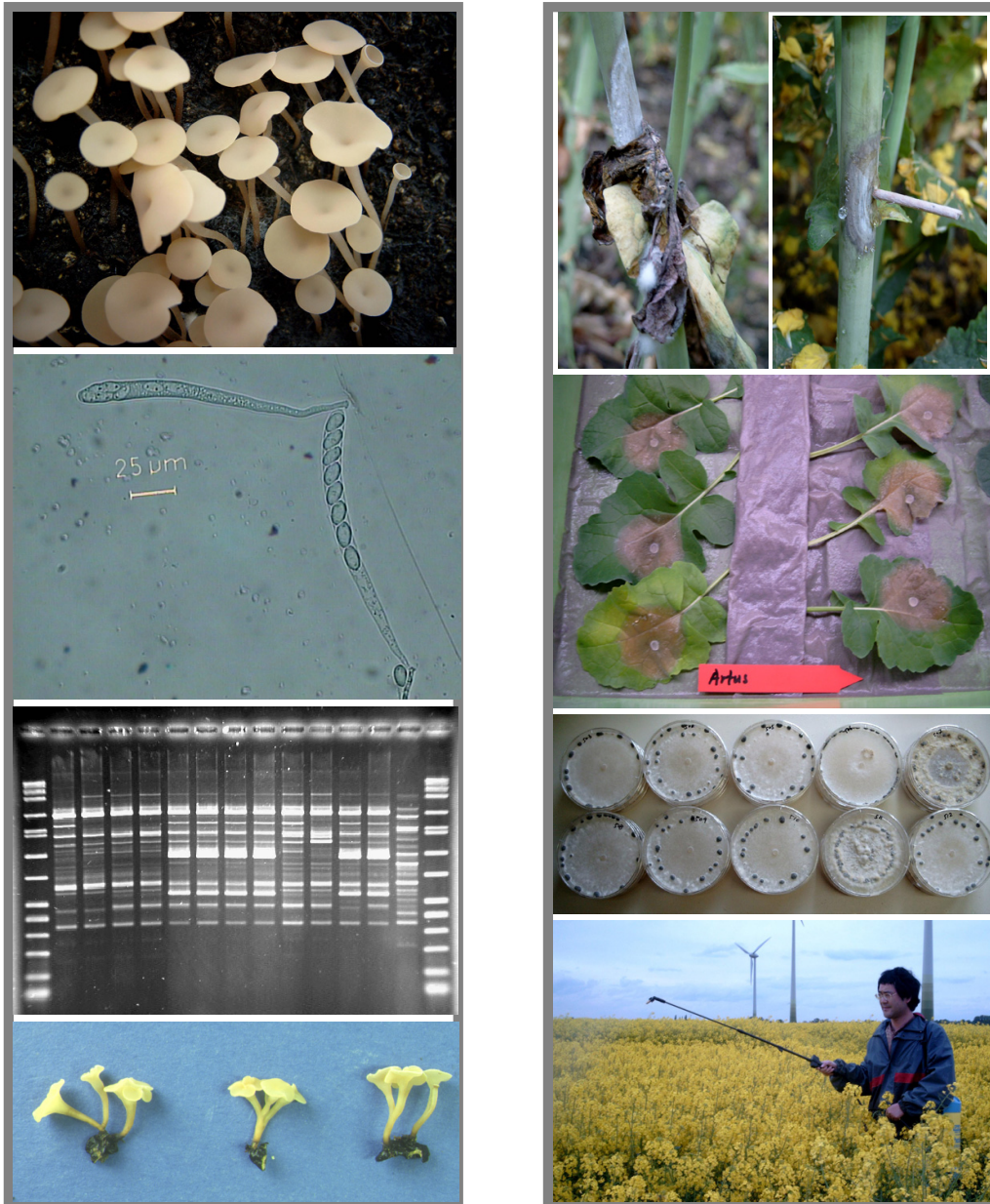


Untersuchung der Variabilität von *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary,
dem Erreger der Weißstängeligkeit an Raps (*Brassica napus* L.) unter
besonderer Berücksichtigung von Infektionsbiologie, Sortenreaktionen
und gezielten Bekämpfungsmaßnahmen



Yong Liu

Aus dem Institut für Phytomedizin
Universität Hohenheim
Fachgebiet: Phytopathologie
Prof. Dr. H. Buchenauer

**Untersuchung der Variabilität von *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary,
dem Erreger der Weißstängeligkeit an Raps (*Brassica napus* L.) unter
besonderer Berücksichtigung von Infektionsbiologie, Sortenreaktionen und
gezielten Bekämpfungsmaßnahmen**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Agrarwissenschaften

Vorgelegt
der Fakultät Agrarwissenschaften

von

Yong Liu

aus Chengdu, VR China

2004

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2005
Zugl.: Hohenheim, Univ., Diss., 2004
ISBN 3-86537-407-7

D 100

Die vorliegende Arbeit wurde am 13. Dezember 2004 von der Fakultät Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften“ angenommen.

Tag der mündlichen Abschlussprüfung: 21. Dezember 2004

Dekan: Prof. Dr. K. Stahr
Berichterstatter 1. Prüfer: Prof. Dr. H. Buchenauer
Mitberichterstatter 2. Prüfer: Prof. Dr. W. Claupein
3. Prüfer: Prof. Dr. H. H. Geiger
4. Prüfer: Prof. Dr. V. H. Paul

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2005
Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen
Telefon: 0551-54724-0
Telefax: 0551-54724-21
www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2005
Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-86537-407-7

Veröffentlichungen im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit:

1. Liu, Y., Jiang, L.C., Paul, V.H., Dapprich, P., 2004. Untersuchungen zur Variabilität der Toleranz von 61 verschiedenen chinesischen Rapssorten von *Brassica napus* gegen Weißstängeligkeit (*Sclerotinia sclerotiorum*). Mitt. Biol. Bundsanst. Land- Forstwirtschaft. 396. Berlin P. 408.
2. Liu, Y., Henneken, M., Föllner, I., Paul, V.H. 2002. Investigation on the effects of Metconazol on chosen oilseed rape diseases under controlled conditions. IOBC, WPRS Bulletin 25 (2): 77-85.
3. Liu Y., Liu, H.Y., Niu, Y.Z., Paul, V.H. 2002. Studies on the virulence of *Sclerotinia sclerotiorum* and the resistance of *Brassica napus*. Mitt. Biol. Bundsanst. Land- Forstwirtschaft. 377. Berlin. P. 89.
4. Liu, Y., Liu, H.Y., Niu, Y., Föllner, I., Paul, V.H. 2002. First results of resistance of different oilseed rape breeding materials against stem rot, stem canker and downy mildew, Mitt. Biol. Bundsanst. Land- Forstwirtschaft. 377. Berlin. 353.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	11
1 Einleitung	12
1.1 Wirtschaftliche Bedeutung des Rapsanbaus.....	12
1.2 Wirtschaftliche Bedeutung und Verbreitung von <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary.....	13
1.3 Biologie	14
1.3.1 Lebenszyklus	16
1.3.2 Pathogenese	18
1.4 Resistenzsituation	22
1.5 Bekämpfungsmaßnahmen	23
1.6 Problemstellung	24
2 Material und Methoden	25
2.1 Erregersammlung und Isolationsmethoden.....	25
2.1.1 Erregersammlung	25
2.1.2 Isolierung des Erregers	26
2.1.2.1 Isolierung aus Sclerotien.....	26
2.1.2.2 Isolierung aus befallenen Rapspflanzen.....	26
2.1.3 Kulturbedingungen des Erregers	27
2.1.4 Herstellung der Einsporenlinien	27
2.2 Anzucht der Rapspflanzen für Laboruntersuchungen.....	27
2.3 Untersuchungen der Infektionsbiologie von <i>S. sclerotiorum</i>	28
2.3.1 Inokulationsmethode	28
2.3.1.1 Herstellung der Mycelstücke	28
2.3.1.2 Herstellung der Mycelsuspension	29
2.3.1.3 Herstellung der Ascosporensuspension	29
2.3.1.4 Herstellung des Inokulums mit <i>S. sclerotiorum</i> infizierten gehäckselten Rapspflanzen.....	29
2.3.1.5 Herstellung mycelbewachsener Zahnstocher	30
2.3.2 Herstellung der Pflanzenmaterialien.....	30
2.3.2.1 Herstellung der Rapsblätter für die Inokulation.....	30
2.3.2.2 Vorbereitung der Rapsauptriebe und Seitentriebe aus dem Feld für Inokulationen im Labor.....	30
2.3.3 Inokulationsmethode im Labor.....	31
2.3.3.1 Inokulation des Laubblattes mit Mycelstück	32
2.3.3.2 Inokulation des Laubblattes mit Mycelsuspension	32
2.3.3.3 Inokulation des Laubblattes mit Ascosporensuspension.....	32
2.3.3.4 Inokulation der Rapsauptriebe und Seitentriebe	32
2.3.3.5 Untersuchung zur korrelativen Übereinstimmung	32
2.3.4 Kultivierung der inokulierten Pflanzenteile.....	32
2.3.5 Bonitur des Befalls	33
2.3.6 Inokulationen im Feld.....	33
2.3.6.1 Inokulation der Rapsstängel mit Zahnstochern.....	33
2.3.6.2 Inokulation mit Ascosporensuspension	34
2.3.6.3 Inokulation mit <i>S. sclerotiorum</i> infizierten gehäckselten Rapspflanzen im Feld.....	34
2.3.6.4. Bonitur	34
2.4 Untersuchung der Variabilität von <i>S. sclerotiorum</i> -Herkünften	34
2.4.1 Morphologie	34
2.4.1.1 Geschwindigkeit des Mycelwachstums und der Sclerotienbildung in vitro	34
2.4.1.2 Keimung der Sclerotien und Induktion der Apothecien.....	35
2.4.1.3 Bonitur der Keimung von Sclerotien und des Erscheinens der Apothecien verschiedener Herkünfte	36
2.4.2 Pathogenität	36
2.4.2.1 Labor-Blatttest	36
2.4.2.2 Feld-Pflanzenentest	36
2.4.3 Genomuntersuchungen	36
2.4.3.1 Gewinnung des Pilzmycels	36

Inhaltsverzeichnis

2.4.3.2 Puffer und Lösungen.....	37
2.4.3.3 DNA-Extraktion.....	37
2.4.3.4 Bestimmung der Qualität und Quantität der extrahierten DNA.....	38
2.4.3.5 Polymerasekettenreaktion (PCR).....	38
2.4.3.5.1 PCR-Programm.....	39
2.4.3.6 Agarosegelelektrophorese.....	40
2.4.3.6.1 DNA-Färbung.....	41
2.4.3.6.2 Dokumentation und Auswertung der Nukleinsäuregele.....	41
2.5 Untersuchung der Rapssorten und Zuchtlinien.....	42
2.6 Untersuchungen der Hemmwirkung von Rapsfungiziden gegen <i>S. sclerotiorum</i> unter kontrollierten Bedingungen.....	42
2.6.1 Mycelwachstums-Test.....	42
2.6.2 Ascosporen -Keimtest.....	43
2.6.3 Untersuchung zur protektiven und kurativen Wirkung der Fungizide auf Weißstängeligkeit in der Klimakammer:.....	43
2.7 Untersuchung zur Wirkung des parasitischen Pilzes <i>Coniothyrium minitans</i> unter kontrollierten Bedingungen und im Feld.....	44
2.7.1 Dualkultur-Mycelwachstumstest.....	44
2.7.2 Sclerotien-Test.....	45
2.7.3 Untersuchung der Wirkung von <i>C. minitans</i> auf die Keimung von <i>Sclerotinia</i> -Sclerotien im Feld.....	45
2.8 Feldversuche.....	45
2.8.1 Versuchsstandort.....	45
2.8.2 Untersuchung zu Erregervariabilität und Sortenreaktion.....	45
2.8.3 Untersuchung der Anfälligkeit von 14 Rapssorten.....	45
2.9 Untersuchungen zur Wirkung von Fungiziden auf Weißstängeligkeit und Ertrag im Feld.....	46
2.9.1 Feldversuch I im Versuchsjahr 1999/2000.....	46
2.9.1.1 Bonituren im Feld.....	47
2.9.1.2 Bonituren im Labor.....	48
2.9.2 Feldversuch II im Versuchsjahr 2000/2001.....	48
2.9.3 Feldversuch III im Versuchsjahr 2001/2002.....	49
2.9.4 Feldversuch IV im Versuchsjahr 2002/2003.....	51
2.10 Statistische Auswertung der Daten.....	53
3 Ergebnisse.....	54
3.1 Variabilität.....	54
3.1.1 Infektionsbiologie.....	54
3.1.1.1 Optimierung des Inokulums.....	55
3.1.2 Charakterisierung der unterschiedlichen <i>Sclerotinia</i> -Herkünfte.....	56
3.1.2.1 Morphologische Charakterisierung auf PDA.....	56
3.1.2.2 Keimung der Sklerotien und Bildung der Apothecien.....	59
3.1.3 Variabilität verschiedener <i>Sclerotinia</i> -Herkünfte.....	65
3.1.4 Genomuntersuchungen an <i>Sclerotinia</i> -Herkünften:.....	69
3.1.4.1 PCR-Optimierung.....	69
3.1.4.2 Untersuchte Herkünfte und verwendete Primer.....	70
3.1.4.3 Ergebnisse der einzelnen Primer.....	71
3.1.4.3.1 Primer ABA 10.....	73
3.1.4.4 Dendrogramm aus den RAPD-Untersuchungen.....	74
3.2 Sortenreaktionen verschiedener Rapssorten.....	76
3.2.1 Klimakammerergebnisse.....	76
3.2.2 Felddaten.....	79
3.3 Untersuchung zur Wirkung von Cantus, Caramba und Folicur auf den Erreger der Weißstängeligkeit.....	80
3.3.1 Hemmwirkung auf die Keimung der Ascosporen und das Wachstum des Mycels.....	81
3.3.1.1 Hemmwirkung auf die Keimung der Ascosporen.....	81
3.3.1.2 Hemmwirkung auf das Wachstum des Mycels.....	82
3.3.2 Klimakammeruntersuchungen zur protektiven und kurativen Wirkung von Cantus, Caramba und Folicur gegen Weißstängeligkeit.....	84
3.3.2.1 Protektive Wirkung.....	84

Inhaltsverzeichnis

3.3.2.2 Kurative Wirkung	85
3.3.2.3 Protektive und kurative Wirkung vor bzw. nach Ascosporeninokulation.....	85
3.4 Untersuchungen zu biologischen Bekämpfungsmaßnahmen gegen den Erreger der Weißstängeligkeit.	86
3.4.1 Wirkung von <i>Coniothyrium minitans</i> auf Mycelwachstum und Keimung von <i>S. sclerotiorum</i> im Labor	86
3.4.2 Wirkung der Rapsfungiziden auf das Wachstum von <i>Coniothyrium minitans</i>	87
3.4.3 Bekämpfungsmöglichkeit der Weißstängeligkeit mit <i>Coniothyrium minitans</i> durch Verhinderung der Bildung von Apothecien im Feld:	88
3.5 Felduntersuchungen: Anbaujahre 1999/2000, 2000/2001, 2001/2002 und 2002/2003	89
3.5.1 Ergebnisse im Anbaujahr 1999/2000.....	89
3.5.1.1 Bonitur zur Rapsblüte	89
3.5.1.2 Bonitur zur Schotenbildung	89
3.5.1.3 Bonitur zur Schotenbildung nach Sturm	90
3.5.1.4 Bonitur vor Ernte	91
3.5.1.5 Ertragsdaten des Anbausjahres 1999/2000	94
3.5.2 Ergebnisse im Anbaujahr 2000/2001.....	94
3.5.2.1 Bonitur zur Rapsblüte	94
3.5.2.2 Bonitur zur Milchreife	94
3.5.2.3 Bonitur vor der Ernte	95
3.5.2.4 Ertragsdaten des Anbausjahres 2000/2001	96
3.5.3 Ergebnisse in Anbaujahr 2001/2002.....	96
3.5.3.1 Bonitur zum Blütebeginn.....	96
3.5.3.2 Bonitur zur Rapsblüte (BBCH 65/67).....	97
3.5.3.3 Bonitur auf Weißstängeligkeit vor der Ernte nach Zahnstocherinokulation	98
3.5.3.4 Bonitur vor der Ernte	99
3.5.3.5 Ertragsdaten des Anbausjahres 2001/2002	103
3.5.4 Ergebnisse in Anbaujahr 2002/2003.....	103
3.5.4.1 Bonitur zu Blühbeginn (BBCH 60-63, 24.04.03)	103
3.5.4.2 Bonitur in Rapsblüte (BBCH 68-71, 15-23.05.03)	103
3.5.4.3 Bonitur vor Ernte (BBCH 92-97, 14.-15.07.03)	104
3.5.4.4 Ertragsdaten des Anbausjahres 2002/2003	105
3.5.4.5 Stoppelbonitur nach der Ernte (16.-17.08.03).....	106
4 Diskussion.....	108
4.1 Prüfmethode zur Beurteilung von Rapssorten und –Zuchtmaterial	108
4.2 Variabilität	110
4.2.1 Morphologie verschiedener <i>Sclerotinia</i> -Herkünfte	110
4.2.2 Infektion und Aggressivität der <i>Sclerotinia</i> -Herkünfte	113
4.2.3 Genomuntersuchungen verschiedener <i>Sclerotinia</i> -Herkünfte	115
4.3 Sortenreaktion von Winterraps auf den Befall von Weißstängeligkeit	117
4.4 Bekämpfung von Weißstängeligkeit mit Fungiziden.....	118
4.4.1 Hemmwirkung der Fungizide auf das Mycelwachstum von <i>S. sclerotiorum</i> in vitro.....	118
4.4.2 Hemmwirkung der Fungizide auf <i>S. sclerotiorum</i> im DLT	121
4.4.3 Bekämpfung von Weißstängeligkeit im Feldversuch	122
4.4.4 Biologische Bekämpfung der Weißstängeligkeit.....	125
5 Zusammenfassung.....	128
6 Summery	131
7 Literatur	134
8 Anhang.....	144
8.1 Verwendete Kulturmedien	144
8.2 Übersicht der verwendeten Winterrapssorten	144
8.3 Ergebnisse der Photometrischen DNA-Messung.....	147
8.4 Einzelergebnisse der Primer	149

Inhaltsverzeichnis

8.5 Feldversuchsunterlagen	156
8.6 Wetterdatei Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2000-2003	162
Danksagung	165
Erklärung.....	168

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Taxonomie des Erregers <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	14
Tab. 2: Übersicht über die verwendeten <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>S. minor</i> und <i>S. trifoliorum</i> - Herkünfte in 1999 bis 2003	25
Tab. 3: Behandlungsschema für die Oberflächensterilisierung.....	26
Tab. 4: Für die Genomuntersuchungen verwendete Puffer und Lösungen	37
Tab. 5: Reaktionsansatz (Stoffe und Konzentrationen) für die PCR.....	39
Tab.6: Basensequenz der eingesetzten Primer (Biomol Primer Kit for RAPD's, Kit A No: 52611).....	39
Tab. 7: Verwendete Temperaturen im Bereich von 32 bis 40 °C bei der Optimierung der PCR.....	40
Tab. 8: Verwendetes Temperaturprofil für die PCR.....	40
Tab. 9: Verwendete Wirkstoffkonzentration auf Wirkstoffbasis zur Prüfung der Hemmung des Mycelwachstums von <i>S. sclerotiorum</i>	42
Tab. 10: Versuchsaufbau zue Prüfung der protektiven und kurativen Wirkung der Fungizide gegenüber <i>S. sclerotiorum</i> im Blatttest (DLT).....	44
Tab. 11: Verwendete Winterrapsorten in 2001/2002.....	46
Tab. 12: Boniturschema zur Bewertung des Weißstängeligkeitbefalls von Pflanzen im Feld	46
Tab. 13: Aufwandmengen und Applikationstermine der Fungizide Caramba und Folicur in den Versuchsjahren 1999/2000 und 2000/2001	47
Tab. 14: Boniturtermine, Feld- und Laborbonituren sowie Termine der Fungizidmaßnahmen (1999/2000)	47
Tab. 15: Boniturtermine, Feldbonituren und der Laborbonituren sowie die Termine der Fungizidmaßnahmen in 2000/2001	49
Tab. 16: Versuchsanlage und Behandlungszeitpunkte im Versuchsjahr 2001/2002.....	50
Tab. 17: Aufwandmengen und Applikationstermine der Versuche in 2001/2002	50
Tab. 18: Boniturtermine, Feldbonituren und Laborbonituren sowie Termine der Fungizidmaßnahmen in 2001/2002	51
Tab. 19: Verwendeten Saatgutbeizen im Feldversuch 2002/2003	51
Tab. 20: Fungizide und Behandlungszeitpunkte im Versuchsjahr 2002/2003	52
Tab. 21: Fungizideaufwandmengen und Applikationstermine im Versuchsjahr 2002/2003	52
Tab. 22: Bonituren und Behandlungen im Versuchsjahr 2002/2003	52
Tab. 23: Mycelwachstum und Sclerotienbildung von 46 Herkünften (bei 23°C)	57
Tab. 24: Mycelwachstum und Sclerotienbildung von 46 Herkünften (bei 15°C)	58
Tab. 25: Mycelwachstum und Sclerotienbildung von 10 Ascosporen-Linien (bei 23°C).....	59
Tab. 26: Mycelwachstum und der Sclerotienbildung von 10 Ascosporen-Linien (bei 15°C).....	59
Tab. 27: Ergebnisse der Variabilität der Aggressivität von 24 <i>Sclerotinia</i> -Herkünften an Rapsorten Artus, Express, Zhongyou 4 und Chuanyou 18	67
Tab.28: Für die Auswertung der genomischen Untersuchung verwendeten Primer mit ihrer Basensequenzen.	71
Tab. 29. Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 10. 73	
Tab. 30 Ergebnisse der Sortenreaktion von 18 Winterrapsorten auf den <i>S. Sclerotiorum</i> -Befall im Blatttest (DLT) in der Klimakammer	77
Tab. 31: Sortenreaktion von 14 Winterrapsorten auf Weißstängeligkeit (<i>S. sclerotiorum</i>) im Feldversuch und Vergleich mit der Sortenbeschreibung (n=60).....	80
Tab. 32 Wirkung der Fungizide Cantus, Caramba und Folicur auf das Mycelwachstum der vier <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> Herkünfte M01, F504 und MZ in vitro	83
Tab. 33: Protektiv- und Kurativwirkung von Cantus, Caramba und Folicur auf den <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> -Befall im Blatttest mit den Sorten Artus, Bristol und Express in der Klimakammer vor bzw. nach Ascosporeninokulation,	86
Tab. 34: Ergebnisse der Feldbonitur zur Ende Rapsblüte (BBCH75) in 2000.....	89
Tab. 35: Ergebnisse der Laborbonitur zur Schotenbildung (BBCH75) in 2000	90
Tab. 36: Ergebnisse der Feldbonitur (BBCH80) in 2000 (nach Sturm).....	90
Tab. 37: Ergebnisse der Feldbonitur zur Rapsreife (BBCH87) in 2000.....	91
Tab. 38: Ergebnisse der Laborbonitur zur Rapsreife (BBCH87) in 2000.....	92
Tab. 39: Laborergebnisse der Schotenbonitur zur Rapsreife (BBCH87) in 2000	93
Tab. 40: Ergebnisse der Feldbonitur zur Milchreife des Rapses (BBCH 71-73)	95
Tab. 41: Ergebnisse der Feldbonitur vor Ernte des Rapses (BBCH 87-89)	95

Inhaltsverzeichnis

Tab. 42: Ergebnisse der Feldbonituren zum Blühbeginn (BBCH 60/61)) 2002	96
Tab. 43: Ergebnisse der Feldbonituren zur Blüte (BBCH 65/67) 2002	97
Tab. 44: Ergebnisse der Feldbonituren vor der Ernte (BBCH 87)) 2002	99
Tab. 45: Ergebnisse der Laborbonitur vor Ernte des Rapses (BBCH 87) im 2002	101
Tab. 46: Ergebnisse der Stoppelbonituren nach Ernte 2002	102
Tab. 47: Übersicht der verwendeten Winterrapsorten	144
Tab. 48: Liste der verwendeten Winterrapszuchtlinien aus China	145
Tab. 49: Vergleich der Virulenz verschiedener <i>Sclerotinia</i> -Isolate an Rapsorten Artus, Bristol, Zhongyou 4 und Chuanyou 18 mit , n=20	145
Tab. 50: Statistische Schätzungen der Mittelwertvergleich von 4 Sorten (Läsion mm)	146
Tab. 51: Statistische Schätzungen der Mittelwertvergleich von 24 Isolat (Läsion mm)	146
Tab. 52: Statistische Schätzungen (Isolat *Sorten) der Mittelwertvergleich (Läsion mm)	146
Tab. 53: Ergebnisse der Photometrischen Messungen der extrahierten DNA	147
Tab. 54: Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 03149	149
Tab. 55: Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 04150	149
Tab. 56: Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 07151	151
Tab. 57: Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 09 152	152
Tab. 58: Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 11153	153
Tab. 59: Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 17154	154
Tab. 60: Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 18155	155
Tab. 61: Flächenvorbereitung und Variantenbeschreibung der Versuchsanlage (02/03)	156
Tab. 62: Bonitur zum Beginn der Blüte BBCH 60-63 (24.04.03)	157
Tab. 63: Bonitur zum Ende der Blüte BBCH 68-71 (15-23.05.03)	158
Tab. 64: Bestandesbonitur vor Ernte BBCH 92-97 (14-15.07.03)	159
Tab. 65: Ertrag in dt/ha und auf 91% Trockenmasse umgerechnet	160
Tab. 66: Überblick über die Ergebnisse der Stoppelbonitur nach der Ernte (pro Parzelle)	160

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Asci mit 8 Ascosporen (3, 4) und Apothecium im Labor (2) und Feld (1)	15
Abb. 2: Weißstängeligkeit: Symptome am Blatt (8), Stängel (1-5) und Schoten (6,7), Sclerotien im und auf dem Stängel (1,5). An den befallenen Rapsorganen (Blatt, Schote und Stängel) zeigt sich äußerlich weißes Pilzmycel (rote Pfeile) und Sclerotien (weiße Pfeile)	15
Abb. 3: Zyklus von <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , dem Erreger der Weißstängeligkeit an <i>Brassica napus</i> (Paul, 2003)..	17
Abb. 4: Anzucht der Rapspflanzen für Blatttests im Gewächshaus (vor dem Abschneiden)	28
Abb. 5: Inokulation mit Mycelscheibchen (l), Mycelsuspension (m) und Ascosporensuspension (r)	31
Abb. 6: Inokulation des Laubblattes mit Mycelsuspension(l), Mycelscheibchen(m) und Ascosporensuspension(r) .	31
Abb. 7: Inkubation der inokulierten Pflanzenteile in der Klimakammer (Ansicht)	33
Abb. 8: Vorbereitung des Inokulums (l) und die Inokulation am Stängel im Feld (r)	33
Abb. 9 Ansicht der Versuchsanlage für Untersuchungen zur Keimung und Apothecienbildung von <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> -Herküften in der Klimakammer	35
Abb. 10: Längenstandard D-7058 (Sigma) mit 16 Fragmenten	41
Abb. 11: Symptome am Laubblättern nach Inokulation mit Mycelscheibchen (1), Mycelsuspension (2) und Ascosporensuspension (3)	55
Abb. 12: Untersuchungen zur Infektion mit unterschiedlichen Inokulumsmengen (Mycelfragmente) und -Konzentrationen im Laubblatttest mit Isolat F504	55
Abb. 13.: Sclerotienbildung verschiedener Ascosporen-Isolate (links: 503-512) auf PDA in sechs Formen (rechts) 56	56
Abb. 14: Keimung von Sclerotien aus zwei unterschiedlichen Herkünfte und Kulturmedien (je 150 Sclerotien)	60
Abb. 15: Unterschiede des Keimungsverhaltens von Sclerotien und der Apothecienbildung zwischen den Herkünften MZ (1-4) und M01 (5-6) in der Klimakammer (verschiedene Nährquellen zur Produktion von Sclerotien: aus Weizen-Kultur (Herkunft MZ: 1,2,3; Herkunft M01: 4,5,6) und rechte Seite aus PDA-Kultur (MZ: 4 und M01:8)	60
Abb. 16 Unterschiede in der Keimung der Sclerotien am Beispiel der Herkunft MZ in Vermiculit und Sand als Substrat	61
Abb. 17: Apothecienbildung von 36 <i>S.sclerotiorum</i> -Herküften aus Kultur von Weizen (10°C)	62
Abb. 18: Keimung der Sclerotien und ihre Stiele (1,2,3), Apothecien (4,7,8), Ascosporen (6) und Ausschleuderung der Ascosporen (5) in der Klimakammer	62
Abb. 19: Keimung der Ascosporen und Mycelbelag (Pfeil) nach der Ausschleuderung	63
Abb. 20: Apothecienbildung von Sclerotien unterschiedlicher Herkünfte und Kulturmedien	63
Abb. 21. Unterschiedliche Entwicklungsstadien von Ascosporen in verschiedenen Asci (Blauer Pfeil: nicht reif, Roter Pfeil: reife Ascosporen in Ascus)	64
Abb. 22 Belag von gesammelten Ascosporen auf dem Filterpapier (pink Farbe)	64

Inhaltsverzeichnis

Abb. 23 Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolaten von <i>S. sclerotiorum</i> M05 (l) und Ya (r) im Blatttest mit Mycelsuspension an Sorte No.5 (6 dpi)	65
Abb. 24 Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolaten von <i>S. sclerotiorum</i> M05 (l), Ya(m) und M01 (r) im Blatttest mit Mycelsuspension an Sorte No.10 (6 dpi)	66
Abb. 25 Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolaten von <i>S. sclerotiorum</i> M99 (l) und M01 (r) im Blatttest mit Mycelscheibchen an der Sorte Express (beide Isolate aus Versuchsgut Merklingsen) 6dpi	66
Abb. 26 Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolaten von <i>S. sclerotiorum</i> 507 (l) und 510 (r) im Blatttest mit gleicher Herkunft, aber von unterschiedlichen Ascosporenlinsen an der Sorte Express, 6 dpi	66
Abb. 27. Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolaten von <i>S. sclerotiorum</i> Ya (l), CD (m) und MZ (r) im Blatttest an der Sorte Express, 6 dpi (Isolaten stammen aus unterschiedlichen Rapsanbaugeschichten den Isolaten von <i>S. sclerotiorum</i> eten (geringerer (l), mittlerer (m) und stärkerer (r) Befall).....	66
Abb. 28: Ergebnisse der Aggressivitätsuntersuchung von 41 <i>Sclerotinia</i> -Herkünften an der Sorte Artus im Blatttest (Klimakammer, n=20, 4 dpi (GD5% = 4,7).....	67
Abb. 29: Ergebnisse der Aggressivitätsuntersuchung von 41 <i>Sclerotinia</i> -Herkünfte an der Sorte Zhongyou 4 im Blatttest.....	68
Abb. 30 Stängelsymptome nach Zahnstocherinjektion durch zwei verschiedenen <i>S.sclerotiorum</i> -Herkünfte. l: M01, r: 266 (rot Pfeil)	68
Abb. 31 Symptomausprägungen und Läsionslänge am Stängel 14 dpi (l) und 28 dpi (m) nach Zahnstocherinjektion und natürlichem Befall im Feld (r)	68
Abb. 32 Ergebnisse der Aggressivitätsuntersuchungen verschiedener <i>Sclerotinia</i> -Herkünfte an den Rapsorten Artus (gelb) und Express (blau) nach Zahnstocherinjektion an Rapsauptstängeln im Feldversuch 2002	69
Abb. 33: Gelelektrophorese einer Temperaturgradienten-PCR mit <i>S. sclerotiorum</i> -Herkunft 506 und Primer ABA 10.	70
Abb.34: PCR von <i>Sclerotinia</i> -Herkünften und Kontrollen mit Primer ABA 10. Fotomontage aus vier Gelen.	72
Abb. 35. : Schematisiertes Gel des Primers ABA 10. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.	73
Abb. 36: Dendrogramm berechnet aus den Ergebnissen der RAPD-PCR-Untersuchungen von 41 <i>Sclerotinia</i> Herkünften mit 8 Primern und 213 Merkmalen. <i>S.t.</i> = <i>Sclerotinia trifoliorum</i> , <i>S.m.</i> = <i>Sclerotinia minor</i> , <i>F</i> = <i>Fusarium sp.</i> Zur Berechnung wurde Treecon 1.2 verwendet (Clusteranalyse, UPGMA).	75
Abb. 37: Ergebnisse der Sortenreaktion von 73 Winterrapssorten/-linien auf <i>S. Sclerotiorum</i> -Befall auf der Basis von Läsionsgrößen im Blatttest (DLT).....	76
Abb. 38 Ergebnisse der Sortenreaktion von 18 Winterrapssorten auf den <i>S. Sclerotiorum</i> -Befall im Blatttest (DLT)	78
Abb. 39: Reaktion der Sorte Artus (weiß) und Express (schwarz) auf den Befall von Isolat M01 und Isolat MZ im Blatttest nach Inokulation mit Mycelscheibchen 5dpi bei 14°C, GD 5% = 8,7.....	78
Abb. 40 Reaktion der Sorte Artus (l) und Express (r) auf den Befall im Blatttest (3. Laubblatt) nach Inokulation mit Mycelscheibchen 5dpi bei 14°C in der Klimakammer, n=20 (Blätter aus Klimakammer).....	79
Abb. 41 Sortenreaktion von zwei Rapsorten auf den Befall durch Stängeltest mit Mycelscheibchen und Mycelsuspension 8 dpi bei 14°C, (Pflanzen aus dem Feld).....	79
Abb. 42: Reaktion von 14 Winterrapssorten auf Weißstängeligkeit (<i>S. sclerotiorum</i>) im Feldversuch Versuchsgut Merklingsen 2002 (vor Ernte)	80
Abb. 43: Wirkung von Cantus (Ct), Caramba (C) und Folicur (F) in verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen auf die Keimung der Ascosporen von <i>S. sclerotiorum</i> (n=3), (24 h nach der Keimung, GD 5% = 16,4, GD 1% = 21,9).....	81
Abb. 44 Wirkung der Fungizide Cantus, Caramba und Folicur auf die Ascosporenkeimung von <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Inkubationsdauer 20 h)	82
Abb. 45. Hemmwirkung von Cantus (Ct), Caramba (C) und Folicur (F) bei verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen auf das Mycelwachstum von <i>S. sclerotiorum in vitro</i> (Isolat M01, 3 dpi).....	83
Abb. 46 Hemmwirkung von Cantus (l), Caramba (m) und Folicur (r) bei verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen auf das Mycelwachstum (mm) von <i>S. sclerotiorum in vitro</i> 20 dpi.....	83
Abb. 47: Protektive Wirkung von Cantus, Caramba und Folicur auf <i>S. Sclerotiorum</i> -Befall im Blatttest in der Klimakammer. Behandlung 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Tage vor der Inokulation (Artus, n=20).....	84
Abb. 48 Protektive (l) und kurative (r) Wirkung von Cantus (h.l.), Caramba (v.l.) und Folicur (v.r.) mit vollen Konzentration drei Tage vor und nach der Inokulation	84
Abb. 49: Kurative Wirkung von Caramba, Cantus und Folicur auf den <i>S. sclerotiorum</i> -Befall im Blatttest in der Klimakammer	85
Abb. 50: Sclerotien von <i>S. sclerotiorum</i> überwachsen und parasitiert (Pfeil Bildmitte) durch <i>Coniothyrium minitans</i> (Co-kultur auf PDA).....	87
Abb. 51. Hemmwirkung von Cantus (Ct), Caramba (C) und Folicur (F) in verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen auf das Mycelwachstum (mm) von <i>C. minitans in vitro</i> 21 Tage nach Inokulation (22 °C)	87
Abb. 52: Wirkung von <i>Coniothyrium minitans</i> auf die Verhinderung der Keimung und Apothecienbildung von Sclerotien im Feld.....	88

