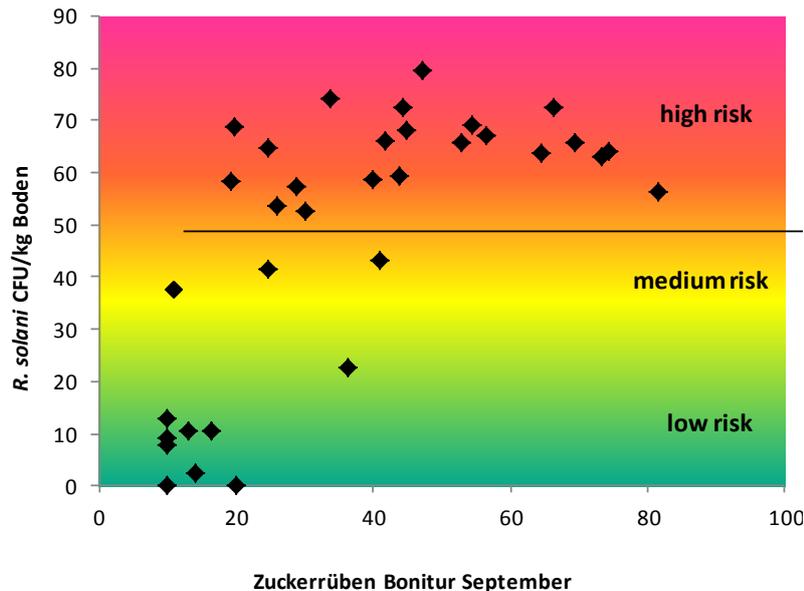
Bei der Korrelation der ermittelten *Rhizoctonia*-Bodenkonzentrationen in CFU/kg mit den Zuckerrüben-Boniturdaten, war es notwendig, dass Flächen mit anfälligen und mit toleranten Sorten getrennt ausgewertet wurden (Abb. 20). Tolerante Sorten zeichnen sich dadurch aus, dass sie auch bei hohen *Rhizoctonia*-Konzentrationen keinen Befall aufweisen, dies war bei unseren Untersuchungen für einige Sorten sogar bei extrem hohen *Rhizoctonia*-Konzentrationen von über 70 CFU/kg Boden beobachtbar. In drei Einzelfällen (rot umrandet) mit ebenfalls hohen *Rhizoctonia*-Konzentrationen im Bereich von 50-60 CFU/kg wurde trotz der toleranten Sorteneigenschaften *Rhizoctonia*-Befall auf bis zu 50% der Zuckerrüben-Oberfläche bonitiert (Abb. 20B). Es konnte zudem, durch zahlreiche CFU-Werte über 40 CFU/kg Boden, die Annahme bestätigt werden, dass tolerante Sorten auf besonders durchseuchten Böden angebaut werden.



**Abbildung 20:** Korrelation der Zuckerrüben-Boniturdaten (x-Achse) mit den mittels Quinoa-qPCR-Test ermittelten *Rhizoctonia*-Bodenkonzentrationen in CFU/kg. **A** Flächen auf denen anfällige Zuckerrüben-Sorten angebaut wurden. **B** Flächen auf denen toleranten Sorten angebaut wurden.

Bei den anfälligen Sorten (Abb. 20A) zeigt sich unten links in der Grafik, dass sehr niedrige CFU-Werte (unter 15 CFU/kg Boden) mit keinem bzw. äußerst geringem Befall (10 - 20 % Oberflächenbefall) an den Zuckerrüben korrelieren. Des Weiteren fällt auf, dass hohe CFU-Werte (über 60 CFU/kg Boden) mit hohem Befall an Zuckerrüben (über 40% Oberflächenbefall) korrelieren (grün umrandet). Im gelb umrandeten Bereich wurden relativ hohe CFU-Werte bei einem Oberflächenbefall im Bereich von 20 % - 40 % detektiert. Dabei ist es wichtig zu beachten, dass das tatsächliche Befallsausmaß an der Zuckerrübe neben dem Inokulumgehalt von weiteren Faktoren beeinflusst wird. Entscheidend hierbei ist die Bodenfeuchte bzw. Niederschlagsmenge. Im Fall der Flächen im gelb umrandeten Bereich in Abbildung 20A könnte es sich beispielsweise um Flächen handeln, an denen weniger Niederschlag auftrat und das vorhandene und mittels Quinoa-qPCR-Methode detektierte *Rhizoctonia*-Inokulum weniger aktiviert wurde. Ein weiterer Einflussfaktor auf die Befallsausprägung ist das antagonistische Potential eines Bodens. Besteht eine ausreichend hohe mikrobielle Suppressivität im Feldboden, ist es möglich, dass *R. solani* den Rübenkörper trotz hohem Bodeninokulum kaum befällt und die Entstehung typischer *Rhizoctonia*-Nester ausbleibt.

Unterteilt man Abbildung 20 A in sogenannte Risikobereiche zeigt sich, dass sich viele Werte im „high risk“-Bereich befinden (Abb. 21). Dies hängt in erster Linie damit zusammen, dass mehr als doppelt so viele „high risk“-Flächen als „low risk“-Flächen beprobt wurden (35 high risk, 15 low risk). Ein weiterer Aspekt ist die in 2015 für *Rhizoctonia* günstige Witterung in beiden Untersuchungsgebieten.



**Abbildung 21:** Einteilung der korrelierten Werte für die anfälligen Sorten in *Rhizoctonia*-Risikobereiche: low risk 0-30 CFU/kg Boden, medium risk: 30-50 CFU/kg Boden, high risk: > 50 CFU/kg Boden.

Auf die Frage „Was sind hohe und was sind niedrige *Rhizoctonia*-Bodenkonzentrationen?“ konnte eine erste bzw. vorläufige Antwort gegeben werden: ein niedriges Risiko bestünde nach den aktuellen Daten im Bereich von 0-30 CFU/kg Boden, ein hohes *Rhizoctonia*-Risiko wäre ab 50 CFU/kg Boden zu erwarten (Abb. 21). Für die tatsächliche Ermittlung von Schwellenwerten sind allerdings weitere Beprobungen im Folgeprojekt notwendig und bereits geplant. Hierbei soll der Stichprobenumfang erhöht werden und die Beprobungsmethodik (bisher: Einstich direkt an befallener Zuckerrübe, geplant: Beprobung der Vorfrucht mit „willkürlichem“ Einstich auf der Fläche) überarbeitet werden. Es ist zu erwarten, dass sich die CFU-Werte durch einen willkürlichen Einstich auf der Fläche bzw. in der Reihe nach unten verschieben (da an befallenen Rüben bekanntlich die Inokulummenge deutlich erhöht ist). Zudem sollten zur Ermittlung von Schwellenwerten zusätzlich detaillierte Witterungsdaten miteinbezogen werden. Hierbei ist es, aufgrund der grundsätzlich sehr heterogenen Verteilung von Niederschlägen, notwendig, für jede beprobte Fläche separate Niederschlagsaufzeichnungen zu beziehen.

### 3.2 Gewächshaus- und Phytotronversuche (TP3B)

Ziel dieses Teilprojektes war es, Tastversuche unter kontrollierten Bedingungen zur Untersuchung des Einflusses von Umweltfaktoren wie Bodenfeuchte, Bodendichte und organischer Bodensubstanz auf das *Rhizoctonia*-Bodeninokulumpotential durchzuführen. In den Vorarbeiten 2013 und 2014 wurden wichtige Erkenntnisse zur Methodik der Versuchsanstellung gewonnen, darunter z.B. die Inokulationsmethodik mit 0,75 g Mohninokulum/l Erde, die Verwendung von natürlicher Erde als Pflanzsubstrat, eine Inkubationsdauer von 8 Wochen und die Analyse mittels Indikatorpflanzen-Methodik (Ackerbohnen und Zuckerrüben) in Kombination mit der Bodenanalyse mittels Quinoa-qPCR-Test. Die Verwendung von natürlicher Erde hat im Vergleich zur autoklavierten oder anderweitig behandelten Erde zahlreiche Vorteile, welche im Kapitel 3.1.2 bereits besprochen wurden. Im Falle der Simulierung von Umweltbedingungen ist der entscheidende Vorteil, dass das natürliche Mikroorganismengefüge, welches einen großen Einfluss auf *R. solani* und den Befall von Wirtspflanzen hat und welches nicht nachgestellt werden kann, erhalten bleibt. Ein

Nachteil der Verwendung von unbehandelter Erde einer *R. solani* Befallsfläche könnte sein, dass selbst in den „Kontrollen“ ohne Inokulation natürliche *R. solani* Ursprungsmengen nicht auszuschließen sind.

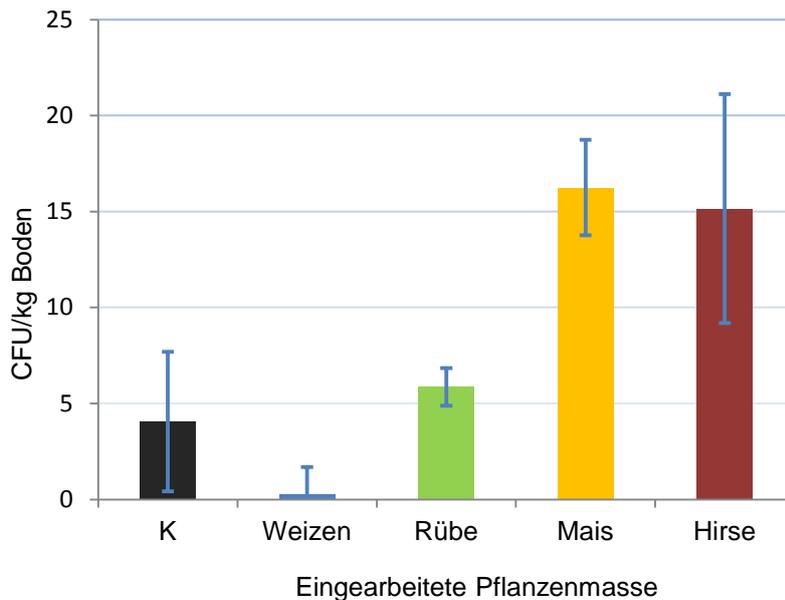
Bei der Verwendung von Indikatorpflanzen zur Abschätzung des Einflusses von Umweltfaktoren auf den Befall an *R. solani* AG2-2IIIB Wirtspflanzen zeigt die Ackerbohne zahlreiche Vorzüge. Sie zeichnet sich unter anderem durch die eindeutigen schwarzen *R. solani*-Symptome auf den hellen Ackerbohnenwurzeln, durch ihr starkes und optimal zur Bonitur geeignetes Wurzelsystem und ihrem problemlosen Einsatz in Feldversuchen aus. In allen Versuchen (sowohl im Gewächshaus und Phytotron als auch auf dem Feld) wurde stets stichprobenartig befallene Pflanzen mittels PCR auf *R. solani* AG2-2IIIB geprüft. Im Vorgängerprojekt wurden zusätzlich zur Oberflächenbonitur der Wurzeln die Sprosslänge und das Sprossgewicht der Ackerbohnen ermittelt. Es zeigte sich jedoch, dass bei einem Wurzelbefall unter 60% die Sprosslänge und das Sprossgewicht oft noch nicht signifikant durch den *Rhizoctonia*-Befall beeinflusst wurden. Da die meisten der gemessenen Wurzelschadboniturwerte unter 60 % lagen, wurde bei der Endauswertung der in diesem Projekt durchgeführten Versuche auf die Ermittlung der Sprosslänge und des Sprossgewichtes größtenteils verzichtet. Wie unter anderem in Abbildung 25 zu sehen ist, lag die durchschnittlich befallene Wurzeloberfläche der Ackerbohnen unter Gewächshaus- oder Phytotronbedingungen meist im Bereich von 20 % bis 50 %. Befallsstärken bis 80% und 90% Oberflächenbefall, wie sie auf dem Feld in starken Befallsjahren beobachtet wurden, traten in der Regel unter kontrollierten Bedingungen nicht auf. Im Falle eines starken Befalls starb die Pflanze meist vor Ende der achtwöchigen Inkubationszeit ab.

Als weitere Indikatoren wurden zusätzlich zu den Ackerbohnen Zuckerrüben in die Pflanzgefäße eingesät. Eine nach dem Auflaufen der Zuckerrübenkeimlinge regelmäßige Kontrolle des Pflanzenbestandes bzw. die Dokumentation der pflanzlichen Absterberate ermöglichte einen zusätzlichen und schnellen Ergebniserfolg. Bekanntlich befällt *R. solani* AG2-2IIIB, neben *R. solani* AG2-2IV, *Pythium* spp. und *Aphanomyces* spp., auch Zuckerrüben-Keimlinge (Bolton et al. 2010). Da *R. solani* nach allgemeiner Annahme ein Schwächepathogen ist und Umweltbedingungen, die die Abwehr der Pflanze schwächen, Voraussetzung sind, um eine deutliche Symptombildung hervorzurufen, sind die genannten Indikatorpflanzenmethoden zur Untersuchung von Umwelteinflüssen auf die Pflanze-Pathogen-Interaktion optimal geeignet. Die Quinoa-qPCR Methode ermöglicht es dagegen, die Einflüsse diverser Umweltfaktoren auf die Ausbreitungs- bzw. Inokulumanreicherungsrate von *R. solani* zu testen. Hierfür sind gleiche Mengen an Initialinokulum die Voraussetzung, welches sich dann je nach Umweltbedingungen, z.B. bei erhöhter Bodentemperatur stärker, ausbreitet.

### 3.2.1 Einfluss der Einarbeitung von organischem Material

Es konnte mit diesem Versuchsansatz im Phytotron und der Auswertung mittels Quinoa-qPCR Test gezeigt werden, dass in den mit Mais- und Sorghumhirse-Biomasse behandelten Töpfen der *Rhizoctonia*-Gehalt deutlich höher lag als in den mit Weizen-Biomasse angereicherten Töpfen, die sich im Bereich der Kontrolle befanden (Abb. 22). Die mittleren Inokulummengen lagen für alle Versuchsglieder in einem niedrigen Bereich mit maximal 15 CFU/kg Boden. Damit konnten unter kontrollierten Bedingungen die Ergebnisse aus dem Feldversuch (Kapitel 3.2) bestätigt werden und es konnte erneut gezeigt werden, dass die Einarbeitung von organischem Material von *Rhizoctonia*-Wirtspflanzen das Auftreten der Späten Rübenfäule verstärkt (vgl. Boine et al. 2014).

