



Forschungsbericht

Nr. 91

Auftreten, Charakterisierung und Kontrolle des Erregers der Rübenfäule, *Rhizoctonia solani*, in Nordrhein-Westfalen

Verfasser

Irene Zens, Ulrike Steiner, Heinz-W. Dehne

Institut für Pflanzenkrankheiten

Herausgeber: Lehr- und Forschungsschwerpunkt „Umweltverträgliche und Standortgerechte Landwirtschaft“, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Endenicher Allee 15, 53115 Bonn
Tel.: 0228 – 73 2297; Fax.: 0228 – 73 1776
www.usl.uni-bonn.de

Forschungsvorhaben im Auftrag des Ministeriums für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen
Bonn, September 2002

ISSN 1610-2460

Projektleitung: Prof. Dr. Heinz-W. Dehne
Priv.-Doz. Dr. Ulrike Steiner

Projektbearbeiter: Dr. Irene Zens

Institut für Pflanzenkrankheiten
Nußallee 9
53115 Bonn
Tel.: 0228 - 73 24 43/44

Zitiervorschlag:

ZENS, I., U. STEINER UND H.-W. DEHNE (2002): Auftreten, Charakterisierung und Kontrolle des Erregers der Rübenfäule, *Rhizoctonia solani*, in Nordrhein-Westfalen. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, 91, 99 Seiten.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	Problemstellung/Wissensstand.....	1
1.2	Zielsetzung	5
2	MATERIAL UND METHODEN.....	6
2.1	Versuchsorganismen	6
2.2	Isolierung und Erhaltung von <i>R. solani</i>	6
2.3	Bestimmung des Inokulumpotentials von <i>R. solani</i> im Boden	7
2.3.1	Standorte.....	7
2.3.2	Feststellen der Populationsgröße.....	8
2.4	Pflanzenanzucht	8
2.5	Befallsuntersuchungen mit <i>R. solani</i>	9
2.5.1	Inokulation	9
2.5.2	Bonitur.....	9
2.6	Charakterisierung der Isolate von <i>R. solani</i>	11
2.6.1	Klassische Methoden.....	11
2.6.1.1	Isolate.....	11
2.6.1.2	AG-Bestimmung.....	11
2.6.1.3	Kernfärbung.....	12
2.6.2	Biologische Eigenschaften	12
2.6.2.1	Virulenz	12
2.6.2.2	Temperaturltoleranz.....	12
2.6.2.3	Fungizidsensitivität.....	12
2.6.3	Molekularbiologische Methoden.....	13
2.6.3.1	Isolate.....	13
2.6.3.2	Hyphenspitzentransfer	13
2.6.3.3	Kultivierung.....	13
2.6.3.4	DNA-Isolierung	13
2.6.3.5	RAPD-Analyse	14
2.7	Untersuchungen zur indirekten Bekämpfung von <i>R. solani</i>	15
2.7.1	Fruchtfolge	15

2.7.1.1	Simulation unter kontrollierten Bedingungen	15
2.7.2	Befallserhebungen auf Praxis-Flächen.....	16
2.8	Untersuchungen zur direkten Bekämpfung von <i>R. solani</i>	17
2.8.1	Fungizide und Antagonisten.....	17
2.8.1.1	Saatgutbehandlung.....	17
2.8.1.2	Spritz- und Bodenbehandlungen	17
2.8.1.3	Kombination von Behandlungen	18
2.8.1.4	Versuchsanlage	19
2.9	Statistische Auswertung	20
3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	21
3.1	Symptome der späten Rübenfäule.....	21
3.2	Inokulumpotential auf Befallsflächen	22
3.3	Differenzierung von Isolaten.....	25
3.3.1	Kernfärbung	25
3.3.2	Differenzierung mittels Anastomosereaktion.....	26
3.3.3	Differenzierung mit RAPD-PCR	27
3.3.3.1	Differenzierung zwischen Anastomosegruppen	27
3.3.3.2	Differenzierung innerhalb der AG 2-2	29
3.3.4	Differenzierung anhand biologischer Eigenschaften	39
3.3.4.1	Temperaturtoleranz.....	39
3.3.4.2	Fungizidsensitivität.....	40
3.3.4.3	Virulenz	43
3.4	Fruchtfolgeeffekte	50
3.4.1	Simulation der Fruchtfolge.....	50
3.4.2	Fruchtfolgeeffekte auf Praxisflächen	51
3.5	Bekämpfung von <i>R. solani</i> AG 2-2.....	58
3.5.1	Zuckerrübensorten und resistente Linien	58
3.5.2	Saatgutbehandlung mit Antagonisten und Fungiziden.....	63
3.5.3	Fungizidspritzung.....	66
3.5.4	Kombination von Saatgutbehandlung und Spritzung.....	68
3.5.5	Kombination von Saatgut- und Bodenbehandlung	72

4	ZUSAMMENFASSUNG.....	78
5	SCHLUSSFOLGERUNGEN FÜR DIE UMSETZUNG DER ERGEBNISSE IN DIE PRAXIS	78
6	LITERATURVERZEICHNIS	80
7	ANHANG	90
8	KONSEQUENZEN FÜR EVTL. WEITERE FORSCHUNGSVORHABEN	96
9	LISTE ÜBER VERÖFFENTLICHUNGEN	96
10	LISTE ÜBER VORTRÄGE	97
11	LISTE ÜBER POSTERPRÄSENTATIONEN	97
12	KURZFASSUNG	98

Abkürzungen

Pathogen

RH...	Isolat von <i>R. solani</i>
AG	Anastomosegruppe
Typ 1-6	Untergruppen der AG 2-2 von <i>R. solani</i>
VE, cfu	Vermehrungseinheiten von <i>R. solani</i>

Techniken

RAPD	‘Random Amplification of Polymorphic DNA’
ITS	‘Internal Transcribed Spacer’
bp	Basenpaare

Ertrag und Qualität

RE	Rübenertrag [dt/ha]
ZG	Zuckergehalt [%]
AV	Ausbeuteverlust [%] $AV = 0,12 * (K + Na) + 0,24 * AmN + 1,08$
BZE	Bereinigter Zuckergehalt [%] $BZG = ZG - AV$
K	[mmol/100 g Rüben]
Na	[mmol/100 g Rüben]
AmN	[mmol/100 g Rüben]

1 Einleitung

1.1 Problemstellung/Wissensstand

Die **späte Rübenfäule** war bis vor wenigen Jahren in Deutschland nur als kleinflächiges Problem bekannt. Befallen wurden meist einzelne Pflanzen oder Nester mit wenigen Quadratmetern Ausdehnung. Seit 1993 wird ein verstärktes Auftreten fauler Zuckerrübenpflanzen, beginnend im Jugendstadium der Pflanzen bis hin zur Ernte und nachfolgend auch die Fäule der Rübenkörper während der Feldrandlagerung beobachtet. Bekannt als Erreger der Rübenfäule sind Arten und weitere Untergruppen der Gattung *Rhizoctonia* (DECANDOLLE, A.P., 1815).

Es handelt sich bei der Gattung ***Rhizoctonia*** um eine große, sehr komplexe Gruppe von Pilzen. Die Teleomorphe gehören zu den drei Basidiomycetenarten *Thanatephorus* (anamorph = *R. solani* KÜHN), *Ceratobasidium* (anamorph = zweikernige *Rhizoctonia*-Arten), und *Waitea* (anamorph = *R. zeae* VOORHEES, *R. oryzae* RYKER und GOOCH), möglicherweise aber auch weiteren. Der bodenbürtige, vielkernige Basidiomycet *Rhizoctonia solani* (teleomorph *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk, die wichtigste *Rhizoctonia*-Art, tritt an über 500 Genera höherer Pflanzen auf. Häufig ist der Befall der Familien *Compositae*, *Gramineae*, *Leguminosae*, *Cruciferae* und *Solanaceae* (BRAUN, 1930). *R. solani* ist allerdings auch gut zur saprophytischen Lebensweise fähig (MÜLLER, 1942). Er tritt in allen Teilen der Welt auf und ist wahrscheinlich ebenso indigen in nicht kultivierten Böden. Nichtpathogene Isolate können auch von gesunden Pflanzen isoliert werden (BOOSALIS & SCHAREN, 1959; ICHIELEVICH-AUSTER et al., 1985a). Aufgrund unterschiedlicher Untersuchungsmethoden ist die Taxonomie und Nomenklatur von *Rhizoctonis*-Arten auch heute noch nicht eindeutig. *R. solani* wird aus diesem Grund als Komplex von Species angesehen.

Die klassische Methode, die Erregergesamtheit *R. solani* in Gruppen zu unterteilen, ist das Auftreten von Zellwandfusionen zwischen Isolaten. Durch die Untersuchung von Hyphenfusionen können in sich homogenere Gruppen, genannt **Anastomosegruppen (AG)**, unterschieden werden. Mit der Hyphenanastomose äußert sich somatische oder vegetative (In)kompatibilität. Eine vollständige Fusion ist nur zwischen Hyphen eines Isolates zu beobachten (YOKOYAMA et al., 1983; YOKOYAMA et al., 1985). Paarungen zwischen Isolaten verschiedener AGs resultieren dagegen nicht in einer Hyphenfusion und sind somit ein Anzeichen für eine größere genetische Distanz zwischen den betreffenden Kulturen. Nach dem Grad der Interaktion zwischen Hyphen können unterschieden werden: A) C0 oder C1: geringe oder keine Interaktion. B) C2: 5 bis 6 Zellen auf jeder Seite der Fusionszellen werden vakuolisiert und sterben in der 'killing reaction' ab; C) C3: perfekte Fusion, die als Kennzeichen für eine nahezu oder vollständige genetische Identität betrachtet wird (CARLING et al., 1988; FLENTJE & STRETTON, 1967). Die C3-Reaktion verhindert die Vermischung mit nicht kompatibel genetischem Material. Die Populationsstruktur von *R. solani* wird im Fall einer perfekten Fusion als Klon bezeichnet (OGOSHI & UI, 1983). Bisher wurden insgesamt mindestens 12 AGs innerhalb von *R. solani* und weitere 12 Untergruppen beschrieben. Die AG-BI mit sogenannten 'bridging isolates' können Anastomosen mit der

AG 2, 3, 6 und 8 ausbilden und stellen somit eine Ausnahme von der Regel dar, daß nur Isolate mit ähnlicher Genstruktur fusionieren können. Auch Anastomosegruppen, die unterschiedliche Krankheitsbilder hervorrufen, wie beispielsweise die AG 1-IA und AG 1-IB, die unterschiedliche Reiskrankheiten verursachen können ('sheath blight' und 'web blight'), sind anhand ihres Anastomoseverhaltens nicht differenzierbar (SNEH et al., 1991). Viele weitere AGs werden in Untergruppen unterteilt, die sich hinsichtlich ihrer biochemischen und/oder genetischen Eigenschaften sowie ihrer Pathogenität unterscheiden. Die AG 2 wird weiter unterteilt nach Fusionshäufigkeit, Thiaminbedarf, Wirtskreis und Ätiologie in AG 2-1, AG 2-t, AG 2-2IIIB, AG 2-2IV und AG 2-3 (NAITO & KANEMATSU, 1994; SCHNEIDER et al., 1997). Eine große Zahl von Isolaten der AG 2-1 wurden von *Cruciferae* isoliert, 2-t wurde als Pathogen an Blumenzwiebeln charakterisiert, AG 2-2IIIB ist pathogen an Gramineen, Gladiolen und verschiedenen anderen Fruchtarten, wie auch Zuckerrüben (SNEH et al., 1991; TAKANO & FUJII, 1972; WATANABE & MATSUDA, 1966). Die AG 2-2IV findet sich hauptsächlich an *Chenopodiaceen* und die AG 2-3 schließlich an Sojabohne.

Von Zuckerrüben-Anbauflächen konnte eine Vielzahl von verschiedenen AGs isoliert werden. So wird vom Auftreten der AG 1, 2-1, 2-2, 3, 4, 5, sowie zweikernigen Isolatentypen berichtet. Der Wirtskreis der AG 1 und 2 wurde bereits vorher erwähnt, die meisten Isolate der AG 3 stammen von *Solanaceae*, AG 4 von *Chenopodiaceae*, *Leguminosae* oder *Solanaceae*. Die Symptome, die nach ***Rhizoctonia* spp.-Befall an der Zuckerrübe** auftreten, sind Keimlingsfäulen, Blattbrand und die Fäule von Kopf und Rübenkörper, genannt 'späte Rübenfäule'. Neben *R. solani* können an dem Absterben von Keimlingspflanzen auch *Aphanomyces cochlioides* Drechs., *Pythium aphidermatum* (Edson) Fitzp. und *P. ultimum* Trow beteiligt sein. *R. solani* verursacht typischerweise Einschnürungen am Hypokotyl, so daß aufgelaufene Keimlinge absterben. Der Blattbrand tritt in den USA nur sporadisch auf, verursacht aber in Japan ökonomisch bedeutende Schäden. Ausgangspunkt für den Blattbrand sind Basidiosporen der AG 2-2IV vom Hymenium Wurzelfäule-erkrankter Zuckerrüben (Herr, 1982; Naito, 1990). Die sekundäre Ausbreitung geschieht ebenfalls durch Basidiosporen (NAITO, 1984). Die spezifischen Umweltbedingungen, die die Bildung des Teleomorphs beeinflussen, sind mit Ausnahme der als notwendig geltenden hohen Feuchte nicht bekannt. Sie variieren nach Species und zwischen Isolatentypen. Die Wurzelfäule ist endemisch und ökonomisch bedeutend in relativ feuchten Gebieten der USA. Die mittleren Verluste durch die Fäule werden auf 2 % eingeschätzt, jedoch mit einer enormen Schwankungsbreite von 0 bis 50 % je nach Fläche (WHITNEY & DUFFUS, 1986).

Die ersten **Symptome der Wurzelfäule** sind das plötzliche Welken der Pflanzen, Chlorose der Blätter und schwarze Nekrosen auf den Blattstielen nahe der Krone. Die welken Blätter kollabieren, sterben ab und bilden eine trockene, braune bis schwarze Rosette, die bis zum Vegetationsende erhalten bleibt. Die Wurzeln sind teilweise oder vollständig verfault. Auf der Wurzeloberfläche zeigen sich braune bis schwarze Flecken. Innerhalb der Wurzel ist das Gewebe leicht braun bis dunkelbraun gefärbt. Häufig sind tiefe, schwarze Risse nahe dem Kopf zu finden. Ein anderes Erscheinungsbild der Wurzelfäule ist in ariden Gebieten die trockene Wurzelfäule, die charakterisiert ist durch zahlreiche lokale braune, kreisförmige Läsionen, die abwechselnd dunkle und helle konzentrische Ringe auf der Wurzeloberfläche

hinterlassen. Das Gewebe zeigt tiefe Risse, gefüllt mit Myzel, und durch eine tief braune Linie scharf abgegrenzt vom gesunden Gewebe. Die Rübenfäule tritt bei Temperaturen von 25-33 °C auf, die trockene Fäule bei etwas höheren Temperaturen von 30-35 °C. Verantwortlich für das Auftreten der späten Rübenfäule ist meist die AG 2-2.

Neben der Unterteilung in Anastomosegruppen sind eine Vielzahl **weiterer Differenzierungen**, wie beispielsweise anhand von Zymogrammen pektischer Enzyme, die ein Muster von Polygalacturonasen, Pektin Esterasen und Lyasen zeigen, untersucht (CRUICKSHANK & Wade, 1980; CRUICKSHANK, 1990; NEATE et al., 1988; SWEETINGHAM et al., 1986). Das ZG-System stimmt jedoch wiederum nicht überein mit dem AG-System. Die Einteilung in Untergruppen ist zudem nicht unumstritten, so wird behauptet, die Häufigkeit von Anastomose sei kein Kriterium zur Unterscheidung von Untergruppen (MACNISH et al., 1994). Ein Einblick in die genetische Basis der Populationsstruktur ist demnach erforderlich (KEIJER et al., 1996).

Es sind eine Reihe von **molekularen Versuchen zur Identifikation** von *R. solani* Isolaten, wie die DNA-Basenzusammensetzung, genomische RFLP, RAPD-Analysen oder die Untersuchung von Polymorphismen der ITS der rDNA bekannt (DUNCAN, 1993; JABAJI-HARE et al., 1990; KANEMATSU & NAITO, 1995; KEIJER et al., 1996; KUNINAGA & YOKOSAWA, 1982; LIU & SINCLAIR, 1992; LIU & SINCLAIR, 1993; O'BRIEN, 1994; VILGALYS und GONZALEZ, 1990; YANG et al., 1995). Es wurde festgestellt, daß die genetisch unterschiedlichen AGs und ihre Untergruppen unabhängige evolutionäre Gruppierungen innerhalb von *R. solani* darstellen (VILGALYS & CUBETA; 1994). Zur genetischen Diversität können weiterhin auch Umwelbedingungen oder beispielsweise die Herkunft des Saatgutes beitragen (BALALI et al., 1996). Die Frage ist offen, ob Unterschiede zwischen Untergruppen durch sexuelle oder asexuelle Reproduktion oder aber eine Kombination beider bedingt ist.

Die **Vermehrungseinheiten (VE)** von *Rhizoctonia spp.* überleben im Boden als dickwandige melanisierte Hyphen oder Sklerotien in Verbindung mit Pflanzenrückständen, vorzugsweise in den obersten 15 bis 20 cm (BOOSALIS & SCHAREN, 1959). Diese VE sind nicht gleichmäßig im Boden verteilt und werden nur in geringer Zahl gefunden (CLARK et al., 1978; HENIS et al., 1978; HYAKUMACHI & UI, 1984; KO & HORA, 1971; WEINHOLD, 1977). Entscheidend für das Auftreten der Rübenfäule ist das Vorkommen und die Überdauerung von *Rhizoctonia*-Arten im Boden. In Ackerböden kommen drei verschiedene Inokulumtypen von *R. solani* vor: Sklerotien, befallene Ernterückstände und Hyphen. Trockenheit und hohe Temperaturen (30 ± 2 °C) führen zu einem frühen Verlust der Lebensfähigkeit der Sklerotien (MANIAN & MANIBHUSHANRAO, 1990). Die saprophytische Fähigkeit von *R. solani* kann aber andererseits auch durch Wassergehalte über 60 % der Wasserkapazität reduziert werden. Der Pilz ist nur aktiv in relativ trockenen Böden. Nasse, verdichtete Böden weisen eine größere Hyphendichte auf. Trockenere, nicht verdichtete Böden zeigen eine bessere Hyphen-ausbreitung. Somit vermindern dieselben Bedingungen, die die Befallsintensität durch höhere Inokulumdichte erhöhen, also gleichzeitig die Ausbreitung (GLENN & SIVASITHAMPARAM, 1990). Die Größe der Befallsnester und Inokulumdichte innerhalb der Nester variiert mit der Anbauhäufigkeit. In zweijähriger Rotation zeigen sich große Nester mit kleinen Zwischenräumen, in sechsjähriger Rotation kleine Nester mit großen Lücken (GILLIGAN et al., 1996). Auch können ganze Befallsherde zwischen zwei

Vegetationsperioden verschwinden. Gründe dafür können einerseits im vermehrten Auftreten antagonistischer Mikroorganismen liegen, andererseits treten in Zuckerrübenmonokultur neben Isolaten der AG 2-2 sogenannte 'non-self-anastomosing groups' auf (HYAKUMACHI et al., 1990). Diese besitzen wegen des Fehlens von Melanin nur eine geringe saprobe und parasitische Fitneß und können keine Sklerotien bilden (HYAKUMACHI & UI, 1987). Neben der Beobachtung zurückgehenden Befalls bei Zuckerrübenmonokultur konnten auch nach Inokulation die durch *R. solani* verursachten Befallsnester in den Folgefrüchten nicht mehr wiedergefunden werden. Der Erreger existiert bei nur geringem Inokulumpotential versteckt im Boden und äußert sich nicht im Auftreten einer Krankheit (MACNISH, 1996). Die Häufigkeit der Isolierung der AG 2-2 wächst mit ständigem Zuckerrübenanbau (KOMOTO et al., 1970). Die Aufteilung befallener Zuckerrübenflächen in sogenannte 'gesunde' (AH) und 'befallene' Bereiche (DA) ergab, daß die hohe Inokulumdichte in 'DA' durch aktiven Parasitismus gehalten wurde. Es wird vermutet, daß die Populationen von 'AH' und 'DA' aus Gruppen von Vermehrungseinheiten bestehen, die sich in der Überlebenskapazität und in ihrer Verbreitung unterscheiden (ROBERTS & HERR, 1979).

Die Inokulumdichte von *R. solani* blieb in inokulierten, schluffigen Ton-**Böden** in der Vegetation gering, stieg jedoch in sandigem Lehm an (HERR, 1976). Die durch die AG 8 verursachten Befallsnester wurden meist auf sandigen, kalkhaltigen Böden gefunden, seit der Einführung reduzierter Bodenbearbeitung wurde die Krankheit aber auch von anderen Böden isoliert. In anderen Regionen war der Befall am stärksten auf sandigen bis lehmig sandigen Böden, aber auch auf calciumarmen, sauren Böden. Auf leichten Böden wurden achtmal mehr Nester als auf benachbarten schweren Böden gefunden (DE BEER, 1965). Es ist wahrscheinlich, daß *R. solani*, obwohl in schweren Böden vorkommend, sich dort selten in Form von Befallsnestern ausdrückt.

Die Begrenzung von Schäden durch die Rübenfäule ist auf **präventive Maßnahmen** beschränkt. Ein flaches Durchmischen des Bodens hatte nur wenig Effekt auf das Erscheinen der Wurzelfäule im Weizen, ein Mischen in mehr als 5 cm Tiefe reduzierte die Fäule, da der größte Teil des Inokulum sich im Oberboden bei 0 bis 7,5 cm findet (MACNISH & DODMAN, 1987). Nachteilig ist, daß die Kultivierung des Bodens das Inokulum zwar reduziert, aber das Pathogen nicht eliminiert wird (MACNISH, 1985). Ebenso sind das Vermeiden des Anhäufens von Erde um den Blattansatz herum und eine möglichst weitgestellte Fruchtfolge nur vorbeugende Maßnahmen mit unzuverlässigen Erfolgsaussichten (SCHNEIDER et al., 1982; WINDELS & JONES, 1989). Ähnlich einzuschätzen sind auch Berichte über ein nährstoffbedingtes Auftreten. Die Wirkung mineralischer oder organischer Düngung ist ebenso komplex wie die Wirkung von Herbiziden auf das Pathogen. Bei extrem starker Infektion wurde mit keiner dieser Behandlungen eine erfolgreiche Bekämpfung durchgeführt (VOLAND & EPSTEIN, 1994).

Die **Bekämpfungsmöglichkeit** mit Fungiziden wird sehr unterschiedlich eingeschätzt und muß je nach Einsatzgebiet neu überprüft werden. Im Extremfall zeigen Wirkstoffe nicht nur gegenüber verschiedenen Spezies und AGs eine unterschiedliche Aktivität, sondern auch gegenüber verschiedenen Isolaten derselben Anastomosegruppe (KATARIA et al., 1991). Erfolgsversprechend und weniger abhängig von der Erregervielfalt sind biologische

Bekämpfungsmaßnahmen, wie die Anwendung von *Verticillium biguttatum* im Kartoffelanbau oder eine Saatgutbehandlung mit *Bacillus subtilis* (MERRIMAN et al., 1974; VELVIS et al., 1989). Auch die Kombination von Antagonisten und Fungiziden wird als erfolgreich beschrieben (JACOBSEN et al., 1997; JACOBSEN & KIEWNICK, 1996). Der aussichtsreichste Weg zur Kontrolle der späten Rübenfäule sind bisher resistente Sorten. Sehr aggressive Isolate der AG 2-2 konnten zwar auch durch den Anbau einer *Rhizoctonia*-toleranten Sorte nicht zurückgedrängt werden (ENGELKES & WINDELS, 1988). Andererseits zeigt aber das heutzutage in den USA verwendete Erbplasma keinen Ertragsverlust bei starkem Krankheitsdruck und ebenso keine Ertrags- und Qualitätsverluste unter Nichtbefall (RUPPEL & HECKER, 1994). Zu beachten ist allerdings, daß die entsprechenden *Rhizoctonia*-toleranten Sorten in ihrer Ertragsfähigkeit auf den geprüften Anbaubereich beschränkt sind und bei der Besiedlung neuer Räume überprüft werden müssen.

1.2 Zielsetzung

Die Symptome der späten Rübenfäule sind seit langem in deutschen Zuckerrübenanbaugebieten bekannt. Sie stellten jedoch kein bedeutendes Problem dar und wurden häufig übersehen. Seit 1993 tritt das nesterweise Absterben der Zuckerrüben jedoch verstärkt und in ökonomisch bedeutendem Umfang auf (DISSEMOND & HEUPEL, 1994). Zunächst standen dem neuen Problem keine Lösungsansätze zu einer Eingrenzung der Schäden gegenüber. Unbekannt war das Spektrum an AGs und diverser Untergruppen im Verbreitungsgebiet Deutschland. Daher wurden Untersuchungen zur AG-Zugehörigkeit und weiteren Charakterisierung dieses Pathogens unternommen. Die Einteilung in eine AG ergibt jedoch aufgrund enormer Schwankungsbreiten innerhalb dieser Gruppe noch keine Aussagen über biologische Eigenschaften der entsprechenden Kultur. Erst mit der genauen Kenntnis des Pathogens und weiteren Ergebnissen aus der Beobachtung und Untersuchung von Befallsflächen können Untersuchungen zur Bekämpfung der Rübenfäule durchgeführt werden. Das Auftreten der späten Rübenfäule ist ein Problem mit zunehmender Bedeutung in Deutschland, aber auch in anderen Ländern Europas (ETTL, 1997; BÜTTNER, 1998).

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsorganismen

- Pathogen: *Rhizoctonia solani* Kühn (anamorph)
Thanatephorus cucumeris (A. B. Frank) Donk (teleomorph)
 Freilandmischisolate 1996, 1997, 1998 (s. Anhang)
 Pathogensammlung Institut
 Pathogensammlung IPO-DLO, Wageningen
- Wirtspflanzen: *Beta vulgaris* L., Zuckerrübe
 Verwendet wurden die Zuckerrüben-Standardsorten:
 'Aurica', 'Belissa', 'Evita', 'Hilma', 'Irena', 'Loretta', 'Patricia',
 'Ribella', 'Scarlett', 'Sonja', 'Tatjana', 'Tina',
 sowie folgende, nach Züchterangaben resistente Linien:
 'St. 96078 P' (Strube Dieckmann); 'St. 1499, 1498' (Hilleshög);
 'St. 961' (KWS); '6 J'; 'RH 1', '2' IFZ (Strube Dieckmann); 'RH 3', '4'
 IFZ (KWS); 'RH 5', '6' IFZ (Hilleshög).
- Hordeum vulgare* L., Wintergerste
 'Loretta'
- Raphanus sativus* L. Spec. var. *oleiformis* Pers., Ölrettich
 'Colonel', 'Radical', 'Remonta'
- Sinapis alba* L., Gelbsenf
 'Torpedo', 'Sirola', 'Silvester'
- Solanum tuberosum* L., Kartoffel
 'Cilena'
- Triticum* L., Winterweizen
 'Contra'
- Zea mays* L., Mais
 'Granat'

2.2 Isolierung und Erhaltung von *R. solani*

Zuckerrüben mit typischen Fäulesymptomen aus verschiedenen Anbauregionen Deutschlands wurden untersucht. Dazu wurde der Rübenkörper gewaschen. Aus dem Grenzbereich zwischen geschädigtem und gesundem Gewebe wurden kleine Stücke auf Petrischalen mit KO & HORA Medium (1971) ausgelegt und diese bei 20 °C für 24 bis 48 h im Dunkeln inkubiert. Bestandteile des Selektivmediums sind: K₂HPO₄ (1 g), MgSO₄ · 7H₂O

(0,5 g), KCL (0,5 g), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (10 mg), NaNO_2 (0,2 g), Gallsäure (0,4 g), 'Dexon' (90 mg), Chloramphenicol (50 mg), Streptomycinsulfat (50 mg) und Agar (20 g) (mit $\text{H}_2\text{O}_{\text{demin.}}$ auf 1 l aufgefüllt). Es wurde wegen starker Kontaminationen, insbesondere bei fortgeschrittenem Befall, gewählt. Auswachsende Hyphen mit *Rhizoctonia*-charakteristischer Verzweigung und Septierung (OGOSHI, 1975) wurden auf Kartoffel-Dextrose-Agar (PDA) übertragen. Der Hyphentransfer wurde bis zum Erhalt von Reinkulturen mehrfach wiederholt. Zuckerrübensämlinge mit Fäulesymptomen wurden gewaschen und direkt auf einprozentigen Wasseragar oder Maismehl-Agar (CMA) ausgelegt, da nach den Ergebnissen von Vortests nur geringe Kontaminationen an der jungen Pflanze festgestellt wurden.

Kurzfristig wurden Kulturen von *R. solani* auf dem Nährmedium Kartoffel-Dextrose-Agar (PDA) aufbewahrt. Da die genetische Veränderung von Isolaten bei langfristiger Lagerung auf Kulturmedien bekannt ist, wurden für die Erhaltung Kulturröhrchen verwendet. Dafür wurden ca. 5 g nährstoffreduzierte Pikiererde in Schraubverschlußreagenzgläser gefüllt und nach Zugabe von 2 ml Leitungswasser im Abstand von jeweils 2 Tagen dreimal für 50 Minuten bei 121 °C autoklaviert. Nach dem letztem Autoklavieren wurden 0,5 ml flüssiges Kartoffel-Dextrose-Medium (PDB) zugegeben und die Kulturröhrchen mit jeweils 3 Myzelscheiben von 0,5 cm Durchmesser eines Isolates beimpft.

2.3 Bestimmung des Inokulumpotentials von *R. solani* im Boden

2.3.1 Standorte

Die Populationen von *R. solani* wurden auf Flächen erfaßt, die entweder in der vorangegangenen Vegetation oder im aktuellen Jahr Befall gezeigt hatten bzw. zeigten. Zum Vergleich wurden auch Flächen beprobt, auf denen kein Befall mit der späten Rübenfäule beobachtet wurde. Die Standorte sind in Tabelle 1 näher aufgeführt. Von den zu untersuchenden Flächen wurden mit einem Bohrstab Proben mit einem Durchmesser von 3 cm und einer Tiefe von 10 bis 15 cm entnommen. Diese wurden im Abstand von 5 m diagonal über die gesamte Länge der Fläche entnommen. Die Zahl der Entnahmestellen variierte je nach Flächengröße. Anschließend wurden die Proben weiterverarbeitet oder bei 10 °C für maximal 3 Tage bei Dunkelheit gelagert und darauffolgend verwendet.

Tab. 1: Standorte für die Entnahme von Bodenproben zum Test auf das Vorkommen von Vermehrungseinheiten von *R. solani*.

Standort	Vorfrucht – aktuelle Fruchtart			Befall mit der späten Rübenfäule
Titz	ZR	–	WW	im Vorjahr
Jackerath	ZR	–	WW	im Vorjahr
Elsdorf	WW	–	ZR	aktuell
Euskirchen	WW	–	ZR	aktuell
Euskirchen	ZR	–	WW	im Vorjahr
Borken	M	–	ZR	aktuell

2.3.2 Feststellen der Populationsgröße

Mit der Naßsiebmethode wurden unterschiedliche Größenfraktionen organischer Substanz auf das Vorkommen von Vermehrungseinheiten des Rübenfäuleerregers untersucht. Dazu wurden in einem Vortest unterschiedliche Siebe mit einer Lochgröße von 2 mm, 750 µm, 500 µm, 315 µm und 100 µm erprobt. Es wurden 50 g der lufttrockenen Bodenprobe eingewogen und unter fließendem Wasser ausgewaschen. Mit einer Spritzflasche wurde jede Fraktion von dem Sieb abgeschwemmt. Das Wasser wurde mit Hilfe eines Büchnertrichters abgesaugt. Die organische Substanz blieb auf dem Filterpapier zurück und wurde bei Raumtemperatur getrocknet. Anschließend wurden gleich große Mengen der organischen Fraktion mit einer Pinzette vom Filterpapier abgenommen. Diese wurden in gleichmäßigen Abständen auf das KO & HORA Medium (1971) gesetzt. Die Zahl der Petrischalen variierte mit dem Anteil organischer Substanz in der Bodenprobe. Auswachsende Kolonien mit für *Rhizoctonia*-Arten typischer rechtwinkliger Verzweigung wurden auf Kartoffel-Dextrose-Agar (PDA) übertragen. Die Hyphenspitzen wurden auf einprozentigen Wasseragar und nach 24 bis 48 h auf PDA übertragen.

2.4 Pflanzenanzucht

Die in 2.1 genannten Zuckerrübensorten wurden im Labor, unter Gewächshausbedingungen, sowie im Freiland angezogen. Für **Laboruntersuchungen** wurde unbehandeltes Saatgut verwendet. Nach Vorversuchen wurde dieses in vierprozentigem Formaldehyd für 10 min oberflächensterilisiert. Danach wurde zweimal für 20-30 min in sterilem H₂O gespült und die Samen auf sterilem Filterpapier getrocknet. Jeweils 10 Samen wurden mit einer Pinzette in gleichmäßigem Abstand auf einer Petrischale mit zweiprozentigem Wasseragar verteilt und leicht angedrückt. Nach 7 Tagen wurden die Schalen auf die Zahl gekeimter Samen untersucht und fehlende Keimlinge auf eine Stückzahl von 10 ergänzt.

Unter **Gewächshausbedingungen** wurde das pillierte Zuckerrübensaatgut bzw. unpilliertes Saatgut anderer Wirtspflanzen in Jiffy-Pots mit nährstoffreduzierter Pikiererde ausgesät. Das Zuckerrübensaatgut war, entsprechend der Anbaupraxis, behandelt mit dem Insektizid 'Imidacloprid' in der Aufwandmenge von 90 g/U. Nach 14 Tagen wurden die Pflanzen in größere Pflanztöpfe mit Einheitserde umgetopft. Alternativ dazu wurde für einige Versuche ein Gemisch aus 60 l Felderde (C-Horizont), 120 l Pikiererde und 40 l Sand verwendet. Das Tageslicht wurde durch eine Zusatzbeleuchtung mit Natriumdampfleuchten (Philips SGR 140) mit einer Lichtstärke von ca. 7000 lx ergänzt. Um eine einheitliche Tageslänge von 16 h zu simulieren, betrug die Zeitspanne für eine Zusatzbeleuchtung im Winter 16 h und in der übrigen Jahreszeit je 4 h morgens und abends. Die Temperatur im Gewächshaus betrug 20 ± 2 °C bei einer rel. Luftfeuchte von 60-80 %. Eine Düngung erfolgte in 14tägigem Abstand mit 'Flori 2'-Flüssigdünger zu 0,2 % über das Blatt.

Die Aussaat im **Freiland** wurde mit einem Einzelkornsägerät durchgeführt. Die Pflanzen wurden nachfolgend vereinzelt. Mit Fungiziden sowie Antagonisten behandeltes Saatgut wurde auf Endabstand ausgesät.

2.5 Befallsuntersuchungen mit *R. solani*

2.5.1 Inokulation

Die auf Wasseragar unter **Laborbedingungen** angezogenen Zuckerrübenpflanzen wurden nach 7 Tagen inokuliert. Für die Inokulation wurden 8 Tage alte Kulturen von *R. solani* verwendet. Dazu wurde in die Mitte jeder Petrischale eine 5 mm große Myzelscheibe des zu untersuchenden Isolates gesetzt.

Unter **Gewächshausbedingungen** wurden die Pflanzen nach 14tägiger Anzucht inokuliert. So konnte eine Verletzung der Wurzeln und damit die Entstehung von Eintrittspforten für *R. solani* beim Umtopfen vermieden werden. Für die Inokulumherstellung wurden 50 g Quarzsand mit 1,5 g Weizenmehl vermischt und 7 ml Leitungswasser zugegeben. Das Sand-Mehl-Gemisch wurde bei 121 °C für 50 min autoklaviert. Nach dem Abkühlen wurden die Kolben mit 3 Myzelscheiben (5 mm) des Testisolates beimpft und bei 20 °C und Dunkelheit für 14 Tage inkubiert. Während dieser Inkubationszeit wurden die Kulturen alle 2 Tage geschüttelt, um ein gleichmäßiges Durchwachsen des Substrats zu gewährleisten. Danach wurden 1,5 g Inokulum mit einer Substratmenge (Einheitserde oder C-Horizont) von der Hälfte des Topfvolumens gründlich gemischt und in Pflanztöpfe gegeben. Die 14 Tage alte Zuckerrübenpflanze wurde im Jiffy-Pot auf diesen Untergrund gesetzt und der Topf mit nicht inokulierter Erde aufgefüllt.

Neben Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen und bei natürlichem Befall im **Freiland** wurden auch Flächen inokuliert. Das Inokulum wurde ebenfalls als Weizenmehl-Sand-Gemisch hergestellt. Die Inokulation wurde vier Wochen nach Aussaat mit einer Menge von 2 g Inokulum pro Zuckerrübenpflanze durchgeführt.

2.5.2 Bonitur

Die unter **Laborbedingungen** angezogenen Zuckerrübensämlinge wurden sieben Tage nach Inokulation d.h. 14 Tage nach Auslage der Samen bonitiert. Für eine genaue Einschätzung des Befalls wurden die in Tabelle 2A genannten 6 Klassen unterschieden. Aus den Boniturdaten wurde ein Befallsindex errechnet (abgeändert nach: O'SULLIVAN & KAVANAGH, 1991), der den prozentualen Anteil des auftretenden Befalls an der maximal möglichen Befallsintensität wiedergibt (Tab. 2B).

Tab. 2: A) Befallsklassen für Zuckerübensämlinge zur Einschätzung der Schadenssymptome nach Inokulation mit *R. solani*.

B) Errechnung des Befallsindex zur Einschätzung des prozentualen Anteils auftretenden Befalls mit *R. solani*.

A)	
Klasse	Merkmal
0 =	gesund
1 =	leichte, 1-2 mm große Verbräunungen im Wurzelbereich
2 =	größere Verbräunungen, Abschnürung, Stengel zu 75 % grün
3 =	Stengel größtenteils verbräunt (bis zu 75 % Verbräunung), Blatt grün
4 =	Stengel braun oder schwarz, völlig abgeschnürt, Blatt grün
5 =	Restgrün
6 =	völlige Schwarzfärbung
B)	
Befallsindex (DI) = $(100 \cdot (u + 2v + 3w + 4x + 5y + 6z)) / (6 \cdot (t + u + v + w + x + y + z))$, dabei bedeutet:	
t =	Anzahl Sämlinge in Klasse 0
u =	Anzahl Sämlinge in Klasse 1
v =	Anzahl Sämlinge in Klasse 2
w =	Anzahl Sämlinge in Klasse 3
x =	Anzahl Sämlinge in Klasse 4
y =	Anzahl Sämlinge in Klasse 5
z =	Anzahl Sämlinge in Klasse 6

Unter **Gewächshausbedingungen** erfolgte die Bonitur der Rübenkörper nach Vorversuchen etwa 10 Wochen nach Inokulation. Dazu wurden die befallenen Rüben geerntet, das Blatt entfernt und der Rübenkörper gewaschen. Anschließend wurde der Anteil befallenen Gewebes nach dem in Tabelle 3 dargestellten Boniturschema ermittelt. Ein Befallsindex wurde entsprechend der Bestimmung an Sämlingspflanzen berechnet (Tab. 2).

Tab. 3: Boniturschema, verwendet für 10 Wochen alte Zuckerrübenpflanzen zur Einschätzung des Befalls nach Inokulation mit *R. solani*.

Klasse	Merkmal
0 =	gesund
1 =	erste braunschwarze Flecken an der Wurzel
2 =	Zunahme der Flecken, bis zu 25 % der Wurzeloberfläche
3 =	Flecken und Fäule, < 50 % der Wurzeloberfläche
4 =	Flecken und Fäule, > 50 % der Wurzeloberfläche
5 =	bis auf kleine Bereiche völlige Fäule, Wurzelform noch weitgehend erhalten
6 =	Wurzel völlig zerstört, Pflanze abgestorben

Im **Freiland** wurden oberirdisch sichtbar befallene Pflanzen im Abstand von 14 bzw. 28 Tagen ausgezählt und die Fehlstellen markiert. Es wurden nur die Pflanzen einbezogen, deren Blattmaterial völlig abgestorben war. Neu hinzugekommene befallene Pflanzen wurden zum nächsten Boniturtermin erfaßt. Die Befallsstärke wurde als Anteil abgestorbener Pflanzen an der Gesamtzahl gesunder Pflanzen vor Befallsbeginn bestimmt. Nach der Ernte wurde der Befallsgrad des Rübenkörpers in 3 Klassen von 'schwach befallen' über 'Fäule < 50% des Rübenkörpers' bis zu 'Fäule > 50%' erfaßt. Für eine genaue Einschätzung des geschädigten Gewebes wurden die Rübenkörper durchgeschnitten.

2.6 Charakterisierung der Isolate von *R. solani*

2.6.1 Klassische Methoden

2.6.1.1 Isolate

In den Versuchsjahren 1996 bis 1998 wurden Pflanzen- und in geringerem Umfang Bodenproben von Flächen in Nordrhein-Westfalen und in den Jahren 1997 und 1998 zusätzlich in Niederbayern untersucht. Die Isolierung wurde zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt. Bei Frühbefall konnte der Erreger schon im Mai isoliert werden. Bei späterem Befall gelang dies nur bis etwa Ende September. Die Auflistung der Isolate erfolgt weiter unten im Anhang. In 1997 wurden bisher nicht bekannte Standorte, aber auch bereits im Vorjahr untersuchte Befallsflächen beprobt. Der Schwerpunkt lag hier auf Untersuchungen in Niederbayern. Die Flächen wurden zur Erfassung der Heterogenität der Population intensiv beprobt. Dazu wurden unterschiedliche Befallsnester und innerhalb eines Befallsnests mehrere Zuckerrübenpflanzen untersucht.

2.6.1.2 AG-Bestimmung

Die Isolate unbekannter Anastomosegruppe wurden auf Hyphenfusionen mit einem bekannten Tester-Isolat geprüft. Dazu wurden Objektträger desinfiziert und mit einem zweiprozentigen Wasseragarfilm beschichtet. Die Objektträger wurden auf Glasstäbchen in Petrischalen mit 1,5 %igem Wasseragar ausgelegt. Anschließend wurden Myzelscheiben (5 mm Durchmesser) vom Rand junger, auf PDA wachsender Kolonien des AG-Tester-Isolates und des zu testenden Isolates ausgestanzt und mit der myzelbewachsenen Seite nach unten in 2-3 cm Abstand auf den Objektträgern gegenübergesetzt. Die Schalen wurden bei 20 bis 22 °C und Dunkelheit für 24 bis 48 h bis zur Beobachtung eines Überlappens und Ineinanderwachsens der Hyphen von Tester und zu testendem Isolat inkubiert. Die AG-Zuordnung wurde an mindestens 5 Fusionsstellen überprüft. Die Hyphen wurden mit 0,001 % w/v Baumwollblau in Lactophenol:Wasser im Verhältnis 1:9 v/v angefärbt und bei 100facher bzw. 400facher Vergrößerung auf Hyphenanastomosen zwischen Tester und zu testendem Isolat untersucht.

2.6.1.3 Kernfärbung

Die Anfärbung der Zellkerne von *R. solani* Isolate wurde ebenfalls auf mit Wasseragar beschichteten Objektträgern durchgeführt. Nach 48 h Wachstum wurden die Hyphen mit einer Mischung aus Acridinorange 0,05 g/l und Ethidiumbromid 0,5 µg/l angefärbt. Eine schnellere Färbung wurde durch Erwärmung des Objektträgers auf 35 °C erzielt. Die Objekte wurden mit dem Fluoreszenzmikroskop bei 450-495 nm betrachtet (ANDERSEN, 1996).

2.6.2 Biologische Eigenschaften

2.6.2.1 Virulenz

Je Isolat von *R. solani* wurde eine Gesamtzahl von 40 Sämlingen bonitiert und daraus ein Befallsindex errechnet. Untersuchungen zur Virulenz der Isolate wurden einheitlich mit der Sorte 'Evita' durchgeführt. Um den optimalen Zeitpunkt für eine Bonitur des Rübenkörpers abzuschätzen, wurde zunächst der oberirdisch sichtbare Befall erfaßt. War der Zeitpunkt erreicht, zu dem noch keine Variante Totalausfall zeigte, wurde der Befall an der Wurzel eingeschätzt.