Inhaltsverzeichnis

Abb. 53. Keimung der Sclerotien und Apothecienbildung im Feld (ohne Behandlung von <i>Coniothyrium minitans</i>) (l: 2002, r: 2003)	88
Abb. 54: Erträge des Rapsfungizidversuchs 1999/2000 (unbehandelte Kontrolle Variante 14)	94
Abb. 55 Erträge des Rapsfungizidversuchs 2000/2001 am Versuchsgut Merklingsen Uni-GH Paderborn (91% Trockengewicht), n=4	96
Abb. 56: Ergebnisse der Feldbonituren auf Weißstängeligkeit zum Zeitpunkt der Schotenbildung (BBCH 67-69) nach Inokulation mit Zahnstochern im BBCH 65	98
Abb. 57 Unterschiede in der Stängelstabilität zwischen der Kontrolle (links und vorne) mit stärker Lagerneigung und Cantus-Behandlung (rechts und hinten) (vital) vor der Ernte	100
Abb. 58 Unterschiede in der Stängelstabilität zwischen der Kontrolle (l) und Behandlung mit Cantus mit vorwiegend grünen Stopplern (v) vor der Ernte	100
Abb. 59 Unterschied der Stoppelfarbe und des Krankheitsbefalls durch <i>Phoma</i> (grau), <i>Verticillium</i> (grau oder dunkel) und <i>Sclerotinia</i> (weiß) zwischen der Kontrolle (l) und Behandlung (r)	100
Abb. 60 Erträge des Raps-Fungizidversuchs 2001/2002 am Versuchsgut Merklingsen (91% Trockengewicht), n=4	103
Abb. 61: Befall mit Weißstängeligkeit (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>) zum Ende der Blüte BBCH 68-71 in 2003; GD5%=14,2 wie dargestellt (Originalwerte Tab. 63, Anhang 8.5)	104
Abb. 62: Befall mit Weißstängeligkeit (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>) vor Ernte BBCH 92-97 (14.-15.07.03); GD5%=14,0 wie dargestellt (Originalwerte Tab. 64, Anhang 8.5)	105
Abb. 63: Ertrag des Feldversuchs 2002/03 umgerechnet auf 91% Restfeuchte (Ernte 16.07.03) mit GD5% _{über alles} =2,6 wie dargestellt (Tab. 65)	105
Abb. 64: Ertrag des Feldversuch 2002/03 umgerechnet auf 91% Restfeuchte (Ernte 16.07.03) mit GD5% _{Fungizide} =0,9 wie dargestellt (Tab. 65 Anhang 8.5)	106
Abb. 65: Weißstängeligkeit (<i>S. sclerotiorum</i>) (Weiße Stopplern) an Rapsstopplern nach Ernte (BBCH 92-99) (16.-17.07.03) mit GD5% = 6,1 wie dargestellt (Tab. 66, Anhang 8.5).....	107
Abb. 66: Schematisiertes Gel des Primers ABA 03. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.	149
Abb. 67: Schematisiertes Gel des Primers ABA 04. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.	150
Abb. 68: Schematisiertes Gel des Primers ABA 07. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.	151
Abb. 69: Schematisiertes Gel des Primers ABA 09. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.	152
Abb. 70: Schematisiertes Gel des Primers ABA 11. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.	153
Abb. 71: Schematisiertes Gel des Primers ABA 17. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.	154
Abb. 72: Schematisiertes Gel des Primers ABA 18. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.	155
Abb. 73. Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2000.....	162
Abb. 74. Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2001.....	162
Abb. 75. Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2002.....	163
Abb. 76. Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2003.....	163

Abkürzungsverzeichnis

Abb	Abbildung
BBCH	Rapsentwicklungsstadium (Bayer BASF Ciba-Geigy AG, Basel, 1994)
C	Caramba
Ct	Cantus
CCC	Chlormequat-Chlorid (Cycocel)
CDA	Czapek-Dox-Agar, modifiziert
dpi	day past inoculation
DLT	detached leaf test
demin.	demineralisiertes Wasser
DSV	Deutsche Saatveredelung Lippstadt-Bremen GmbH
F	Folicur
GD	Grenzdifferenz
h	Stunde
H	Hybridsorte
ha	Hektar
L	Liniensorte
min	Minute
NPZ	Norddeutschen Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG
PCR	Polymerasekettenreaktion
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
QTLs	Quantitative Trait Loci
R	Randparzelle
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
sec	Second
Tab	Tabelle
TBA	Tris-Borate-EDTA Buffer
Var	Variante

1 Einleitung

1.1 Wirtschaftliche Bedeutung des Rapsanbaus

Raps, der zu den Pflanzenarten *Brassica campestris* L., *B. juncea* und *B. napus* L. gehört, ist die wirtschaftlich wichtigste Öl- und Eiweißpflanze mit der größten Verbreitung im gemäßigten Klimabereich in der nördlichen Hemisphäre wie Deutschland, Polen, Italien, Frankreich und England, Kanada, Indien und China. In Mitteleuropa wird vornehmlich der leistungsfähige und ertragreiche Winterraps (*B. napus* L. spp.) angebaut. Es gibt keine Kulturpflanze, die in dieser kühlen und feuchten Klimazone pro Hektar Ackerfläche eine so große Menge an Öl und wertvollem Eiweiß erzeugt wie der Raps. Winterraps hat, wie kaum eine andere Kulturart, in den letzten 20 Jahren stark an Bedeutung gewonnen.

Nach Angaben des Statistischen Bundesamtes (Destatis), Wiesbaden betrug die Rapsanbaufläche in Deutschland zur Ernte 2003 1,325 Mio. ha. Wegen der Anbaumöglichkeit auf Stilllegungsflächen als nachwachsender Rohstoff (Baer, 1996, Schöpe, 2002), Verbesserung der qualitativen Sorteneigenschaften des 00-Rapsschrotes (erucasäurefreie und glucosinolfreie Rapsorten) als wertvolles Proteinfutter, der hervorragenden Vorfruchtwirkung und auch als wertvolles Fruchtfolgeglied (Saueremann, 1993; Honermeier et al., 2002) sowie weitere Verwendungsmöglichkeiten im Food- und Non-Food-Bereich haben sich die Öl-, Eiweiß- und Faserpflanzen mit zusammen 1,5 Mio. ha oder 12,5% der Ackerflächen zu einem wesentlichen ökonomischen Standbein des Ackerbaues entwickelt. Die Food- und Non-Food-Märkte für Öl- und Eiweißpflanzen und deren Produkte (Speiseöl, Margarine, Rapsschrot als Tierfutterbestandteil, Biodiesel, chemische Spezialöle etc.) sind mit einem Selbstversorgungsgrad von 27% in der EU noch aufnahmefähig (Bertram, 1999). Den Prognosen zufolge werden die Nachfrage an Rapsprodukten und die Bedeutung von Ölsaaten in der europäischen Landwirtschaft weiterhin ansteigen. Vor allem der steigende Verbrauch an Ölschroten führt in Europa, Asien und den USA zu breiteren Absatzmöglichkeiten und damit zu mittelfristig festeren Rapsnotierungen. Das sehr hochwertige Rapsspeiseöl steht vor dem Durchbruch in der Ernährungsempfehlung (Stiftung Warentest, 2003). Die Merkmale sind ein hoher Gehalt an Ölsäure, ein moderater Gehalt an Linolsäure und wenig gesättigte Fettsäuren. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGF) empfiehlt Rapsöl ebenso, wie verwandte Institutionen in der Schweiz und in Österreich. Und auch in den USA hat inzwischen ein „Run auf Raps“ begonnen (Raps, 2003). Weiterhin setzt sich die Erschließung neuer Märkte für die Nutzung als nachwachsende Rohstoffquelle zur industriellen Herstellung von Schmier- und Treibstoffen, sowie Biodiesel und chemischen Spezialölen durch.

Seit Einführung der 00-Sorten (erste erucasäurefreie und glucosinolatarme Winterrapsorte Librador im Jahr 1980) wurden die Rapsflächen in Deutschland mehr als vervierfacht. Etwa ebenso steil verlief die steigende Nachfrage nach pflanzlichen Ölen auf dem Weltmarkt.

Gute klimatische Bedingungen, hoch leistungsfähige Linien- und neuerdings Hybridsorten und an die Bedingungen angepasste Produktionstechnik und Pflanzenschutz haben dazu beigetragen, dass die Erträge kontinuierlich gesteigert werden konnten (durchschnittlicher Hektarertrag 2004: ca. 45dt/ha) und sich der Anbau von Raps in Deutschland lohnt.

1.2 Wirtschaftliche Bedeutung und Verbreitung von *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

Die Verbesserung der Ertragssicherheit ist derzeit das wichtigste Ziel in der Rapszüchtung und im Rapsanbau. Mit einer Ausbreitung und Intensivierung der Rapserzeugung in den letzten Jahren, auch in neueren Anbaugebieten, haben sich zahlreichen Pilzkrankheiten ausgebreitet (Röbbelen, 1983, Krüger, 1983; Fitt, 1992). Einer der bedeutendsten Schaderreger des Rapses ist *Sclerotinia sclerotiorum* der die Weißstängeligkeit hervorruft und in allen Winter- und Sommerrapsanbaugebieten zu finden ist (Hornig, 1983, 1984; Paul, 2003). Stärkere Schäden treten in Gebieten und in geschützten Lagen mit hoher Luftfeuchte, sog. Befallslagen, und in engen Rapsfruchtfolgen auf. Die Ertragsverluste können in einzelnen Beständen 30% und mehr sowie in China 10-80% betragen (Beijing, 1975, Priestley, 1985), sie sind zurückzuführen auf eine Verringerung der Kornzahl, der Tausendkornmasse und einen vorzeitigen Samenfall nach Aufplatzen der Schoten. In Abhängigkeit von der Frühjahrswitterung schwankt das Schadausmaß von Jahr zu Jahr und Feld zu Feld (Langbehn, 1983).

Der Schaderreger *S. sclerotiorum* zeichnet sich durch einen sehr weiten Wirtspflanzenkreis aus, und hat als polyphager Pilz seine größte Verbreitung in den feucht gemäßigten bis warmen Gebieten der Erde (Purdy, 1979; Hoffmann et al., 1983). Nach Boland (1994) gehören dem Wirtsspektrum insgesamt ca. 64 Pflanzenfamilien mit 225 Gattungen und mehr als 408 Arten an. Es umfasst von den landwirtschaftlichen Kulturen Kreuzblütler (Kruziferen), Hülsenfrüchte (*Leguminosen*), Nachtschattengewächse (*Solanaceen*), Gänsefußgewächse (*Chenopodiaceen*), Doldengewächse (*Umbelliferen*) und Korbblütler (*Kompositen*). Bei den Unkräutern und Wildkräutern tritt der Erreger u. a. an Ackerhellerkraut, Ackersenf, Ackerstiefmütterchen, Acker-Vergissmeinnicht, Amaranth, Anthemis, Großem Wegerich, Kamille, Klatsch-Mohn, Klettenlabkraut, Taubnessel, Vogelmiere, Hirtentäschelkraut, und Weißem Gänsefuß auf (Saur und Löcher, 1984).

Das genaue und endgültige Wirtspflanzenpektrum von *S. sclerotiorum* ist bis heute noch nicht erfasst, die Gesamtartenzahl liegt wesentlich höher als die Angaben von Boland (1994), wenn neben den befallenen Kulturpflanzen (Rashid, 2001) auch Unkräuter bzw. Zierpflanzen in die

Untersuchungen einbezogen werden. *S. sclerotiorum* besitzt die Fähigkeit, nahezu alle im Raps vorkommenden Unkräuter zu befallen (Saur und Löcher, 1984), teilweise sind auch Gramineen davon betroffen. Unter Gewächshaus- und Freilandbedingungen kann sogar Gerste (Saur und Löcher, 1984) befallen werden; dies könnte zur Folge haben, dass auch durch Ausfallgetreide verunkrautete Flächen, aus die Pilzübertragung von Bedeutung sind.

Das breite Wirtspflanzenspektrum zeigt deutlich, dass der Erreger nicht spezialisiert ist.

In gemäßigten Klimaten entwickelt sich der Schaderreger besonderes dann zu einem großen Problem, wenn in der Fruchtfolge zwei hochanfällige Wirtspflanzen wie Raps und Sonnenblumen, Gemüse und Raps, Kartoffeln und Raps angebaut werden.

1.3 Biologie

Die Weißstängeligkeit (engl.: Stem rot) und früher fälschlicherweise als Rapskrebs bezeichnete Krankheit wird durch den Pilz *S. sclerotiorum* hervorgerufen.

S. sclerotiorum (Lib.) De Bary (1886) gehört innerhalb der Ascomycotina in die Klasse der Discomycetes zu den apothecienbildenden Pilzen. Die taxonomische Zuordnung gibt Tab.1 wieder. In den Apothecien reifen Ascosporen in inoperculaten Ascii heran, d. h. in Ascii ohne Öffnungsmechanismus. In der Ordnung der Helotiales ist das schüsselförmige Apothecium nicht durch eine Membran verschlossen, es ist meistens gestielt auf dem Substrat angeordnet. In der Familie der *Sclerotiniaceen* spielen die Sclerotien eine wesentliche Rolle bei der langfristigen Bodenverseuchung (Hoffmann, 1983) (Abb. 1).

Tab. 1 Taxonomie des Erregers *Sclerotinia sclerotiorum*

U-Abteilung	<i>Ascomycota</i>
Klasse	<i>Discomycetes</i>
Ordnung	<i>Helotiales</i>
Familie	<i>Sclerotiniaceae</i>
Gattung	<i>Sclerotinia</i>
Art	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>

Die Ascosporen von *S. sclerotiorum* sind oval bis elliptisch, 8 bis 13µm lang und 4 bis 6,5µm breit. Sie befinden sich in den Ascii (130 bis 140 µm x 8 bis 10 µm) der Apothecien (sex. Fruchtkörper); je Ascus 8 Ascosporen (Abb. 1).

Der Pilz bildet rundliche schwarze Sclerotien (Dauerkörper) von 1 bis 5mm Durchmesser.

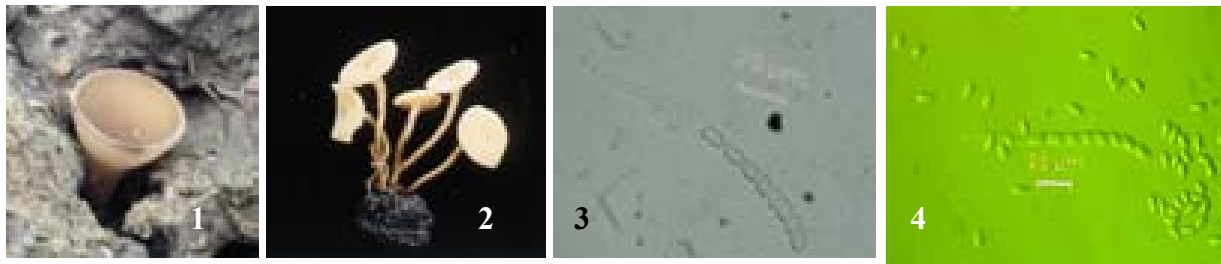


Abb. 1 Asci mit 8 Ascosporen (3, 4) und Apothecium im Labor (2) und Feld (1)

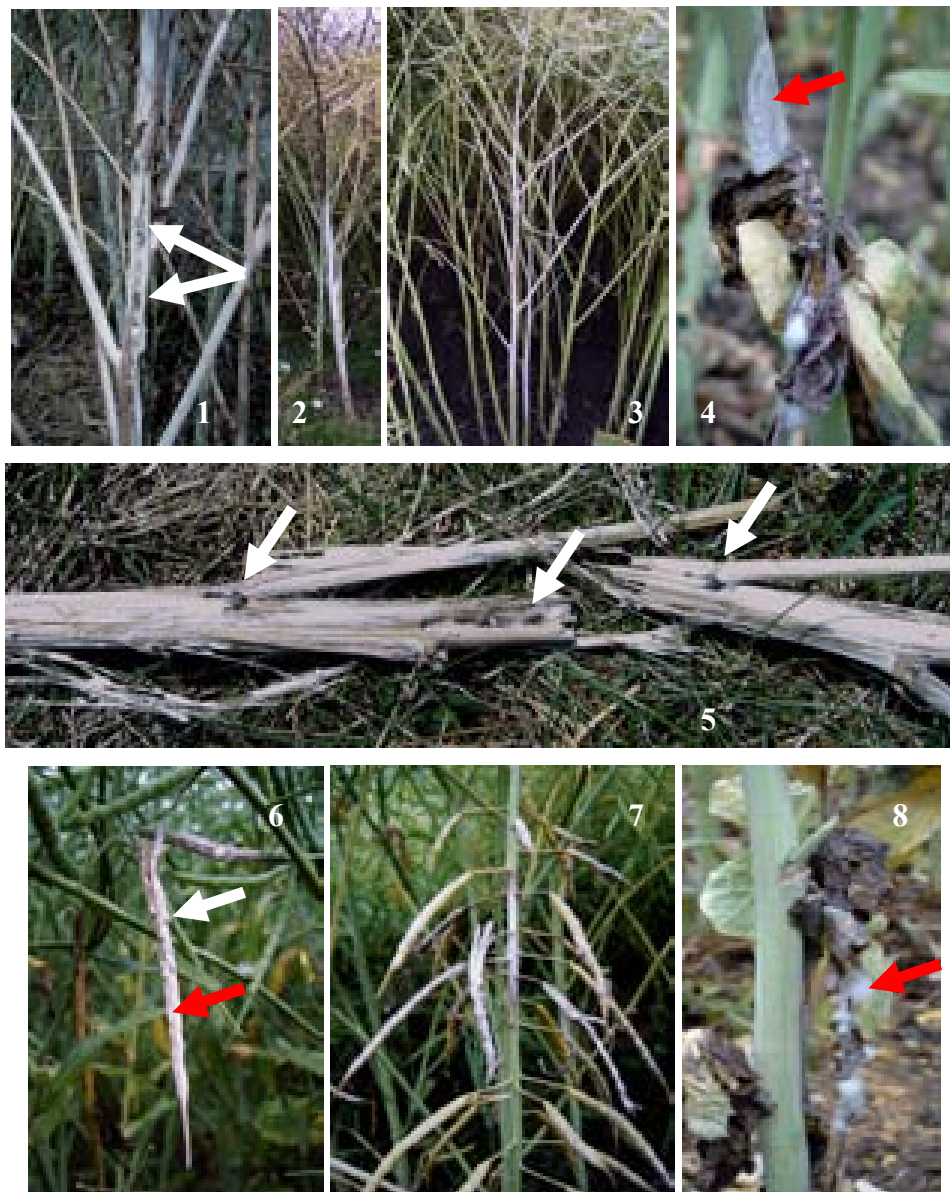


Abb. 2 Weißstängeligkeit: Symptome am Blatt (8), Stängel (1-5) und Schoten (6,7), Sclerotien im und auf dem Stängel (1,5). An den befallenen Rapsorganen (Blatt, Schote und Stängel) zeigt sich äußerlich weißes Pilzmycel (rote Pfeile) und Sclerotien (weiße Pfeile)

Die Krankheitssymptome treten meist erst nach der Rapsblüte stärker in Erscheinung (Abb. 2). Am Blatt, wird im Frühstadium um ein abgefallenes Blütenblatt ein kreisförmig unscharf begrenzter beige-grauer Fleck mit gelblicher Randzone vorzugsweise auf der unteren Hälfte der

Stängelblätter gebildet. Bei hoher Feuchte bildet sich weißliches Mycel auf dem Blatt. Weiterhin erfolgt die Ausbreitung des Flecks längs der Blattmittelrippe mit Welkeerscheinung. Am Ende ist das Blatt beige-grau verfärbt und abgestorben. Bei hoher Feuchte erscheint weißes Mycel auf der Oberfläche (Abb. 2).

An Haupt- und Seitentrieben, bei Spätbefall im oberen Teil der Raps-pflanze, wird eine bleiche, fast immer stängelumfassende Verfärbung sichtbar. Diese Befallszonen gehen von Blattansatz- oder Verzweigungsstellen des Haupttriebes aus und sind im äußeren Bereich fahlgelb bis weißlich, im Zentrum mehr gräulich verfärbt (Abb. 2).

Triebe und Schoten werden oberhalb der Befallsstelle gelb, notreif und sterben vorzeitig ab. Im grünen, aber bereits sich neigenden Bestand ragen diese befallenen und bräunlichen Pflanzen meistens heraus. Rinde und Mark sind an den Befallsstellen zerstört. Das Stängelinere ist normalerweise hohl, sichtbar sind weißliches, flockiges Mycel und hellgraue, späte schwärzliche, unregelmäßig geformte Sclerotien des Pilzes (Abb. 2). Die Sclerotien bilden sich nach Befall des gesunden Gewebes innerhalb von 7 bis 8 Tage aus Mycel, unter feuchten Bedingungen auch auf der Stängelaußenfläche.

Werden die Schoten der Pflanze befallen, so verfärben sie sich fahlgelb und vertrocknen. Zur Erntezeit findet man in den Schoten zwischen den Körnern kleine schwärzliche Sclerotien/Mikrosclerotien. Bei hoher Luftfeuchte bilden sich auch auf den Schoten weißliches Pilzmycel und Sclerotien.

Gelegentlich tritt die Krankheit in klimatisch milderen Gebieten bereits im Jugendstadium, zum Spätherbst und nach Winter zu Vegetationsbeginn auf. Blätter, Blattstiele, Laub und Triebspitzen sind weichfaul, fahlbraun, z. T. abgestorben.

1.3.1 Lebenszyklus

Im erkrankten Gewebe bildet *S. sclerotiorum* bei anhaltend feuchter Witterung auch außen an den Stängeln 3 bis 15 mm großen, unregelmäßig geformte schwarze Sclerotien. Diese Sclerotien fallen bei der Ernte meistens direkt auf den Acker oder bleiben in den Stängeln und werden durch Bodenbearbeitungsmaßnahmen sowie Pflug in den Boden gebracht (Krüger, 1975; Adams, 1979) (Abb. 3) (1). In geringem Maße werden rapskorngroße Sclerotien mit dem Saatgut ausgesät. Der Krankheitserreger der Weißstängeligkeit überdauert mit Hilfe seiner Dauerkörper, den Sclerotien, im Boden. Sie bildet den Ausgangspunkt für neue Infektionen im nächsten Anbausjahr (Krüger, 1975; McCartney and Lacey, 1999).

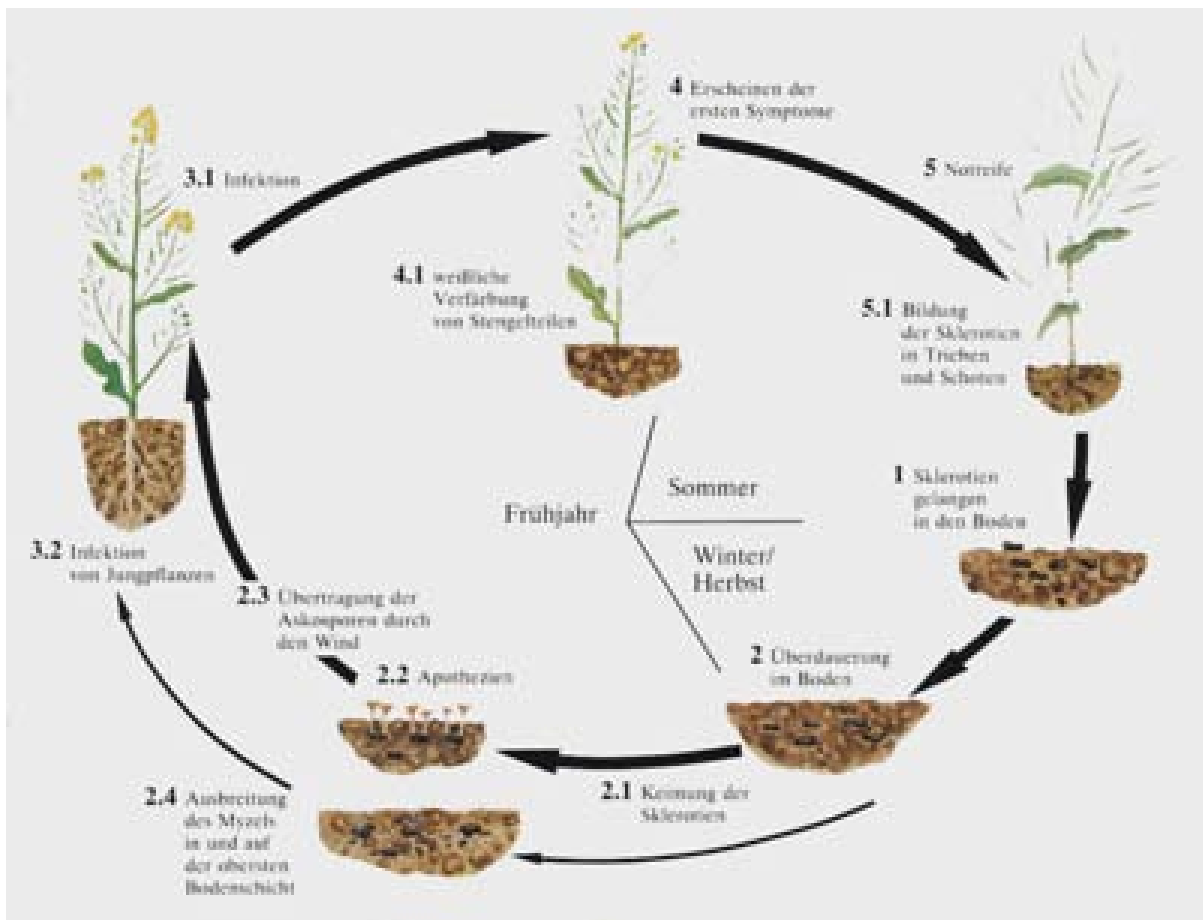


Abb. 3: Zyklus von *Sclerotinia sclerotiorum*, dem Erreger der Weißstängeligkeit an *B. napus* (Paul, 2003)

Der Pilz kann in Form von Dauerstadien der Sclerotien im trockenen Boden überdauern, die Lebensfähigkeit beträgt 7 bis 10 Jahren bleiben (Adamas, 1979) (Abb. 3) (2). Die Keimung der Sclerotien setzt eine Konditionierungsphase voraus, die von Alter der Sclerotien, den Temperatur- und Feuchteverhältnissen im Boden, insbesondere im Frühjahr, abhängig ist (Krüger, 1975; Singh, 1983). Voraussetzung für die Keimung ist eine kontinuierliche Bodenfeuchte der oberflächennahen Schicht über 10 bis 14 Tage. Für die Weiterentwicklung ist zudem eine Bodentemperatur zwischen 7 °C und 11 °C erforderlich. Nur Sclerotien, die in der obersten Bodenschicht 1 bis 5 cm unterhalb der Oberfläche liegen, können keimen (2.1) und Fruchtkörper bilden, indem sie schmale Stielchen treiben, deren trichterförmig erweiterte Spitzen an der Bodenoberfläche erscheinen. Diese als Becherfrüchte bzw. Apothecien (2.2) bezeichneten Fruchtkörper sind gelbbraun und im Durchmesser 5 bis 15 mm groß. Etwa 2 bis 4 Monate dauert im Feld unter zuzugenden Bedingungen der Vorgang von der Keimung der Sclerotien bis zum Erscheinen fertiler Apothecien. Neben einer Minderung der Keimrate der Sclerotien kommt es bei hoher oder niedriger Temperatur zu starken Keimverzögerungen (Krüger, 1976). Im Labor bei einer Dauertemperatur von 10 °C dauert es bis zum Erscheinung der Apothecien 3-6 Monate je nach geografischer Herkunft der Raps-Sclerotien. Diese Apothecien enthalten in den Ascis 8 Ascosporen. Für die Sporulation ist weniger die Temperatur als viel mehr die Boden- und

Luftfeuchte entscheidend. Die Ascosporen werden von den Apothecien ausgeschleudert und durch Wind verbreitet (2.3). Gelangen sie auf Blätter und Stängel des Rapses (Abb. 3) (3.1), keimen sie bei zusagenden Umweltbedingungen auf abgestorbenem oder gealtertem Gewebe und infizieren die Pflanzen (Krüger, 1976; Davies, 1986). Für die Keimung der Sporen ist freies Wasser bzw. eine Blattnässe von 16 bis 24 Stunden erforderlich. Der Temperaturbereich liegt zwischen 0 bis 25 °C mit dem Optimum bei 15 bis 20 °C. Häufig erfolgt die Infektion in Zweiggabeln und Blattachsen, auf denen sich abgefallene Blütenblätter abgelagert haben und führt dann zu dem oben genannten Schadbild (4 und 5). Für eine erfolgreiche Infektion ist relative Luftfeuchte von 84% bis 95% und 20 °C erforderlich. Gelangen Ascosporen bei fehlender Feuchtigkeit auf die Wirtspflanze, so ist die Lebensdauer auf 17 Stunden begrenzt. Ein anderer weit weniger bedeutsamer Infektionsweg geht von dem Mycel gekeimter Sclerotien (2.4) in der obersten Bodenschicht aus (Abawi und Grogan, 1979). Über im Boden wachsendes Mycel des Krankheitserregers können in wintermilden Gebieten die Wurzeln oder oberirdische Teile junger Rapspflanzen direkt befallen werden (3.2) (Abb. 3).

Hohe Temperaturen im zeitigen Frühjahr regen die Keimung der Sclerotien an, sodass schon Ende April bis Anfang Mai Apothecien gebildet werden. Ist der Boden trocken, unterbleibt die Apothecienbildung. Tritt die Trockenperiode erst später auf, dann schrumpfen die gebildeten Apothecien und stellen die Sporulation ein. Die geschrumpften Apothecien können aber bei Widerbefeuchtung quellen und erneut sporulieren. Durch Niederschläge wird die Freisetzung der Sporen stark eingeschränkt, weil sie durch den Regen von den Apothecien auf die Erde gespült werden. Wärme und Wechselfeuchte fördern die Infektion. Für starken Befall ist eine gute Bodenerwärmung im März und April, geringe Niederschläge Ende Mai bis Mitte Juni bzw. wechselhaftes Wetter und ein Besatz von drei und mehr Apothecien pro m² notwendig.