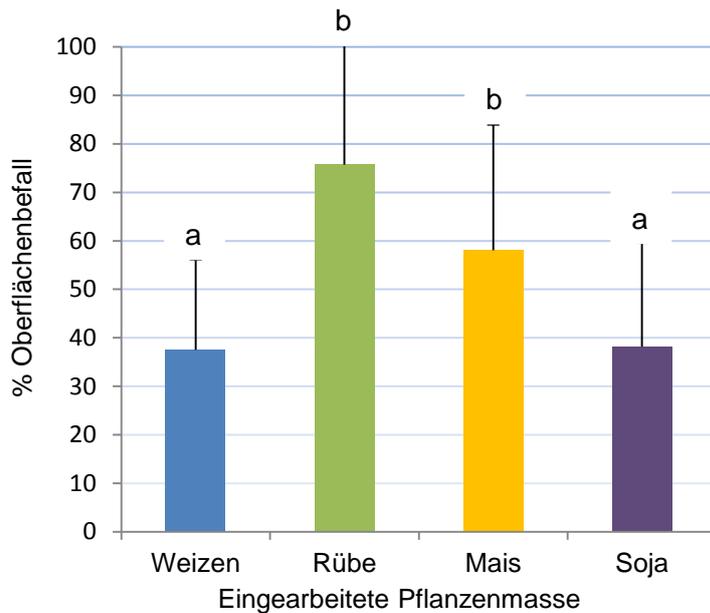
## 26 Ergebnisse



**Abbildung 22:** Quinoa-qPCR Ergebnis in CFU/kg Boden des Versuchs zur Einarbeitung organischer Masse von Zuckerrüben, Mais, Sorghumhirse und Weizen im Phytotron. Deutlicher Unterschied im Inokulumpotential zwischen Weizen-Biomasse, die im Bereich der Kontrolle ohne Pflanzenmasse liegt und Mais- und Sorghum-Biomasse, bei denen der *R. solani*-Inokulumgehalt sogar noch höher als in der Variante mit Zuckerrüben-Biomasse anstieg (n=10-16).

Die Indikatorpflanzenbonitur konnte in diesem Versuch nicht zwischen den verschiedenen Versuchsgliedern differenzieren. Der Mittelwert für die Kontrollvariante ohne Biomasse-Einarbeitung lag bei 35% Oberflächenbefall, die Varianten mit Einarbeitung der verschiedenen Pflanzenreste lagen zwischen 40% und 50% Oberflächenbefall. Mit der Indikatorpflanzenbonitur konnte also der erwartete erhöhte Befall durch *R. solani* in den Pflanzgefäßen mit Mais, Sorghumhirse und Zuckerrübe im Vergleich zur Variante mit Weizen-Biomasse trotz unterschiedlicher Inokulumaktivitt, die mit dem Quinoa-qPCR Test gemessen wurde, nicht nachgewiesen werden. Wobei in diesem Fall die Überprüfung der Symptomstellen mittels DNA-Extraktion aus befallenem Pflanzenmaterial und anschließender PCR für einige Pflanzen *R. solani* AG2-2IIIB als Erreger nicht bestätigen konnte und deswegen davon ausgegangen werden muss, dass es sich um (zusätzlichen) Fremdbefall an den Indikatorpflanzen handeln könnte. Diese Kontamination könnte auch eine Erklärung für die niedrigen Inokulummengen unter 15 CFU/kg Boden sein, die darauf hindeuten, dass sich das beim Versuchsansatz eingebrachte Inokulum nicht optimal vermehren konnte.

Es wurde ein zweiter Versuchsansatz in Kombination mit dem Faktor Bodendichte (Ergebnisse hierzu siehe 3.2.2), mit einer höheren Anzahl Wiederholungen und mit dem zusätzlichen Versuchsglied Soja-Biomasse durchgeführt. Die in Abbildung 23 veranschaulichten Werte zeigen den Einfluss der Einarbeitung organischer Masse ohne Berücksichtigung der Verdichtungsstufe in der Auswertung.



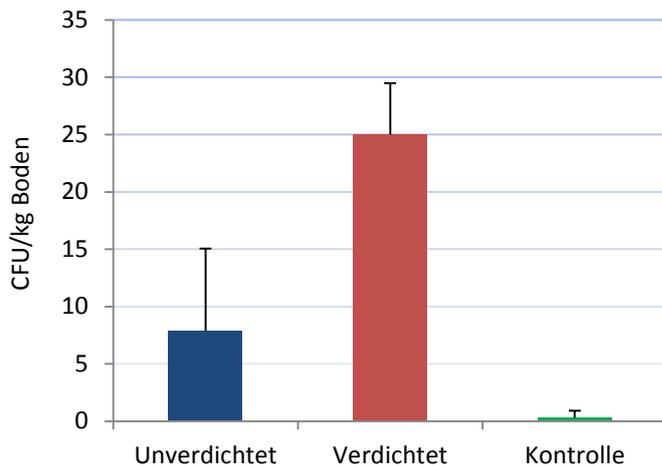
**Abbildung 23:** Indikatorpflanzenbonitur in % Oberflächenbefall des zweiten Versuchs zur Einarbeitung organischer Masse von Zuckerrüben, Mais, Sojabohne und Weizen im Phytotron. Signifikanter Unterschied im Inokulumpotential zwischen Weizen- und Soja-Biomasse und Mais- und Zuckerrüben-Biomasse (n=25, statistische Auswertung: Kruskal Wallis Test).

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied im Inokulumpotential zwischen Weizen- und Soja-Biomasse mit 35% Oberflächenbefall und Mais- und Zuckerrüben-Biomasse mit 58%-75% Oberflächenbefall.

### 3.2.2 Einfluss der Bodendichte

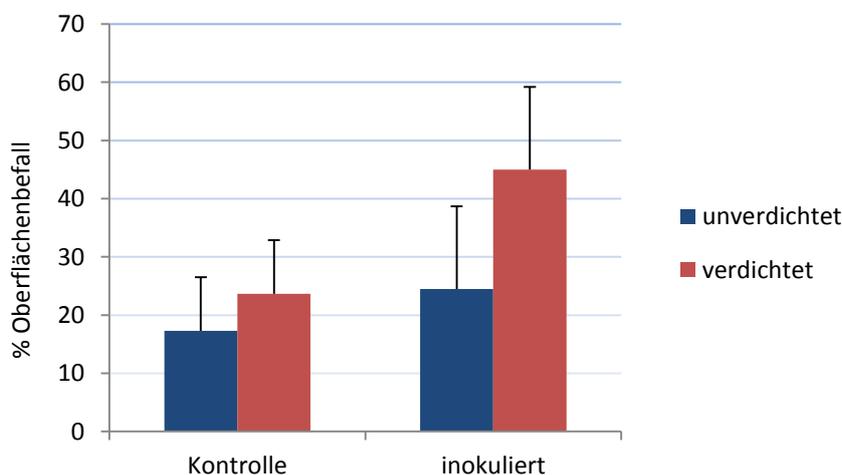
Bezüglich der Untersuchungen zur Bodendichte auf das *R. solani* Inokulumpotential erwies sich das Nachstellen von natürlichen Bedingungen zunächst als schwierig. Auch Phytotron-Versuche von Bussell et al. (2016), die das Wurzelwachstum der Zuckerrübe bezüglich Nährstoffaufnahme untersuchen, bestätigen, dass der Faktor Bodendichte nicht einfach zu simulieren ist. In ihrem Fall wuchsen die Pflanzenwurzeln beispielsweise am äußeren Rand einer mit verdichteter Erde befüllten Säule entlang. In unseren Versuchen gab es zu Beginn z.B. Probleme mit dem Indikatorpflanzenwachstum und der Bewässerung. In einem ersten Versuch wurden Stechzylinderproben auf verdichteten Flächen in Haardorf (Versuchsfläche TP3A) entnommen, was ein relativ ungestörtes bzw. natürliches Verdichtungssystem zu erwarten ließ. Die Bonitur der in die Stechzylinder eingesäten Zuckerrüben, ergab 14% abgestorbene Zuckerrüben in unverdichtetem Boden und 50% abgestorbene Zuckerrüben in Stechzylindern aus verdichteten Parzellen. Dieses Ergebnis entspricht den Beobachtungen aus der Praxis, wonach *Rhizoctonia* besonders massiv in verdichteten Feldbereichen auftritt, was vermutlich wiederum mit einer Beeinträchtigung des Pflanzenwachstums zusammenhängt (Stichwort: Schwächepathogen). Der Ansatz des Quinoa-qPCR Tests war in diesem Versuch durch Bildung einer Mooschicht im oberen Bereich der Stechzylinder und einer Reduktionsschicht im unteren Bereich des Stechzylinders erschwert. Dennoch zeigte sich bei der Auswertung der Ergebnisse ein eindeutiger Unterschied im CFU-Gehalt pro kg Boden zwischen verdichteten und unverdichteten Varianten (Abb. 24).

## 28 Ergebnisse



**Abbildung 24:** Quinoa-qPCR Ergebnis in CFU/kg Boden für Bodenproben aus Stechzylindern von verdichteten und unverdichteten Böden der Versuchsfläche Haardorf II und anschließender Inokulation mit *R. solani* und Inkubation unter kontrollierten Bedingungen für 8 Wochen (Kontrolle: ohne Inokulation) (n=14).

In einem zweiten Versuch im Phytotron wurde die Erde in 1 l Pflanzgefäßen manuell, mit einem speziell hierfür angefertigten „Stopfen“, auf 1,7 hPa verdichtet (Messung mittels Penetrologger). Die Zwischenbonituren von Ackerbohnen und Zuckerrüben zeigten bereits, dass die Pflanzen in verdichteten Pflanzgefäßen deutlich schlechter wuchsen und kleiner und schwächer waren. Die Endbonitur auf *Rhizoctonia*-Wurzelbefall nach achtwöchiger Inkubation ergab einen mittleren Oberflächenbefall von 45% für die Ackerbohnen in verdichteten Pflanzgefäßen und 24,5% in unverdichteten Pflanzgefäßen (Abb. 25). Die Ergebnisse der Bodenuntersuchung mit dem Quinoa-qPCR-Test bestätigten das Ergebnis der Indikatorpflanzenbonitur erneut. Der Inokulumgehalt in verdichteten Boden lag demnach bei 22,5 CFU/kg Boden und in unverdichtetem Boden bei 12,5 CFU/kg Boden.



**Abbildung 25:** Schadbonituren (in % befallene Wurzeloberfläche) an der Indikatorpflanze Ackerbohne im Phytotron unter kontrollierten Bedingungen und den Versuchsvarianten verdichtet (1,7 MPa) und unverdichtet (1,1 MPa) (n=20).

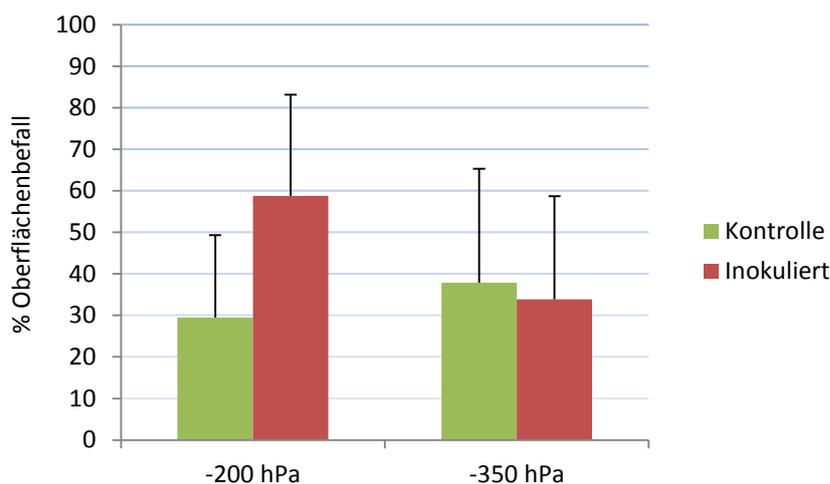
Weitere Versuchsansätze zum Umweltfaktor Bodendichte wurden in den zwei Faktorenkombinationen `Bodenfeuchte x Bodendichte` und `organische Masse x Bodendichte` angestellt. Es zeigte sich auch in diesen Versuchen (Phytotronversuche mit natürlicher Erde und manueller Verdichtung), dass der Wurzeloberflächenbefall an

Indikatorpflanzen in verdichteten Böden im Mittel 20% höher lag und das Bodeninokulum mit 22 CFU/kg Boden doppelt so hoch war wie in der unverdichteten Variante.

Zusätzlich zu den Versuchen im Phytotron wurden einzelne Parzellen der Versuchsfläche von TP3A (Feldversuch zum Einfluss von Bodenparametern auf *R. solani*) direkt mit dem Quinoa-qPCR-Assay untersucht (Standard-Bodenprobennahme für Parzellen mit einheitlicher Größe wie in TP4). Dabei wurde in unverdichteten Parzellen ein mittlerer *R. solani* CFU-Gehalt von 18 CFU/kg Boden, in verdichteten Parzellen ein mittlerer CFU-Gehalt von 27,3 CFU/kg Boden gemessen. Diese ersten Ergebnisse zeigten, dass auf der untersuchten Fläche unterschiedliche *R. solani*-Bodeninokulumengen vorliegen. Eine detaillierte Untersuchung der gesamten Versuchsfläche mit dem Quinoa-qPCR-Assay bestätigte ebenfalls den höheren *Rhizoctonia*-Inokulumgehalt in verdichteten Parzellen. Die mittleren Inokulumpotentialwerte lagen bei 28,2 CFU/kg Boden für verdichtete Parzellen mit einer oberflächlichen Grubber-Behandlung bis 5cm Tiefe im Vergleich zu unverdichteten, gepflügten Parzellen mit 21,8 CFU/kg Boden.

### 3.2.3 Einfluss der Bodenfeuchte

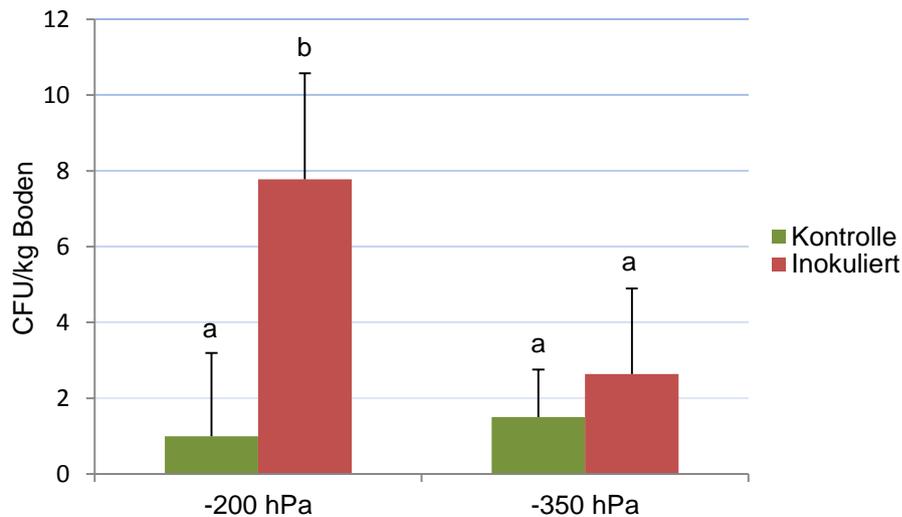
Die Versuche zur Auswirkung der Bodenfeuchte auf das *R. solani*-Inokulumpotential wurden im Gewächshaus mit der automatischen Bewässerungsanlage KLIWADU und drei Bewässerungsstufen -50 bzw. -150 hPa, -200 hPa und -350 hPa durchgeführt. Bereits im Rahmen der ersten Zwischenbonitur nach vier Wochen ergaben erste Zuckerrüben-Bonituren deutliche Unterschiede. Demnach waren bei -200 hPa (mittelfeuchter Boden) 77% der aufgelaufenen Zuckerrüben abgestorben. Zudem traten Wurzelschäden und stark verminderte Blatt- und Wurzelmasse durch *R. solani*-Befall auf. Bei -350 hPa (stark abtrocknender Boden) und -50 hPa (gesättigter Boden, keine luftgefüllten Poren) wurden keine bis sehr wenige *R. solani*-Symptome sichtbar. Der vollständig mit Wasser gesättigte Boden (-50 hPa) wurde im Verlauf der weiteren Versuche durch sehr feuchten Boden mit -150 hPa ersetzt. Bei der Endbonitur zeigte sich deutlich, dass der *Rhizoctonia*-Befall mit zunehmender Bodenfeuchte von -350 hPa auf -200 hPa um beinahe 20 % Oberflächenbefall ansteigt (Abb. 26).