2.6.2.2 Temperaturtoleranz

Isolate verschiedener Befallsstandorte wurden auf Unterschiede im Myzelwachstum bei 10 °, 17 °, 25 ° und 35 °C bei Dunkelheit untersucht. Dazu wurde Kartoffel-Dextrose-Agar unter Zugabe von Antibiotika (PDA + je 50 mg Penicillin, Streptomycin und Chlortetracyclin pro Liter) hergestellt. Die Petrischalen wurden anschließend mit je einer Myzelscheibe von 5 mm Durchmesser beimpft und bei den unterschiedlichen Temperaturen inkubiert. Das radiale Myzelwachstum wurde nach 24, 48 und 72 h bestimmt.

2.6.2.3 Fungizidsensitivität

Für Untersuchungen zur Fungizidsensitivität wurde Kartoffel-Dextrose-Agar, wie in 2.6.2.2. beschrieben, hergestellt. Die Fungizidkonzentrationen wurden in einer Verdünnungsreihe angesetzt. Untersucht wurden Wirkstoffmengen zwischen 0,01 und 100 ppm (Tab. 4). Von den Fungiziden wurden Stammlösungen in sterilem Wasser mit Zusatz von zwei Prozent Aceton hergestellt. Um die gewünschte Endkonzentration zu erreichen, wurden 99 ml des Nährmediums mit 1 ml einer 100fachen Stammlösung versetzt. Dem sterilisierten Nährboden wurden vier bis sechs verschiedene Konzentrationen des Fungizids zugegeben, gemischt und in Petrischalen gegossen. Nach 24 h wurden die Schalen mit einer Myzelscheibe von 6 mm Durchmesser beimpft und bei 21 °C im Dunkeln inkubiert. Das Ausmessen des Myzelwachstums erfolgte nach 24, 48, 72 und 96 h. Aus dem täglichen Zuwachs wurde die durchschnittliche Wachstumsrate ermittelt. Bei der Auswertung entspricht 0 % Wirkungsgrad dem Wachstum der Kontrolle, ein Wirkungsgrad von 100 % bedeutet, daß bei der entsprechenden Konzentration kein Myzelwachstum beobachtet wurde. Dosis-Wirkungsbe-ziehungen wurden durch Auftragen der prozentualen Wuchshemmung gegen die Fungizidkonzentration in einer log-probit Skala ermittelt.

Tab. 4: Handelspräparate (Wirkstoffe), verwendet für *in vitro* Tests zur Bekämpfung von *R. solani*.

Handelspräparat	Wirkstoffgehalt	
‘Amistar’	250 g/l	Azoxystrobin
‘Bardos’	100 g/l	Difenoconazol
‘Caramba’	60 g/l	Metconazol
‘Corbel’	750 g/l	Fenpropimorph
‘Discus’	500 g/kg	Kresoxim-methyl
‘Dithane ultra’ WG	750 g/kg	Mancozeb
‘Folicur’	251,2 g/l	Tebuconazol
‘Monceren’ 50WG	250 g/kg	Pencycuron
‘Sumisclex’ WG	500,5 g/kg	Procymidone
‘Tachigaren’	700 g/kg	Hymexazol

2.6.3 Molekularbiologische Methoden

2.6.3.1 *Isolate*

Eine genetische Differenzierung wurde zunächst an Isolaten verschiedener Anastomosegruppen erprobt. Die Arbeiten wurden nachfolgend auf Kulturen des Rübenfäuleerregers eingeschränkt. Aus verschiedenen Befallsregionen wurden von einer Vielzahl unterschiedlich stark betroffener Flächen in den Versuchsjahren 1995 bis 1998 Proben untersucht. Eine Liste des Materials ist im Anhang aufgeführt.

2.6.3.2 *Hyphenspitzentransfer*

Da die Produktion von Basidiosporen sehr aufwendig ist und nicht bei allen Isolaten gelingt, wurden nicht Einsporisolate, sondern Kulturen von Hyphenspitzen verwendet, um die genetische Einheitlichkeit des molekularbiologisch zu untersuchenden Materials zu gewährleisten. Dazu wurden die Isolate auf Wasseragar kultiviert. Nach ein bis zwei Tagen wurden unter dem Mikroskop mit einer Nadel einzelne Hyphenspitzen abgeschnitten und wiederum auf Wasseragar übertragen. Nach mehrtägigem Wachstum wurden diese Isolate auf eine Unterscheidung zu ihrem Ursprungsisolat untersucht.

2.6.3.3 *Kultivierung*

Die Isolate wurden für 6 Tage bei 22 °C in Petrischalen mit dem Kartoffel-Dextrose-Flüssigmedium (PDB) kultiviert. Je Isolat wurden 3 Petrischalen beimpft. Diese Menge reichte aus für die Gewinnung von 50 mg lyophilisierten Myzels.

2.6.3.4 *DNA-Isolierung*

Das Myzel wurde mit sterilem Wasser zweimal gewaschen und danach gefriergetrocknet. Anschließend wurden 50 mg lyophilisiertes Material mit flüssigem Stickstoff zu feinem Puder zerrieben und mit einer kleinen Menge des Stickstoffs in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß

(2 ml) überführt. Die DNA-Extraktion wurde mit einem 'QUIAGEN DNeasy Plant Mini Kit' nach Anleitung durchgeführt. Die Konzentration der Nukleinsäurelösung wurde nach Verdünnung mit $\text{H}_2\text{O}_{\text{demin.}}$ im Verhältnis 1:20 durch Absorption bei 260 nm in einem Spektrophotometer gemessen.

2.6.3.5 RAPD-Analyse

Der **Reaktionsansatz** wurde wie folgt nach DUNCAN et al. (1993) modifiziert:

- 50 ng genomische DNA,
 - 0,2 mM je dNTP,
 - 4 mM MgCl_2 ,
 - 25 pmol Primer,
 - 1 x Polymerase-Puffer (0,1 M Tris-HCL; pH8,3; 0,5M KCL; 0,01 % Gelatine)
 - 2 U Taq-Polymerase (Perkin Elmer)
- ergeben mit $\text{H}_2\text{O}_{\text{demin.}}$ insgesamt ein Reaktionsvolumen von 25 μl .

Es wurden Vortests mit 'AmpliWax' plus Taq-Polymerase unternommen, um die 'hot start' Methode einfacher zu gestalten. Die Verwendung von Polymerase 'AmpliTaq Gold' führte jedoch schneller zu besseren Ergebnissen und wurde daraufhin in allen Reaktionen verwendet.

Die **Amplifikationen** wurden in einem 'Gene Amp PCR System 9600' Thermocycler (Perkin Elmer) durchgeführt. Die Temperaturprofile für die verwendeten Primer sind in Tabelle 5 aufgeführt. Die Oligonukleotide wurden von Perkin Elmer hergestellt. Die Primer wurden nach DUNCAN et al. (1993) ausgewählt. Es handelt sich bei R28 um einen Primer, der zur Untersuchung der genetischen Variation bei *Leptoshazia maculans* verwendet wurde (GOODWIN und ANNIS, 1991). USP ist ein Primer, der zur Sequenzierung benutzt wird (Boehringer Mannheim M13). Weiterhin wurde die Eignung der Primer T7 und R1 geprüft (DUNCAN et al., 1993; WELSH & MCCLELLAND, 1990).

Die Amplifikationsprodukte wurden durch **Agarosegelelektrophorese** getrennt. Die Gele von etwa 1 cm Dicke (1,5 % Agarose Gel 'amresco Agarose SFR') wurden in horizontalen 10 x 20 cm Gelkammern (Biometra) mit 40- bzw. 22-zähnigem Kamm hergestellt. Die Laufzeit betrug etwa 70 min bei 100 V und 300 mA. Als Puffer wurde 1 X TBE (0,089 M Tris-Borate, 0,002 M EDTA) verwendet. Jeder RAPD Reaktion wurden 5 μl 6 x Bromphenol-Blau Ladungspuffer zugegeben (SAMBROOK et al., 1990). Die Gele wurden in Ethidiumbromidlösung ($5 \mu\text{gml}^{-1}$) für 3 min gefärbt und danach für 30 min in $\text{H}_2\text{O}_{\text{demin.}}$ entfärbt. Zur Überprüfung der Zuverlässigkeit der Ergebnisse und Kontrolle zum Auftreten sporadischer Kontaminationen wurde jede Amplifikation zweimal durchgeführt. Als molekulare Größenstandards wurde der 'PCR DNA MarkerTM' mit PCR Fragmenten von 50 bis 2000 bp, sowie die '123 bp DNA Ladder' (Gibco BRL) verwendet. Um Variationen des genetischen Materials innerhalb eines Isolates auszuschließen, wurden 10 Hyphenspitzen von einer 24 bis 48 h alten Kultur mit einer Nadel abgetrennt und auf Platten mit Kartoffel-Dextrose-Agar aufgebracht. Von den auswachsenden Kulturen wurde wiederum DNA isoliert und das Bandenmuster nach Amplifikation mit Primer R1 überprüft.

Zur **Dokumentation der Gele** wurden die RAPD-Fragmente mit dem Transilluminator 'T11' (Biometra) sichtbar gemacht. Die Fotografie der Gele wurde mit einer Spiegelreflexkamera mit einem Gelb-Orange-Filter und Verwendung eines Schwarzweiß-Films (Ilford PAN F50) durchgeführt.

Tab. 5: Temperaturprofil für Primer R28 (5'-ATGGATCCGC-3'), USP (5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'), T7 (5'-GTAATACGACTCACTATAG-3') und R1 (5'-GTCCATTCAGTCGGTGCT-3'), verwendet in RAPD-Untersuchungen zur Feststellung einer möglichen Differenzierung innerhalb der AG 2-2.

Zyklen	Denaturieren	Hybridisieren	Kettenverlängerung
Primer 28			
1 x	94 ° - 10 min	-	-
37 x	94 ° - 1 min	39 ° - 1 min	72 ° - 2 min
1 x	94 ° - 1 min	39 ° - 1 min	72 ° - 10 min
Primer USP			
2 x	94 ° - 5 min	50 ° - 5 min	72 ° - 5 min
37 x	94 ° - 1 min	60 ° - 1 min	72 ° - 2 min
Primer T7 und R1			
1 x	94 ° - 10 min	-	-
3 x	94 ° - 1 min	42 ° - 1 min	72 ° - 2 min
26 x	94 ° - 1 min	60 ° - 1 min	72 ° - 2 min
1 x	94 ° - 1 min	60 ° - 1 min	72 ° - 10 min

2.7 Untersuchungen zur indirekten Bekämpfung von *R. solani*

2.7.1 Fruchtfolge

2.7.1.1 Simulation unter kontrollierten Bedingungen

Der Effekt unterschiedlicher Fruchtarten auf das Inokulumpotential von *R. solani* im Boden wurde an Sorten von Winterweizen, Wintergerste, Mais, Ölrettich, Gelbsenf, Zuckerrübe und Kartoffel geprüft. Die Anzucht wurde, wie in 2.4. beschrieben, unter Gewächshausbedingungen durchgeführt. Nach 14 Tagen wurden die Pflanzen nach der in 2.5.1 beschriebenen Methode inokuliert. Als Substrat wurde das Gemisch aus Felderde, Sand und Einheitserde verwendet.

Die oberirdischen Pflanzenteile wurden nach 10 Wochen entfernt. Das Inokulumpotential im Boden wurde auf zwei Arten untersucht. Zum einen wurden in das Substrat mit vorhandener

Wurzelmasse jeweils 10 Zuckerrübensamen ausgesät. Nach weiteren 14 Tagen wurde die Anzahl gesunder Sämlinge ausgezählt. Pro Fruchtart wurden 10 Wiederholungen ausgewertet.

Zusätzlich wurden mit einem Bodenprobenehmer 2 Proben von 1 cm Durchmesser und 4 cm Tiefe pro 'Vorfrucht'-Topf entnommen. Von jeder Probe wurden 5 g mit 25 g sterilem Quarzsand in einer Petrischale vermischt. Anschließend wurden 12 unbehandelte Zuckerrübensamen pro Schale in gleichmäßigem Abstand ausgelegt. Das Sand-Erde-Gemisch wurde mit einem handelsüblichen Zerstäuber befeuchtet. Pro Fruchtart wurden 4 Wiederholungen überprüft. Die befallenen Sämlinge wurden nach dem in 2.5.2 genannten Boniturschema ausgewertet.

2.7.2 Befallserhebungen auf Praxis-Flächen

Aus verschiedenen Anbauregionen Deutschlands wurden Proben befallener Zuckerrüben untersucht. Begleitend zu den Probeneinsendungen wurden Fragebögen erstellt, die eine genauere Einschätzung der Standortbedingungen und des Befallsgrades zuließen (Tab. 7). Die aus den Fragebögen ermittelten Gemeinsamkeiten zwischen Befallsflächen wurden anschließend mit Ergebnissen aus den Untersuchungen zur biologischen und molekularbiologischen Differenzierung von Isolaten unterschiedlicher Herkunft verglichen.

Tab. 6: Fragebogen zur Erfassung pflanzenbaulicher Daten als Ursache des Befalls mit *R. solani* auf Praxisschlägen.

Kenndaten	Ausprägung
Datum der Probenahme:	-
Standort:	-
Schlaggröße:	-
Bodenart:	-
Fruchtfolge:	-
Bodenbearbeitung zu Zuckerrüben:	-
Sorte(n) und Pillierung:	-
Auftreten: Typ	a: reihenweise b: einzelnes Befallsnest c: verstreute Nester d: zusammenhängende Fläche
unregelmäßig:	einzelne Pflanzen (1-2 m ²), entlang Fahrspuren, Vorgewende, Senken
Befallsfläche:	≤ 10%, ≥ 25%, ≥ 50%, ≥ 75%
Besonderheiten (Beregnung, Düngung, Witterung):	-
Befall in Vorjahren: ja/nein	-

2.8 Untersuchungen zur direkten Bekämpfung von *R. solani*

2.8.1 Fungizide und Antagonisten

2.8.1.1 Saatgutbehandlung

In der Pillenhüllmasse wurde neben fungiziden Wirkstoffen auch die Anwendung verschiedener Stämme des Antagonisten *Bacillus subtilis* erprobt (Tab. 8). Die Saatgutbehandlungen wurden von der 'KWS Einbeck' durchgeführt. Der Erfolg der unterschiedlichen Behandlungen wurde im Gewächshaus und im Freiland unter Bedingungen natürlichen Befalls und nach Inokulation überprüft.

Tab. 7: Fungizide Wirkstoffe und Antagonisten, verwendet für Behandlungen des Zuckerrübensaatguts zur Bekämpfung von *R. solani*.

Sorte	Antagonisten und Fungizide	Aufwandmenge(n)
'Evita' + Imidacloprid (90 g/U)	+ Hymexazol	18 g ai/U
	+ Azoxystrobin	16, 24 g ai/U
	+ FZB24 + Hymexazol	4 + 18 g ai/U
'Patricia' + Imidacloprid (90 g/U)	+ Hymexazol	18 g ai/U
	+ RH130753	60 g ai/U
	+ Azoxystrobin	20 g ai/U
	+ Azoxystrobin + FZB24	20 + 4 g ai/U
	+ FZB24 + Hymexazol	4, 8 + 18 g ai/U
	+ FZB37 + Hymexazol	4 + 18 g ai/U
	+ FZB44 + Hymexazol	4 + 18 g ai/U
'Tatjana' + Imidacloprid (90 g/U)	+ FZB24	8 g ai/U
	+ Pencycuron	800 g ai/U
	+ Pencycuron + FZB24	800 + 8 g ai/U

2.8.1.2 Spritz- und Bodenbehandlungen

Die Bekämpfung des Rübenfäuleerregers durch Spritzbehandlungen wurde zunächst an im Gewächshaus angezogenen Pflanzen mit einer Reihe verschiedener Handelspräparate durchgeführt (Tab. 9). Bei einigen handelte es sich um Präparate mit bekannter Wirkung gegen *R. solani*, allerdings unbekanntem Effekt gegen bestimmte Biotypen des Erregers. Die jeweilige Aufwandmenge ist im Ergebnisteil genannt.

Tab. 8: Handelspräparate (Wirkstoffe), verwendet für Spritzungen und Bodenbehandlungen zur Bekämpfung von *R. solani*.

Handelspräparat	Wirkstoff				
Sorte ´Patricia´, behandelt mit Imidacloprid (90 g/U) und Hymexazol (18 g/U)					
Sorte ´Tatjana´, behandelt mit Imidacloprid (90 g/U) und Hymexazol (18 g/U)					
´Amistar´	250	g/l	Azoxystrobin		
´Bardos´	100	g/l	Difenoconazol		
´Brio´	150	g/l	Kresoxim-methyl,	300	g/l
´Caramba´	60	g/l	Metconazol		Fenpropimorph
´Discus´	500	g/kg	Kresoxim-methyl		
´Folicur´	251,2	g/l	Tebuconazol		
´Juwel´	125	g/l	Epoxiconazol,	125	g/l
´Monceren´ 250 FS	250	g/l	Pencycuron		Kresoxim-methyl
´Monceren´ 50 WG	500	g/kg	Pencycuron		
´Opus Top´	84	g/l	Epoxiconazol,	250	g/l
´Ridomil´ MZ Super	600	g/kg	Mancozeb,	100	g/kg
´Sumisclex´ WG	500,5	g/kg	Procymidon		Metalaxyl
´Tachigaren´ 70WP	700	g/kg	Hymexazol		
´FZB24´	B. subtilis				

2.8.1.3 Kombination von Behandlungen

Nach Erprobung der Fungizide und des Antagonisten unter Gewächshausbedingungen wurde die Kombination von Saatgut- und anschließender Spritzbehandlung unter gleichen Bedingungen bzw. im Freiland geprüft. Neben der Spritzung wurde auch eine Bodenbehandlung mit Einmischen des Fungizids erprobt (Tab. 10).

Tab. 9: Saatgutbehandlungen in Kombination mit Spritzungen oder Bodenbehandlungen zur Bekämpfung von *R. solani*.

Sorte	Saatgutbehandlung	Wirkstoffmenge	Spritzung / Bodenbehandlung	Wirkstoffmenge
'Patricia' + Imidacloprid (90 g/U)	Azoxystrobin	20 g/U	'Opus Top'	1,5 l/ha
			'Amistar'	1 l/ha
			'Monceren'	1 l/ha
			'Diskus'	1 l/ha
			'Folicur'	1,5 l/ha
			'Caramba'	1,5 l/ha
'Patricia' + Imidacloprid (90 g/U)	RH130753	60 g/U	'Opus Top'	1,5 l/ha
			'Amistar'	1 l/ha
			'Monceren'	1 l/ha
			'Diskus'	1 l/ha
			'Folicur'	1,5 l/ha
			'Caramba'	1,5 l/ha
'Patricia' + Imidacloprid (90 g/U)	FZB24 + Hymexazol	4 + 18 g/U	'Caramba'	1 l/ha
	FZB24 + Hymexazol	4 + 18 g/U	'Amistar'	1,5 l/ha
	FZB24 + Hymexazol	4, 8 + 18 g/U	'FZB24'	140 g/ha
	FZB24 + Azoxystrobin	4 + 20 g/U	'FZB24'	140 g/ha
'Tatjana' + Imidacloprid (90 g/U)	FZB24	8 g/U	'Monceren' 50WG	1,25 kg
	FZB24	8 g/U	'Monceren' 250FS	1,25 kg

2.8.1.4 Versuchsanlage

Unter **Gewächshausbedingungen** erfolgte die Fungizidapplikation direkt bzw. 2 d nach Inokulation. Die Pflanzen wurden bis zur Tropfnässe besprüht. Als Bodenbehandlung wurde 'Monceren 250 FS' unter die Zuckerrübenpille appliziert bzw. 'Monceren 50 WG' in den oberen Topfinhalt eingemischt und anschließend das Saatgut ausgesät. Die Aufwandmenge wurde bestimmt, indem eine praxisrelevante Menge in 400 l/ha Wasser auf die untersuchte Pflanzenzahl umgerechnet wurde.

Die Parzellengröße der **inokulierten Flächen** am Standort Bonn betrug sowohl für Saatgut- als auch Spritzbehandlungen 4 m Länge bei einer Breite von jeweils sechs Reihen. Die einzelnen Versuchsvarianten wurden in vier Blöcken angelegt. Die Aussaat im Versuchsjahr 1997 erfolgte am 18. April, 1998 am 2. Mai und 1999 am 27./28.04. April.

Versuche auf **Flächen mit natürlichem Befall** wurden dort angelegt, wo in den Vorjahren bereits starke Schäden mit der späten Rübenfäule beobachtet worden waren. In 1996 wurde der Resistenzgrad von Linien und die Eignung von Fungiziden zur Bekämpfung der späten Rübenfäule auf einem Standort in Elsdorf mit der Vorfrucht Winterweizen durchgeführt. Der Versuch wurde vom RRV Bonn und dem LIZ Elsdorf als randomisierte Blockanlage in vier Blöcken angelegt. Die Aussaat des Versuches erfolgte dreireihig (Pillierungen) bzw. sechsreihig (Sorten) auf einer Parzellenlänge von 2,70 m. Der Pillierungsversuch wurde in vier Wiederholungen angelegt, der Sortenvergleich in sechs Wiederholungen. Ein weiterer Versuch wurde in Borken angelegt. Dort wurde in einer Streifenversuchsanlage die Anwendung von Fungiziden und Antagonisten als Saatgutapplikation erprobt.

Auf der bereits im Vorjahr genutzten Fläche in Elsdorf wurden in 1997 erneut Versuche angelegt. Die Fläche wurde auf das in 1996 am stärksten betroffene Befallsnest beschränkt und verminderte sich damit auf zwei Blöcke mit sechs Wiederholungen je Versuchsvariante. Die Aussaat erfolgte sechsreihig. Erprobt wurde wiederum die Verwendung resistenter Linien sowie die Anwendung von Fungiziden und Antagonisten in der Pillenhüllmasse als (in-)direkte Bekämpfungsmaßnahmen.

In 1998 erfolgte am 27./28. März die Aussaat auf einer Versuchsfläche in Niederbayern. Es handelte es sich um eine Praxisfläche mit Langparzellen von jeweils 12 m Breite. In fünf verschiedenen, quer zu den Varianten liegenden Befallsnestern wurden am 30. Juli Boniturfelder mit einer Größe von 5,40 m x 5 m markiert. Es handelte sich hier um Saatgut- und Spritzbehandlungen. Spritzungen wurden jeweils am 15.05., 22.06. und 11.08. appliziert. Ein weiterer Versuch wurde im Rheinland angelegt. Es zeigte sich jedoch bis zur Ernte nur sehr schwacher Befall, aufgrund dessen keine Differenzierung der Versuchsvarianten möglich war.

Im Versuchsjahr 1999 wurde am Standort Aachen Horbach vor Aussaat eine Applikation von 'Monceren 250 FS' mit einer Aufwandmenge von 5 l/ha in die offene Saatfurche durchgeführt. Als weitere Versuchsvariante wurde 'Monceren 50 WG' (2,5 kg/ha bzw. 10 kg/ha) vor der Aussaat am 10.04. mit einem Reihendüngerstreuer in die markierte Saatreihe ausgebracht und die Zuckerrübensorte 'Tatjana' anschließend ausgesät. Der Versuch wurde in acht Blöcken angelegt. Die Parzellengröße betrug vier Reihen bei 7,50 m Länge.

2.9 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm 'Sigmastat Version 2.03'. Bei vorliegender Normalverteilung und Varianzhomogenität wurden Unterschiede zwischen Mittelwerten mit der einfaktoriellen Varianzanalyse ($P \leq 0,05$) überprüft. Vergleiche der Kontrolle zu Behandlungsvarianten wurden mit dem LSD-Test durchgeführt ('Statistica 6.0'). Signifikanzen zwischen Mittelwerten wurden mit dem TUKEY-Test bestimmt und sind mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet (a, b, c, d). War die Bedingung der Normalverteilung nicht erfüllt, wurde der KRUSKAL-WALLIS-Test durchgeführt. Paarweise Vergleiche zu einer Kontrollgruppe wurden mit dem DUNNETT-Test überprüft. Die Stärke des Zusammenhangs zwischen Versuchsergebnissen wurde mit der Korrelationsanalyse (Produkt-Moment-Korrelation) bestimmt. Regressionen in Dosis-Wirkungs-Beziehungen zur Ermittlung des ED_{50} wurden mit dem Programm 'Bfit' nach ORTEGA et al. (1997) berechnet.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Symptome der späten Rübenfäule

R. solani verursachte unterschiedliche Schadsymptome an der Zuckerrübenpflanze. Bei Frühbefall wurde schon das Zweiblattstadium erfaßt. Die Pflanzen fielen um und zeigten die typische Einschnürung am Wurzelhals. Die Isolierung des Erregers ergab, daß es sich auch hier um die 'späte Rübenfäule' handelte. Später in der Vegetation erschienen die Pflanzen zunächst noch oberirdisch gesund, unterirdisch hatten sich jedoch mehr oder weniger tiefreichende Faulstellen ausgebildet. Nach der Ernte verblieben völlig verfaulte Rübenkörper auf der Fläche. Nur teilweise geschädigte Rüben faulten während der Lagerung weiter (Abb. 1).



Abb. 1: Fäule an Zuckerrüben, verursacht durch *R. solani*. Ausgehend von kleinen Flecken bilden sich tiefgehende Fäulestellen, meist im Halsbereich des Rübenkörpers. Die Pflanze erscheint oberirdisch gesund. Nachfolgend stirbt die Zuckerrübenpflanze vollständig ab. Es bilden sich Befallsnester unterschiedlicher Größe, in denen alle Stadien der Krankheit gefunden werden.



3.2 Inokulumpotential auf Befallsflächen

In den Versuchsjahren 1996 und 1997 wurden von verschiedenen Zuckerrübenflächen in 0 bis 10 cm Tiefe Bodenproben genommen, um diese auf die Größe des Pathogeninokulum zu überprüfen. Bekannt ist, daß sich der größte Teil des Inokulum von *R. solani* AG 8 im Oberboden in 0 bis 7,5 cm Tiefe befindet (MACNISH & DODMAN, 1987). Das Überleben des Pathogens in tieferen Bodenschichten ist gering (RUPPEL, 1991). So reduzierte auch das Pflügen auf 30 cm Tiefe signifikant das Auftreten und die Stärke von Läsionen an der Kartoffel, verursacht durch die AG 3 (LEACH, 1993). Von Zuckerrübenflächen, die aufgrund einer Rotationsdauer von 2 bis 3 Jahren ein erhöhtes Gefährdungspotential aufwiesen, jedoch nie großflächigen Befall gezeigt hatten, konnte *R. solani* mit der verwendeten Methode nicht isoliert werden. Weiterhin wurden daher Flächen mit typischen Befallssymptomen beprobt.

Am Standort Aachen mit der aktuellen Fruchtart 'Zuckerrübe' konnte in der organischen Fraktion $\geq 315 \mu\text{m}$ ein Inokulumpotential von 4,1 VE pro 50 g Boden bestimmt werden (Tab. 11). Die Verteilung von cfu des Erregers über die Fläche war gleichmäßig. In 12 von insgesamt 20 Proben konnte *R. solani* nachgewiesen werden. In einem Fall konnten 20 Kolonien in 50 g Boden festgestellt werden, die übrigen Proben wiesen eine Inokulummenge zwischen 1 und 5 Kolonien in 50 g Boden auf. Die Probenahme erfolgte am 16. Juli. Zu diesem Zeitpunkt zeigte die gesamte Fläche nesterweise Befall. Der Anteil befallener Fläche wurde auf 15 % der Gesamtfläche geschätzt. In etwa 200 m Entfernung wurde eine weitere Fläche am Standort Aachen beprobt. Auch hier wurden im Untersuchungsjahr Zuckerrüben angebaut. Der Befall dort war weniger gleichmäßig, sondern auf einige größere Befallsnester begrenzt. Insgesamt waren zum Probenahmetermin weniger als 10 % der Fläche befallen. Dort konnten nur in 7 von 20 Proben Vermehrungseinheiten (VE) von *R. solani* festgestellt werden. Das Inokulumpotential lag hier zwischen 1 und 5 Kolonien pro 50 g Boden. Im Mittel konnten 1,8 VE in 50 g Boden nachgewiesen werden.

Am Standort Euskirchen wurden am 05. Juni Bodenproben auf einer Fläche genommen, auf der im Vorjahr Zuckerrüben und in der aktuellen Vegetation Winterweizen angebaut wurde. Die Vorfrucht zeigte große Rübenfäulenester an beiden Vorgewenden, sowie kleinere Befallsnester auf der Fläche. Im Jahr der Probenahme konnte an 6 Probenahmestellen *R. solani* nachgewiesen werden. In keinem Fall wurde mehr als eine VE in 50 g Boden gefunden. Die aus dem Vorjahr bekannten Befallsschwerpunkte konnten nicht mehr nachgewiesen werden. Eine benachbarte Fläche wurde zum gleichen Zeitpunkt beprobt. Die Untersuchung der Bodenproben im oberen und unteren Randbereich der Fläche ergab ein hohes Inokulumpotential. Dieses betrug 17 bzw. 18 Kolonien je 50 g Boden und lag damit deutlich über dem Wert der übrigen Fläche. Aus acht von 20 über die Fläche verteilt gezogenen Proben konnte *R. solani* isoliert werden. Innerhalb der Fläche wurde im Mittel eine Kolonie-bildende Einheit pro 50 g Boden gefunden. Die gesamte Fläche zeigte als Mittelwert eine Population von 4,2 VE pro 50 g Boden.

Auf den Flächen in Rödingen und Titz wurden nicht im Jahr der Probenahme, sondern im Vorjahr Zuckerrüben und aktuell die Fruchtart Winterweizen angebaut. In Rödingen wiesen 8 von 20 Proben VE von *R. solani* auf. Durchschnittlich wurden 0,5 VE pro 50 g Boden

isoliert. Befallsschwerpunkte waren nicht erkennbar. Wenige Kilometer entfernt wurden am Standort Titz 20 Bodenproben genommen. Auch hier zeigte sich eine gleichmäßige Verteilung der *Rhizoctonia*-Inokulumeinheiten über die Fläche. Insgesamt konnte aus 14 von 20 Proben *R. solani* isoliert werden. Die durchschnittliche Zahl von Vermehrungseinheiten lag bei 1 VE je 50 g Boden.

Die Befallsflächen in Titz und Rödingen wurden zu unterschiedlichen, aufeinanderfolgenden Zeitpunkten untersucht. Bei der erneuten Probenahme Ende Juli konnten zum Zeitpunkt der Abreife des Weizens nur noch geringe Inokulumengen wiedergefunden werden. In Borken wurde die Probenahme am 23. Juli durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt wurden nur 2 VE je 50 g isoliert. Die Pflanzen zeigten zu Beginn der Untersuchungen deutliche Symptome, aber auch latenten Befall. Oberirdisch konnte jedoch kein Befall festgestellt werden.

Am Standort Elsdorf wurde die höchste Zahl mit 8,3 VE je 50 g ermittelt. Obwohl insgesamt nur eine geringe Zahl von Flächen untersucht wurden, zeigte sich, daß Populationsgrößen unterschieden werden konnten.

Tab. 10: Vermehrungseinheiten von *R. solani* an 20 Probenahmestellen verschiedener Flächen mit der Fruchtart Zuckerrübe bzw. Winterweizen. Anzahl der VE in der organischen Substanz ($\geq 315 \mu\text{m}$) von 50 g luftgetrockneten Bodens.

<i>R. solani</i> VE/50g Boden	Aa 1	Aa 2	Eu 1	Eu 2	Rö	Ti	Bo	El
Fruchtart	ZR	ZR	WW	ZR	WW	WW	ZR	ZR
0	8	13	14	12	12	6	-	3
1	5	1	6	5	6	11	2	4
2	4	4	-	1	2	1	-	2
3-5	2	2	-	-	-	2	-	11
>>5	1	-	-	2	-	-	-	2
Mittel je 50g	4,1	1,8	0,6	4,2	1	2	0,2	8,3

In Bereichen gesunder Pflanzen wurden immer weniger als 30 Kolonien je 50 g, in Befallsnestern bis zu 400 VE gefunden (ROBERTS & HERR, 1979). Untersuchungen durch Naßsieben von Bodenproben ergaben Populationen der AG 4 und 3 zwischen 0 und 15 VE je 100 g Boden (WEINHOLD, 1977). Dabei enthielten 77 % der Böden weniger als 2 VE pro 100 g Boden. Nur 13 % lagen im Bereich über 5 VE je 100 g. In den hier dargestellten Untersuchungen wurden maximal 18 VE aus 50 g Boden isoliert und dies an Vorgewenden in der Nähe zu später erkennbaren Befallsnestern. Das stärkere Auftreten auf den Vorgewenden ist auf Verdichtungen zurückzuführen. Eine Verdichtung des Bodens führt zum vermehrten Auftreten von Wurzelfäule, ein Durchmischen verringert die Krankheit (MACNISH, 1984). Ein Durchmischen und nachfolgende Verdichtung fördert sie ebenfalls. Vergleichsweise hoch war die Kolonienzahl in der Folgefrucht Weizen. Bekannt ist jedoch,

daß *R. solani* in Form von Skerotien bei Einarbeitung in feuchten Boden für mindestens 21 Monate überlebt (MANIAN & MANIBHUSHANRAO, 1990). Auf beiden Weizenparzellen konnte eine sehr gleichmäßige Verteilung des Inokulums festgestellt werden. Befallsnester schienen nicht mehr zu existieren. Durch Bearbeitungsmaßnahmen hatte eine Homogenisierung stattgefunden. Auf dem Standort Borken, der im Untersuchungsjahr nur eine sehr geringe Population aufwies, kann vermutlich ein Zusammenhang zu antagonistisch wirkenden Bodenpilzen, insbesondere *Fusarium spp.* hergestellt werden (Abb. 2).

Untersucht wurden die gewonnen Isolate nur auf ihre Mehrkernigkeit. Nach Feststellung der AG-Zugehörigkeit konnte die Zahl der mehrkernigen Isolate mit der Zahl der AG 2-2-Isolate gleichgesetzt werden. Die Untersuchung der Befallsflächen in 1997 zeigte, daß größtenteils nur geringe Populationen auftraten. Die Frage bleibt offen, ob Böden, aus denen keine VE von *R. solani* isoliert wurden und die bisher keinen Befall gezeigt hatten, tatsächlich inokulumfrei waren, oder die Methode nur zu wenig sensitiv reagiert. Das hier verwendete Verfahren gibt keinen genauen Wert für die Größe einer cfu oder einer Population, kann aber verwendet werden, um einen möglichen Befallszuwachs aufgrund des aktuellen Inokulums zu ermitteln, oder Flächen in Relation zu vergleichen. Die Frage stellt sich, ob mit molekularbiologischen Mitteln eine genaue Differenzierung und Quantifizierung möglich ist. Weitere Untersuchungen müssen im Bereich der serologischen Nachweisverfahren und der Verwendung von Gensonden unternommen werden. Bisher war jedoch in der Bodenuntersuchung auf das Vorkommen von Vermehrungseinheiten der AG 2-2 keine der beiden Methoden erfolgreich. Beide Verfahren haben zudem den Nachteil, daß sie vitales und totes Material nicht unterscheiden können, so daß das Gefährdungspotential durch VE in Form von Hyphen oder Sklerotien (Abb. 3) überschätzt wird.

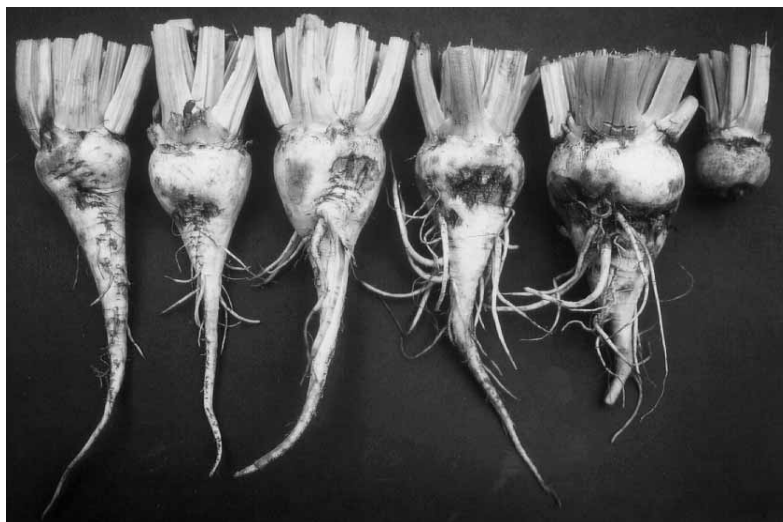


Abb. 2: Untersuchung von Rübenkörpern der Versuchsfläche Borken auf Fäulesymptome, verursacht durch *R. solani*. Neben einer Mischinfektion, bedingt durch den Rübenfäuleerreger und den durch Bakterien hervorgerufenen Gürtelschorf, zeigt die Rübe rechts den typischen 'Wurzelknopf', verursacht durch *Fusarium spp.*.

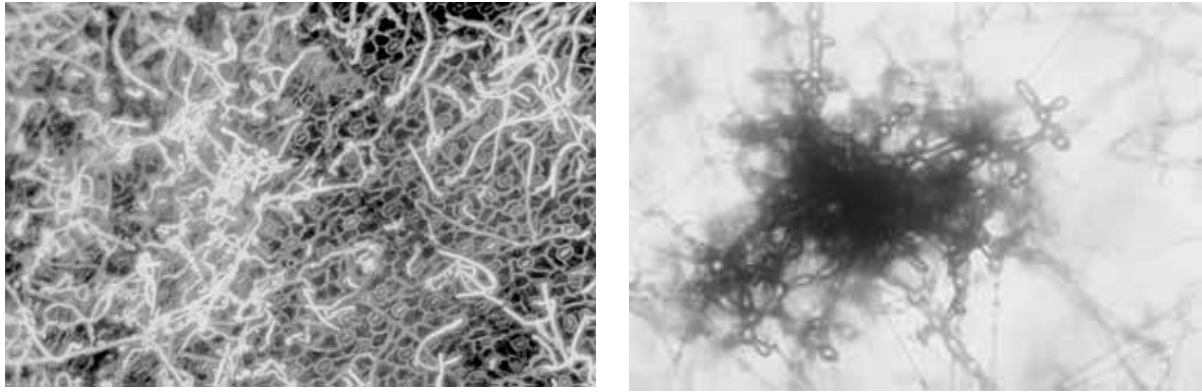


Abb. 3: Hyphen von *R. solani* auf pflanzlichem Gewebe und Sklerotienbildung durch Aggregation monilioider Zellen.

3.3 Differenzierung von Isolaten

3.3.1 Kernfärbung

Der aus Bodenproben und Pflanzenmaterial isolierte Erreger wurde auf Zwei- oder Mehrkernigkeit untersucht. Zweikernige Isolate wurden nicht genauer differenziert. Mehrkernige Isolate wurden sowohl mit Hilfe der Anastomosereaktion als auch mit der RAPD-Analyse charakterisiert.

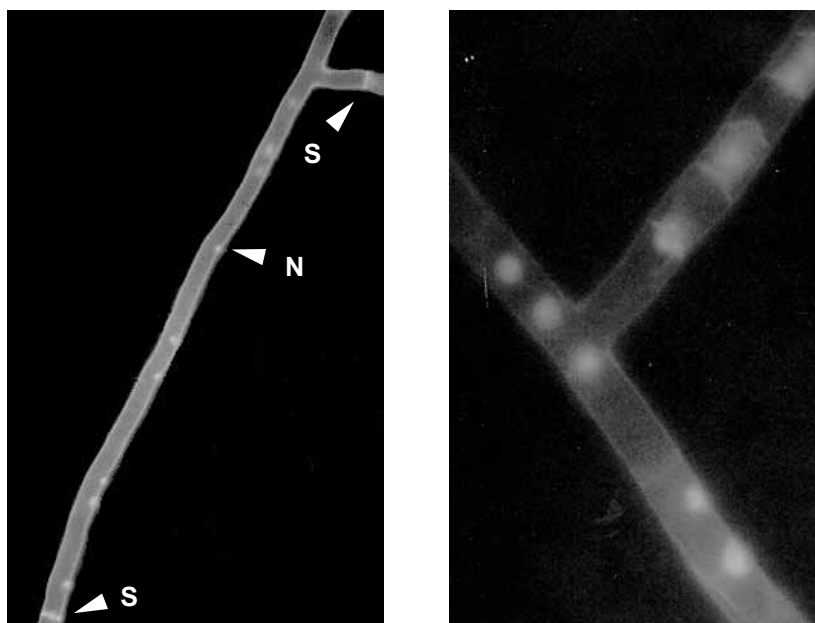


Abb. 4: Untersuchung von *R. solani*-Isolaten auf Mehrkernigkeit (Ethidiumbromid + Acridin-Orange). N=Nukleus, S=Septum.

3.3.2 Differenzierung mittels Anastomosereaktion

Die Isolate von *R. solani* wurden mit klassischen Bestimmungsmethoden einer Anastomosegruppe (AG) zugeordnet. Die Auswertung der Fusionspunkte zwischen einem Testerisolat und dem zu testendem Isolat ergab, daß Isolate aus Deutschland mit nur wenigen Ausnahmen der AG 2-2 angehörten. Nur Isolate aus Chile, die ebenfalls von älteren Pflanzen gewonnen wurden, bildeten Hyphenfusionen mit der AG 4. Kulturen, die nicht der AG 2-2 zuzuordnen waren, wurden in den weiteren Untersuchungen nicht berücksichtigt. Wurde die Hyphenreaktion zwischen Isolaten unterschiedlicher Standorte näher bestimmt, handelte es sich um eine 'killing reaction' (Abb. 5 bis 7), die eine genetische Identität ausschließt. Da eine weitere Aussage zur Differenzierung der AG 2-2 mit dieser Methode nicht möglich ist, wurde auf die detaillierte Untersuchung der Hyphenreaktion aller Kulturen der AG 2-2 verzichtet und eine Methode zur genetischen Abgrenzung von Isolaten erprobt.

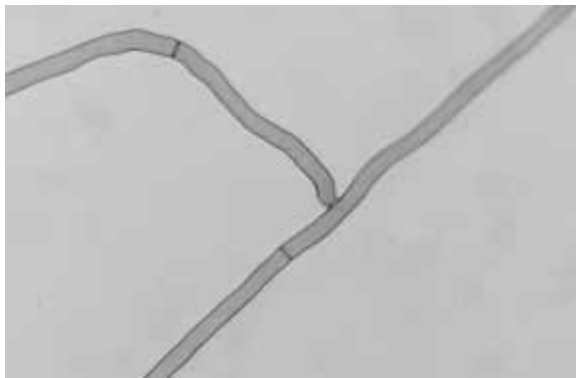


Abb. 5: Hyphenreaktion C1= Isolate sind entfernt verwandt. Nach der Anastomose der Zellwände ist keine Penetration der Zellwand oder Membran-Membran-Kontakt feststellbar.

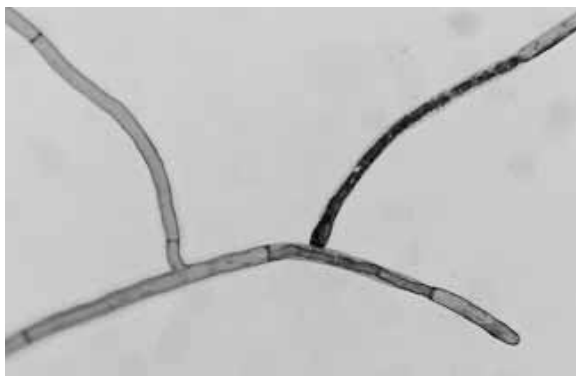


Abb. 6: Hyphenreaktion C2 = Isolate sind verwandt. Die Anastomosenbildenden und benachbarten Zellen sterben ab.

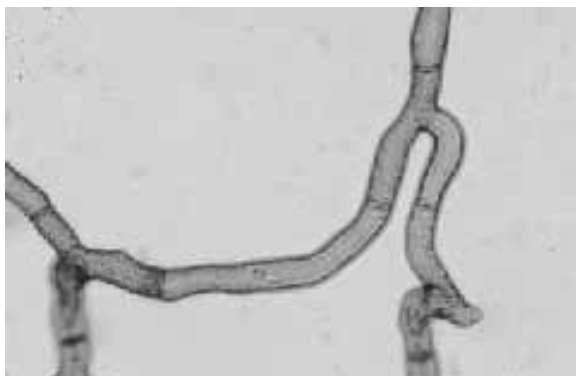


Abb. 7: Hyphenreaktion C3 = Zellwand- und Membranfusion. Hyphendurchmesser an der Fusionsstelle entspricht dem des übrigen Hyphenabschnitts. Zellen sterben nicht ab.