An befallenen Pflanzen werden keine Sporen gebildet, welche die Krankheit weiter verbreiten. Während der Vegetationsperiode wird der Pilz nur durch Kontakt von einer Pflanze zur anderen übertragen, sodass dann im Bestand Befallsnester auftreten. Bei hoher Luftfeuchte entwickelt sich am Stängel der Rapspflanzen ein weißes, watteartiges Außenmycel, in dem nach und nach die schwarzen Sclerotien gebildet werden.

Diese Sclerotien gelangen nach der Ernte in den Boden. Damit ist der Lebenszyklus (Abb. 3) des Krankheitserregers geschlossen.

1.3.2 Pathogenese

Aus der Literatur ist bekannt, dass die Infektion von vier entscheidenden Größen abhängt (Brun, 1983): hohe Sporendichte, Phänologie der Pflanze, Abfall der Blütenblätter, Tage mit Temperaturen über 10 Grad Celsius und Tage mit einer relativen Luftfeuchte über 93%.

Die Sclerotienkeimung wird fast ausschließlich über die Bodentemperatur und Feuchtigkeit im Frühjahr beeinflusst, eine Apothecienbildung ist aber auch noch von den Lagerungsbedingungen der Sclerotien im Boden abhängig. Im Freiland entwickelt sich in jedem Jahr eine unterschiedliche Anzahl Apothecien (Schwarz, 1978). Je nach Witterungsbedingungen wird die Freilassung der Ascosporen beeinflusst. Gemäßigte Temperaturen und trockene Perioden begünstigen das Ausschleudern der Ascosporen, dagegen beeinträchtigen hohe Luftfeuchtigkeit und Niederschläge diesen Vorgang. Während feuchter Boden die Sclerotienkeimung fördert, können übermäßige Niederschläge die Sporulation und die Ausschleuderung der Ascosporen nachteilig beeinflussen. Zu hohe Niederschläge können ein Verkleben der Asci verursachen und die gebildete Ascosporen diffundieren in die auf den Apothecien befindliche Flüssigkeitssuspension. Die Sporulationsfähigkeit der Apothecien kann sich über einen Zeitraum von 2 bis 6 Wochen erstrecken (Krüger, 1975).

Nach der Entlassung der Ascosporen sind vor allem eine ausreichende Feuchtigkeit und ein bestimmter Temperaturbereich für das Gelingen einer Infektion verantwortlich (Hornig, 1983).

Die Überlebensrate der entlassenen Ascosporen nach dem Auftreffen auf die Rapspflanzen ist von den Feuchtigkeitsverhältnissen sowohl auf den Pflanzen als auch im Bestand abhängig. Die entlassenen Ascosporen können zwischen 5 bis 21 Tagen überleben (Abawi, 1979). Für eine erfolgreiche Infektion ist eine kontinuierliche Blattnässedauer von 48 bis 72 Stunden auf den Rapspflanzen notwendig. Die auf das Pflanzengewebe gelangten Ascosporen zeigten nach 6-7 h Lagerung erste Austrocknungserscheinungen, nach 17 Stunden war die Keimungsfähigkeit erloschen (Kapoor, 1983).

Die unterste Grenze der relativen Luftfeuchte beträgt 83-84% (Brun, 1983). Optimale Keimungsbedingungen der Ascosporen auf den Pflanzen sind rel. Feuchte von 92-94% und Temperatur von 15-25 °C. Niedrige Temperaturen verzögern nicht nur eine Keimung, sondern verhindern auch häufig Epidemien (Lamarque, 1983).

Blütenblätter begünstigen die Keimung der Ascosporen durch die in ihnen enthaltenen Nährstoffe (Krüger, 1975). Eine Infektion durch Ascosporen erfordert die Anwesenheit einer einfachen Nahrungsquelle (Purdy, 1953, 1958; Mclean, 1958; Jamaux et al., 1995).

Die Bildung einer Keimhyphe beginnt ca. 9-10 h nach dem Auftreffen einer Ascospore auf einem Blütenblatt. Jede Hyphe produziert ca. 7-8 h nach der Keimung auf der Blütenblattoberfläche verzweigte, senkrecht zueinander stehende Hyphen mit zylindrischen Spitzen. Diese Spitzen können das Blütenblatt besiedeln und die Gewebenzellen auflösen. Die keimenden Ascosporen verändern ihre morphologische Beschaffenheit ca. 24-30 h nach der Keimung. Eine Infektionsdecke aus sich verzweigenden Hyphen, die später lange Penetrationshyphen formen, entsteht auf der Blütenblattoberfläche. Diese werden von der

Blattoberfläche angezogen und können dort ein Appressorium ausbilden (Kapoor, 1983, Jamaux et al., 1995).

Nach der Besiedlung des Blütenblattes wachsen die Hyphen in das Laubblatt. Der Angriff erfolgt auf das Blatt (Kapoor, 1983, Jamaux et al., 1995). Bis zu diesem Zeitpunkt kommt es nur sehr selten zur typischen Symptomausbildung auf den Blättern. Aus diesem Grund kann nicht genau bestimmt werden, ob eine Infektion immer auf den Blattspreiten beginnt, bevor sie sich über den Blattstiel ausbreitet. Es scheint aber, dass der Blattstiel eine relative Schwächezone darstellt, in die das Mycel leicht eindringen kann (Jamaux et al., 1995).

Der Infektionsprozess auf Blütenblättern kann wahrscheinlich den Zugang des Pathogens zu einer einfachen Nahrungsquelle fördern. Der Angriff auf das Blatt und die Bildung von Appressorien wird dadurch erst ermöglicht (Lamarque, 1983, Jamaux et al., 1995). Die auf den Blättern gebildeten Appressorien stellen kissen- oder kuppelförmige Gebilde dar, die aus dickeren granulären Hyphen bestehen. Davon entwickeln sich die eigentlichen Penetrationshyphen, von denen über Hundert in einem Appressorium vorhanden sein können. Die zylindrisch endenden Hyphen flachen sich bei Kontakt mit der Blattoberfläche ab und vergrößern auf diese Weise ihren Druck auf die Oberfläche. Das Appressorium wird durch Ausscheiden einer klebrigen Substanz fest an der Oberfläche verankert. Die gleiche Substanz überzieht in trockenerem Zustand die Penetrationshyphen netzartig, so dass sie eine hohe Druckstabilität erhält. Der gesamte Aufbau eines Appressoriums ermöglicht eine sehr große Druckbelastung auf die Cuticula, so dass diese rein mechanisch und ohne Enzymwirkung durchstoßen werden kann. Auch im weiteren Verlauf der Pathogenese bleibt die Cuticula in nächster Umgebung zu den Penetrationsstellen meist unverändert. Nach der Penetration werden zwischen Cuticula und Epidermis Vesikel gebildet, aus denen sich relativ dicke Infektionshyphen entwickeln. Sie enthalten viele Vakuolen, sowie granuläres Cytoplasma, entwickeln sich in radialer Richtung vom Appressorium und besiedeln das Wirtsgewebe im Interzellularbereich (Lumsden, 1979, 1980; Tarig 1984; Jamaux et al., 1995).

Nach 12 bis 24 h formiert sich die Hyphenfront zu Bündeln von 18 bis 20 Hyphen, die sich subcuticulär, parallel ausbreiten und gleichzeitig die Mittellamellen der Zellen zerstören. Die gebildeten und verzweigten Hyphen sind in der Lage, auch intrazellulär zu wachsen und Zellinhaltsstoffe zu verwerten. Weiterhin kann das Wirtsgewebe von Mycel bedeckt werden. Das vollentwickelte Mycel kann die Oberfläche besiedeln und bildet innerhalb von 3-7 Tagen aus kurz zylindrischen Sclerotien sowie Initialzellen neue Sclerotien. Diese Ergebnisse wurden an Raps, Sonnenblumen, Bohnen und Salat beobachtet (Lumsden, 1980). Normalerweise bilden sich die Sclerotien an Raps nur im Inneren des Rapsstängels, im Mark oder in den Schoten.

Die Pathogenität von *S. sclerotiorum* hängt vom Funktionieren des differenzierten Enzymsystems ab. Dieses System wirkt direkt nach der mechanischen Penetration auf die Zellen der Epidermis und auch später auf die darunter liegenden Zellschichten. Die Wirkung der verschiedenen Enzyme auf die Pflanze zeigt sich in einer Veränderung der Pektinstrukturen in der Mittellamelle und Zellwand, auch bevor die Infektionshyphen diese erreicht haben. Es handelt sich um drei pektolytische Enzyme: „Endo“-Polygalacturonase, „Exo“-Polygalacturonase und „Pektinmethylesterase“ (Lumsden, 1979). Außerdem sind Permeabilitätsveränderungen für eine frühzeitige Zellschädigung durch den Verlust von Elektrolyten und protoplasmatischer Substanz, sowie auch für Wasseransammlungen im Läsionsbereich verantwortlich (Hancock, 1972).

Laut den Berichten von Purdy (1958), Krüger (1975), Hornig (1983) und Jamaux (1995) sei eine Infektion von intakten Rapsblättern nicht möglich. Deshalb seien für die Erstinfektion senescente Blätter, Wunden oder die Blütenblätter Voraussetzung für eine natürliche Infektion (McLean, 1958). Nach Kapoor et al. (1983) fungieren die Blütenblätter als Kohlenstoffquelle. Die Ascospore bildet einen Keimschlauch und dieser penetriert direkt die Epidermiszellen der Blütenblätter in denen sich nachfolgend das Mycel ausbreitet. Das Eindringen des Mycels in die Pflanze erfolgt nachdem die sich verzweigenden Hyphen zu einer langen Penetrationshyphne geformt haben, aus der dann ein Appressorium hervorgehen kann. Aus dem Appressorium entwickelt sich die Penetrationshyphne und nach weiteren Differenzierungen wächst das Mycel inter- und intrazellulär im Wirt aus (Ahlers, 1986). Im Prozess der Hyphendifferenzierung werden weitere, in Aufbau und Wirkung noch nicht genau bekannte Enzyme, gebildet. Solche Enzyme ermöglichen das intrazelluläre Wachstum. Während dieser Ausbreitung und Infektion sind zahlreiche Enzyme wie Cellulasen, Cutinasen, Hemicellulasen, Phosphatidasen, Xylanasen, Proteasen und pektolytische Enzyme wie z.B. Endopolygalacturonase (Lumsden, 1979, 1990; Godoy, 1990; Reymond, 1994; Fraissinet-Tachet, 1995; Martel, 1998; Knapp, 1999; Vautard-Mey, 1999) entscheidend beteiligt.

Bei der Infektion von *S. sclerotiorum* spielt Oxalsäure eine bedeutende Rolle während der synergistischen Wirkung auf das pilzeigene Enzymmuster und dessen Wirkungsfähigkeit. Die Isolate, die keine Produktionsfähigkeit von Oxalsäure besitzen, haben auch keine Pathogenität an der Pflanze mehr. Die Oxalsäure wirkt einerseits als Chelator für Kationen (ein- und zweiwertig), andererseits hat sie in hohen Konzentrationen eine toxische Wirkung auf die Pflanzenzellen und reduziert den pH-Wert auf Werte um pH 4; dieser pH-Wert ist für die Enzymwirkung optimal und beschleunigt die weitere Entwicklung den Pilzes und seine Ausbreitung in der Wirtspflanze. Die Oxalsäure spielt bei der Pathogenese von *S. sclerotiorum* eine wichtige Rolle (Hancock, 1966, 1967, Maxwell and Lumsden, 1979, Noyes and Hancock, 1981, Marciano et al, 1983,

Godoy et al. 1990, Rowe, 1993, Dutton and Evans, 1996, Vautard-Mey, 1999, Zhou and Boland, 1999, Cessna, 2000).

1.4 Resistenzsituation

Eine horizontale Resistenz von Winterraps gegen den Weißstängeligkeitserreger ist aufgrund gradueller Unterschiede in Befall schwer zu erkennen. Bis heute ist eine resistente Rapsorte gegen Weißstängeligkeit noch nicht gezüchtet worden. Die meisten Winterrapssorten sind relativ anfällig für *S. sclerotiorum*. Ein Blick in die Sortenliste 2004 des Bundessortenamtes bestätigt die gegenwärtige Lage. In älteren Felduntersuchungen haben Franke (1984), Hornig (1983) und Krüger (1983) festgestellt, dass sich bei wenigen Rapsorten eine geringe Anfälligkeit zeigte. Die Gründe für diese Reaktion sind nicht bekannt. Die Ursache des unterschiedlichen Sortenverhaltens liegt wahrscheinlich im zeitlich variablen Blühverlauf und Abwerfen der Blütenblätter. In den älteren Beobachtungen wurde festgestellt, dass der Befall abnahm, wenn die Blüte später begann (Krüger, 1983): die Sorten Doral, Librador und Lirama waren schwächer befallen, die Blüte setzte um 4-5 Tage später ein als bei den stärker befallenen Sorten wie Jet Neuf und Korina.

Thomson und Kondra (1983) fanden zwei rückgekreuzte Bastarde der F1, die aus vier japanischen Sommerrapslinien mit kanadischem Sommerraps gekreuzt wurden. Diese zeigten nach Inokulation mit Mycel und Ascosporen eine geringe Anfälligkeit. Im Mittel der Versuche blieben allerdings keine Linien ohne Befall.

Genetische Untersuchungen weisen darauf hin, dass die Resistenz gegen *Sclerotinia* entweder monogenetisch oder polygenetisch sein kann, abhängig von der Pflanzensorte und den Materialien. In den Untersuchungen stellten von Abawi et al. (1978) und Baswana et al (1991), Kim und Diers (2000) fest, dass drei ‚quantitative trait loci‘ (QTLs) mit der *Sclerotinia*-Resistenz in der Sojabohne verbunden sind. Durch eine markergestützte Selektion auf Resistenzeigenschaften gegen Weißstängeligkeit, wurden die an der Ausprägung der Resistenzen beteiligten Genloci in Raps ermittelt. Zwei QTLs (qLRS1 und qSRM1) von insgesamt sechs Genloci in den epistatischen Interaktionen spielen eine wichtige Rolle in der Resistenz von *Sclerotinia* bei zwei Entwicklungsstadien an Raps (Zhou et al. 1994, Zhao und Meng, 2002).

Die Ergebnisse physiologischer Untersuchungen über Resistenz in Bohne und Sonnenblume zeigten, dass Oxalsäure sich auf die Pathogenese von *Sclerotinia* bezog (Maxwell und Lumsden 1970; Noyes und Hancock 1981; Godoy et al. 1990). Mit Hilfe der Selektion durch Oxalsäure, wurden einige Rapsorten in China teilweise als resistent gegen *Sclerotinia* eingestuft (Zhou et al. 1994). Trotzdem gibt es keine Rapsorten, die resistent gegen *Sclerotinia* sind. Außerdem ist auch nicht klar, wie viele Resistentengene im Raps gegen *Sclerotinia* mitwirken werden.

Resistenzen liegen im europäischen und kanadischen Rapssortiment nicht vor, in chinesischen Zuchtlinien sind deutliche Anfälligkeitsunterschiede vorhanden.

Ein weiterer Ansatz, die Anfälligkeit für *S. sclerotiorum* zu verringern, stellt die Gentechnik dar. Ein Enzym wurde in Rapspflanzen so exprimiert, dass es die Fähigkeit besitzt, die für die Pathogenese wichtige Oxalsäure abzubauen (Schweizer, 1999). Ein "wheat germin gene", das für Oxalatoxydase exprimiert, katalysiert die Oxidation der Oxalsäure zum Wasserstoffperoxid und Kohlendioxid. Von Donaldson et al. (2001) und Cober et al (2003) wurde das Gen mit *A. tumefaciens* in Sojabohnen transferiert. Diese transgenen Sojabohnen zeigten in den Versuchen nur sehr schwache Anfälligkeit, weil die Verminderung der Oxalsäure die Ausbreitung des Pilzes im pflanzlichen Gewebe verlangsamt; Wasserstoffperoxid aktiviert außerdem Abwehrreaktionen. Wu und Liu (1991), Liu and Xu (2001) und Mullins und Quinlan (1995, 1999) erzeugten durch induzierte Mutationen mit Oxalatsäure Rapslinien mit geringerer Anfälligkeit

1.5 Bekämpfungsmaßnahmen

Der Erreger der Weißstängeligkeit, *S. sclerotiorum*, ist zum wirtschaftlich wichtigsten und gefährlichsten Schadpilz im Raps nach der Intensivierung des Rapsanbaues in letzten Jahren geworden. Eine wirtschaftliche und konkurrenzfähige Rapsproduktion unter den Bedingungen der Agenda 2000 (sinkende Ausgleichszahlungen) scheint in Zukunft immer schwieriger zu werden. Deshalb muss man sich Gedanken machen, wie man mit möglichst geringem Aufwand höhere Erträge erzielen kann.

Symptome der Weißstängeligkeit treten ab Knospenbildung bis zum Absterben des Rapses auf. In seltenen Einzelfällen ist ein Befall von Rapspflanzen über die Mycelinfektion vom Boden aus nach Winter festzustellen. Eine Behandlung gegen Weißstängeligkeit sollte bei Vollblüte, wenn ca. 50 - 60 % der Blüten am Haupttrieb geöffnet sind (erste Blütenblätter fallen bereits ab) bzw. nach Warndienstaufruf erfolgen.

Behandlungstermin für eine vorgesehene Fungizidmaßnahme ist Beginn der Blüte bis Vollblüte (Stadium 60-65). Zur Absicherung der Erträge wird in der Praxis oft eine Bekämpfungsmaßnahme im Stadium BBCH 63-65 durchgeführt.

Seit mehr als 15 Jahren wird in Deutschland Folicur, ein Fungizid sowohl mit Wirkung gegen verschiedene Rapskrankheiten als auch als mit wachstumsregulatorischen Eigenschaften im Rapsanbau verwendet. Seit einigen Jahren wird Caramba als ein weiteres Fungizid mit dem Wirkstoff Metconazol gegen Rapskrankheiten eingesetzt. Seit 2003 ist das neue Fungizid Cantus mit dem Wirkstoff Boscalid im Raps zugelassen.

Heute ist Landwirtschaft ohne Pflanzenschutz nicht mehr vorstellbar. Durch die Integration verschiedener Verfahren des Pflanzenbaues und der Schaderregerbekämpfung, insbesondere aber

durch die Beachtung von ökonomischen Schadensschwellen, wird dabei der Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln soweit als möglich reduziert.

Anzustreben wäre ein vollständiger Ersatz chemischer Pflanzenschutzmittel wie im ökologischen Landbau durch andere umweltfreundliche Verfahren, z. B. dem biologischen Pflanzenschutz. Dabei werden in der Natur natürlich vorkommende Antagonisten gesucht und eingesetzt.

Biologische Verfahren bieten neben den ökologischen Gründen, wie geringe Störung des Ökosystems, geringe Belastung der Umwelt (Boden, Wasser) und i. d. R. Unbedenklichkeit für Mensch und Tier auch ökonomische Vorteile gegenüber den chemischen Mitteln. Die biologischen Verfahren können zum Teil in Bereichen eingesetzt werden, in denen keine anderen Methoden vorhanden sind (Lückenindikation) oder chemische Mittel versagen (Resistenzen).

Das Präparat Cantus auf Pilzbasis enthält den Bodenpilz *Coniothyrium minitans* und ist in Deutschland zur Bekämpfung der Weißstängeligkeit in Raps und Gemüse zugelassen.

1.6 Problemstellung

Seit mehr als 100 Jahren beschäftigen sich viele Wissenschaftler mit dem Krankheitserreger *S. sclerotiorum*. Der Lebenszyklus von *S. sclerotiorum* an Raps ist durch zahlreiche Untersuchungen bereits weitgehend geklärt (Paul, 2003). Über die Variabilität von *S. sclerotiorum* an Raps liegen jedoch nur wenige Kenntnisse vor (Yang, 1969). Sie spielt eine bedeutende Rolle bei der Resistenzselektion.

Seit langem versuchen Rapszüchter eine resistente, leistungsstarke Qualitätssorte gegen *S. sclerotiorum* zu züchten. Wie die Sortenreaktion auf Weißstängeligkeit an Raps geprüft werden muss und welche Prüfungsmethode verwendet werden sollen steht zurzeit auch in Frage.

Durch den gezielten und rechtzeitigen Fungizideinsatz können wirtschaftliche Verluste durch Weißstängeligkeit vermieden werden. Wegen der sich ständig verändernden jährlichen Jahreswitterung im Frühling stellt sich immer wieder die Frage, ob ein Fungizideinsatz sinnvoll und wirtschaftlich in Raps ist. In diesem Zusammenhang gibt es Klärungsbedarf, wie die neue Fungizide Cantus und Caramba wirken und optimal gegen Weißstängeligkeit in Hinblick auf Termin und Aufwandmenge eingesetzt werden können.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Variabilität von *S. sclerotiorum* zu untersuchen und ggf. zu charakterisieren und praktikable Selektionsmethoden auf Resistenzeigenschaften von Rapsorten gegen *S. sclerotiorum* in Laboruntersuchungen und auch in Feldversuchen zu entwickeln bzw. zu optimieren und den gezielten Einsatz von unterschiedlichen Aufwandmengen und Terminen der Fungizide Cantus, Caramba und Folicur und deren Effektivität im Winterraps zu ermitteln. Die biologische Bekämpfungsmöglichkeit sollte dabei mitberücksichtigt werden.

2 Material und Methoden

2.1 Erregersammlung und Isolationsmethoden

2.1.1 Erregersammlung

Es wurden insgesamt 42 *Sclerotinia*-Herkünfte aus verschiedenen Ländern wie Deutschland, China, Polen, Schweden, Dänemark und Frankreich, aus unterschiedlichen botanischen Familien wie *Brassicaceen* (Raps, Leindotter), *Asteraceen* (Sonnenblumen, Salat) und *Solanaceen* (Tabak, Tomate) gesammelt. Davon stammen einige Isolate aus verschiedenen Rapsanbaugebieten sowie aus dem Gebiet Yaan, Chengdu und Mianzu der Provinz Sichuan, Volksrepublik China. Einige Isolate kommen aus dem gleichen Gebiet (Versuchsgut Merklingsen der Fachhochschule Südwestfalen) verschiedener Anbaujahre (1999/2000, 2000/2001 und 2001/2002). Außerdem wurden 10 Isolate durch Einsporenlinsen (s. Methode) aus gleichen Sclerotien isoliert.

In Tab. 2 sind Bezeichnungen, Wirte und Herkünfte der untersuchten Herkünfte von *S. sclerotiorum* zusammengefasst.

Tab. 2: Übersicht über die verwendeten *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor* und *S. trifoliorum*-Herkünfte in 1999 bis 2003

Bezeichnung	Herkunft			
	Art	Land	Wirt	Jahr
YA	<i>S. sclerotiorum</i>	China, Yaan	Raps	1999
YAAN	<i>S. sclerotiorum</i>	China, Yaan		2001
CD	<i>S. sclerotiorum</i>	China, Chengdu	Raps	1999
CD2	<i>S. sclerotiorum</i>	China, Chengdu	Raps	2000
MZ	<i>S. sclerotiorum</i>	China, Mianzu	Raps	2000
M99	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Merklingsen	Raps	1999
M08	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Merklingsen	Raps	2000
M05	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Merklingsen	Raps	2000
M01	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Merklingsen	Raps	2001
Proph	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland		1999
503	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
504	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
505	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
506	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
507	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
508	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
509	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
510	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
511	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
512	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
526	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
665	<i>S. sclerotiorum</i>	Frankreich	Raps	1988
Express	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Merklingsen	Raps	2002
Talent	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Merklingsen	Raps	2002
Elktrak	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Merklingsen	Raps	2002
Catinka	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Merklingsen	Raps	2002
1946	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland		
W276	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland	Leindotter	
Th'95	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Thüle	Leindotter	1998

Rhh'95	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland	Leindotter	1998
I 106-1	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland	Leindotter	1998
DK97/98	<i>S. sclerotiorum</i>	Dänemark	Leindotter	1997
Pol'97	<i>S. sclerotiorum</i>	Polen	Leindotter	1997
SW'97	<i>S. sclerotiorum</i>	Schweden	Leindotter	1997
T'97/98	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland	Tomate	1998
Salat	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Hohenheim	Salat	2000
Rost	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Rostock	Sonnenblumen	
Soest	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Soest	Sonnenblumen	2001
56D	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland	Tabak	
5520	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland	Tabak	
Tabak	<i>S. sclerotiorum</i>	Deutschland, Karlsruhe	Tabak	
S. m	<i>S. minor</i>	Deutschland, Hohenheim		
S. t	<i>S. trifoliorum</i> (2)	Holland		CBS 271.60

Leerzeile: Wirt wurde nicht angegeben.

2.1.2 Isolierung des Erregers

Um die Variabilität von *S. sclerotiorum* im Hinblick auf Aggressivität und Virulenz untersuchen zu können, wurden *Sclerotinia*-Herkünfte aus China, Dänemark, Deutschland, Frankreich, Polen, Schweden gesammelt und im Labor isoliert.

2.1.2.1 Isolierung aus Sclerotien

Es wurden die an der von Weißstängeligkeit befallenen Pflanze gebildeten Sclerotien aus Stängeln gesammelt und die Mycelien der Pathogene im Labor weiter isoliert. Für die Isolierung der gesammelten Sclerotien wurde die Methode der Oberflächensterilisierung nach dem Schema in Tab. 3 durchgeführt. Das oberflächensterilisierte Sclerotium wurde nun direkt aus dem Wasser mit Hilfe einer Pinzette auf das Nährmedium (PDA, Kap.8.1) gelegt. Der gesamte Vorgang der Oberflächensterilisation erfolgte unter aseptischen Bedingungen. Abschließend wurden die Petrischalen mit Parafilm verschlossen und im Brutschrank bei 22 °C inkubiert.

Da aus einem Sclerotienstückchen oft verschiedene Pilze auswuchsen, mussten diese umgesetzt werden, um sie zu vereinzeln.

Tab. 3: Behandlungsschema für die Oberflächensterilisierung

Behandlung	Dauer
Isopropanol 75 %	20 Sec.
Natriumhyperchlorid 1,5 %	60 Sec.
steriles Wasser 1	30 Sec.
steriles Wasser 2	30 Sec.
steriles Wasser 3	30 Sec.

2.1.2.2 Isolierung aus befallenen Rapspflanzen

Der Pilz wurde aus den befallenen Rapspflanzen wie folgt isoliert. Das befallene Gewebe mit typischen Krankheitssymptomen wurde von der befallenen Rapspflanze abgeschnitten. Nachdem

das befallene Gewebe mit dem Skalpell in ca. 5 x 5 mm Stücke zerkleinert worden war, wurden die Blatt- oder Stängelsegmente in ein Teesieb gelegt und nach dem Schema in Tab. 3 behandelt. Das oberflächensterilisierte Pflanzengewebe wurde nun direkt aus dem demin. Wasser mit Hilfe einer Pinzette kurz auf steriles Papier getropft und dann auf PDA gelegt. Die Petrischalen wurden mit Parafilm verschlossen und im Brutschrank bei 22 °C oder bei Raumtemperatur inkubiert.

2.1.3 Kulturbedingungen des Erregers

Die isolierten Pilze wurden unter sterilen Bedingungen kultiviert. Das dazu benutzte Festmedium (PDA) wurde 15 min bei 121 °C autoklaviert und in sterile Kunststoffpetrischalen (Fa. Greiner bio-one, Ø 8,5 cm) gegossen (15 ml). Nach Beimpfen mit Mycel wurden die Platten bei Raumtemperatur (ca. 22°C) inkubiert. Nach drei Tagen Kultivierung bei Raumtemperatur hatte der Pilz das Festmedium komplett überwachsen. Die Umsetzung auf frisches Festmedium erfolgte im Zeitraum von drei bis vier Monaten. Zwanzig Tage nach der Kultivierung wurden die auf PDA gebildeten Sklerotien unter aseptischen Bedingungen gesammelt und zur weiteren Kultivierung im Kühlschrank (bei 6°C) gelagert.

2.1.4 Herstellung der Einsporenlinien

Die Einsporlinien wurden durch Isolierung einzelner Ascosporen von *S. sclerotiorum* nach der Bildung der Apothecien hergestellt. Nach Bildung der Apothecien wurden die ausschleuderten Ascosporen durch ein selbst eingebautes Vakuumsystem an einer Filtermembran (ME25 Membranfilter, Fa. Schleicher und Schuell) abgesaugt. Anschließend wurde eine sterile Ascosporensuspension mit der Konzentration von 100 Ascosporen pro ml hergestellt. Davon wurde auf eine PDA-Platte jeweils ein ml der Ascosporensuspension pipettiert und danach gleichmäßig verteilt. Unter dem Lichtmikroskop (10 x 20 Leica DMIL) wurden einzelne gekeimte Ascosporen entnommen und weiter auf PDA umgesetzt. Der Vorgang der Einsporisolierung geschah unter aseptischen Bedingungen.

2.2 Anzucht der Rapspflanzen für Laboruntersuchungen

Im Zeitraum von 1999 bis 2003 wurden 89 verschiedene Winterrapssorten und 69 Winterrapslinien von Züchtungsfirmen (DSV, NPZ) und aus der Volksrepublik China, Provinz Sichuan im Labor untersucht (Liste der Herkünfte s. Kap. 8.1).

Zur Anzucht der Rapspflanzen wurde Multitopfplatten (M 50, 51 Töpfe, Durchmesser 4,7 cm, Tiefe 5,5 cm, Bodenloch 6 mm, Fa. Meyer) verwendet. Als Substrat wurde immer Einheitserde Typ P (Fa. Balster) verwendet. Jede Platte hatte einen 50 x 30 cm Untersetzer, über den die Bewässerung erfolgte.



Abb. 4 Anzucht der Rapspflanzen für Blatttests im Gewächshaus (vor dem Abschneiden)

Das Rapssaatgut wurde direkt in die oben genannten mit Einheitserde Typ P gefüllten Multitopfplatten (je Töpfchen 2 Samen) ausgesät und mit feiner Erde (Typ P, Fa. Balster) ca. 3 bis 5 mm abgedeckt. Nach etwa einer Woche waren die Pflanzen im Keimblattstadium (BBCH 10) und konnten pikiert werden. Eine Düngung der Pflanzen war bis zum Sechslaubblatt-Stadium nicht nötig. Die Kultur der Pflanzen erfolgte in der Klimakammer mit der Beleuchtung 14/10 h Tag/Nacht Rhythmus und 17/12 °C Lufttemperatur, 5000 Lux bei 60 % bis 85% rel. Luftfeuchte oder im Gewächshaus mit zusätzlicher Beleuchtung.

Vor der Inokulation wurden die Blätter durch eine Schere mit zwei bis drei cm langen Blattstielen abgeschnitten. Das Abschneiden des Laubblattes erfolgte im Drei- bis Fünfblattstadium (BBCH 14-16).

Die Blätter wurden im BBCH-Stadium 14-16 zur Untersuchungen geerntet. Für Laboruntersuchungen wurden nur bestimmte Blätter gleicher Stellung der in Multitopfplatten angezogenen Rapspflanzen verwendet. Für die Untersuchungen auf Variabilität von *S. sclerotiorum*, Sortenreaktionen und auf kurative Wirkung der Fungizide wurde jeweils das dritte oder vierte Laubblatt verwendet.

2.3 Untersuchungen der Infektionsbiologie von *S. sclerotiorum*

2.3.1 Inokulationsmethode

Für die Inokulation mit *S. sclerotiorum* sind sowohl Mycel als auch Ascosporen verwendet worden.

2.3.1.1 Herstellung der Mycelstücke

Zwei Wochen vor der Inokulation wurde *S. sclerotiorum* von der Erhaltungskultur auf PDA-Platten umgesetzt. Als Inokulum verwendetes Festmedium (halbe Konzentration von PDB, s. Anhang 8.1) wurde 15 min bei 121 °C autoklaviert und in sterile Kunststoffpetrischalen (Fa. Greiner, Ø 8,4 cm) gegossen (15 ml). Die Platten wurden bei Raumtemperatur vier Tage

inkubiert. Dann wurden mit einem Korkbohrer mit einem Durchmesser von 6 mm Mycelscheibchen ausgestochen.

2.3.1.2 Herstellung der Mycelsuspension

Neben der Kultivierung auf Agar wurde auch die Kultivierung in Flüssigmedium (PDB) eingesetzt, um verschiedene Befallsstärken zu erreichen. Je Erlenmeyerkolben (500 ml) wurde 200 ml Medium gefüllt und anschließend 15 min bei 121°C autoklaviert. Unter sterilen Bedingungen wurden vier Stücke vom Rand des frisch gewachsenen Mycels von einer PDA-Platte in einen 500 ml Erlenmeyerkolben mit 200 ml PDB übertragen. Nach der Beimpfung wurden die Kolben mit einer Alufolie abgedeckt und auf einem Orbitalschüttler (GFL 3020) mit 120 rpm bei Raumtemperatur (22±1 °C) fünf Tage inkubiert.