**Abbildung 26:** Schadböden (in % befallene Wurzeloberfläche) an der Indikatorpflanze Ackerbohne im Phytotron unter kontrollierten Bedingungen und den Versuchsvarianten -200 hPa Bodenfeuchte und -350 hPa Bodenfeuchte (n=20).

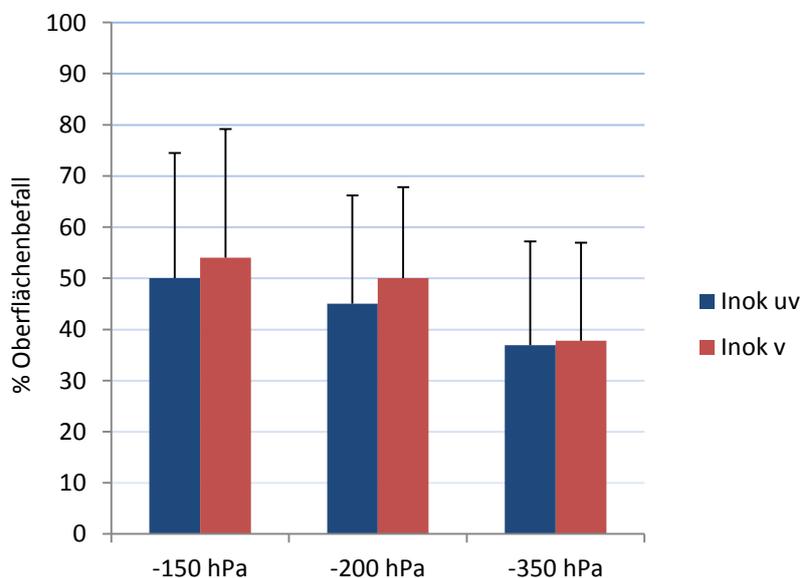
## 30 Ergebnisse

Auch das Quinoa-qPCR-Testergebnis bestätigte die signifikante Zunahme des *Rhizoctonia*-Inokulumpotentials mit zunehmender Bodenfeuchte (Abb. 27).



**Abbildung 27:** Quinoa-qPCR-Testergebnis in CFU/kg Boden. Signifikante Zunahme des CFU-Gehalts mit zunehmender Bodenfeuchte. Versuchsvarianten 200 hPa Bodenfeuchte und 350 hPa Bodenfeuchte (Statistik: Mann-Whitney test, n=20).

Im Rahmen des Kombinationsversuchs „Bodenfeuchte x Verdichtung“ konnte gezeigt werden, dass der *Rhizoctonia*-Befall an Indikatorpflanzen bei der höchsten Bodenfeuchte-Stufe (-150 hPa) in Kombination mit Verdichtung (1,7 MPa) mit einem mittleren Oberflächenbefall von 54% am stärksten war (Abb. 28). Außerdem wurde erneut eine stetige Zunahme im *Rhizoctonia*-Befall mit steigendem Bodenfeuchtegehalt beobachtet.



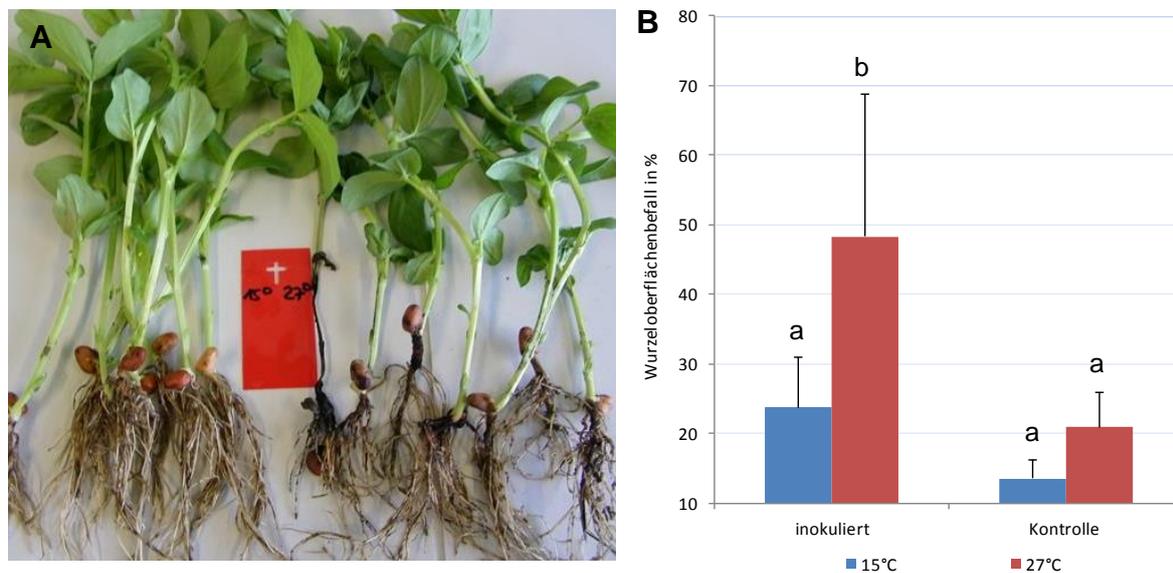
**Abbildung 28:** Schadbonituren (in % befallene Wurzeloberfläche) an der Indikatorpflanze Ackerbohne im Phytotron unter kontrollierten Bedingungen und den Versuchsvarianten -150hPa, -200 hPa und -350 hPa Bodenfeuchte sowie je verdichtet (1,7 MPa, v) und unverdichtet (1,1 MPa, uv) (n=5-10).

Die Beobachtungen aus der Praxis, eines verstärkten *Rhizoctonia*-Befalls bei erhöhter Bodenfeuchte in Kombination mit Bodenverdichtung ließen sich demnach mit den Versuchen unter kontrollierten Bedingungen bestätigen. Jedoch wurde im Rahmen der Versuche mit

einem völlig gesättigten Boden bei -50 hPa, bei dem kein Befall mehr auftrat und der Pilz sich nicht mehr im Boden ausbreitete, ein Limit in der „Feuchtevertäglichkeit“ von *Rhizoctonia* aufgezeigt.

### 3.2.4 Einfluss der Temperatur

Im Rahmen eines Versuchsansatzes zum Einfluss der Temperatur auf das *R. solani*-Bodeninokulum-Potential und den Befall von Indikatorpflanzen konnten deutliche Befallsunterschiede abhängig von der Temperatur nachgewiesen werden. Bei 15 °C wurde kein bis mäßiger *R. solani*-Befall an den Indikatorpflanzen bonitiert (maximal 25 % Wurzeloberflächenbefall), wohingegen bei 27 °C ein mittlerer Wurzeloberflächenbefall von 50% beobachtet werden konnte. Die Indikatorpflanzenbonitur ergab demnach einen signifikant ( $P < 0,001$ ) höheren Befall durch *R. solani* bei 27°C (Abbildung 29).



**Abbildung 29:** Einfluss der Temperatur auf den Befall an Indikatorpflanzen. Bei 27°C war der Befall durch *R. solani* an Ackerbohnen signifikant höher. **A** Ackerbohnen in der rechten Bildhälfte zeigen deutlich schwarz gefärbte Wurzeln durch *R. solani*-Befall. **B** Die Auswertung der Ackerbohnen-Bonitur ergibt einen signifikanten Befallsunterschied der inokulierten Variante zwischen 15°C und 27°C ( $n = 16$ ; statistische Auswertung: Kruskal Wallis Test).

Die Bodenanalyse mittels Quinoa-qPCR-Assay bestätigte die Ergebnisse der Indikatorpflanzenbonitur. In inokulierten Pflanzgefäßen, die bei 27°C inkubiert wurden, lag der mittlere *R. solani*-Gehalt bei 38,8 CFU/kg und damit signifikant höher als bei 15°C mit 26,25 CFU/kg Boden. In der Kontrolle war im Mittel kein *R. solani* Inokulumpotential nachweisbar.

### 3.2.5 Zusammenfassung Gewächshaus- und Phytotronversuche (TP3B)

Im Rahmen der unter kontrollierten Bedingungen durchgeführten Versuche in Gewächshaus und Phytotron konnte gezeigt werden, dass der *Rhizoctonia*-Befall an Indikatorpflanzen mit der Einarbeitung der Ernteresste von Wirtspflanzen, mit zunehmender Temperatur und Bodenfeuchte sowie bei erhöhter Bodenverdichtung steigt. Außerdem konnte in zahlreichen Versuchen im Laufe des Projektes gezeigt werden, dass das Nachstellen von Umweltfaktoren unter kontrollierten Bedingungen möglich ist. Die Versuche unter kontrollierten Bedingungen haben den großen Vorteil, dass sie gegenüber Feldversuchen unabhängig von der jährlich schwankenden Witterung sind. Zudem können weitere Effekte und Einflüsse auf die Versuchsbedingungen wie beispielsweise Wildschäden oder große Populationen an

Antagonisten, die eine erfolgreiche Inokulation mit *R. solani* verhindern können, ausgeschlossen werden. Für die Produktion von praxisrelevanten Forschungsergebnissen bleibt jedoch immer die Kombination mit Feldversuchen die erste Wahl. Die Erkenntnisse dieser Tastversuche bieten zukünftig die Möglichkeit, noch weitere Einflussfaktoren auf das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum zu untersuchen.

### 3.3 Feldversuch zum Einfluss der Fruchtfolge (TP4)

Die Zielsetzung von TP4 (Feldversuch in Haardorf) war die Untersuchung des Einflusses von Energie- und Eiweißpflanzen wie Mais, Sorghumhirse und Sojabohne in der Fruchtfolge mit Zuckerrüben auf das Bodeninokulum von *R. solani* sowie auf das Auftreten der Späten Rübenfäule. Die Anlage der Feldversuche sowie die ackerbaulichen Vorbehandlungen wurden wie geplant 2013 durch die ARGE Regensburg durchgeführt. Auch die Durchführung der Versuche in den Jahren 2014 und 2015 verlief planmäßig.

#### 3.3.1 *R. solani* AG2-2IIIB Befall an den einzelnen Kulturpflanzen

Es zeigte sich in allen drei Versuchsjahren, dass Mais, Sorghumhirse und Sojabohne Wirtspflanzen für *R. solani* AG2-2 sind. Weiterhin zeigte sich, dass *Rhizoctonia* an Sorghumhirse dieselben Symptome wie an Mais hervorruft: dunkelbraune Nekrosen an Wurzeln, die mit drastischen Verlusten von Wurzelmasse einhergehen und langfristig zu einem lagernden Bestand führen können (Abb. 30A). Ein weiteres gemeinsames Merkmal war der typische *Rhizoctonia*-Augenfleck, eine ovale, scharf abgegrenzte, dunkelbraune Nekrose an der Stängelbasis von Mais und Sorghumhirse (Abb. 30B). An der Sojabohne konnte 2013 kein Befall bonitiert werden, da der Bestand durch Wildverbiss stark dezimiert wurde. Eine erfolgreiche Wildabwehr durch die ARGE Regensburg in 2014 ermöglichte eine Bonitur der Sojapflanzen. Die Sojapflanzen zeigten bei der Abschlussbonitur im September zunächst hauptsächlich dunkelbraune Läsionen und Nekrosen am Hypokotyl (Abb. 30C). *R. solani* AG2-2IIIB ließ sich eindeutig über die Koch'schen Postulate sowie mittels PCR als Erreger dieser Symptome nachweisen (Abb. 31). Das Wachstum der Sojapflanzen (und damit auch der Ertrag) wurden durch den späten Befall mit *R. solani* in diesem Jahr nicht beeinträchtigt.



**Abbildung 30:** Mais, Sorghumhirse und Sojabohne sind Wirtspflanzen für *R. solani* AG2-2. **A** Maisbestand im Lager durch Befall mit *R. solani* **B** Wurzelfäule und typischer *Rhizoctonia*-Augenfleck an Sorghumhirse **C** Wurzelmasseverlust und dunkelrote Nekrosen am Hypokotyl von Soja.

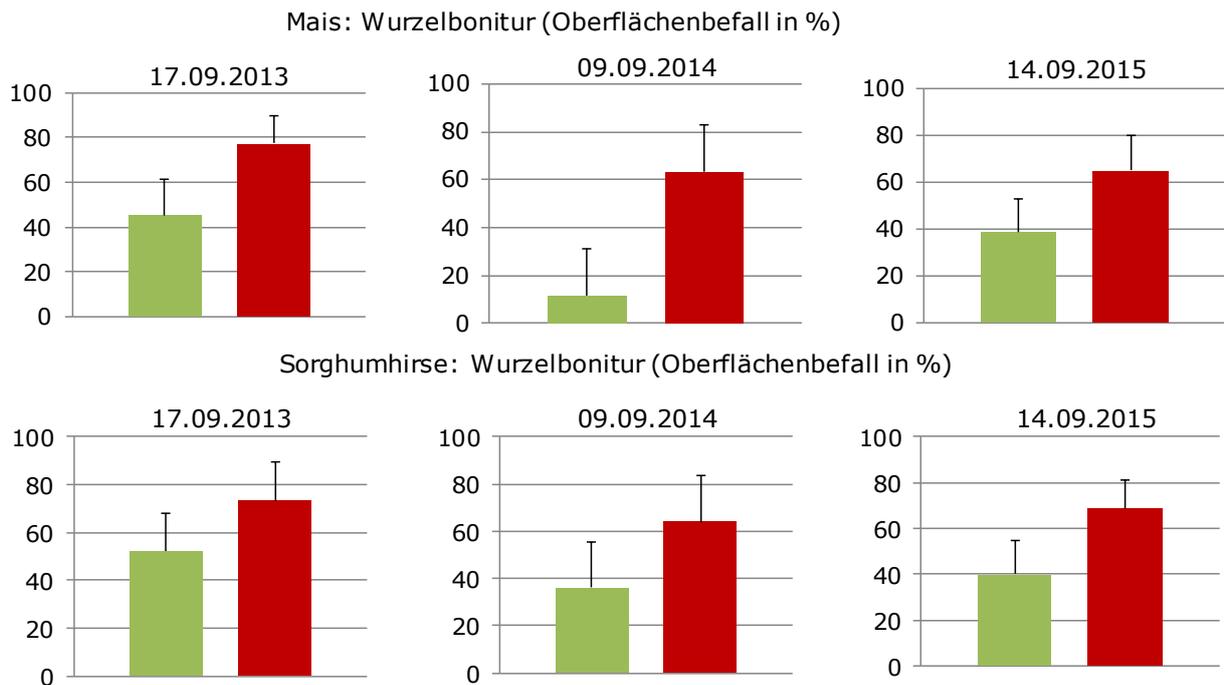
Im Jahr 2015 war bereits zum ersten Boniturtermin der Kulturpflanzen im Juli Befall an Soja sichtbar. In diesem Jahr waren zusätzlich zu den Symptomen am Hypokotyl Wurzelnekrosen, die mit Wurzelmasseverlust einhergingen, beobachtbar. Inokulierte und natürliche Bereiche unterschieden sich eindeutig im Befallsniveau, dennoch hatte der Befall an Soja keine Auswirkungen auf den Ertrag. Dagegen war der Befall an Mais und Sorghumhirse in einigen Jahren, beispielsweise 2014 mit Ertragsunterschieden von 5,1 t/ha bei Mais und 3,8 t/ha bei Sorghumhirse, signifikant ertragswirksam war (siehe Abschlussbericht der ARGE Regensburg).