Die AG 2-2 wurde nach Literaturangaben selten an Zuckerrübensämlingen gefunden. Wurde diese Anastomosegruppe dennoch häufiger isoliert, konnte dies damit begründet werden, daß Flächen untersucht wurden, auf denen sich die AG 2-2 bereits etabliert hatte (NAITO et al., 1975). In den hier dargestellten Untersuchungen wurde festgestellt, daß die AG 2-2 schon sehr früh im Mai/Juni isoliert werden konnte. Von Flächen, die in Vorjahren Befall gezeigt hatten, wurde auch schon bei Frühbefall ausschließlich die AG 2-2 isoliert. Wurden verschiedene Flächen beprobt, auf denen die AG 2-2 identifiziert wurde, so konnte zwischen den Hyphen die 'killing reaction' beobachtet werden. Die Ausbildung einer C2-Reaktion, also der Fusion mit anschließendem Zelltod, könnte ein Schutz vor horizontalem Gentransfer sein und/oder die Bildung einer Niche durch den Pilz ermöglichen (FLENTJE & STRETTON, 1964). Die Ausbildung einer solchen Niche zeigte sich beispielsweise darin, daß zusammenfließende Befallsnester der AG 8 nicht in der Lage waren, den Boden, der durch ein anderes Isolat besetzt war, zu besiedeln. Zwischen Isolaten weiter entfernter Flächen konnte eine C3-Reaktion beobachtet werden (MACNISH et al., 1993 a, b, c).

Eine Differenzierung von Untergruppen der AG 2-2 kann mit Hilfe der Anastomosereaktion nicht getroffen werden. Das AG-Konzept gibt keine Information über genetische Variation und taxonomische Beziehungen innerhalb und zwischen AGs. Es wird vermutet, daß das Anastomose-Verhalten auf eine genetische Beziehung hinweisen kann, aber nicht immer die evolutionäre Beziehung widerspiegelt (KUNINAGA et al., 1979). Bei der AG 1 konnte bei dem Zusammenwachsen auf Petrischalen die Bildung heterokaryotischer Büschel zwischen gepaarten Homokaryons, unabhängig von vegetativen Inkompatibilitätsprozessen, festgestellt werden. Auch eine Heterokaryotisierung homokaryotischen Myzels sowie eine spontane Lysis von Zellen einiger homokaryotischer Nachkommen eines Feldisolates wurde beobachtet (JULIAN et al., 1996). Die sexuelle und vegetative Inkompatibilität operieren, bisher bei der AG 1 festgestellt, unabhängig voneinander und stellen damit weitere Kombinationsmöglichkeiten zu Verfügung. Die somatische Inkompatibilität unterscheidet somit Individuen, deren Verwandtschaft jedoch mit anderen Mitteln untersucht werden muß.

3.3.3 Differenzierung mit RAPD-PCR

Die vegetative Kompatibilität kann Fragen zur Verwandtschaft unbekannter Isolate einer Population nicht endgültig beantworten. Eine genauere Differenzierung kann über genetische Untersuchungen erzielt werden. Hilfreich bei der Anwendung der RAPD-PCR ist, daß die entstehende Vielzahl von Banden verschiedener Isolate einer unbekannten Population auf Gleichheiten im Bandenmuster untersucht werden kann.

3.3.3.1 Differenzierung zwischen Anastomosegruppen

Die weitere Differenzierung mittels RAPD PCR wurde zunächst nicht auf Isolate der AG 2-2 beschränkt, sondern an verschiedenen Anastomosegruppen auf ihre Eignung untersucht. Bei den Gruppen handelte es sich, wie in Abbildung 8 dargestellt, um die Anastomosegruppen AG 1, 2-1, 3, 4 und im Vergleich dazu die AG 2-2. Primer R1 generierte Polymorphismen, die eine deutliche Unterscheidung zwischen den Isolaten ermöglichten. Die erzeugten Fragmente lagen im Größenbereich von 250 bis 2000 bp.

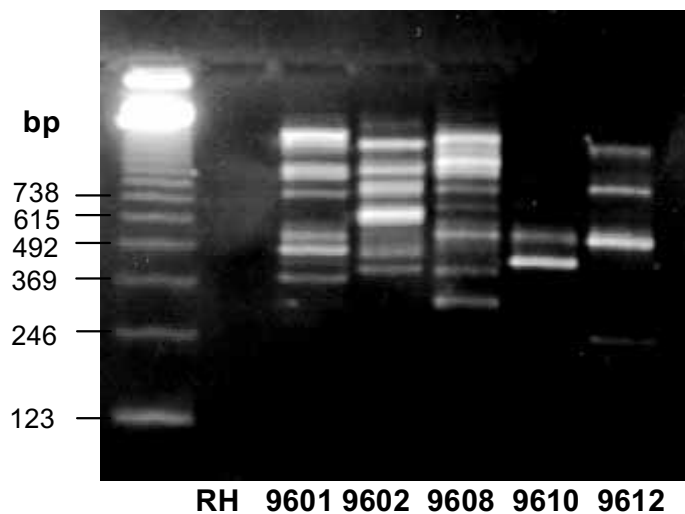


Abb. 8: Agarosegel mit RAPD-Bandenmustern von *R. solani* AG1 (RH9601), 2-1 (RH9602), 3 (RH9608), 4 (RH9610) und 2-2 (RH9612) nach Amplifikation mit Primer R1.

Wurde eine größere Zahl von AGs sowie der Isolate je AG untersucht, zeigten sich die in Abbildung 9 dargestellten Banden. Mit Primer R1 erschienen die Bandenmuster für die AG 1-1, die AG 1-3 und das 'bridging' Isolat BI uniform. Diese konnten jedoch klar von der AG 1-2 sowie der AG 5 differenziert werden. Ein für die AG 2-2 spezifisches Bandenmuster konnte nicht festgestellt werden. Allerdings wurde für die AG 2-2IIIB, AG 2-2IV, sowie weiter zu differenzierende Isolate der AG 2-2 ein deutliches Fragment mit einer Länge von 500 bp erzeugt, das für alle genannten Isolate einheitlich war. Bei den bisher nicht weiter differenzierten Kulturen der AG 2-2 mit Bezeichnung RH9741 und RH9742 handelte es sich um Isolate derselben Befallsfläche. Die Bandenmuster waren völlig monomorph. Eine Unterscheidung zeigte sich zu Isolat RH9743, das von einer weiter entfernten Befallsfläche isoliert wurde. Beide Muster stimmten nicht überein mit den in Abbildung 8 gezeigten Banden der AG 2-2 von Isolat RH9612. Somit ergaben sich für Isolate der AG 2-2 bisher drei unterschiedliche Bandenmuster, die sich wiederum unterschieden zu den untersuchten Kulturen der AG 2-2IIIB und IV. Der Primer R1 konnte damit sowohl für eine Unterscheidung zwischen Anastomosegruppen als auch innerhalb einer Gruppe verwendet werden.

Bei der Untersuchung der Korrelation zwischen Anastomoseverhalten und genetischer Isolation wurde festgestellt, daß unterschiedliche Gruppen, die anhand der Fusionshäufigkeit unterschieden werden können, sich auch im prozentualen Anteil homologer DNA unterscheiden (KUNINAGA & YOKOSAWA, 1985). Durch DNA Fingerprinting konnten ähnliche Genotypen von verschiedenen geographischen Orten bestimmt werden (BALALI et al., 1996). Andererseits waren sowohl Isolate derselben als auch verschiedener Regionen unterschiedlich (MATTHEW et al., 1995). Eine Variation innerhalb einer Gruppe wurde in allen AGs beobachtet. Die höchste Stufe der Variabilität wurde zwischen Isolaten der AG 2 und deren Untergruppen AG 2-1 und AG 2-2 festgestellt (JABAJI-HARE et al., 1990).

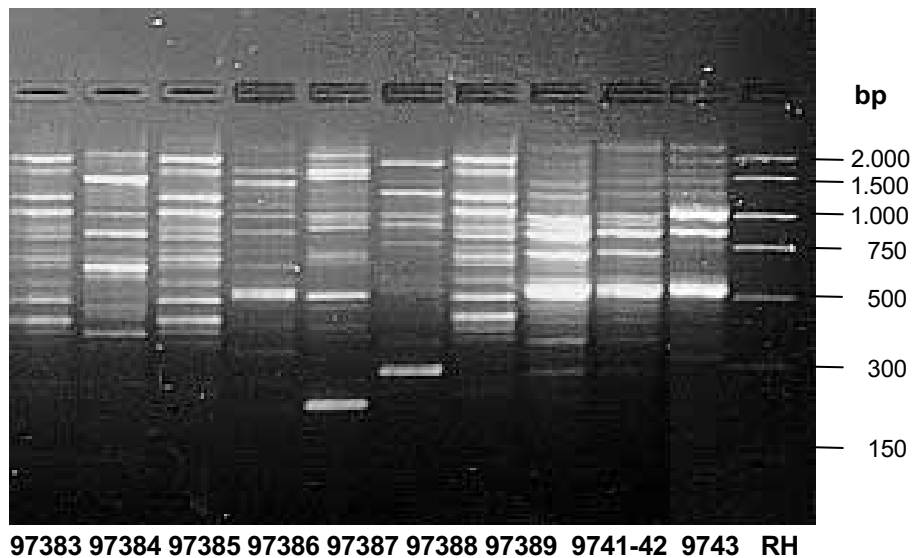


Abb. 9: Agarosegel mit RAPD-Bandenmustern von *R. solani* AG1-1 (RH97383), 1-2 (RH97384), 1-3 (RH97385), 2-IIIB (RH97386), 2-2IV (RH97387), 5 (RH97388), BI (97389) sowie den Isolaten der AG 2-2 (RH9741/42, RH9743) nach Amplifikation mit Primer R1.

3.3.3.2 Differenzierung innerhalb der AG 2-2

Mit **Primer R1** konnte eine deutliche Unterscheidung zwischen Isolaten von *R. solani* festgestellt werden. Diese Differenzierung wurde anhand der Verwendung der Primer **USP und R28** überprüft (Abb. 10). Getestet wurde dabei ein Isolat der AG 4, sowie jeweils zwei Isolate der AG 2-2 unterschiedlicher Befallsnester derselben Fläche. Dabei handelte es sich um RH9612 und RH9613 vom Standort Euskirchen, RH9615 und RH9617 einer Fläche in Jülich, RH9640 und RH9641 vom Standort Euskirchen, isoliert aus dem Boden, RH9642 und RH9643 einer Befallsfläche in Aachen sowie RH9677 und RH9678 von einer Fläche in Appeldorn. Es zeigte sich, daß sich bei Verwendung aller Primer das Bandenmuster der AG 4 deutlich von dem der AG 2-2 abhob.

Die Primer unterschieden sich insbesondere in der Zahl und Deutlichkeit der Banden. Aus diesem Grunde geeignet waren insbesondere die Amplifikationsprodukte von Primer R1. Eine Differenzierung von Isolaten der AG 2-2 konnte mit allen getesteten Primern erzielt werden. Dabei zeigten sich monomorphe Bandenmuster, wenn die Isolate von einer einzelnen Befallsfläche stammten. Identische Muster konnten auch bei Herkunft aus Boden oder Pflanzenmaterial wie am Beispiel von 'Euskirchen' festgestellt werden. Weiterhin ergaben sich Polymorphismen zwischen Kulturen verschiedener Standorte sowohl mit R1 als auch mit USP und R28. Primer R1 wurde für die weiteren Untersuchungen verwendet.

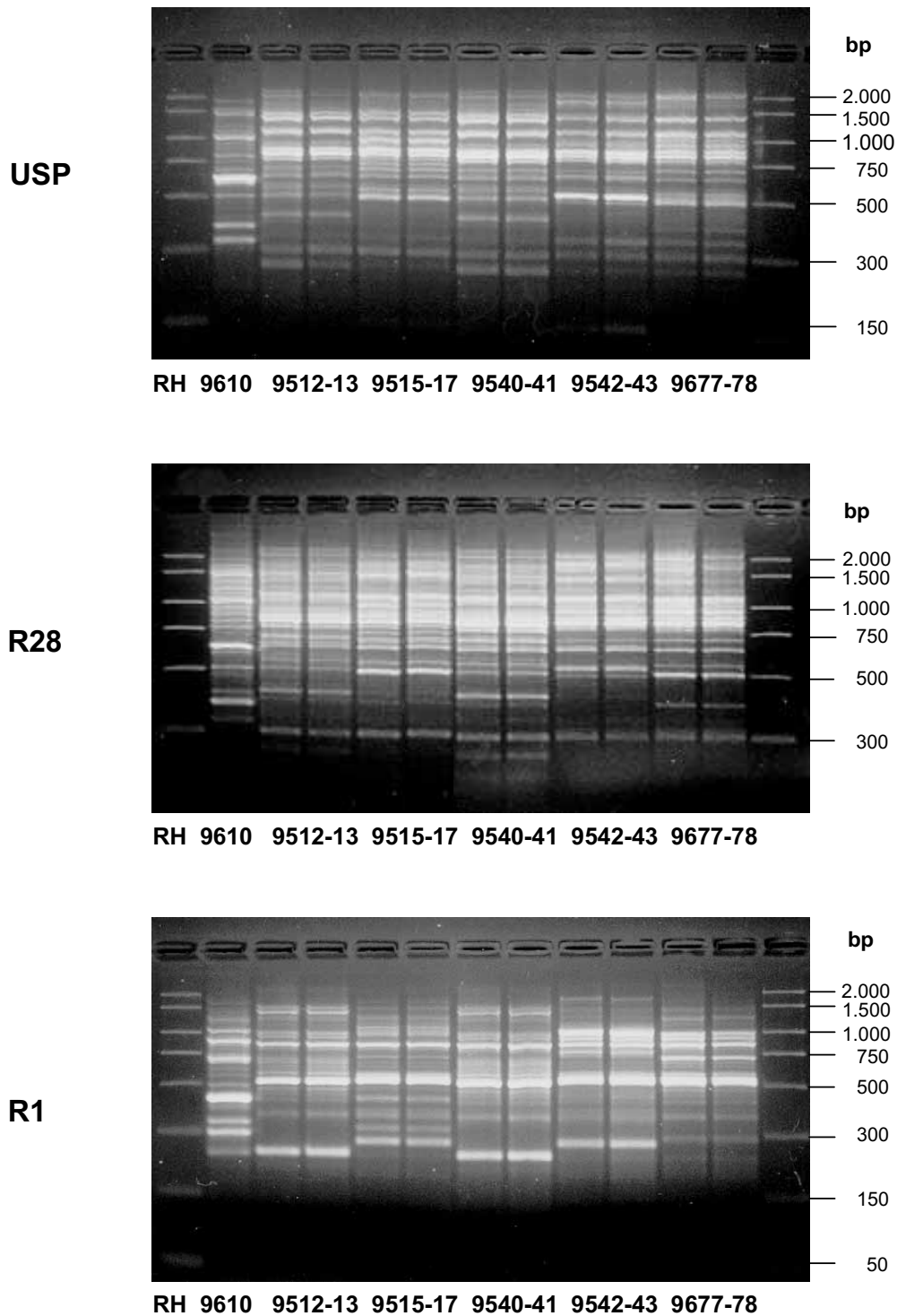


Abb. 10: Agarosegel mit RAPD-Bandenmustern von *R. solani* AG 5 (RH9610) und Isolatn der AG 2-2 (RH9512-13, 9515-17, 9540-41, 9542-43, 9677-78) unterschiedlicher Befallsflächen nach Amplifikation mit den Primern USP, R28 und R1.

Die Einheitlichkeit der Population auf einer Befallsfläche und zugleich die Vielzahl von Typen der AG-2-2 wurde anhand der Untersuchung einer Reihe von Isolat in den Versuchsjahren 1996, 1997 und 1998 überprüft. Beprobte wurden im **Versuchsjahr 1996** nur Befallsflächen im Rheinland (Abb. 11). Die Isolate RH9512 bis RH9514 sowie RH9540 und RH9541 vom Standort Euskirchen waren monomorph. Isolate mit diesem Bandenmuster werden in folgenden Ausführungen zum besseren Vergleich mit den anderen Versuchsjahren als **Typ 1** bezeichnet. Bandenmuster von Isolat der Standorte Jülich (RH9515-16), Ameln (RH17-18), Aachen (RH9520) und Isolate aus Boden (RH9696-99) und Pflanzenmaterial (RH96116-118) einer Fläche in Elsdorf waren sowohl innerhalb der Fläche, als auch im Vergleich miteinander identisch. Diese wurden als Muster vom **Typ 2** bezeichnet. Isolate von weiteren Befallsflächen in Aachen (RH9521, 9644-52, RH9654-59, RH9660-75), Neuss (RH9522) und Geldern (RH96103-108) unterschieden sich wiederum zu den übrigen, aber nicht untereinander, und wurden damit dem **Typ 3** zugeordnet. Eine von den übrigen Typen verschiedene, deutliche Bande mit einer Länge von 750 bp zeigte sich bei Mustern der **Typ 4**-Isolate vom Standort Appeldorn (RH9677-87). Die geographische Entfernung kann damit Hinweis auf das Auftreten eines anderen Erregertypen sein, es ist aber auch möglich, daß weit entfernte Standorte denselben Erregertypen aufweisen. Bei RH96147 und RH96156 handelte es sich um Isolate aus Bodenproben der Befallsfläche in Rödingen, auf der im Vorjahr die späte Rübenfäule Ertragsverluste verursacht hatte und aktuell Winterweizen angebaut wurde. Auch hier konnte der Erreger dem bereits bekannten Typ 3 zugeordnet werden. Nach einem Hyphenspitzen transfer konnten keine Unterschiede der RAPD-Bandenmuster der neu gewonnen Isolate zu den Ursprungsisolaten der unterschiedlichen Typen gefunden werden.

Für das Versuchsjahr 1996 ergaben sich die in Tab. 11 dargestellten Häufigkeiten für das Auftreten der unterschiedlichen Typen. Aus der Darstellung ist ersichtlich, daß die Typen 2 und 3 mit 28 bzw. 50 % der beprobten Flächen am häufigsten isoliert wurden. Typ 1 wurde mit 17 % deutlich weniger häufig gefunden. Und von nur einer Fläche wurde Typ 4 isoliert.

Tab. 11: Häufigkeit des Auftretens mittels RAPD-PCR unterscheidbarer Typen der AG 2-2 im Versuchsjahr 1996.

AG 2-2	Typ 1	Typ 2	Typ 3	Typ 4	...
Anzahl Flächen	3	5	9	1	...
in %	16,7	27,8	50,0	5,6	...

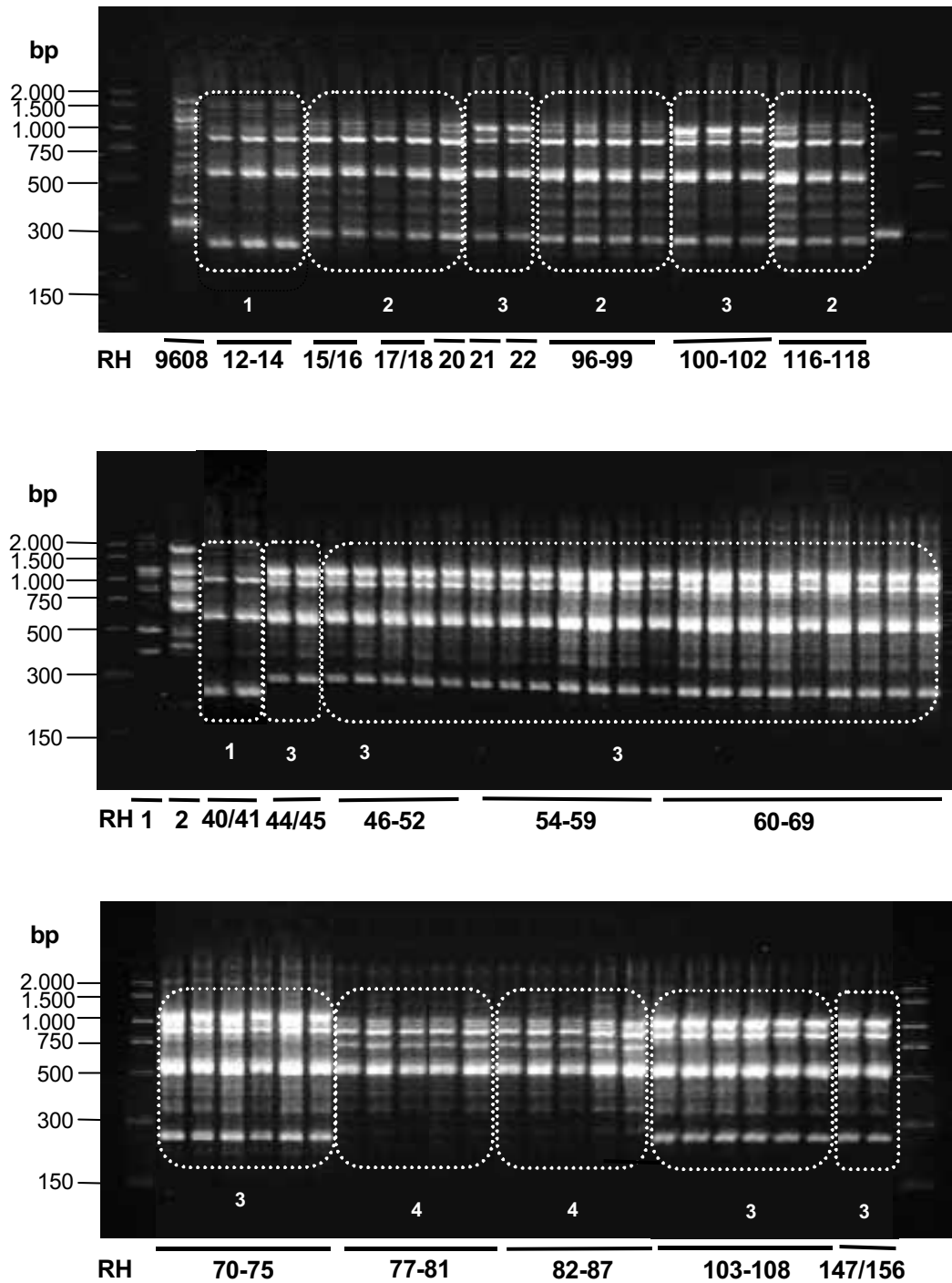


Abb. 11: Agarosegel mit RAPD-Bandenmustern von *R. solani* AG 1 (RH9601), AG 2-1 (RH9602) und Isolaten der AG 2-2 unterschiedlicher Befallsflächen im Rheinland nach Amplifikation mit Primer R1.

Im **Versuchsjahr 1997** wurden 20 Befallsflächen in Süddeutschland beprobt. Die Ergebnisse der RAPD-Untersuchung sind in Abbildung 12 dargestellt. Die Fläche 1 wurde besonders intensiv beprobt, um Unterschiede in der Erregerpopulation bei Untersuchung entfernter Befallsnester einer einzelnen Fläche festzustellen. Die Typen sind hier wiederum mit den entsprechenden Ziffern bezeichnet. Deutlich ist zu erkennen, daß fünf voneinander entfernte Befallsnester von Fläche 1 alle einen einheitlichen Erregertyp zeigten. Es handelte sich hier um den Typ 4. Dieser Typ wurde auch von 12 weiteren Flächen isoliert. Das mit Primer R1 erzeugte Bandenmuster war für die unterschiedlichen Flächen völlig identisch. Typ 3 konnte von den Flächen 10, 17 und 18 isoliert werden. Keine der untersuchten Befallsflächen zeigte ein Vorkommen von Typ 2. Der Typ 1 wurde nur von Fläche 2 isoliert. Zusätzlich zu den aus Untersuchungen in 1996 bekannten Erregertypen konnten zwei weitere mit polymorphem Bandenmuster gefunden werden. Diese wurden als Typ 5 und 6 bezeichnet. **Typ 5** wurde ausschließlich aus befallenem Pflanzenmaterial von Fläche 3 isoliert, **Typ 6** von den Flächen 7, 16, 18 und 19. Es handelte sich hier in der Hauptsache um Flächen, die nicht, wie die übrigen von einer einheitlichen Erregerpopulation besiedelt wurden. Auf Fläche 7 bestand diese aus einer Mischpopulation von Typ 4 und 6. Dies trifft auch für Standort 16 zu. Ein Isolat von Fläche 18 zeigte zusätzlich noch das Bandenmuster von Typ 3. Das Feld 19 wurde einheitlich von Typ 4 besiedelt. Isolate der Fläche 20 konnten nicht der AG 2-2 zugeordnet werden, sind aber ebenfalls aufgeführt. Mit wenigen Ausnahmen wurden Zuckerrüben verschiedener, getrennter Befallsnester einer Fläche von demselben Pathotypen der AG 2-2 befallen. Vergleicht man die Häufigkeit des Auftretens der Pathotypen 1 bis 6, ergibt sich das in Tabelle 12 dargestellte Bild. Dabei zeigten 65 % der Flächen einen Befall mit Typ 4. Mit einer Häufigkeit von 15 % bzw. 20 % traten Typ 3 und 6 auf. Nur geringe Bedeutung hatten Typ 1 und 5 mit jeweils 5 % der untersuchten Befallsflächen. Bandenmuster der Isolate von drei Befallsflächen am Standort Euskirchen waren identisch mit denen aus 1996 und wurden somit dem Typ 1 zugeordnet. Auch bei Anbau der darauffolgenden Fruchtart Winterweizen konnte dieser Typ isoliert werden. Auf weiteren Standorten bestätigte sich die gleichbleibende Erregerpopulation. Identische Untergruppen des Erregers der Rübenfäule zeigten sich nicht nur in verschiedenen Bundesländern sondern auch in Nachbarländern. Die Banden der in NRW festgestellten Typen 3 und 4 waren vollkommen monomorph zu Erregertypen aus den Niederlanden, die sowohl von Zuckerrüben als auch beim Anbau von Möhren mit Vorfrucht Zuckerrübe isoliert wurden.

Tab. 12: Häufigkeit des Auftretens mittels RAPD-PCR unterscheidbarer Typen der AG 2-2 im Versuchsjahr 1997.

AG 2-2	Typ 1	Typ 2	Typ 3	Typ 4	Typ 5	Typ 6
Anzahl Flächen	1	0	3	13	1	4
in %	5,0	0	15,0	65,0	5,0	20,0

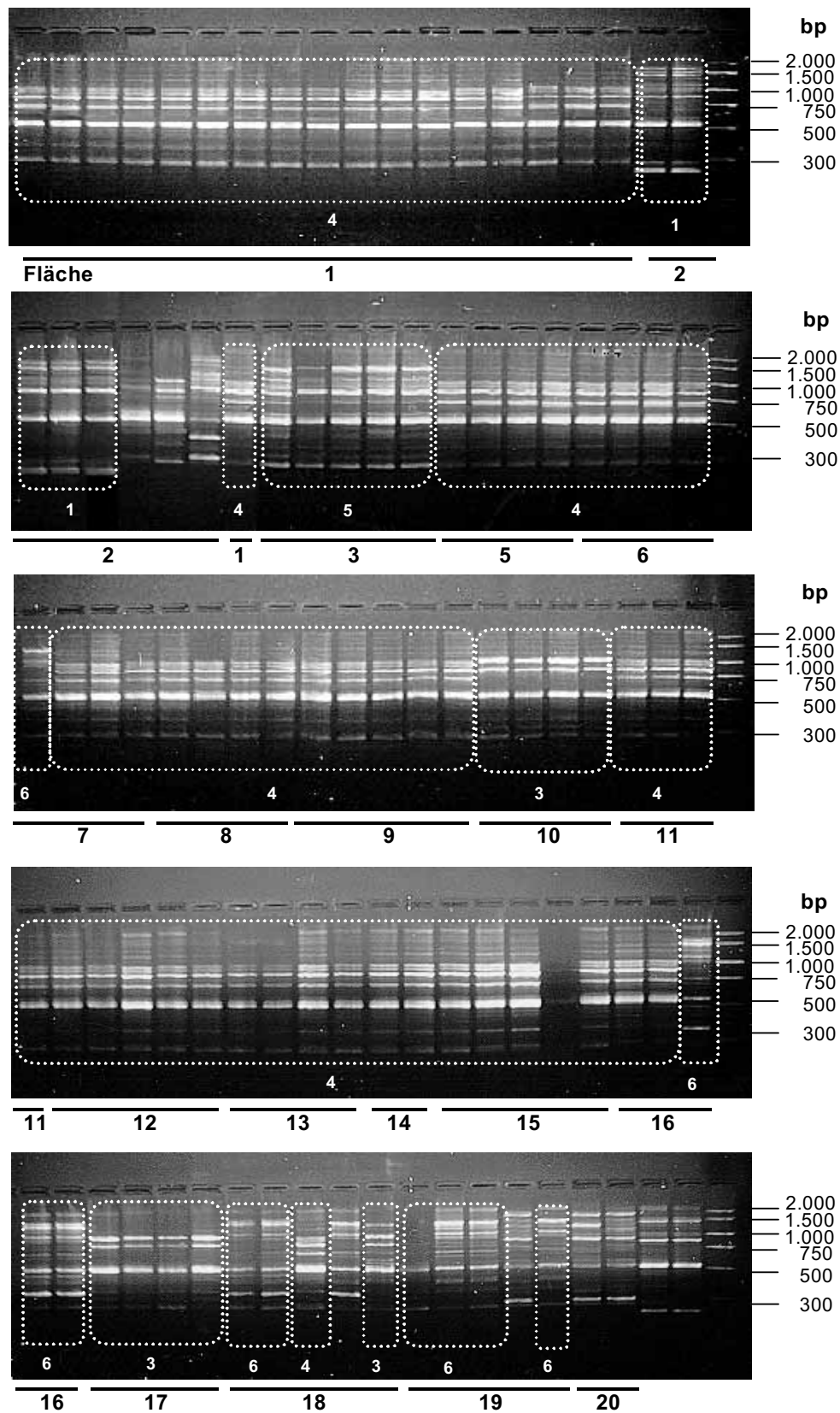


Abb. 12: Agarosegel mit RAPD-Bandenmustern von *R. solani* AG 2-2 unterschiedlicher Befallsflächen in Niederbayern (1 bis 20) nach Amplifikation mit Primer R1.

Im **Versuchsjahr 1998** wurden wiederum Isolate aus Befallsgebieten in NRW und Süddeutschland auf polymorphe Fragmente untersucht. Monomorphe Banden im Vergleich zu Typ 1 zeigten dabei Isolate von 6 Standorten in Süddeutschland (Tab. 13). Typ 2 wurde nur von einer Fläche in NRW isoliert. Sehr häufig wurde dagegen der Typ 3 aus Zuckerrübenproben in 1998 isoliert. Die Zahl der je Standort mit RAPD-Methoden untersuchten Isolate wurde auf zwei eingeschränkt, da mit wenigen Ausnahmen nur ein Erregertyp in den bisherigen Untersuchungen auf einer Fläche festgestellt wurde. Bei Annahme einer über die Fläche gleichmäßigen Population des Erregers zeigten sechs Standorte in Süddeutschland und vier in NRW Befall mit diesem Erregertyp. Der Typ 4 wurde an 9 Standorten in Niederbayern bestimmt. Auf jeweils einer Fläche in NRW und Niederbayern wurde Typ 5 festgestellt. In Niederbayern wurde Typ 6 von einer Fläche isoliert. Es zeigte sich, daß eine hohe Wahrscheinlichkeit besteht, daß benachbarte Flächen oder Flächen eines einzelnen Betriebs den gleichen Erregertyp aufweisen.

Tab. 13: Häufigkeit des Auftretens mittels RAPD-PCR unterscheidbarer Typen der AG 2-2 auf Flächen in NRW und Niederbayern, festgestellt im Versuchsjahr 1998.

AG 2-2	Typ 1	Typ 2	Typ 3	Typ 4	Typ 5	Typ 6
Anzahl Flächen NRW	0	1	4	0	1	0
in %	0	16,7	66,7	0	16,7	0
Anzahl Flächen Niederbayern	6	0	6	9	1	1
in %	26,1	0	26,1	39,1	4,3	4,3

Wurde die **Ähnlichkeit der verschiedenen Typen der AG 2-2** durch die Berechnung des Anteils gemeinsamer Banden verglichen, ergaben sich die in Tabelle 14 dargestellten Zahlen. Aus den Daten wird ersichtlich, daß die größte Ähnlichkeit zwischen den RAPD-Bandenmustern bei den Typen 5 und 2 sowie 5 und 6 zu finden waren. Eine Ähnlichkeit von 50 % ergab sich für Typ 3 verglichen mit 2, Typ 5 und 1 sowie 6 und 2. Nur geringe Ähnlichkeiten zeigten sich im Vergleich von Typ 1 und 4, Typ 5 im Vergleich mit Typ 4 und Typ 6 verglichen mit Typ 4. Damit differenzierte sich Typ 4 stark von den übrigen.

Tab. 14: Matrix für Ähnlichkeit von Typen der Anastomosegruppe AG 2-2 im paarweisen Vergleich. $S_{ab} = n_{ab} : (n_{ab} + n_a + n_b)$.

Typ	1	2	3	4	5
1	100	-	-	-	-
2	33	100	-	-	-
3	33	50	100	-	-
4	25	33	33	100	-
5	50	75	40	29	100
6	33	50	20	14	75

Eine **Differenzierung der Untergruppen der AG 2-2 mittels Isoenzymanalyse** wurde dankenswerterweise von Herrn Dr. H. Schneider am IPO DLO in Wageningen durchgeführt. Mit dieser Methode wurden die Typen 2, 3, 4, 5 und 6 der AG 2-IIIB zugeordnet. Die Zugehörigkeit des Typ 1 zu den Untergruppen konnte nicht zweifelsfrei festgestellt werden. Unklar ist, ob es sich bei diesem Pathotypen um die AG 2-IIIB oder AG 2-2IV handelt.

Die AG 2-2 kann unterteilt werden in die AG 2-IIIB, IV und LP. Die Restriktionsmuster der AG 2-2IV (alle Isolate von Zuckerrübe) zeigten beachtliche Variation (HYAKUMACHI et al., 1998). Diese Unterschiede korrelierten allerdings nicht mit der geographischen Herkunft. Andere Autoren teilten die AG 2 in die Gruppen A mit Isolat der AG 2-1 sowie B und C mit der Anastomosegruppe AG 2-2 (LIU et al., 1990). Diese Gruppeneinteilung stimmte überein mit dem Anastomoseverhalten, der Morphologie, Physiologie und der Pathogenität. Die Gruppe C wurde als primäres Pathogen an Zuckerrüben, Gruppe B als Maispathogen bezeichnet. Später konnten innerhalb der AG 2, basierend auf Isoenzym polymorphismen und rDNA Restriktionsanalyse der ITS Region, fünf intraspezifische Gruppen (ISG 2A bis 2E) unterschieden werden. Obwohl die untersuchten Isolate der Gruppe C von einer Vielzahl geographischer Orte stammten, standen sie bei diesen Untersuchungen in enger Beziehung (LIU und SINCLAIR, 1992). Die Einteilung in intraspezifische Gruppen beruhte jedoch weder auf dem Wirtskreis noch auf ökologischen Charakteristiken.

Das Auffinden verschiedener Klone erfordert viele Loci, wie sie durch RAPD- und Fingerprinting-Methoden gewonnen werden. Je näher verwandt zwei Organismen sind, desto ähnlicher sind ihre RAPD-PCR-Muster (WILLIAMS et al., 1990). Die Primer R1, USP, R28 und T7 wurden verwendet, um die AG 2, 3, 4 und 8, sowie ihre verschiedenen Pektin-Zymogrammgruppen zu unterscheiden (DUNCAN et al., 1993). In einigen Gruppen, wie der ZG 7 (AG 3), wurden erhebliche Variationen in den Bandenmustern festgestellt. Auch AG 2-1 und 2-2 konnten deutlich unterschieden werden, dagegen wurde die AG 2-2 mit Isolat von Gramineen als homogene Gruppe bezeichnet. Weiterhin wurden die genannten vier Primer zur Unterscheidung von Isolat der AG 9 verwendet (YANG et al., 1996). Nach Amplifikation mit Primer T7 waren keine Produkte sichtbar. Mit R1 wurden sehr deutliche,

aber wenige Banden erkennbar. Mit Primer USP konnten drei Gruppen unterschieden werden. Der Ähnlichkeitskoeffizient lag zwischen 67 und 100 %. Keine Unterschiede wurden zwischen Isolaten verschiedener geographischer Herkunft festgestellt. Alle Isolate einer AG zeigten eine oder zwei übereinstimmende Banden und gaben damit einen Hinweis auf die genetische Basis der AG. In den hier dargestellten Untersuchungen konnten Isolate der AG 1, 2, 3, 4 und 5 mittels RAPD-PCR unterschieden werden. Einheitlich für alle Isolate der AG 2 konnte eine Bande mit einer Länge von 500 bp festgestellt werden. Auch Untergruppen zeigten typische Banden, wie insbesondere Typ 4, ein Fragment mit 750 bp Länge. Innerhalb der Untergruppen wurde keine Variation zwischen Isolaten verschiedener geographischer Herkunft oder der Isolierung aus Boden oder Pflanzenmaterial beobachtet. Isolate der AG 1 IC von Zuckerrübe und von Bodenproben aus Minnesota 'clusterten' mit Bodenisolaten aus Japan (JOHNK & JONES, 1994). Dies stimmt überein mit den hier dargestellten Ergebnissen, in denen die Anbauflächen unterschiedlicher Regionen, aber auch Länder, den gleichen Typ der AG 2-2 aufwiesen. Mit allen verwendeten Primern konnten die AGs sowie die Untergruppen der AG 2-2 unterschieden werden. Die klarsten und in ihrem Umfang überschaubaren Bandenmuster wurden jedoch mit Primer R1 erzeugt. Durch die übrigen Primer konnte, trotz größerer Bandenzahl, keine weitere Differenzierung festgestellt werden. Insgesamt wurden 6 Gruppen unterschieden. Die Bandenmuster waren dabei nicht nur über mehrere Ansätze, sondern auch Flächen und Anbaujahre, eindeutig unterscheidbar und reproduzierbar. Die Zuverlässigkeit von RAPD-Untersuchungen wurde auch in der Literatur bestätigt (TOMMERUP et al., 1995).

Der wesentliche Unterschied bestand nicht in dem Auftreten völlig unterschiedlicher Typen, sondern die wichtigen Typen 1 bis 5 wurden in unterschiedlicher, für die Befallsregion typischer Häufigkeit isoliert. Dabei schienen die Typen 1 und 2 häufiger auf kühleren Standorten vertreten. Es ist unklar, ob in kurzer Zeit aufgrund beispielsweise klimatischer Faktoren Veränderungen der Pathotypen auftreten können, oder einfach eine bestimmte Zahl von Flächen mit einem definierten Pathotyp als indigenem Pathogen untersucht wurde. Feststellbar war jedoch an drei Standorten, daß benachbarte Flächen oder Flächen eines Betriebs einen gemeinsamen Typ zeigten und dies unverändert über zwei bis drei Versuchsjahre. In allen Versuchsjahren wurde zudem festgestellt, daß bis auf wenige Ausnahmefälle, unterschiedliche Befallsnester den gleichen Erregertyp aufwiesen. Auch die Untersuchung der genetischen Variation in der dsRNA zeigte, daß die genetische Verwandtschaft bei gleicher geographischer Herkunft von Isolaten höher war (BHARATHAN & TAVANTZIS, 1991). Nach der Untersuchung von 121 Befallsnestern, verursacht durch die AG 8, wurde nur in 5 Fällen mehr als eine ZG gefunden. In zwei Fällen war dies durch ein Zusammenfließen von Nestern begründet, in den übrigen war nur gelegentlich eine Isolierung der anderen ZG möglich (MACNISH & SWEETINGHAM, 1993). Zwischen verschiedenen Befallsherden konnten keine Unterschiede entdeckt werden (YANG et al., 1995). Große Gebiete waren durch eine kleine Zahl ähnlicher Klone besiedelt. Eine Begründung könnte darin zu finden sein, daß Befallsnester nicht von einer neuen Ansiedlung eines Pathogen stammen, sondern einen lokalen Anstieg in der Population eines schon weit verbreiteten pathogenen Stammes darstellen (DE BEER, 1965). Ein anderer Erklärungsansatz könnte die Einschleppung des Pathogens sein (MACNISH & SWEETINGHAM, 1993).

Geht man davon aus, daß auch mit anderen molekularbiologischen Methoden keine weitere Differenzierung von Isolaten einer Fläche möglich ist, ist die Frage, wie eine solch homogene Population entstehen konnte und ob sie für das Verschwinden des Pathogens verantwortlich ist, da jeder Störfaktor direkt die gesamte Population betrifft. In Zuckerrüben-Monokultur stabilisiert sich die relative Häufigkeit von AGs und die AG 2-2 wird dominant (HYAKUMACHI & UI, 1982). Daher könnte man auch auf das Vorherrschen eines bestimmten AG 2-2 Typen unter bestimmten Voraussetzungen schließen. Die Dominanz einer Gruppe muß nicht auf der Stufe der AG beendet sein. Unklar ist auch, wie es andererseits zu der Entstehung unterschiedlicher Typen der AG 2-2 kommen konnte und wie variabel diese sind. Wurden, wie in seltenen Fällen vorkommend, verschiedene Typen auf einer Fläche gefunden, so traten diese in Kombination mit Typ 4 auf. Handelte es sich hier um Flächen, auf denen der Umwandlungsprozeß von einer Population zur nächsten noch nicht stattgefunden hatte? Als Erklärung für die Entstehung von Untergruppen könnte die mögliche Variabilität des Erregers herangezogen werden. Allerdings ist die Bildung eines völlig angepaßten Myzels, welches sich infolge selektiven Drucks auf bevorzugte Allele bei der Besiedlung neuer Habitate, kombiniert mit der Anastomose bilden könnte, unwahrscheinlich. Eine andere Ursache könnte die Abstammung der AG 2 von der AG BI sein (KUNINAGA and YOKOSAWA, 1985). Solche 'Brücken-bildenden' Isolate können durch den Transfer genetischen Materials von einem Isolat zu einem anderen, normalerweise inkompatiblen Isolat in der Evolution eine Rolle spielen. Es existiert zu einem gewissen Grad DNA-Homologie zwischen AG BI, AG 2-1, 2-2, aber auch zu 3 und 6. AG BI und AG 2 sollten nicht als separate Gruppen betrachtet werden. RFLPs der BI Isolate zeigten hingegen keine Ähnlichkeiten zu anderen AGs (VILGALYS & GONZALEZ, 1990). Da sogar die einzelnen festgestellten Typen der AG 2-2 eine 'killing reaction' zeigten, ist eine Neukombination aus den bekannten Erregertypen unwahrscheinlich. Allerdings könnte eine genauere Untersuchung von Nicht-AG 2-2 Isolaten aus dem Bereich gesunder Pflanzen außerhalb von Befallsnestern mehr Auskunft geben.

Innerhalb der AG 3 wird ein Zusammenhang zwischen Polymorphismen und der Spezialisierung auf eine Wirtspflanze vermutet (BALALI et al., 1996; KUNINAGA et al. 1997). Phylogenetische Untersuchungen der AG 4 ergaben, daß die analysierten Stämme in drei Gruppen unterteilt werden können, die in direktem Zusammenhang stehen mit Habitat und Virulenz (BOYSEN et al., 1996). Demgegenüber steht ein hoher Grad an Homogenität bei einkernigen Isolaten. Dies wurde zurückgeführt auf eine zu geringe Zeitspanne geographischer Isolation oder den Ursprung der Population aus einer sehr begrenzten Quelle, beispielsweise durch den Austausch von Pflanzgut (LILJA et al., 1996). Umgekehrt könnte die Diversität aber gleichzeitig doch Homogenität der AG 2-2 auch entfernter Populationen zu begründen sein durch klimatische Faktoren, Wirtspflanzen oder Saatgutherkunft.