Die frischen Mycelien wurden mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe durch einen Büchnertrichter (Filter: Schleicher & Schuell 595, Ø 90 mm) vakuumfiltriert. Die pH-Werte der abfiltrierten Flüssigkeit wurde mit pH-Meter 766 Calimatic (Fa. Knick) gemessen.

Das filtrierte Mycel wurde im Verhältnis von 1 Gram Mycel zu 5 ml Wasser im Waring Blendor (Commercial Blendor, USA) zerkleinert und homogenisiert. Die Konzentration der Suspension wurde mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer bestimmt und durch Verdünnen mit demin. Wasser auf die gewünschte Konzentration eingestellt.

Für Inokulationsversuche wurde die Konzentration von 1,0 bis 4,0 x 10⁶ Mycelfragmente/ml gewählt. Ein Tropfen mit 25 µl der Mycelsuspension wurde auf die in einer Mini-Feuchtkammer gelegten Rapslaubblätter aufgetragen.

2.3.1.3 Herstellung der Ascosporensuspension

Die im Labor hergestellten *Sclerotinia*-Ascosporen wurden durch das selbst gebaute Vakuumsystem von dem Membranfilter (Fa. Schleicher und Schuell) abgesaugt.

Die gelagerten Ascosporen wurden in demin. Wasser mit dem Mixer (Typ M100, Fa. ESGE) 5 min durch kräftige Umrührung voneinander getrennt. Die Konzentration der Ascosporensuspension wurde mit der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer unter dem Mikroskop (Leica) bestimmt. Dem Inokulum wurde eine 0,5 %ige Glucose-Monohydrat-Lösung (Fa. Merck, 1.08342) zugegeben.

2.3.1.4 Herstellung des Inokulums mit *S. sclerotiorum* infizierten gehäckselten Rapspflanzen

Die Rapspflanzen wurden aus dem Rapsfeld des Versuchsgutes Merklingsen entnommen und dann gehäckseln. Danach wurden sie mit einer homogenisierten flüssigen Mycelkultur von *S. sclerotiorum* inokuliert. Sie wurden bei 6 °C Raumtemperatur gelagert und für 24 h inkubiert.

Die Inokulation im Feld erfolgte durch Bestreuung von gehäckselten Rapspflanzen zur Blüte (BBCH 61)(ca. 100 g/m²) per Hand.

2.3.1.5 Herstellung mycelbewachsener Zahnstocher

Die 7 cm langen Zahnstocher (Fa. Fackelmann) wurden in der Mitte durchgebrochen anschließend in sterilem flüssigen PDB eingeweicht und 30 min bei 121 °C autoklaviert. Die sterilen Zahnstocher wurden auf den PDA-Platten kreisförmig ausgelegt. Ein Mycelstück von 6 mm Durchmesser wurde in die Mitte der PDA-Platte aufgelegt. Das Mycel wuchs auf den Zahnstochern bei Raumtemperatur (ca. 22 °C) 5 Tage lang.

2.3.2 Herstellung der Pflanzenmaterialien

2.3.2.1 Herstellung der Rapsblätter für die Inokulation

Für Infektionsuntersuchungen in der Klimakammer wurden stets Mini-Feuchtkammern verwendet. Die Rapspflanzen wurden in der Klimakammer angezogen (Kap. 2.2). Bei allen Sorten wurden 20 Laubblätter von gleichem Alter und gleicher Blattstellung abgeschnitten. Vor der Inokulation wurden die Blätter auf einem mit nassem Saugpapier (ca. 200 ml Leitungswasser pro Mini-Feuchtkammer) bedeckten Boden in vier Reihen in die grünen Plastikschaalen (60 x 35 cm) der Mini-Feuchtkammern gelegt. Gleichzeitig wurden alle Blattstiele mit nassem Papier bedeckt, damit alle Blätter vital bleiben konnten. Jeder Plastikschaale wurde die durchsichtige Haube (15 cm Höhe) der Feuchtkammer aufgesetzt und in der Klimakammer bei 15 °C mit seitlicher Beleuchtung (OSRAM 36W/77 ca. 1000 Lux) nach der Pilz-Inokulation inkubiert.

2.3.2.2 Vorbereitung der Rapshaupttriebe und Seitentriebe aus dem Feld für Inokulationen im Labor

Zur Inokulation der Rapshaupttriebe und –seitentriebe im Labor mit Mycelsuspension, Mycelstück und Ascosporensuspension wurden die Rapssorten Artus (Hybridsorte) und Express (Liniesorte) verwendet. Die Pflanzen, die für diese Versuche genommen wurden, stammten aus einem Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer von NRW in der Nähe von Soest. Die Pflanzen befanden sich im Stadium der Vollblüte (BBCH 65). Die Länge der gezogenen Pflanzen betrug bei der Sorte Artus ca. 100-110 cm und bei der Sorte Express ca. 80–90 cm.

Je Sorte wurden 20 Pflanzen aus fünf Parzellen gezogen und im Labor weiter bearbeitet. Die Blätter wurden vorsichtig, ohne den Stängel zu verletzen, entfernt und der Haupttrieb in 5, je 9 cm lange Stücke, geschnitten. Aus den Nebentrieben wurden 8, je 9 cm lange Stücke geschnitten. Für die Inokulationsversuche wurde eine Gerda-Schale (20 x 20 x 6 cm) verwendet, die als Feuchtkammer diente. In diese Schale wurde ein Drahtgeflecht aus Edelstahl gestellt, das mit

einem saugfähigen Papier umwickelt wurde. Das Feuchte-Inokulationsgefäß wurde dann ca. 1 cm hoch mit Wasser gefüllt, um ein Austrocknen zu verhindern (Abb. 5).



Abb. 5: Inokulation mit Mycelscheibchen (l), Mycelsuspension (m) und Ascosporensuspension (r)

Je 20 Nebentriebstücke und je 16 Abschnitte des Haupttriebes wurden in einer Gerda-Schale (20 x 20 x 6 cm) zur weiteren Inokulation ausgelegt.

Parallel wurden je Sorte 40 Haupttriebstücke in vier Reihen in Mini-Feuchtkammern auf feuchtes Saugpapier ausgelegt.

Zusätzlich zu der Triebinokulation wurden je Sorte noch 40 Blätter vom mittleren Stängelabschnitt genommen, je 20 Blätter in einer Mini-Feuchtkammer ausgelegt und mit Mycelscheibchen (Ø 6 mm) der Herkunft MZ (chinesisches Herkunft) und M01 (deutsches Herkunft) inokuliert.

2.3.3 Inokulationsmethode im Labor

Für die Untersuchung der Fragen zur Variabilität von *S. sclerotiorum*, innerhalb seiner Wirt-Pathogen-Beziehung, zur Reaktion verschiedener Rapssorten auf *S. sclerotiorum* und zu Fungizidwirkungen auf die Infektion in vivo, wurde die Kontaktinokulation (Abb.6) an Rapslaubblättern/Detached Leaf Technik (DLT) gewählt (Liu und Brun, 1993).

Hierbei wurden abgeschnittene Rapsblätter mit einer Mycelsuspension, einem Mycelstück (Ø 6 mm) oder einer Ascosporensuspension inokuliert und später der Durchmesser der gebildeten Läsion ausgewertet.



Abb.6: Inokulation des Laubblattes mit Mycelsuspension(l), Mycelscheibchen(m) und Ascosporensuspension(r)

2.3.3.1 Inokulation des Laubblattes mit Mycelstück

Von 3 Tage alten *S. sclerotiorum*-Kulturen (2.3.1.1) auf 1/2 PDA-Festmedium (Kap.8.1) wurden bewachsene Agarscheibchen mit einem Durchmesser von 6 mm Größe ausgestochen. Die Stücke wurden mit dem Mycel auf die Blattoberfläche der entnommenen Blätter (Kap. 2.3.2.1) gelegt.

2.3.3.2 Inokulation des Laubblattes mit Mycelsuspension

Bei den Inokulationsversuchen wurde die für die Inokulation optimale Konzentration von $5,0 \times 10^6$ Mycelfragmente/ml gewählt. Ein Tropfen (je 25 μ l) der Mycelsuspension (2.3.1.2) wurde mit Hilfe einer Pipette auf die in einer Mini-Feuchtkammer gelegten Rapslaubblätter (2.3.2.1) aufgetragen. Dabei wurde vermieden das Inokulum auf der Hauptblattader zu setzen, um Schwierigkeiten bei der späteren Bonitur durch „Verlaufen“ der Läsionen auszuschließen.

2.3.3.3 Inokulation des Laubblattes mit Ascosporensuspension

Je 20 μ l der in Kap. 2.3.1.3 hergestellten Ascosporensuspension wurde auf die Oberfläche der in einer Mini-Feuchtkammer gelegten Rapslaubblätter (Kap.2.3.2.1) mit Hilfe einer Pipette aufgelegt.

2.3.3.4 Inokulation der Rapshaupttriebe und Seitentriebe

Um die am besten geeignete Inokulationsmethode für Sortenreaktion, Erregervariabilität und Fungizidwirkungen zu finden, wurden die in Kap. 2.3.2.2 vorbereiteten Rapshaupttriebe und Seitentriebe mit zwei *Sclerotinia*-Herkünften, Herkunft M01 und MZ in drei Inokulationsformen (Mycelscheibchen, Mycelsuspension und Ascosporensuspension), beimpft. Die verwendete Inokulationsmethode ist in Kap. 2.3.3.2 dargestellt. Je Pflanzenstück wurde ein Tropfen mit dem entsprechenden Inokulum auf eine Seite des einzelnen Abschnittes aufgebracht (Abb. 5).

2.3.3.5 Untersuchung zur korrelativen Übereinstimmung

Um die Übereinstimmung der Ergebnisse der in der Klimakammer angezogenen Pflanzen mit denen direkt aus dem Feld entnommenen Pflanzen durch künstliche Infektion insbesondere für Sortenreaktionen und Erregervariabilität zu prüfen, wurden die in Kap. 2.3.2.2 vorbereiteten Rapshaupttriebe und Nebentriebe mit zwei *Sclerotinia*-Herkünften, M01 und MZ in drei Inokulationsformen (Mycelstück, Mycelsuspension und Ascosporensuspension), beimpft.

2.3.4 Kultivierung der inokulierten Pflanzenteile

Die inokulierten Rapsblätter und Stängelsegmente wurden in der Klimakammer bei 14/10 h Tag/Nachtrhythmus und 17/12 °C Lufttemperatur unter einer Mini-Feuchtkammer oder einer

Gerda-Schale bei ca. 100 % Luftfeuchte, bei einer seitlichen Neon-Beleuchtung (400-800 Lux) kultiviert (Abb.7).



Abb. 7: Inkubation der inokulierten Pflanzenteile in der Klimakammer (Ansicht)

2.3.5 Bonitur des Befalls

Im o.g. semi *in vivo*-Test wurden die ausgelegten Pflanzenteile täglich nach der Inokulation in der Klimakammer beobachtet. Waren Läsionen erkennbar, wurden die Läsionslänge an den Laubblättern und Triebstücken mit einem Lineal in mm ausgemessen. Die Messungen erfolgten täglich. Diese quantitative Auswertung unterlag somit nicht dem subjektiven Einfluss der visuellen Einschätzung.

2.3.6 Inokulationen im Feld

Um Fragen zu Erregervariabilität, Sortenreaktionen, sowie Fungizidwirkungen auf *S. sclerotiorum* bei künstlicher Infektion im Feld beantworten zu können, galt es eine quantitative und reproduzierbare Inokulationsmethode zu verwenden. Diese erfolgte durch Stängelinokulation mit dem Zahnstocher.

2.3.6.1 Inokulation der Rapsstängel mit Zahnstochern

Die Feldversuche wurden am Versuchsgut Merklingsen im Jahr 2001/2002 durchgeführt. Für die Untersuchungen von Sortenreaktionen (Artus und Express) und Erregervariabilität (42 Herkünfte) wurden am Anfang der Rapsblüte (BBCH 60) Rapspflanzen am Haupttrieb in ca. 30 cm Höhe (Abb. 8) mit einem *Sclerotinia* bewachsenen Zahnstocher (Liu und Brun, 1993) in zwei Reihen (n=30) mit 42 *Sclerotinia*-Herkünften und zwei Wiederholungen (insgesamt 2520 Rapspflanzen) inokuliert.



Abb. 8. Vorbereitung des Inokulums (l) und die Inokulation am Stängel im Feld (r)

Für Untersuchungen zur Fungizidwirkung im Feld wurde in der Vollblüte (BBCH 65) im Jahr 2002 die Hybridsorte Artus und die Liniensorte Express pro Variante mit je 80 Pflanzen in vier Wiederholungen (insgesamt 1280 Rapspflanzen) künstlich infiziert. Die Inokulation erfolgte drei Tage nach der Fungizidspritzung und sieben Tage vor der nächsten Spritzung, um die kurative und protektive Wirkung zu untersuchen.

2.3.6.2 Inokulation mit Ascosporensuspension

Die o.g. Ascosporensuspension wurde auf eine Konzentration von 5×10^5 /ml eingestellt. Als Inokulum wurde eine 0,5%ige Glucose-Monohydrat-Lösung (Fa. Merck, 1.08342) zugegeben. Die Rapspflanzen im Feld wurden mit 100 ml der o.g. Ascosporensuspension pro m^2 mit Hilfe einer Druckspritze (Handspritze) inokuliert. Je Variante wurden die Pflanzen auf einer Fläche von $3 m^2$ je Parzelle (insgesamt $192 m^2$) in der Vollblüte (BBCH 65) künstlich inokuliert.

2.3.6.3 Inokulation mit *S. sclerotiorum* infizierten gehäckselten Rapspflanzen im Feld

Visuelle gesunde Rapspflanzen wurden vom Versuchsgut Merklingsen genommen, anschließend gehäckseln und ein Tag vor der Inokulation mit homogenisierter, Mycelsuspension von *S. sclerotiorum* inokuliert. Danach wurde das Inokulum bei Raumtemperatur 24 Stunden inkubiert. Die Feldinokulation erfolgte durch Bestreuung mit dem künstlich infizierten Pflanzenmaterial in der Blüte (BBCH 60) (ca. $100 g/m^2$).

2.3.6.4 Bonitur

Die Messung der Läsionslänge am Rapsstängel in cm, erfolgte 6 Wochen nach der Inokulation mit einem Lineal.

Für die Untersuchung der Fungizidwirkung wurde die Bonitur in der Blüte und vor der Ernte durchgeführt. Der Befall der Pflanzen wurde nach dem Boniturschema (Tab. 12) für 20 Pflanzen je Variante festgestellt.

2.4 Untersuchung der Variabilität von *S. sclerotiorum*-Herkünften

Die für die Infektionsversuche ausgewählten *Sclerotinia*-Herkünfte sollten auf ihre Variabilität untersucht werden. Dazu wurden verschiedene Parameter verwendet.

2.4.1 Morphologie

2.4.1.1 Geschwindigkeit des Mycelwachstums und der Sclerotienbildung in vitro

Als Nährmedium für die Untersuchung der ausgewählten Herkünfte auf Unterscheidbarkeit im Wachstumsverhalten diente PDA, der auf einen pH-Wert von 6 eingestellt wurde. Alle untersuchten Herkünfte wurden zuvor auf PDA-Medium umgesetzt. Eine Petrischale wurde mit

einem Agarstück von 6 mm Durchmesser in der Mitte beimpft. Pro Herkunft wurden vier Petrischalen hergestellt. Die Kulturen wurden bei 15 °C und 22 °C in Dunkelheit inkubiert.

Täglich nach der Beimpfung erfolgte eine Messung des radialen Mycelwachstums bis zu Schwarzfärbung der gebildeten Sclerotien in den Petrischalen.

Zusätzlich wurde die gebildete Sclerotien Formen, Größe und Gewicht in PDA-Platten 25 Tage nach der Mycelbeimpfung ermittelt.

2.4.1.2 Keimung der Sclerotien und Induktion der Apothecien

Für die Untersuchung zum Keimungsverhalten der Sclerotien unterschiedlicher Herkünfte, wurden die auf Weizenkörnern gezüchteten Sclerotien von 33 Herkünften verwendet.

Es wurde das Phytakon Plastikgefäß (Fa. Sigma) (Durchmesser unten 86 mm, oben 116 mm, Tiefe 130 mm) in diesen Untersuchungen verwendet (Abb. 9). In jedes der mit 200 g autoklavierten Pikier-Einheitserde Typ P (Fa. Balster) gefülltes Phytakon Plastikgefäß wurden 150 Sclerotien, die auf Weizenkörnern gezüchtet wurden, je Herkunft gleichmäßig auf die Erde gelegt. Diese wurden mit ca. 1 cm Einheitserde Typ P bedeckt. Anschließend wurde je Gefäß 80 ml Leitungswasser gleichmäßig auf die Erde gespritzt. Im Laufe der Zeit wurde der Wassergehalt (30-38%) mit dem Moisture Meter HH2 (Fa. DELTA-T DEVICES, Cambridge-England) gemessen. Eine weitere Wässerung erfolgte, bevor die oberste Erdschicht abzutrocknen begann, so dass die Sclerotien nie austrockneten und immer feucht waren.



Abb.9 Ansicht der Versuchsanlage für Untersuchungen zur Keimung und Apothecienbildung von *Sclerotinia sclerotiorum*-Herkünften in der Klimakammer

Alle o.g. Gefäße wurden mit einem Plastikdeckel versehen und bei einer Temperatur von 10 °C, einem Tag/Nacht Rhythmus bei einer seitlichen Neonlampen-Beleuchtung ((OSRAM 36W/77, 500 Lux)) von 14/10 h bis zum Erscheinen des Stielchens in einer Klimakammer inkubiert (Abb.9).

Als vergleichbare Substrate wurden auch autoklavierter Sand und Vermiculit verwendet. Für die Untersuchung des Keimungsverhaltens der Sclerotien wurden unterschiedliche Herkünfte (Herkünfte MZ und M01) verwendet. Die Sclerotien wurden dafür auf drei verschiedene Nährquellen, Weizenkörnern, PDA-Platten und infizierten Rapsblättern produziert.

2.4.1.3 Bonitur der Keimung von Sclerotien und des Erscheinens der Apothecien verschiedener Herkünfte

Erscheinen und Anzahl der Stielchen und Apothecien wurden wöchentlich oder alle 2 bis 3 Wochen ermittelt. Die Dauer der Ausschleuderung der Ascosporen wurde nach dem Erscheinen von Apothecien beobachtet.

2.4.2 Pathogenität

2.4.2.1 Labor-Blatttest

Der Frage, ob neben einer morphologischen und physiologischen Unterscheidbarkeit auch eine pathologische Variabilität existiert, wurde mit Hilfe eines Blatttests nachgegangen.

Um eine eventuell unterschiedliche Sortenreaktion zu erfassen, wurden die Rapssorten Artus (H), Express (L), ChuanYou 18 und ChuanYou 20 parallel getestet. Jede Variante lag in 20-facher Wiederholung vor. Die Durchführung des Versuches erfolgte nach der in Kap. 2.3 beschriebenen Methode mit Mycelscheibchen als Inokulum.

Die Größe der Läsionen wurde täglich nach Erscheinen des ersten Flecks auf dem Blatt ermittelt.

2.4.2.2 Feld-Pflanzentest

Die Untersuchung der Erregervariabilität von 42 *Sclerotinia*-Herkünften wurde im Jahr 2002 im Feldversuch auf dem Versuchsgut Merklingsen mit zwei Rapssorten (Artus (H) und Express (L)) Anfang Blüte (BBCH 60) durch Zahnstocherinokulation durchgeführt (Kap. 2.3.6.1).

2.4.3 Genomuntersuchungen

2.4.3.1 Gewinnung des Pilzmycels

Die Sclerotien des Erregers wurden über drei Jahre gezielt von verschiedenen Anbaugebieten gesammelt und auf PDA-Schrägagar oder direkt bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. Um für die Genomuntersuchungen nicht unterschiedlich altes Pilzmaterial zu verwenden, wurden zeitgleich Inokulationen mit allen Herkünften durchgeführt.

Für die Genomuntersuchungen wurde Mycel verwendet. Die Gewinnung des Pilzmycels erfolgte wie im Kapitel 2.3.1.2 beschrieben. Das Mycel wurde durch einen Büchnertrichter (Filter: Schleicher & Schuell 595, Ø 90 mm) abfiltriert und auf dem Filter bei -21 °C eingefroren. Nach 24 Stunden war das Mycel ausreichend gefroren, so dass es lyophilisiert werden konnte. Das Mycel verblieb in der Anlage (Christ Alpha I 5) bis zur vollständigen Trocknung (ein bis zwei Tage). Anschließend wurde das Mycel vom Filter genommen und in flüssigem Stickstoff gemörsert. Die Lagerung bis zu weiteren Untersuchungen erfolgte in Glasröhrchen bei -21 °C.

2.4.3.2 Puffer und Lösungen

Für die Extraktion der DNA wurden die in Tab. 4 aufgeführten Puffer und Lösungen angesetzt.

Tab. 4: Für die Genomuntersuchungen verwendete Puffer und Lösungen

Extraktions-Puffer
50 mM Tris HCl
50 mM EDTA
3 % SDS
1 % 2-Mercaptoethanol
pH 8,0
TE 1
10 mM Tris HCl
1 mM EDTA
pH 8,0
TE 2
10 mM Tris HCl
0,1 mM EDTA
pH 8,0

2.4.3.3 DNA-Extraktion

Das in Kapitel 2.4.3.1 gewonnene Pilzmaterial wurde anschließend für die Extraktion verwendet.

Hierfür wurden die Protokolle von Lee et. al. (1988) und Raeder (1985) wie folgt abgewandelt:

- Ca. 20 mg von lyophilisiertem und in flüssigem Stickstoff gemörsertem Mycel in 1,5 ml Eppendorf-Gefäße (E-Cups) einwiegen.
- 750 µl Extraktionspuffer zugeben. 7,5 µl 2-Mercaptoethanol dazu pipettieren. 1 Stunde bei 65 °C im Wasserbad inkubieren. Während dieser Zeit mehrmals kräftig schütteln.
- 700 µl Chloroform:Phenol (1:1 (w/w)) zugeben und solange schütteln bis sich beide Phasen durchmischt haben.
- Zentrifugation 15 min bei 15000 g und 4 °C (Beckman Allegra 21 R, Rotor F2402H).
- Obere, wässrige Phase abnehmen und in neues E-Cup überführen und 15 min bei 37 °C inkubieren.
- 700 µl Chloroform:Phenol (1:1 (w/w)) zugeben und solange schütteln bis sich beide Phasen durchmischt haben. Zentrifugation 15 min bei 15000 g und 4 °C.
- Obere, wässrige Phase in ein neues E-Cup überführen. 700 µl Chloroform/Isoamylalkohol (49:1 (v/v)) zugeben. Kräftig schütteln.
- Zentrifugation 5 min bei 15000 g und 4 °C. Obere, wässrige Phase in ein neues E-Cup geben. 20 µl 3 M NaOAc zugeben. Lösungen gut durchmischen. E-Cup mit eiskaltem Isopropanol auffüllen. Vorsichtig schwenken! E-Cups für 15 min in Eis stellen, danach noch einmal kurz schwenken.
- Zentrifugation 15 min bei 15000 g und 4 °C. Überstand abgießen. Pellet mit 70 %igem Ethanol waschen und anschließend in der SpeedVac® (SpeedVac Plus SC110 A Savant) trocknen. Pellet

in 300 µl TE 1 lösen (mehrmals schütteln). Wenn sich das Pellet nicht löst, das Reaktionsgefäß 10-15 min bei 65 °C im Wasserbad inkubieren.

- 10 µl 3M NaOAc zugeben und mischen. E-Cup mit 100 %igen eiskaltem EtOH auffüllen. Vorsichtig schwenken! E-Cups für 15 min in Eis stellen. Anschließend Zentrifugation 15 min bei 15000 g und 4 °C.

- Üöberstand abgießen. Pellet mit 70 %igen eiskaltem EtOH waschen, danach trocknen (Speedvac®).

- DNA in 300 µl TE 2 aufnehmen und schütteln bis sich das Pellet gelöst hat. Eventuell wieder 10-15 min bei 65 °C im Wasserbad inkubieren, um das Pellet zu lösen.

- Bestimmung der DNA Qualität und Quantität mit Photometer (2.4.3.4).

- Lagerung bis zur weiteren Untersuchung bei -21 °C. (Gutter, 2002)

2.4.3.4 Bestimmung der Qualität und Quantität der extrahierten DNA

Von der in Kap. 2.6.3 extrahierten DNA wird eine Verdünnungsreihe mit TE 2 hergestellt und die Absorption bei Strahlung der Wellenlänge von 230 nm, 260 nm und 280 nm im Photometer (Pharmacia LKB UltrosppBBCH III) gegen TE 2 gemessen. Verwendet wurden Quarzglasküvetten. Die Messwerte der Verdünnungen müssen zwischen 0,3 und 0,7 liegen, da sonst die Standardabweichung zu groß ist (Sauer et al., 1998). Die von der DNA-Lösung absorbierte Menge an UV-Strahlung ist ihrem DNA-Gehalt direkt proportional. Ein Absorptionswert von 1,0 entspricht einer Konzentration von 50 µg/ml doppelsträngiger DNA (Brown, 1996). Für jede Probe wurde eine Konzentration von 10 µg/ml errechnet und die Verdünnung hergestellt.

Für jeden PCR-Lauf wurden aus dieser Verdünnung 2 µl für die Reaktion eingesetzt, dies entspricht einer DNA-Menge von 20 ng.

Die Qualität wurde aus dem OD-Wert von A_{260}/A_{280} und A_{260}/A_{230} berechnet. Der Wert A_{260}/A_{280} sollte über 1,8 liegen, um die DNA für die PCR verwenden zu können. Kleinere Werte weisen auf Verunreinigungen mit Proteinen und Phenol hin (Brown, 1996). War der Wert kleiner, musste die DNA weiter aufgereinigt werden, da bereits Spuren von Phenol die PCR inhibieren können. Je nach Bedarf wurden die Schritte der Extraktion mit Chloroform:Isoamylalkohol (49:1 (v/v)) und die Ethanolpräzipitation wiederholt (Newton & Graham, 1994), bis das Verhältnis von A_{260}/A_{280} größer als 1,8 war. Das gleiche traf für den Wert A_{260}/A_{230} zu.

2.4.3.5 Polymerasekettenreaktion (PCR)

In einem 1,5 ml E-Cup wurden folgende Stoffe (Tab. 5) in folgender Reihenfolge pipettiert:

Puffer (Sigma P-2317), MgCl₂-Lösung (Sigma M-8787), Nucleotide (Advanced Biotechnologies Ltd., AB-0241), Primer (Tab. 5), Taq Polymerase (Sigma D-4545), demin. Wasser. Dies wurde

gut gemischt und anschließend zentrifugiert, damit sich das Präzipitat vollständig am Boden des E-Cups befand. In jedes 200 µl PCR-Reaktionsgefäß kamen dann 18 µl dieser Lösung. Zu diesen 18 µl wurden 2 µl der zu untersuchenden DNA pipettiert, durch Aufziehen mit der Pipette gemischt und anschließend in den Thermal-Cycler gestellt.

Bei jedem PCR-Lauf gab es eine Kontrolle. Diese bestand aus allen Reaktionspartnern ohne DNA (No Template Control NTC). Statt der 2 µl DNA-Lösung wurde Wasser verwendet, mit dem der Reaktionsansatz verdünnt wurde.

Tab. 5: Reaktionsansatz (Stoffe und Konzentrationen) für die PCR.

Konzentration	Stoff
x1	Puffer
0,2 mM	dNTP
2,0 mM	MgCl ₂
0,5 µM	Primer
1,0 Units	Taq
20 ng	DNA
ad 20 µl	Wasser

Für die Untersuchungen wurde ein Primer-Kit für RAPDs (Kit A [ABA], Nr. 52611) (Tab.6) der Fa. Biomol verwendet. In jeder Reaktion wurde nur ein Primer eingesetzt. Folgende Primer wurden getestet.

Tab.6: Basensequenz der eingesetzten Primer (Biomol Primer Kit for RAPD's, Kit A No: 52611).

ABA 01 CAGGCCCTTC	ABA 02 TGCCGAGCTG	ABA 03 AGTCAGCCAC	ABA 04 AATCGGGCTG	ABA 05 AGGGGTCTTG
ABA 06 GGTCCCTGAC	ABA 07 GAAACGGGTG	ABA 08 GTGACGTAGG	ABA 09 GGGTAACGCC	ABA 10 GTGATCGCAG
ABA 11 CAATCGCCGT	ABA 12 TCGGCGATAG	ABA 13 CAGCACCCAC	ABA 14 TCTGTGCTGG	ABA 15 TTCCGAACCC
ABA 16 AGCCAGCGAA	ABA 17 GACCGCTTGT	ABA 18 AGGTGACCGT	ABA 19 CAAACGTCGG	ABA 20 GTTGCGATCC

2.4.3.5.1 PCR-Programm

Für die Polymerasekettenreaktion wurde ein Thermal-Cycler von Biometra (T-Gradient) verwendet.

Mitentscheidend für den Erfolg einer PCR ist die optimale Hybridisierungstemperatur. In Vorversuchen wurde ein Temperaturbereich ermittelt, in dem die Primer in der Lage waren, an die komplementären Basen zu binden und es somit zu einer Polymerisationsreaktion kam. Dieser Temperaturbereich lag zwischen 34 und 40 °C. Zur Ermittlung der optimalen Temperatur wurde ein Gradient in dem ermittelten Temperaturbereich gefahren (Tab.7). Die Konzentrationen der Reaktionspartner und sonstige Bedingungen waren in allen Reaktionsgefäßen identisch. Das Temperaturprofil entsprach, außer der Hybridisierungstemperatur, der in Tab. 7.

Tab. 7: Verwendete Temperaturen im Bereich von 32 bis 40 °C bei der Optimierung der PCR.

Reaktionsgefäß	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Temperatur [°C]	32,0	32,2	32,7	33,6	34,6	35,5	36,5	37,4	38,4	39,2	39,8	40,0

Mit dem Ergebnis der Optimierung wurde folgendes Temperaturprofil, abgewandelt nach Innis et al. (1990), für den Ablauf der Reaktion programmiert (Tab. 8).

Tab. 8: Verwendetes Temperaturprofil für die PCR.

Schritt	Temperatur	Zeit
1	95 °C	5 min
2	94 °C	1 min
3	38,4 °C	45 sec
4	72 °C	90 sec
5	72 °C	5 min
6	4 °C	Ende

Nach Schritt fünf war eine Schleife programmiert, so dass die Schritte zwei bis fünf, 31-mal wiederholt wurden. Insgesamt wurden also 32 Zyklen durchlaufen. Nach Abschluss des letzten Zyklus und Erreichen von 4 °C wurde entweder sofort das Agarosegel beladen oder die Proben bei -21 °C bis zur weiteren Untersuchung eingefroren.

2.4.3.6 Agarosegelelektrophorese

In 120 ml 0,5-mal TBE (Tris-Borate-EDTA Puffer) wurde 1,2% Agarose (Agarose für die analytische Nucleinsäureelektrophorese, Merck 1.01236.0100) in einen 500 ml Erlenmeyerkolben gegeben und in der Mikrowelle 30 sec mehrmals bis zum Sieden erhitzt. Wenn sich die Agarose vollständig gelöst hatte, wurde die entwichene Flüssigkeit durch demin. Wasser ersetzt. Nach Abkühlung auf ca. 55 °C konnte die Agarose in die Gelform gegossen und der Kamm eingehängt werden. Nach ca. 30 min war das Gel fest und konnte in die Elektrophoreseeinheit (Hoefler Submarine Agarose Gel Unit, HE 99) gelegt werden, die mit 0,5 x TBE als Puffer gefüllt war.

Der Puffer wurde zuvor mindestens 12 h im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt und diente zur Kühlung während der Elektrophorese, um ein ungleichmäßiges Wandern der Banden ("Smile"-Effekt) zu verhindern (Alphey, 1997).

Zu 20 µl PCR-Probe kamen 2 µl einer 30 % igen Saccharose-Lösung. Durch Aufziehen mit der Pipette wurden die beiden Lösungen gemischt. Anschließend wurden die so behandelten Proben in die Taschen des Gels pipettiert. Ein Gel hatte 15 Taschen, in die 13 Proben kamen. Mit aufgetragen wurde in den beiden Außenbahnen je ein DNA Längenstandard (Sigma D-7058), bestehend aus 16 Fragmenten (Abb. 10). Insgesamt wurden zur Auftrennung aller Proben (*Sclerotinia*, *Fusarium* und NTC) drei Gele verwendet.