**Abbildung 31:** Nachweis von *R. solani* AG2-2IIIB als Erreger der Schadsymptome an Soja.

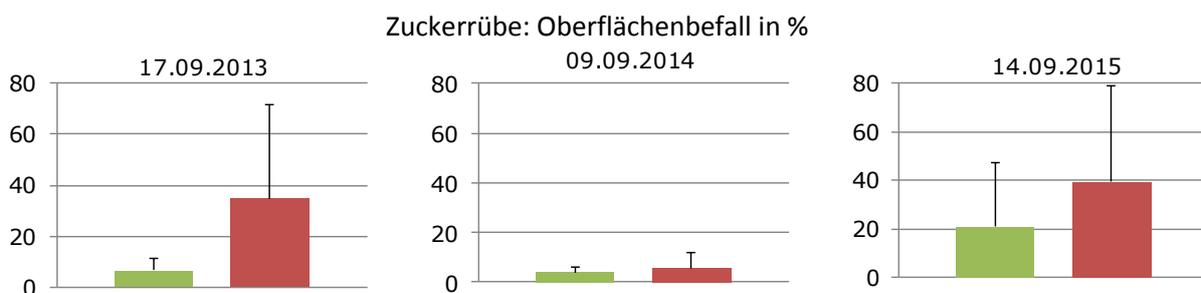
Zusätzlich zu den identischen Symptomen an Mais und Sorghumhirse und den Ertragsverlusten, lag auch das Befallsniveau der beiden Kulturpflanzen in allen drei Jahren im gleichen Bereich (Abb. 32). Für die jahresübergreifende Ergebnisauswertung wurden die Ergebnisse der Endbonitur im September verwendet, da statistische Analysen zeigten, dass sich die Boniturdaten hier am stärksten differenzierten und somit die untersuchten ackerbaulichen Maßnahmen am besten unterscheiden konnten. Der mittlere Oberflächenbefall aller Mais- und Sorghumhirse-Pflanzen lag im inokulierten Bereich 2013 bei 75%-80% und im Jahr 2014 im Bereich von 60%, also im Vergleich zum Vorjahr etwas geringer. In 2015 lag der mittlere *Rhizoctonia*-Oberflächenbefall von Mais und Hirse bei der Abschlussbonitur im Bereich von 62%-70%. Die Unterschiede zwischen inokulierten und natürlichen Parzellen waren immer noch deutlich. Beispielsweise lag der mittlere Mais-Oberflächenbefall im August bei 20% in natürlichen Parzellen, bei 60% in inokulierten Parzellen. Der *Rhizoctonia*-Befall an Mais und Sorghumhirse zeigte sich in allen drei Jahren relativ konstant, es war ein klarer Unterschied zwischen inokulierten und natürlichen Parzellen erkennbar und der Befall war offensichtlich weniger beeinflusst von Jahreseffekten wie der Befall an Zuckerrüben (Abb. 33).

## 34 Ergebnisse



**Abbildung 32:** Mais und Sorghumhirse zeigen in allen drei Versuchsjahren (2013, 2014, 2015) ein gleich hohes Befallsniveau. Inokulierte (rote Balken) und nicht inokulierte (grüne Balken) Feldbereiche unterschieden sich deutlich. Mittlerer Oberflächenbefall in % zur Endbonitur im September (n=40).

Bei der Darstellung der Zuckerrüben-Boniturdaten wurden, wie auch bei den Ergebnissen von Mais und Sorghumhirse, die Ergebnisse der letzten Zeiternte verwendet (September), da hier ebenfalls die stärksten Befallsunterschiede auftraten und diese Rüben zudem auch für die Bestimmung der Erträge und des bereinigten Zuckerertrags (BZE) verwendet wurden. Die Ertrags- und BZE-Daten der Zuckerrüben sind ausführlich im Abschlussbericht der ARGE Regensburg aufgeführt.



**Abbildung 33:** Mittlerer Oberflächenbefall an der Zuckerrübe in % zur Endbonitur im September in allen drei Versuchsjahren (in 2013 und 2015: n=200, in 2014: n=160).

In Abbildung 33 wird sichtbar, dass die Schadausprägung an der Zuckerrübe deutlichen Jahreseffekten unterliegt. Generell stieg der mittlere Oberflächenbefall in allen Jahren nicht über 40%. In den Jahren 2013 und 2015, mit für *Rhizoctonia*-Befall geeigneter Witterung, lag der mittlere Oberflächenbefall bei 35%-39%. Im Jahr 2014 trat mit einem mittleren Oberflächenbefall unter 10% quasi kein Befall an Zuckerrüben auf und inokulierte Parzellen unterschieden sich nicht von natürlichen Parzellen. Sehr vereinzelt traten in Parzellen mit Vorfrucht Sorghumhirse befallene Rüben auf. In 2014 war es im Mai und Juni sehr trocken, sodass es vermutlich zu keiner Ausbreitung bzw. Initiierung des Bodeninokulums kam (Abb. 34A). Im Juli und August gab es dann zwar reichlich Niederschläge, aber die Temperaturen

waren für diese Jahreszeit sehr kühl (siehe Winterjacke im August in Abb. 34B), sodass auch hier keine geeigneten Bedingungen für *Rhizoctonia*-Befall vorhanden waren.



**Abbildung 34:** Witterung 2014: **A** Trockenheit im Mai und Juni. **B** feuchte und kühle Witterung im Juli und August

In 2015 hingegen kam es bereits im Mai und Juni durch feucht-warme Witterung zu Totalausfällen bei den Indikatorpflanzen Ackerbohnen mit 100% Oberflächenbefall (Abb. 35 A+B). Der starke *Rhizoctonia*-Befall, der sich im Juni nesterweise über der Versuchsfläche auszubreiten begann, wurde durch die Dürre und Hitze im Juli und August abgestoppt. Bereits befallene Zuckerrüben verfaulten nach dem frühen Befall vollständig über den Sommer auf dem Feld und wurden bei der Rübenenernte nicht vom Roder erfasst, weshalb sie bei der Rübenwertminderungs-Bonitur in der Fabrik (Südzucker Plattling) ebenfalls nicht registriert wurden.

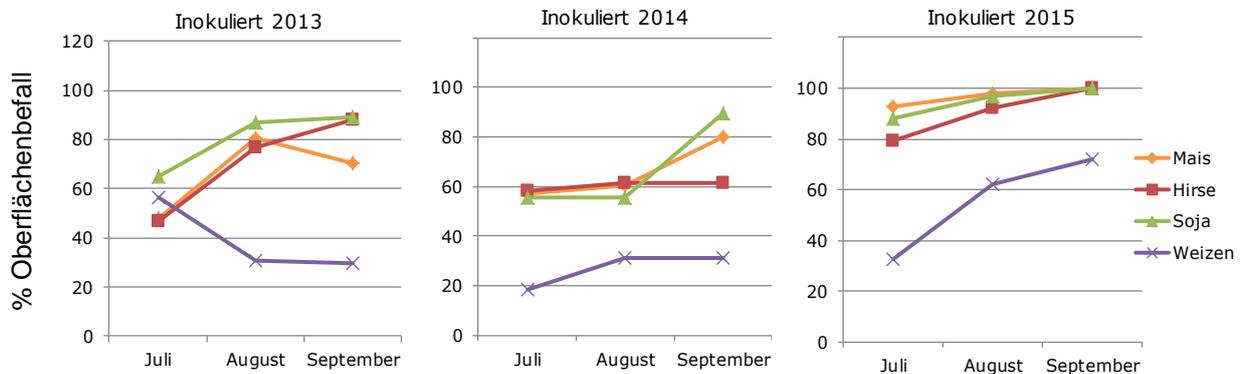


**Abbildung 35:** Witterung 2015: **A+B** Feuchte und warme Witterung im Mai und Juni führen bereits am Anfang der Vegetationsperiode zu Totalausfällen bei den Indikatorpflanzen mit 100% Wurzeloberflächenbefall.

### 3.3.2 Direkte Wirkung auf den Befall an Indikatorpflanzen

Die Indikatorpflanzen, die zwischen die Mais-, Sorghumhirse-, Soja- und Winterweizen-Parzellen gesät wurden, ließen sich jeweils nach circa vier Wochen gut bonitieren und bildeten die *Rhizoctonia*-Inokulumdichte im Boden über alle drei Versuchsjahre hinweg gut ab. Sie waren insbesondere dort hilfreich, wo sich der Wurzelschaden der angebauten Frucht nicht ausreichend zwischen den verschiedenen Versuchsvarianten differenzierte, wie das teilweise bei Soja der Fall war. Im Jahr 2013 reagierten die Indikatorpflanzen sehr stark auf die im März vorangegangene Inokulation und wiesen im Juli in allen Parzellen Werte im

Bereich von 50% Oberflächenbefall auf. In Mais, Hirse und Soja zeigten in den Folgemonaten August und September die Werte durchschnittlich 80% Wurzeloberflächenbefall an. Nur bei den Sommerweizenparzellen sank der Befall auf 30% Wurzeloberflächenbefall ab. In 2014 lagen die durchschnittlichen Befallswerte über die drei Boniturtermine im Bereich 60% - 90% Oberflächenbefall in den inokulierten Mais-, Hirse- und Soja-Parzellen. Im Winterweizen blieben die Boniturwerte der Ackerbohnen konstant bei unter 25% durchschnittlichem Befall (Abb. 36).



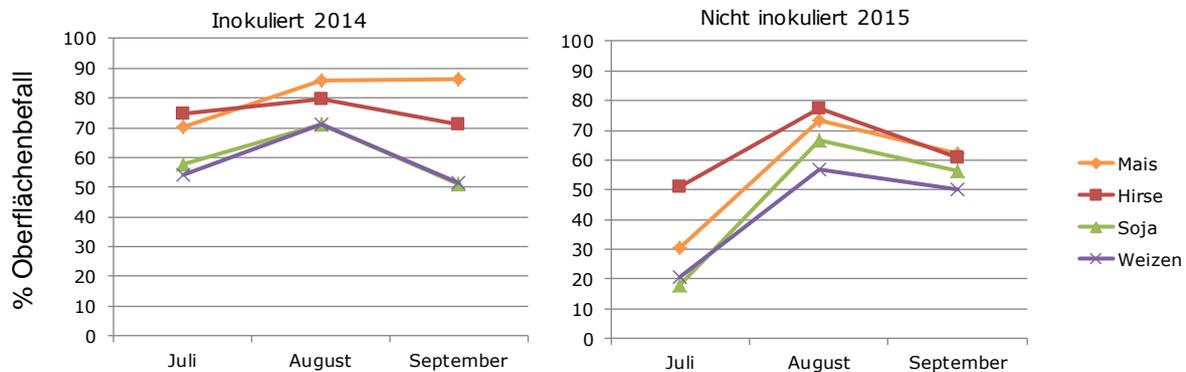
**Abbildung 36:** Indikatorpflanzen (Ackerbohnen): befallene Wurzeloberfläche in % bei den Bonituren im Juli, August und September. In Weizen-Parzellen in allen drei Jahren 30 – 60% weniger Oberflächenbefall als in Mais-, Hirse- und Soja-Parzellen mit mittleren Befallswerten bis 90% Oberflächenbefall.

Im starken Befallsjahr 2015 stiegen die Wurzelboniturwerte bereits im Juli in den inokulierten Mais-, Hirse- und Soja-Parzellen auf einen mittleren Oberflächenbefall von 80%-95%, mit zahlreichen durch *R. solani*-Befall abgestorbenen Indikatorpflanzen. Im August und September waren alle Ackerbohnen abgestorben (Wurzeloberflächenbefall 100%). Nur in den Weizenparzellen blieb der Befall, wie schon in den Vorjahren, um 20%-40% geringer als in Mais-, Hirse- und Sojapartzen. Im Juli lagen die mittleren Befallswerte in Weizenparzellen bei 32% Oberflächenbefall. Es ist davon auszugehen, dass das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum durch Anwesenheit einer Wirtspflanze (Mais, Hirse, Soja) in seinem Wachstum induziert wird, wohingegen es in Weizenparzellen offensichtlich weniger aktiviert oder wie in 2013 beobachtet wurde, sogar in der Kultur reduziert, wird.

### 3.3.3 Vorfruchtwirkung auf den Befall an Indikatorpflanzen

Auch die Indikatorpflanzen, die zwischen die Zuckerrüben-Parzellen gesät wurden, ließen sich jeweils nach vier Wochen gut bonitieren und bildeten die *Rhizoctonia*-Inokulumdichte im Boden über alle drei Versuchsjahre hinweg gut ab. Vorfruchtwirkungen waren in den Jahren 2014 und 2015 beobachtbar (im ersten Versuchsjahr 2013 gab es noch keine Vorfruchtwirkung, da die Fläche erst im März dieses Jahres inokuliert und bestellt wurde). Auffällig war in beiden Jahren, dass die Unterschiede zwischen den Kulturpflanzen in der Vorfruchtwirkung nicht so deutlich waren wie bei der in 3.3.2 beschriebenen direkten Wirkung in der jeweiligen Kulturpflanze. In 2014 war, aufgrund der bereits angesprochenen Witterungsbedingungen, an den Zuckerrüben nahezu kein Befall zu bonitieren, die Indikatorpflanzen (mit deutlich feinerem Wurzelsystem!) zeigten dennoch mittlere Befallswerte von 80% für die Vorfrüchte Mais und Hirse und für Weizen und Soja Werte im Bereich von 60% Oberflächenbefall (Abb. 37). In Zuckerrüben-Parzellen mit Weizen als Vorfrucht war der *Rhizoctonia*-Befall ca. 20 % geringer als in den Parzellen, in denen im Vorjahr (2013) Mais und Hirse angebaut wurde und in denen der höchste Befall durch *Rhizoctonia* zu verzeichnen war. In 2015 zeigten die Ackerbohnen bereits im Juli in inokulierten Parzellen mit Mais, Hirse

und Soja als Vorfrucht einen mittleren Oberflächenbefall von über 80%. Im August war der Großteil der Ackerbohnen abgestorben. In den Weizen-Parzellen hingegen lag der Indikatorpflanzenbefall im Juli bei 30%, im August bei unter 50%. Selbst in nicht-inokulierten Feldbereichen stiegen in Jahr 2015 die Befallswerte in Parzellen mit Mais und Hirse im Vorjahr auf 75%-80%, mit Soja auf durchschnittlich 60% und mit Weizen auf 50% an (Abb. 37).