Benötigt wird ein Klassifikationssystem, das, um eine biologisch unsinnige Differenzierung zu vermeiden, molekulare und biologische Charakteristiken einbezieht. Bilden Isolate keine Anastomosen mit bekannten Testerstämmen, werden sie einer neuen AG zugeordnet. Zudem gibt es eine Reihe von Untergruppen, die mit unterschiedlichen Methoden differenziert wurden und übereinstimmend benannt werden müßten. In dieser Arbeit wurde

eine weitere Differenzierungsmöglichkeit gezeigt, deren biologische Bedeutung ebenfalls untersucht wurde.

3.3.4 Differenzierung anhand biologischer Eigenschaften

3.3.4.1 Temperaturtoleranz

Eine einfache und schnelle Methode zur biologischen Differenzierung von Erregertypen der AG 2-2 ist die Untersuchung auf Unterschiede in der Temperaturtoleranz. Getestet wurden, wie in Abbildung 13 dargestellt, Temperaturen von 10, 17, 25 und 35 °C. Vergleicht man das radiale Myzelwachstum bei diesen Temperaturen, so ist festzustellen, daß die höchste Wachstumsrate für alle Erregertypen bei 25 °C lag. Bei einer Temperatur von 10 °C wurde das schnellste Wachstum für die Typen 2 bis 4 festgestellt. Signifikant verschieden dazu verhielt sich Typ 6. Im mittleren Bereich lagen Typ 1 und 5. Bei 17 °C zeigten alle Typen mit Ausnahme von 5 ein schnelles radiales Wachstum. Eine weitere Temperaturerhöhung auf 25 °C beschleunigte insbesondere das Wachstum von Typ 2. Der Typ 6 und insbesondere 5 wuchsen schlechter bei 25 °C. Das Verhalten veränderte sich deutlich bei einer Temperatur von 35 °C. Nur wenig Wachstum zeigte sich bei den Typen 1 und 6. Mittleres Wachstum wurde für Typ 3 und 5 festgestellt. Die höchste radiale Myzelwachstumsrate zeigten die Typen 2 und 4. Die beiden zuletztgenannten Typen der AG 2-2 wurden damit am wenigsten durch Temperaturanstieg oder –absinken in ihrem Wachstumsverhalten beeinflusst. Dagegen wuchs Typ 5 bei 35 °C besonders schnell.

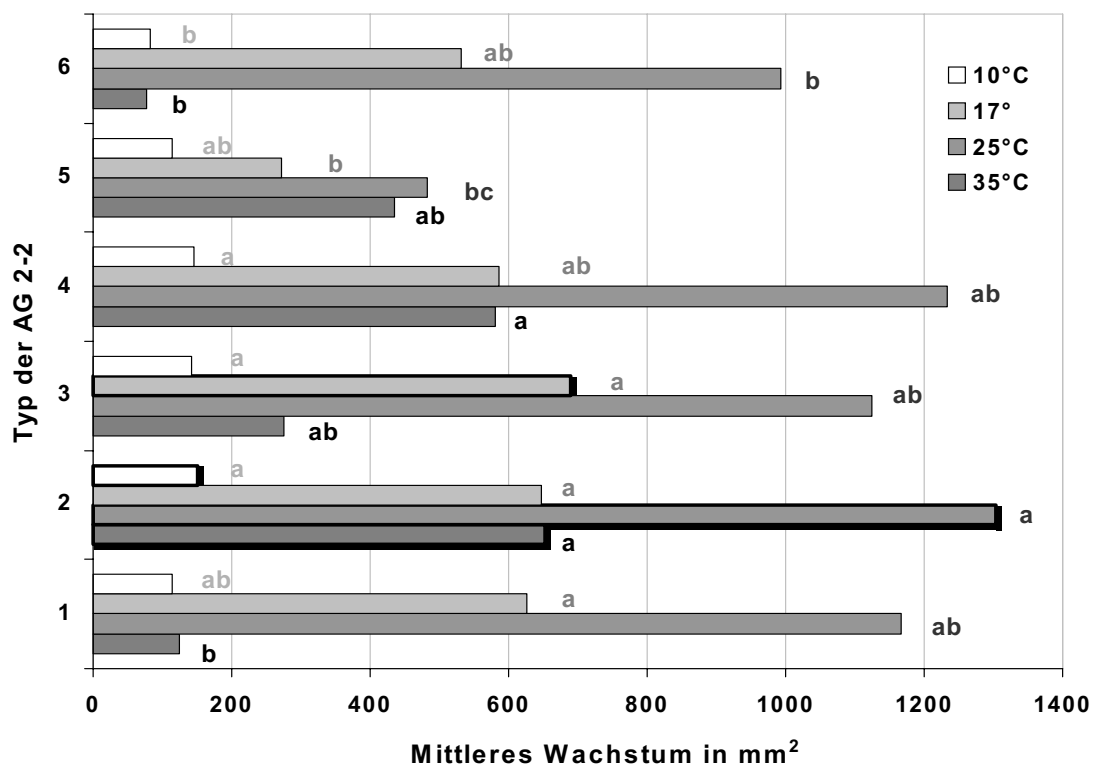


Abb. 13: Radiale Myzelwachstumsrate (mm²) von Isolaten der Typen 1 bis 6 von *R. solani* AG 2-2 bei Inkubationstemperaturen von 10, 17, 25 und 35 °C. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

R. solani AG 2-2 wächst bei einem Optimum von 25 bis 28 °C (OGOSHI, 1975). Das Hyphenwachstum findet zwischen 26 und 32 °C optimal statt, die Sklerotien keimen bei dieser Temperatur in 10-12 h (XU LIALAN et al., 1997). Eine Penetration des Wirtsgewebes findet bei mehr als 85 % RH statt. Kühle Temperaturen begünstigen stärker das Wachstum der Wirtspflanze Zuckerrübe als die AG 2-2 (CAMPBELL & ALTMANN, 1976). Daher kann die frühe Aussaat, besonders von resistenten Sorten Fäulesymptome reduzieren (ENGELKES & WINDELS, 1994). Andererseits konnte neben *R. solani* auch *R. cerealis* von Zuckerrübenkeimlingen isoliert werden. *R. cerealis* ist auch pathogen an Zuckerrübenkeimlingen und führte bei 10 und 15 °C zum Umfallen der Pflanzen (O'SULLIVAN & KAVANAGH, 1991). Es gibt Beweise, daß die klimatischen Bedingungen zur Pflanzzeit einen größeren Einfluß haben als das vorhandene Inokulum (ADAMS & HIDE, 1980).

Ein Unterscheidungskriterium für Isolate der AG 2-IIIB und IV ist das Wachstum bei 35 °C (SNEH et al., 1991). Die AG 2-IIIB wächst in diesem Temperaturbereich noch, die IV nicht mehr. In den dargestellten Untersuchungen wurden unterschiedliche Temperaturen getestet. Wurden diese verglichen, so zeigten Typ 2 und 4 sowohl bei 10 als auch bei 35 °C gegenüber der optimalen Temperatur von 17 °C noch 50 %iges Wachstum. Die Toleranz des Temperaturbereiches von 10 bis 35 °C wurde nur noch von Typ 5 übertroffen, der sowohl im extrem niedrigen als auch extrem hohen Temperaturbereich gut wuchs. Der hohe Ähnlichkeitsindex von Typ 2 und 5 könnte dies unterstützen. Typ 3 wuchs mit 63 % des optimalen Wachstums bei 17 °C besser als die übrigen. Dies könnte ein Hinweis auf das Vorherrschen in kühleren Jahren oder Regionen sein. Steigen die Temperaturen über 17 °C entwickelte sich dann eine Dominanz der AG 2-2 Typ 4. Dies würde allerdings, die einheitliche Population vorausgesetzt, eine Veränderung des Pathogens unter bestimmten Bedingungen bedeuten.

3.3.4.2 Fungizidsensitivität

Aus einer Vielzahl von gegen *R. solani* wirksamen, sowie für die Bekämpfung von Blattkrankheiten der Zuckerrübe einsetzbaren Fungiziden, wurden einige ausgewählt, um die Wirksamkeit gegen den Erreger der späten Rübenfäule zu überprüfen. Dazu wurde zunächst die Myzelwachstumshemmung *in vitro* getestet. Der ED₅₀ ist in Tabelle 15 für die einzelnen Wirkstoffe dargestellt. Der größte Effekt konnte mit dem Wirkstoff Pencycuron erzielt werden. Im Bereich von $\geq 0,1$ ppm wirkte Tebuconazol. Für Difenconazol konnte im Vergleich dazu ein ED₅₀ von über 10ppm festgestellt werden.

Tab. 15: *In vitro* Wirkung von Fungiziden gegen den Rübenfäuleerreger *R. solani* AG 2-2 Typ 4.

Wirkstoff		ED ₅₀
Pencycuron	‘Monceren’	< 0,1 ppm
Tebuconazol	‘Folicur’	≥ 0,1 ppm
Procymidone	‘Sumisclex’	< 1 ppm
Fenpropimorph	‘Corbel’	< 1 ppm
Kresoxim-methyl	‘Discus’	< 1 ppm
Azoxystrobin	‘Amistar’	≥ 1 ppm
Metconazol	‘Caramba’	< 1 ppm
Mancozeb	‘Dithane ultra’	< 10 ppm
Difenoconazol	‘Bardos’	≥ 10 ppm
Hymexazol	‘Tachigaren’	> 100 ppm

Untersuchungen zur Fungizidsensitivität wurden mit Fungiziden durchgeführt, die einen unterschiedlich guten *in vitro* Bekämpfungserfolg erzielt hatten bzw. die ein sehr schmales Aktivitätsspektrum und sogar eine selektive Wirkung gegen einzelne AGs besitzen, wie im Fall von Pencycuron. Der Wirkstoff führt, wie in Abbildung 14 dargestellt, zu einer abnormen Verformung der Hyphen.

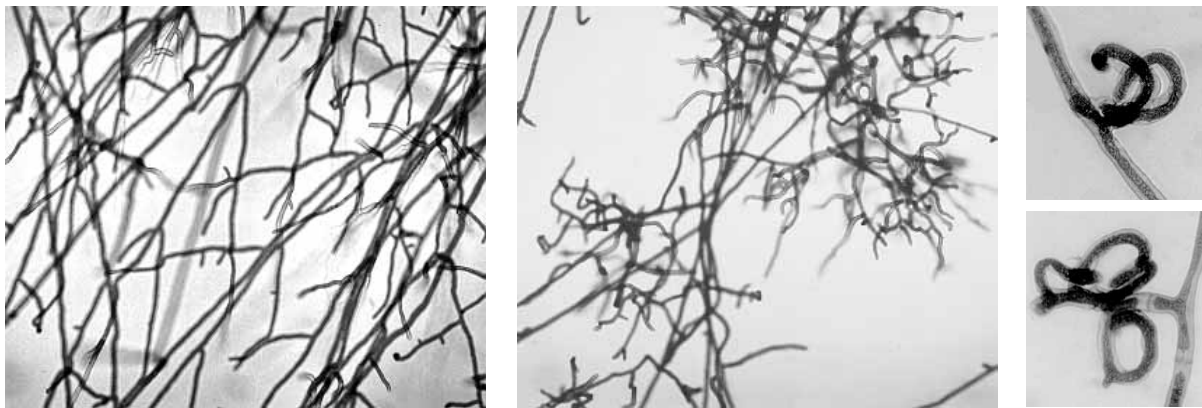


Abb. 14: Hyphendeformationen unter Einwirkung von Pencycuron. Anstelle der Verzweigung im Winkel von 45-90 ° (links) bilden sich unregelmäßig verzweigte Hyphenspitzen mit ungewöhnlich geformten sekundären Zweigen.

Das Handelspräparat wurde in verschiedenen Konzentrationen *in vitro* getestet. Verwendet wurden Isolate der am häufigsten vorkommenden Typen 1 bis 4. Vergleicht man die Mittelwerte der in Tabelle 16 dargestellten ED₅₀-Daten für Isolate der entsprechenden Typen, fällt auf, daß die AG 2-2 Typ 4 mit 0,013 ppm fungizidsensitiver reagierte. Der Typ 1 wies mit einem Mittelwert von 0,022 ppm die höchste verträgliche Fungizidkonzentration auf, die beiden Typen 2 und 3 lagen mit 0,016 bzw 0,017 ppm zwischen 1 und 4. Signifikante Unterschiede konnten nicht festgestellt werden. Beim Test der Fungizidempfindlichkeit gegenüber dem Strobilurin Azoxystrobin bewegte sich der ED₅₀ für Isolate des Typ 4 zwischen Werten von 0,05 bis 1,7 ppm und damit in einem wesentlich engeren Streuungsbereich als die übrigen. Der mittlere ED₅₀ für die getesteten Isolate der Typen 2 und 3 lag bei 1,59 bzw. 1,81 ppm. Den im Mittel höchsten ED₅₀ gegenüber Azoxystrobin wiesen Isolate des Typ1 mit einem Mittelwert von 1,84 ppm auf. Damit reagierte Typ 4 besonders empfindlich, Typ 1 besonders wenig sensitiv auf das Fungizid Azoxystrobin. Dies stimmt überein mit der Reaktion gegenüber Pencycuron. Die Werte für Isolate der Typen 2 und 3 lagen zwischen weniger als 1 ppm und 5 ppm und sind damit weder zu Typ 1 noch zu Typ 4 signifikant verschieden. Das Myzelwachstum der Typen 1 bis 4 der AG 2-2 bei Anwendung des Wirkstoffs Metconazol wurde nur mit wenigen Isolaten getestet. Übereinstimmend zu den vorher genannten Präparaten ergab sich auch hier eine besondere Fungizidempfindlichkeit für den Typ 4 bei einem mittleren ED₅₀-Wert von 0,14 ppm. Dieser unterschied sich jedoch nicht signifikant zu Typ 3 mit 0,22 ppm. Auch Typ 1 und 2 unterschieden sich mit 0,57 bzw. 0,71 ppm nicht, waren aber verschieden zu 3 und 4. Eine übereinstimmende Aussage aus den Ergebnissen mit allen drei Wirkstoffen ließ sich damit nur für den Typ 4 treffen. Dieser zeigte bei der Anwendung aller getesteten Fungizide eine höhere Fungizidsensitivität.

Für die Einschätzung der Wirkung von Fungiziden sind Einflüsse, bedingt durch Klima, ackerbauliche Faktoren, Wirtspflanze, pH, Temperatur und Bodencharakteristika, aber in noch höherem Maße die Identifikation der verursachenden Agens der Wurzelfäule, d.h. der mit molekularbiologischen Methoden bestimmten genetischen Basis, zu beachten (MAZZOLA et al., 1996).

Tab. 16: *In vitro* Wirkung von Pencycuron, Azoxystrobin und Metconazol gegenüber Isolaten der Typen 1 bis 4 von *R. solani* AG 2-2. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Wirkstoff	ED ₅₀ Typ 1	ED ₅₀ Typ 2	ED ₅₀ Typ 3	ED ₅₀ Typ 4
Pencycuron	0,022 a	0,016 a	0,017 a	0,013 a
Azoxystrobin	1,842 a	1,588 ab	1,808 ab	0,509 b
Metconazol	0,567 a	0,711 a	0,219 b	0,139 b

3.3.4.3 Virulenz

R. solani wächst bei Kontakt mit der Pflanze zunächst auf der Wirtsoberfläche. Der **Infektionsprozess** beginnt mit einer Anhaftung der Hyphen an die Oberfläche und einem gerichteten Wachstum entlang der anticlininalen Zellwände. Nach der Bildung von t-förmigen Verzweigungen kann die weitere Entwicklung in verschiedene Richtungen erfolgen. Entweder bilden sich kurze angeschwollene Hyphen, Appressorien oder komplexere Strukturen (Abb. 15).



Abb. 15: Gerichtetes Wachstum entlang der Zellwände und komplexere Infektionsstrukturen von *R. solani*. Von einigen Seitenzweigen einer einzelnen Mutterhyphe oder von einer einzelnen Hyphe werden Infektionskissen gebildet.



Anschließend bilden einige der angeschwollenen Hyphenspitzen Infektionskeile, die die Kutikula und Epidermis durchdringen. In der Pflanze erreichen die Hyphen wieder ihren normalen Durchmesser und bilden Primärhyphen. Die Penetration kann auch durch Stomata unterhalb der Infektionskissen stattfinden. Die Hyphen wachsen inter- und/oder intrazellulär und dehnen sich im Zelllumen aus (Abb. 16).

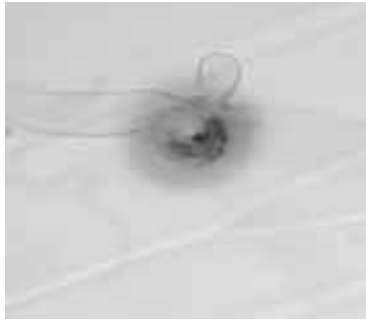
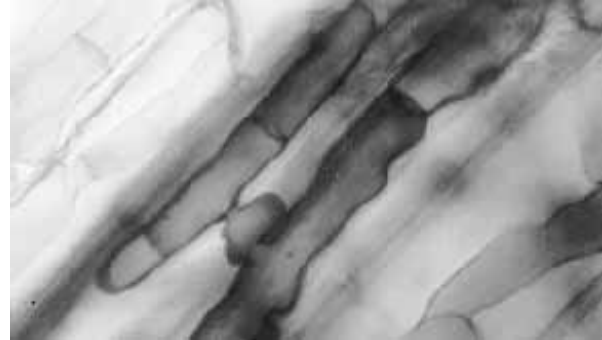


Abb. 16: *R. solani* dringt mit einem Infektionskeil in das Wirtsgewebe ein. Anschließend wächst der Pilz intra- und interzellulär. (Baumwollblau, Calcofluor White)



Die entscheidende biologische Eigenschaft für die Einschätzung der Bedeutung des Pathogens *R. solani* ist die **Aggressivität** gegenüber der Wirtspflanze 'Zuckerrübe'. Die Virulenz einer Reihe von Isolaten wurde gegenüber Sämlingen aber auch älteren Zuckerrübenpflanzen getestet. In Abbildung 17 ist der Befall von Sämlingspflanzen nach Inokulation mit *R. solani* AG 1, 2-2, 3 und 4 dargestellt. Es zeigten sich deutliche Unterschiede in der Virulenz der Anastomosegruppen. Die selten von Zuckerrüben isolierten Gruppen AG 1 und 3 verursachten nur geringen Schaden an den jungen Pflanzen. In weiteren Versuchen stellte sich heraus, daß auch in Deutschland isolierte Stämme der AG 3 signifikant weniger virulent im Vergleich zu Isolaten der AG 2-2 waren. Die AG 3 stellt damit eine geringere Gefahr für das Auftreten von Fäulesymptomen an Zuckerrüben dar. Die AG 2-2 führte zu starken Ausfällen und unterschied sich damit nicht signifikant von dem durch die AG 4, dem typischen Keimlingsfäuleerreger, bedingten Schaden. Damit beschränkt sich ein Befall mit der AG 2-2 nicht nur auf die ältere Zuckerrübenpflanze sondern kann schon früh zu Pflanzenausfällen führen.

Da nach den Untersuchungsergebnissen nur in Ausnahmefällen von der AG 2-2 verschiedene Anastomosegruppen in Deutschland gefunden wurden, ist für die Beurteilung der Aggressivität des Rübenfäuleerregers nicht die Virulenz unterschiedlicher Anastomosegruppen entscheidend, sondern die Virulenz verschiedener, von der Zuckerrübe isolierter Typen der AG 2-2.

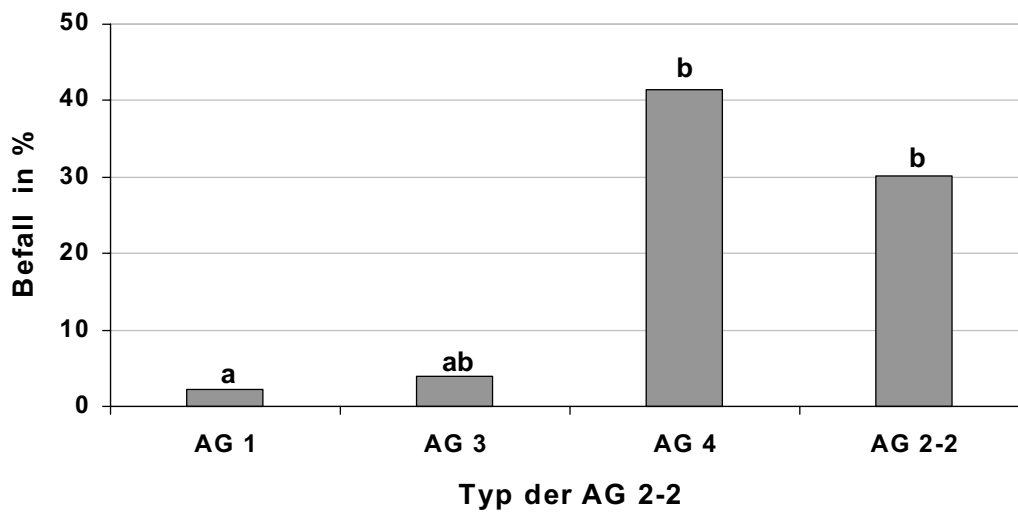


Abb. 17: Aggressivität unterschiedlicher Anastomosegruppen von *R. solani* (AG 1 bis 4) gegenüber 14 Tage alten Zuckerrübensämlingen. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Dargestellt ist in Abbildung 18 die Aggressivität von Isolatn der Standorte Euskirchen, Elsdorf, Aachen und Appeldorn. Diese entsprechen den Typen 1, 2, 3 und 4. Isolate von der Fläche 'Elsdorf' erwiesen sich als schwächer virulent. Deutlich aggressiver als der Erreger auf allen drei weiteren Standorte verhielten sich Isolate von 'Appeldorn'. Zwischen 'Euskirchen' und 'Aachen', sowie 'Aachen' und 'Elsdorf' konnte kein signifikanter Unterschied in der Befallsstärke festgestellt werden. Es zeigte sich, daß Isolate geographisch entfernter Standorte sich in ihrer Virulenz unterschieden.

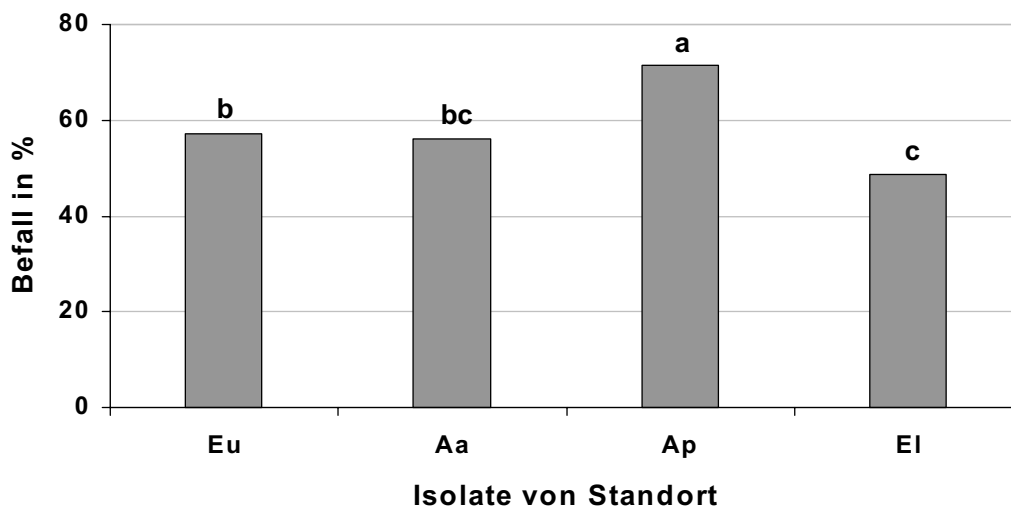


Abb. 18: Aggressivität von Isolatn von *R. solani* AG 2-2 verschiedener Befallsflächen (Eu=Euskirchen, Aa=Aachen, Ap=Appeldorn, El=Elsdorf) gegenüber 14 Tage alten Zuckerrübensämlingen. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

In unterschiedlichen Befallsregionen wurden nach ihrem RAPD-Muster identische Erregertypen gefunden. Es wurde vermutet, daß diese sich trotz der geographischen Entfernung auch in ihren Virulenzeigenschaften nicht unterscheiden. Daher wurden in den Untersuchungen mehrere Standorte nach dem Auftreten eines bestimmten Typen der AG 2-2 zusammengefaßt. Typ 1 wird in Abbildung 19 repräsentiert durch Isolate des Standortes Euskirchen, Typ 2 von Isolatens unterschiedlicher Flächen in Jülich, Ameln und Neu-Tichelen, der Typ 3 von Aachen und Geldern und Typ 4 von Appeldorn. Isolate des Typ 2 und 3 waren weniger aggressiv als 1 und 4. Der Typ 1 unterschied sich nicht signifikant zu Typ 2 und 3, aber auch 4. Der größte prozentuale Befall der Sämlinge wurde mit Isolatens des Typ 4 erreicht.

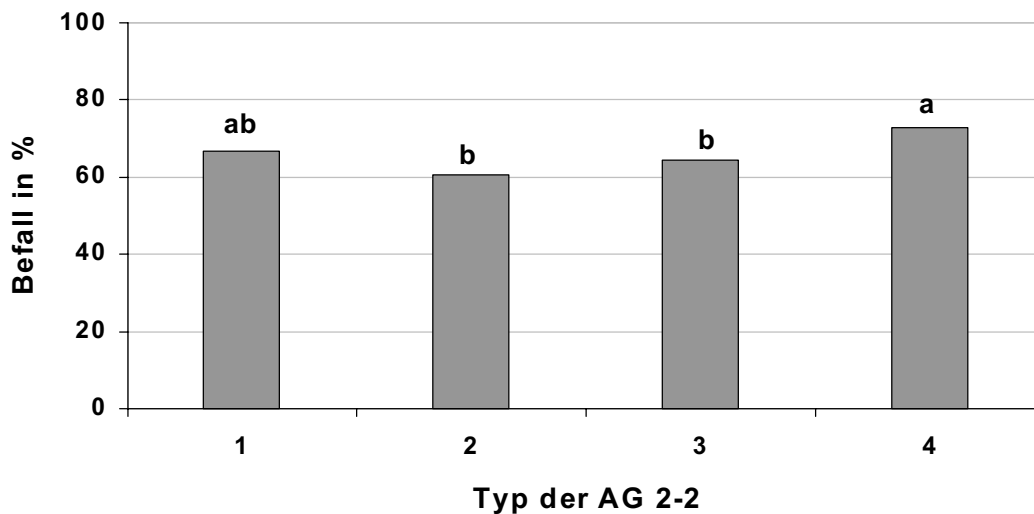


Abb. 19: Aggressivität von Isolatens der Typen 1 bis 4 von *Rhizoctonia solani* AG 2-2 verschiedener Befallsflächen (1: Euskirchen, 2: Jülich, Ameln, Neu-Tichelen, 3: Aachen, Geldern, 4: Appeldorn) gegenüber 14 Tage alten Zuckerrübensämlingen. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Zwischen den Typen 2 und 3 konnten in den bisher aufgeführten Tests mit Zuckerrübensämlingen keine Virulenzunterschiede gefunden werden. Wurde älteres Pflanzenmaterial im Gewächshaus überprüft, konnte eine genauere Differenzierung festgestellt werden (Abb. 20). Als signifikant schwächer virulent erwies sich Typ 2 von den Standorten Jülich, Ameln, Neu-Tichelen und Geilenkirchen. Deutlich aggressiver wirkte Typ 3 von einer Fläche in Aachen. Isolate vom Standort Euskirchen und damit Typ 1 erwies sich als besonders virulenter Typ des Pathogens. Hier wird die nähere Verwandtschaft zu AG 2-2IV, dem typischen Rübenpathogen als Ursache vermutet.

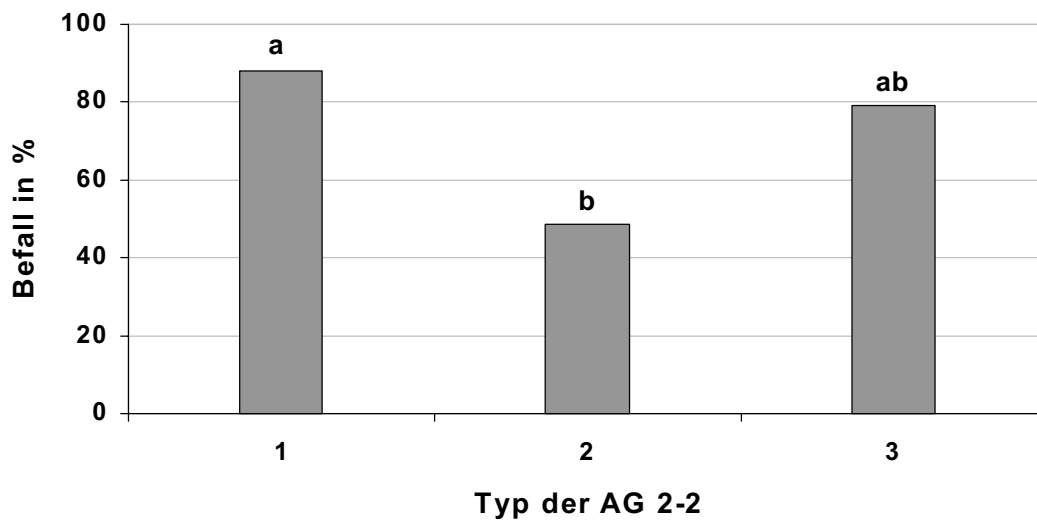


Abb. 20: Aggressivität von Isolatentypen 1 bis 3 von *R. solani* AG 2-2 verschiedener Befallsflächen (1: Euskirchen; 2: Jülich, Ameln, Neu-Tichelen, Geilenkirchen; 3: Aachen) gegenüber 8 Wochen alten Zuckerrübensämlingen. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Da in den Untersuchungen in 1997 weitere Typen der AG 2-2 mittels RAPD-PCR identifiziert wurden, wurden auch diese in einen Vergleich mit den bereits bekannten Pathotypen einbezogen (Abb. 21). Die Gruppe 2 wurde nicht berücksichtigt, da sie in 1997 von keiner Befallsfläche isoliert wurde. Da Sämlingspflanzen verwendet wurden, zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der Aggressivität von Typ 1 bis 3. Bei Inokulation mit Typ 4 wurde der größte Anteil befallener Pflanzen festgestellt. Typ 5 unterschied sich nicht signifikant zu den Typen 1 bis 3. Als schwächstes Pathogen erwies sich die AG 2-2 Typ 6.

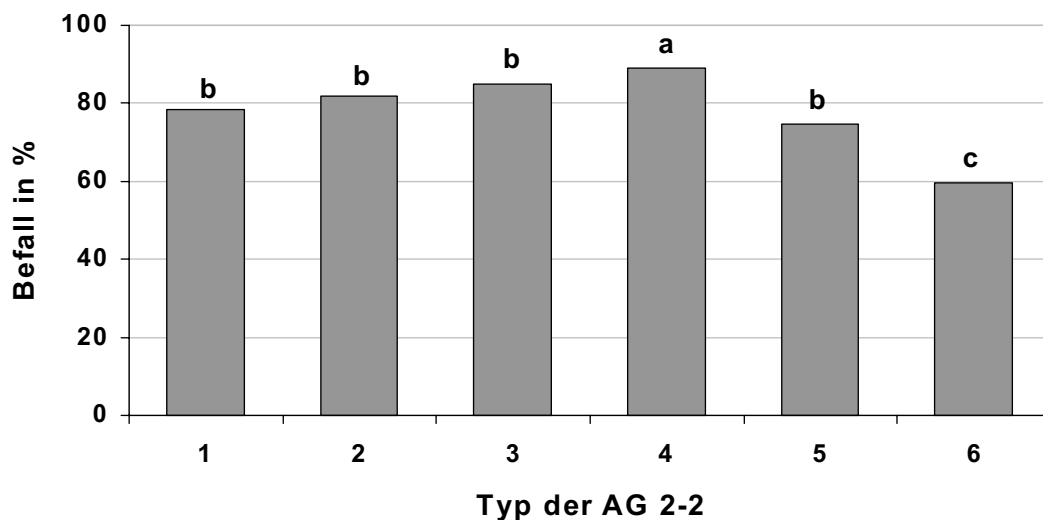


Abb. 21: Aggressivität von Isolatentypen 1 bis 6 von *R. solani* AG 2-2 verschiedener Befallsflächen gegenüber 14 Tage alten Zuckerrübensämlingen. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Virulenzunterschiede zwischen Erregertypen konnten eindeutig festgestellt werden. Unklar war jedoch, ob bei Feststellung der Virulenz auch die **Zuckerrübensorte** beachtet werden mußte. Infiziert wurden die Standardsorten 'Edda', 'Sonja', 'Fiona' und 'Evita' (Abb. 22). In den Vergleich wurde nur die Aggressivität der Pathotypen 1 bis 4 einbezogen. Vergleicht man die Virulenz der unterschiedlichen Pathotypen, ergibt sich für alle Sorten ein ähnliches Bild. Den geringsten Befall verursachte Typ 2 und direkt nachfolgend 3. Mittleren Befall verursachte 1 und unterschied sich damit nicht signifikant zu dem sehr aggressiven Pathotypen 4. Die Ergebnisse unterscheiden sich nicht von den bisher erzielten Untersuchungsergebnissen. Unterschiede in der Aggressivität erwiesen sich als stabil, auch bei Verwendung von Pflanzenmaterial unterschiedlicher Sorten.

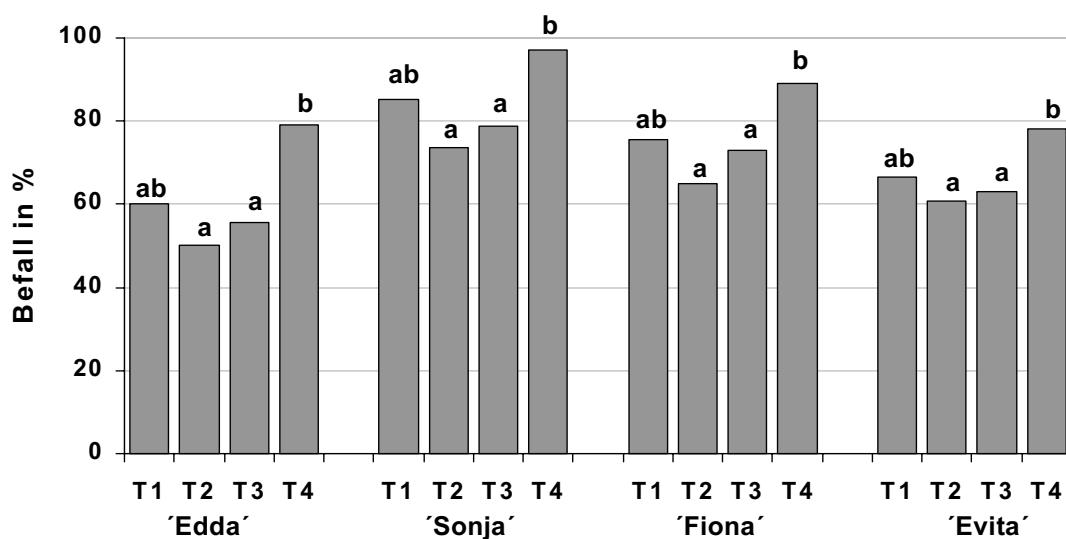


Abb. 22: Aggressivität von Isolatentypen 1 bis 4 von *R. solani* AG 2-2 gegenüber 14 Tage alten Zuckerrübensämlingen unterschiedlicher Sorten. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

An 8 bis 9 Wochen alten Zuckerrübenpflanzen war nur *Rhizoctonia solani* AG 2-2 stark pathogen, AG 4 erzeugte oberflächliche Läsionen nahe der Inokulationsstelle und Isolate anderer AGs waren nicht pathogen (WINDELS & NABBEN, 1989). Die Rübenfäule beginnt im Alter von 8 Wochen (Mitte bis später Juni). Mit zunehmendem Pflanzenalter zum Inokulationszeitpunkt werden die Schäden geringer (ENGELKES et al., 1991). Mit der Zunahme des Ca^{2+} -Gehalts im älteren Pflanzenmaterial steigt, vermutlich durch Reduktion des Pektinabbaus durch pektinolytische Enzyme des Pilzes, die Resistenz gegenüber *R. solani* (MCGUIRE & KELMAN, 1986; BATEMAN & LUMSDEN, 1965). In den dargestellten Untersuchungen wurden sowohl Mini-Tests im Sämlingsstadium, als auch älteres Pflanzenmaterial verwendet. Die Vielfalt von AGs bei natürlichem Befall an Jungpflanzen konnte nicht nachgewiesen werden. Nur bei geringen Fäuleschäden konnten andere *Rhizoctonia*-Arten als *R. solani* festgestellt werden. Vermutlich wurde der Erreger mehrere Jahre aufgrund nur schwachen Befalls ignoriert, war dann zum Zeitpunkt stark sichtbaren Befalls schon etabliert und hatte weitere AGs verdrängt. Bekannt ist, daß *R. solani* in vielen

Pathosystemen lediglich Wachstumsdepressionen und keine offensichtlichen Totalverluste verursacht (MACNISH & LEWIS, 1985).

Isolate der AG 4 können in drei Untergruppen unterschieden werden, die korrelieren mit ihrem ökologischem Habitus und der Virulenz (BOYSEN et al., 1996). Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, daß Isolate der AG 2-2 geographisch entfernter Standorte sich in ihrer Aggressivität unterscheiden. Andererseits konnten aber Isolate unterschiedlicher Standorte in einigen Fällen nicht nach ihren Virulenzeigenschaften differenziert werden. Wurden unterschiedliche Flächen mit gleichem RAPD-Typen untersucht, so zeigte sich, daß der Unterschied zwischen Regionen geringer war, als zwischen verschiedenen Typen. Auch wenn der gleiche Typ erst in der folgenden Fruchtart Weizen aus Bodenproben isoliert wurde, konnte er der dem RAPD-Typen entsprechenden Aggressivitätsstufe zugeordnet werden.

Die Einschätzung der Aggressivität ließ sich durch die Sortenwahl nicht beeinflussen. Es wurden nur tendenziell Niveauunterschiede im Befall der Sorten beobachtet. Diese könnten auf den unterschiedlichen Zuckergehalt zurückgeführt werden. Andererseits wurde beobachtet, daß bei einer reduzierten Zuckerproduktion, infolge einer späten Bereitstellung von Nitrat, die Fäule begünstigt wurde (LUDWICK et al., 1980; WINTER, 1984). Wurden nach der Infektion keine Wurzelfäule-Symptome beobachtet, so wurde dies darauf zurückgeführt, daß das entsprechende Isolat keine ausreichende Menge an Pektinlyase produzieren konnte (BUGBEE, 1993 a,b). Die Pektinlyase-Produktion von schwach virulenten Isolaten der AG 2-2 und 4 wurde außerdem durch Zucker unterdrückt. Während der mittlere Saccharose-Gehalt in den Wurzeln etwa 16 bis 18 % erzielen kann, enthalten die Blattstiele nur 0,1 bis 2 %. Zudem produziert die Zuckerrübe ein Pektin Lyase Inhibitor Protein (PNLIP) als Teil ihres Resistenz-Arsenals. Der Inhibitor PNLIP wurde in höheren Konzentrationen in der Wurzel von Zuckerrüben als in Kopf und Hals gefunden. Dies könnte auch ein Grund für den Angriff der AG 2-2 im oberen Bereich der Rübe sein. In einigen Fällen wurde auch ein Befall im unteren Wurzelbereich der Rübe gefunden. Auch hier ist der Zuckergehalt in der Relation gering.

Auf der Basis von Isoenzym polymorphismen und DNA Restriktionsanalyse ist die AG 2-2 an Zuckerrüben verschieden von der AG 2-2, die Wurzelfäulen (CBRR) an Mais verursacht (LIU et al., 1990). Die AG 2-2IV wurde hauptsächlich Wirtspflanzen der *Chenopodiaceae* zugeordnet, die 2-2IIIB den *Gramineae* (LIU & SINCLAIR, 1991). Die Pathogenität an Zuckerrüben wird als eine der Charakteristiken der AG 2-2IV beschrieben (OGOSHI, 1987; SNEH 1991). Ein Dendrogramm auf Basis der Fettsäureanalyse ergab, daß die AG 2-2IIIB und Isolate von Mais nahe verwandt sind (JOHNK & JONES, 1993). In anderen Untersuchungen waren dennoch auch Isolate von AG 2-2IIIB pathogen an Zuckerrüben. Aus diesem Grund wurde eine erneute Überprüfung der Abgrenzung von AG 2-2IV und IIIB gefordert: Außerdem bedeutet dies, daß Isolate für Untersuchungen auf Wirtsresistenz oder Pathogenität zuvor auf ihre Virulenzeigenschaften geprüft werden müssen (NELSON et al., 1996). Aus den hier aufgeführten Ergebnissen läßt sich der Schluß ziehen, daß der Typ 1 der AG 2-2IV zugeordnet werden könnte. Da es sich um ein typisches Rübenpathogen handelt, ist die hohe Aggressivität gegenüber Zuckerrübenpflanzen zu erklären. Im Gegensatz dazu könnte sich Typ 4 als aggressivstes Pathogen in Kombination mit häufigem

Maisanbau und in Anpassung an die Zuckerrübenpflanze aus der IIIB entwickelt haben. In der Literatur werden einige Gründe für unterschiedliche Virulenz genannt. So führte ein Hyphenspitzen-transfer eines mäßig virulenten Isolates der AG 3 zum Verlust von drei dsRNA Banden und damit zu einem dramatischen Anstieg der Virulenz (BHARATHAN & TAVANTZIS, 1991). Die Funktion von Plasmiden in *R. solani* ist unklar. Jedoch wurden Plasmide gewöhnlich in virulenten Stämmen gefunden. Plasmid-tragende Isolate wuchsen auch bei wechselnden Umweltbedingungen schneller. Deshalb mögen sie als Schutz vor Umweltstress und infektionserhöhend wirken (TSCHEN et al., 1997). DsRNA und DNA Plasmide sind möglicherweise sinnvolle Marker für Virulenz. Andererseits waren Isolate der AG 4 mit einem DNA Plasmid nur schwach pathogen und zeigten abnorm langsames Wachstum (HASHIBA et al., 1984). Obwohl einige Studien Zusammenhänge zur Pathogenität herstellen, sind genauere Untersuchungen ohne klare Aussage (BHARATHAN & TAVANTZIS, 1991; BHARATHAN & TAVANTZIS, 1990). Bekannt ist auch, daß sowohl hoch als auch schwach virulente Isolate der AG 1, 2, 3, 4 und 5 einige dsRNA Fragmente enthielten und somit kein Zusammenhang zwischen dsRNA und Pathogenität herstellbar war (HYAKUMACHI et al., 1985). Nach der Gewinnung von Isolat durch Hyphenspitzen-transfer, konnte in den hier dargestellten Untersuchungen keine Verminderung oder sogar Verlust der Aggressivität festgestellt werden.

3.4 Fruchtfolgeeffekte

3.4.1 Simulation der Fruchtfolge

Da einige Anastomosegruppen von *R. solani* typischerweise an bestimmten Wirtspflanzen vorkommen, wurde der Einfluß der Fruchtart auf das Auftreten des Erregers der späten Rübenfäule getestet. In einem Modellversuch wurden die Effekte unterschiedlicher Vorfrüchte auf den Befall nachfolgender Zuckerrüben geprüft. Für die Inokulation wurden Isolate des Typ 4 verwendet. Wie in Abbildung 23 dargestellt, konnte dabei ein deutlicher Effekt der Vorfrucht festgestellt werden. Stark befallen wurden die Zuckerrübenpflanzen insbesondere nach Zuckerrüben und Mais. Der Befall reduzierte sich leicht nach Anbau von Gelbsenf oder Kartoffeln und deutlicher mit der Vorfrucht 'resistente Zuckerrübensorte'. Ein signifikanter Unterschied wurde zwischen den genannten Fruchtarten und dem Effekt von Ölrettich, Winterweizen sowie Wintergerste gefunden. Deutliche Einflüsse der Sorte der Vorfrucht konnten nicht festgestellt werden. Die geringsten Schäden wurden beobachtet, wenn keine Vorfrucht ausgesät wurde.