Das Gel wurde bei einer konstanten Spannung von 125 V und variabler Stromstärke gefahren (Pharmacia Biotech EPS 600/Electrophoresis Power Supply). Nach ca. 90 min. waren die Banden ausreichend getrennt, dass man das Gel färben und auswerten konnte.

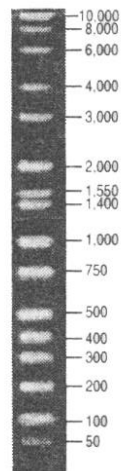


Abb. 10: Längenstandard D-7058 (Sigma) mit 16 Fragmenten
(10; 8; 6; 4; 3; 2; 1,55; 1,4; 1; 0,75; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 und 0,05 kb)

2.4.3.6.1 DNA-Färbung

Das Gel wurde 10-20 min in einer Ethidiumbromidlösung (1000 µg/ml, Sigma E-8751) auf dem Schüttler gefärbt. Anschließend wurde das Gel in demin. Wasser 15 min. entfärbt, um auch die schwachen Banden deutlich vom Hintergrund unterscheiden zu können (Sambroock et al. 1989).

2.4.3.6.2 Dokumentation und Auswertung der Nukleinsäuregele

Mit Hilfe einer Geldokumentationsanlage (MWG-BIOTECH, Gesellschaft für angewandte Biotechnologie mbH) erfolgte die Auswertung. Das Gel wurde mit Strahlung der Wellenlänge 254 nm durchleuchtet und mit einer Kamera (CCD-Chip, Rainbow TV Zoom Lens S6XII-II) digitalisiert. Als Software zur Aufnahme wurde PhotoFinish V 3.0 verwendet. Die weitere Bearbeitung der digitalisierten Gele erfolgte mit RFLPScan V 3.21 und die Speicherung der Daten in einer Datenbank mit RFLP DB V 3.21. Mit dieser Datenbank wurden auch die für die Dendrogramme benötigte 0/1-Matrix generiert. Die Dendrogramme wurden mit Treecon V 1.2 (Van De Peer & De Wachter, 1994) erstellt. Die Bilder zum Druck wurden mit Corel PhotoPaint 7.0 SE bearbeitet. Durch die Vielzahl der Proben mussten für jeden Primer vier Gele gefahren werden. Über den Längenstandard konnte für jede Bande die Anzahl der Basenpaare bestimmt werden, die in der Datenbank gespeichert und dann in einem schematisierten Gel zusammengefasst wurden.

So konnten die vier Gelläufe zu einer Grafik (Beispiel s. Tab.29) zusammengefasst werden. Für die 0/1-Matrix wurde die Anzahl der Basenpaare der Banden verglichen und so genannte Bins gebildet. Hierbei wurde mit einer Toleranz von 2 % gerechnet. Alle Banden, die in diesem

Toleranzbereich lagen wurden als gleiche Bande angesehen und verrechnet. Hat eine *Sclerotinia*-Herkunft in diesem Bereich eine Bande, erhält sie eine 1 in der Matrix, ansonsten eine 0, bzw. in den Tabellen (Tab. 29 und Tab. 54 bis Tab. 60) ein „+“ für eine vorhandene Bande und ein „-“, wenn keine Bande vorhanden war. Ein Bin entspricht der Position der Gelbände nach der Verrechnungs-Analyse der gesamten DNA-Proben. Jedes Bin entspricht einem bestimmten Merkmal.

2.5 Untersuchung der Rapssorten und Zuchtlinien

Um die Sortenreaktion auf den Befall mit *S. sclerotiorum* zu erfassen, wurden insgesamt 80 Rapssorten und 66 Rapszuchtlinien (Tab. 48) einer Resistenzuntersuchung mit dem unter Kap. 2.3 beschriebenen Blatttest im Labor unterzogen.

Für die Inokulation wurden die *Sclerotinia*-Herkünfte MZ und M01 verwendet. Die genaue Durchführung des Versuches wurde in Kap. 2.2 beschrieben. Alle untersuchten Rapssorten wurden in der Klimakammer bei 18 °C angezogen. Jede Variante wurde 20fach wiederholt. Das dritte Laubblatt wurde in dem Entwicklungsstadium BBCH 14-15 für die Untersuchung verwendet. Die nach erfolgreicher Infektion entstandenen Läsionen wurden täglich nach der Inokulation ausgemessen.

2.6 Untersuchungen der Hemmwirkung von Rapsfungiziden gegen *S. sclerotiorum* unter kontrollierten Bedingungen

2.6.1 Mycelwachstums-Test

Die Rapsfungizide Cantus, Caramba und Folicur wurden auf ihre Wirkung im Mycelwachstumstest von *S. sclerotiorum* *in vitro* geprüft.

Die Untersuchungen der Dosis-Wirkungs-Beziehungen der in Tab. 9 genannten Fungizidwirkstoffe auf das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum* erfolgte in steigenden Konzentrationen. Geprüft wurde das *in vitro*-Wachstum bei den in Tab. 10 aufgeführten Konzentrationen.

Tab. 9: Verwendete Wirkstoffkonzentration auf Wirkstoffbasis zur Prüfung der Hemmung des Mycelwachstums von *S. sclerotiorum*

Cantus	AS: Boscalid
0 ppm, 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm und 100 ppm	
Caramba	AS: Metconazol
0 ppm, 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm und 100 ppm	
Folicur	AS: Tebuconazol
0 ppm, 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm und 100 ppm	
AS-Wirkstoff, 0 ppm-Kontrolle	

Als Nährmedium diente PDA, dessen pH-Wert auf 6 eingestellt wurde. Die Fungizidzugabe erfolgte nach dem Autoklavieren bei ungefähr 50 °C unter sterilen Bedingungen. Nach dem

Erkalten wurden die Petrischalen (Fa. Greiner bio-one, Ø 8,4 cm) mit einem 2-3 Tage alten mycelbewachsenem Agarstück von 6mm Durchmesser beimpft. Die Mycelseite wurde nach unten auf die PDA-Fungizid-Platten gelegt. Für alle Versuche wurden exemplarisch die Herkünfte M01, MZ und F506 verwendet. Bis zur Prüfung des Wachstums nach 24 h, 48 h, 72 h, 98 h und bis zu 15 Tagen blieben die beimpften Petrischalen bei Raumtemperatur (22 °C) und Dunkelheit. Das radiale Mycelwachstum wurde an jeweils vier Kulturen pro Isolat ausgemessen.

2.6.2 Ascosporen -Keimtest

Verwendet wurden die Ascosporen der Herkunft M99 aus Merklingsen von Raps. Die Fungizide Cantus, Caramba und Folicur wurden in einer Verdünnungsreihe in den folgenden Konzentrationen: 0,1, 0,5, 1, 10 und 100 ppm eingesetzt. Dazu wurde eine Stammlösung von 200 ppm zuvor angesetzt und daraus eine Verdünnungsreihe hergestellt.

Als Feuchtekammer dienten Petrischalen (Ø 14cm, Fa. Greiner) mit nassem ausgelegten Saugpapier, darauf wurden zwei Glasstäbe gelegt, damit die Objektträger darauf quer abgelegt werden konnten.

Die gesammelten Ascosporen wurden wie in Kap. 2.3.6.2 beschrieben in H₂O suspendiert. Die Konzentration der Ascosporensuspension wurde mittels Fuchs-Rosenthal-Zählkammer unter dem Licht-Mikroskop (Zeiss 10x20) ermittelt.

Keimung und die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimhyphen wurden untersucht. Die Ascosporensuspensionen wurden mit demin. Wasser hergestellt und auf 2×10^5 Ascosporen ml⁻¹ eingestellt. Die Inkubation erfolgte bei Raumtemperatur (24 °C) und in Dunkelheit.

Die mit Konidien-Fungizid-Mischungen beimpften Objektträger wurden mit dem Suspensions-tropfen nach unten auf den Glasstäben platziert.

Nach 24 Stunden bei Raumtemperatur wurden die Keimung von 100 Ascosporen mit dem Lichtmikroskop nach 12 und 24 h ermittelt und der Anteil gekeimter Sporen bestimmt. Pro Isolat wurden drei Keimproben in dreifacher Wiederholung durchgeführt.

2.6.3 Untersuchung zur protektiven und kurativen Wirkung der Fungizide auf Weißstängeligkeit in der Klimakammer:

Für diese Untersuchung wurden die *S. sclerotiorum*-Herkünfte MZ und M01 und die Fungizide Cantus, Caramba und Folicur verwendet. Die Vorbereitung des Pflanzenmaterials und die Inokulation und Behandlungen erfolgten wie in der Tab. 10 beschrieben.

In Klimakammeruntersuchungen wurden jeweils 3 verschiedene Aufwandmengen mit 100 %, 75 % und 50 % der Präparate auf ihre protektive und kurative Wirkung vergleichend geprüft.

Die Behandlung wurde vor oder nach Inokulation je nach Versuchsfrage mit einem Druckluftzerstäuber gleichmäßig auf die Blätter aufgebracht, bis sie tropfnass waren.

Anschließend wurden sie mit einer transparenten farblosen Haube (Minigewächshaus) abgedeckt, um ein Eintrocknen des Inokulums zu verhindern. Die weitere Kultivierung wurde in einer Klimakammer bei einer Tag-/Nachttemperatur von 17/12 °C durchgeführt. Die 14stündige Beleuchtung (Tag) erfolgte mit seitlicher Beleuchtung (Osram L 58 W/31).

Tab. 10: Versuchsaufbau zur Prüfung der protektiven und kurativen Wirkung der Fungizide gegenüber *S. sclerotiorum* im Blatttest (DLT)

Pflanzenmaterial	Pflanzen im 3. bis 5. Laubblattstadium, Entnahme des 2. oder 4. Laubblattes
Inokulationsmaterial	<i>S. sclerotiorum</i>
Infektionsmethode	25µl Mycelsuspension wurde Oberfläche der Laubblätter pipettiert.
Inkubation	Bei 14/10 h Tag/Nachtrhythmus und 17/10 °C, Lufttemperatur, in Feuchtkammer bei ca. 100% Luftfeuchte (5000Lux).
Behandlung	Protektivwirkung: Applikation 1, 2, 4 und 5 Tage vor Inokulation. Kurativwirkung: 1, 2, 4 und 5 Tagen nach Inokulation werden die infizierten Laubblätter mit den Präparaten (Cantus, Caramba und Folicur) mit den Aufwandmengen 100%, 75% und 50% pro ha gesprüht.
Bonitur	Nach 2 bis 3 Tagen wurde täglich Durchmesser der Läsionen/Flecke auf den Blättern gemessen.

2.7 Untersuchung zur Wirkung des parasitischen Pilzes *Coniothyrium minitans* unter kontrollierten Bedingungen und im Feld

Für Untersuchungen zur Wirkung des parasitischen Pilzes auf *S. sclerotiorum* wurden das Produkt Contans und das aus dem Versuchsgut isolierte Isolat von *Coniothyrium minitans* verwendet.

2.7.1 Dualkultur-Mycelwachstumstest

Um die in vitro-Hemmwirkung der *Coniothyrium*-Isolate gegenüber *S. sclerotiorum* zu prüfen, wurde der Dualkultur-Agarplattentest auf PDA durchgeführt. Der Antagonist wurde auf einer Seite einer PDA-Platte strichförmig aufgetragen und inkubiert. Nach 2 Tagen wurde gegenüber der anderen Seite des Impfstrichs in 30 mm Entfernung je ein ausgestochenes Mycel-Agarscheibchen (Ø 6 mm) von *S. sclerotiorum* aufgesetzt. Als *Sclerotinia*-Herkünfte wurden MZ und M01 verwendet. Als Kontrolle dienten Platten ohne Antagonist. Die Kultur erfolgte bei 24 °C und 15 °C. Wenn die Pilzkolonien auf diesen Kontrollplatten nach ca. 10 Tagen in der Mitte zusammengewachsen waren, wurde der Hemmhof zwischen dem Antagonisten und der Koloniefrent von *S. sclerotiorum* gemessen.

Zusätzlich wurden die gebildeten Sclerotien 30 Tage nach der Dualkultur jede zweite Woche 20 Sclerotien aus den Platten entfernt und direkt auf PDA-Platten aufgesetzt. Keimung und Wachstum der Sclerotien wurden untersucht.

2.7.2 Sclerotien-Test

Die Untersuchung zur Wirkung auf die Abtötung der Sclerotien wurde im Labor durchgeführt. Hierzu wurden die auf PDA vermehrten Sclerotien des Isolates M01 verwendet. Die Sclerotien wurden entweder 5 min in die Konidiensuspension von *C. minitans* eingetaucht oder durch Spritzung die Konidiensuspension wurde nach Vergraben der Sclerotien in die Gefäße auf die Einheitserde gesprüht. Die Kontrolle erfolgte ohne Behandlung.

2.7.3 Untersuchung der Wirkung von *C. minitans* auf die Keimung von *Sclerotinia*-Sclerotien im Feld

Im Winter wurden je Wiederholung 100 Sclerotien 5 min in eine Konidiensuspension von *C. minitans* getaucht und auf einer Rapsfläche von einem Quadratmeter ausgelegt oder sie wurden nach dem Auslegen auf den Boden mit der Konidiensuspension besprüht. Als Kontrolle wurden 100 Sclerotien direkt auf einer separaten Rapsfläche verteilt.

Ermittelt wurde die Anzahl der Apothecien während der Blütezeit.

2.8 Feldversuche

2.8.1 Versuchsstandort

Feldversuche wurden auf den Versuchsgut Merklingsen, Fachhochschule Südwestfalen (Universität-GH Paderborn, bis 2001), Soest durchgeführt.

2.8.2 Untersuchung zu Erregervariabilität und Sortenreaktion

Die Untersuchung der Erregervariabilität von 42 *Sclerotinia*-Herkünften wurde 2001/2002 auf dem Versuchsgut Merklingsen mit der Rapsorte (Artus (H) und Express (L)) zu Anfang der Blüte durch Zahnstocherinokulation durchgeführt. Für die Untersuchungen auf Erregervariabilität und Sortenreaktionen wurden zu Beginn der Rapsblüte (BBCH 60) die Rapspflanzen am Haupttrieb in ca. 30 cm Höhe mit einem Zahnstocher, bewachsen (Liu und Brun, 1993) mit *S. sclerotiorum*, in zwei Reihen (n=30) mit 42 Herkünften in zwei Wiederholungen (insgesamt 2520 Rapspflanzen) infiziert.

2.8.3 Untersuchung der Anfälligkeit von 14 Rapsorten

Auf dem Versuchsgut des Fachbereichs Agrarwirtschaft der Universität-GH Paderborn in Merklingsen wurde ein vergleichender Sortendemonstrationsversuch mit der Parzellengröße von 112,5 m² (15,0 x 7,5 m netto) mit 14 Winterrapsorten (Tab.11) zur Ertragsleistung von Linien- und Hybridsorten angelegt.

Tab. 11: Verwendete Winterrapsorten in 2001/2002

Linienarten	Hybridesorten
Capitol	Artus
Cantinka	Elektra
Contact	Libretto
Express	Maja
Laser	Talent
Licondor	
Lion	
Mohican	
Prince	

Vor der Ernte (BBCH 80) wurde der Befall je Sorte von 120 Pflanzen (20x6) W-förmig nach dem Boniturschema (Tab.12) ermittelt.

Tab. 12: Boniturschema zur Bewertung des Weißstängeligkeitbefalls von Pflanzen im Feld

Note	Beschreibung
1	Gesund
2	nur ein Blatt oder eine Schote befallen
3	mehr als zwei Blätter befallen oder leichter Befall eines Nebentriebs
4	Haupttriebebefall, Fleckenlänge < 1 cm oder mehrere Nebentriebe befallen
5	Haupttriebebefall, Fleckenlänge < 5 cm und noch nicht Stängel umfassend
6	Haupttriebebefall, Flecken Stängel umfassend Pflanze noch vital
7	Haupttriebebefall, 50% der Pflanze abgestorben
8	Haupttriebebefall, obere Pflanze abgestorben
9	Pflanze tot

2.9 Untersuchungen zur Wirkung von Fungiziden auf Weißstängeligkeit und Ertrag im Feld

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit dem Einsatz von unterschiedlichen Aufwandmengen und Terminierungen des Fungizideinsatzes und deren Effektivität im Winterraps über vier Versuchsjahre. Die Termine für die Schadensbeurteilung und für die Wirksamkeit einer getroffenen Fungizidmaßnahme sind in den entsprechenden Tabellen dargestellt.

Standort

Als Versuchsanlage wurde jährlich eine Blockanlage in vier Versuchsjahren auf dem Versuchsgut Merklingsen des FB Agrarwirtschaft der UGH-Paderborn / FH-Südwestfalen angelegt.

2.9.1 Feldversuch I im Versuchsjahr 1999/2000

Zur Untersuchung der Wirkungsweise des neuen Wirkstoffs Metconazol (Caramba) auf Winterraps wurde auf dem Versuchsgut der Universität Paderborn, Abteilung Soest, in Merklingsen ein Feldversuch in 1999 angelegt. Geplant war zunächst eine zweijährige Versuchsdauer.

Es wurden 3 unterschiedliche Aufwandmengen (1/1, 3/4 und 1/2 der vollen Aufwandmenge) des Triazolfungizids Caramba mit 4 verschiedenen Applikationsterminen (zwei im Herbst, zwei im Frühjahr) zu 14 Varianten inklusive der Kontrolle ohne Behandlung durchgeführt. Zur Aussaat wurde die Liniensorte Lirajet verwendet.

Die Parzellengröße betrug 12 m² mit einer Kernbeerntung (10 m²). Als Versuchsumfang wurden 5 Wiederholungen angelegt; vier Wiederholungen dienten der Bonitur im Freiland, eine Wiederholung diente als ‚Rupfparzelle‘ zur Entnahme von Pflanzenmaterial für Laborbonituren. Die 14 Varianten (Tab.13) beinhalteten 4 verschiedene Applikationstermine von Caramba (zwei Herbsttermine und zwei Frühjahrstermine) mit 3 unterschiedlichen Aufwandmengen (1/1, 3/4 und 1/2 der vollen empfohlenen Aufwandmenge).

Tab. 13: Aufwandmengen und Applikationstermine der Fungizide Caramba und Folicur in den Versuchsjahren 1999/2000 und 2000/2001

Variante	Präparat	l/ha	Termin	Entwicklungsstadium
1	Caramba	1,5	Herbst 1	BBCH 15-16
2	Caramba	1,0	Herbst 1	BBCH 15-16
3	Caramba	0,7	Herbst 1	BBCH 15-16
4	Caramba	1,5 / 1,5	Herbst 2/Frühjahr 1	BBCH16-18/39-59
5	Caramba	1,0 / 1,0	Herbst 2/Frühjahr 1	BBCH16-18/39-59
6	Caramba	0,7 / 0,7	Herbst 2/Frühjahr 1	BBCH16-18/39-59
7	Caramba	1,5 / 1,5	Herbst 2/Frühjahr 2	BBCH16-18/65
8	Caramba	1,0 / 1,0	Herbst 2/Frühjahr 2	BBCH16-18/65
9	Caramba	0,7 / 0,7 / 1,0	Herbst 2/Frühjahr 1/Frühjahr 2	BBCH16-18/39-59/65
10	Folicur	1,0	Herbst 1	BBCH 15-16
11	Folicur	1,0 / 1,0	Herbst 2/Frühjahr 1	BBCH16-18/39-59
12	Folicur	1,0 / 1,0	Herbst 2/Frühjahr 2	BBCH16-18/65
13	Folicur	0,5 / 0,5 / 0,7	Herbst 2/Frühjahr 1/Frühjahr 2	BBCH16-18/39-59/65
14	Kontrolle	-	-	

2.9.1.1 Bonituren im Feld

Die Bonituren erfolgten an sechs Terminen: Rosette vor Winter, nach Winter/Frühjahr, zur Blüte, Schotenbildung, vor Ernte und nach Ernte (Tab.14).

Tab. 14: Boniturtermine, Feld- und Laborbonituren sowie Termine der Fungizidmaßnahmen (1999/2000)

Bonitur, Datum/Entwicklung	Ort der Bonitur	Boniturokriterien Fungizidmaßnahmen
Bonituren vor Winter		
16.09.99 Herbst 1 (4-5 Blattstadium)	Feld	Auflaufrate
		20.10.99 Herbst 1 (4-5 Blattstadium)
13.10.99 5-7 Blattstadium	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
		03.11.99 Herbst 2 (7-8 Blattstadium)
03.11.99 Herbst 2 (6-7 Blattstadium)	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
15.12.00 Rosette vor Winter	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
15.12.00 Rosette vor Winter	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonituren Frühjahr		

13.03.00 Rosette nach Winter	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
13.03.00 Rosette nach Winter	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonituren zur Blüte		
		23.03.00 Frühjahr I (Ende Knospe)
26.04.00 Blüte	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
26.04.00 Blüte	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonituren Schotenbildung		
		27.04.00 Frühjahr (Blüte)
24.05.00 Beginn Schotenbildung	Labor	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
24.05.00 Beginn Schotenbildung	Feld	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonitur nach Sturm		
05.06.00	Feld	Pflanzenentwicklung (Lager)
Bonitur zur Abreife		
19.06.00	Feld	Krankheiten (gegen <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)
Bonituren vor Ernte		
04.07.00 Bonitur vor Ernte	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung,
30.06.00 Bonitur vor Ernte	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen (Schotenparameter)
Erträge		
Ertrag	Labor	Trockenmasse 91%

Zu diesen Terminen wurden folgende Boniturparameter ermittelt: Die Parameter der Pflanzenentwicklung (Präparateffekte, Lagerneigung und Pflanzenzustand), pflanzenmorphologische Parameter (Wurzellänge, Hypocotyl Durchmesser und Pflanzenlänge) und die Schotenparameter (Anzahl des ersten und zweiten Nebentriebs, Anzahl der Schoten, Schotenlänge und die Anzahl der Samen pro Schote). Weiter wurden die Kornerträge und das Tausendkorngewicht ermittelt. Zusätzlich wurden zu allen Boniturterminen die aufgetretenen Krankheiten erfasst (Tab.14).

Die Boniturtermine, die entsprechenden Entwicklungsstadien des Rapses und die entsprechenden Boniturstadien sind Tab. 14 zu entnehmen.

2.9.1.2 Bonituren im Labor

Zur Bonitur im Labor wurden 20 Pflanzen W-förmig je Parzelle (Rupfparzellen) zur Weiterbearbeitung im Labor entnommen. Vor dem Bonitieren wurden die Pflanzen entsprechend vorbereitet (Waschen, trennen von Wurzel und Spross). Für jede Pflanze wurde Vorkommen, Häufigkeit und Schwere der Weißstängeligkeit bonitiert, sowie andere Krankheiten, Wurzellänge, die Anzahl der Blätter, Pflanzenlänge, Frisch- und Trockenmasse erfasst.

Außerdem wurden vor der Ernte Schotenparameter Anzahl der Nebentriebe, die Haupttrieblänge und die Anzahl der Körner des Haupttriebes, die Anzahl der Körner je Schote ausgewertet.

2.9.2 Feldversuch II im Versuchsjahr 2000/2001

Im Anbaujahr 2000/2001 wurde der Versuch aus 1999/2000 in gleicher Weise mit der Sorte Express wiederholt. Der Versuch war wie in

Tab. 13 beschrieben angelegt. Die Größe jeder Einzelparzelle betrug allerdings 13,5 m² (2,25 x 6 m). Die Beerntung erfolgte als Kerndrusch (2 x 5 m) am 23.07.2001.

Die Boniturtermine und Boniturstadien sowie die entsprechenden Entwicklungsstadien des Rapses sind Tab. 15 zu entnehmen.

Tab. 15: Boniturtermine, Feldbonituren und der Laborbonituren sowie die Termine der Fungizidmaßnahmen in 2000/2001

Bonitur, Datum/Entwicklung	Ort der Bonitur	Boniturstadien Fungizidmaßnahmen
Bonituren vor Winter		
Aussaat 25.08.00		
Auflaufbonitur 14.09.00	Feld	Auflaufrate
		29.09.2000 Herbst 1 (5 Blattstadium)
Inokulation mit grob gehäckselten <i>Phoma</i> - Stoppeln 04.10.00 (6-7 Blattstadium)		
19.10.00 Herbst 1 (6-8 Blattstadium)	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
19.10.00 Herbst 1 (6-8 Blattstadium)	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
		18.10.2000 Herbst 2 (6-8 Blattstadium)
08.11.2000 Herbst 2 (10-11 Blattstadium)	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
08.11.00 Herbst 2 (10-11 Blattstadium)	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
14.12.00 Rosette vor Winter (BBCH 19)	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
14.12.00 Rosette vor Winter (BBCH 19)	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonituren Frühjahr		
20.03.01 Rosette nach Winter	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
20.03.01 Rosette nach Winter	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonituren zur Blüte		
		23.04.2001 Frühjahr 1 (BBCH 59/61)
03.05.01 Vollblüte	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
04.05.01 Vollblüte	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonitur zur Abreife		
		11.05.2001 Frühjahr 2 (Blüte)
05.06.01 Beginn Abreife	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
05.06.01 Beginn Abreife	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Lagerbonitur		
05.07.01	Feld	Pflanzenentwicklung (Lager)
Bonituren vor Ernte		
16.07.01 Bonitur vor Ernte (BBCH 71-73)	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung,
18.07.01 Bonitur vor Ernte (BBCH 71-73)	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen (Schotenparameter)
Erträge		
		Ernte 23.07.2001
Ertrag	Labor	Trockenmasse 91%

2.9.3 Feldversuch III im Versuchsjahr 2001/2002

Es wurde ein vergleichender Sortenversuch mit den Sorten Artus (Hybridsorte) und Express (Liniensorte) angelegt.

Als Versuchsanlage wurde eine Blockanlage mit 5 Wiederholungen und 8 Fungizidvarianten gewählt (Tab. 16). Vier der fünf Wiederholungen dienten der Erfassung von Boniturparametern im Freiland; die fünfte Wiederholung wurde zur Entnahme von Pflanzenmaterial, welches für die Bonitur im Labor bestimmt war, verwendet.

Tab. 16: Versuchsanlage und Behandlungszeitpunkte im Versuchsjahr 2001/2002

Varianten	Faktor	16.10.01 BBCH 14 - 16	25.03.02 BBCH 37	23.04.02 BBCH 61	02.05.02 BBCH 65
1	1.1.				Cantus
2	1.2.	Caramba		Caramba +Cantus	
3	1.3.	Caramba	Caramba		Cantus
4	1.4.	Caramba		Caramba +Cantus	
5	1.5.	Folicur	Folicur		Cantus
6	1.6.	Folicur	Folicur		Folicur + Dersal
7	1.7.	Folicur			Folicur + Dersal
8	1.8.	Kontrolle	Kontrolle	Kontrolle	Kontrolle

Versuchsanlage: Blockanlage, n = 5

Die 8 Varianten beinhalteten 2 verschiedene Applikationstermine von Caramba (einen Herbst- und einen Frühjahrstermin) mit 2 unterschiedlichen Aufwandmengen (100 % und 66,6 % der empfohlenen Aufwandmenge) sowie einen Frühjahrstermin Caramba + Cantus und als 4. Behandlungstermin nur Cantus. Als Vergleichsmittel wurde Folicur bzw. Folicur + Dersal eingesetzt. Die Aufwandmengen wurden den Entwicklungsstadien der Sorten angepasst (Tab. 17).

Tab. 17: Aufwandmengen und Applikationstermine der Versuche in 2001/2002

mit der Hybridsorte Artus

Variante	Herbst BBCH 14-16	Frühjahr BBCH 37	Beginn-Blüte BBCH 61	Vollblüte BBCH 65
1				Cantus 0,5 kg
2	Caramba 1,5 l		Caramba 1,0 l+Cantus 0,5 kg	
3	Caramba 1,5 l	Caramba 1,0 l		Cantus 0,5 kg
4	Caramba 0,7 l		Caramba 1,0 l+Cantus 0,5 kg	
5	Folicur 1,0 l	Folicur 1,0 l		Cantus 0,5 Kg
6	Folicur 1,0 l	Folicur 1,0 l		Folicur 0.5 l+Dersal 0.5 l
7	Folicur 0,5 l			Folicur 0.5 l+Dersal 0.5 l
8	Kontrolle			

mit der Liniensorte Express

Variante	Herbst BBCH 14-16	Frühjahr BBCH 37	Beginn-Blüte BBCH 61	Vollblüte BBCH 65
1				Cantus 0,5 kg
2	Caramba 1,5 l		Caramba 0.7 l+Cantus 0,5 kg	
3	Caramba 1,5 l	Caramba 0,7 l		Cantus 0,5 kg
4	Caramba 0,7 l		Caramba 0,7 l+Cantus 0,5 kg	
5	Folicur 1,0 l	Folicur 1,0 l		Cantus 0,5 Kg
6	Folicur 1,0 l	Folicur 1,0 l		Folicur 0.5 l+Dersal 0.5 l
7	Folicur 0,5 l			Folicur 0.5 l+Dersal 0.5 l
8	Kontrolle			

Die Boniturtermine, die entsprechenden Entwicklungsstadien des Rapses und die jeweiligen Boniturstadien sind Tab.18 zu entnehmen.

Tab. 18: Boniturtermine, Feldbonituren und Laborbonituren sowie Termine der Fungizidmaßnahmen in 2001/2002

Bonitur, Datum/Entwicklung	Ort der Bonitur	Boniturrkriterien Fungizidmaßnahmen
Aussaat 29.08.2001		
Bonituren vor Herbst		27.09.2001 Herbst (2-3 Blattstadium)
Auflaufbonitur 27.09.01 (BBCH 12/13)	Feld	Auflaufrate (2-3 Blattstadium), Krankheiten
Bonituren im Winter (BBCH 18/19)		31.01.02 im Winter (8-10 Blattstadium)
31.01.02 in Winter (8-10 Blattstadium)	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
01.02.02 in Winter (8-10 Blattstadium)	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonituren nach Winter (BBCH 32)		14.03.02 nach Winter
14.03.02 Rosette nach Winter	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
14.03.02 Rosette nach Winter	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonituren zu Blütebeginn(BBCH 60/61)		08.04.02 Frühjahr 1 (BBCH 60/61)
08.04.02 Blühbeginn	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
Inokulation durch Einstreuung von gehäckselten Rapspflanzen bewachsen mit <i>S. sclerotiorum</i> 12.04.02 (BBCH 61)		500g je Parzelle
Bonitur Anzahl offene Blüten		24.04.02 Blüte (BBCH 62)
24.04.02 Anzahl offene Blüten	Feld	Blütenaufgang am Haupttrieb
Inokulation mit Zahnstocher bewachsen mit <i>S. sclerotiorum</i> (Isolat-M01) 25.04.02 Vollblüte (BBCH 65)	Feld	Je Pazelle 20 Pflanzen
Inokulation durch Bestreuung von gehäckselten Rapspflanzen mit <i>S. sclerotiorum</i> 29.04.02	Feld	300g je Parzelle (Ende des Blütenaufgangs)
Bonitur zum Ende der Blüte		03.05.02 Frühjahr 2 (BBCH 65/69)
03.05.02 Ende der Blüte	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung
06.05.02 Ende der Blüte	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen
Bonituren auf <i>S. sclerotiorum</i>		28.05.02 Schotenbildung
28.-29.05.02 Schotenbildung	Feld	Schädigungen / Läsionen durch <i>S. sclerotiorum</i>
Bonituren vor Ernte		26.06.02
Bonitur vor Ernte (BBCH 87)	Feld	Krankheiten, Pflanzenentwicklung,
Bonitur vor Ernte (BBCH 87)	Labor	Krankheiten, pflanzenmorphologische Messgrößen (Schotenparameter)
Erträge		23.07.02
Ertrag	Labor	Trockenmasse 91%
Bonituren der Stoppelproben		02.08.02
	Feld	Krankheiten

2.9.4 Feldversuch IV im Versuchsjahr 2002/2003

Als Versuchsanlage wurde eine Blockanlage mit 4 Wiederholungen, 3 Beizvarianten (Tab. 19) und 6 Fungizidvarianten gewählt (Tab. 20). Alle vier Wiederholungen dienen zur Erfassung von Boniturparametern im Freiland. Es wurden keine Laborbonituren von Feldmaterial durchgeführt.

Tab. 19: Verwendeten Saatgutbeizen im Feldversuch 2002/2003

Beize	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3
B1	Standard	-	-
B2	Standard	DMM	-
B3	Standard	DMM	SAT 2002

Der Versuch wurde auf dem Versuchsgut des Fachbereichs Agrarwirtschaft der Fachhochschule Südwestfalen in Merklingsen als vergleichender Sortenversuch mit den Sorten Lion (L), Maja (H) und Debora (H) angelegt.

Die Versuchspartellen wurden als Doppelpartellen (à 3,0 x 7,5 m netto) (à 3,15 x 10,50 m brutto) angelegt. Es erfolgte eine Kernbeerntung von 1,25 x 7,5 m (entsprechend 9,375 m²) zur Erfassung des Ertrages.