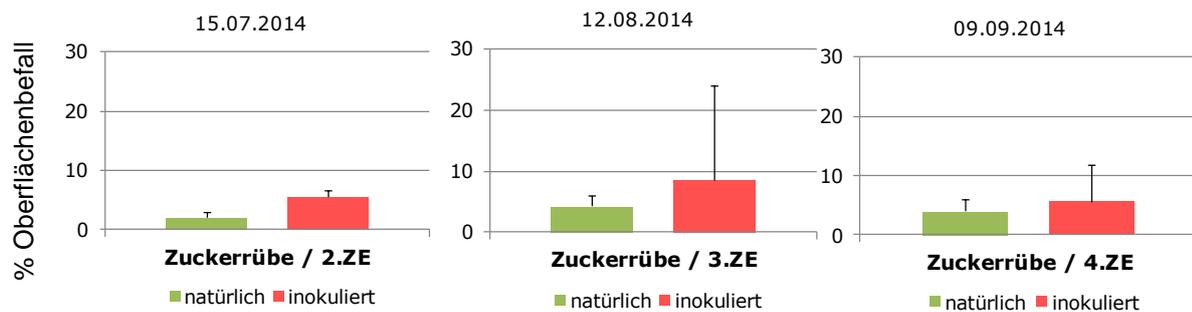
**Abbildung 37:** Indikatorpflanzen (Ackerbohnen): befallene Wurzeloberfläche in % bei den Bonituren im Juli, August und September. Links inokulierter Bereich im Jahr 2014, rechts nicht inokulierter Bereich im Jahr 2015. Höchste *Rhizoctonia*-Befallswerte in Parzellen mit Mais und Hirse im Vorjahr.

Bei Soja scheint es demnach einen Unterschied zwischen der Vorfruchtwirkung und der direkten Wirkung auf *R. solani* im Boden zu geben. Bei der direkten Wirkung auf das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum verhält sich Soja als Wirtspflanze wie Mais und Hirse, eindeutig *Rhizoctonia* fördernd. Als Vorfrucht jedoch scheint Soja keine so stark fördernde Wirkung wie Mais und Hirse zu haben, sondern gliedert sich eher im Bereich Weizen ein. Dies könnte beispielsweise mit der eiweißreicheren Zusammensetzung der Abbauprodukte von Soja und den dabei involvierten Mikroorganismen sowie den Knöllchenbakterien an den Sojawurzeln zusammenhängen. Um diese Beobachtungen der Vorfruchtwirkung von Soja auf das *Rhizoctonia*-Inokulumpotential jedoch tatsächlich stichhaltig begründen zu können, sind weitere Untersuchungen nötig, da in unserem Feldversuch in den Jahren 2013 und 2015 die Sojapartellen, wie bereits erwähnt (Wildverbiss), nur eingeschränkt auswertbar waren und dadurch keine sicheren Ergebnisse aus mehreren Jahren vorliegen.

### 3.3.4 Vorfruchtwirkung auf den Befall an Zuckerrüben

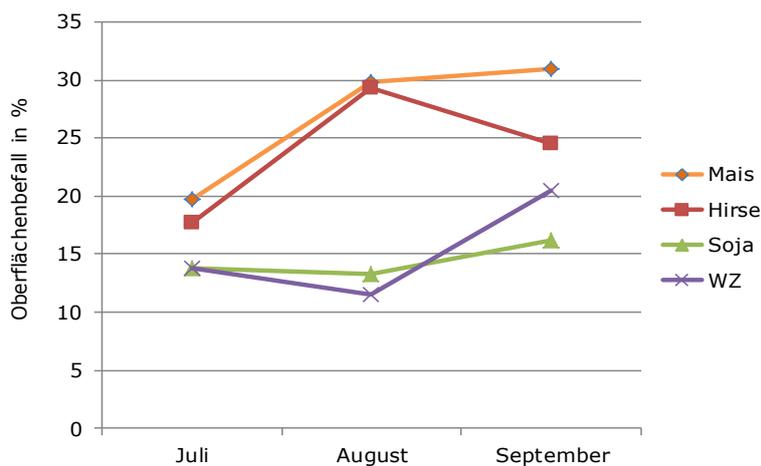
Wie bereits bei der Vorfruchtwirkung auf den Befall an Indikatorpflanzen erwähnt, liegen zur Vorfruchtwirkung auf den Befall an Zuckerrübe ebenfalls versuchsbedingt Ergebnisse aus zwei Jahren (2014 und 2015) vor. Da im Jahr 2014 kein Befall an Zuckerrüben auftrat, wurden in erster Linie die Schadbonituren aus 2015 ausgewertet. Der Befall der Zuckerrübe lag 2014 durchschnittlich unter 10 % (Abb. 38) und es gab keine Ertragsunterschiede zwischen natürlichen und inokulierten Parzellen. Vereinzelt traten Symptome durch *Rhizoctonia* in den inokulierten Rübenparzellen auf. Auffällig war, dass es sich dabei um die Parzellen handelte, in denen 2013 Hirse stand.

## 38 Ergebnisse



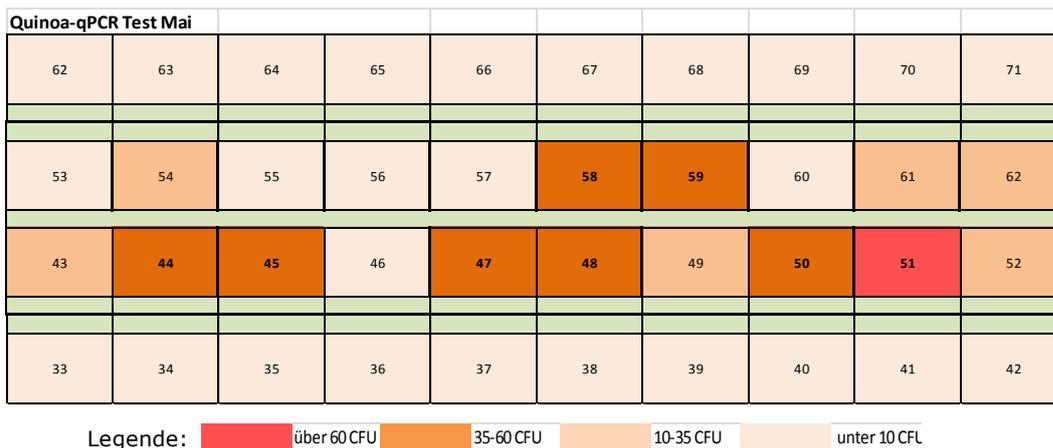
**Abbildung 38:** Schadbonituren an der Zuckerrübe im Juli, August und September 2014 in natürlichen und inokulierten Parzellen mit unter 10% Oberflächenbefall durch *R. solani*.

In 2015 wurden auf unserer Versuchsfläche (Haardorf I) hohe *Rhizoctonia*-Befallswerte an Zuckerrüben verzeichnet. Im nicht-inokulierten Bereich zeigten die Parzellen mit Mais und Hirse als Vorfrucht mit 30% mittlerem Oberflächenbefall den stärksten Befall an Zuckerrüben. In Parzellen mit Weizen und Soja als Vorfrucht zeigte sich an den Zuckerrüben weniger Oberflächenbefall mit durchschnittlich 15% (Abb. 39). Der Eindruck der Ackerbohnen-Bonitur (siehe Abb. 37), bei der die Vorfrüchte Mais und Hirse als *Rhizoctonia* fördernd auftraten und Soja sich bei einem deutlich niedrigeren Befallsniveau im Bereich der Nichtwirtspflanze Weizen ansiedelte, bestätigte sich und zeigte sich bei der Zuckerrüben-Bonitur verstärkt.



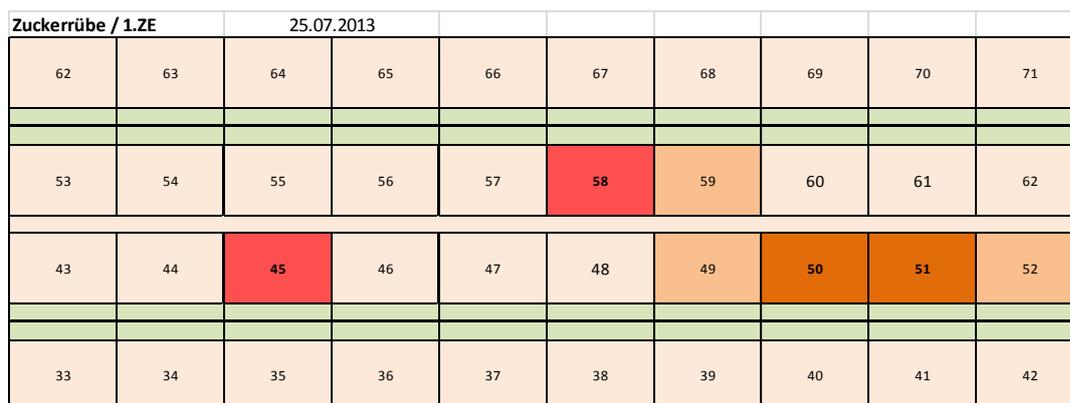
**Abbildung 39:** Schadbonituren an der Zuckerrübe im Juli, August und September 2015 in nicht-inokulierten Parzellen in Oberflächenbefall in %. Höhere Befallswerte in Parzellen mit Mais und Hirse als Vorfrucht.

Im inokulierten Teil des Feldes waren der Befall und die Nesterbildung so stark, dass keine Unterschiede zwischen den Vorfrüchten mehr beobachtet werden konnten. Außerdem wurde bei detaillierter Betrachtung der Inokulumwerte mit dem Quinoa-qPCR-Test und des Befalls an der Zuckerrübe 2013 festgestellt, dass die untere Feldhälfte (Feldhälfte B) einen heterogenen Ausgangsbefall aufwies (Abb. 40). Es muss davon ausgegangen werden, dass Versuchsflächen niemals vollständig homogen sind, dennoch sollte der Ausgangsbefall bzw. die Inokulumverteilung im Boden nicht außer Acht gelassen werden.



**Abbildung 40:** Inokulumpotentialmessung mit dem Quinoa-qPCR-Test im Mai 2013. Heterogener *R. solani*-Ausgangsbesatz im inokulierten Bereich auf Feldhälfte B (unten) der Versuchsfläche 2013.

Die bei den Inokulumpotential-Messungen im Mai 2013, drei Monate nach der künstlichen Inokulation der Versuchsfläche, auffälligen Parzellen (z.B. Parzelle 45, 50, 58, 59), fielen erneut bereits im Juli bei der ersten Bonitur der Zuckerrüben auf. Im Juli 2013 gab es, wie für die Späte Rübenfäule typisch, noch keinen *Rhizoctonia*-Befall an Zuckerrüben, außer in den Parzellen 45, 50, 51 und 58 (Abb. 41). Bei den Parzellen 45 und 50 handelt es sich um Parzellen, auf denen im Folgejahr Weizen angebaut werden sollte.

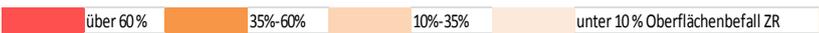


**Abbildung 41:** Erste, frühe Zuckerrübenbonitur im Juli 2013. Die Flächen waren, bis auf die bereits im Mai 2013 auffälligen Parzellen 45, 50, 51 und 58, noch weitestgehend *Rhizoctonia* befallsfrei.

Die Zuckerrüben-Endbonitur im September 2013, bestätigte erneut den oben beschriebenen Eindruck der Versuchsfläche und zeigte zusätzlich, dass sich die *Rhizoctonia*-Befallsnester um die jeweiligen Problemparzellen 45, 50 und 58 ausgebreitet hatten (Abb. 42). Außerdem war auffällig, dass es sich dabei um die Parzellen handelte, die bereits im Mai bei der Untersuchung mit dem Quinoa-qPCR-Test im Bereich von über 35 CFU/kg Boden lagen (vgl. Abb. 40 und Abb. 42). Es konnte demnach mit dem Quinoa-qPCR-Test eine ungefähre „Vorhersage“ des Befalls der Zuckerrüben im September gemacht werden.

## 40 Ergebnisse

Zuckerrübe / 3.ZE			17.09.2013						
62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
53	54	55	56	57	58	59	60	61	62
43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
33	34	35	36	37	38	39	40	41	42

Legende:  über 60% 35%-60% 10%-35% unter 10% Oberflächenbefall ZR

**Abbildung 42:** Zuckerrübenendbonitur im September 2013. Um die bereits im Mai 2013 auffälligen Parzellen 45, 50 und 58 breitete sich *R. solani* aus. Der Quinoa-qPCR-Test im Mai 2013 ermöglichte eine **ungefähre** Vorhersage des zukünftigen Befalls.

Im Jahr 2015 wurde erneut Zuckerrübe auf dieser Feldhälfte angebaut und es zeigte sich in diesem starken Befallsjahr bereits im Juli auf den „Problem“-Parzellen 45 mit 57% und 50 mit 38% ein deutlich erhöhter Befall. Das Inokulumpotential wurde demnach auf diesen zwei Parzellen, trotz Weizenanbau im Jahr 2014, nicht reduziert. Dahingegen waren die *Rhizoctonia*-Nester im Bereich von Parzelle 58 und 59 aus dem Jahr 2013, zwei Jahre später (2015), nicht mehr vorhanden. Hier lagen die Werte der Juli-Bonitur bei 11% und 15% Oberflächenbefall.