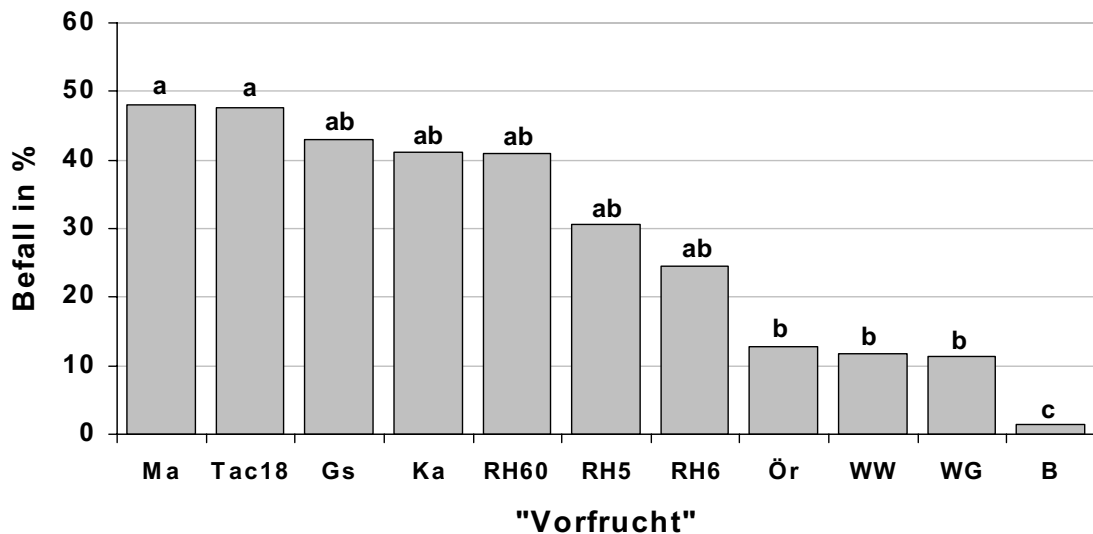


Abb. 23: Befall 14 Tage alter Zuckerrübensämlinge mit AG 2-2 Typ 4 nach unterschiedlichen 'Vorfrüchten' im Simulationsversuch (Ma=Mais, Tac18=Tachigaren 18 g/U, Gs=Gelbsenf, Ka=Kartoffel, RH60=RH130753 60 g/U, RH5 und RH6=resistente Zuckerrüben-Linien, Ör=Ölrettich, WW=Winterweizen, WG=Wintergerste, B=Schwarz-brache). Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

3.4.2 Fruchtfolgeeffekte auf Praxisflächen

Die Sammlung pflanzenbaulicher Daten mit *R. solani* befallener Flächen kann Aufschluß geben, ob bestimmte Faktoren die Gefahr oder Stärke eines Befalls mit der späten Rübenfäule erhöhen. Ein Ausschnitt aus der Auswertung von Fragebögen ist in den Tabellen 17 bis 19 dargestellt. Zusammengefaßt wurden die Pathotypen 1 bis 3 sowie 5 und 6. Getrennt aufgeführt ist Typ 4. Bezüglich der Rotationsdauer konnten keine einheitlichen Aussagen gemacht werden. Es handelte sich bei dem überwiegenden Teil der Flächen um eine dreijährige Rotation, was der Anbaupraxis entspricht. Auffallend war das vermehrte Vorkommen der Fruchtart Silomais oder Körnermais in der Fruchtfolge. Mais war auch häufig überwiegender Bestandteil der Fruchtfolge, wenn der geschätzte Anteil der befallenen Fläche mehr als 50 % betrug. Nur auf 1 % der untersuchten Befallsflächen wurden Kartoffeln angebaut. Andere Fruchtarten wie Winterroggen, Winterraps oder Feldgras sind, da sie weniger häufig zu finden waren unter dem Begriff 'Sonstige' aufgeführt. Bezüglich der Zuckerrübensorte konnten keine Aussagen gemacht werden. Es handelte sich bei dem überwiegenden Teil um rizomaniatolerantes Pflanzenmaterial weniger Sorten. Offen ist, ob der Anbau einer bestimmten Sorte den Befall förderte oder, was wahrscheinlicher ist, die Sortenwahl nur typisch für das Anbauggebiet war. In 10 % der Fälle konnte ein Befall entlang von verdichteten Fahrspuren beobachtet werden. Mit 47 % zeigte nahezu die Hälfte der Flächen entweder nur Befall auf dem Vorgewende oder einen von dort ausgehenden großflächigeren Befall. Damit waren besonders Verdichtungen des Bodens Ausgangspunkte starken Auftretens der Rübenfäule. Der Befallsgrad lag in den meisten Fällen bei einem Flächenanteil von weniger als 10 %. Häufig wurde unter 'Besonderheiten'

das Auftreten von starken Niederschlägen und nachfolgend eine starke Zunahme des Anteils abgestorbener Pflanzen erwähnt. Die Ausbringung organischer Düngung sowie die Beregnung von Flächen wurde zwar auf einigen Flächen durchgeführt, allerdings war auch hier kein direkter Zusammenhang zum Auftreten der späten Rübenfäule herstellbar. Ein Befall in Vorjahren wurde nur auf wenigen Flächen beobachtet, es wird jedoch vermutet, daß er aufgrund sehr kleiner Befallsnester übersehen wurde.

Tab. 17: Auswertung von Fragebögen zum Auftreten der späten Rübenfäule, verursacht durch AG 2-2 Typ 1, 2 und 3. (FG=Feldgras, WW=Winterweizen, WG=Wintergerste, KM=Körnermais, SM=Silomais, K=Kartoffel)

Isolate-Kennung RH...	Typ der AG 2-2	Rotation	Fruchtfolge					Befalls- Fläche in %	Befall in Vor- jahren
			Son stige	WW WG	KM	SM	K		
9701-12	1	2						10	
9834	1	2						10	
9855-56	1	2						10	
9817	1	3						10	
9818-19	1	3						10	+
9849-50	1	3						10	
9854	1	3						10	
97127-138	1	4						50	+
9811-12	2	3						15	
9815-16	3	1						25	
98337-339	3 4 6	2						50	
9743	3	3							
9760	3	3						10	
97232-242	3	3						10	
97320-331	3	3						10	
9803-9804	3	3	FG					10	
9809-10	3	3	FG					25	
9832-33	3	3						50	
9847-48	3	3						75	+
9857-58	3	3						10	
9737-40	3	4							
9839	3	4						50	
9838	3	5						10	

□ =1 x ■ =2 x ■ =3 x in der Rotation

Tab. 18: Auswertung von Fragebögen zum Auftreten der späten Rübenfäule, verursacht durch AG 2-2 Typ 4. (FG=Feldgras, WW=Winterweizen, WG=Wintergerste, KM=Körnermais, SM=Silomais, K=Kartoffel)

Isolate-Kennung RH...	Typ der AG- 2-2	Rotation	Fruchtfolge					Befalls- Fläche in %	Befall in Vor- jahren
			Son stige	WW WG	KM	SM	K		
9777-126	4	4						75	
97171-185	4	3						10	
97186-198	4	3						10	
97202-213	4	3						25	
97214-218	4	4						75	+
97219-231	4	4						10	
97243-254	4	4						50	
97255-266	4	3						75	+
97272-285	4	4						10	
97286-292	4	4						10	+
97293-304	4	3						10	
97305-310	4 6	4						10	
97340-342	3 4 6	2						50	
9813	4	7						25	
9835-36	4	3						10	
9837	4	3						75	
9840	4	5						10	
9841-42	4	3						10	
9843-44	4	3						75	
9845-46	4	3						10	
9853	4	3						75	+

□ =1 x ■ =2 x ■ =3 x in der Rotation

Tab. 19: Auswertung von Fragebögen zum Auftreten der späten Rübenfäule, verursacht durch AG 2-2 Typ 5 und 6. (FG=Feldgras, WW=Winterweizen, WG=Wintergerste, KM=Körnermais, SM=Silomais, K=Kartoffel)

Isolate-Kennung RH...	Typ der AG- 2-2	Rotation	Fruchtfolge					Befalls- Fläche in %	Befall in Vor- jahren
			Son stige	WW WG	KM	SM	K		
97158-170	5	3						10	
9851-52	5	4						10	
9805	5	4						10	
9806	5	4						25	
97311-319	4 6	4						10	
97334-348	3 4 6	2						50	
97349-362	6	3						10	+
9859-60	6	2						25	

□ =1 x ■ =2 x ■ =3 x in der Rotation

Wurden die Pathotypen 1, 3 und 4 nach den Flächenangaben zusammengestellt, ergaben sich die in Tabelle 20 dargestellten Kennzeichen für den Typ der AG 2-2. Die durchschnittliche Rotationsdauer unterschied sich zwischen den Erregertypen nur geringfügig. Aufgeführt sind weiterhin der Anteil von Winterweizen und Wintergerste, Körner- und Silomais sowie Kartoffeln. Ausgewertet wurde der prozentuale Anteil von Flächen, auf denen eine bestimmte Fruchtart angebaut wurde. Weiterhin wurde auch der durchschnittliche Anteil der Fruchtart in der Fruchtfolge bestimmt. Der Anteil 'sonstiger' Fruchtarten lag bei den Typen 3 und 4 tendenziell höher als bei Vorkommen von Typ 1. Winterweizen und Gerste waren bei Vorkommen aller Pathotypen zu etwa 30 % Bestandteil der Fruchtfolge. Körner- und Silomais wurden bei Auftreten von Typ 1 und 3 auf 40 %, bei Typ 4 dagegen auf 76 % aller untersuchten Flächen angebaut. Wurde der durchschnittliche Anteil der Fruchtart Mais in der Rotation der unterschiedlichen Flächen errechnet, ergab sich auch hier ein tendenzieller Anstieg von Typ 1 mit 20 % zu Typ 3 mit 29 % und schließlich Typ 4 mit 33 %. Kartoffeln wurden nur auf 13 % der Flächen mit Vorkommen von Typ 1 angebaut. Ein Auftreten im Zusammenhang mit anderen Pathotypen wurde nicht festgestellt. Wird die Größe der Befallsnester für die unterschiedlichen Pathotypen gemittelt, ergibt sich ein durchschnittlicher Befall von 15 % für Typ 1, 28 % für Typ 3 und 34 % für Typ 4. Damit trat Typ 4 vermehrt bei Maisanbau auf und verursachte einen stärkeren Befallsgrad der gesamten Fläche.

Tab. 20: Auswertung von Fragebögen zum Auftreten der späten Rübenfäule, verursacht durch AG 2-2 Typ 1, 3 und 4. (WW=Winterweizen, WG=Wintergerste, KM=Körnermais, SM=Silomais, K=Kartoffel)

	Typ der AG-2-2	Rotation	Fruchtfolge				Befalls-Fläche in %
			Son stige	WW WG	KM SM	K	
Ø Anteil der Flächen *	1	3	13,0	63,0	38,0	13,0	15,0
Ø Anteil in der Fruchtfolge **			4,2	33,3	19,8	4,2	
Ø Anteil der Flächen	3	3	29,0	57,0	43,0	0,0	27,9
Ø Anteil in der Fruchtfolge			16,7	33,5	29,4	0,0	
Ø Anteil der Flächen	4	4	19,0	86,0	76,0	0,0	33,8
Ø Anteil in der Fruchtfolge			5,2	31,4	32,9	0,0	
* Prozentualer Anteil der Flächen unterschiedlicher Betriebe mit einer bestimmten Fruchtart							
** Prozentualer Anteil einer Fruchtart in der Fruchtfolge. In der Gesamtzahl sind Flächen ohne Anbau der Fruchtart einbezogen.							

Die Rübenfäule wird häufig durch eine Kombination verschiedener AGs verursacht und bekommt damit eine Bedeutung für die gesamte Rotation, in der unterschiedliche Fruchtarten durch verschiedene AGs befallen oder symptomlos parasitiert werden können (BALALI et al., 1995; DANIELS, 1963). Isolate der AG 2-2, 4 und 5 sind in der Lage, Ernterückstände von Weizen und Mais saprophytisch zu besiedeln. Obwohl einige Isolate der genannten AGs das Auflaufen von Mais reduzierten und Wurzelverfärbungen an Keimlingen verursachten, waren jedoch keine hoch virulent an dieser Fruchtart (RUSH et al., 1994). Auch nach Kartoffeln wurde ein verstärkter Befall von Zuckerrüben beobachtet. Die AG 2-2 ist pathogen an der Kartoffel. Der Erreger konnte auch von scheinbar gesunden Knollen isoliert werden (RUSTAD & WINDELS, 1991). Zuckerrübe und Kartoffel werden als Wirtspflanzen bezeichnet und Getreidearten sowie Mais als Nichtwirtspflanzen (MAXSON, 1938; SCHUSTER & HARRIS, 1960). Der Befall nach Wirtspflanzen lag um 3 bis 50 % höher als nach Nichtwirten. Im Gegensatz dazu konnte mit der AG 2-2 Isolat R-9 festgestellt werden, daß Gerste, Bohne, Mais, rote Rübe und Sojabohne hoch anfällig sind. Im Feld wurde jedoch beobachtet, daß die Zahl befallener Zuckerrüben nach Getreidearten sowie Mais zurückgeht. Dies wurde zurückgeführt auf den Saatzeitpunkt. Die Getreidearten werden zu einer Zeit ausgesät, in der das Wachstum der Pflanzen dem des Pathogen überlegen ist (RUPPEL, 1985).

Aufgrund der völlig unterschiedlichen Angaben, welche Pflanzen tatsächlich Wirte der AG 2-2 sind, ist zu vermuten, daß es sich um verschiedene Krankheitserreger handelte, die untersucht wurden. Es wurde nicht berichtet, ob das 'Maispathogen' AG 2-2IIIB oder das 'Rübenpathogen' AG2-2IV verwendet wurde. In den dargestellten Fruchtfolge-Simulationsversuchen konnte ein deutlicher Effekt der Vorfrucht festgestellt werden. Dabei wurden

Isolate der AG 2-2 Typ 4, also ein Maispathogen, verwendet. Stark befallen wurden Zuckerrübenpflanzen nach Zuckerrüben, aber auch nach Mais. Ein geringerer Anteil befallener Pflanzen wurde bei Gelbsenf und Kartoffeln, sowie bei Verwendung resistenter Zuckerrübenlinien festgestellt, die geringsten Schäden wurden nach Schwarzbrache beobachtet. Bracheperioden, sowie tiefes Unterpflügen, können das Inokulumpotential im Feld reduzieren (RUPPEL, 1991; RUSH & WINTER, 1990). Zu beachten ist, daß die Anfälligkeit der Zuckerrübenpflanzen in den hier dargestellten Ergebnissen im Sämlingsstadium überprüft wurde. Da die AG 2-2 jedoch auch unter natürlichen Infektionsbedingungen schon in diesem Stadium festgestellt werden konnte und sich zu dem gesamten Befallsbild ergänzt, ist eine Übertragung auf natürliche Bedingungen möglich. Von Maispflanzen oder aus Ernterückständen von Mais konnte die AG 2-2, auch bei starkem Befall der Vorfrucht Zuckerrübe, nicht isoliert werden. Die Schwierigkeit der Isolierung von Maiswurzeln könnte dadurch bedingt sein, daß der Pilz das Wirtsgewebe abtötet, und nach der Zerstörung des Wurzelgewebes rasch autolysiert oder durch andere Pilze ersetzt wird (SUMNER & MINTON, 1989). Allgemein bilden Pflanzenreste mit niedrigem C:N-Verhältnis wie von Gemüsearten oder unreife Ernterückstände von z.B. Mais oder Gerste flüchtige Amin-Verbindungen, die stimulierend wirken auf Wachstum und Pigmentierung von *R. solani* und damit möglicherweise auch auf die Aggressivität (HYAKUMACHI et al., 1987; HYAKUMACHI & UI, 1987; LEWIS & PAPAIVAS, 1974). Unterschiedlich sind die Literaturangaben bezüglich einer Resistenz der älteren Pflanze gegenüber *R. solani*. Beobachtet wurde eine Altersresistenz an Zuckerrüben, Mais, Bohne, Ölrettich und Canola mit zunehmendem Inokulationsalter (RUPPEL & HECKER, 1988; RUPPEL, 1985; YANG & VERMA, 1992). Andere beschrieben, daß Zuckerrüben und Möhren die gesamte Vegetationszeit anfällig bleiben (LECLERG, 1934; MILDENHALL & WILLIAMS, 1973).

Trotz der Beachtung aller Fruchtarten in der Rotation gilt grundsätzlich, daß die Häufigkeit des Anbaus der Zuckerrübe wesentlich mehr Einfluß hat, als die vorangegangene Frucht (SCHOLTE, 1987). Wurden die Daten natürlich befallener Flächen zusammengefaßt, ergab sich, daß die Rübenfäule überwiegend in dreijährigen Rotationen auftrat. In eingearbeiteten Zuckerrüben-Ernterückständen kann der Erreger für mindestens zwei Jahre überleben (ENGELKES & WINDELS, 1990). Allerdings können auch andere Wirtspflanzen durch die AG 2-2 infiziert werden und das Inokulumniveau weiterhin hoch halten. Die Isolierungshäufigkeit der AG 2-2 wuchs mit ständigem Zuckerrübenanbau, während andere Gruppen seltener wurden. Dies demonstriert einen hohen Grad der Abhängigkeit von der Wirtspflanze (KOMOTO et al., 1970). Auch im Rheinland und in Niederbayern wurde die AG 2-2 nahezu ausschließlich isoliert. Dies könnte den Schluß zulassen, daß sich eine nicht in Befall äußernde Mischpopulation von *R. solani* durch häufigen Zuckerrübenanbau und die Wirtspflanze Mais sowie weitere Bedingungen, wie höhere Temperaturen, zu einer spezialisierten, sehr homogenen Population entwickelt hat. Tendenziell war ein Anstieg des durchschnittlichen Anteils von Mais in der Fruchtfolge bei Vorkommen von Typ 1 und damit AG 2-2IV über Typ 3 nach Typ 4, beide der AG 2-2IIIB zuzuordnen, festzustellen. Weiterhin war auch eine Erhöhung des durchschnittlichen Befalls in dieser Reihenfolge zu beobachten. Die Ursache für eine möglicherweise befallsfördernde Wirkung des Mais ist unklar. Die alleinige Wirkung von großen Mengen organischer Substanz, sowie mit ungünstigen Ernteverhältnissen verbundene Bodenverdichtungen, konnten in den

Fruchtfolgesimulationen, in denen die oberirdische Pflanzenmasse abgeerntet wurde, ausgeschlossen werden. Welche Rolle Wurzelexsudate im Maisanbau in Verbindung mit der Rübenfäule spielen ist unbekannt (BROOKHOUSER & WEINHOLD; 1979; DODMAN et al., 1968). Ein weiterer Zusammenhang zwischen der Befallsstärke oder dem Auftreten von bestimmten Erregertypen und einer Fruchtart konnte nicht beobachtet werden. Nur auf 1 % der Flächen waren Kartoffeln Teil der Fruchtfolge. Der Anteil von Weizen und Gerste war bei allen Erregertypen ähnlich. Verstärkt trat *R. solani* nach Anbau von Feldgras auf. Dagegen hatte die Wahl der Zuckerrübensorte keinen Einfluß.

Das Auftreten von Befallsnestern konnte in einigen Fällen auf Bodenverdichtungen zurückgeführt werden. Bodenverdichtungen fördern die Hyphendichte pro Gramm Boden bei der AG 2-1 (GLENN & SIVASITHAMPARAM, 1990). Auf 10 % der untersuchten Flächen war ein Bezug zu Fahrspuren herzustellen. Etwa die Hälfte der Flächen zeigte Befall auf dem Vorgewende oder von dort ausgehenden, mit der Bodenbearbeitung verschleppten, starken Befall. Lebensfähige Vermehrungseinheiten von *Rhizoctonia spp.* wurden häufiger in Sandböden mit grober Textur gefunden, als in feinem Sand oder Ton (PAPAVIZAS, 1968). Im Gegensatz dazu wurde die AG 2, ohne weitere Angabe der Untergruppe, besonders bei feiner Bodentextur isoliert (HERR & ROBERTS, 1980). Dies stimmt überein mit der Angabe, daß Wurzelfäule-Isolate eine höhere CO₂-Toleranz besitzen als Blatt- oder Kopf-Isolate (DURBIN, 1959). Die AG 2-2 konnte häufig von Sandböden, die zudem leichter erwärmbar sind, isoliert werden, da aber auch Befall auf schweren Böden auftrat, können aus den Untersuchungen keine Rückschlüsse auf die Bodentextur gezogen werden.

Befallsnester von *R. solani* AG 8 können sich zwischen den Vegetationsperioden um 25 bis 250 cm ausdehnen (LUDBROOK et al., 1953). In anderen Untersuchungen verschwanden 22 von 74 bekannten Nestern von einer Vegetation zur nächsten (KERR, 1955). Die übrigen hatten dieselbe Position und wuchsen zwischen 0 und 50 cm. Andererseits entstanden auch neue Nester. Im Kartoffelanbau unterschied sich die Größe der Befallsnester sowie die Inokulumdichte innerhalb der Nester. In zweijähriger Rotation zeigten sich große Nester mit kleinen Abständen, in sechsjähriger Rotation kleine Nester mit großen Lücken (GILLIGAN et al., 1996). In den hier dargestellten Ergebnissen lag der Befallsgrad überwiegend bei weniger als 10 % der gesamten Fläche. Möglich waren aber auch Verluste von mehr als 50 % bis hin zu nicht erntewürdigen Flächen. Nur in wenigen Fällen wurden auch in den Vorjahren Befallsherde festgestellt. Dennoch waren sehr hohe Verluste auch bei bis dahin nicht beobachtetem Vorkommen von *R. solani* möglich. Es ist zu vermuten, daß zusätzlich zu den bekannten Befallsflächen, eine hohe Zahl von Flächen existiert, auf denen, aufgrund nur weniger betroffener Pflanzen, ein Befall bisher übersehen wurde. Unauffällig geringer Befall in Vorjahren schließt das Auftreten plötzlich stark vergrößerter Nester nicht aus. Es besteht eine negative Korrelation zwischen der Stärke des Auftretens und der Sklerotienkeimung (HORNBY, 1990). So zeigten Sklerotien um Wurzeln mit hohem Krankheitsindex nur geringe Keimraten. Bei Hinzufügen gleichen Inokulumlevels war die Krankheit stark auf Flächen, die nur wenig Symptome gezeigt hatten, schwach auf Flächen mit vorjährig starken Symptomen (HYAKUMACHI, 1983a). Dies macht zum einen das plötzliche Auftreten sehr großer Nester möglich, zum anderen wird auch das völlige Verschwinden von Befallsherden erklärlich. Beschleunigt wurden die Schäden durch das

Auftreten von starken Niederschlägen. Hier konnte insbesondere das Vorkommen in Kombination mit Schorfrissen festgestellt werden. Primäre Eintrittspforten für die AG 2-2 sind die Unterseite von Blattstielen bei Bodenkontakt, natürliche Risse im Rübenkopf, Lentizellen an der Wurzel und die Ausgangsstellen lateraler Wurzeln (SNEH et al., 1996).

Zusätzlich zu der Betrachtung der Anfälligkeit einer Vorfrucht gegenüber Erregern, die die Folgefrucht beeinträchtigen, müssen bei der Auswahl von Fruchtarten andere Faktoren beachtet werden (RUPPEL, 1985). So ist Nitrat, das nach der Vorfrucht im Boden vorhanden ist, negativ korreliert mit der Befallsstärke durch *R. solani*. Ein anderer Faktor ist die Masse der Ernterückstände, die positiv korreliert sein kann (RUSH & WINTER, 1990). Aber auch der Bearbeitungszeitpunkt ist zu berücksichtigen (SPECHT & LEACH, 1987). Je näher die Bearbeitung am Saatzeitpunkt liegt, desto besser ist der Bekämpfungserfolg (NEATE, 1987). Die Fruchtfolge alleine bietet bei ökonomisch bedingter Beibehaltung des Anteils von Zuckerrüben in der Fruchtfolge und hohem Inokulumpotential keine erfolgreiche Bekämpfungsstrategie. Die AG 2-2 ist oft an eine Vielzahl von Umweltbedingungen und Früchte adaptiert, so daß die Fruchtfolge zur Reduktion des Inokulumpotentials nach der erfolgten Etablierung des Pathogens wenig sinnvoll ist (SUMNER & BELL, 1986). Der hohe Anteil anfälliger oder inokulumvermehrnder Fruchtarten, und die Notwendigkeit, diese Fruchtarten in der Folge zu halten, sowie kurze Rotation können dazu führen, daß Befallsauftreten und -stärke der Rübenfäule noch steigen werden. Die Fruchtfolge als Vorbeugestrategie wird damit immer weniger wirkungsvoll oder braucht weitere unterstützende Maßnahmen, wie resistente Zuckerrübensorten oder Fungizide und Antagonisten.

3.5 Bekämpfung von *R. solani* AG 2-2

3.5.1 Zuckerrübensorten und resistente Linien

Es wurde zunächst untersucht, welche Testmethode für eine schnelle Differenzierung von Zuckerrübensorten im Verhalten gegenüber dem Pathogen *R. solani* verwendet werden konnte. Gegenübergestellt sind in Abbildung 24 die Befallsergebnisse, die im Labor bzw. Gewächshaus erzielt wurden. Ein deutlicher Unterschied zeigte sich in den Laboruntersuchungen nur zwischen Sorten und dem resistenten Pflanzenmaterial. Die Differenzierung zwischen Sorten im Bereich zwischen 30 und 60 % Befall fiel unter Laborbedingungen wesentlich undeutlicher aus. Dennoch betrug die Korrelation zwischen den Ergebnissen 2 und 8 Woche alter Pflanzen $r=0,69$ und bestätigt damit die Möglichkeit einer Vorselektion von Sorten durch Laboruntersuchungen. Beide Tests erfassen allerdings nur das Jugendstadium der Pflanzen.

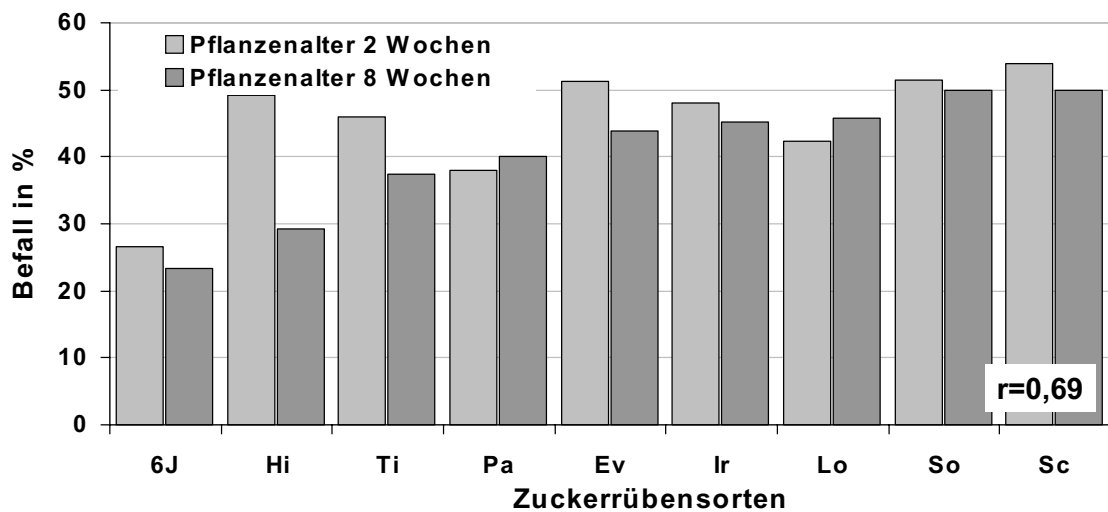


Abb. 24: Befall 2 und 8 Wochen alter Zuckerrübenpflanzen unterschiedlicher Sorten ('Hilma', 'Tina', 'Irena', 'Patricia', 'Evita', 'Sonja', 'Loretta', 'Scarlett') sowie einer resistenten Linie ('6J') mit einem Isolat des Typ 4 (RH97116) von *R. solani* AG 2-2.

Weiterhin stellte sich die Frage, ob die Sortenunterschiede für eine Unterdrückung der Krankheit ausreichen. Wie in Abbildung 25 dargestellt, konnten keine signifikanten Befallsunterschiede zwischen Sorten festgestellt werden. Es konnte jedoch ein Zusammenhang zwischen dem relativen Zuckerertrag aus den Sortenversuchen Rheinland 1995 bis 1997 (Region West, ARGE Bonn) und dem Befallsgrad der Sorte ermittelt werden ($r=0,89$). Die Unterschiede waren jedoch zu gering, um die Wahl einer Zuckerrübensorte bei zu erwartendem *Rhizoctonia*-Befall zu beeinflussen.

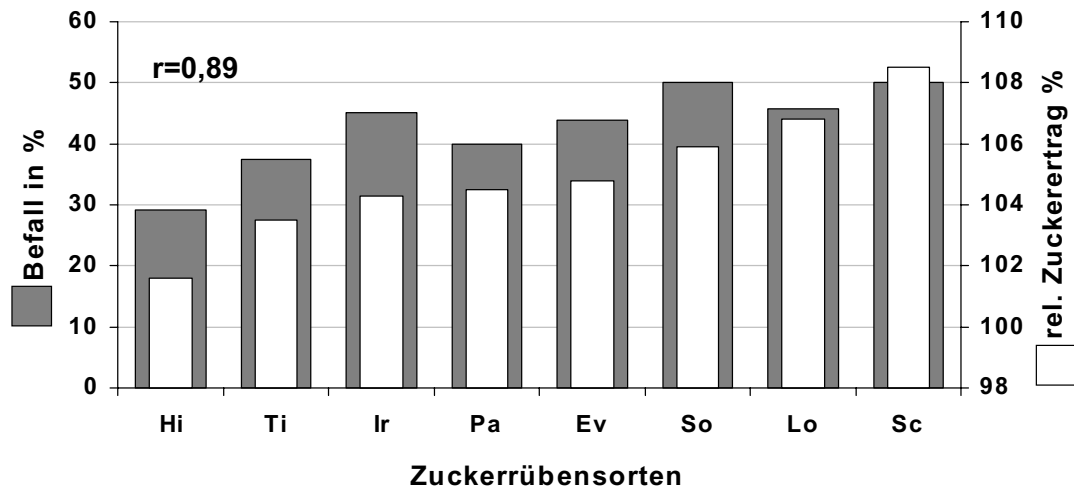


Abb. 25: Befall 8 Wochen (Gewächshaus) alter Zuckerrübenpflanzen unterschiedlicher Sorten ('Hilma', 'Tina', 'Irena', 'Patricia', 'Evita', 'Sonja', 'Loretta', 'Scarlett') mit einem Isolat des Typ 4 (RH97116) von *R. solani* AG 2-2 und Bezug zum rel. Zuckerertrag in Prozent.

Da Unterschiede zwischen Zuckerrübensorten nicht festgestellt werden konnten, wurde unter kontrollierten Bedingungen untersucht, inwieweit sich resistentes Pflanzenmaterial im Resistenzgrad unterschied bzw. ob auch zwischen Zuckerrübenlinien unterschiedlicher Herkunft signifikante Befallsunterschiede festgestellt werden konnten. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Abbildung 26 dargestellt. Zwischen den beiden Sorten 'Hilma' und 'Ribella' konnten keine gesicherten Befallsunterschiede festgestellt werden. Das Befallsniveau unterschied sich jedoch signifikant zu den meisten resistenten Linien. Insbesondere die Linien RH1 und 2 zeigten mit etwa 55 % Befall eine starke Reduktion gegenüber den Standardsorten mit etwa 90 % befallenen Pflanzen. Die übrigen Linien zeigten ein Befallsniveau von 65 bis 80 %. Ein nur schwacher Befall resistenter Pflanzen konnte, aufgrund des hohen Infektionsdrucks, nicht beobachtet werden.

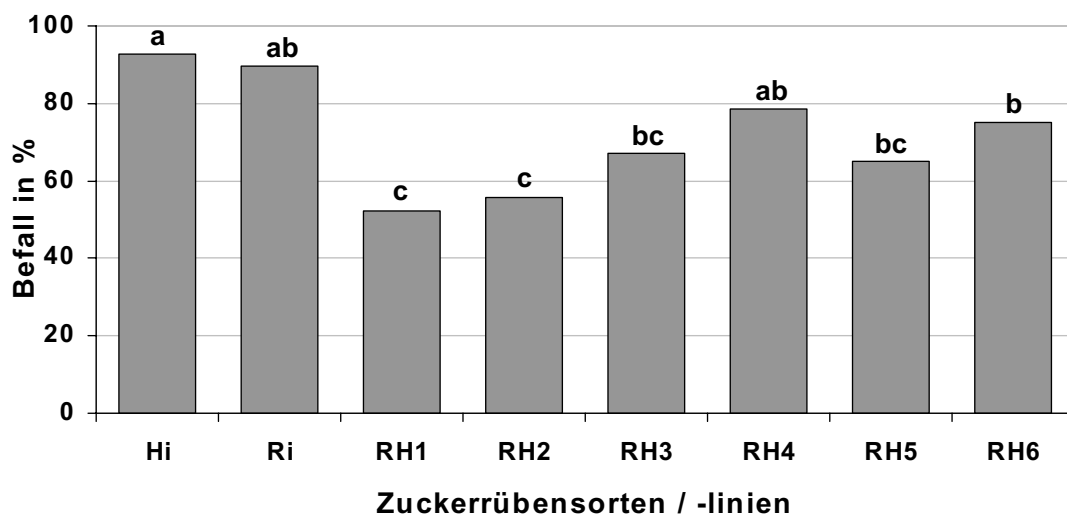


Abb. 26: Befall 8 Wochen (Gewächshaus) alter Zuckerrübenpflanzen unterschiedlicher Sorten ('Hilma', 'Ribella') und resistenter Linien (Str, Hil, KWS) mit einem Isolat vom Typ 4 (RH97116) von *Rhizoctonia solani* AG 2-2. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Unter Bedingungen natürlichen Befalls wurde der Einfluß des Pflanzenmaterials am Standort Elsdorf überprüft. Der Befallsverlauf für die einzelnen Versuchsvarianten ist in Abbildung 27 dargestellt. Mit 15 % waren die Pflanzenausfälle bei Anbau der Standardsorte Belissa am höchsten. Einen hohen Wert zeigte auch Sorte Aurica. Durch Anbau der resistenten Linien RH1 und 3 konnte keine Reduktion im Vergleich zu Sorte Scarlett erzielt werden. Nur bei Anbau der Linien RH2 und 4 wurde ein deutlich geringerer Prozentsatz von Zuckerrübenpflanzen befallen.

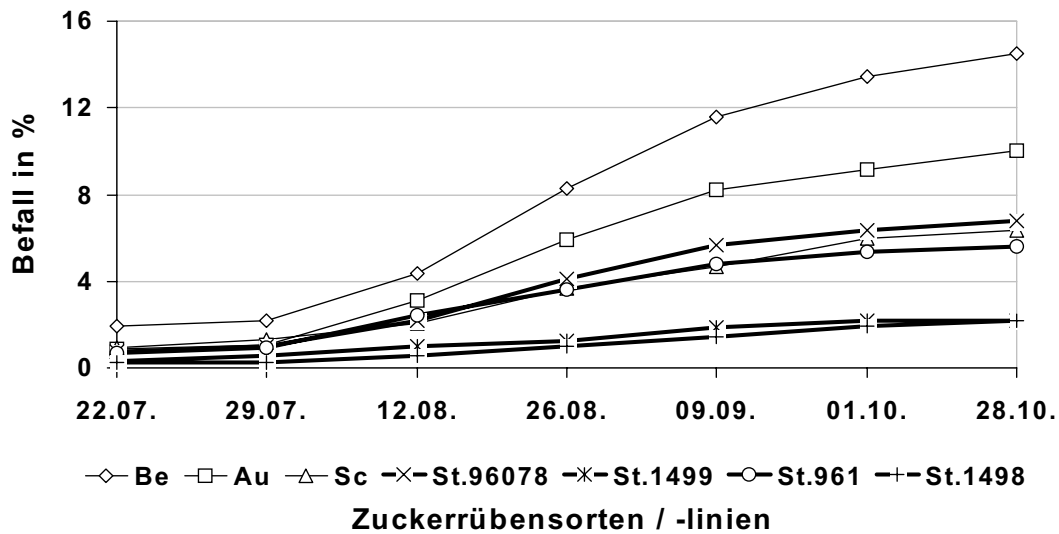


Abb. 27: Anteil mit *R. solani* befallener Zuckerrüben verschiedener Sorten (Be='Belissa', Au='Aurica', Sc='Scarlett') und resistenter Linien ('St...'). Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

Bei der Gegenüberstellung von Sorten und Linien in 1998 konnte eine noch deutlichere Trennung im Befallsniveau resistenter Linien und Standardsorten festgestellt werden (Abb. 28). Die Sorten 'Hilma', 'Ribella', 'Belissa', 'Scarlett' und 'Aurica' zeigten am 25. September Befallswerte zwischen 22 und 30 %. Die höchsten Pflanzenausfälle wies, wie im Vorjahr, die Sorte 'Belissa' auf. Deutlich weniger Befall wurde durch Anbau der Sorte 'Ribella' erzielt. Der Befallsgrad der toleranten Linien lag zwischen 8 und 13 % und damit deutlich unter dem Sortenniveau. Die erfolgreichste Linie RH5 zeigte nur etwa 3 % Befall. Signifikante Unterschiede konnten nicht festgestellt werden.

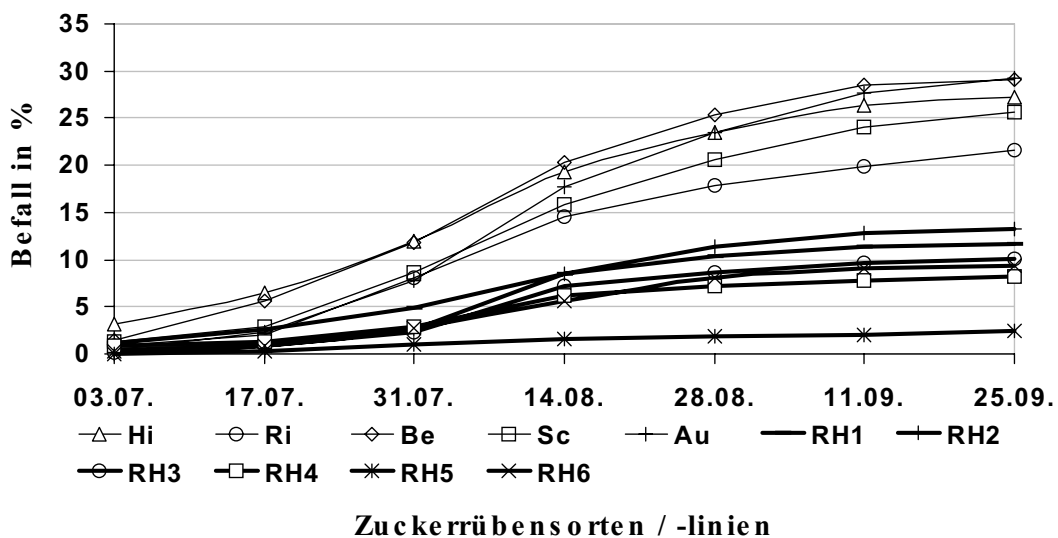


Abb. 28: Anteil mit *R. solani* befallener Zuckerrüben verschiedener Sorten (Hi='Hilma', Ri='Ribella', Be='Belissa', Sc='Scarlett', Au='Aurica') und resistenter Linien ('RH1-6'). Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

Die geernteten Rübenkörper wurden ebenfalls auf Fäulesymptome untersucht. Der Totalausfall von Pflanzen bis zum 25.09. ist in Abbildung 29 dem Anteil gering geschädigten Gewebes am Rübenkörper gegenübergestellt. Der Anteil in der Klasse '1-33%' war bei den handelsüblichen Sorten geringer als bei den resistenten Linien.

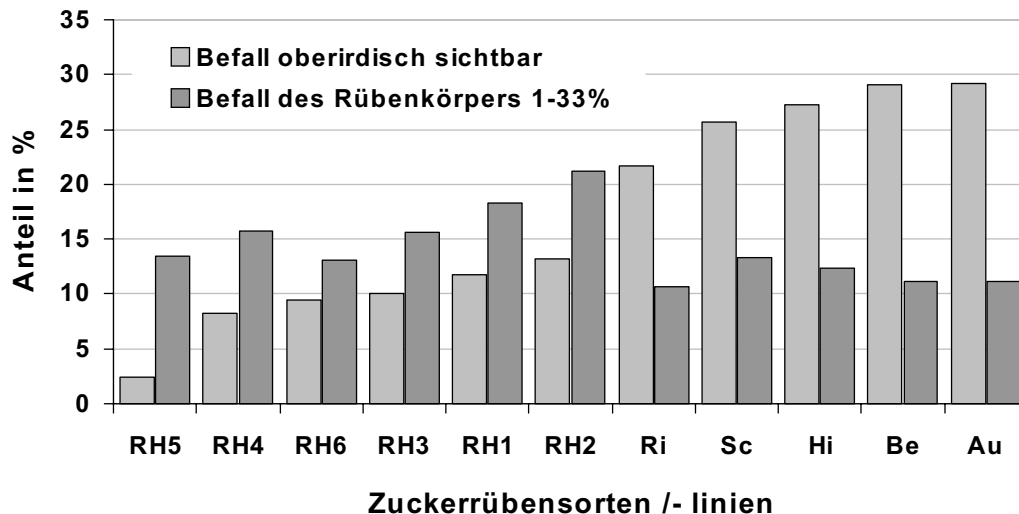


Abb. 29: Anteil mit *R. solani* befallener Zuckerrüben unterschiedlicher Sorten (Hi='Hilma', Ri='Ribella', Be='Belissa', Sc='Scarlett', Au='Aurica') und resistenter Linien ('RH1-6'). Angegeben ist der Totalausfall von Pflanzen bis zum 25.09. sowie der Befall des Rübenkörpers in Prozent. Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Wahl einer resistenten Sorte einen guten Bekämpfungserfolg bietet. Allerdings steht bisher kein Material für den Anbau in Deutschland zur Verfügung. Resistenzzuchtprogramme gegen die späte Rübenfäule wurden in den späten 50er Jahren gestartet. Die Resistenz in Zuckerrüben ist polygen bedingt. Die Heritabilität i.w.S. liegt bei 0,65 mit nichtadditiven Varianzkomponenten (HECKER & RUPPEL, 1975). Diese relativ hohe Heritabilität hat die Entwicklung resistenten Pflanzenmaterials ermöglicht. Sehr aggressive Isolate der AG 2-2 wurden durch *Rhizoctonia*-resistente Pflanzen jedoch nicht gehemmt (ENGELKES & WINDELS, 1988). Dies gibt den Hinweis, daß das Resistenzniveau bei Verwendung unterschiedlicher Pathotypen überprüft werden muß. Wurde der Infektionsverlauf näher untersucht, zeigte sich, daß Exsudate resistenter Sorten die Bildung komplizierterer Typen von Infektionskissen induzierten. Zwischen dem Befallsgrad von Pflanzen und der Bildung einfacher Infektionsstrukturen bestand ein hoher Grad an Korrelation (EL-SAMRA et al., 1980). Die Infektion schritt bei resistenten Pflanzen langsamer fort. Die Hyphen waren in frühen Infektionsstadien auf das Gewebe der Wurzelrinde beschränkt (YANG et al., 1992). Der Durchmesser und die Tiefe der Läsionen waren geringer als bei anfälligen Wurzeln. Resistenz war jedoch nicht durch mechanische Barrieren bedingt (RUPPEL, 1972). Dies entspricht den Beobachtungen in den Versuchsjahren 1996 und 1997. Wurden die Zuckerrübenkörper resistenter Linien zum Erntezeitpunkt bonitiert, so zeigte sich meist nur ein schwacher oberflächlicher Befall. In

allen Versuchen konnte ein deutlicher Befallsrückgang bei Verwendung resistenter Linien beobachtet werden. Allerdings bestand ein hoher Grad an Abweichung zwischen einzelnen Linien. Unter extrem hohem Infektionsdruck, nach Inokulation, konnten bis zu 70 % Befall auch bei resistantem Pflanzenmaterial beobachtet werden. Dies war jedoch zusätzlich bedingt durch das Pflanzenalter. Auch im Feld waren resistente Sorten bei Frühbefall anfällig. Die Resistenz alleine ist nicht ausreichend für eine erfolgreiche Krankheitsunterdrückung. Aus diesem Grund ergeben sich Ansatzpunkte für eine Kombination mit Saatgutbehandlungen biologischer oder fungizider Art.