Die 6 Varianten beinhalteten 2 verschiedene Applikationstermine von Caramba (einen Herbst- und einen Frühjahrstermin (BBCH 16-18 bzw. 51)) mit unterschiedlichen Aufwandmengen sowie zwei Frühjahrsterminen mit Cantus-Behandlungen (BBCH 61 bzw. 65) (Tab. 21).

Die Tab. 20 und Tab. 21 geben einen Überblick über die eingesetzten Aufwandmengen der Produkte zu den verschiedenen Behandlungsterminen.

Tab. 20: Fungizide und Behandlungszeitpunkte im Versuchsjahr 2002/2003

Variante	Herbst (BBCH 16-18)	Frühjahr (BBCH 51)	Blühbeginn (BBCH 61)	Vollblüte (BBCH 65)
1	-	-	-	-
2	Caramba	-	-	-
3	Caramba	Caramba		
4	Caramba	Caramba	Cantus	-
5	Caramba	Caramba	-	Cantus
6	-	Caramba	Cantus	-

Tab. 21: Fungizidaufwandmengen und Applikationstermine im Versuchsjahr 2002/2003

Variante	BBCH 16-18 07. & 09.10.02	BBCH 51 11.04.03	BBCH 61 22. - 24.04.03	BBCH 65 15. - 23.05.03
1	-	-	-	-
2	1,5 l/ha	-	-	-
3	1,0 l/ha	1,0 l/ha		
4	1,0 l/ha	1,0 l/ha	0,5 kg/ha	-
5	1,0 l/ha	1,0 l/ha	-	0,5 kg/ha
6	-	1,5 l/ha	0,5 kg/ha	-

Die Boniturtermine, die entsprechenden Entwicklungsstadien des Rapses und die jeweiligen Boniturstadien sind Tab.22 zu entnehmen.

Tab. 22: Bonituren und Behandlungen im Versuchsjahr 2002/2003

Bonituren	Behandlungen		
	Art der Behandlung	geplant BBCH	erfolgt BBCH / Datum
Aussaat			30.08.02
Auflaufbonitur		10-11	13-14 / 20.09.02
	Herbst (s. Plan)		13-14 / 20.09.02
Herbstbonitur I Pflanzenzustand nach Behandlung		1-2 Wochen nach Behandlung*	16-17 / 07.10.02 & 09.10.02
Herbstbonitur II		Zustand vor Winter	20 / 16.12.02

(Bestandesbonitur)			
	80 kg N (AHL) + 34 kg S		10.03.03
Zustand nach Winter	Vorfrühling		30 / 13.03.03
	75 ml Karate Zeon + 1,5 kg Bor (21%) + 6,4 kg/ha Micro Top + 26 l AHL		27.03.03
	65 kg N (AHL)		04.04.03
	Frühjahr (s. Plan)	51	51-53 / 11.04.03
Pflanzenzustand nach Behandlung		1-2 Wochen nach Behandlung*	60-61 / 24.04.03
	Frühjahr (s. Plan)	61	61 / 22.04.03 Maja 23.04.03 Debora 24.04.03 Lion
	Frühjahr (s. Plan)	61 (Cantus)	60-61 (F4 und F6) / 24.04.03
	Frühsommer (s. Plan)	65 (Cantus)	66-67 (F5) / 07.05.03
Pflanzenzustand nach Behandlung		1-2 Wochen nach Behandlung*	68-71 / 15.05.03 und 22.-23.05.03
Bestandesbonitur vor Ernte		92-97	92-97 / 14.-15.07.03
Pflanzenzustand			
Schotenplatzfestigkeit		87-99	99 / 16.07.03
Ernte		99	99 / 16.07.03
Stoppelbonitur			17.07.03

*der genaue Boniturtermin war abhängig von der Witterung und der Pflanzenentwicklung

Weitere allgemeine Informationen zur Vorgeschichte und Düngung der Parzellen sowie zu Versuchsplan und Lageplan im Feld gibt die Tab. 61 (Kap. Anhang).

2.10 Statistische Auswertung der Daten

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS Version 11.0 durchgeführt. Nach Prüfung der Homogenität der Varianzen wurde die Auswertung mittels ein- und mehrfaktorieller Varianzanalyse durchgeführt und anschließend die Grenzdifferenz ermittelt.

Aussagen zur Signifikanz beziehen sich, wenn nicht anders angegeben, auf ein Signifikanzniveau von 95%, auch wenn sich des öfteren höhere Signifikanzniveaus ergaben.

3 Ergebnisse

3.1 Variabilität

Bei den Resistenz- und Aggressivitätsuntersuchungen von *S. sclerotiorum* wurden Mycelsuspension, Mycelstück und Ascosporensuspension als Inokulum für Laboruntersuchungen benutzt. Diese drei verschiedenen Inokulate wurden verwendet, um die Widerstandsfähigkeit/Anfälligkeit von Raps in unterschiedlichen Entwicklungsstadien und an verschiedenen Pflanzenorganen zu untersuchen. Damit konnte je nach Versuchszweck die geeignete Inokulationsmethode eingesetzt werden.

Durch Messung der entstandenen Läsionen nach der Inokulation wurde eine Maßeinheit zur Beurteilung der Widerstandsfähigkeit/Anfälligkeit des Rapses gegen Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) ausgewählt.

3.1.1 Infektionsbiologie

Um die Aggressivität der verschiedenen *Sclerotinia*-Herkünfte an Raps und die Anfälligkeit von Winterraps gegenüber *S. sclerotiorum* zu überprüfen, benötigt man eine Methode, die schnell und leicht in Laboruntersuchungen verwendbar ist. Zusätzlich muss sie mit dem tatsächlichen Befall, und zwar mit der Befallstärke im Feld korrelieren. Bei der Resistenzuntersuchung wurde Mycelsuspension, Mycelstück und Ascosporensuspension als Inokulum benutzt. Die Befallstärke wurde durch Messung der Läsionslänge am Blatt und auf den Stängelsegmenten nach der Inokulation ermittelt. Dabei wurde die Anfälligkeit von unterschiedlichen Rapsorten und –Linien für Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) durch Inokulation mit Mycelstück, Mycelsuspension und Ascosporensuspension am Laubblatt und an Stängelsegmenten in Klimakammerversuchen beurteilt. Verglichen wurden die Ergebnisse zwischen den Methoden an den Rapsorten Artus und Express.

Beim Blatttest *in vitro* konnten Rapslaubblätter erfolgreich mit Mycelscheibchen, Mycelsuspension, und Ascosporen infiziert werden. Als erstes Symptom bildete sich zunächst ein bräunlicher wässriger Fleck unter dem Inokulationstropfen oder –scheibchen (Abb. 11) 2 bis 3 Tage nach der Inokulation (dpi) bei 16 °C. Anschließend breitete sich ein leichter Mycelrasen über die gesamte Symptomfläche aus.

Bei den entstandenen Symptomen, die durch die Inokulation mit Myceltropfen, Mycelscheibchen oder Ascosporensuspension hervorgerufen wurden, waren keine Unterschiede im Erscheinungsbild erkennbar. Es zeigte sich nur ein Zeitunterschied von 2 bis 4 Tagen in der Entwicklung des Symptoms bei den drei unterschiedlichen Inokulaten.



Abb. 11: Symptome am Laubblättern nach Inokulation mit Mycelscheibchen (1), Mycelsuspension (2) und Ascosporensuspension (3)

3.1.1.1 Optimierung des Inokulums

Ausgehend von der Inokulationsmethode mit Mycelscheibchen (Liu, 1996) zur Aggressivitätsuntersuchung im Blatttest wurde eine effiziente, schnelle und definierbare Methode für Resistenzprüfungen genutzt. In Anlehnung an die Methode von Liu (1993) und Gieffers et al. (1999) wurde eine modifizierte Inokulation mit Mycelsuspension entwickelt, die es erlaubt, mehrere Rapsorten gleichzeitig, schnell und einfach mit gleicher Inokulummenge an jedem Laubblatt zu infizieren.

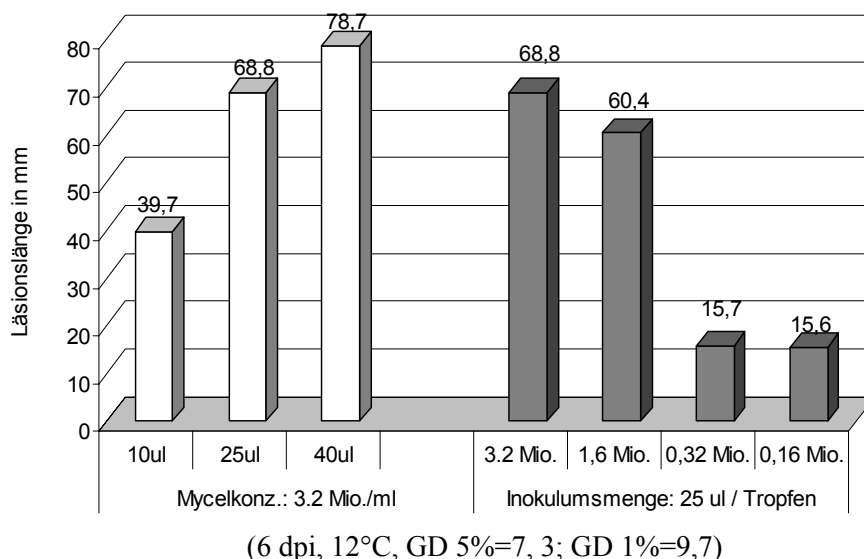


Abb. 12: Untersuchungen zur Infektion mit unterschiedlichen Inokulumsmengen (Mycelfragmente) und -Konzentrationen im Laubblatttest mit Isolat F504

Die Abb. 12 zeigt die Ergebnisse des Laubblatttests, durchgeführt unter Klimakammerbedingungen nach Inokulation mit Mycelsuspension. Um für die Mycelsuspension die optimale Inokulumkonzentration und -menge zu ermitteln, wurden vier unterschiedliche Konzentrationen (dunkle Säule) von Mycelfragmenten und drei Volumina der Suspensionsmenge (weiße Säule) verwendet. Abb. 12 zeigt den deutlichen Unterschied der Läsionslänge sechs Tage nach Inokulation (6 dpi) mit Mycelsuspension von *S. sclerotiorum* (Isolat F504) zwischen den Mycelfragment-Konzentrationen und Inokulumvolumen. Es

wurde festgestellt, dass ein Tropfen der Mycelsuspension mit einem Volumen von 25 µl und einer Konzentration von 1,6 bis 3,2 Mio. Mycelfragmenten ein optimales Inokulum war.

3.1.2 Charakterisierung der unterschiedlichen *Sclerotinia*-Herkünfte

3.1.2.1 Morphologische Charakterisierung auf PDA

Zur Erfassung der morphologischen Eigenschaften von *S. sclerotiorum* wurde die Wachstumsgeschwindigkeit des Mycels, die Anzahl und Größe der Sclerotien, die Art der Sclerotienbildung auf den PDA-Platten sowie die Masse der Sclerotien von 46 *Sclerotinia*-Herkünften unterschiedlicher Herkunft bei Raumtemperatur (23°C) und bei 15°C im Dunkeln untersucht.

Wie aus der Tab.23 und 24 hervorgeht, zeigten die Herkünfte signifikante Unterschiede bei oben genannten Faktoren. Bei 23°C war das Wachstum der Herkunft DK sehr langsam (mit einer Mycelwachstumsgeschwindigkeit von 19 mm/d) im Vergleich zu dem Isolat F511 (46,3 mm/d).

Die Art der Sclerotienbildung korrespondierte mit der Aggressivität in verschiedenen Gruppen. Es konnten sechs Isolatgruppen nach der Wachstumsgeschwindigkeit und der Art der Bildung der Sclerotien auf den Platten zugeordnet werden (Abb. 13). Die sechs Gruppen wurden wie folgt definiert:

1. gebildete Sclerotien in einer Kreisform direkt an der Wand der Petrischale;
2. gebildete Sclerotien in einer Kreisform kurz vor der Wand der Petrischale;
3. gebildete Sclerotien in zwei Kreisen;
4. gebildete Sclerotien nicht kreisförmig;
5. gebildete Sclerotien nicht kreisförmig und mit Mycel bedeckt;
6. keine Sclerotienbildung

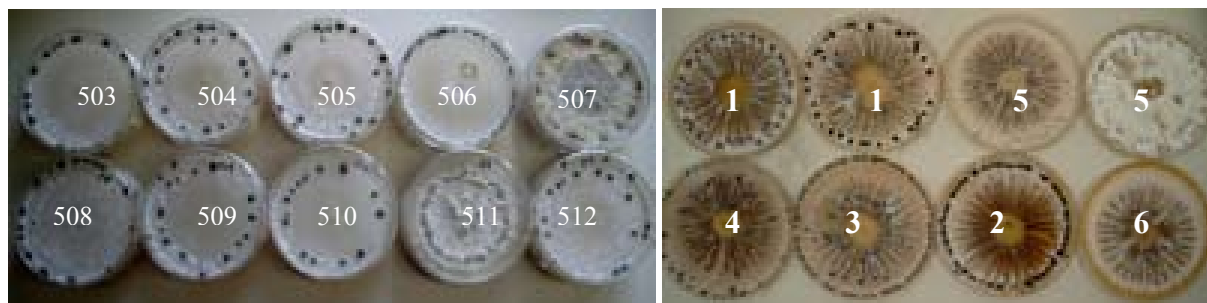


Abb. 13.: Sclerotienbildung verschiedener Ascosporen-Isolate (links: 503-512) auf PDA in sechs Formen (rechts)

Bei diesen 6 Gruppen konnte eine Korrelation zur Aggressivität festgestellt werden. Wenn das Isolat wenig Sclerotien bildete und langsam wuchs hatte es eine schwache Aggressivität an Raps.

Die Wachstumstemperatur zeigte einen wesentlichen Einfluss auf die Sclerotienbildung der Herkünfte. Bei hohen Temperaturen (23°C) wurden die Sklerotien nicht größer als 5 mm im Durchmesser. Das Mycelwachstum und die Sclerotienbildung der Herkünfte bei unterschiedlichen Temperaturen sind in Tab.23 und 24 dargestellt.

Tab. 23: Mycelwachstum und Sclerotienbildung von 46 Herkünften (bei 23°C)

Linie	Mycelwachstum [mm/d]	Sclerotien [Scl/Agarplatte]	Anzahl und Größengruppen der gebildeten Sclerotien [mm]				Länge [mm]	Masse [mg]
			>5	5 ≤ >3,15	3,15 ≤ >2	≤2		
S.t.	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1946	12,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DK'97	19,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
S.m.	19,0	680,3	0,0	0,0	0,0	680,3	1,1	147,3
SW'97	22,7	15,7	0,0	4,7	9,0	2,0	7,3	146,7
266	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
YA	31,7	26,7	0,0	0,0	11,7	15,0	3,3	46,0
507	32,0	22,7	0,0	0,0	0,0	22,7	0,6	0,0
Salat	34,3	49,3	0,0	4,0	31,3	14,0	7,0	232,3
Express	34,3	55,7	0,0	0,0	14,3	41,3	3,7	144,7
526	35,0	29,0	0,0	4,0	23,0	2,0	5,0	219,3
Soest	35,0	23,3	0,0	8,3	13,7	1,3	7,0	187,7
506	35,7	16,7	0,0	0,0	11,0	5,7	4,2	68,3
Talent	36,0	24,7	0,0	3,3	14,7	6,7	5,0	149,7
Catinka	36,3	49,0	0,0	0,0	25,7	23,3	4,5	140,7
503	37,3	29,3	0,0	0,0	25,3	4,0	5,8	156,7
ECW	37,3	18,7	0,0	0,0	0,0	18,7	2,5	17,3
665	38,0	37,0	0,0	0,0	10,0	27,0	3,5	80,3
M05	38,0	31,3	0,0	1,3	25,7	4,3	4,3	197,0
M08	38,0	27,7	0,0	11,3	14,7	1,7	5,3	198,3
I-106-1	38,0	27,0	0,0	1,7	22,7	2,7	3,7	130,0
Pol'97	38,0	19,7	0,0	10,7	6,7	2,3	6,0	204,7
T97	38,0	21,0	0,0	11,7	9,3	0,0	6,3	240,0
CD2	39,0	38,7	0,0	0,0	34,0	4,7	4,8	204,0
56D	39,0	25,7	0,0	5,0	18,0	2,7	4,0	151,0
5520	39,0	29,0	0,0	4,0	19,7	5,3	5,3	166,3
Rostock	39,3	30,0	0,0	1,3	20,0	8,7	4,7	154,0
Tabak	39,7	30,7	0,0	3,7	20,0	7,0	6,5	167,3
Karlsruhe	40,3	38,3	0,0	1,0	14,0	23,3	5,5	117,7
Prophy	40,7	38,0	0,0	4,3	23,0	10,7	4,3	146,3
Elektra	40,7	33,3	0,0	5,0	24,3	4,0	5,7	206,3
M99	41,0	26,3	0,0	7,3	17,3	1,7	4,3	127,3
510	41,3	32,3	0,0	2,0	22,7	7,7	5,5	187,3
CD	41,3	31,0	0,0	5,3	21,0	4,7	6,0	175,3
Rhh'95	41,3	38,7	0,0	3,3	27,3	8,0	7,2	195,0
YAAN	41,7	39,3	0,0	3,0	32,0	4,3	7,3	203,7
512	42,0	35,3	0,0	2,0	28,3	5,0	6,0	199,3
Th'95	42,0	39,7	0,0	4,0	22,7	13,0	5,3	107,7
M01	42,3	28,0	0,0	0,7	19,3	8,0	4,8	158,3
508	43,3	39,7	0,0	5,0	28,3	6,3	6,7	200,0
505	43,7	31,0	0,0	0,0	25,3	5,7	5,5	168,7
509	43,7	31,3	0,0	4,7	22,3	4,3	5,7	167,0
W276	44,3	29,0	0,0	0,0	9,7	19,3	3,7	83,0
504	44,7	34,0	0,0	0,0	26,0	8,0	5,3	178,3
MZ	44,7	26,3	0,0	0,7	24,3	1,3	5,3	179,3
511	46,3	99,7	0,0	0,0	0,7	99,0	3,2	96,7
GD 5%	1,6	5,7	0,0	2,7	5,3	5,2	1,3	32,2

GD 1%	2,0	7,5	0,0	3,5	7,0	6,9	1,7	42,5
GD 0,1%	2,6	9,7	0,0	4,5	9,1	8,8	2,2	54,7

Tab. 24: Mycelwachstum und Sclerotienbildung von 46 Herkünften (bei 15°C)

Linie	Mycelwachstum [mm/d]	Sclerotien [Scl/Agarplatte]	Anzahl und Größengruppen der gebildeten Sclerotien [mm]				Länge [mm]	Masse [mg]
			>5	5 ≤ >3,15	3,15 ≤ >2	≤2		
S.t.	8,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1946	10,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
S.m.	12,7	166,7	0,0	0,0	0,0	166,7	2,1	216,6
DK'97	15,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
266	19,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
SW'97	22,3	9,0	1,7	6,7	0,3	0,3	10,0	162,3
507	24,0	34,7	0,0	3,0	11,7	20,0	5,7	59,2
YA	24,3	32,0	0,0	3,7	20,0	8,3	4,8	76,2
Elktrak	25,0	24,3	0,0	10,7	13,0	0,7	6,8	238,1
ECW	26,3	59,7	0,0	1,0	32,0	26,7	4,5	119,7
506	26,7	30,0	0,0	4,3	23,3	2,3	11,0	184,0
CD2	27,0	25,7	0,0	6,3	16,7	2,7	7,5	224,3
Salat	27,0	18,7	3,0	11,0	4,7	0,0	7,3	214,8
Catinka	27,0	28,3	0,0	5,7	21,7	1,0	7,2	177,6
56D	27,3	16,7	2,7	11,7	2,3	0,0	7,8	215,4
5520	27,3	17,3	3,0	8,0	5,7	0,7	8,7	186,4
503	27,7	14,7	4,7	9,3	0,7	0,0	9,7	184,7
526	27,7	18,7	3,7	10,0	4,0	1,0	8,7	179,9
Express	28,0	20,3	0,0	5,0	15,3	0,0	6,2	178,6
665	28,7	32,3	0,0	3,3	23,7	5,3	5,7	140,5
T97	28,7	16,3	1,0	12,7	2,7	0,0	7,7	253,7
M05	29,0	14,7	3,7	10,7	0,3	0,0	6,7	238,1
Pol'97	29,7	15,7	6,3	6,3	2,3	0,7	7,3	204,0
Th'95	29,7	18,7	2,3	12,3	4,0	0,0	8,2	194,6
Soest	29,7	11,3	5,3	4,3	0,3	1,3	10,5	228,5
I-106-1	30,0	17,7	0,7	12,7	4,3	0,0	7,3	209,4
Talent	30,0	19,7	2,3	12,0	5,3	0,0	6,0	197,8
M08	30,3	17,3	3,3	11,0	3,0	0,0	7,3	215,2
Rostock	30,3	16,7	4,0	11,3	1,3	0,0	7,0	187,0
512	30,7	20,7	4,3	12,0	4,3	0,0	6,7	234,1
Karlsruhe	30,7	24,3	1,0	13,0	10,3	0,0	7,7	160,2
505	31,0	18,3	6,3	11,3	0,7	0,0	8,2	268,4
Tabak	31,3	19,0	2,0	12,7	4,3	0,0	6,8	229,2
CD	31,7	19,3	1,7	11,7	6,0	0,0	6,5	167,8
M01	31,7	19,7	3,0	12,3	4,3	0,0	7,2	214,3
508	32,0	16,7	4,0	10,0	2,7	0,0	7,7	222,0
509	32,3	14,3	5,7	7,0	1,7	0,0	8,0	198,2
M99	32,3	15,3	4,3	9,7	1,3	0,0	7,5	226,2
504	32,7	18,0	5,7	10,7	1,7	0,0	7,7	230,4
510	32,7	16,3	5,3	10,0	1,0	0,0	7,8	236,0
YAAN	32,7	22,7	3,3	14,3	4,7	0,3	9,0	202,4
Rhh'95	32,7	21,3	2,0	11,7	7,7	0,0	6,2	217,0
W276	33,3	19,7	0,7	8,3	9,7	1,0	7,2	207,4
Prophy	33,3	13,7	4,7	8,0	0,7	0,3	8,8	198,2
511	34,3	36,0	0,0	9,3	20,0	6,7	7,2	146,7
MZ	35,0	16,7	1,0	12,7	3,0	0,0	6,7	205,9
GD 5%	1,4	69,0	1,8	3,2	4,8	68,8	1,7	48,2
GD 1%	1,9	90,9	2,4	4,2	6,3	90,7	2,2	63,5
GD 0,1%	2,4	117,1	3,1	5,4	8,1	116,8	2,9	81,8

Um den Einfluss der Temperatur auf die morphologische Eigenschaften ermitteln zu können, wurden 10 Ascosporenlinien, die aus jeweils einer gleichen Sclerotien-Herkunft erstellt wurden, bezüglich der Wachstumsgeschwindigkeit des Mycels auf PDA-Platte untersucht (Tab. 25 und Tab. 26). Zwischen den 10 Ascosporenlinien zeigten sich signifikante Unterschiede in Bezug auf Mycelwachstum und Sclerotienbildung. Die Linie 507 unterschied sich hoch signifikant von den anderen Linien, die aus dem gleichen Sclerotium stammten. Bei Raumtemperatur bildete diese Linie keine Sclerotien. Die Aggressivität (Tab. 27) dieses Isolates war signifikant schwächer als die anderen 9 Linien.

Tab. 25: Mycelwachstum und Sclerotienbildung von 10 Ascosporen-Linien (bei 23°C)

Linie	Mycelwachstum [mm/d]	Sclerotien [Scl/Agarplatte]	Anzahl und Größengruppen der gebildeten Sclerotien [mm]				Länge [mm]	Masse [mg]
			>5	5 ≤ >3,15	3,15 ≤ >2	≤2		
507	32,0	22,7	0,0	0,0	0,0	22,7	0,6	0,0
506	35,7	16,7	0,0	0,0	11,0	5,7	4,2	68,3
503	37,3	29,3	0,0	0,0	25,3	4,0	5,8	156,7
510	41,3	32,3	0,0	2,0	22,7	7,7	5,5	187,3
512	42,0	35,3	0,0	2,0	28,3	5,0	6,0	199,3
508	43,3	39,7	0,0	5,0	28,3	6,3	6,7	200,0
505	43,7	31,0	0,0	0,0	25,3	5,7	5,5	168,7
509	43,7	31,3	0,0	4,7	22,3	4,3	5,7	167,0
504	44,7	34,0	0,0	0,0	26,0	8,0	5,3	178,3
511	46,3	99,7	0,0	0,0	0,7	99,0	3,2	96,7
GD 5%	1,6	7,5	0,0	6,5	5,4	3,5	1,1	30,6
GD 1%	2,2	10,1	0,0	8,8	7,3	4,8	1,4	41,4
GD0,1%	2,9	13,4	0,0	11,7	9,7	6,4	1,9	54,9

Tab. 26: Mycelwachstum und der Sclerotienbildung von 10 Ascosporen-Linien (bei 15°C)

Isolate	Mycelwachstum [mm/d]	Sclerotien [Scl/Agarplatte]	Anzahl und Größengruppierung der gebildeten Sklerotien [mm]				Länge [mg]	Masse [mg]
			>5	5 ≤ >3,15	3,15 ≤ >2	≤2		
507	24,0	34,7	0,0	3,0	11,7	20,0	5,7	59,2
506	26,7	30,0	0,0	4,3	23,3	2,3	11,0	184,0
503	27,7	14,7	4,7	9,3	0,7	0,0	9,7	184,7
512	30,7	20,7	4,3	12,0	4,3	0,0	6,7	234,1
505	31,0	18,3	6,3	11,3	0,7	0,0	8,2	268,4
508	32,0	16,7	4,0	10,0	2,7	0,0	7,7	222,0
509	32,3	14,3	5,7	7,0	1,7	0,0	8,0	198,2
504	32,7	18,0	5,7	10,7	1,7	0,0	7,7	230,4
510	32,7	16,3	5,3	10,0	1,0	0,0	7,8	236,0
511	34,3	36,0	0,0	9,3	20,0	6,7	7,2	146,7
GD 5%	1,8	3,6	2,0	4,1	2,5	2,2	1,6	33,9
GD 1%	2,5	4,9	2,7	5,6	3,4	2,9	2,2	45,8
GD0,1%	3,3	6,5	3,5	7,4	4,5	3,9	2,9	60,7

3.1.2.2 Keimung der Sklerotien und Bildung der Apothecien

Die Abb. zeigt den Vergleich der Keimungsfähigkeit der Sclerotien der zwei Herkünfte, MZ aus China und M01 vom Versuchsgut Merklingsen aus dem Jahr 2001. Die Sclerotien wurden aus drei unterschiedlichen Kulturverfahren von *S. sclerotiorum*, nämlich aus PDA-Kultur, von Inokulationen an Rapsblättern und von Weizenkörnern gewonnen.

68 Tage (Abb. 15) nach der „Aussaat“ in Einheitserde keimten die Sclerotien der Herkunft MZ aus Weizenkultur. Durchschnittlich waren die 80 gekeimten Stielchen 2-5 mm lang. Die aus PDA-Kultur gewonnenen Sclerotien zeigten 8 Tage später nur 10 Stielchen. Bei den Sclerotien, vom infizierten Rapsblatt konnten selbst 124 Tage nach der „Aussaat“ in Einheitserde weniger als 10 Stielchen beobachtet werden (Abb. 15).

Die Sclerotien der Herkunft M01 keimten generell später und sie bildeten auch weniger Apothecien als die Sclerotien der Herkunft MZ (Abb. 15).

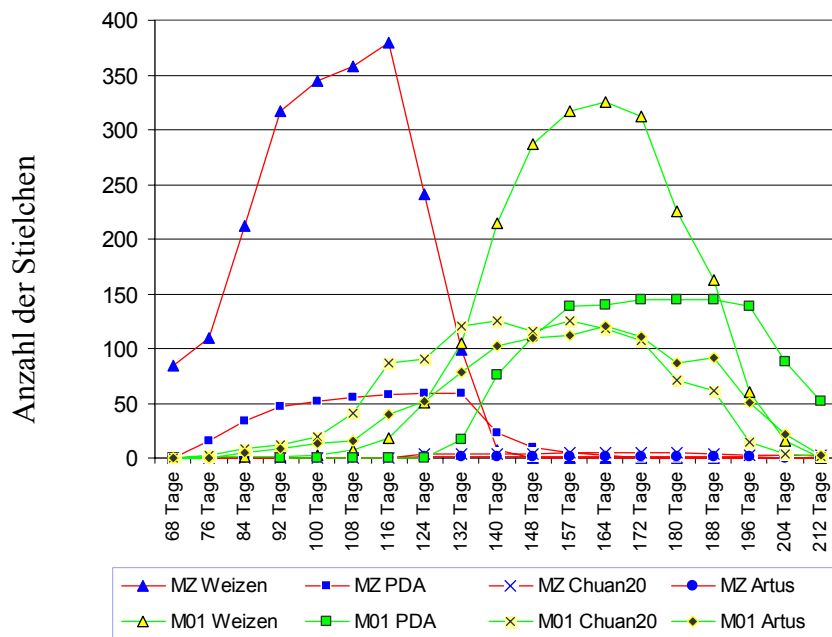


Abb.14: Keimung von Sclerotien aus zwei unterschiedlichen Herkunftse und Kulturmedien (je 150 Sclerotien)

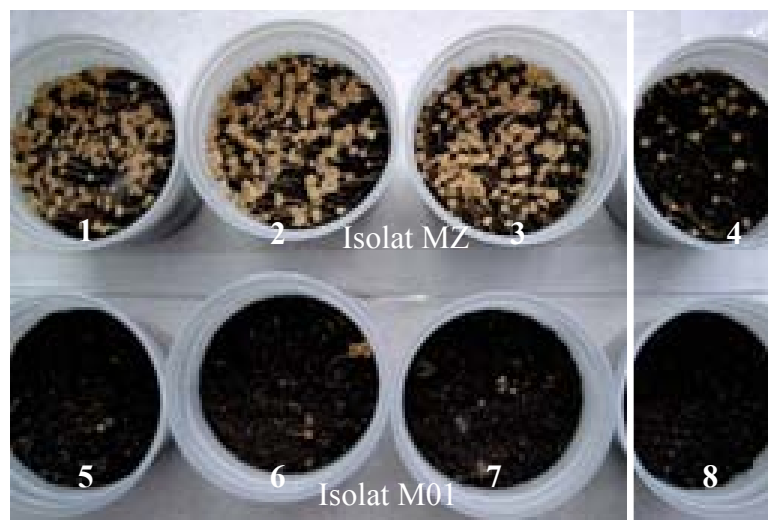


Abb. 15: Unterschiede des Keimungsverhaltens von Sclerotien und der Apothecienbildung zwischen den Herkunftse MZ (1-4) und M01 (5-6) in der Klimakammer (verschiedene Nährquellen zur Produktion von Sclerotien: aus Weizen-Kultur (Herkunft MZ: 1,2,3; Herkunft M01: 4,5,6) und rechte Seite aus PDA-Kultur (MZ: 4 und M01:8).

Verglichen wurde außerdem die Keimfähigkeit der Sclerotien, die auf verschiedenen Substraten gebildet wurden. Als Substrat wurden PDA-Platten, Rapsblätter nach Inokulation und Weizenkörner verwendet. Keimung und Apothecienbildung der Sclerotien wurden auf Sand, Einheits-Erde und Vermiculit ermittelt (Abb. 16). Die in Vermiculit ausgelegten Sclerotien keimten schneller als in Sand. Außerdem bildeten sie mehr und längere Stiele (Abb. 16).

Um das Keimverhalten der Herkünfte zu vergleichen wurde Einheitserde als Kulturmedium verwendet, da hier die beste Keimung erfolgte und das Medium am einfachsten kontrollierbar war (Abb. 15).

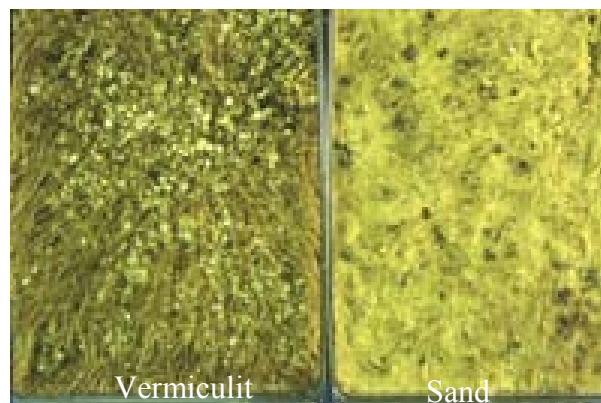


Abb. 16 Unterschiede in der Keimung der Sclerotien am Beispiel der Herkunft MZ in Vermiculit und Sand als Substrat

Die ersten frisch gekeimten Apothecien hatten bei 10 °C und einer Bodenfeuchtigkeit von 28% bis 35% meist eine tellerartige (manchmal auch eine trichterähnliche) Gestalt, das Hymenium mit den Asci war in einer Ebene angeordnet. Mit zunehmender Reife bekamen sie allmählich eine trichterförmige Gestalt (Abb. 18). Die auftretende Apothecien durchliefen eine Farbveränderung von hellbraun, rostbraun (frisch gekeimt) über dunkelbraun (trichterförmige Gestalt) bis schwarz. Die gereiften Ascosporen wurden automatisch ausgeschleudert und keimten auf die Erde aus und entwickelten einen Mycelbelag (Abb. 19).