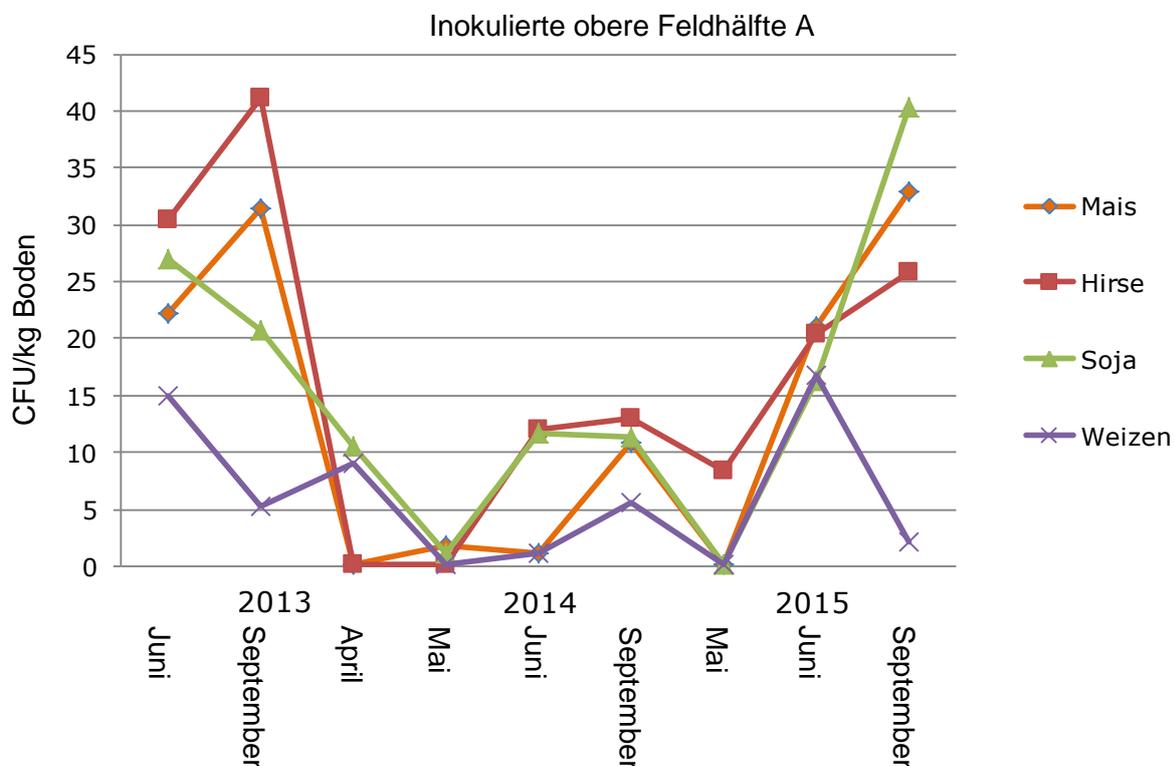
### 3.3.5 Änderungen des *R. solani*-Bodeninokulumpotentials erfasst mit der Quinoa-qPCR-Methode

In allen drei Versuchsjahren wurde das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum erfolgreich über die ganze Vegetationsperiode mit der Quinoa-qPCR-Methode nachverfolgt. Vor Mai war prinzipiell keine Inokulumtätigkeit nachweisbar bzw. bei der Beprobung im April war in allen Jahren noch kein *Rhizoctonia*-Inokulum in relevanten Mengen aktiv. In 2013 bestätigte der Quinoa-qPCR-Test den Erfolg der Inokulation, aber zeigte auch, wie bereits in 3.3.4 vorgestellt, dass die Bodenkonzentrationen von *R. solani* AG2-2 von Parzelle zu Parzelle stark schwanken können. Die Ergebnisse des Quinoa-qPCR-Tests 2013 (Mai/Juni-Messung sowie September-Messung) korrelierten gut mit den Indikatorpflanzen-Boniturwerten. Wie erwartet konnte über die Vegetationsperiode hinweg ein genereller Anstieg der *Rhizoctonia*-Bodenkonzentration in den naturbelassenen Parzellen festgestellt werden. In den inokulierten Parzellen hingegen zeigten sich deutliche kulturabhängige Unterschiede. Während sich das Bodeninokulum bei den Mais- und bei den Hirse-Parzellen zwischen Juni und September leicht erhöhte, verringerte es sich bei den Sojabohnen- und Weizen-Parzellen (Abb. 43).

Auch 2014 stimmten die Ergebnisse der beiden Quantifizierungsmethoden (Indikatorpflanzenmethode und Quinoa-qPCR-Test) sowohl im Fall der Vorfruchtwirkung als auch für die direkte Wirkung der Kulturpflanzen in der Zuckerrübenfruchtfolge überein. Die höchsten *R. solani*-Inokulumwerte traten in Parzellen auf, in denen Mais und Sorghumhirse angebaut wurde. Generell war in diesem Jahr das Inokulumpotential, das nicht über 15 CFU/kg Boden anstieg, witterungsbedingt in einem sehr niedrigen Bereich (Abb. 43).

In 2015 stieg das Inokulumpotential bereits im feucht-warmen Frühsommer (Mai/Juni) deutlich an und erreichte im September Werte zwischen 25 CFU/kg und 40 CFU/kg, was den Werten von 2013 direkt nach der Inokulation gleichkommt. Nur in den Weizenparzellen (der oberen

Feldhälfte, direkte Wirkung 2015) sank das Inokulumpotential unter 5 CFU/kg Boden ab (Abb. 43). Es war demnach, abgesehen von den Nichtwirtspartellen mit Weizen, keine bzw. nur eine minimale Absenkung des Inokulums, nach der einmaligen Inokulation Anfang 2013, über die drei Versuchsjahre beobachtbar. Der extrem steile Anstieg des Kurvenverlaufs 2015 für Soja (grüne Linie) ist nur bedingt interpretierbar, da in diesem Jahr die Sojapartellen mit einem Vlies als letzte Notfallmaßnahme gegen den bereits fortschreitenden Wildverbiss, abgedeckt wurden, was das Mikroklima innerhalb der Partellen stark verändert. Es ist nicht geklärt, wie stark das veränderte, feucht-warme Klima unter der Vliesabdeckung das *Rhizoctonia*-Inokulumpotential ansteigen ließ und wie groß tatsächlich der Einfluss des Sojaanbaus war. Ein eindeutiges Ergebnis des dreijährigen Monitorings ist, dass das *R. solani*-Bodeninokulum in den Weizen-Partellen auf der oberen Feldhälfte unter 17 CFU/kg Boden blieb. In Mais- und Sorghumhirse-Partellen hingegen kam es zu einer Anreicherung des *R. solani* AG2-2 Bodeninokulums mit Werten über 35 CFU/kg Boden (Abb. 43). In Abbildung 43 sind die Ergebnisse der oberen Feldhälfte (Feldhälfte A) mit allen Beprobungsterminen pro Jahr (2013: Juni, September; 2014: April, Mai (sehr trocken!), Juli, September; 2015: Mai, Juli, September) gezeigt.



**Abbildung 43:** Monitoring des *R. solani*-Bodeninokulums über drei Jahre (Quinoa-qPCR Methode), Ergebnisse der oberen Feldhälfte (Feldhälfte A) mit den verschiedenen Kulturpflanzen in 2013 und 2015 und der Zuckerrübe in 2014. Das Bodeninokulum in Weizen-Partellen bleibt unter 17 CFU/kg Boden. In Mais-, Hirse- und Soja-Partellen reichert sich das *R. solani* Inokulum bis auf 40 CFU/kg Boden an.

Im natürlichen Bereich der Feldhälfte A, ohne künstliche Inokulation mit *Rhizoctonia*-Gersteninokulum, blieben die Inokulumkonzentrationen in allen drei Jahren unter 10 CFU/kg Boden. In Mais- und Hirse-Partellen stieg das Inokulum vereinzelt, im September 2013, 2014 und 2015 über 5 CFU/kg Boden an, die Weizenpartellen lagen stets an der Detektionsgrenze der Methode mit 1 CFU/kg Boden.

## 42 Ergebnisse

In der Feldhälfte B (mit 2013 und 2015 Zuckerrübe, 2014 die vier verschiedenen Kulturpflanzen) waren im natürlichen Bereich ebenfalls nur vereinzelte Spitzen im dreijährigen Inokulumpotential-Verlauf erkennbar. Auffällig waren die erhöhten Bodeninokulumwerte in 2015 in Zuckerrüben-Parzellen, in denen im Vorjahr Mais und Hirse angebaut wurden. Im inokulierten Bereich fielen die Anfangswerte nach der künstlichen Inokulation in 2013 von 20-40 CFU/kg Boden auf unter 20 CFU/kg Boden in 2014. Sie stiegen dann jedoch 2015 auf Höchstwerte bis 65 CFU/kg an. Aufgrund der seit Beginn des Versuchs vorhandenen und bereits ausführlich beschriebenen Nester in Weizenparzellen lagen die Inokulumwerte in den Zuckerrüben-Parzellen mit Weizen als Vorfrucht besonders hoch (z.B. 60 CFU/kg im Juli 2015).

Ein abschließender Vergleich der beiden Boniturergebnisse (Zuckerrüben- und Indikatorpflanzenbonitur) mit den Ergebnissen des Quinoa-qPCR Tests zeigte 2015 die Übereinstimmung aller drei Methoden in einem Großteil der Parzellen, sowohl in inokulierten (rot und hellrot), als auch in nicht-inokulierten Feldbereichen (grün und orange) (Abb. 44). Hierbei wurden alle Werte auf vier Schadklassen reduziert: Dunkelrot bzw. im nicht inokulierten Bereich Orange markiert sind Parzellen, die über 75% Oberflächenbefall an Ackerbohnen und über 25% Oberflächenbefall an Zuckerrüben aufweisen und alle qPCR-Werte unter Ct 27 (bzw. über 29 CFU/kg Boden).

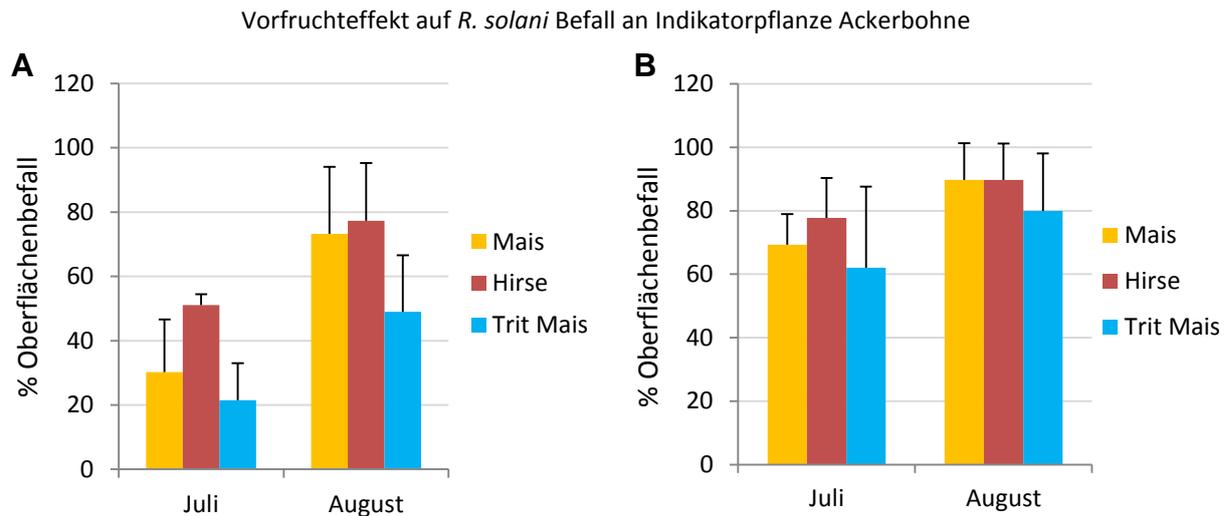
2014	Bonitur ZR	Bonitur AB	qPCR	2014	Bonitur ZR	Bonitur AB	qPCR	2014	Bonitur ZR	Bonitur AB	qPCR	2014	Bonitur ZR	Bonitur AB	qPCR
Mais	45	91	17	Mais	61	92	21	Hirse	44	99	18	Hirse	13	80	34
Hirse	33	54	36	Hirse	54	95	27	WZ	35	87	22	WZ	12	61	38
WZ	13	72	37	WZ	37	95	22	TritMais	41	84	20	TritMais	10	80	26
Soja	13	63	26	Soja	28	98	30	Soja	58	94	27	Soja	10	66	37
TritMais	12	38	39	TritMais	16	59	28	Mais	41	100	25	Mais	47	75	18
Hirse	29	91	20	Hirse	33	79	29	Soja	12	61	21	Soja	18	83	30
Mais	12	54	28	Mais	31	84	22	Hirse	25	86	16	Hirse	42	84	23
WZ	10	46	36	WZ	52	100	18	WZ	47	83	22	WZ	11	49	38
TritMais	11	50	38	TritMais	26	96	19	Mais	46	81	30	Mais	22	75	39
Soja	12	54	37	Soja	24	75	19	TritMais	44	89	18	TritMais	13	28	35

**Abbildung 44:** Vergleich der Quinoa-qPCR-Werte mit der Zuckerrüben-Bonitur und der Ackerbohnen-Bonitur in 2015.

Im nicht-inokulierten Bereich (außen) treten die Mais- und Hirse-Parzellen durch erhöhten Befall hervor. Im inokulierten Bereich zeigt sich der schon beschriebene, ganzflächig sehr hohe Befall im Jahr 2015.

### 3.3.6 Ergänzung: Mais nach Triticale (Biogas-Fruchtfolge)

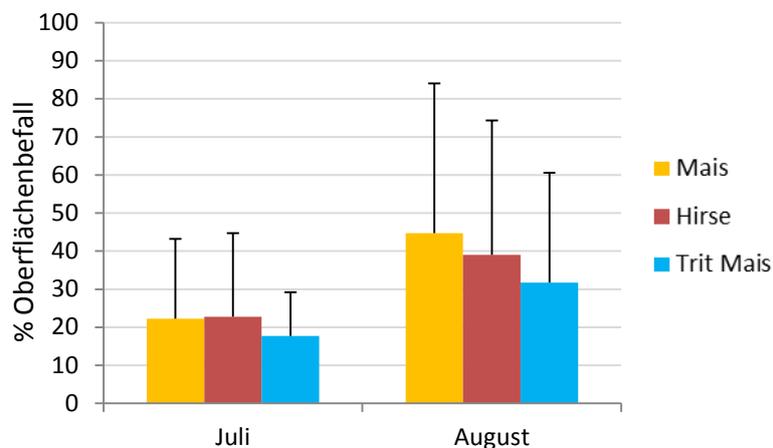
Auf Feldhälfte B (unterer Teil) wurde 2014 zusätzlich zu den in allen drei Jahren angebauten Kulturpflanzen, die Variante Mais nach Triticale, als Beispiel einer typischen Biogas-Fruchtfolge mit Zuckerrübe, angebaut. Die Auswertungen zur Vorfruchtwirkung zeigten, dass der *R. solani*-Befall sowohl an Indikatorpflanzen als auch an Zuckerrüben 2015 im Vergleich zu Mais ohne Triticale und Sorghumhirse etwas vermindert wurde, wenn auch nicht statistisch absicherbar. Dies gilt sowohl für die natürlichen Feldbereiche mit mittleren Befallswerten im August von 70%-75% in Mais- und Hirse-Parzellen und 50% in Mais- nach Triticale-Parzellen (Abb. 45A), als auch für die inokulierten Bereiche mit Differenzen von durchschnittlich 10%-15% Oberflächenbefall im Juli und August 2015 (Abb. 45B).



**Abbildung 45:** Schadbonituren 2015 an der Indikatorpflanze Ackerbohne in % Oberflächenbefall mit den Vorfrüchten Mais (gelbe Balken), Sorghumhirse (rote Balken) und Mais nach Triticale (blaue Balken) **A** im natürlichen Bereich und **B** im inokulierten Bereich der Feldhälfte B (unten).

Auch in der Folgekultur Zuckerrübe zeigte sich im August 2015 im inokulierten Bereich ein deutlicher Befallsunterschied mit bis zu 45% mittlerem Oberflächenbefall in Mais-Parzellen ohne Triticale und 30% in Parzellen mit Mais nach Triticale (Abb. 46).