Die Verwendung resistenter Sorten hat auch längerfristig einen Einfluß auf den Befall mit *R. solani*. So zeigte sich in Fruchtfolgesimulationen, daß der Befall nachfolgender Zuckerrüben einer Standardsorte nach Anbau resistenter Zuckerrüben vermindert war. Diese resultieren in weniger Inokulumbildung, da vermutlich die Wurzeloberfläche weniger günstig für die Sklerotienbildung ist (ENGELKES & WINDELS, 1991). Wichtig für die Anbaubedeutung ist eine kombinierte Resistenz des Zuchtmaterials (BUGBEE & CAMPBELL, 1990). Besonders auf stark befallenen Flächen in Deutschland waren häufig schon *Rizomania*-Probleme bekannt und mußten bei der Sortenwahl berücksichtigt werden.

Die Resistenz muß gegenüber einer Zahl unterschiedlich aggressiver Erreger der AG-2-2 getestet werden. Wurden sowohl Isolate der AG 2-2IIIB als auch IV getestet, erwies sich die multigene *Rhizoctonia*-Resistenz als sehr stabil (WINDELS et al., 1995). Es handelt sich jedoch um einen sehr variablen Erreger, der variabel auch auf resistentes Pflanzenmaterial reagieren könnte.

3.5.2 Saatgutbehandlung mit Antagonisten und Fungiziden

Zuckerrübensaatgut wurde zunächst mit den Fungiziden RH130753 und 'Amistar', sowie den Bakterienstämmen 'FZB24', '37' und '44' behandelt und auf die Möglichkeit einer Reduktion des Befalls mit der Rübenfäule untersucht (Abb. 30). Die Rübenkörper wurden 4 Wochen nach Inokulation ausgewertet. Dabei ergab sich aufgrund einer sehr schnell fortschreitenden Besiedlung durch den Pilz unter kontrollierten Bedingungen keine deutliche Wirkung durch Antagonisten. Eine signifikante Reduktion der Rübenfäule konnte durch die Anwendung der Fungizide erzielt werden. Dabei wirkte die Prüfsubstanz RH130753 mit 7 % befallenen Pflanzen besser als das Strobilurin mit 48 % Befall. Dies bedeutet eine deutliche Reduktion gegenüber dem Befall der Kontrolle mit nahezu 100 %.

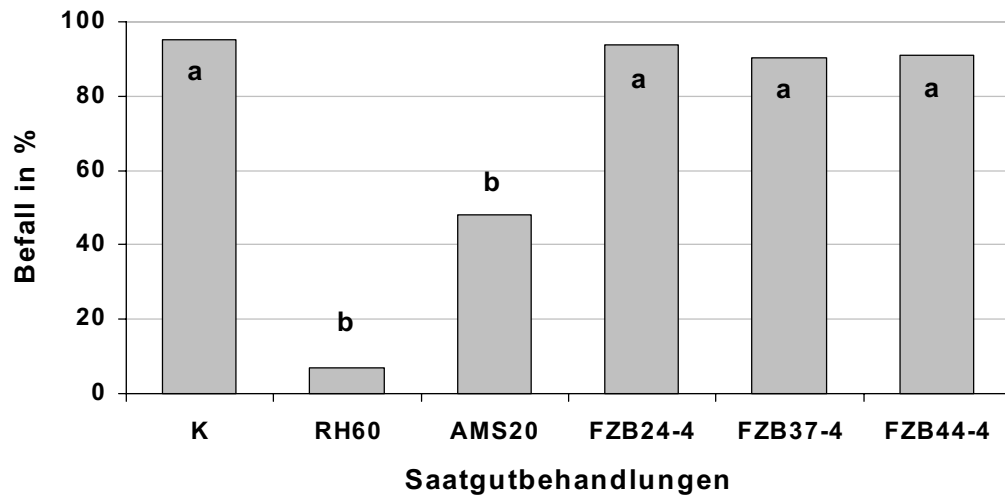


Abb. 30: Befall 8 Wochen (Gewächshaus) alter Zuckerrübenpflanzen der Sorte 'Patricia' mit Typ 4 (RH97116) von *R. solani* AG 2-2 nach einer Saatgutbehandlung mit RH130753 (RH60=60 g/U), Azoxystrobin (AMS20=20 g/U) und verschiedenen Stämmen von *B. subtilis* (FZB24, 37, 44-4=4g/U). Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Die Versuchsergebnisse wurden unter Freilandbedingungen nach Inokulation der Untersuchungsflächen überprüft (Abb. 31). Es bestätigten sich die Resultate für das Versuchspräparat, sowie AMS20, mit denen zum vierten Boniturtermin am 30.09. eine Befallsreduktion von 27 % bzw. 16 % gegenüber der Kontrollvariante mit 50 % Anteil befallener Pflanzen erzielt wurde. Durch die Versuchsvarianten 'FZB24' und 'FZB37', mit einer Aufwandmenge von jeweils 4g/U *B. subtilis*, konnte, im Gegensatz zu den Ergebnissen aus Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen, ein Befall mit der späten Rübenfäule erfolgreich zurückgedrängt werden.

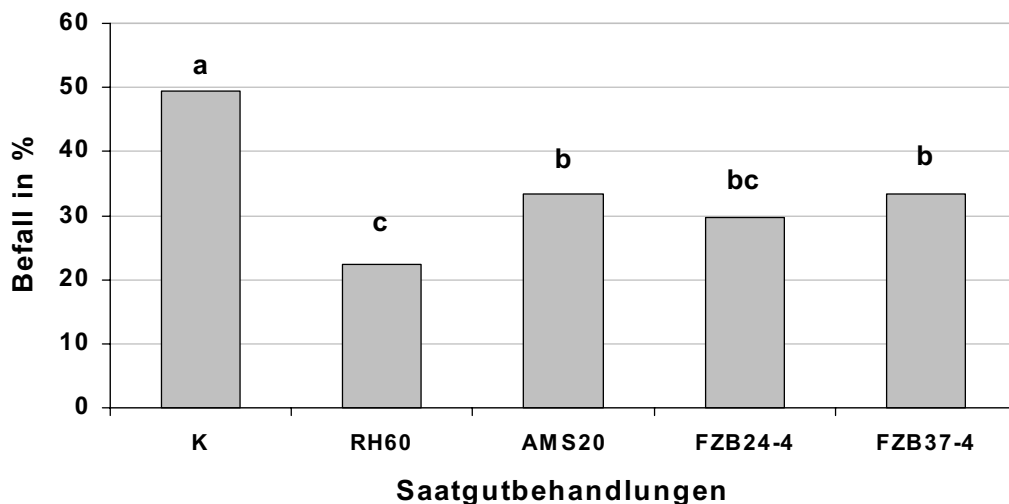


Abb. 31: Befall mit *R. solani* AG 2-2 Typ 4 von Zuckerrübenpflanzen der Sorte 'Patricia' nach Saatgutbehandlung mit Fungiziden und verschiedenen Stämmen von *B. subtilis* im Freiland. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Bei einer Saatgutbehandlung mit Fungiziden am Standort Elsdorf wurde zum letzten Boniturtermin am 28.10. nur ein Befall von maximal 7 % festgestellt (Abb. 32). Aufgrund des niedrigen Befallsniveaus waren auch hier keine eindeutigen Aussagen zum Behandlungserfolg möglich. Signifikante Unterschiede in der Befallsintensität der Fungizidvarianten konnten nicht festgestellt werden. Insbesondere in den beiden ersten Blöcken trat praktisch kein Befall und damit eine starke Streuung in den Varianten auf. In der Tendenz konnte durch die Behandlung mit 16 g/U sowie mit der höheren Aufwandmenge von 24 g/U Azoxystrobin eine Befallsreduktion erzielt werden. Allerdings wurde der Feldaufgang durch diesen Wirkstoff beeinträchtigt.

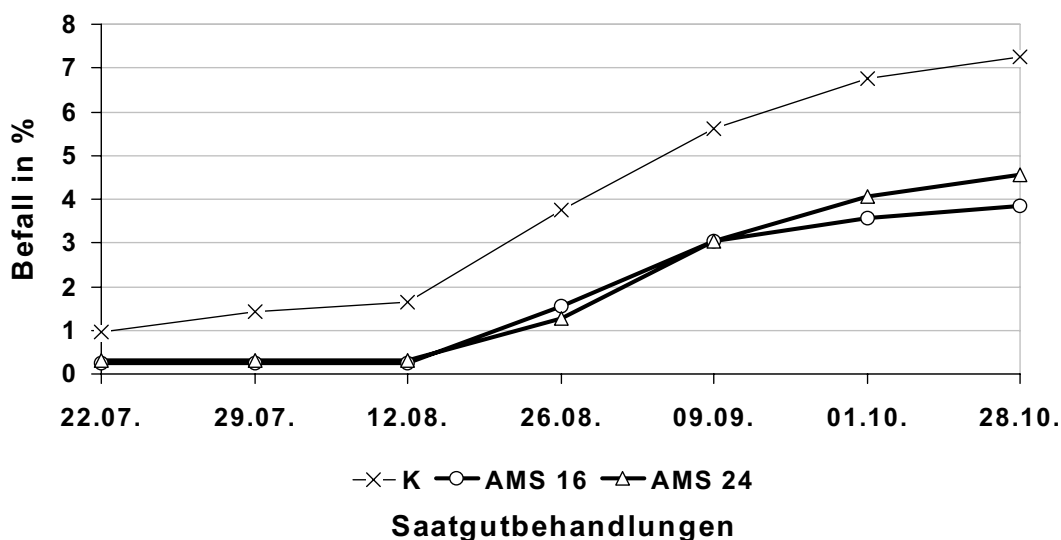


Abb. 32: Anteil mit *R. solani* befallener Zuckerrüben der Sorte 'Evita' nach Saatgutbehandlung mit unterschiedlichen Aufwandmengen von Azoxystrobin (AMS16=16 g/U, AMS24= 24 g/U). Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

In 1998 wurden auf derselben Fläche erneut Saatgutbehandlungen erprobt. Neben Fungiziden wurden auch verschiedene Stämme von *B. subtilis* in den Vergleich einbezogen (Abb. 33). Als Fungizide wurden das Strobilurin Azoxystrobin und das Versuchspräparat RH130753 verwendet. Das Befallsniveau der Varianten lag mit etwa 45 % wesentlich höher als im Vorjahr. Ein deutlicher Rückgang der Zahl befallener Pflanzen konnte nach Anwendung von 'Amistar' mit 20 g/U sowie RH130753 erzielt werden. Nur wenig schlechtere Ergebnisse ergaben Saatgutbehandlungen mit 'FZB24' sowie 'FZB37'. Alle genannten Varianten wiesen einen Anteil befallener Pflanzen zwischen 25 und 30 % bei der letzten Bonitur am 25.09. auf und lagen damit 10 bis 15 % unter dem Befall der Kontrolle. Mit dem dritten Stamm 'FZB44' konnte der Ertragsverlust durch *R. solani* nicht vermindert werden.

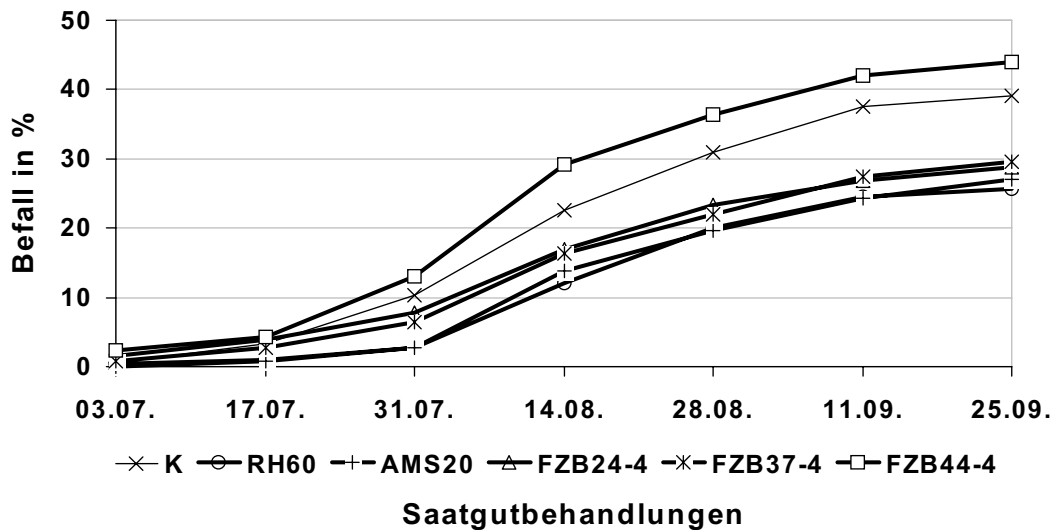


Abb. 33: Anteil mit *R. solani* befallener Zuckerrüben der Sorte 'Patricia' nach Saatgutbehandlung mit RH130753 (RH60=60g/U), Azoxystrobin (AMS16,24=16,24 g/U) und *B. subtilis* (FZB24,37,44-4=4 g/U). Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

3.5.3 Fungizidspritzung

Da mit einer Saatgutbehandlung nur ein Teil-Bekämpfungserfolg erzielt werden konnte, wurde auch der Effekt einer später applizierbaren Spritzung geprüft. In Abbildung 34 ist der nach 14 Wochen sichtbare Anteil von Fäulesymptomen am Rübenkörper dargestellt. Dabei zeigte sich, daß eine Reihe von Fungiziden, deren Wirkung gegenüber *R. solani* bekannt ist, bei dieser Art der Applikation nicht zu einer ausreichenden Befallsreduktion führte. Die Präparate 'Ridomil' und 'Sumislex' zeigten keine Reduktion gegenüber der Kontrolle. Eine signifikante Verringerung des Befalls bewirkten nur die Präparate 'Caramba', 'Amistar' und 'Opus Top'.

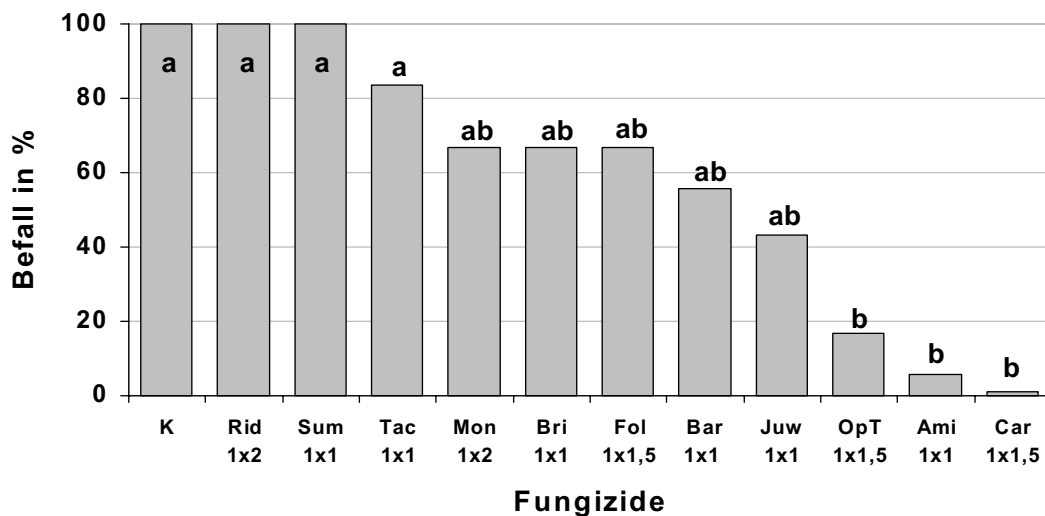


Abb. 34: Befall 8 Wochen (Gewächshaus) alter Zuckerrübenpflanzen der Sorte 'Patricia' mit Typ 4 (RH97116) von *R. solani* AG 2-2 nach einer Spritzung von Fungiziden (z.B. 1x1=1x1 l/ha). Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Die Ergebnisse einer zweimaligen Fungizidspritzung bzw. Behandlung mit einer Suspension von 'FZB24' nach Inokulation einer Freilandfläche sind in Abbildung 35 dargestellt. Durch Anwendung von 2 l/ha 'Caramba' zu den Zeitpunkten 24.07. und 07.09. oder 'Amistar' in der gleichen Aufwandmenge konnte die Fäule signifikant reduziert werden. Aufgrund der klimatischen Bedingungen nach Inokulation mit *R. solani* konnte jedoch nur ein maximaler Befall von 14 % in der Kontrolle erreicht werden. Mit der Ausbringung des Antagonisten wurde der Anteil befallener Pflanzen im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle etwa halbiert.

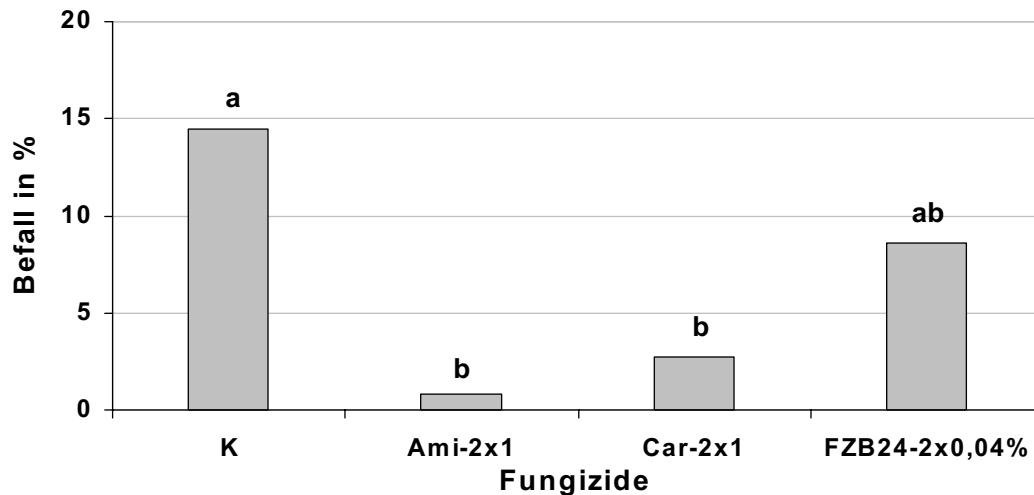


Abb. 35: Befall mit *R. solani* AG 2-2 Typ 4 (RH116) von Zuckerrübenpflanzen der Sorte 'Patricia' nach Spritzung mit Fungiziden (Ami-2x1=2x1 l/ha, Car-2x1=2x1 l/ha) und *B. subtilis* (FZB24-2x0,04 %) im Freiland. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Die Spritzung der in den bisher aufgeführten Tests erfolgreichen fungiziden Wirkstoffe Metconazol und Azoxystrobin wurde auch im Freiland durchgeführt. Beide Wirkstoffe wurden zu drei Behandlungsterminen am 15.05., 22.06. und 11.08. ausgebracht. Mit Metconazol konnte ein im Mittel um 33 % verringerter Befall festgestellt werden. Dieser unterschied sich aber, aufgrund der großen Streuung, nicht signifikant zu der Kontrolle. Im Vergleich dazu zeigte sich bei Applikation von Azoxystrobin schon bei der ersten Bonitur ein deutlicher Effekt. Gegenüber der unbehandelten Kontrolle ergab sich eine Differenz von 22 %. Damit konnte auch mit den ersten Behandlungen ein Fortschreiten des Befalls deutlich verringert werden. Bei der abschließenden Bonitur wurde ein Anteil befallener Pflanzen der behandelten Variante von 32 % festgestellt. Die Kontrollflächen wiesen einen Anteil von 79 % auf und zeigten damit signifikant höheren Befall. Bei einer Betrachtung der Befallsreduktion, wie in Abbildung 36 dargestellt, zeigen sich Unterschiede im Verlauf des Fortschreitens der Rübenfäule zwischen den Varianten. Wurden die Pflanzen mit Azoxystrobin behandelt, konnte zunächst ein stark verminderter Befall festgestellt werden. Die durch den Wirkstoff erzielte Reduktion fiel zum zweiten Boniturtermin leicht ab und blieb bis zur letztmaligen Bonitur auf diesem Niveau. Im Gegensatz dazu wurde bei Verwendung

von Metconazol ein permanenter Fortgang verminderten Befalls erzielt. Die Steigung verringerte sich vom zweiten zum dritten Boniturtermin. Im Vergleich der beiden Applikationen zeigt sich, daß mit Metconazol ein Befallsrückgang von maximal 33 % erreicht wurde gegenüber 60 % bei Behandlung mit Azoxystrobin.

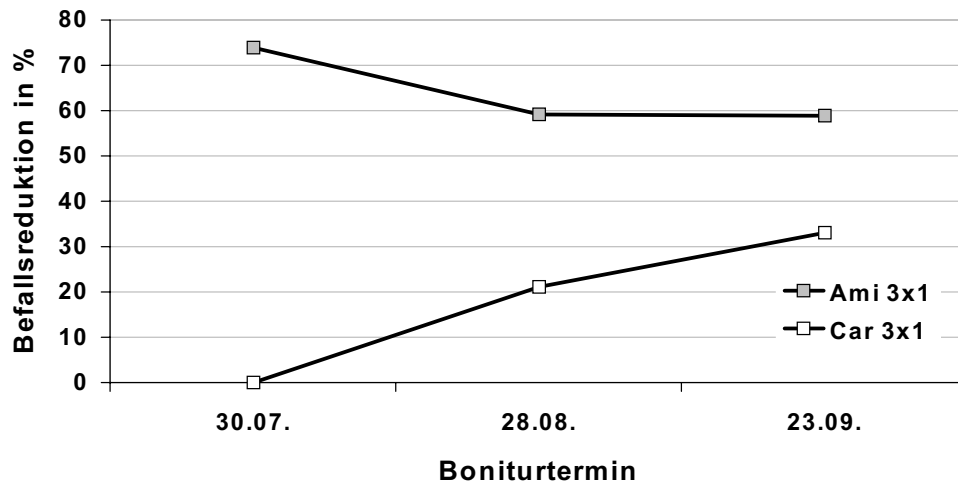


Abb. 36: Reduktion des Anteils mit *R. solani* befallener Zuckerrüben der Sorte 'Patricia' nach dreimaligen Spritzbehandlungen mit Fungiziden (Ami, Car-3x1=3x1 l/ha). Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

3.5.4 Kombination von Saatgutbehandlung und Spritzung

Wie bisher gezeigt, konnte sowohl mit der Saatgutbehandlung als auch der Spritzung von Fungiziden ein Bekämpfungserfolg gegen die Rübenfäule erzielt werden. Daher wurde auch die Kombination beider Maßnahmen untersucht. Damit könnte ein Befall der jungen Zuckerrübenpflanze mit einer geringen Fungizidaufwandmenge vermieden, und bei später auftretenden Symptomen eine gezielte Behandlung durchgeführt werden. Für die Saatgutbehandlungen wurden RH130753 und Azoxystrobin gewählt. Dabei zeigte, wie in Abbildung 37 dargestellt, keine der mit Fungiziden behandelten RH-Varianten einen signifikanten Unterschied zu der Kontrolle ohne zusätzliche Applikation. Die Pflanzen des mit AMS20 behandelten Saatguts waren nach 21 Wochen deutlich stärker befallen. Mit allen erprobten zusätzlichen Fungizidapplikationen konnte der durch *R. solani* verursachte Schaden vermindert werden. Allerdings wurde nur mit einer zusätzlichen Applikation von 'Amistar' in der Aufwandmenge von 1 l/ha eine signifikante Befallsreduktion erreicht. Wie auch bei der RH130753-Behandlung zeigten die Pflanzen nach Applikation von 'Caramba' und 'Folicur' deutlich geringeren Befall als die übrigen Varianten. Bei Anwendung von 'Folicur' konnten starke Azolschäden beobachtet werden.

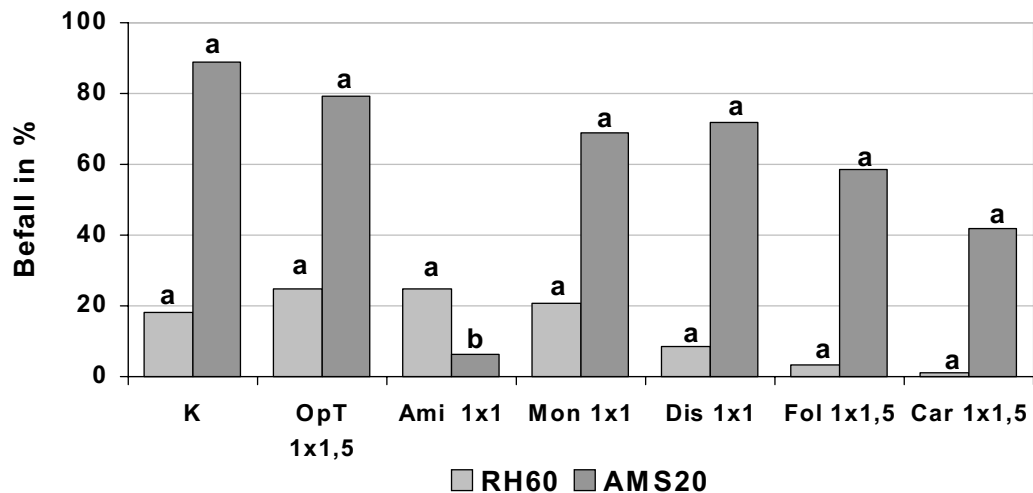


Abb. 37: Befall 21 Wochen alter Zuckerrübenpflanzen der Sorte 'Patricia' mit Typ 4 (97116) von *R. solani* AG 2-2 nach Saatgutbehandlung (RH60=60 g/U, AMS20=20 g/U) und Spritzung von Fungiziden (z.B. 1x1,=1x1 l/ha). Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

In einem weiteren Versuch wurden für die Spritzbehandlungen nur die Wirkstoffe Metconazol und Azoxystrobin verwendet. Zusätzlich zu RH130753 und AMS20 wurde auch eine Variante mit *B. subtilis* angelegt. In den in Abbildung 38 dargestellten Ergebnissen zeigt sich jedoch, daß mit einer *B. subtilis*-Behandlung bei einer Bonitur nach 15 Wochen keine Befallsreduktion erzielt werden konnte. Durch Anwendung von Metconazol konnte der Befallsgrad der Pflanzen stark zurückgedrängt werden. Signifikante Unterschiede zwischen den Saatgutbehandlungen konnten bei diesem Fungizid nicht festgestellt werden. Eine Behandlung mit Azoxystrobin führte zu einem ähnlichen Befallsrückgang. Nur die 'FZB24'-Variante zeigte etwas stärkeren Befall, der sich jedoch nicht signifikant zu der AMS20-Variante unterschied.

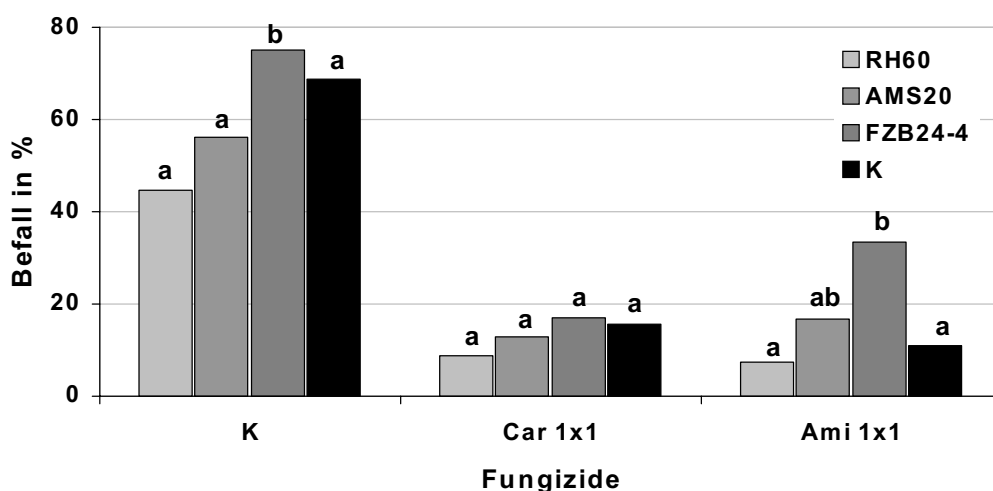


Abb. 38: Befall mit *R. solani* AG 2-2 Typ 4 (RH97116) von 15 Wochen alten Zuckerrübenpflanzen der Sorte 'Patricia' nach Saatgutbehandlung (RH60=60 g/U, AMS20=20 g/U, FZB24-4=4 g/U) und Spritzung mit Fungiziden (Ami, Car-1x1=1x1 l/ha) und *B. subtilis*. Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Zwei verschiedene Aufwandmengen von 'FZB24' mit 4 g und 8 g/U im Vergleich zu 'FZB24' in Kombination mit AMS20 zeigt Abbildung 39. Erprobt wurde die Saatgutapplikation mit und ohne Spritzung mit einer 0,04%igen 'FZB24'-Suspension. Die Spritzung 7 d nach Inokulation erreichte in allen Fällen eine Befallsreduktion. Bei einer Saatgutbehandlung mit 8 g 'FZB24' konnte die größte Differenz zwischen 'Mit' und 'Ohne Spritzung' beobachtet werden. Die alleinige Saatgutbehandlung mit 'FZB24'+AMS20 zeigte den besten Erfolg. Dieser unterschied sich wiederum signifikant zu der zusätzlich mit 'FZB24' behandelten Variante.

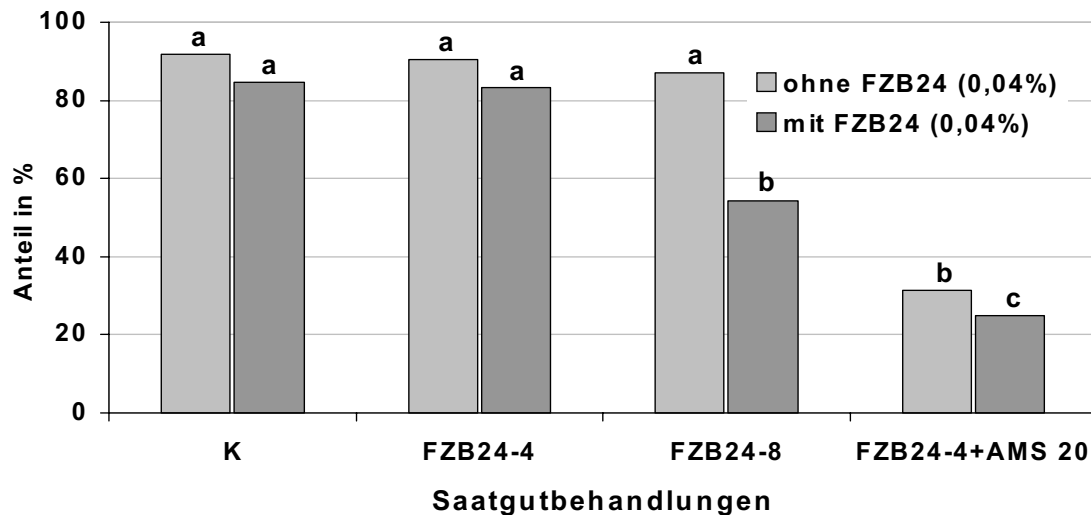


Abb. 39: Befall mit *R. solani* AG 2-2 Typ 4 (RH97116) von 9 Wochen alten Zuckerrübenpflanzen der Sorte 'Patricia' nach Saatgutbehandlung und Spritzung mit *B. subtilis* (FZB24 0,04 %=insgesamt 140 g/ha). Säulen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey $p \leq 0,05$).

Auf einer Versuchsfläche in Niederbayern konnten mit einer Aufwandmenge von 4 g/U 'FZB24', kombiniert mit der Behandlung mit einer 0,04 %igen Suspension, ausgebracht am 15.05. und erneut am 22.06. eine Befallsreduktion von 18 % gegenüber der Kontrolle beobachtet werden. Aufgrund der unter natürlichen Befallsbedingungen auftretenden Schwankungen zwischen den Wiederholungen konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Im Vergleich dazu wurde die doppelte Aufwandmenge von 'FZB24' mit 8 g/U erprobt. Auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle festgestellt werden. Die Befallsergebnisse der erhöhten Aufwandmenge konnten jedoch als besser eingestuft werden als die verringerte Menge mit zusätzlicher Spritzapplikation. Mit der kombinierten Behandlung von 'FZB24' und AMS20 konnte im Mittel nur eine etwa 15 %ige Reduktion des Anteils abgestorbener Pflanzen erreicht werden. Wird die Differenz zwischen 'Behandelt' und 'Unbehandelt' zu den drei aufeinanderfolgenden Boniturterminen aufgetragen, ergibt sich die in Abbildung 40 dargestellte Veränderung im Zeitablauf. Dabei zeigte sich, daß mit 8 g/U 'FZB24' die höchste Reduktion des Befalls zum Boniturtermin am 30.07. erreicht wurde. Aufgrund einer extrem schnellen Ausbreitung der späten Rübenfäule im August reduzierte sich der

Bekämpfungserfolg bis zum 28.08., blieb jedoch im Laufe der nächsten Wochen bis zum 23.09. konstant. Die zu beobachtende Befallsreduktion bei der Kombination 'FZB24'+AMS20 verhielt sich zu den beiden ersten Boniturterminen ähnlich, jedoch auf deutlich niedrigerem Niveau. Im Gegensatz zu einer reinen 'FZB24'-Behandlung mit erhöhter Aufwandmenge breitete sich die späte Rübenfäule in den behandelten Parzellen bis zum 23.09. mit ähnlicher Intensität wie vom 30.07. bis zum 28.08. aus. Wurde zusätzlich zu der Behandlung des Saatgutes mit 'FZB24' die Suspension in Stadium 16 und 33/39 mit erhöhter Wasseraufwandmenge ausgebracht, wurde eine weitere Etablierung von *B. subtilis* im Bestand erzielt. Obwohl zu Beginn der Beobachtungen die prozentuale Befallsreduktion deutlich unter den beiden anderen Varianten lag, kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg des Quotienten aus 'Behandelt' und 'Unbehandelt' bis zum 23.09.. Die 'Unterstützung' der im Boden vorhandenen Population durch zweimalige Spritzapplikation erzielte damit ein besseres Ergebnis als die 'FZB24'-AMS-Variante.

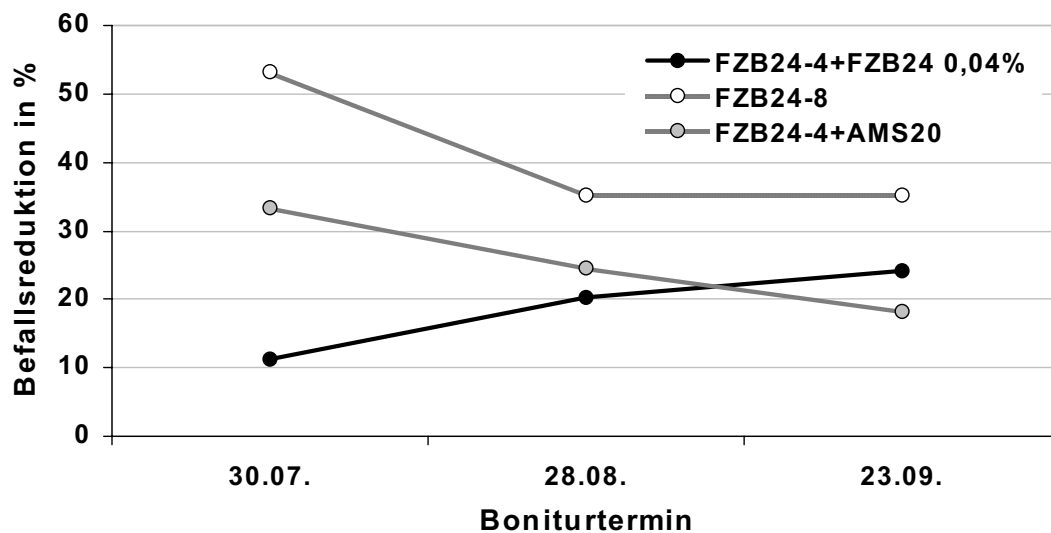


Abb. 40: Reduktion des Anteils mit *R. solani* befallener Zuckerrüben nach Saatgutbehandlung mit *B. subtilis* (FZB24-4,8=4,8 g/U) und Azoxystrobin (AMS 20=20 g/U) sowie zweimaliger Spritzung mit *B. subtilis* (FZB24 0,04 %= insgesamt 140 g/ha). Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

Trotz der Vorzüge biologischer Bekämpfung, wurden neben der Behandlung mit 'FZB24' auch Fungizide, und Kombinationen beider Verfahren getestet, um eine noch erfolgreichere und langandauernde Kontrolle zu erzielen. Es zeigte sich eine sehr gute *in vitro* Wirkung von Pencycuron und Tebuconazol gegen die AG 2-2. Bei einer Spritzbehandlung unter kontrollierten Bedingungen lagen die Wirkstoffe Pencycuron, Kresoxim/Fenpropimorph, Tebuconazol, Difenoconazol und Epoxiconazol/Kresoxim-methyl im mittleren Bereich. Pencycuron, appliziert auf den Kopf der Zuckerrüben, reduzierte in einem Versuchsjahr mit einer Aufwandmenge von 1,12 bzw. 2,24 kg/ha die Rübenfäule um 31 und 13 % gegenüber der Kontrolle (SCHNEIDER & POTTER, 1983). Wurzel- und Hypocotyl-Fäule an Bohnenarten, verursacht durch die AG 2-2 IIIB wurde durch Pencycuron in der Aufwandmenge von 10 und 1µg a.i. pro g Boden kontrolliert (SUMNER, 1987). Gute Bekämpfungserfolge wurden mit

Epoxiconazol/Fenpropimorph, sowie Azoxystrobin und Metconazol erzielt. 'Quadris' und 'Folicur' verringerten den Befallsindex geernteter Rübenkörper signifikant (KIEWNICK & JACOBSEN, 1997). Beta-methoxyacrylate zeigen nur langsame systemische Mobilität und eignen sich daher besonders für die Langzeitkontrolle. Azoxystrobin ist mäßig persistent im Boden in Abwesenheit von Licht. Der Abbau des Wirkstoffs scheint hauptsächlich beeinflusst durch Photodegradation und in zweiter Linie durch mikrobiellen Metabolismus. Azoxystrobin wirkte bei Anzucht der Rüben in 'paper pots' sowohl auf die Umfallkrankheit als auch auf die Rübenfäule (UCHINO et al., 1997). Die späte Wurzelfäule wurde nach Inokulation durch eine Fußbehandlung mit 268 oder 536 g a.i./ha Azoxystrobin deutlich reduziert. Bei einer Behandlung des Bodens mit Azoxystrobin zeigte sich ein wesentlich höherer Befallsindex als bei einer Blattbehandlung im 4-Blattstadium. Den besten Erfolg brachte Azoxystrobin in Kombination mit einem Antagonisten (JACOBSEN et al., 1997; JACOBSEN & KIEWNICK, 1996). Nach Inokulation konnte im Freilandversuch bei Spritzung mit je 2 l/ha Amistar ein deutlicher Befallsrückgang erzielt werden. Die zweimalige Applikation von 'FZB24' (140g) lag im Erfolg zwischen 'Unbehandelt' und den Fungizidvarianten. Unter starkem natürlichem Befallsdruck zeigte sich jedoch ein geringerer Effekt durch die Spritzbehandlung.

3.5.5 Kombination von Saatgut- und Bodenbehandlung

Fazit der bisherigen Untersuchungen ist, daß eine Saatgutbehandlung mit FZB24 sinnvoll, aber bei starkem Befall auf keinen Fall ausreichend und in einigen Fällen unzuverlässig in der Wirkung ist. Auch Behandlungen mit Fungiziden bieten nur Teilerfolge. Der Wirkstoff Azoxystrobin zeigte gute Wirkung, die Pflanzen liefen jedoch verzögert auf. Die Spritzung von Fungiziden erfordert hohe Aufwandmengen, die im Verhältnis zu ihrer Wirkung und Wirtschaftlichkeit unzureichend sind. Zudem liegen Wirkort und Pathogen zu weit auseinander. Geprüft wurde daher ein Bodenfungizid in und ohne Kombination mit 'FZB24' (Abb. 41). Zunächst wurde in einem Topfversuch unter Freilandbedingungen geprüft, welchen Effekt eine Saatgutbehandlung mit 'FZB24' und einer extrem hohen Aufwandmenge von Pencycuron erzielte. Neben dieser Applikationsform wurden weiterhin das Ausbringen von Monceren-Granulat und eine Spritzung unter die Saatkörner verglichen. Die Untersuchungsergebnisse dieser Varianten sind in Abbildung 24 dargestellt. Es handelt sich um den Befall des Rübenkörpers, festgestellt nach der Pflanzenernte. Dabei zeigte sich, daß eine Saatgutbehandlung mit 'FZB24' in der Aufwandmenge 8 g/U nur wenig Bekämpfungserfolg hatte. Signifikant geringerer Befall mit der Rübenfäule wurde durch Anwendung von Pencycuron erreicht. Bei alleiniger Saatgutbehandlung konnte der Befall gegenüber der Kontrolle um etwa 50 % reduziert werden. Er konnte durch die Kombination mit dem Antagonisten noch weiter zurückgedrängt werden. Die Granulateinbringung in den Boden erzielte sowohl mit 2,5 kg als auch mit 10 kg/ha gute Bekämpfungserfolge. Die beste Wirkung zeigte die Bandapplikation von 5 l/ha 'Monceren'.

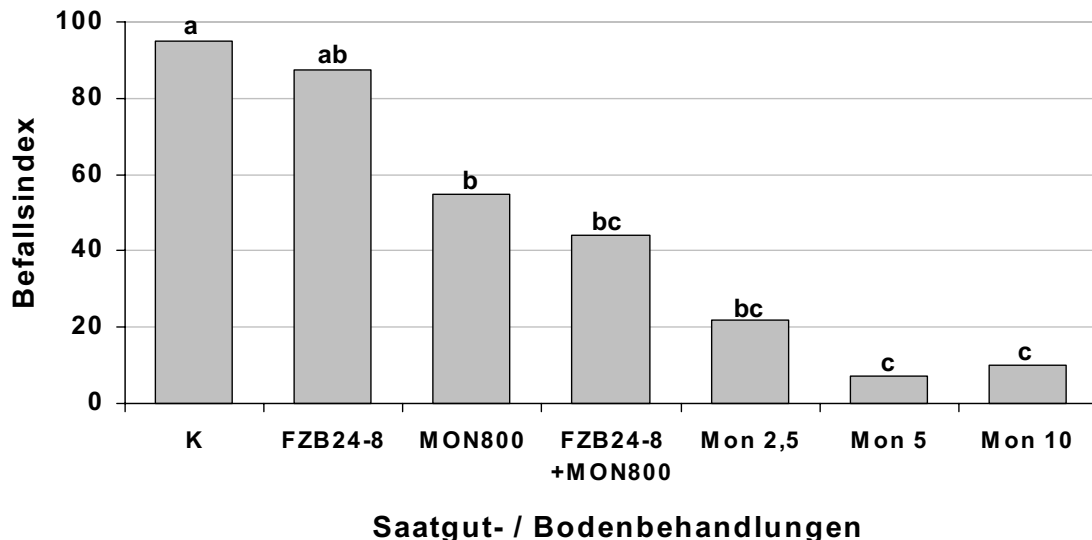


Abb. 41: Befallsindex 20 Wochen alter Zuckerrübenpflanzen der Sorte 'Tatjana' nach unterschiedlichen Saatgut- (FZB24-8=8 g/U, MON800=Pencycuron 800 g/U, FZB24-8+Mon 800=8 g/U + 800 g/U) und Bodenbehandlungen (Mon 2,5=2,5 kg/ha, Mon 5=5 l/ha, Mon 10=10 kg/ha). Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

Untersuchungen im Freiland wurden sowohl unter Bedingungen der Inokulation als auch der natürlichen Infektion durchgeführt (Abb. 43). Die 'FZB24'-Variante zeigte nach Inokulation einen deutlich geringeren Anteil befallener Pflanzen gegenüber der Kontrolle. Dieser unterschied sich nicht signifikant zu der 'Monceren'-Saatgutbehandlung. Auch hier konnte ein weiterer Befallsrückgang durch die Kombination von Antagonist und Fungizid erzielt werden. Die beste Bekämpfung konnte durch 'Monceren' als Bandapplikation vor Saat erzielt werden. Nur wenig schlechter wirkte die Granulatausbringung.