Wie aus Abb. 17 hervorgeht, zeigten sich deutliche Unterschiede in der Anzahl der gebildeten Apothecien bei den untersuchten 36 Herkünften. Die Herkunft CD (aus China) bildete schneller Apothecien als alle anderen Herkünfte. Die Herkunft CD bildete 20 Apothecien. Bereits 55 Tage nach Auslegen in Einheitserde bei einer konstanten Temperatur von 10 °C in der Klimakammer und seitlicher Beleuchtung wurden 20 Apothecien gebildet. Die ersten Apothecien der Herkünfte MZ, YA, M99, M05 und M01 konnten erst 23 Tage später gefunden werden. Isolat 665 benötigte den längsten Zeitraum (265 Tage) bis zur Keimung und dem Auftreten der Apothecien.

Die Herkünfte MZ und CD bildeten in 135 Tagen nach dem Absterben der Apothecien erneut normale Apothecien wieder aus. Manche Herkünfte wie von Salat entwickelten 9 Monaten

nach dem Absterben der Apothecien wieder neue Apothecien. Die im Boden unter 5 cm liegenden Sclerotien konnten ohne Licht nicht keimen.

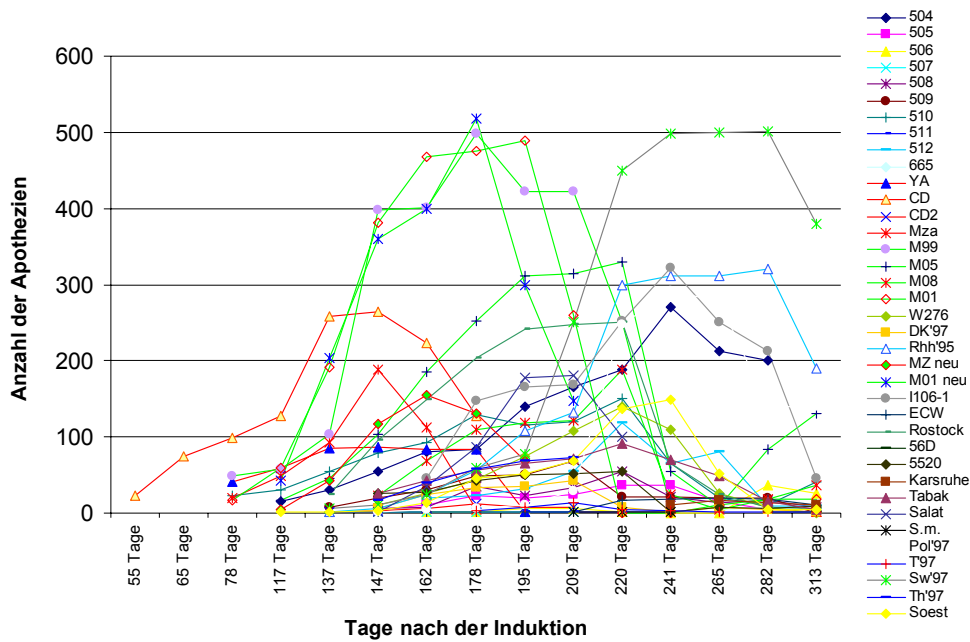


Abb. 17: Apothecienbildung von 36 *S.sclerotiorum*-Herkünften aus Kultur von Weizen (10°C)



Abb. 18: Keimung der Sclerotien und ihre Stiele (1,2,3), Apothecien (4,7,8), Ascosporen (6) und Ausschleuderung der Ascosporen (5) in der Klimakammer

Die Ascosporen, die in den schwarz gefärbten Zonen der Apothecien entstanden, konnten die Asci nicht mehr verlassen. Sie verklebten oder verklumpten in den Asci. Auch die Ascosporen, die noch nicht selbst in den Asci reiften, waren nicht mehr in der Lage, die Asci zu verlassen, wenn die Asci von den Apothecien getrennt worden waren.



Abb. 19. Keimung der Ascosporen und Mycelbelag (Pfeil) nach der Ausschleuderung

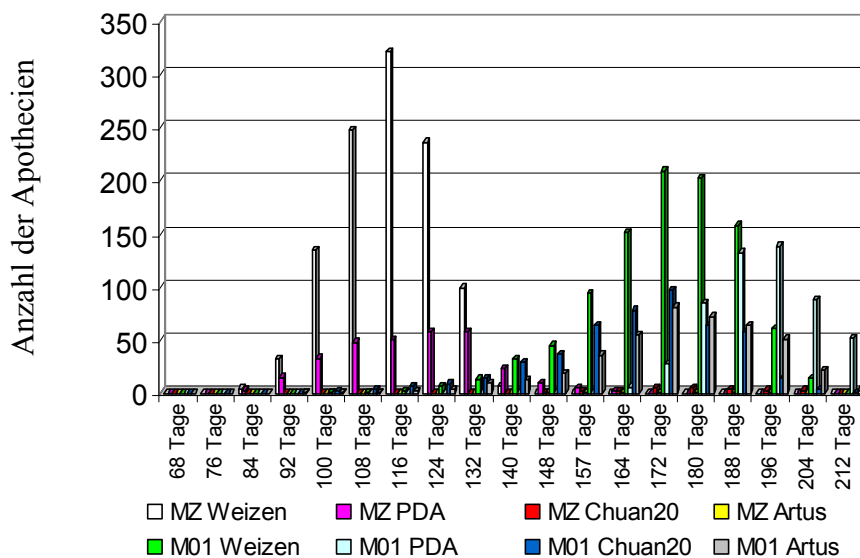


Abb. 20: Apothecienbildung von Sclerotien unterschiedlicher Herkünfte und Kulturmedien

Das Auftreten von Apothecien bei den unterschiedlichen Herkünften erfolgte nach zwei bis acht Monaten. Die Dauer und Menge (Abb. 18) des Ausschleuderns von Ascosporen war abhängig von den Herkünften und der Beleuchtungsdauer.

Zur genaueren Beobachtung des Ausschleuderns der Ascosporen aus den Apothecien wurden einige Apothecien nach der Keimung von den Sclerotien isoliert. Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Die Asci reiften in 5 bis 15 Tagen nach der Bildung der Apothecien.
2. Das Ausschleudern der Ascosporen eines einzigen Apotheciums dauerte im Schnitt 10 bis 20 Tage. Bei den Isolaten konnten dieser Vorgang allerdings auch 40 bis 80 Tage dauern.

3. Die Asci in dem Apothecium reifen nicht gleichzeitig (Abb. 21). Die Abb. 21 zeigt die Ascosporen in einem einzelnen Ascus. Gleichzeitig ist links (Blauer Pfeil) daneben ein zweiter nicht ausgereifter Ascus zu sehen. Rechts sind alle 8 Ascosporen in dem Ascus gereift (Roter Pfeil).

4. Ein einzelnes Apothecium konnte durchschnittlich über 1 Mio. Ascosporen produzieren.

5. Die ausgeschleuderten Ascosporen wurden durch ein Vakuumsystem trocken gesammelt und auf entsprechenden Filterpapierscheiben rein mechanisch fixiert (Abb. 22) und im Kühlschrank für mehrere Jahre bis zur Inokulation gelagert, ohne dass ihre Vitalität messbar abnahm.

6. Die auf Weizenkörnern gewonnenen Sclerotien konnten bei Raumtemperatur einundeinhalb Jahr gelagert werden ohne dass sie ihre Keimfähigkeit verlieren. Sie bildeten normale Stiele und Apothecien.



Abb. 21. Unterschiedliche Entwicklungsstadien von Ascosporen in verschiedenen Asci (blauer Pfeil: nicht reife, roter Pfeil: reife Ascosporen in Ascus)



Abb. 22 Belag von gesammelten Ascosporen auf dem Filterpapier (pink Farbe)

7. Die auf den PDA-Platten gebildeten Sclerotien konnten im Kühlschrank bei 6°C in der Dunkelheit nach einem Jahr direkt auf PDA-Platten keimen und sie bildeten auch normale lange Stiele (Abb. 18 (3)). Die im Kühlschrank in Sand gelegten Sclerotien zeigten auch nach einundeinhalb Jahren ohne Beleuchtung die Fähigkeit der Stielbildung.

8. Nach der Keimung und dem Ausschleudern der Ascosporen starben die gebildeten Apothecien der meisten Isolate oder wurden von Mycel bedeckt.
9. Interessanterweise bildeten die meisten Herkünfte 5 bis 8 Monaten nach dem Absterben der Apothecien erneut normale Apothecien wieder aus.

3.1.3 Variabilität verschiedener *Sclerotinia*-Herkünfte

In Klimakammerexperimenten wurde die Variabilität von 42 *Sclerotinia*-Herkünften mit Hilfe des Blatttests durch Auflegen von Mycelscheibchen an 4 Rapsorten (2 deutsche Sorten, Artus und Express sowie 2 chinesische Sorten Chuanyou 18 und Zhongyou 4) untersucht. Um die Aggressivität von verschiedenen Herkünften im Feld zu überprüfen, wurde eine Feldinokulation durchgeführt.

Die Ergebnisse (Abb. 23 bis 27) zeigten einen deutlichen Unterschied in der Aggressivität der verschiedenen Herkünfte von *S. sclerotiorum*. Der Vergleich zwischen den Herkünften ergab eine Signifikanz sowohl zwischen den Ascosporenlinsen 507 und 510 (Abb. 26), den Herkünften aus gleichem Rapsanbaugebiet M99 und M01 (Abb. 25) als auch zwischen den Herkünften von verschiedenen Rapsanbaugebieten Ya, CD und MZ (Abb. 27).

Weiterhin wurde festgestellt, dass die meist untersuchten Herkünfte an Rapsorten aggressiv sind. Zwei Herkünfte waren nicht aggressiv, 5 Herkünfte schwach, 6 Herkünfte sehr stark aggressiv an der Hybridsorte Artus und der freiabblühenden Sorte Express. Die Unterscheidung der Aggressivität erfolgte auf der Basis des Ausmaßes der Läsionen auf den Blättern in Klimakammeruntersuchungen einerseits, und dem Ausmaß (Länge) der Schadsymptome am Rapsstängel im Feld nach Zahnstocherinokulation andererseits. Dabei variierten die Läsionen im Blatttest von 0 (nicht aggressiv) mm bis 80 mm (sehr starke Aggressivität) (Abb. 28 und 29). Bei den parallel durchgeführten Feldinokulationen variierten die Schadsymptome (Läsionen) am Stängel zwischen 0,5 cm bis 45,0 cm (Abb. 32, 30, 31).

Auffallen war, dass in der Felduntersuchung eine Rapspflanze, die von *S. sclerotiorum* natürlich befallen wurde, durch die Herkunft 266 nach Zahnstocherinokulation nicht befallen werden konnte (Abb. 30).



Abb. 23 Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolaten von *S. sclerotiorum* M99 (l) und Ya (r) im Blatttest mit Mycelsuspension an Sorte No.5 (6 dpi)

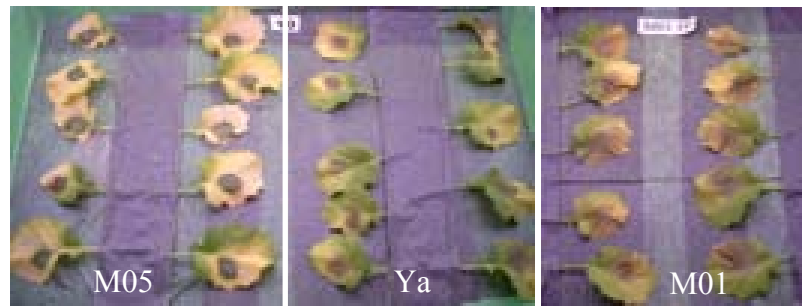


Abb. 24 Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolatn von *S. sclerotiorum* M05 (l), Ya (m) und M01 (r) im Blatttest mit Mycelsuspension an Sorte No.10 (6 dpi)

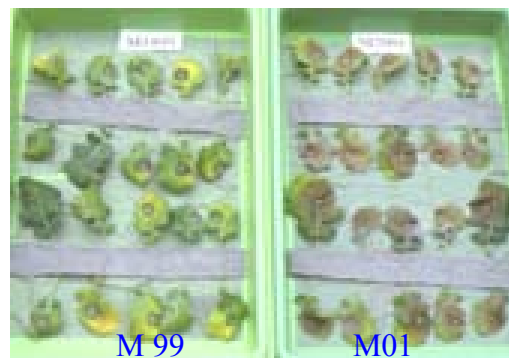


Abb. 25 Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolatn von *S. sclerotiorum* M99 (l) und M01 (r) im Blatttest mit Mycelscheibchen an der Sorte Express (Isolate aus Versuchsgut Merklingsen) 6dpi



Abb. 26 Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolatn von *S. sclerotiorum* 507 (l) und 510 (r) im Blatttest mit gleicher Herkunft, von unterschiedlichen Ascosporenlinien an der Sorte Express, 6 dpi

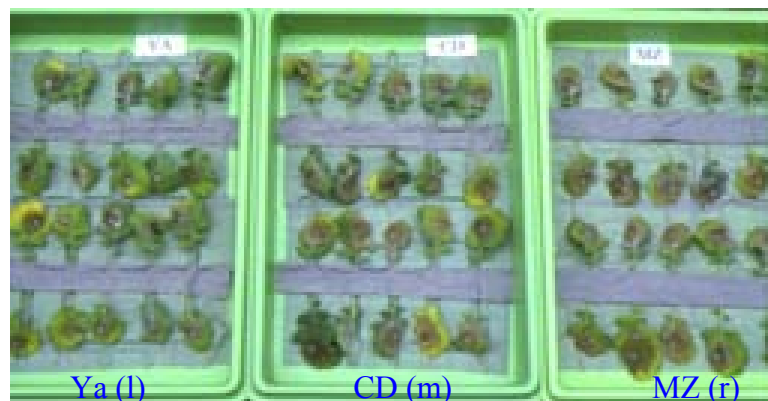


Abb. 27. Unterschiede der Aggressivität zwischen den Isolatn von *S. sclerotiorum* Ya (l), CD (m) und MZ (r) im Blatttest an der Sorte Express, 6 dpi (Isolatn von *S. sclerotiorum* stammen aus unterschiedlichen Rapsanbaugesieten (geringerer (l), mittlerer (m) und stärkerer (r) Befall))

Tab. 27: Ergebnisse der Variabilität der Aggressivität von 24 *Sclerotinia*-Herkünften an Rapssorten Artus, Express, Zhongyou 4 und Chuanyou 18 (Inokulation mit Mycelstückchen, n=20, 4 dpi, 18°C, gemessen als Läsionslänge in mm)

Herkünfte	Artus	Express	ZY4	CY18
507	15,3	17,6	15,8	12,9
503	30,8	41,0	29,7	25,1
506	60,4	57,1	54,8	52,1
508	66,2	64,8	64,3	60,3
509	69,3	61,4	60,7	55,3
M01	56,3	55,6	52,8	58,3
M08	64,6	67,5	55,8	48,3
M99	59,8	55,3	47,4	46,8
Ya	38,6	43,3	36,1	32,8
CD	43,7	52,6	41,4	45,7
MZ	50,1	55,4	49,8	47,0
Express	47,3	58,2	45,8	50,1
Talent	45,1	58,2	46,7	49,5
Catinka	53,9	52,3	42,7	58,4
Elektra	56,3	54,4	45,2	45,6
Salat	49,6	58,5	54,1	47,3
Soest	65,6	60,6	50,4	58,8
ECW	46,9	39,8	44,0	40,8
Th'95	62,7	59,7	47,6	56,6
T'98	47,6	49,8	40,5	39,4
Proph	65,3	62,8	53,5	61,6
266	0,7	6,3	10,8	4,8
S.m.	44,3	42,8	46,4	43,9
S.t.	0,0	0,0	0,0	0,0
GD 5%	3,4	3,9	4,0	4,4
GD 1%	4,4	5,1	5,2	5,7

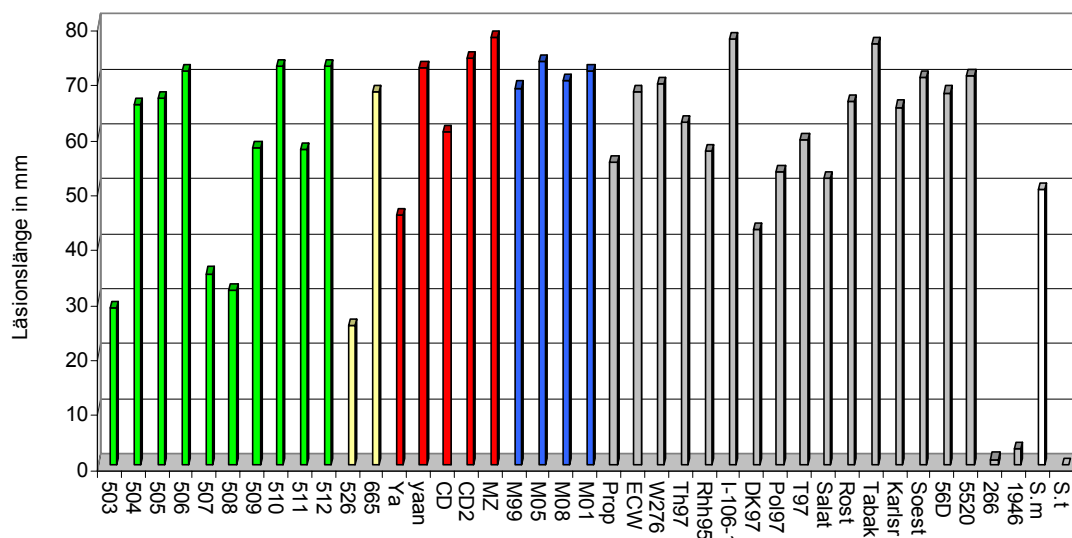


Abb. 28: Ergebnisse der Aggressivitätsuntersuchung von 41 *Sclerotinia*-Herkünften an der Sorte Artus im Blatttest (Klimakammer, n=20, 4 dpi (GD5% = 4,7))

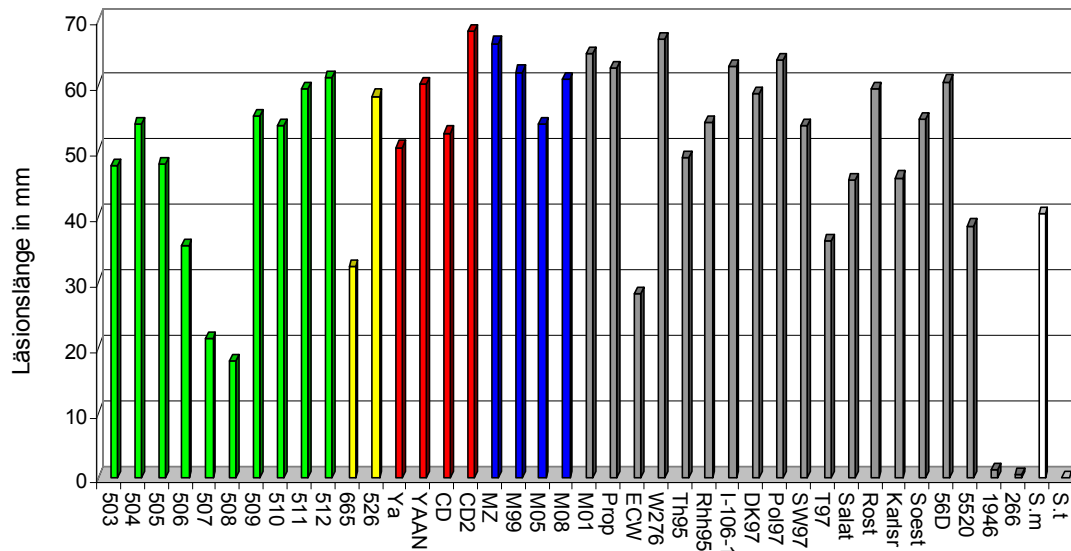


Abb. 29: Ergebnisse der Aggressivitätsuntersuchung von 41 *Sclerotinia*-Herkünfte an der Sorten Zhongyou 4 im Blatttest

(Klimakammer, n=20, 4 dpi 2. Laubblatt, n=20, GD 5% = 5,5, GD 1%=7,3)

Der Befall nach Zahnstocherinokulation mit *S. sclerotiorum*



Natürlicher Befall mit *S. sclerotiorum*

Kein Befall nach Zahnstocherinokulation mit *S. sclerotiorum* Herkunft 266

Abb. 30 Stängelsymptome nach Zahnstocherinokulation durch zwei verschiedenen *S.sclerotiorum*-Herkünfte. l: M01, r: 266 (rot Pfeil)

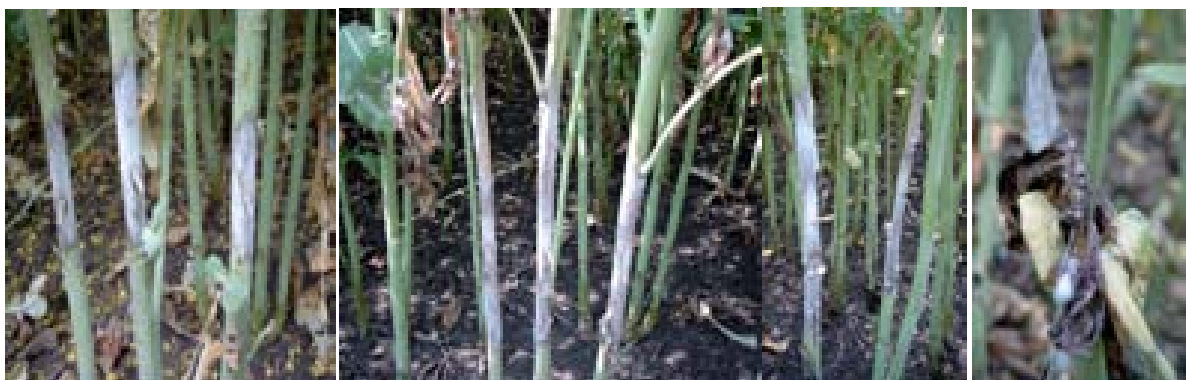
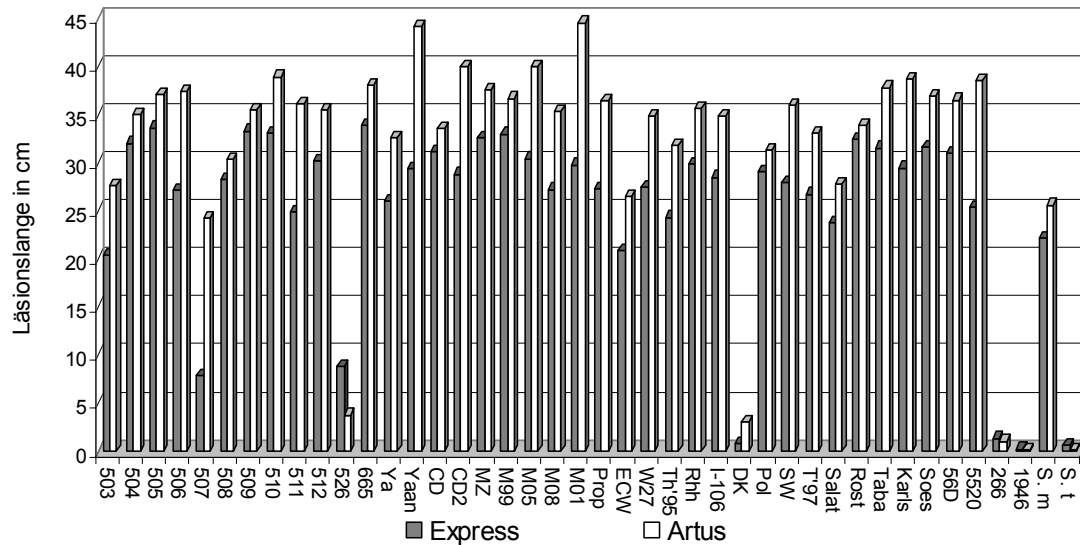


Abb. 31 Symptomausprägungen und Läsionslänge am Stängel 14 dpi (l) und 28 dpi (m) nach Zahnstocherinokulation und natürlichem Befall im Feld (r)



(Express: GD 5% = 1,6 cm; Artus: GD 5% = 2,4 cm, n=30)

Abb. 32 Ergebnisse der Aggressivitätsuntersuchungen verschiedener *Sclerotinia*-Herkünfte an den Rapssorten Artus (weiß) und Express (schwarz) nach Zahnstocherinokulation an Rapshauptstängeln im Feldversuch 2002

3.1.4 Genomuntersuchungen an *Sclerotinia*-Herkünften:

Von allen 41 *Sclerotinia*-Herkünften wurde genomische DNA extrahiert und mit der RAPD-PCR untersucht. *Fusarium sp.* diente als Kontrollorganismus bei allen Untersuchungen.

3.1.4.1 PCR-Optimierung

Aus allen untersuchten *Sclerotinia*-Herkünften konnte nach Extraktion und Aufreinigung genügend DNA in ausreichender Qualität (Tab. 53, Anhang 8.3) gewonnen werden. Für die PCR-Reaktion wurde die Konzentration an DNA auf 100 ng/10 µl eingestellt.

Zunächst wurde die Hybridisierungstemperatur optimiert. Auf der Basis von Literaturdaten (Kohli, 1998) wurde ein Temperaturbereich gewählt, in dem die optimale Hybridisierungstemperatur liegen sollte. Abb. 33 zeigt ein mit Ethidiumbromid gefärbtes Agarosegel von Temperaturgradienten-PCR der *S. sclerotiorum* Herkunft 506 mit dem Primer ABA10.

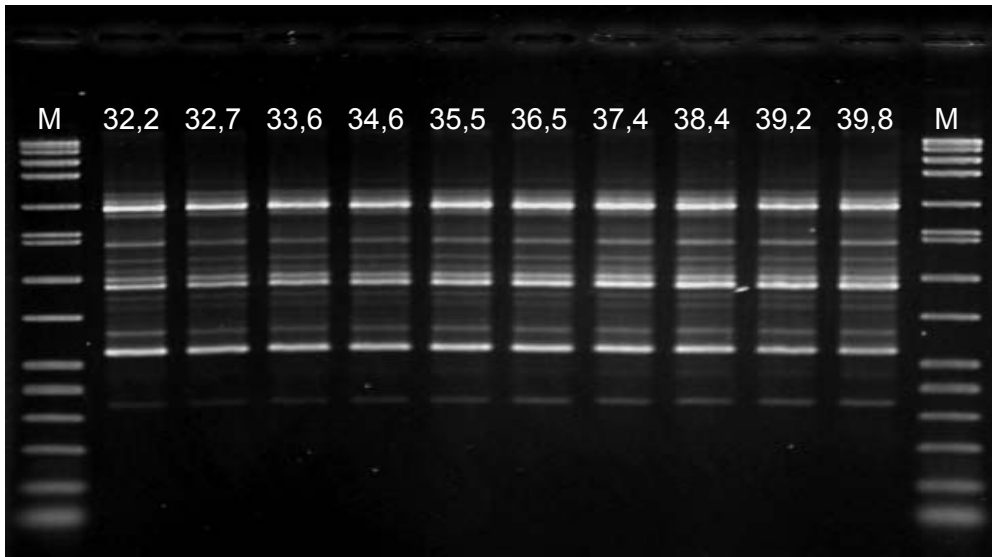


Abb. 33: Gelelektrophorese einer Temperaturgradienten-PCR mit *S. sclerotiorum*-Herkunft 506 und Primer ABA 10.

Die Zahlen an den Taschen entsprechen der Annealing-Temperatur von 36°C während der PCR. M = Marker D-7058 (Abb. 10).

Der Temperaturbereich von 32,2 bis 35,5 °C erwies sich als wenig geeignet, da hier die Reaktion nicht genug DNA lieferte um auch geringe Mengen genomischer DNA in ausreichendem Maße zu amplifizieren. Dies zeigte sich besonders an den nur schwach zu erkennenden Banden der kürzeren DNA Fragmente

Die PCR-Reaktion förderte im höheren Temperaturbereich vor allem kürzere DNA-Fragmente. Zwischen 37,4 und 39,2 °C war die maximale Anzahl Banden in gut trennbarer Form vorhanden. Bei den weiteren Untersuchungen wurde daher mit einer Hybridisierungstemperatur von 38,4 °C gearbeitet, weil bei dieser Temperatur sowohl kurze als auch lange PCR-Produkte in ausgewogener Menge entstanden (Abb. 33).

3.1.4.2 Untersuchte Herkünfte und verwendete Primer

Es wurden 20 Primer getestet. Davon wurden 8 Primer (Tab.28) für die weitere Untersuchung ausgewählt, die Bandenmuster ergaben, welche für die Auswertung geeignet waren. D. h. Es sollten nicht zu wenige (unter 10 Banden) und nicht zu viele Banden (über 30) produziert werden. Die Banden mussten klar voneinander abgrenzbar sein. Nach der DNA-Wanderung im Gel waren sehr kleine Banden (unter 100 bp) nicht klar und große Banden (über 4 bis 5 kbp) nur undeutlich als Schmier erkennbar. Aus diesem Grund wurde für jeden Primer ein Auswertungsbereich festgelegt, in dem die Banden deutlich zu erkennen waren.

Tab.28: Für die Auswertung der genomischen Untersuchung verwendeten Primer mit ihrer Basensequenzen.

ABA 03	ABA 04	ABA 07	ABA 09
AGTCAGCCAC	AATCGGGCTG	GAAACGGGTG	GGGTAACGCC
ABA 10	ABA 11	ABA 17	ABA 18
GTGATCGCAG	CAATCGCCGT	GACCGCTTGT	AGGTGACCGT

Untersucht wurden insgesamt 39 *Sclerotinia sclerotiorum*-Herkünften sowie je eine Herkunft von *S. minor* und *S. trifoliorum* sowie ein Isolat von *Fusarium sp.* als Kontrollorganismus.

3.1.4.3 Ergebnisse der einzelnen Primer

Jedes Gel besaß 15 Taschen. In die erste und die letzte Tasche wurde der Längenstandard/ Molekularmarker (D-7058, Sigma) aufgetragen, so dass 13 Proben aufgetragen werden konnten. Bei den insgesamt 42 zu testenden Herkünften mussten danach für jeden Primer vier Gele gefahren werden, um alle Proben vergleichend zu erfassen. Abb.34 zeigt exemplarisch für alle Primer die vier Gele mit den untersuchten Herkünften unter Anwendung des Primers ABA 10. Am Anfang und Ende von jedem Gel ist der Längenstandard (M) zu sehen. Die zweite Spur im zweiten Gel von oben enthält die Kontrolle ohne DNA (NTC, Pfeil). In der zweiten Spur von oben ist das Bandenmuster des Kontrollorganismus *Fusarium sp.* zu sehen. Es zeigt deutliche Unterschiede zu den Mustern der *Sclerotinia*-Herkünfte. Deutlich ist zu erkennen, dass mit diesem Primer die Herkünfte in Gruppen unterteilt werden können. Einige zeigen identische Bandenmuster, andere dagegen unterscheiden sich deutlich (Abb. 34).