Vorfruchteffekt auf *R. solani* Befall an Zuckerrübe



**Abbildung 46:** Schadbonituren 2015 an Zuckerrübe in % Oberflächenbefall mit den Vorfrüchten Mais (gelbe Balken), Sorghumhirse (rote Balken) und Mais nach Triticale (blaue Balken) im inokulierten Bereich der Feldhälfte B (unten).

Diese einjährigen Ergebnisse zeigen, dass der Anbau von Triticale (Nichtwirtspflanze wie Weizen) in der Fruchtfolge mit Mais und Zuckerrübe zu einem weniger starken Befall der Folgekultur mit *Rhizoctonia* führen könnte. Für eine dahingehend sichere Aussage müsste der Feldversuch jedoch zunächst mehrjährig wiederholt werden.

### 3.4 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Ergebnisse des Forschungsprojekts „Integrierte Kontrollstrategien gegen die Späte Rübenfäule (*Rhizoctonia solani* AG2-2) der Zuckerrübe“ sind in vielfältiger Weise für den Praktiker sowie aus wissenschaftlicher Sicht nützlich und verwertbar. Neben wertvollen Erkenntnissen zur Populationsdynamik bzw. zu den Veränderungen des Bodeninokulumpotentials von *R. solani* durch zahlreiche Einflussfaktoren (Fruchtfolge, Umweltbedingungen etc.) sowie den Erkenntnissen zur Anfälligkeit und Befallsentstehung an Zuckerrüben und anderen wichtigen Wirtspflanzen von *R. solani* AG2-2 (z.B. Mais, Sorghumhirse, Sojabohne), wurde das Methodenrepertoire für Feld- und Gewächshausversuche in beachtlichem Umfang ausgebaut. So wurden die Indikatorpflanzenmethode und der Quinoa-qPCR-Test sowohl in zahlreichen Versuchen unter kontrollierten Bedingungen in Gewächshaus und Phytotron als auch routinemäßig zum Monitoring des *R. solani*-Inokulumpotentials auf dem Feld eingesetzt (Abb. 47). Mit dem Quinoa-qPCR-Test steht nun erstmals eine zuverlässige und äußerst sensitive, molekulare Quantifizierungsmethode zur Verfügung, die es erlaubt, das Inokulumpotential von *R. solani* auch auf Praxisschlägen der Rübenanbauer zu erfassen und das unter Einbeziehung von Witterungsparametern eine Risikoabschätzung ermöglichen könnte. Dies soll innerhalb eines neuen *Rhizoctonia*-Folgeprojektes untersucht und die Eignung des Tests zur kommerziellen Nutzung (durch den Bodengesundheitsdienst) geprüft werden. Weiterhin soll das erarbeitete Wissen und Methodenspektrum genutzt werden, um beispielsweise in weiteren Feldversuchen den Einfluss von im Rahmen des Greenings der neuen EU-Agrarreform verstärkt angebauten Zwischenfrüchte auf die Späte Rübenfäule zu untersuchen.



**Abbildung 47:** Luftaufnahme der Feldhälfte A bzw. oberer Teil der Versuchsfläche mit den verschiedenen Kulturpflanzen 2015. Vollständig randomisierte Blockanlage in vier Wiederholungen.

## 4 Zusammenfassung und Fazit

Im Rahmen des Forschungsprojektes „Integrierte Kontrollstrategien gegen die Späte Rübenfäule (*Rhizoctonia solani* AG2-2) der Zuckerrübe“ wurden von 2013 bis 2016 zahlreiche Faktoren, die den Befall mit dieser Rübenkrankheit auf dem Feld beeinflussen, untersucht und bewertet. Das Forschungsprojekt war in insgesamt fünf Teilprojekte untergliedert, die von der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) in Freising, dem Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) in Göttingen und der ARGE Regensburg in unterschiedlichen Anteilen bearbeitet wurden. Die von der LfL IPS3c betreuten Teilprojekte TP 2 (Quantifizierung des *Rhizoctonia*-Bodeninokulums), TP 3B (Untersuchung des Zusammenhanges zwischen Bodendichte, Bodenfeuchte, infizierten Ernteresten und dem *Rhizoctonia*-Bodeninokulum unter kontrollierten Bedingungen) und TP 4 (Untersuchung des Einflusses neuer bzw. anderer landwirtschaftlich wichtiger Kulturen (wie Soja) auf das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum innerhalb von Zuckerrüben-Fruchtfolgen) wurden in allen drei Versuchsjahren wie geplant durchgeführt und termingerecht beendet. Innerhalb TP 2 konnte die geplante Modellüberprüfung mit dem Quinoa-qPCR-Test aufgrund des fehlenden Vorhandenseins eines Risikomodells aus TP1 nicht durchgeführt werden. Neben praxisrelevanten Erkenntnissen zu Fruchtfolge und Bodenbearbeitung wurde das Verständnis der Populationsdynamik des Erregers weiter vertieft und zudem mit einer spezifischen molekularbiologischen Methode (Quinoa-qPCR-Test) ein Monitoring von *Rhizoctonia*-Bodenkonzentrationen in Praxisschlägen durchgeführt. Da sich der Quinoa-qPCR-Test hierbei als äußerst geeignet erwies, ist es das Ziel, diese Methode zukünftig für routinemäßige Untersuchungen von Böden auf *R. solani* AG2-2 zu etablieren. Auch ist das Verfahren sehr gut geeignet, um die Auswirkungen von acker- und pflanzenbaulichen Maßnahmen auf die *Rhizoctonia*-Konzentration im Boden unabhängig von Witterungseinflüssen schnell zu ermitteln. An der Übertragung der Methode auf andere Kulturen (z.B. Kartoffeln, Mais) sollte intensiv gearbeitet werden.

Die Hauptergebnisse der bearbeiteten Teilprojekte können wie folgt zusammengefasst werden:

### Teilprojekt 2:

- Mit dem Quinoa-qPCR-Test und dem Indikatorpflanzentest wurde im gesamten Projektzeitraum die Wirkung von acker- und pflanzenbaulichen Maßnahmen auf das *Rhizoctonia*-Bodeninokulum sowohl auf dem Feld als auch unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus/Phytotron untersucht
- Die Quinoa-qPCR-Methode wurde für den großflächigen Einsatz bei der Untersuchung von Praxisflächen optimiert (höheres Probenvolumen, höherer Probendurchsatz etc.)
- Signifikante Korrelationen bei der Analyse der Risikoflächen-Beprobung bestätigen den erfolgreichen Einsatz der Methode auf Praxisschlägen

### Teilprojekt 3B:

- Methodik und Versuchsanstellung (Inokulationsmethode, optimale Inkubationsdauer, Pflanzsubstrat) wurden optimiert
- Das *R. solani* AG2-2-Inokulumpotential steigt mit der Einarbeitung der Erntereste von Wirtspflanzen (Bestätigung der Ergebnisse der Feldversuche), mit zunehmender Temperatur, mit zunehmender Bodenfeuchte und bei erhöhter Bodenverdichtung
- Das Nachstellen von Umweltbedingungen unter kontrollierten Bedingungen ist möglich

Teilprojekt 4:

- Mais, Sorghumhirse und Sojabohne sind Wirtspflanzen für *R. solani* AG2-2
- Der Befall war an Mais und Sorghumhirse ertragswirksam, an Sojabohne nicht
- Das *R. solani*-Bodeninokulum blieb in den Weizen-Parzellen auf der oberen Feldhälfte in allen drei Versuchsjahren unter 17 CFU/kg Boden

**Fazit**

- Das Forschungsprojekt „Integrierte Kontrollstrategien gegen die Späte Rübenfäule der Zuckerrübe“ lieferte in den Jahren 2013 bis 2016 wertvolle Ergebnisse und Erkenntnisse, die als Beratungsgrundlagen für Zuckerrübenanbauer verwendet werden können. Insbesondere die Ergebnisse der TP 3 und 4 stellen Informationen zu acker- und pflanzenbaulichen Maßnahmen bereit, die dem Landwirt helfen, seine Produktionsabläufe zu optimieren, sodass das Auftreten der Späten Rübenfäule möglichst minimiert werden kann (Tab. 2):

**Tabelle 2:** Gegenüberstellung von befallsfördernden und befallsmindernden Einflussfaktoren auf die Späte Rübenfäule

<u>Befallsfördernde Einflussfaktoren</u>	<u>Befallsmindernde Einflussfaktoren</u>
Häufiger Anbau von Zuckerrüben, Körnermais und Sorghumhirse auf einer Fläche	Häufiger Anbau von Weizen in der Fruchtfolge mit Zuckerrüben
Unverrottetes organisches Material	Sorgfältige Zerkleinerung und Einarbeitung organischer Substanz
Hohe Bodenfeuchte	Trockene Witterung
Hohe Bodentemperatur (> 20°C)	Niedrige Bodentemperaturen (< 20°C)
Bodenverdichtung und Staunässe	Optimale Bodengare

- Der im Vorgängerprojekt entwickelte Quinoa-qPCR-Tests hat sich im gesamten Projektzeitraum als verlässliche, schnelle und sehr sensitive Methode zur Quantifizierung des *R. solani* AG2-2-Bodeninokulum in Feld- und Gewächshausversuchen bewährt (TP2). Zudem konnte die Methode dahingehend optimiert werden (größeres Probenvolumen, mechanisiertes Köderauslegen etc.), dass ein Einsatz zur Untersuchung von großflächigen Praxisschlägen ermöglicht wurde. Bei einem bayernweiten Risikoflächen-Monitoring auf Zuckerrübenschlägen zeigte sich, dass der Quinoa-qPCR-Test Hochrisiko- von Niedrigrisiko-Flächen unterscheiden kann. Außerdem waren die Ergebnisse reproduzierbar und haben zudem mit Befallsbonituren, die in Zusammenhang mit Witterungsanalysen ausgewertet wurden, übereingestimmt.

## 5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

In Tabelle 3A+B sind die ursprünglich geplanten den tatsächlich erreichten Zielen gegenübergestellt, wobei auch auf offene und weiterführende Fragestellungen hingewiesen wird.

**Tabelle 3A:** Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen und offenen sowie weiterführenden Fragestellungen (TP 1 und 3).

TP	Ursprüngliche Ziele	Erreichte Ziele	Offene und weiterführende Fragestellungen
2	<p>Einsatz der Methode zur Analyse der Veränderungen des <i>Rhizoctonia</i>-Inokulumpotentials in diversen Versuchen.</p> <p>Optimierung der Quinoa-qPCR-Methode zur Quantifizierung von <i>R. solani</i> sowie Validierung dieser Methode für den Einsatz zur großflächigen Erfassung von <i>Rhizoctonia</i>-Konzentrationen auf Praxisschlägen.</p> <p>Außerdem sollte der Quinoa-qPCR-Test zur Untersuchung und Überwachung <i>R. solani</i>-gefährdeter Risikogebiete verwendet werden.</p>	<p>Über den gesamten Versuchszeitraum wurden die Veränderungen des <i>Rhizoctonia</i>-Inokulumpotentials erfolgreich mit dem Quinoa-qPCR-Test dokumentiert und anschließend interpretiert (Feldversuche (TP4 und TP3A), Phytotron/Gewächshausversuchen (TP3B)).</p> <p>Zudem wurde ein großflächiges Monitoring zu <i>Rhizoctonia</i>-Konzentrationen in Zuckerrüben-Schlägen in Bayern durchgeführt.</p> <p>Da mittels des Modells in TP1 keine Risikoflächen identifiziert werden konnten, fand folglich auch keine Überwachung der Gebiete mit dem Quinoa-qPCR-Test statt.</p>	<p>Etablierung der Quinoa-qPCR-Methode für den routinemäßigen Einsatz zur Untersuchung von Bodenproben aus Praxisschlägen (Probenahme im Herbst nach Ernte der Vorfrucht → Anbauempfehlungen für Landwirte) (u. A. im Interesse des Bodengesundheitsdienstes).</p> <p>Einsatz der Methode für weitere wissenschaftliche Fragestellungen zu <i>R. solani</i> AG2-2IIIB.</p> <p>3. Weiterentwicklung der Methode für andere Kulturpflanzen (Mais, Kartoffel etc.).</p>
3B	<p>Tastversuche unter kontrollierten Bedingungen zur Untersuchung des Einflusses von Umweltfaktoren wie Bodenfeuchte, Bodendichte und organischer Bodensubstanz auf das <i>Rhizoctonia</i>-Bodeninokulumpotential.</p>	<p>Es konnte gezeigt werden, dass durch die Einarbeitung von Ernterückständen von Mais, Zuckerrüben und Sorghumhirse in den Boden deutlich höhere Schäden durch <i>R. solani</i> auftraten, als wenn Weizenstroh eingearbeitet wurde. Die Versuche zum Einfluss der Witterung und Bodenstruktur ergaben, dass der <i>Rhizoctonia</i>-Gehalt im Boden und der Befall an Indikatorpflanzen mit zunehmender Temperatur und Bodenfeuchte sowie bei erhöhter Bodenverdichtung stark ansteigen.</p>	<p>Erkenntnisse der Tastversuche zur Versuchsdurchführung (optimale Inokulationsweise, Verwendung natürlicher Felderde etc.) bieten zukünftig die Möglichkeit, noch weitere Einflussfaktoren auf das <i>Rhizoctonia</i>-Bodeninokulum zu untersuchen.</p>

## 48 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

**Tabelle 3B:** Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen und offenen sowie weiterführenden Fragestellungen (TP 4).

TP	Ursprüngliche Ziele	Erreichte Ziele	Offene und weiterführende Fragestellungen
4	<p>Untersuchung des Einflusses von Energie- und Eiweißpflanzen wie Mais, Sorghumhirse und Sojabohne in der Fruchtfolge mit Zuckerrüben auf das Bodeninokulum von <i>R. solani</i> sowie das Auftreten der Späten Rübenfäule.</p>	<p>Die Ergebnisse des Feldversuchs zeigten in allen drei Versuchsjahren, dass neben Mais auch Sorghumhirse und Sojabohne Wirtspflanzen für den Erreger der Späten Rübenfäule sind. Sowohl an Mais als auch an Sorghumhirse führte <i>Rhizoctonia</i> zu signifikanten Ertragsverlusten. Bei Sojabohne hatte der <i>Rhizoctonia</i>-Befall jedoch im Versuchszeitraum keine nennenswerten Auswirkungen auf den Ertrag. Außerdem wurde festgestellt, dass der Befall an Zuckerrüben und der <i>Rhizoctonia</i>-Gehalt im Boden in den Varianten mit Vorfrucht Mais oder Sorghumhirse deutlich höher als in Versuchsgliedern mit Sojabohne oder Weizen lagen.</p>	<p>Wie wirken sich andere Feldfrüchte, z.B. die im Rahmen des EU-Greening-Programms geförderten Zwischenfrüchte (wie Phacelia, Rauhafer, Ölrettich, Ramtilkraut etc.), auf das <i>Rhizoctonia</i>-Inokulumpotential im Boden aus? Welche Zwischenfrüchte sind für den Anbau in Zuckerrüben-Fruchtfolgen empfehlenswert? (Einsatz des eingeführten und verlässlichen Methoden-Repertoires für weitere Feldversuche).</p>

## 6 Literaturverzeichnis und eigene Veröffentlichungen, Vorträge und Manuskripte, die innerhalb des Projektes angefertigt wurden

### 6.1 Eigene Veröffentlichungen, Vorträge und Manuskripte

#### Vorträge:

Renner A., Zellner M. (2014): Molekularbiologischer Assay zur schnellen Quantifizierung von *Rhizoctonia solani* AG2-2. 59. Deutsche Pflanzenschutztagung, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, 24.09.2014.