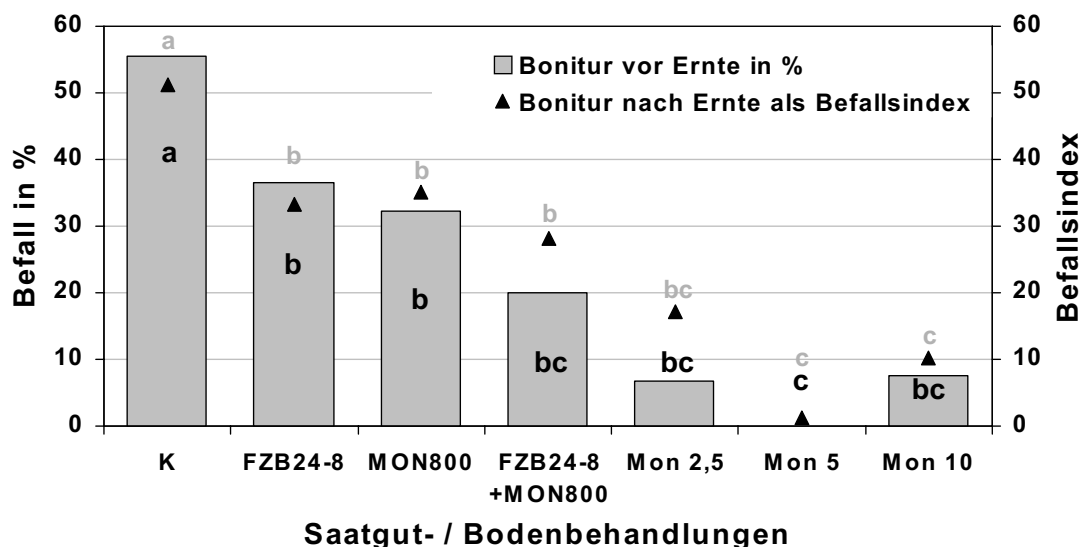


Abb. 42: Anteil mit *R. solani* befallener Zuckerrüben der Sorte 'Tatjana' nach unterschiedlichen Saatgut- (FZB24-8=8 g/U, MON800=800 g/U, FZB24-8+Mon 800=8 g/U + 800 g/U) und Bodenbehandlungen (Mon 2,5=2,5 kg/ha, Mon 5=5 l/ha, Mon 10=10 kg/ha). Die Bonitur wurde im Abstand von 14 Tagen durchgeführt.

Alle Versuchsvarianten, mit Ausnahme der hohen Granulatkonzentration, wurden auch am Standort Aachen geprüft. Schon im Sämlingsstadium der Pflanzen konnte der Erreger nachgewiesen werden. Von 20 entnommenen Sämlingen konnte in allen Fällen *R. solani* AG 2-2 isoliert werden. Das Befallsniveau lag hier mit maximal 17 % relativ niedrig. Durch die Saatgutbehandlung mit dem Antagonisten wurde eine Reduktion des Anteils oberirdisch erkennbar befallener Rüben um 30 % erzielt (Tab. 22). Einen Befallsrückgang um 40 % erreichte die Granulatform des Fungizids. Auf etwa gleichem Befallsniveau lagen die Saatgutbehandlung mit dem Fungizid und die Kombination von Fungizid und Antagonist. Die Applikation von 5 l/ha 'Monceren' als Bandspritzung zeigte mit 75 %iger Befallsreduktion gegenüber der Kontrolle das beste Ergebnis. Nach der Beerntung konnten im Befallsindex des Rübenkörpers keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten festgestellt werden. Die Pflanzen der FZB24-Variante zeigten weniger Schäden als nach dem oberirdisch feststellbaren Bild erwartet. Dagegen waren die Rübenkörper der Granulatvariante stärker geschädigt als oberirdisch feststellbar.

Daten zu Ertrag und Qualität sind ebenfalls in Tabelle 22 für den Standort Aachen zusammengefaßt. Durch die Granulatapplikation konnte ein signifikanter Rübenmehrertrag von 10 t erzielt werden. Leicht weniger Ertrag erreichte die Kombination von *B. subtilis* und Pencycuron als Saatgutbehandlung und lag damit wiederum etwas höher als jede der beiden Behandlungsvarianten alleine. Entsprechend verhielten sich auch die Werte für den Bereinigten Zuckergehalt.

Tab. 21: Ertrags- und Qualitätsdaten von Zuckerrüben am Standort Aachen nach unterschiedlichen Saatgut- (FZB24=8 g/U, Mon=Pencycuron 800 g/U, FZB24+Mon=8g/U + 800g/U) und Bodenbehandlungen (Mon 2,5=2,5 kg/ha, Mon 5= 5l/ha). Mit * gekennzeichnete Werte unterscheiden sich signifikant zur Kontrolle (LSD-Test $p < 0,05$).

Variante	Befall	RE		ZG		BZE		AV		K	Na	AmN
	%	t/ha	rel.	%	rel.	t/ha	rel.	%	rel.	mmol/1000 g R.		
K	17,2	57,6	100	16,77	100	8,5	100	1,92	100	38,70	7,90	11,80
FZB24	11,8	63,1	109,6	17,12	102	9,6	112,9	1,86	96,7	36,30	7,50	10,50
Mon	7,7	60,6	105,2	16,79	100,1	9,0	105,6	1,91	99,5	39,10	9,10	10,60
FZB24 + Mon	7,1	65,3	113,4	17,13	102,1	10,0*	117,4	1,81	94,4	35,10	7,00	9,50
Mon 2,5	10,3	67,2*	116,7	17,24	102,8	10,4*	121,4	1,82*	94,8	35,70	7,10	9,50
Mon5	4,3	63,3	109,8	17,03	101,5	9,6	112,6	1,85	96,4	36,40	7,90	10,00

Mit diesen Behandlungsvarianten konnte somit ein Effekt auf Ertrag und Qualität der Zuckerrübe bei Befall durch *R. solani* nachgewiesen werden. Allerdings liegt das Befallsniveau bisher höher als bei dem Anbau resistenter Sorten. Weitere Untersuchungen können klären, ob andere Applikationsformen des Wirkstoffes in Kombination mit der Langzeit-Wirkung des Antagonisten zu einem deutlicheren Effekt, insbesondere auch unter extremen Befallsbedingungen führen können.

Der Rückgang von bodenbürtigem Inokulum von *R. solani* wird häufig durch spezifische Antagonisten verursacht (ALLEN et al., 1985). Die Wirkung von Antagonisten ist aber oft begrenzt. Sie ist häufig abhängig von dem Pathogenstamm, der Dichte seines Vorkommens sowie klimatischen Bedingungen (ESCANDE & ECHANDI, 1991; VELVIS et al., 1989). Der Vorteil der Antagonisten liegt unter anderem in ihrer Langzeitwirkung. Durch Akkumulation des Gegenspielers können Böden eine suppressive Wirkung gegenüber dem Pathogen bekommen. Die Chance eines Kontakts zwischen Wirt und Mykoparasit ist dichteabhängig (VAN DEN BOOGERT & VELVIS, 1992). In unbearbeitetem Boden und ohne für *R. solani* nutzbares Substrat ist der Kontakt zwischen Wirt und Mykoparasit ein seltenes Ereignis. Wesentlich ist daher weniger die großflächige Ausbringung als der direkte Kontakt zu der zu schützenden Pflanze. Die hier dargestellte Saatgutbehandlung wirkt direkt am Zielort. *B. subtilis* ist ein Antagonist gegen zahlreiche boden- und samenbürtige fungale und bakterielle Pflanzenkrankheiten. Es wurden eine Reihe antifungaler Metaboliten von *B. subtilis* analysiert, die als Dipeptide oder zyklische Peptide bekannt sind (LOEFFLER et al., 1990). Verschiedene Stämme von *B. subtilis*, darunter auch die hier verwendeten 'FZB24', '37' und '44' zeigten eine breite antifungale Wirkung, besonders unter günstigen Wachstumsbedingungen. Die Wirksamkeit des Antagonismus hängt ab von den Nährstoffbedingungen und der Inkubationstemperatur. Während 'FZB24' unter guten Nährstoffbedingungen und hohen Temperaturen (25 °C) vergleichbare Aktivität zu den anderen Stämmen zeigte, bewies er unter minimaler Ernährung bei 15 °C die beste Wirkung. Der Bekämpfungserfolg gegen *R. solani* stieg mit zunehmenden Temperaturen von 10 bis 25 °C. Bei extrem hohem Befallsdruck konnte unter kontrollierten Bedingungen kein Effekt der Antagonisten 'FZB24', '37' und '44' bei einer Saatgutbehandlung mit jeweils 4 g/U erzielt werden. Die Ursache könnte eine zu schnelle Ausbreitung des Pathogens sein. Zudem werden, wenn nicht sehr hohe Inokulumdichten des Antagonisten verwendet werden, große Teile des Zuckerrübensamens nicht von Bakterien bedeckt und selbst wenn dies der Fall ist, ist fraglich, ob alle Zellen aktiv sind. Bei hoher Pathogeninokulumdichte werden die unbesiedelten Stellen angegriffen (FUKUI et al., 1994). Im Vergleich zu 'FZB24' zeigte 'FZB37' über die Versuchsdauer eine geringere Präsenz in der Rhizospäre (KREBS et al., 1998). 'FZB24' zeigte eine hohe Produktion antifungaler Peptide, 'FZB44' dagegen produzierte nur geringe Mengen von Peptid-Metaboliten, eine Tatsache, die das schlechte Ergebnis von 'FZB44' in Freilandversuchen erklären könnte. Durch die Erhöhung der Aufwandmenge auf 8 g/U in Verbindung mit einer 0,04 %igen Spritzung 7 Tage nach Inokulation konnte eine Bekämpfung mit 'FZB24' auch im Gewächshaus deutlich gemacht werden.

Eine gute Wirkung wurde erzielt durch eine Kombination des Langzeitschutzes 'FZB24' mit Azoxystrobin (20 g/U). Bei hohem Infektionsdruck ist eine Kombination mit chemischen

Mitteln (Pencycuron) in geringer Aufwandmenge sinnvoll (JAGER & VELVIS, 1986). Das Fungizid wirkt kurzzeitiger, sein Effekt kann aber durch den Antagonisten erhöht werden. Wurde das Fungizid 'Monceren' in besonders hoher Aufwandmenge in Kombination mit 'FZB24' verwendet, war der Effekt weniger deutlich. Hier konnte nur noch eine schwache Befallsreduktion gegenüber der alleinigen Fungizidbehandlung erzielt werden.

Ertragssteigerungen von durchschnittlich 8 % gegenüber 'Unbehandelt' konnten durch 'FZB24' in der *Rhizoctonia*-Bekämpfung an Kartoffeln erzielt werden. Auf Standorten mit geringem und mittlerem Ertragsniveau über 20 %. Auf leichten Böden wurden bis zu 11 % Mehrertrag, auf schweren etwa 4 % erreicht. Hier kann sich *R. solani* gut etablieren, *B. subtilis* dagegen schlechter. Die Wirksamkeit war in jedem Fall geringer als die des Fungizids 'Monceren'. Allerdings zeigte sich auch auf Standorten ohne *Rhizoctonia*-Befall ein gesteigerter Ertrag, und eine bis zu 10 % erhöhte Wurzelfrischmasse. Die dargestellten Ergebnisse zeigen, daß am Standort Aachen bei maximal 17 % Befall der Fläche auch ein Ertragseffekt beobachtet werden konnte. Der Rübenenertrag konnte im Mittel um etwa 10 %, der BZE um 12 % erhöht werden. Die gleichzeitige Applikation von Antagonist und Fungizid in Form der Saatgutbehandlung erzielte einen deutlichen Rübenmehrertrag und eine Verbesserung des BZE gegenüber der Kontrolle. In Gemüsekulturen wurde durch Anwendung von 'FZB24' eine höhere Toleranz gegenüber biotischen und abiotischen Stressfaktoren erreicht (KILIAN & RAUPACH, 1999). Im Gegensatz zu antibakterieller und -fungal Wirkung sind die pflanzlichen Effekte unspezifisch. Sie betreffen nicht nur bestimmte Pflanzentypen. An Maispflanzen wurden Auxin-ähnliche und Kinetin-kompatible Effekte gefunden (KREBS et al., 1998). Die bewurzelungsfördernde Wirkung von *B. subtilis* wird sogar als zukunftsorientierte Alternative zu synthetisch hergestellten Wuchsstoffen bezeichnet (AL-HUSSIN & JESCH, 1997). Die Wirkmechanismen sind somit: 1. Bildung antagonistisch wirkender Stoffwechselprodukte, Konkurrenz um Wurzelauausscheidungen (Nahrungsquelle, Signalstoff), 2. Bildung phytohormonähnlicher Substanzen und 3. die Resistenzinduktion (STEINER & KILIAN, 1999). Allerdings besteht unter natürlichen Bedingungen keine Sicherheit, ob, unter welchen Bedingungen und in welchem Ausmaß biologische Bekämpfung erfolgreich sein wird (LARSEN 1985; LEWIS et al., 1990). Diese Schwierigkeit konnte für die im Freiland geprüften Befallsbedingungen für 'FZB24' nicht bestätigt werden. Bis zur Ernte wurde in allen Versuchen ein Effekt der Saatgutbehandlung deutlich. Bei Zierpflanzen wurde eine sortenabhängige Wirkung von 'FZB24' festgestellt (JACOB, 1997). Der Effekt ist in weiteren Untersuchungen noch zu überprüfen.

'Monceren' kontrolliert Blattkrankheiten an Reis und Zuckerrüben, die 'Weißhosisigkeit' und 'Pockenkrankheit' an Kartoffel, sowie Umfallkrankheiten verschiedener Fruchtarten. Die Substanz wird leicht von dem Myzel von *R. solani* adsorbiert, hat einen stark hemmenden Effekt auf das Myzelwachstum und resultiert in einer morphologischen Störung der Hyphenentwicklung. Zudem hat 'Monceren' einen stark hemmenden Effekt auf die Sklerotienkeimung. Bekannt ist 'Monceren' als Behandlung gegen Blatt- und Wurzelfäule in Zuckerrüben. Eine Bodenbehandlung durch entweder Durchnässen oder trockenes Durchmischen des Bodens mit enormen Aufwandmengen von 0,5 bis 1,5 g a.i./m² bietet einen sehr guten Schutz vor Umfallkrankheiten durch *R. solani*. Das Eintauchen von Pflanzen in eine Fungizidlösung (3 l/m²) sowie eine Fußbehandlung ergaben gute

Bekämpfungserfolge gegen die Rübenfäule (UCHINO et al., 1987). Die Halbwertszeit von 'Monceren' in anaeroben Böden liegt bei 42 bis 70 Tagen, in aeroben Böden bei 18 bis 27 Tagen. In wäßriger Lösung und auf Bodenoberflächen wird der Wirkstoff unter Einwirkung von Sonnenlicht rasch zersetzt. Der Metabolismus von 'Monceren' im Boden wird als mikrobielle Reaktion betrachtet (Japan Pesticide Information NO. 48, 1986). 'Monceren' besitzt eine beachtliche Persistenz, um vor der Infektion zu schützen und die Wirkung wird zudem wenig nachteilig durch Regen beeinflusst. Dies bedeutet, daß für eine optimale Kontrolle der Wirkstoff zu einem frühen Zeitpunkt appliziert werden kann. Genutzt wurde dies in der Ausbringung einer sehr hohen Fungizidmenge in der Saatgutpille als 'Depot' für die gesamte Vegetation. Die Kombination von Fungizid und Antagonist könnte eine Möglichkeit sein, die Rübenfäule ohne Beeinträchtigung des Feldaufgangs und bei unbekanntem weiteren Befallsverlauf zu bekämpfen. Weiterhin ist zu überprüfen, ob sich diese Beobachtung unter stärkerem Befallsdruck bestätigt. Es müssen weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um herauszufinden, wie fein die Verteilung des Wirkstoffes im Boden sein muß. Die Behandlung sollte möglichst große Teile des Bodens im oberen Wurzelbereich erfassen. Jede weitere Entfernung zum Wirkort verringert die Wirksamkeit.

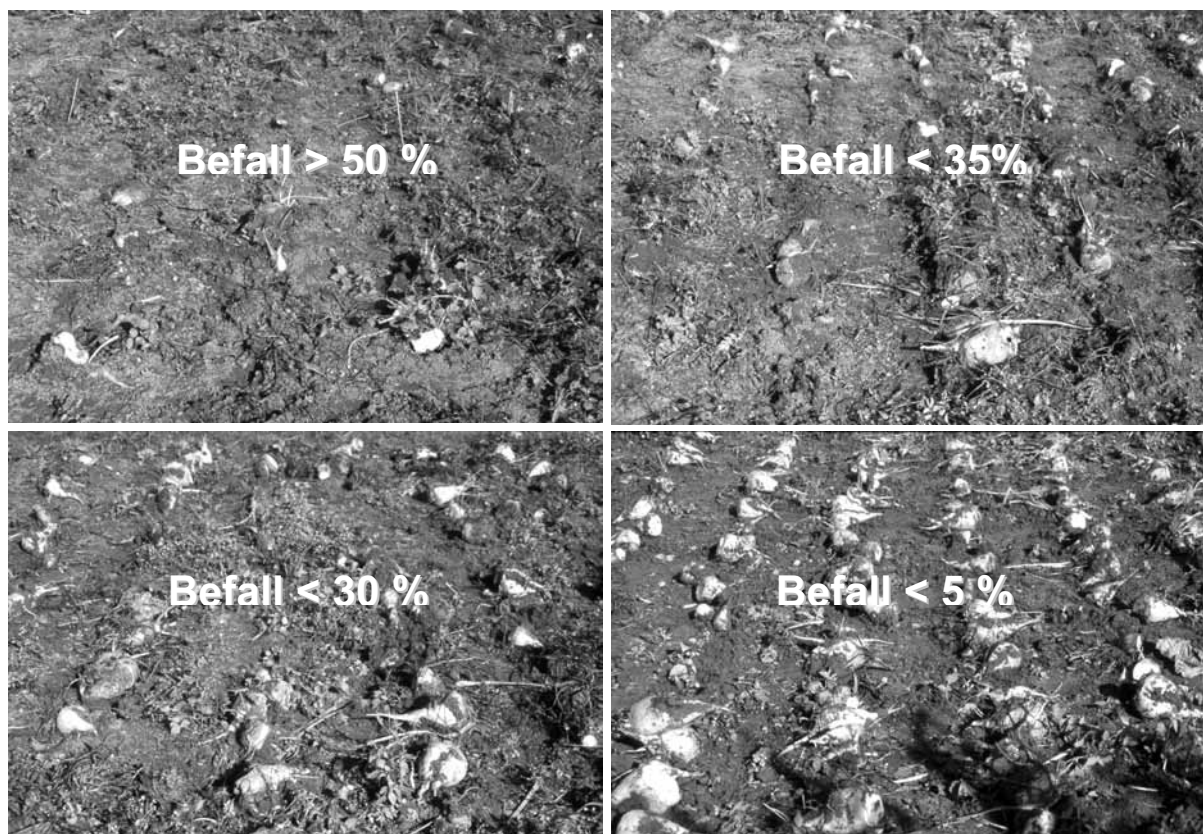


Abb. 43: Ernte mit *R. solani* befallener Zuckerrüben nach unterschiedlichen Saatgut- und Bodenbehandlungen (1: K, 2: FZB24 8=8 g/U, 3: FZB24 8+Mon 800=8 g/U + 800 g/U, 4: Mon 5=5 l/ha).

4 Zusammenfassung

Bei der späten Rübenfäule handelt es sich um eine Krankheit, die sporadisch und meist in kleinen Befallsnestern auftritt, aber kaum ertragswirksam wird. Die Größe und Zusammensetzung der Population des Erregers *R. solani*, die zu den neuerdings zu beobachtenden Ertragsausfällen führt, war völlig unbekannt.

In der dargestellten Arbeit wurde der Rübenfäuleerreger zunächst anhand der Hyphenfusion mit bekannten Testerisolaten bestimmt. In nahezu allen Fällen konnte er der AG 2-2 zugeordnet werden. Mit Mitteln der RAPD-Analyse wurde diese Gruppe weiter in Untergruppen unterteilt. Nicht nur innerhalb eines Befallsnestes, sondern über die gesamte Fläche, konnte in den meisten Fällen nur ein Erregertyp nachgewiesen werden. Dieser wurde auch in den darauffolgenden Jahren wieder isoliert. Identische Typen traten nicht nur lokal sondern auch überregional, und sogar über die Landesgrenze hinaus auf. Weiterhin konnte ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines Typen der AG 2-2 und der Schwere des Befalls, sowie dem Anbau bestimmter Fruchtarten hergestellt werden. Die Einteilung des Erregers in molekularbiologisch differenzierbare Typen wurde durch deren biologische Eigenschaften unterstrichen. Der häufig in stark betroffenen Befallsregionen auftretende Typ 4 war sehr aggressiv, temperaturtolerant, reagierte aber auch empfindlicher auf Fungizide. Er wurde nicht dem 'Rübenpathogen' AG 2-2IV, sondern dem 'Maispathogen' AG 2-2IIIB zugeordnet.

Eine Bekämpfung von *R. solani* AG 2-2 ist derzeit nur indirekt über die Fruchtfolge möglich. Der Erfolg dieser Maßnahme ist jedoch unsicher. Daher wurden eine direkte Bekämpfung über Antagonisten und Fungizide erprobt. Der Antagonist 'FZB24' bewirkte bei einer Saatgutbehandlung eine deutliche Befallsreduktion, allerdings war er um so erfolgreicher, je weniger rasant der Befall fortschritt. Daher wurde diese Bekämpfung durch Fungizide erweitert. Sowohl eine Saatgutbehandlung mit Antagonisten und Fungiziden als auch die Bodenbehandlung mit Fungiziden zeigten Erfolg.

5 Schlußfolgerungen für die Umsetzung in die Praxis

Voraussetzung für die Bekämpfung eines Schaderregers ist dessen genaue Kenntnis. Insbesondere, wenn es sich, wie bei *R. solani*, um einen Organismus handelt, der in zahlreichen Gruppen auftritt, die sich wiederum stark in ihren biologischen Eigenschaften, wie auch im Wirtskreis, unterscheiden. Mit Feststellung der AG 2-2 konnte ausgeschlossen werden, daß es sich bei dem in Deutschland auftretenden Erreger um das Kartoffelpathogen AG 3, oder aber in frühen Stadien der Zuckerrüben um den Keimlingsfäuleerreger AG 4 handelt. Daraus ergibt sich auch, daß sich Bekämpfungsmaßnahmen, die aus diesen Bereichen bekannt sind, nicht einfach auf die späte Rübenfäule, verursacht durch die AG 2-2 übertragen lassen. Ein Zusammenhang zwischen dem Anbau der Kartoffel und verstärktem Befall mit der Rübenfäule konnte in Umfragen nicht festgestellt werden. Vermeiden sollte der Anbauer zum einen eine enge Rübenfruchtfolge, andererseits die enge Folge von Mais und Zuckerrüben in einer Rotation. Der Anbau von Weizen verringerte den Befall. Es konnte ein Zusammenhang zwischen der Häufigkeit des Vorkommens einer

bestimmten Fruchtart in der Fruchtfolge und der Stärke des Auftretens von *R. solani* festgestellt werden. Möglich ist, daß die Fruchtart bei einer noch breiteren Erfassung und im Zusammenhang mit klimatischen Daten anzeigen könnte, welches Schadpotential das Pathogen auf der Fläche haben kann.

Da die Erregerpopulation, wie festgestellt wurde, über mehrere Jahre unverändert blieb, können sich Bekämpfungsmaßnahmen auf einen bestimmten Pathogentyp konzentrieren. Eine indirekte Bekämpfung durch Anbau resistenter Sorten ist bisher für den deutschen Zuckerrübenanbauraum nicht möglich. Daher wurden Fungizide und Antagonisten erprobt. Bekannt ist, daß erhebliche Aufwandmengen von Fungiziden auch gute Bekämpfungserfolge haben. Dies ist jedoch, abgesehen von der Ökologie wenig wirtschaftlich und zudem in einigen Fällen sinnlos, da es bisher keine Prognosesysteme gibt, die Aufschluß geben, ob der Erreger überhaupt auftreten wird. Bodenbürtige Pathogene wie *R. solani* sind chemisch schwer bekämpfbar. Die meisten *Rhizoctonia*-Krankheiten haben eine monozyklische Epidemiologie. Somit ist ein Eingreifen nach der Infektion nicht angebracht, sondern Präventivmaßnahmen müssen angewandt werden. Sollen extrem hohe Aufwandmengen eines Fungizids vermieden werden, stellt die Saatgutbehandlung die einzig ökologisch vertretbare Variante einer Fungizidmaßnahme dar. Bei bisher nicht vorhersagbarer Befallsintensität, ist die Kombination mit einem biologischen Mittel, das eventuell sogar unter Nichtbefall ertragserhöhend wirkt, besonders hilfreich. Die vorgestellten Daten zeigen, daß mit einer Saatgutbehandlung, aber auch einer gezielten Bodenbehandlung gute Bekämpfungserfolge erzielt wurden. Zu prüfen ist weiterhin, ob diese Behandlung alleine ausreichend sein kann. Sie bietet auf jeden Fall einen Schutz für die junge resistente Pflanze, die trotz der Resistenz, gerade im Jugendstadium, Schäden aufgrund des *Rhizoctonia*-Befalls zeigen kann. Eine Untersuchung der Entwicklung der Population in der Vegetation und ihre mögliche Veränderung über Anbaujahre, setzen voraus, daß genauere Methoden die exakte Feststellung des Erregers im Boden ermöglichen. Dies ist die Grundlage für die Vorhersagbarkeit eines Befalls und damit die Einschätzung, wie sinnvoll eine Bekämpfungsmaßnahme sein könnte.

6 Literaturverzeichnis

- ADAMS, M.J. & HIDE, G.A., 1980. Relationships between disease levels on seed tubers, on crops during growth and in stored potatoes. 5. Seed stocks grown at Rothamsted. *Potato research* 23, 291-302.
- AL-HUSSIN, Z. & JESCH, H.H., 1997. Substitution von Auxinen durch *Bacillus subtilis* bei Gehölzvermehrung. *TASPO-Gartenbaummagazin* 6: 54.
- ALLEN M.F., BOOSALIS, M.G., KERR, E.D., MULDOON A.E. & LARSEN, H.J., 1985. Population dynamics of sugar beets, *Rhizoctonia solani* and *Laetisaria arvalis*: responses of a host, plant pathogen, and hyperparasite to perturbation in the field. *Applied and Environmental Microbiology* 50: 1123-1127.
- ANDERSEN, T.F., 1996. A comparative taxonomic study of *Rhizoctonia* sensu lato employing morphological, ultrastructural and molecular methods. *Mycol. Res.* 100: 1117-1128
- BALALI, G.R., NEATE, S.M., SCOTT, E.S., WHISSON, D.L. & WICKS, T.J., 1995. Anastomose groups and pathogenicity of isolates of *Rhizoctonia solani* from potato crops in South Australia. *Plant Pathology* 44, 1050-1057.
- BALALI, G.R., WHISSON, D.L., SCOTT, E.S. & NEATE, S.M., 1996. DNA fingerprinting probe specific to isolates of *Rhizoctonia solani* AG-3. *Mycol. Res.* 100: 467-470.
- BATEMAN, D.F. & LUMSDEN, R.D., 1965. Relation of calcium content and nature of the pectic substances in bean hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 55: 734-738.
- BHARATHAN, N. & TAVANTZIS, S.M., 1990. Genetic diversity of double-stranded RNA from *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 80: 7, 631-635.
- BHARATHAN, N. & TAVANTZIS, S.M., 1991. Assessment of genetic relatedness among double-stranded RNAs from isolates of *Rhizoctonia solani* from diverse geographic origins. *Phytopathology*. 1991, 81: 4, 411-415.
- BOOSALIS, M. G. & SCHAREN, A.L., 1959. Methods for microscopic detection of *Aphanomyces euteiches* and *Rhizoctonia solani* and for isolation of *Rhizoctonia solani* associated with plant debris. *Phytopath.* 49:192-198.
- BOYSEN, M., BORJA, M., SALAZAR, O., RUBIO, V. & DEL MORAL, C., 1996. Identification at strain level of *Rhizoctonia solani* AG 4 isolates by direct sequence of asymmetric PCR products of the ITS regions. *Current Genetics* 29: 174-181.
- BRAUN, H. 1930. *Der Wurzeltöter der Kartoffel Rhizoctonia solani* Kühn, Springer Verlag, Berlin.
- BROOKHOUSER, L.W. & WEINHOLD, A.R., 1979. Induction of polygalacturonase from *Rhizoctonia solani* by cotton seed hypocotyl exudates. *Phytopathology* 69: 599-602.
- BUGBEE, W.M. & CAMPBELL, L.G., 1990. Combined resistance in sugar beet to *Rhizoctonia solani*, *Phoma betae*, and *Botrytis cinerea*. *Plant Dis.* 74: 353-355.
- BUGBEE, W.M., 1993a. A pectin lyase inhibitor protein from cell walls of sugar beet. *Phytopathology* 83: 63-68.
- BUGBEE, W.M., 1993b. Utilizing host resistance mechanisms against *Rhizoctonia solani*. *Sugarbeet Research and extension Reports* 24: 205-207.
- BÜTTNER, G., 1998. Immer häufiger *Rhizoctonia*-Rübenfäule. *Zuckerrübe* 47: 221-223.
- CAMPBELL, C.L. & ALTMAN, J., 1976. Rapid laboratory screening of sugar beet cultivars for resistance to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 66: 1373-1374.

- CARLING, D.E., KUNINAGA, S. & LEINER, R.H., 1988. Relatedness within and among intraspecific groups of *Rhizoctonia solani*: A comparison of grouping by anastomose and by DNA hybridization. *Phytoparasitica* 16: 209-210.
- CLARK, C.A., SASSER, J.N. & BARKER, K.R., 1978. Elutriation procedures for quantitative assay of soils for *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 68: 1234-1236.
- CRUICKSHANK, R.H. & WADE, G.C., 1980. Detection of pectic enzymes in pectin-acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 107: 177-181.
- CRUICKSHANK, R.H., 1990. Pectic zymograms as criteria in taxonomy of *Rhizoctonia*. *Mycological Research* 94: 938-946.
- DANIELS, J., 1963. Saprophytic and parasitic activities of some isolates of *Corticium solani*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 485-502.
- DE BEER, J.F., 1965. Studies on the ecology of *Rhizoctonia solani* Kühn. Ph. D. Thesis, University of Adelaide.
- DECANDOLLE, A.P., 1815. Memoire sur les *rhizoctones*, nouveau genre de champions qui attque les racines, des plantes et en particulier celle de la luzerne cultivée. *Memo. Mus. D'Hist. Nat.* 2: 209-216
- DISSEMOND, A. & HEUPEL, M., 1994. Rübenfäulen im Rheinland. *LZ* 31: 29-30.
- DODMAN, R.L., BARKER, K.A. & WALKER, J.C., 1968. A detailed study of the different modes of penetration by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 58: 1271-1275.
- DUNCAN, S., BARTON, J.E. & O'BRIEN, P.A., 1993. Analysis of variation in isolates of *Rhizoctonia solani* by random amplified polymorphic DNA assay. *Mycological Research* 97: 1075-1082.
- DURBIN, R.D., 1959. Factors affecting the vertical distribution of *Rhizoctonia solani* with special reference to CO₂ concentration. *Am. J. Bot.* 46: 22-25.
- ENGELKES, C.A. & WINDELS, C.E. 1991. Inoculum increase of *Rhizoctonia solani* AG-2-2 by sclerotia formation on sugarbeet roots. *Sugarbeet research and extension reports* 22: 196-203.
- ENGELKES, C.A. & WINDELS, C.E., 1988. Pathogenicity of AG-2-2 cultures of *Rhizoctonia solani* isolated from legumes and sugarbeet on adult sugarbeet roots. *Sugarbeet research and extension reports* 19: 150-157.
- ENGELKES, C.A. & WINDELS, C.E., 1990. Overwintering and survival of *Rhizoctonia solani*. *Sugarbeet Research and extension reports*, 21: 200-206.
- ENGELKES, C.A. & WINDELS, C.E., 1994. Relationship of plant age, cultivar, and isolate of *Rhizoctonia solani* AG-2-2 to sugar beet root and crown rot. *Plant Disease* 78: 685-689.
- ENGELKES, C.A., WINDELS, C.E. & CYMBALUK, T.E., 1991. Development of *Rhizoctonia* root and crown rot on sugarbeet plants of different ages. *Sugarbeet Research and extension reports* 22: 186-195.
- ESCANDE, A.R. & ECHANDI, E. 1991. Effect of growth media, storage environment, soil temperature and delivery to soil on binucleate *Rhizoctonia* AG-G for protection of potato from *Rhizoctonia* canker. *Plant Pathology* 40, 190-196.
- ETTL, J., 1997. *Rhizoctonia*-Rübenfäule. Ein zunehmendes Problem des Rübenanbaus in Niederbayern. *Bodenkultur und Pflanzenbau* 6: 23-25.
- FLENTJE, N.T. & STRETTON, H.M., 1964. Mechanisms of variation in *Thanatephorus cucumeris* and *T. praticolus*. *Aust. J. Biol. Sci.* 17: 686-704.
- FLENTJE, N.T., STRETTON, H.M. & MCKENZIE, A.R., 1967. Mutation in *Thanatephorus cucumeris*. *Aust. J. Biol. Sci.* 20:1173-80.

- FUKUI, R., POINAR, E.I., BAUER, P.H., SCHROTH, M.N., HENDSON, M., WANG, X.-L., & HANCOCK, J.G., 1994. Spatial colonization patterns and interaction of bacteria on inoculated sugar beet seed. *Phytopathology* 84: 1338-45.
- GILLIGAN, C.A., SIMONS, S.A. & HIDE, G.A., 1996. Inoculum density and spatial pattern of *Rhizoctonia solani* in field plots of *Solanum tuberosum*: effects of cropping frequency. *Plant Pathology* 45: 232-244.
- GLENN, O.F. & SIVASITHAMPARAM, K., 1990. The effect of soil compaction on the saprophytic growth of *Rhizoctonia solani*. *Plant and Soil* 121: 282-286.
- GOODWIN, P.H. & ANNIS, S.L., 1991. Rapid identification of genetic variation and pathotype in *Laetosphaeria maculans* by random amplified polymorphic DNA assay. *Applied and environmental Microbiology* 57: 2482-2486.
- HASHIBA, T., HOMMA, Y., HYAKUMACHI, M. & MATSUDA, I., 1984. Isolation of a DNA plasmid in the fungus *Rhizoctonia solani*. *Journal of General Microbiology* 130: 2067-2070.
- HECKER, R.J. & RUPPEL, E.G., 1975. Inheritance of resistance to *Rhizoctonia* root-rot in sugarbeet. *Crop Sci.* 15: 487-490.
- HENIS, Y., GHAFAR, A., BAKER, R. & GILLESPIE, S.L., 1978. A new pellet soil sampler and its use for the study of population dynamics of *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* 68: 371-376.
- HERR, L.J. & ROBERTS, D.L., 1980. Characterization of *Rhizoctonia* populations obtained from sugarbeet field with differing soil textures. *Phytopathology* 70: 476-480.
- HERR, L.J., 1976. In field survival of *Rhizoctonia solani* in soil and in diseased sugar beets. *Can. J. Microbiol.* 22: 983-988.
- HERR, L.J., 1982. Characteristics of hymenial isolates of *Thanatephorus cucumeris* on sugar beets in Ohio. *Plant Dis.* 66: 246-249.
- HORNBY, D. , 1990. Biological control of soil borne plant pathogens. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
- HYAKUMACHI, M. & UI, T., 1982. Decline of *Rhizoctonia* root rot during sugarbeet monoculture. *Memoirs of the faculty of agriculture, Hokkaido University* 13, 445-454.
- HYAKUMACHI, M. & UI, T., 1984. Comparison of soil pellet and sieving-floatation method for enumeration of sugarbeet root rot fungus (*Rhizoctonia solani* AG 2-2). *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 50: 551-553.
- HYAKUMACHI, M. & UI, T., 1987. Non-self-anastomosing isolates of *Rhizoctonia solani* obtained from fields of sugarbeet monoculture. *Transactions of the British Mycological Society* 89: 155-159.
- HYAKUMACHI, M., MUSHIKA, T., OGISO, Y., TODA, T., KAGEYAMA, K. & TSUGE, T., 1998. Characterization of a new cultural type (LP) of *Rhizoctonia solani* AG 2-2 isolated from warm-season turfgrasses, and its genetic differentiation from other cultural types. *Plant Pathology* 47: 1-9.
- HYAKUMACHI, M., 1983. Decline phenomenon of sugarbeet root rot. *Shokubutsu Boeki (Plant Protection)* 37: 532-537.
- HYAKUMACHI, M., KANZAWA, K. & UI, T. 1990. *Rhizoctonia* root rot decline in sugarbeet monoculture. In: Cook, R.J., Henis, Y., Ko, W.H., Rovira, A.D., Schippers, B. & Scott, P.R, (eds). *Biological control of soil-borne plant pathogens*. Wallingford, UK: C.A.B., 227-247.
- HYAKUMACHI, M., SUMINO, A., UEDA, I & SHIKATA, E. 1985. Relationship between the presence of dsRNA in *Rhizoctonia solani* and the pathogenicity. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 51: 372-73.
- HYAKUMACHI, M., YOKOYAMA, K. & UI, T., 1987. Role of melanin in susceptibility and resistance of *Rhizoctonia solani* to microbial lysis. *Transactions of the British Mycological Society* 89: 27-33.

- ICHIELEVICH-AUSTER, M., SNEH, B., KOLTIN, Y. & BARASH, I., 1985a. Pathogenicity, host specificity and Anastomose groups of *Rhizoctonia solani* isolated from soils in Israel. *Phytoparasitica* 13: 103-112.
- JABAJI-HARE, S.H., MELLER, Y., GILL, S. & CHAREST, P.M., 1990. Investigation of genetic relatedness among anastomosis groups *Rhizoctonia solani* using cloned DNA probes. *Canadian Journal of Plant Pathology* 12: 393-404.
- JACOB, M., 1997. Nutzorganismen erhöhen Ertrag und Widerstandkraft bei Gerbera. *TASPO-Gartenbaumagazin* 6: 56-57.
- JACOBSEN, B.J. & KIEWNICK, S., 1996. Comparison of antagonistic bacteria and fungicides for control of *Rhizoctonia* crown and root rot on sugar beet. *Sugarbeet research and extension reports* 27: 259-260.
- JACOBSEN, B.L., KIEWNICK, S., BERGMAN, J. & ECKHOFF, J., 1997. Integrated control of soilborne diseases on sugar beet with antagonistic bacteria and fungicides. *Sugarbeet Research and extension reports* 28: 334-349.
- JAGER, G. & VELVIS, H., 1986. Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. 5. The effectiveness of three isolates of *Verticillium biguttatum* as inoculum for seed tubers and of a soil treatment with a low dosage of pencycuron. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 92: 231-238.
- JOHNK, J.S. & JONES, R.K., 1993. Differentiation of populations of AG-2-2 of *Rhizoctonia solani* by analysis of cellular fatty acids. *Phytopathology* 83: 278-283.
- JOHNK, J.S. & JONES, R.K., 1994. Comparison of whole-cell fatty acid compositions in intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* AG-1. *Phytopathology* 84: 271-275.
- JULIAN, M.C., DEBETS, F. & KEIJER, J., 1996. Independence of sexual and vegetative incompatibility mechanisms of *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*) Anastomose group 1. *Phytopathology* 86: 566-574.
- KANEMATSU, S. & NAITO S., 1995. Genetic characterization of *Rhizoctonia solani* AG-2-3 by analyzing restriction fragment length polymorphisms of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 61: 18-21.
- KATARIA, H.R., VERMA, P.R. & GISI, U., 1991. Variability in the sensitivity of *Rhizoctonia solani* Anastomose groups to fungicides. *Journal of Phytopathology* 133: 121-133.
- KEIJER, J., HOUTERMAN, P.M., DULLEMANS, A.M. & KORSMAN, M.G., 1996. Heterogeneity in electrophoretic karyotype within and between Anastomose groups of *Rhizoctonia solani*. *Mycological Research* 100: 789-797.
- KERR, A., 1955. Studies on the parasitic and saprophytic activities of *Pellicularia filamentosea* (Pat.) Rogers and *Sclerotinia homecarpa* Benett. Ph. D. Thesis, University of Adelaide.
- KIEWNICK, S. & JACOBSEN, B.J., 1997. Biological control of damping-off and *Rhizoctonia* crown and root rot of sugar beet. *Phytopathology* 87: S51.
- KILIAN, M. & RAUPACH, G., 1999. *Bacillus subtilis* als Pflanzenstärkungsmittel im Gemüsebau. *Gemüse* 3, 160-163.
- KO, W. & HORA, F., 1971. A selective medium for the quantitative determination of *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* 61: 707-710.
- KOMOTO, M., KANZAWA, K. & UI, T., 1970. Continuous cropping of sugar beet and strains of *Rhizoctonia solani* in field soil. *Bull. Sugar Beet Res. Suppl.* 1: 57-62.
- KREBS, B., HÖDING, B., KÜBART, S., ALEMAYEHU WORKIE, M., JUNGE, H., SCHMIEDEKNECHT, G., GROSCH, R., BOCHOW, W. & HEVESI, M., 1998. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. I. Activities and

- characterization of *Bacillus subtilis* strains. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 105: 181-197.
- KUNINAGA, S., YOKOSAWA, R. & OGOSHI, A. 1979. Some properties of Anastomose group 6 and Anastomose group BI in *Rhizoctonia solani*. Ann. Soc. Phytopathol. Japan. 45: 207-214.
- KUNINAGA, S. & YOKOSAWA, R., 1982a. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuehn. I. Genetic relatedness within Anastomose group 1. Ann. Phytopath. Soc. Japan 48: 559-667.
- KUNINAGA, S. & YOKOSAWA, R., 1985. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn. VII. Genetic relatedness between AG-BI and other Anastomose groups. Annals of the Phytopathological Society of Japan 51: 133-138.
- KUNINAGA, S. & YOKOSAWA, R., 1985. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kühn. II. Genetic relatedness within Anastomose group 2. Annals of the Phytopathological Society of Japan 51, 668-673.
- KUNINAGA, S., NATSUAKI, T., TAKEUCHI, T. & YOKOSAWA, R., 1997. Sequence variation of the rDNA ITS regions within and between Anastomose groups in *Rhizoctonia solani*. Current Genetics, 32: 237-243.
- LARSEN, H.J., 1985. Temporary depression of *Rhizoctonia solani* field populations by soil amendment with *Laetisaria arvalis*. Plant Disease 69, 347-350.
- LEACH, S.S., PORTER, G.A., ROURKE, R.V. & CLAPHAM, W.M., 1993. Effects of mouldboard plowing, chisel plowing and rotation crops on the *Rhizoctonia* disease of white potato. Amer. Potato J. 70: 329-377.
- LECLERG, E.L., 1934. Parasitism of *Rhizoctonia solani* on sugar beet. J. Agric. Res. 49: 407-431.
- LEWIS, J.A. & PAPAIVIZAS, G.C., 1974. Effect of volatiles from decomposing plant tissues on pigmentation, growth and survival of *Rhizoctonia solani*. Soil Science 118: 156-163.
- LEWIS, J.A., BARKSDALE, T.H. & PAPAIVIZAS, G.C., 1990. Greenhouse and field studies on the biological control of tomato fruit rot caused by *Rhizoctonia solani*. Crop protection 9, 8-14.
- LILJA, A., HIETALA, A.M. & KARJALAINEN, R., 1996. Identification of a uniuncleate *Rhizoctonia* sp. by pathogenicity, hyphal Anastomose and RAPD analysis. Plant Pathology 45: 997-1006.
- LIU, Z., NICKRENT, D.L. & SINCLAIR, J.B., 1990. Genetic relationships among isolates of *Rhizoctonia solani* Anastomose group-2 based on isozyme analysis. Canadian Journal of Plant Pathology 12: 376-382.
- LIU, Z.L. & SINCLAIR, J.B., 1991. Isolates of *Rhizoctonia solani* Anastomose group 2-2 pathogenic to soybean. Plant Disease 75: 682-687.
- LIU, Z.L. & SINCLAIR, J.B., 1992. Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* Anastomose group 2. Phytopathology 82: 778-787.
- LIU, Z.L. & SINCLAIR, J.B., 1993. Differentiation of intraspecific groups within Anastomose group 1 of *Rhizoctonia solani* using ribosomal DNA internal transcribed spacer and isozyme comparisons. Canadian Journal of Plant Pathology 15: 272-280.
- LOEFFLER, W., KATZER, W., KREMER, S., KUGLER, M., PETERSEN, F., JUNG, G., RAPP, C. & TSCHEN, J.S.M. 1990. Gegen Pilz wirksame Antibiotika der *Bacillus subtilis*-Gruppe. Forum Mikrobiol. 3, 156-163.
- LUDBROOK, W.V., BROCKWELL, J. & RICEMAN D.S., 1953. Bare-patch disease and associated problems with subterranean clover pastures in South Australia. Australian Journal of Agricultural Research, 4: 403-414.