Renner A. (2014): *Rhizoctonia solani* an Zuckerrübe: aktuelle Untersuchungen zu Fruchtfolge und Umwelteinflüssen. Winterarbeitsbesprechung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL, Institut für Pflanzenschutz) mit den Ämtern für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (ÄELF), Freising, 02.12.2014.

Renner A. (2015): Aktuelle Untersuchungen zu *Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB an Zuckerrübe. Arbeitsbesprechung des Kuratoriums für Versuchswesen und Beratung im Zuckerrübenanbau mit den Arbeitsgemeinschaften für Versuchswesen und Beratung im Zuckerrübenanbau (ARGE Regensburg, ARGE Franken, ARGE Süd-West, ARGE Zeitz), Ochsenfurt, 18.02.2015.

Renner A. (2015): Molecular assay for rapid quantification of *Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB in soil. 1st HEZagrar PhD symposium, Freising, 21.04.2015.

Renner A., Apfelbeck R., Zellner M. (2015): Einfluss der Fruchtfolge auf das Bodeninokulum von *Rhizoctonia solani* AG2-2. 56. Österreichische Pflanzenschutz Tagung, Rust, 24.11.2015.

Renner A., Zellner M. (2015): Quantitativer Nachweis von *Rhizoctonia solani* AG2-2 im Boden. 56. Österreichische Pflanzenschutz Tagung, Rust, 24.11.2015.

Renner A., Zellner M. (2015): Untersuchungen zum Einfluss der Fruchtfolge auf das Bodeninokulum von *Rhizoctonia solani* AG2-2. Winterarbeitsbesprechung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL, Institut für Pflanzenschutz) mit den Ämtern für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (ÄELF), Freising, 02.12.2015.

Zellner M., Renner A. (2016): Aktuelle Forschungsergebnisse zur *Rhizoctonia*-Rübenfäule. 42. Vortragstagung des Kuratoriums für Versuchswesen und Beratung im Zuckerrübenanbau, Straubing, 13.01.2016.

Renner A., Zellner M. (2016): Aktuelle Forschungsergebnisse zu *Rhizoctonia solani* an Zuckerrübe. LfL-Kolloquienreihe 2015/16 in Freising (02.02.2016, [http://www.lfl.bayern.de/aktuelles/43052/linkurl\\_0\\_3.pdf](http://www.lfl.bayern.de/aktuelles/43052/linkurl_0_3.pdf)).

**Veröffentlichungen:**

- Boine B., Renner A., Zellner M., Nechwatal J. (2014): Quantitative methods for assessment of the impact of different crops on the inoculum density of *Rhizoctonia solani* in soil. *European Journal of Plant Pathology* **140** (4), 745-756.
- Renner A., Boine B., Wagner G., Simeth G., Zellner M. (2014): Effect of different sugar beet pre-crops and agricultural practices on soil inoculum densities of *Rhizoctonia solani*. Conference Proceeding of the 74. IIRB Congress, Dresden.
- Renner A., Boine B., Apfelbeck R., Zellner M. (2014): Molecular assay for rapid quantification of *Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB. Conference Proceeding of the 74. IIRB Congress, Dresden.
- Renner A., Boine B., Nechwatal J., Zellner M. (2014): Molekularbiologischer Assay zur schnellen Quantifizierung von *Rhizoctonia solani* AG2-2. Tagungsband der 59. Deutschen Pflanzenschutztagung, *Julius-Kühn-Archiv* 474, 252.
- Renner, A., Zellner, M. (2014): Forschungsvorhaben *Rhizoctonia*: Fruchtfolgestrategien und Umwelteinflüsse im Fokus. *Die Zuckerrüben Zeitung* **6**, 24-25.
- Renner, A. (2015): Molecular assay for rapid quantification of *Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB in soil. Proceedings of the 1st HEZagr PhDSymposium, 31-32.
- Renner A., Apfelbeck R., Zellner M. (2015): Einfluss der Fruchtfolge auf das Bodeninokulum von *Rhizoctonia solani* AG2-2. Tagungsband der 56. Österreichische Pflanzenschutz Tagung, 20-21.
- Renner A., Zellner M. (2015): Quantitativer Nachweis von *Rhizoctonia solani* AG2-2 im Boden. Tagungsband der 56. Österreichische Pflanzenschutz Tagung, 20-21.
- Zellner M., Renner A. (2016): Aktuelle Forschungsergebnisse zur *Rhizoctonia*-Rübenfäule. Tagungsband der 42. Vortragstagung des Kuratoriums für Versuchswesen und Beratung im Zuckerrübenanbau.
- Renner A., Apfelbeck R., Maier J., Zellner M. (2016): Monitoring *Rhizoctonia solani* AG2-2 inoculum levels in sugar beet field soils. Conference Proceeding of the 75. IIRB Congress, Brussels.
- Renner A., Zellner M. (2016): *Rhizoctonia* Rübenfäule – was sind die Ursachen? *Die Zuckerrübe* **2**, 42-45.

**Posterpräsentationen:**

- Renner A., Boine B., Wagner G., Simeth G., Zellner, M. (2014): Effect of different sugar beet pre-crops and agricultural practices on soil inoculum densities of *Rhizoctonia solani*. 74. IIRB Congress, Dresden.
- Renner A., Boine B., Apfelbeck R., Zellner M. (2014): Molecular assay for rapid quantification of *Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB. 74. IIRB Congress, Dresden.
- Renner A., Apfelbeck R., Maier J., Zellner M. (2016): Monitoring *Rhizoctonia solani* AG2-2 inoculum levels in sugar beet field soils. 75. IIRB Congress, Brüssel, Belgien.

## 6.2 Literaturverzeichnis

- Agrios G.N. (2005): Plant Pathology. Academic Press, San Diego.
- Boine B., Renner A., Zellner M., Nechwatal J. (2014): Quantitative methods for assessment of the impact of different crops on the inoculum density of *Rhizoctonia solani* in soil. *European Journal of Plant Pathology* **140**, 745-756.
- Buddemeyer J., Pfähler B., Petersen J., Märländer B. (2004): Genetic variation in susceptibility of maize to *Rhizoctonia solani* (AG2-2IIIB) – symptoms and damage under field conditions in Germany. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten & Pflanzenschutz* **111**, 521-533.
- Budge G. E., Shaw M. W., Colyer A., Pietravalle S., Boonham N. (2009): Molecular tools to investigate *Rhizoctonia solani* distribution in soil. *Plant Pathology* **58**, 1071–80.
- Bürcky K., Zellner M. (2000): Späte Rübenfäule – Was sind die Ursachen? *Die Zuckerrübenzeitung* **4**, 9.
- Buhre C., Kluth C., Bürcky K., Märländer B., Varrelmann, M. (2009): Integrated control of root and crown rot in sugar beet: Combined effects of cultivar, crop rotation, and soil tillage. *Plant Dis.* **93**, 155-161.
- Bussel J., Sparkes D., Mooney S, Broadley M. (2016): Identifying rooting traits for optimal nutrient uptake. Conference Proceeding of the 75. IIRB Congress in Brussels.70.
- Davey C.B., Papavizas G.C. (1962): Comparison of methods for isolating *Rhizoctonia* from soil. *Canadian Journal of Microbiology* **8**, 847-853.
- Dorrance A.E., Kleinhenz M.D., McClure S.A., Tuttle N.T. (2003): Temperature, Moisture, and Seed Treatment Effects on *Rhizoctonia solani* Root Rot of Soybean. *Plant Disease* **87**, 533-538.
- Fowler M. (1980): Root rot – maizegrowers must live with it. *New Zealand Journal of Agriculture* **141**, 45-47.
- Führer Ithurrart M.E., Büttner G., Petersen J. (2004): *Rhizoctonia* root rot in sugar beet (*Beta vulgaris* ssp. *altissima*) – Epidemiological aspects in relation to maize (*Zea mays*) as a host plant. *Journal of Plant Diseases and Protection* **111**, 302-312.
- Garbeva P., van Veen J.A., van Elsas J.D. (2004): Microbial diversity in soil: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* **42**, 243-270.
- Garbeva P., Postma J., van Veen J.A., van Elsas J.D. (2006): Effect of above-ground plant species on soil microbial community structure and its impact on suppression of *Rhizoctonia solani* AG3. *Environmental Microbiology* **8**, 233-246.
- Glenn O.F., Sivasithamparam K. (1990): The effect of soil compaction on the saprophytic growth of *Rhizoctonia solani*. *Plant & Soil* **121**, 282-286.
- Heyland K.-U. (Hrsg.) (1996): Spezieller Pflanzenbau. Landwirtschaftliches Lehrbuch. 7. Aufl. Bartsch, C, Frauen, m., Kaul, h.-p., Kraume, s., Kessel, C. V., Kübler, E., Lütke Entrup, E., Müller, A., Putz, B. U. Vömel, A. (Mitarb.). Stuttgart, 348.

- Kühn J., Rippel R., Schmidhalter U. (2009): Abiotic soil properties and the occurrence of *Rhizoctonia* crown and root rot in sugar beet. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **172**, 661–668.
- Lees A. K., Cullen D. W., Sullivan L. & Nicolson M. J. (2002): Development of conventional and quantitative real-time PCR assays for the detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-3 in potato and soil. *Plant Pathology* **51**, 293–302.
- Neate S.M., Schneider J.H.M. (1996): Sampling and quantification of *Rhizoctonia solani* in soil. In: Sneh B., Jabaji-Hare S., Neate S., Dijst G. eds. *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 185-195.
- Nishimura N., Shiomi T., Ikegaya F. (1991): Susceptibility of corn to *Rhizoctonia* root rot and differences between isolates in pathogenicity. *Proceedings Assoc. Pl. Prot. Kyushu* **37**, 6-8.
- Ophel-Keller K., McKay A., Hartley D., Curran H. & Curran, J. (2008): Development of a routine DNA-based testing service for soilborne diseases in Australia. *Australasian Plant Pathology* **37**, 243-253.
- Otten W., Filipe J.A.N., Gilligan C.A. (2006): Damping-off epidemics, contact structure, and disease transmission in mixed-species populations. *Ecology* **86**, 1948-1957.
- Papavizas G.C., Davey C.B. (1962): Isolation and pathogenicity of *Rhizoctonia* saprophytically existing in soil. *Phytopathology* **52**, 834-840.
- Paulitz T.C., Schroeder K.L. (2005): A new method for the quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* from soil. *Plant Disease* **89**, 767-772.
- Paulitz T.C. (2006): Low input no-till cereal production in the Pacific Northwest of the U.S.: the challenges of root diseases. *European Journal of Plant Pathology* **115**, 271-281.
- Pumphrey F.V., D.E. Wilkins, D.C. Hane, R.W. Smiley (1987): Influence of tillage and nitrogen fertilizer on *Rhizoctonia* root rot (bare patch) of winter wheat. *Plant Disease* **71**, 125-127.
- Roller A., Bloch D., Sticksel E., Fritz M. (2012): Sorghumhirse als Nachwachsender Rohstoff - Sortenscreening und Anbauszenarien. Berichte aus dem TFZ Nr. 28, Straubing, Eigenverlag des Technologie- und Förderzentrums (TFZ) im Kompetenzzentrum für Nachwachsende Rohstoffe, ISSN 1614-1008.
- Rovira A.D. (1986): Influence of crop rotation and tillage on *Rhizoctonia* bare patch of wheat. *Phytopathology* **76**, 669-673.
- Rush C.M. und Winter S.R. (1990): Influence of previous crops on *Rhizoctonia* root crown rot of sugar beet. *Plant Disease* **74**, 421-425.
- Salazar O., Julian M.C., Rubio V. (2000): Primers based on specific rDNA-ITS sequences for PCR detection of *Rhizoctonia solani*, *R. solani* AG 2 subgroups and ecological types, and binucleate *Rhizoctonia*. *Mycological Research* **104**, 281-285.
- Sneh B., Jabaji-Hare S., Neate S., Dijst G. eds. (1996): *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

- Sturz A.V., M.R. Carter (1995): Conservation tillage systems, fungal complexes and disease development in soybean and barley rhizospheres in Prince Edward Island. *Soil & Tillage Research* **34**, 225-238.
- Sturz A.V., M.R. Carter, H.W. Johnston (1997): A review of plant disease, pathogen interaction and microbial antagonism under conservation tillage in temperate humid agriculture. *Soil & Tillage Research* **41**, 169-189.
- Sumner D.R., Douplik B., Boosalis M.G. (1981): Effects of reduced tillage and multiple cropping on plant diseases. *Annual Review Phytopathology* **19**, 167-187.
- Sumner D.R., Bell D.K. (1982): Root diseases induced by *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia zea*. *Phytopathology* **72**, 86-91.
- Tamm L., Thürig B., Bruns C., Fuchs J.G., Köpke U., Laustela M., Leifert C., Mahlberg N., Nietlispach B., Schmidt C., Weber F., Fließbach A. (2010): Soil type, management history, and soil amendments influence the development of soil-borne (*Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*) and air-borne (*Phytophthora infestans*, *Hyaloperonospora parasitica*) diseases. *European Journal of Plant Pathology* **127**, 465-481.
- Thornton C. R., Gilligan C. A. (1999): Quantification of the effect of the hyperparasite *Trichoderma harzianum* on the saprotrophic growth dynamics of *Rhizoctonia solani* in compost using a monoclonal antibody-based ELISA. *Mycol Res* **103**, 443-448.
- Tu J.C., C.S. Tan (1991): Effect of soil compaction on growth, yield and root rots of white beans in clay loam and sandy loam soil. *Soil Biology & Biochemistry* **23**, 233-238.
- Van Bruggen A.H.C., Arneson P.A. (1986): Quantitative recovery of *Rhizoctonia solani* from soil. *Plant Disease* **79**, 320-323.
- Windels C. E., Brantner J. R. (2006): *Rhizoctonia* inoculum and rotation on crop effects on a following Sugarbeet crop. *Sugarbeet Research and Extension Reports* **37**, 182.
- Wolf P. F. J., Verreet J.-A. (1999): Untersuchungen zur Epidemiologie und Schadrelevanz der *Rhizoctonia*-Rübenfäule (*Rhizoctonia solani* Kühn). *Gesunde Pflanze* **51**, 133-138.
- Zens I. (2000): Auftreten und Bekämpfung der späten Rübenfäule, verursacht durch *Rhizoctonia solani*. Dissertation an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn / Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät.
- Zens I., Steiner U., Dehne H.-W. (2002): Auftreten, Charakterisierung und Kontrolle des Erregers der Rübenfäule, *Rhizoctonia solani*, in Nordrhein-Westfalen. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn / Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät. Schriftenreihe des Lehr- u. Forschungsschwerpunktes USL 91.