- LUDWICK, A.E., GILBERT, W.A. & WESTFALL, D.G., 1980. Sugarbeet quality as related to KCL fertilization. *Agron. J.* 72: 453-456.
- MACNISH, G.C. & DODMAN R.L., 1987. Vertical distribution of root damage caused by *Rhizoctonia solani* in wheat. *Plant Pathology* 36: 328-332.
- MACNISH, G.C. & LEWIS, S., 1985. Methods of measuring *Rhizoctonia* patch of cereals in Western Australia. *Plant Pathol.* 34: 159-164.
- MACNISH, G.C. & SWEETINGHAM, M.W., 1993a. Evidence that each *Rhizoctonia* bare patch is dominated by an individual zymogram group (ZG) of *Rhizoctonia solani* AG-8. *Australian Journal of Agricultural Research* 44: 1175-1194.
- MACNISH, G.C., 1984. The use of undisturbed soil cores to study methods of controlling *Rhizoctonia* patch of cereals. *Plant Pathology* 33: 355-359.
- MACNISH, G.C., 1985. Methods of reducing *Rhizoctonia* patch of cereals in Western Australia. *Plant Pathology* 34: 175-181.
- MACNISH, G.C., 1996. Patch dynamics and bare patch. Pages 217-226. In: B.Sneh, S. Jabji Hare, S. Neate, & G. Dijst, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- MACNISH, G.C., CARLING, D.E. & BRAINARD, K.A., 1993b. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG-8 from bare patches by pectic isozyme (zymogram) and Anastomose techniques. *Phytopathology* 83: 922-927.
- MACNISH, G.C., CARLING, D.E., SWEETINGHAM, M.W., & BRAINARD, K.A., 1994. Anastomose group (AG) affinity of pectic isozyme (zymogram) groups (ZG) of *Rhizoctonia solani* from the western Australian cereal-belt. *Mycological Research* 98: 1369-1375.
- MACNISH, G.C., MCLERNON, C.K. & WOOD, D.A., 1993c. The use of zymogram and Anastomose techniques to follow the expansion and demise of two coalescing bare patches caused by *Rhizoctonia solani* AG-8. *Australian Journal of Agricultural Research* 44: 1161-1173.
- MANIAN, S. & MANIBHUSHANRAO, K., 1990. Influence of some factors on the survival of *Rhizoctonia solani* in soil. *Tropical Agriculture* 67: 207-208.
- MATTHEW, J., HERDINA & WHISSON, D., 1995. DNA probe specific to *Rhizoctonia solani* Anastomose group 8. *Mycological Research* 99: 745-750.
- MATTHEW, J.S. & BROOKER, J.D., 1991. The isolation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies to Anastomose group 8 of *Rhizoctonia solani*.
- MAXSON, A.C., 1938. Root-rots of the sugar beet. *Am. Soc. Sugar Beet Technol. Proc.* 1: 60-64.
- MAZZOLA M., WONG OITAK, COOK, R.J., WONG O.T., 1996. Virulence of *Rhizoctonia oryzae* and *R. solani* AG-8 on wheat and detection of *R. oryzae* in plant tissue by PCR. *Phytopathology* 86: 354-360.
- MCGUIRE, R.G. & KELMAN, A., 1986. Calcium in Potato tuber cell walls in relation to tissue maceration by *Erwinia carotovora* pv. *Atroseptica*. *Phytopathology* 76: 401-406.
- MERRIMAN P.R., PRICE, R.D., KOLLMORGEN, J.F., PIGGOTT, T. & RIDGE, E.H., 1974. Effect of seedinoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. *Austr. J. Agric. s.* 61: 543-546.
- MILDENHALL, J.P. & WILLIAMS, P. H., 1973. Effect of soil temperature and host maturity on infection of carrot by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 63: 276-280.
- MÜLLER, K.O., 1942. Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte und Biologie von *Hypochnus solani* P. u. D. (*Rhizoctonia solani* K.), Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft 13: 197-262.

- NAITO, S. & KANEMATSU, J.A., 1994. Characterization and pathogenicity of a new Anastomose subgroup AG 2-3 of *Rhizoctonia solani* Kühn isolated from leaves of soybean. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 60: 681-690.
- NAITO, S., 1984. Studies on foliage blight of sugar beets. *Hokkaido Natl. Agr. Exp. Sta. Res. Bull.* 139: 145-188.
- NAITO, S., 1990. Ecological role of basidiospores of *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk in the incidence of foliage blight of sugar beets in Japan. *JARQ, Japan Agr. Res. Quarterly* 23: 268-275.
- NAITO, S., SUGIMOTO, T., YAMAGUCHI, T. & FUJISAWA, I., 1975. Anastomose groups of *Rhizoctonia solani* Kühn isolates from diseased sugarbeet seedlings. *Res. Bull. Hokkaido Nat. Agric. Exp. Stn.* 111: 25-35.
- NEATE, S.M., 1987. Plant debris in soil as a source of inoculum of *Rhizoctonia* in wheat. *Transactions of the British Mycological Society* 88: 157-162.
- NEATE, S.M., CRUIKSHANK, R.H. & ROVIRA, A.D. 1988. Pectic enzyme patterns of *Rhizoctonia solani* isolates from agricultural soils in South Australia. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 90: 37-42.
- NELSON, B., HELMS, T., CHRISTIANSON, T. & KURAL, I., 1996. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* from soybean. *Plant Dis.* 80: 74-80.
- O' BRIEN, P.A., 1994. Molecular markers in Australian isolates of *Rhizoctonia solani*. *Mycological-Research* 98: 665-671.
- O'SULLIVAN, E. & KAVANAGH, J.A., 1991. Characteristics and pathogenicity of isolates of *Rhizoctonia* spp. Associated with damping-off of sugar beet. *Plant Pathology* 40: 128-135.
- OGOSHI, A., 1987. Ecology and pathogenicity of Anastomose and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annu. Rev. Phytopathol.* 25: 125-143.
- OGOSHI, A. & UI, T., 1983. Diversity of clones within an Anastomose group of *Rhizoctonia solani* Kühn in fields of white potatoes, sugar beets, and rice plants. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 59: 239-245.
- OGOSHI, A., 1975. Studies on the Anastomose groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Jpn. Agric. Res. Quar.* 9: 198-203.
- OGOSHI, A., 1975. Studies on the Anastomose groups of *Rhizoctonia solani* Kühn and on their perfect stages. *Bull. Natl. Inst. Agric. Ser. C* 30: 1-63.
- ORTEGA, F., STEINER, U. & DEHNE, H.W., 1997. Use of fungicide resistance for the characterization and differentiation of *Venturia inaequalis* strains-suitability for competitiveness studies. *Proc. 1st EFPP Symp.* / Bonn, Kluwer Academic Publishers, London.
- PAPAVIZAS, G.C., 1968. Survival of root-infecting fungi in soil. VIII. Distribution of *Rhizoctonia solani* in various physical fractions of naturally and artificially infested soils. *Phytopathology* 58: 746-751.
- ROBERTS, D.L. & HERR, L.J., 1979. Soil populations of *Rhizoctonia solani* from areas of healthy and diseased beets within four sugarbeet fields differing in soil texture. *Can. J. Microbiol.* 25: 902-910.
- RUPPEL, E.G. & HECKER, R.J., 1988. Variable selection pressure for different levels of resistance to *Rhizoctonia* root rot in sugarbeet. *Journal of sugar beet research*, 25: 63-69.
- RUPPEL, E.G. & HECKER, R.J., 1994. *Rhizoctonia* root rot on sugarbeet cultivars having varied degrees of resistance. *J. Sugar Beet Res.* 31: 135-142.
- RUPPEL, E.G., 1972. Histopathology of resistant and susceptible sugar beet roots inoculated with *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 63: 123-126.

- RUPPEL, E.G., 1985. Susceptibility of rotation crops to a root rot isolate of *Rhizoctonia solani* from sugar beet and survival of the pathogen in crop residue. *Plant-Disease* 69: 10, 871-873.
- RUPPEL, E.G., 1991. Survival of *Rhizoctonia solani* in fallow field soil and buried sugar beet roots at three depths. *J. Sugar Beet Res.* 28: 141-153.
- RUSH, C.M. & WINTER, S.R., 1990. Influence of previous crops on *Rhizoctonia* root crown rot of sugar beet. *Plant Disease* 74: 421-425
- RUSH, C.M., CARLING, D.E., HARVESON, R.M. & MATHIESON, J.T., 1994. Prevalence and pathogenicity of Anastomose groups of *Rhizoctonia solani* from wheat and sugar beet in Texas. *Plant Disease* 78: 349-352.
- RUSTAD, D.M. & WINDELS, C.E., 1991. Susceptibility of potato to *Rhizoctonia solani* AG 2-2 isolated from sugarbeet. *Sugarbeet Research and Extension Report* 22: 204-212.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F. & MANIATIS, T., 1990. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd edn. Cold spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- SCHNEIDER, C.L. & POTTER, H.S., 1983. Efficacy of some fungicides in controlling *Rhizoctonia* crown rot of sugarbeet. *Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists* 22: 54-59.
- SCHNEIDER, C.L., RUPPEL, E.G., HECKER, R.J. & HOGABOAM, G.J., 1982. Effect of soil deposition in crowns on development of *Rhizoctonia* root rot in sugar beet. *Plant Dis.* 66: 408-410.
- SCHNEIDER, J.H.M., SCHILDER, M.T. & DIJST, G., 1997. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG 2 isolates causing bare patch in field grown tulips in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology* 103: 265-279.
- SCHOLTE, K., 1987. The effect of crop rotation and granular nematicides on the incidence of *Rhizoctonia solani* in potato. *Potato Research* 30: 187-199.
- SCHUSTER, M.I. & HARRIS, I. 1960. Incidence of *Rhizoctonia* crown rot of sugar beets in irrigated crop rotation. *J. Am. Soc. Sugar Beet Technol.* 11: 128-136.
- SNEH, B., BURPEE, L. & OGOSHI, A. 1991. *Identification of Rhizoctonia species*. The American Phytopathological Society. St. Paul, MN. 133 pp.
- SNEH, B., JABAJI-HARE, S., NEATE, S. & DIJST, G., 1996. *Rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular biology, Ecology, Pathology, and Disease Control*. Kluwer Academic Publishers, Dordrechts, Netherlands 434.
- SPECHT, L.P. & LEACH, S.S., 1987. Effects of crop rotation on *Rhizoctonia* disease of white potato. *Plant Disease* 71: 433-437.
- STEINER, U. & KILIAN, M., 1999. Ein Pflanzenstärkungsmittel auf Basis von *Bacillus subtilis* als Beizmittel für den Kartoffelanbau. *Kartoffelbau* 50: 32-34.
- SUMNER, D.R. & BELL, D.K., 1986. Influence of crop rotation on severity of crown and brace root rot caused in corn by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 76: 248-252.
- SUMNER, D.R. & MINTON, N.A., 1989. Crop losses in corn induced by *Rhizoctonia solani* AG-2-2 and nematodes. *Phytopathology* 79: 9, 934-941.
- SUMNER, D.R., 1987. Efficacy of Pencycuron against isolates representing different Anastomose groups of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia*-like binucleate fungi. *Plant Disease*, 71: 515-518.
- SWEETINGHAM, M.W., CRUIKSHANK, R.H. & WONG, D.H., 1986. Pectic zymograms and the taxonomy and pathogenicity of the *Ceratobasidiae*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 86: 305-311.
- TAKANO, K. & FUJII, N. 1972. On the sheath blight of gladiolus, a new disease. *Annals of the Phytopathological society of Japan* 38: 192.

- TOMMERUP, I.C., BARTON, J.E. & O' BRIEN, P.A., 1995. Reliability of RAPD fingerprinting of three basidiomycete fungi, *Laccaria*, *Hydnangium* and *Rhizoctonia*. *Mycological Research* 99: 179-186.
- TSCHEN, J.S.M., C.S., CHEN, C.C.HSUE, Y.L. LING & Y.H. CHENG, 1997. *Rhizoctonia solani* incited damping-off in radish suppressed by plasmid and non-plasmid carrying strains of *R. solani* that enhance host chitinase activity. *J. Phytopathology* 145: 363-369.
- UCHINO, H., KANZAWA, K., SUGIMOTO, T., NAITO, S. & SAYAMA, M., 1987. Studies on the control of *Rhizoctonia* root rot of sugar beets. 10. Effects of drenching pencycuron to sugar-beet seedlings in paper-pot transplanting system. *Proceedings of the sugar beet research association, Japan* 29: 50-57.
- UCHINO, H., WATANABE, H. & KANZAWA, K., 1997. Controlling root diseases of sugar beet by applying azoxystrobin. 37th meeting of the Japanese society of sugar beet technologists, Sapporo, Japan, 24-25 July, 1997. *Proceedings of the Japanese society of sugar beet technologists* 39: 73-79.
- VAN DEN BOOGERT, P.H.J.F. & VELVIS, H. 1992. Population dynamics of the mycoparasite *Verticillium biguttatum* and its host, *Rhizoctonia solani*. *Soil. Biol. Biochem.* 24, 157-164.
- VELVIS, H., BOOGERT, P.H.J.F. VAN DEN & JAGER, G., 1989. Role of antagonism in the decline of *Rhizoctonia solani* inoculum in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 125-129.
- VILGALYS, R. & CUBETA, M.A., 1994. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32: 135-15.
- VILGALYS, R. & GONZALEZ, D., 1990. Ribosomal DNA restriction fragment length polymorphisms in *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 80: 151-158.
- VOLAND, R.P. & EPSTEIN, A.H., 1994. Development of suppressiveness to diseases caused by *Rhizoctonia solani* in soils amended with composted and noncomposted manure. *Plant Dis.* 78: 461-466.
- WATANABE, B. & MATSUDA, A., 1966. Studies on the grouping of *Rhizoctonia solani* (Kühn) pathogenic to upland crops. *Appointed experiment (Plant diseases and insect pests)* 7: 1-131.
- WEINHOLD, A.R. 1977. Populations of *Rhizoctonia solani* in agricultural soils determined by a screening procedure. *Phytopath.* 67:566-569.
- WELSH, J. & MCCLELLAND, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18, 7213-18.
- WHITE, T.J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNINSKY, J.J., WHITE, T.J., eds. *PCR-Protocols. A guide to Methods and Applications* 315-22. New York, NY, USA: Academic Press.
- WHITNEY, E.D. & DUFFUS, J.E., 1986. *Compendium of beet diseases and insects*. APS Press, St. Paul, MN, USA.
- WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, K.J. & TINGEY, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-5.
- WINDELS, C.E. & JONES, R.K., 1989. Seedling and root diseases of sugar beets. *Minn. Ext. Serv. AG-FO-3702*: 1-3.
- WINDELS, C.E. & NABBEN, D.J., 1989. Characterization and pathogenicity of Anastomose groups of *Rhizoctonia solani* isolated from *Beta vulgaris*. *Phytopathology* 79: 83-88.
- WINDELS, C.E., PANELLA, L. & RUPPEL, E.G., 1995. Sugarbeet germplasm resistant to *Rhizoctonia* root and crown rot withstands disease caused by several pathogenic isolates of *Rhizoctonia solani* AG-2-2. *Sugarbeet Research and extension reports* 26: 179-185.

- WINTER, S.R., 1984. Cropping systems to remove excess soil nitrate in advance of sugar beet production. J. Am. Soc. Sugar Beet Technology 22: 285-290.
- XU LIALAN, ZHOU BAOYA, LIU YIQING, LI MING & LI JIANMIN, 1997. Biological characteristics of *Rhizoctonia solani* Kuhnzheng. Plant Protection 23: 29-30.
- YANG, H.A., SIVASITHAMPARAM, K., BARTON, J.E. & O'BRIEN, P.A., 1995. Characterization of cereal bare patch isolates of *Rhizoctonia solani* by random amplified polymorphic DNA analysis. Plant Pathology 44: 811-818.
- YANG, J. & VERMA, P.R., 1992. Screening genotypes for resistance to preemergence damping-off and post-emergence seedling root rot of oilseed rape and canola caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-1. Crop Prot. 11: 443-448.
- YANG, J., KHARBANDA, P.D., WANG, H. & MCANDREW, D.W., 1996. Characterization, virulence, and genetic variation of *Rhizoctonia solani* AG-9 in Alberta. Plant Dis. 80: 513-518.
- YANG, J., VERMA, P.R. & TEWARI, J.P., 1992. Histopathology of resistant mustard and susceptible canola hypocotyls infected by *Rhizoctonia solani*. Mycological Research 96: 171-179.
- YOKOYAMA, K., OGOSHI, A. & UI, T., 1983. Studies on hyphal Anastomose of *Rhizoctonia solani* I. Observation of perfect fusion with light microscopy. Trans. Mycol. Soc. Japan 24: 329-340.
- YOKOYAMA, K., OGOSHI, A. & UI, T., 1985. Studies on hyphal Anastomose of *Rhizoctonia solani* II. The ultrastructural changes of hyphal cells during perfect fusion. Trans. Mycol. Soc. Japan 26: 199-207.

7 Anhang

Tab. 22: In den Versuchsjahren 1995 und 1996 verwendete Isolate von *R. solani*. Unterschiedliche Befallsflächen gleicher Region sind mit verschiedenen Zahlen (1-18) gekennzeichnet. Isoliert wurde der Erreger aus Bodenproben (B) und direkt von der befallenen Pflanze (ZR, WW).

Kennung	AG	Typ	Herkunft	Fläche	Isoliert von:
RH9601	1	-	Japan	-	-
RH9602	2-1	-	Japan	-	-
RH9603	2-2	-	Japan	-	-
RH9604	2-2	-	USA	-	ZR
RH9605	2-2	-	Wageningen	-	ZR
RH9608	3	-	Japan	-	-
RH9610	4	-	Japan	-	-
RH9611	4	-	Monheim	-	-
RH9512-14	2-2	1	Euskirchen	1	B
RH9515-16	2-2	2	Jülich	2	ZR
RH9517-18	2-2	2	Ameln	3	ZR
RH9519	2-2	2	Neu-Tichelen	4	ZR
RH9520	2-2	2	Aachen	5	ZR
RH9521	2-2	3	Aachen	6	ZR
RH9522	2-2	3	Neuss	7	ZR
RH9523	2-2	?	Geilenkirchen	8	ZR
RH9529	2-2	3	Aachen	9	ZR
RH9637-41	2-2	1	Euskirchen	1	B
RH9642-52	2-2	3	Aachen	10	ZR
RH9653-59	2-2	3	Aachen	11	ZR
RH9660-75	2-2	3	Aachen	10	ZR
RH9676-87	2-2	4	Appeldorn	12	ZR
RH9690	2-2	3	Aachen	11	B
RH9695-99	2-2	2	Elsdorf	13	B
RH96100-111	2-2	3	Geldern	14	ZR
RH96116-123	2-2	2	Elsdorf	13	ZR
RH96147	2-2	3	Rödingen	15	WW (B)
RH96150-154	2-2	3	Elsdorf	13	ZR
RH96156	2-2	3	Rödingen	15	WW (B)
RH96179-81	2-2	3	Aachen	10	B
RH96182-188	2-2	3	Aachen	11	B
RH96190-228	2-2	2	Elsdorf	13	B
RH96229-237	2-2	1	Elsdorf	16	ZR
RH96239-243	2-2	1	Euskirchen	17	B (ZR)
RH96244	2-2	2	Elsdorf	13	B
RH96245-248	2-2		Euskirchen	17	B (ZR)
RH96250	2-2		Aachen	5	B
RH96254-260	2-2		Euskirchen		B (WW)
RH96279	2-2	3	Rhede	18	B

Tab. 23: Im Versuchsjahr 1997 verwendete Isolate von *R. solani*. Unterschiedliche Befallsflächen gleicher Region sind mit verschiedenen Großbuchstaben bzw. Zahlen gekennzeichnet (A-B, 1-20). Innerhalb der Fläche wurde weiterhin unterteilt in Befallsnester (a-e) und Zuckerrübenpflanze aus dem Befallsnest (1-5). Isoliert wurde der Erreger aus Bodenproben (B) und direkt von der befallenen Pflanze (ZR, WW).

Kennung	AG	Typ	Herkunft	Fläche	Befallsnest	ZR-Pflanze	Isoliert von:
RH9701-12	2-2	1	Euskirchen	B	a	1	ZR
RH9713	2-2	1	Euskirchen	B	b	1	ZR (Blatt)
RH9714-18	2-2	1	Euskirchen	B	c	1	ZR
RH9719-21	2-2	1	Euskirchen	B	d	1	ZR
RH9722-24	2-2	1	Euskirchen	A	a	1	ZR
RH9725-26	2-2	1	Lüxheim	A	a	1	ZR
RH9727-36	2-2	2	Hompesch	B	a	1	ZR
RH9737-40	2-2	3	Viersen	A	a	1	ZR
RH9741-42	2-2	4	Kevelaer	A	a	1	ZR
RH9743	2-2	3	Rhede	A	a	1	ZR
RH9744	2-2	3	Aachen	A	a	1	ZR
RH9745	2-2	3	Aachen	A	a	2	ZR
RH9746-48	2-2	3	Aachen	A	c	1	ZR
RH9749-50	2-2	3	Aachen	A	d	1	ZR
RH9751-53	2-2	3	Aachen	A	e	1	ZR
RH9754	2-2	4	Bonn	A	a	1	ZR
RH9755-61	2-2	3	Vollersode	A	a	1	ZR
RH9762-63	2-2	2	Regensburg	A	a	1	ZR
RH9664-70	2-2		Niederbayern	A	a	1	ZR
RH9771	2-2		Niederbayern	A	b	1	ZR
RH9772	2-2		Niederbayern	A	b	1	ZR
RH9773	2-2	4	Niederbayern	A	b	1	ZR
RH9774	2-2		Niederbayern	A	b	1	ZR
RH9775	2-2	4	Niederbayern	A	c	1	ZR
RH9776	2-2	4	Niederbayern	A	c	1	ZR
RH9777-79	2-2	4	Wallersdorf	1	a	1	ZR
RH9780-82	2-2	4	Wallersdorf	1	a	2	ZR
RH9783-85	2-2	4	Wallersdorf	1	a	3	ZR
RH9786-88	2-2	4	Wallersdorf	1	a	4	ZR
RH9789-91	2-2	4	Wallersdorf	1	a	5	ZR
RH9792-94	2-2	4	Wallersdorf	1	b	3	ZR
RH9795-97	2-2	4	Wallersdorf	1	c	4	ZR
RH9798-100	2-2	4	Wallersdorf	1	c	5	ZR
RH97101-103	2-2	4	Wallersdorf	1	c	3	ZR
RH97104-106	2-2	4	Wallersdorf	1	d	5	ZR
RH97107-108	2-2	4	Wallersdorf	1	e	1	ZR
RH97109-111	2-2	4	Wallersdorf	1	e	2	ZR
RH97112-114	2-2	4	Wallersdorf	1	e	3	ZR
RH97115-117	2-2	4	Wallersdorf	1	e	4	ZR
RH97118-120	2-2	4	Wallersdorf	1	e	5	ZR
RH97121-123	2-2	4	Wallersdorf	1	b	4	ZR

Fortsetzung **Tab. 23:**

Kennung	AG	Typ	Herkunft	Fläche	Befallsnest	ZR-Pflanze	Isoliert von:
RH97124-126	2-2	4	Wallersdorf	1	b	5	ZR
RH97127-129	2-2	1	Sarching	2	b	3	ZR
RH97130-132	2-2	1	Sarching	2	b	4	ZR
RH97133-135	2-2	1	Sarching	2	c	1	ZR
RH97136-138	2-2	1	Sarching	2	c	5	ZR
RH97139-141	2-2		Sarching	2	d	1	ZR
RH97142	2-2	3	Sarching	2	d	3	ZR
RH97143-145	2-2		Sarching	2	e	4	ZR
RH97146	2-2	4	Wallersdorf	1	e	1	ZR
RH97147-149	2-2	4	Wallersdorf	1	c	1	ZR
RH97150-151	2-2	4	Wallersdorf	1	d	1	ZR
RH97152-154	2-2	1	Sarching	2	b	1	ZR
RH97155-156	2-2	3	Sarching	2	d	3	ZR
RH97157	2-2	4	Wallersdorf	1	d	1	ZR
RH97158-160	2-2	5	Geisling	3	a	1	ZR
RH97161	2-2	5	Geisling	3	b	1	ZR
RH97162-164	2-2	5	Geisling	3	c	1	ZR
RH97165-167	2-2	5	Geisling	3	d	1	ZR
RH97168-170	2-2	5	Geisling	3	e	1	ZR
RH97171-173	2-2	4	Geiselhöring	5	a	1	ZR
RH97174-176	2-2	4	Geiselhöring	5	b	1	ZR
RH97177-179	2-2	4	Geiselhöring	5	c	1	ZR
RH97180-182	2-2	4	Geiselhöring	5	d	1	ZR
RH97183-185	2-2	4	Geiselhöring	5	e	1	ZR
RH97186-188	2-2	4	Asing	6	a	1	ZR
RH97189-191	2-2	4	Asing	6	b	1	ZR
RH97192-194	2-2	4	Asing	6	c	1	ZR
RH97195-197	2-2	4	Asing	6	d	1	ZR
RH97198	2-2	4	Asing	6	e	1	ZR
RH97199-201	2-2		Langkünzing	7	a	1	ZR
RH97202-204	2-2	4	Langkünzing	7	b	1	ZR
RH97205-207	2-2	4	Langkünzing	7	c	1	ZR
RH97208-210	2-2	4	Langkünzing	7	d	1	ZR
RH97211-213	2-2	4	Langkünzing	7	e	1	ZR
RH97214	2-2	4	Inkam	8	a	1	ZR
RH97215	2-2	4	Inkam	8	d	1	ZR
RH97216-218	2-2	4	Inkam	8	e	1	ZR
RH97219-221	2-2	4	Langenamming	9	a	1	ZR
RH97222-223	2-2	4	Langenamming	9	b	1	ZR

Fortsetzung **Tab. 23:**

Kennung	AG	Typ	Herkunft	Fläche	Befallsnest	ZR-Pflanze	Isoliert von:
RH97224-226	2-2	4	Langenamming	9	c	1	ZR
RH97227-228	2-2	4	Langenamming	9	d	1	ZR
RH97229-231	2-2	4	Langenamming	9	e	1	ZR
RH97232-234	2-2	3	Schmidorf	10	a	1	ZR
RH97235-237	2-2	3	Schmidorf	10	c	1	ZR
RH97238-239	2-2	3	Schmidorf	10	d	1	ZR
RH97240-242	2-2	3	Schmidorf	10	e	1	ZR
RH97243-245	2-2	4	Kirchdorf,Wissels ing	11	a	1	ZR
RH97246-248	2-2	4	Kirchdorf,Wissels ing	11	c	1	ZR
RH97249-251	2-2	4	Kirchdorf,Wisselsin g	11	d	1	ZR
RH97252-254	2-2	4	Kirchdorf,Wisselsin g	11	e	1	ZR
RH97255-257	2-2	4	Kirchdorf,Anning	12	a	1	ZR
RH97258-259	2-2	4	Kirchdorf,Anning	12	b	1	ZR
RH97260	2-2	4	Kirchdorf,Anning	12	c	1	ZR
RH97261-263	2-2	4	Kirchdorf,Anning	12	d	1	ZR
RH97264-266	2-2	4	Kirchdorf,Anning	12	e	1	ZR
RH97267-268	2-2	5	Geisling	3	b	1	ZR
RH97269-271	2-2	1	Sarching	2	b	2	ZR
RH97272-274	2-2	4	Haardorf	13	a	1	ZR
RH97275-277	2-2	4	Haardorf	13	b	1	ZR
RH97278-280	2-2	4	Haardorf	13	c	1	ZR
RH97281-282	2-2	4	Haardorf	13	d	1	ZR
RH97283-285	2-2	4	Haardorf	13	e	1	ZR
RH97286-287	2-2	4	Plattling	14	a	1	ZR
RH97288	2-2	4	Plattling	14	b	1	ZR
RH97289	2-2	4	Plattling	14	d	1	ZR
RH97290-292	2-2	4	Plattling	14	e	1	ZR
RH97293-295	2-2	4	Putting	15	a	1	ZR
RH97296-298	2-2	4	Putting	15	b	1	ZR
RH97299-301	2-2	4	Putting	15	c	1	ZR
RH97302-303	2-2	4	Putting	15	d	1	ZR
RH97304	2-2	4	Putting	15	e	1	ZR
RH97305-307	2-2	4	B8	16	a	1	ZR
RH97308-310	2-2	4	B8	16	b	1	ZR
RH97311-313	2-2	6	B8	16	c	1	ZR
RH97314-316	2-2	6	B8	16	d	1	ZR
RH97317-319	2-2	6	B8	16	e	1	ZR
RH97320-322	2-2	3	Uttenkofen	17	a	1	ZR
RH97323-325	2-2	3	Uttenkofen	17	c	1	ZR
RH97326-328	2-2	3	Uttenkofen	17	d	1	ZR
RH97329-331	2-2	3	Uttenkofen	17	e	1	ZR

Forsetzung **Tab. 23:**

Kennung	AG	Typ	Herkunft	Fläche	Befallsnest	ZR-Pflanze	Isoliert von:
RH97332-333	2-2	4	Inkam	8	d	1	ZR
RH97334-336	2-2	6	Plattling	18	a	1	ZR
RH97337-339	2-2	3	Plattling	18	b	1	ZR
RH97340-342	2-2	4	Plattling	18	c	1	ZR
RH97343-345	2-2	6	Plattling	18	d	1	ZR
RH97346-348	2-2	3	Plattling	18	e	1	ZR
RH97349-351	2-2	6	Otzing	19	a	1	ZR
RH97352-354	2-2	6	Otzing	19	b	1	ZR
RH97355-357	2-2	6	Otzing	19	c	1	ZR
RH97358-359	2-2	6	Otzing	19	d	1	ZR
RH97360-362	2-2	6	Otzing	19	e	1	ZR
RH97363	2-2		Reissing	20	a	1	ZR
RH97364	2-2		Reissing	20	d	1	ZR
RH97365	2-2		Reissing	20	d	1	ZR
RH97366	2-2		Reissing	20	d	1	ZR
RH97367	2-2	4	Inkam	8	c	1	ZR
RH97368	2-2	3	Schmidorf	10	b	1	ZR
RH97369	2-2	4	Kirchdorf, Anning	12	c	1	ZR
RH97370	2-2	4	Putting	15	d	1	ZR
RH97371	2-2		Reissing	20	a	1	ZR
RH97372-376	2-2	1	Euskirchen	B	a	1	ZR (Blatt)
RH97377-378	2-2	3	NL	A	a	1	Möhre
RH97379-382	2-2	3	NL	B	a	1	ZR
RH97383 OIROI	1-1	-	NL	-	-	-	ZR
RH97384 OIRO2	1-2	-	NL	-	-	-	ZR
RH97385 OIRO3	1-3	-	NL	-	-	-	ZR
RH97386	2-2IIIB	-	22R01 (Japan C-96)	-	-	-	mat rush
RH97387	2-2IV	-	22R02 (Japan RI-64)	-	-	-	ZR
RH97388 O5RO1	5	-	O5RO1	-	-	-	ZR
RH97389 Bi-01	BI	-	Bi-01	-	-	-	ZR
RH97390 2292	2-2 IIIB		NL	-	-	-	ZR
RH97391 2280	2-2 IIIB		NL	-	-	-	ZR

Tab. 24: Im Versuchsjahr 1998 verwendete Isolate von *R. solani*. Unterschiedliche Befallsflächen gleicher Region sind mit verschiedenen Zahlen (1-34) gekennzeichnet. Isoliert wurde der Erreger ausschließlich von Zuckerrübenpflanzen (ZR).

Kennung	AG	Typ	Herkunft	Fläche	Isoliert von:
9801-02	2-2	4	Plattling	1	ZR
9803-04	2-2	3	Drevenak/Hünxe	2	ZR
9805-06	2-2	5	Geldern	3	ZR
9807-08	2-2		Geldern	3	ZR
9809-10	2-2	3	Niederkrüchten	4	ZR
9811-12	2-2	2	Heinsberg	5	ZR
9813	2-2	4	Hochdorf	6	ZR
9814	2-2		Kleinglachsbad	7	ZR
9815	2-2	3	Heimsheim	8	ZR
9816	2-2	3	Heimsheim	8	ZR
9817	2-2	1	Rain	9	ZR
9818-19	2-2	1	Burghof	10	ZR
9820-21	2-2		Zeubelried	11	ZR
9822-23	2-2		Laub	12	ZR
9824	2-2	4	Plattling	1	ZR
9825	2-2	4	Plattling	1	ZR
9826	2-2	3	Horbach (Versuch '98)	13	ZR
9827	2-2	3	Horbach (Versuch '98)	13	ZR
9828			IFZ	14	ZR
9829			IFZ	14	ZR
9830	2-2	3	Schädlingsbeob. Stelle	15	ZR
9831	2-2		Stockfeld	16	ZR
9832-33	2-2	3	Pirchtner	17	ZR
9834	2-2	1	Aholming	18	ZR
9835	2-2	4	Aholming	19	ZR
9836	2-2	4	Aholming	19	ZR
9837	2-2	4	Maging	20	ZR
9838	2-2	3	Eichendorf	21	ZR
9839	2-2	3	Pitzling	22	ZR
9840	2-2	4	Kirchdorf	23	ZR
9841	2-2	4	Ottmaring	24	ZR
9842	2-2	4	Ottmaring	24	ZR
9843	2-2	4	Wisselsing	25	ZR
9844	2-2	4	Wisselsing	25	ZR
9845	2-2	4	Haardorf	26	ZR
9846	2-2	4	Haardorf	26	ZR
9847	2-2	3	Otzing	27	ZR
9848	2-2	3	Otzing	27	ZR
9849	2-2	1	Asenhof	28	ZR
9850	2-2	1	Asenhof	28	ZR
9851	2-2	5	Wolfersdorf	29	ZR
9852	2-2	5	Wolfersdorf	29	ZR
9853	2-2	4	Langenisarhofen	30	ZR
9854	2-2	1	Lenach	31	ZR
9855	2-2	1	Niederharthausen	32	ZR
9856	2-2	1	Niederharthausen	32	ZR
9857	2-2	3	Breitenweinzier	33	ZR
9858	2-2	3	Breitenweinzier	33	ZR
9859	2-2	6	Holzfeld	34	ZR
9860	2-2	6	Holzfeld	34	ZR

8 Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsvorhaben

In dieser Arbeit wurde der Rübenfäuleerreger *R. solani* charakterisiert und Ansätze zu seiner Bekämpfung erarbeitet. Es stellte sich heraus, daß innerhalb einer Befallsfläche eine homogene Population des Erregers vorliegt. Diese kann jedoch nicht in ihrer Entwicklung verfolgt werden, da Methoden zur Untersuchung von Bodenproben bisher wenig erfolgreich sind. Die Entwicklung spezifischer DNA-Sonden oder alternativ serologischer Verfahren, könnte nicht nur eine genaue Bestimmung des Inokulumpotentials im Boden ermöglichen, sondern auch Aufschluß über die sprunghaft angestiegene Bedeutung des Rübenpathogens geben. Zudem ist die Kenntnis der Bodenpopulation, zusammen mit klimatischen und pflanzenbaulichen Daten, Voraussetzung für die Einschätzung möglicher Schäden.

Aus den Beobachtungen der vergangenen Jahre, aber auch im Rahmen zunehmender überbetrieblicher Beerntung von Flächen und damit Verschleppung des Erregers, läßt sich der Schluß ziehen, daß die späte Rübenfäule ein zunehmendes Problem sein wird. Ohne Kenntnis des Pathogentypen im Boden und dessen Populationsentwicklung können Bekämpfungsverfahren nur präventiv und möglicherweise unnötig sein.

9 Liste über Veröffentlichungen

ZENS, I. & DEHNE, H.-W., 1997. *Rhizoctonia solani* on sugar beet – differentiation and biological characterisation. In: Proceedings of the 49th International symposium on crop protection, Gent, Belgium, 6th May, 1997, Part IV. Mededelingen Faculteit Landbouwkundigen toegepaste biologische wetenschappen, Universiteit Gent 1997, 62; 919-927.

ZENS, I. & DEHNE, H.W., 1999. *Rhizoctonia solani* on sugar beet – differentiation and control. In: Modern fungicides and antifungal compounds II. 12th International Reinhardtbrunn symposium May 24th –29th 1998. Lyr, H., Russell, P.E., Dehne, H.-W. & Sisler, H.D., eds., Intercept, Andover, 179-185.

ZENS, I. & HEUPEL, M., 1998. Auch im Rheinland immer häufiger *Rhizoctonia*-Rübenfäule. LZ, 36: 33-34.

ZENS, I. & HEUPEL, M., 1999. Läßt sich Rübenfäule bald bekämpfen? Top Agrar, 3: 76-77.

ZENS, I., 1998. *Rhizoctonia solani* op suikerbiet in Duitsland. Mededelingsblad van de Koninklijke Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging. Gewasbeschermings, 29 (2), 62.

ZENS, I., 1999. Späte Rübenfäule schlägt aggressiv zu. DLZ Agrarmagazin, 3: 58-62.

10 Liste über Vorträge

Beratertagung 1999, Roettgen, Die späte Rübenfäule.

DPG-Arbeitskreis Mykologie 1998, Konstanz. AG 2-2 - Die späte Rübenfäule und Möglichkeiten zur Kontrolle.

DPG-Arbeitskreis Mykologie, 1997, Kiel. *Rhizoctonia solani* – Die späte Rübenfäule und Differenzierung des Pathogen.

International symposium on crop protection, 1997, Gent. *Rhizoctonia solani* on sugar beet – differentiation and biological characterisation.

IPO-DLO. Workgroup *Rhizoctonia* 1998, *Rhizoctonia solani* op suikerbiet in Duitsland.

Wissenschaftliche Jahrestagung des Instituts für Pflanzenkrankheiten 1997, 1998.

11 Liste über Posterpräsentationen

DLG-Feldtage 1998.

Pflanzenschutztagung 1998

RCG-Münster 1998.

Reinhardsbrunn, 1998.

Schwerpunkt USL 1997, 1999.

12 Kurzfassung

Die späte Rübenfäule ist eine Krankheit, die zunächst als regional verstärkt in Nordrhein-Westfalen auftretendes, inzwischen aber als bundesweites Problem erkannt wurde. Zunehmend wurde in den vergangenen Jahren von großflächigen Pflanzenausfällen berichtet.

Rhizoctonia solani, der Erreger der Rübenfäule, ist ein weltweit vorkommendes und extrem vielfältiges Pathogen, das in zahlreichen Biotypen auftritt. Der Erreger wurde der Anastomosegruppe AG 2-2 zugeordnet. Diese konnte auch schon im frühen Wachstumsstadium der Zuckerrübe isoliert werden. Die Anastomosegruppe gibt in einem gewissen Umfang Auskunft über den Wirtspflanzenkreis des Pathogen. Ein typisches Pathogen an der Kartoffel ist beispielsweise die AG 3. Bei dem Erreger von Keimlingsfäulen handelt es sich meist um die AG 4. Das Rübenpathogen AG 2-2 kann unterteilt werden in die AG 2-2IIIB, ein 'Gramineen-Pathogen', und die AG 2-2IV, aus der Literatur bekannt als 'Chenopodiaceen-Typ'. Die Untersuchung des in Deutschland vorkommenden Fäuleerregers mittels RAPD-PCR ergab, daß dieser nochmals in weitere Untergruppen unterteilt werden kann. Davon konnte die Mehrzahl dem 'Gramineen-Pathogen' zugeordnet werden. Das 'Zuckerrüben-Pathogen' wurde in stark betroffenen Befallsgebieten weniger häufig isoliert.

Unterstützt wurde die Bedeutung des Vorkommens unterschiedlicher Typen durch deren biologische Eigenschaften. Sie unterschieden sich nicht nur in ihrer Temperaturltoleranz, sondern auch Fungizidsensitivität und insbesondere in ihrer Virulenz. Der Typ 4 reagierte sehr tolerant auf hohe Temperaturen und sensibler auf Fungizide. Auch nach Anwendung des Wirkstoffes Pencycuron, dessen Effekt gegenüber unterschiedlichen Anastomosegruppen von 'nicht' bis hin zu 'sehr gut wirksam' reicht, konnte eine Differenzierung der Typen beobachtet werden. Auf einer einzelnen Befallsfläche wurde trotz räumlich entfernter Befallsnester in nahezu allen Fällen eine sehr homogene Population, bestehend aus einem einzelnen Pathotypen, nachgewiesen. Entweder hatte der vorherrschende Typ, andere Formen verdrängt, oder diese kamen in nur so geringen Mengen vor, daß ein Nachweis nicht möglich war. Zudem konnte in mehreren Fällen beobachtet werden, daß der Pathotyp, der die Fläche besiedelt hatte, über mehrere Jahre unverändert blieb.

Die verschiedenen Typen traten nicht nur auf unterschiedlichen Flächen, sondern auch in unterschiedlichen Regionen Deutschlands und auch in den Niederlanden auf. Geographische Entfernung war also nicht gleichbedeutend mit dem Vorkommen einer unbekannten Population von *R. solani*. Vielmehr ließen sich auch entfernte Standorte aufgrund pflanzenbaulicher Daten in Gruppen einteilen. So trat bei einem hohen Maisanteil in der Fruchtfolge verstärkt der Pathotyp 4 auf. Dieser in Minireis an Zuckerrübensämlingen als besonders aggressiv eingestufte Typ verursachte auch im Feld die stärksten Schäden. Andererseits konnte in Zuckerrüben-Weizen-Fruchtfolgen häufiger das 'Rübenpathogen' Typ 1 isoliert werden, welches in der Mehrzahl der Fälle begrenzte Nester mit einem Umfang von weniger als 10 Prozent der Gesamtfläche hervorrief.

Die Rübenfäule tritt häufig in nicht bekämpfungswürdigen kleinen Nestern auf, die leicht übersehen werden. *Rhizoctonia solani* besitzt allerdings ein großes Schadpotential. Das Vorkommen unterschiedlicher Pathotypen ist für Bekämpfungsverfahren problematisch. So ist vorstellbar, daß auch quantitativ resistente Zuckerrübensorten bei Vorkommen eines neuen Pathotypen weniger effektiv sind. In dieser Arbeit wurde die Möglichkeit einer Bekämpfung mit dem Antagonisten 'FZB24' und unterschiedlichen Fungiziden erprobt. Spritzbehandlungen erbrachten nur mit hohen Aufwandmengen einen Teil-Bekämpfungserfolg. Da die Population von *R. solani* auf einer Fläche bisher quantitativ nicht genau bestimmt werden kann, ist anstelle der Spritzung eine Saatgutbehandlung mit einer wesentlich geringeren Aufwandmenge des Fungizids sinnvoll. Die befallsreduzierende Wirkung von Saatgutbehandlungen ließ sich bis zur Ernte der Zuckerrübe nachweisen. Besonders wirksam waren Kombinationen von Fungiziden und dem Antagonisten 'FZB24'. Eine gezielte Bandbehandlung des Bodens in wenigen Zentimetern Tiefe war ebenfalls erfolgreich.

Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten der Rübenfäule ist häufig mit pflanzenbaulichen Parametern wie Bodenverdichtungen oder dem häufigen Anbau von Wirtspflanzen vorgegeben. Dennoch existieren eine Reihe von Flächen, auf denen die Befallsbedingungen gegeben sind, *Rhizoctonia solani* jedoch keine sichtbaren Schäden hervorruft. Da es sich um ein ubiquitär vorkommendes Pathogen handelt, müssen Verfahren entwickelt werden, die genaue Mengen von Vermehrungseinheiten des Erregers im Boden nachweisen können und damit eine Entscheidung über die Anwendung von Bekämpfungsmaßnahmen erleichtern.