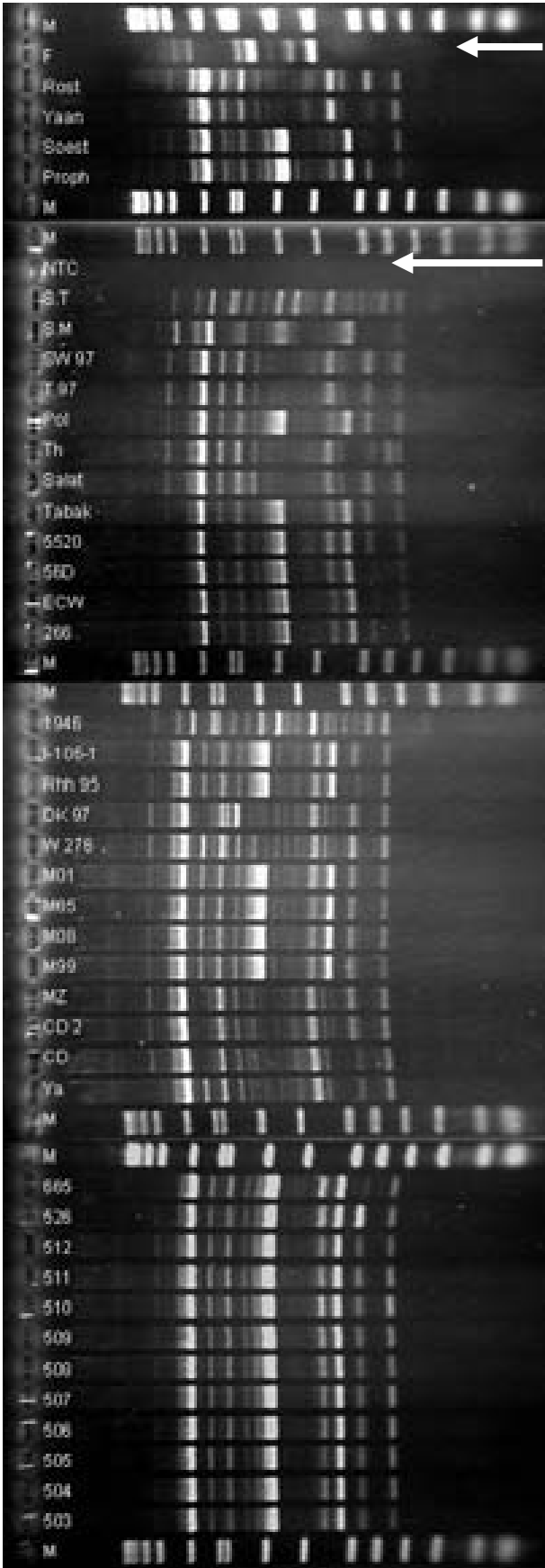


Abb.34: PCR von *Sclerotinia*-Herkünften und Kontrollen mit Primer ABA 10. Fotomontage aus vier Gelen.

3.1.4.3.1 Primer ABA 10

Exemplarisch werden hier nur die Ergebnisse des Primers ABA 10 dargestellt (Ergebnisse der Primer ABA 3, 4, 7, 9, 11, 17 und 18 s. Kap. 8).

Die Ergebnisse der PCR mit dem Primer ABA 10 sind in Abb. 35 und Tab. 29 zusammengefasst. Insgesamt konnten 26 unterschiedliche Merkmale erfasst werden. Ausgewertet wurde der Bereich von 218 bis 3951 Basenpaaren.

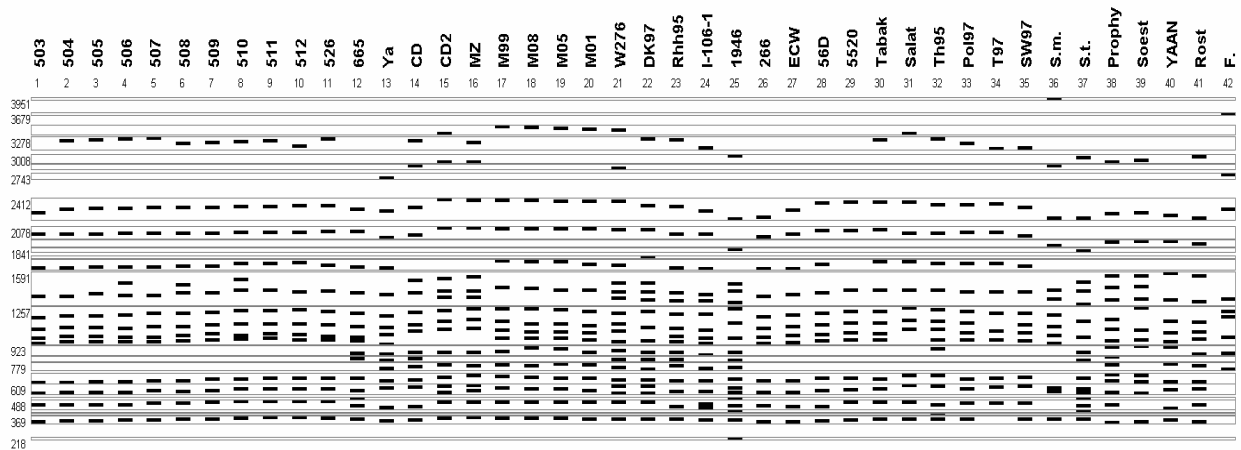


Abb. 35. : Schematisiertes Gel des Primers ABA 10. Aufgetragen sind die Positionen der einzelnen Banden in den dazugehörigen Bins.

Tab. 29. Auflistung der Bins und ihrer Größe mit den darin enthaltenen Banden aus der PCR mit Primer ABA 10

Bin	bp Range	1946	266	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	526	5520	56D	665	CD	CD2	DK97	ECW	F.	I-106-1	M01	M05	M08	M99	MZ	Poi97	Prophy	Rhh95	Rost	S.m.	S.t.	Salat	Soest	SW97	T97	Tabak	Th95	W276	Ya	YAAN						
1	3951-3951	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
2	3679-3679	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
3	3459-3352	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
4	3278-3113	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
5	3008-2917	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
6	2866-2835	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
7	2743-2692	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
8	2412-2182	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
9	2078-1966	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
10	1928-1878	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
11	1841-1824	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
12	1759-1759	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
13	1717-1636	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
14	1591-1294	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
15	1257-940	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
16	923-848	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
17	833-805	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
18	779-736	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
19	691-627	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
20	609-546	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	508-504	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
22	488-435	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	417-411	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
24	397-397	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
25	369-331	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	218-218	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Mit Hilfe des Primers ABA 10 ließen sich nicht alle Herkünfte eindeutig differenzieren. Es waren zwei Gruppen zu erkennen, die auf Grund der 0/1-Matrix (Tab. 29) identisch sind.

Diese Gruppen sind in Tab. 29 mit gleicher Farbe (gelb bzw. grün) markiert. Alle nicht farblich markierten Herkünfte ließen sich durch ihr Bandenmuster eindeutig unterscheiden.

Alle untersuchten Herkünfte zeigten in den Bereichen 1294 bis 1591 und 2182 bis 2412 eine Bande, da aber auch der Kontrollorganismus (*Fusarium*) in diesen Bereichen ein Amplifikat zeigte, kann diese Bande nicht als gattungstypisch bezeichnet werden. Ein typischer DNA-Fragmentbereich, in dem alle Herkünfte der Gattung *Sclerotinia* eine Bande aufweisen, existiert bei diesem Primer in den Bereichen 546 bis 609 und 940 bis 1257. Diese zwei typischen DNA-Fragmentbereiche werden als gattungstypisch von *Sclerotinia* bezeichnet.

Im DNA-Fragmentbereich 627 bis 691 unterscheidet sich die Gattung *Sclerotinia* in die Art *S. sclerotiorum* und die Art *S. minor*, wogegen die Art *S. minor* in diesem DNA-Fragmentbereich keine Bande aufweist.

3.1.4.4 Dendrogramm aus den RAPD-Untersuchungen

Für die Berechnung des Dendrogrammes (Abb. 36) wurden alle Merkmale, insgesamt 213, der acht ausgewerteten Primer verwendet. In Treecon wurden die Formel von King et al (1995) sowie die Clustermethode (UPGMA) angewendet.

Wie die Abb. 36 zeigt, lässt sich jede einzelne *S. sclerotiorum*-Herkunft mit der RAPD-PCR Methode und den gewählten Primern eindeutig charakterisieren. Keine Herkunft gleicht einer anderen in allen untersuchten Merkmalen. Je dichter die untersuchten Herkünfte im Dendrogramm zusammenstehen, desto ähnlicher sind sie sich in den untersuchten genetischen Merkmalen. Zu beachten ist hierbei allerdings, dass die Äste des Baumes an den Knoten frei drehbar sind, und die Reihenfolge der Auflistung zufällig ist.

Deutlich zu sehen ist, dass die für Kontrollzwecke mit untersuchter *Fusarium*-Art sich stark in ihren Merkmalen von *Sclerotinia* unterscheidet und im Dendrogramm deutlich isoliert ist. Deutlich ist auch der große Unterschied zwischen den Arten *S. minor*, *S. trifoliorum* (blaue Farbe) und den anderen Herkünften. Alle anderen zeigen untereinander größere Übereinstimmungen.

Mit dem RAPD-Bandenmuster konnten alle Herkünfte unterschieden werden. Es zeigte sich, dass die Stämme von *S. sclerotiorum* durch ihre DNA-Charakteristik entsprechend ihrer regionalen Herkunft zu unterscheiden waren (Abb. 36). Aus den gewonnenen Merkmalen wurde ein Dendrogramm errechnet. In diesem ist eine Teilung der *S. sclerotiorum* Herkünfte in verschiedenen Gruppen zu erkennen.

Isolat *S. minor* und Isolat *S. trifoliorum* sind verschiedene Arten innerhalb der Pilzgattung *Sclerotinia*. Hier konnte ein deutlicher Unterschied ermittelt werden (blaue Farbe).

Weiterhin zeigte sich, dass die 10 Ascosporen-Linien (504 bis 510), die aus der Herkunft Frankreich gewonnen wurden, eindeutig einer Gruppe zugeordnet werden konnten (grün unterlegter Bereich). Dennoch sind selbst innerhalb der Ascosporen-Linien mit der verwendeten RAPD-PCR-Methode Unterschiede im Genom nachgewiesen wurden.

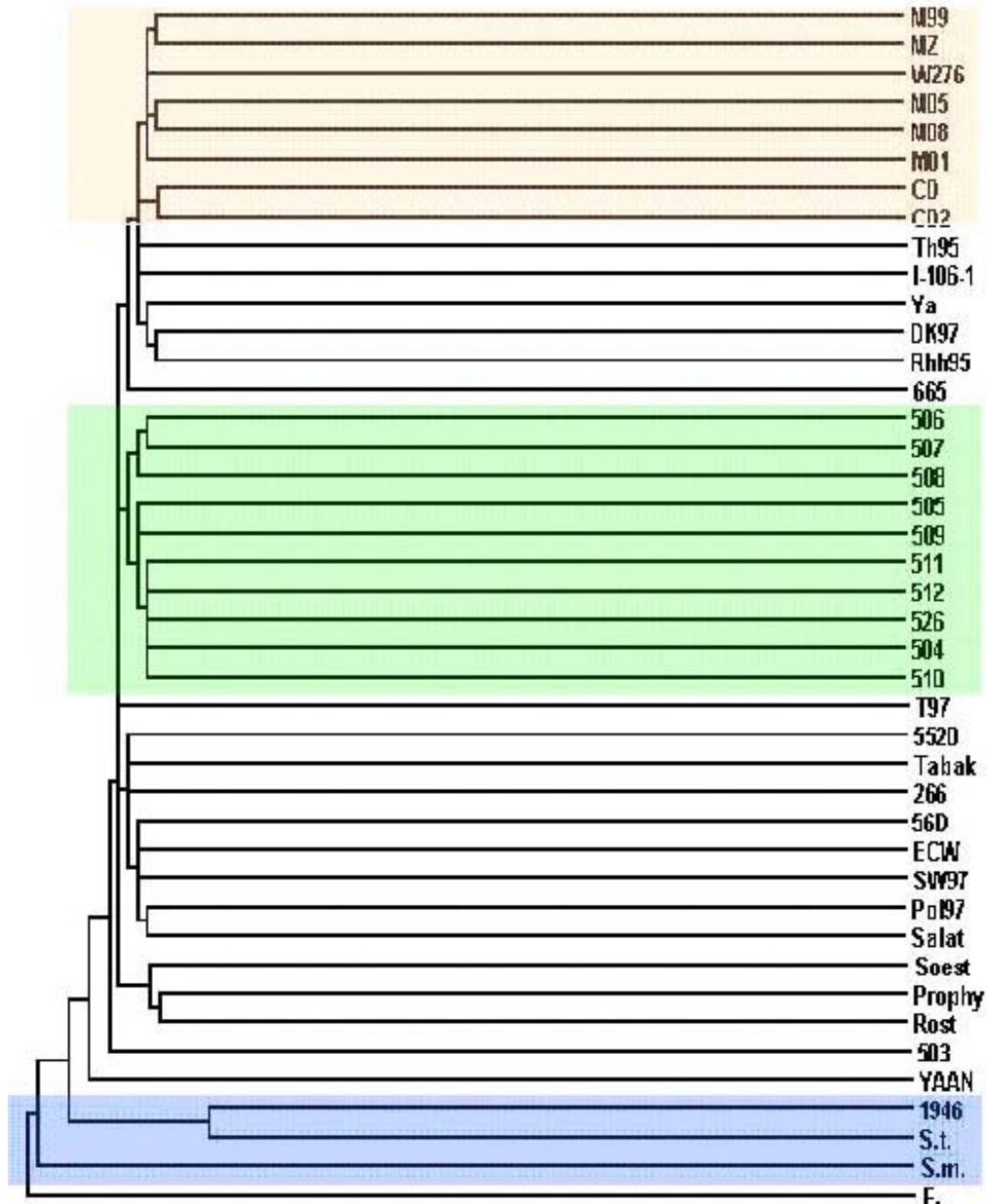


Abb. 36: Dendrogramm berechnet aus den Ergebnissen der RAPD-PCR-Untersuchungen von 41 *Sclerotinia* Herkünften mit 8 Primern und 213 Merkmalen. *S.t.* = *Sclerotinia trifoliorum*, *S.m.* = *Sclerotinia minor*, *F* = *Fusarium sp.* Zur Berechnung wurde Treecon 1.2 verwendet (Clusteranalyse, UPGMA).

3.2 Sortenreaktionen verschiedener Rapssorten

3.2.1 Klimakammerergebnisse

Im Blatttest unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer wurde die Anfälligkeit von 69 in China gezüchteten Rapszuchtlinien mit zwei registrierten deutschen und zwei chinesischen Rapssorten gegenüber dem Isolat MZ untersucht.

Die Graphik (Abb. 37) zeigt die Ergebnisse der Reaktion von Winterrapssorten/-linien auf *S. sclerotiorum*-Befall im Blatttest unter Laborbedingungen.

Auf der x-Achse stehen die verwendeten 78 Rapssorten und -linien. Davon dienten die chinesischen Sorten ZY821 und ZS4 (Säule 1 und 2) und die deutschen Sorten Express und Artus (Säule 3 und 4) als Kontrollen.

Es wurde die Anfälligkeit der 69 in China durch Kreuzung mit verschiedenen *Brassica napus* gezüchteten Rapslinien mit dem *S. sclerotiorum*-Isolat MianZu untersucht. Die ersten 11 grauen Säulen (HL 1-10) stammten aus Zuchtlinien von den gleichen Eltern ab, die durch Microsporenkultur gezüchtet wurden. Die Unterschiede der Reaktion auf *S. sclerotiorum* waren deutlich sichtbar. Die Säulen 15-21 schwarzen Säulen (HY 1-8) stammten von anderen Eltern ab. Von diesen 69 Rapslinien wurden die Pflanzen aus 10 chinesischen Regionen als Zuchteltern benutzt.

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Anfälligkeit unter den Rapszuchtlinien (Abb. 37) gegen die Weißstängeligkeit. Die Blattläsionen variierten im Bereich von 22 mm (ZY821, Säule 1) bis 76 mm (HZ1, Säule 22).

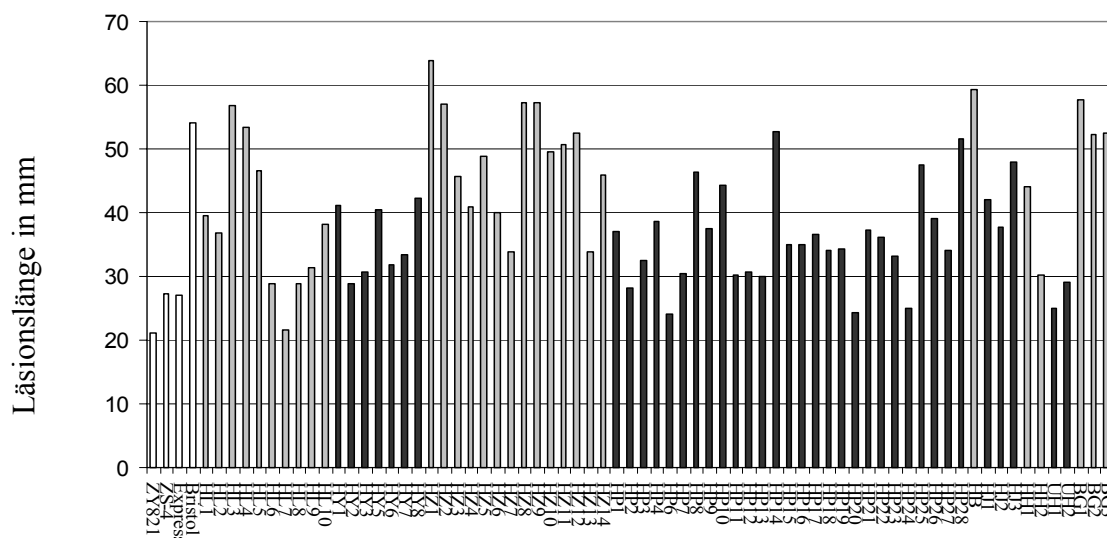


Abb. 37: Ergebnisse der Sortenreaktion von 73 Winterrapssorten/-linien auf *S. sclerotiorum*-Befall auf der Basis von Läsionsgrößen im Blatttest (DLT)
(Klimakammer: 4 dpi am 2. Laubblatt bei 18 °C, Isolat MZ, GD 5% = 7,5, GD 1% = 9,9 mm)

Im Blatttest unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer wurde die Anfälligkeit (Tab. 30 und Abb. 38) von 3 chinesischen Sorten und 15 deutschen Sorten mit dem Isolat M01 untersucht.

In der Tab. 30 sind die Ergebnisse der Reaktion von 18 Winterrapssorten auf *S. sclerotiorum*-Befall im Blatttest am 2. Laubblatt in Klimakammeruntersuchungen dargestellt.

Es wurde täglich die Läsionslänge in mm dargestellt. Die Ergebnisse zeigten unterschiedliche Tendenzen bezüglich der Anfälligkeit der 18 Rapssorten gegenüber dem Blattbefall. Die Blattläsionen variierten im Bereich von 47,0 mm (Nr. 11) bis 82,8 mm (Nr. 2) 7 Tage nach der Inokulation. Die tägliche Zunahme der Läsionslänge auf dem Blatt breitete sich innerhalb von 4 Tagen mit unterschiedlicher Geschwindigkeit aus. Die Läsionslänge aus der Bonitur von 5 bis 7 Tagen nach der Inokulation war zwischen den Herkünften vergleichbar.

Tab. 30 Ergebnisse der Sortenreaktion von 18 Winterrapssorten auf den *S. sclerotiorum*-Befall im Blatttest (DLT) in der Klimakammer

Nr.	Sorte	4 dpi	5 dpi	6 dpi	7 dpi	Sortentyp
1	Action	21,2	33,4	49,7	67,2	F
2	Artus	21,5	37,7	58,7	82,8	H
3	Elan	18,2	30,3	43,8	57,3	H
4	NPZ 2004	18,3	30,6	44,8	58,3	
5	NPZ 2005	17,4	29,6	42,0	53,6	
6	Express	17,1	30,5	44,3	58,2	L
7	Prince	18,9	29,0	42,7	55,0	L
8	Pronto	23,5	36,2	48,2	62,6	H
9	Talent	25,0	39,0	50,9	67,8	H
10	Viking	20,8	30,7	46,3	58,2	L
11	Cadillac	16,1	25,0	35,3	47,0	L
12	Lion	19,3	32,9	48,9	60,9	F
13	Liprima	15,2	25,1	38,2	48,7	
14	Lisek	19,9	32,1	48,2	62,4	
15	Oase	19,3	30,9	46,1	60,5	
16	Chuan Y 16	25,3	39,6	53,6	69,1	L
17	Chuan Y 20	17,9	27,4	38,7	49,8	L
18	Zhong S 4	16,9	28,6	43,5	55,1	L
GD 5%		1,8	2,4	3,8	4,8	
GD 1%		2,4	3,2	5,0	6,3	

(2. Laubblatt mit dem Isolat M01 bei 14 °C, n=20, Sortentyp: F = freiabblühende Sorte; H = Hybride)

Die Ergebnisse in Abb. 38 zeigen die Reaktion von 18 Winterrapssorten auf den Befall im Blatttest am 3. Laubblatt nach Inokulation mit Mycelsuspension (schwarz) und mit Ascosporen (weiß) in Klimakammeruntersuchungen.

Es zeigten sich unterschiedliche Ausbreitungen der Blattläsionen an den 18 Rapssorten zwischen den Inokulationen mit Mycelsuspension (schwarz) und Ascosporen (weiß). Die Reaktion der Blätter auf die Inokulation mit Mycelsuspension war anfälliger als die auf die mit Ascosporen. Die Blattläsionen variierten mit unterschiedlichen Tendenzen 8 Tage nach

der Inokulation. Im Vergleich zur Läsionslänge am Blatt mit den beiden Inokulationsverfahren erwies sich Sorte Nr.2 als sehr anfällige und Sorte Nr. 6 als geringe anfällig.

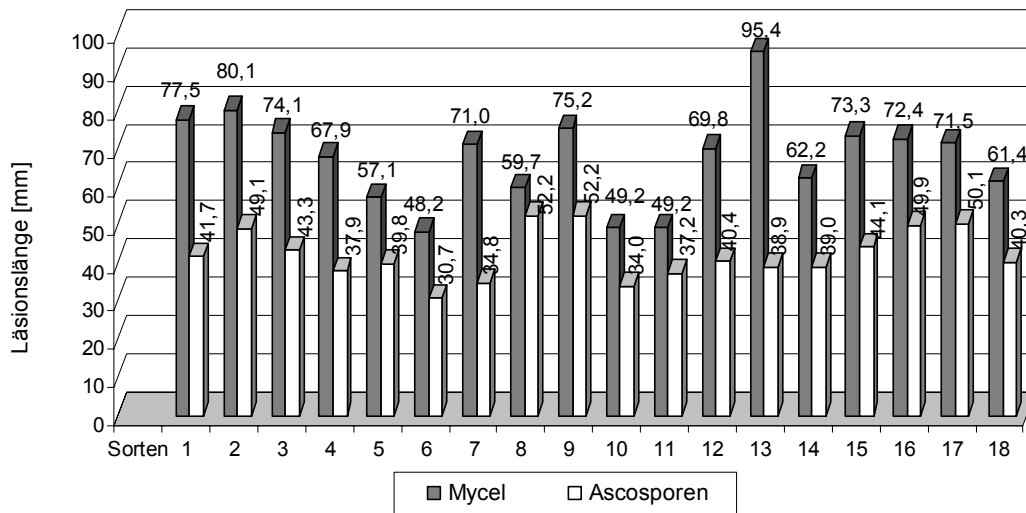


Abb. 38 Ergebnisse der Sortenreaktion von 18 Winterrapsorten auf den *S. sclerotiorum*-Befall im Blatttest (DLT)

(GD 5% = 6,0 , GD 1% = 7,9 mm, Klimakammer, 8 dpi mit 3. Laubblatt bei 14 °C, Isolat M01)

Um die Verlässigkeit der Ergebnisse von Blättern von im Gewächshaus/Klimakammer angezogenen Pflanzen zu überprüfen, wurden Blätter gleich von im Feld gewachsenen Pflanzen in der Blüte entnommen und unter gleichen Bedingungen dem DLT-Test in der Klimakammer unterzogen. Dabei zeigte sich ein signifikant geringerer Befall der Sorte Express gegenüber der Sorte Artus. Die Ergebnisse stimmten mit denen der Blatttests in der Klimakammer überein (Abb. 40), unabhängig vom verwendeten *S. sclerotiorum*-Isolat (Abb. 39 und Abb. 40).

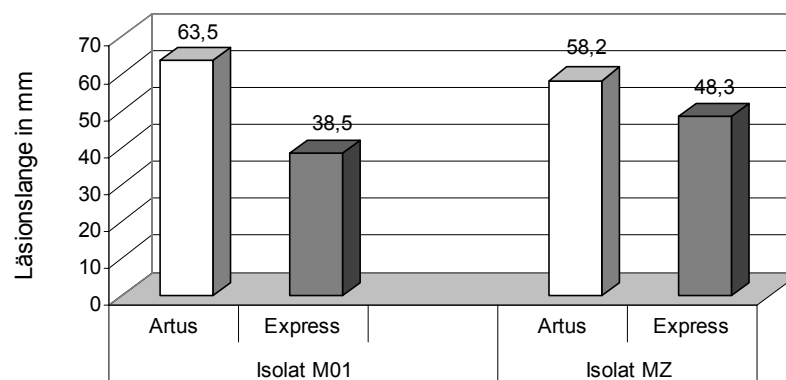


Abb. 39: Reaktion der Sorten Artus (weiß) und Express (schwarz) auf den Befall von Isolat M01 und Isolat MZ im Blatttest nach Inokulation mit Mycelseibchen 5dpi bei 14°C, GD 5% = 8,7

(In der Klimakammertest, n=20, Blätter entnommen aus dem Feld des Landessortenversuchs, Soest)

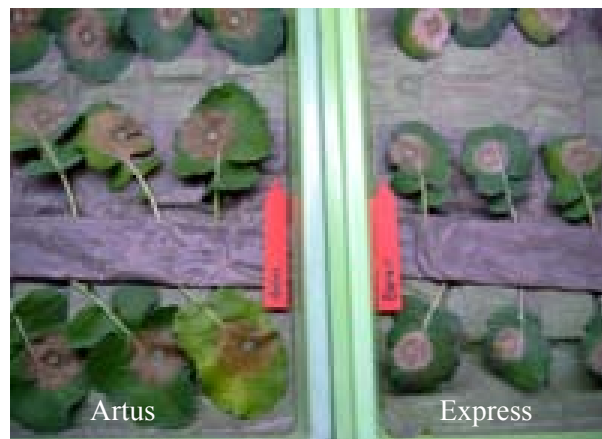


Abb. 40 Reaktion der Sorten Artus (l) und Express (r) auf den Befall im Blatttest (3. Laubblatt) nach Inokulation mit Mycelscheibchen 5dpi bei 14°C in der Klimakammer, n=20 (Blätter aus Klimakammer)

Parallel zum DLT-Test wurden Haupt- und Nebentriebe von direkt aus dem Feld entnommenen Pflanzen auf ihre Anfälligkeit gegen Weißstängeligkeit durch Stängelino­kulation mit Mycelscheibchen und Mycelsuspension in der Klimakammer untersucht. Die Anfälligkeit der Haupttriebe der Sorte Express zeigte einen signifikanten geringeren Befall für Isolat MZ, aber keinen gesicherten Unterschied zu Isolat M01. Die Sorte Express (weiße Säulen) zeigte trotzdem einen tendenziell geringeren Befall als die Sorte Artus (schwarze Säulen) (Abb. 41).

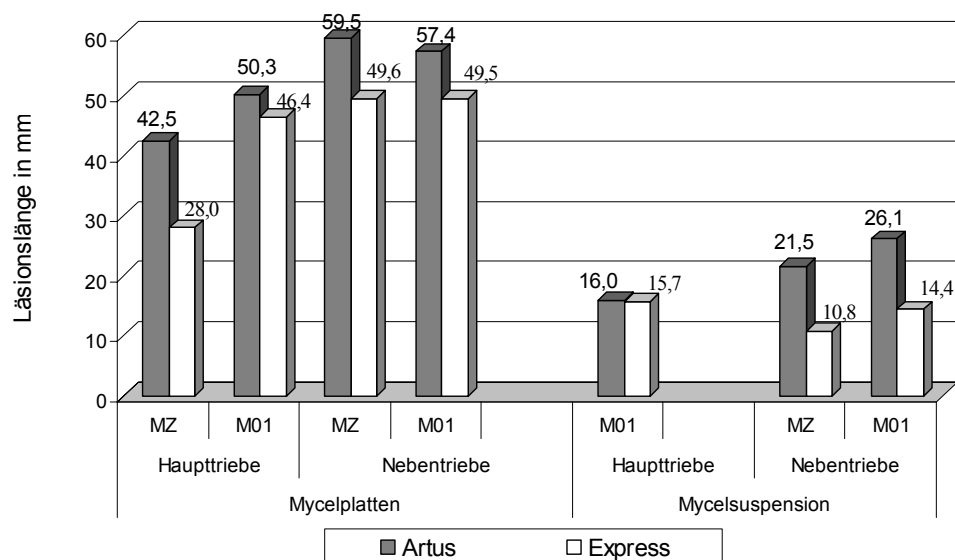
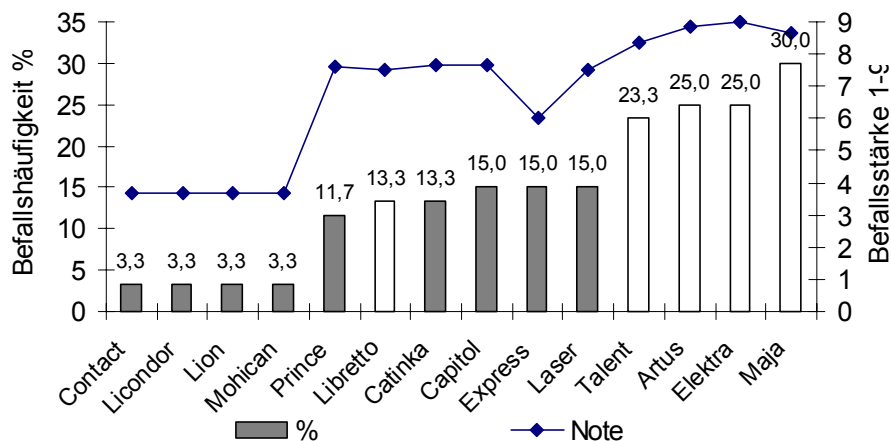


Abb. 41 Sortenreaktion von zwei Rapssorten auf den Befall durch Stängeltest mit Mycelscheibchen und Mycelsuspension 8 dpi bei 14°C, (Pflanzen aus dem Feld)

3.2.2 Feldergebnisse

In einem Feldversuch am Versuchsgut Merklingsen des Fachbereichs der Fachhochschule Südwestfalen wurde die Anfälligkeit von 14 deutschen Rapssorten für Weißstängeligkeit ermittelt. Die Befallshäufigkeit der untersuchten 14 Rapssorten konnte in drei Gruppen

unterteilt werden. Die Liniesorten, wie Contact, Licondor, Lion und Mohican unterschieden sich signifikant mit einer geringeren Befallshäufigkeit und –stärke von den Hybridsorten Talent, Artus, Elektra und Maja. Sie zeigten einen deutlich geringeren Befall als die Hybridsorten (Abb. 42 und Tab. 31).



(GD 5% Befallshäufigkeit =9,3, GD5% Note= 3,7) (Grün: Befallsstärke: 1-9)

Abb. 42: Reaktion von 14 Winterrapssorten auf Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) im Feldversuch Versuchsgut Merklingsen 2002 (vor Ernte)

Tab. 31: Sortenreaktion von 14 Winterrapssorten auf Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) im Feldversuch und Vergleich mit der Sortenbeschreibung (n=60)

Sorte	Befallshäufigkeit %	Befallsstärke (1-9)	Bundessortenliste 2003*	Bundessortenliste 1999*	Sortentyp
Contact	3,3	3,7	6	5	F**
Licondor	3,3	3,7	5	4	F
Lion	3,3	3,7	5	/	F
Mohican	3,3	3,7	5	4	F
Prince	11,7	7,6	7	/	F
Libretto	13,3	7,5	5	/	H
Catinka	13,3	7,7	6	5	F
Capitol	15,0	7,7	5	4	F
Express	15,0	6,0	5	4	F
Laser	15,0	7,5	6	5	F
Talent	23,3	8,3	6	5	H
Artus	25,0	8,8	6	/	H
Elektra	25,0	9,0	6	/	H
Maja	30,0	8,7	7	5	H
GD 5%	9,3	3,7			

* Quelle: Beschreibende Sortenliste 2003 und 1999, Anfälligkeit für *Sclerotinia*, 3 = gering; 5 = mittel; 7 = stark. ** Sortentyp: F = freiabblühende Sorte; H = Hybride

3.3 Untersuchung zur Wirkung von Cantus, Caramba und Folicur auf den Erreger der Weißstängeligkeit

In vitro wurde die Wirkung von Cantus, Caramba und Folicur auf Sporenkeimung und Mycelwachstum von *S. sclerotiorum* geprüft. In Klimakammeruntersuchungen wurden jeweils 3 verschiedene Aufwandmengen (100 %, 75 %, 50 %) der Fungizide auf die Wirkung

gegen Weißstängeligkeit untersucht. Die Wirksamkeit der Präparate wurden vor bzw. nach Inokulation an den frisch entnommenen 3. Laubblättern der Rapspflanzen im 4-5-Blattstadium (BBCH 14-15) geprüft.

3.3.1 Hemmwirkung auf die Keimung der Ascosporen und das Wachstum des Mycels

3.3.1.1 Hemmwirkung auf die Keimung der Ascosporen

Um einen Hinweis auf Wirksamkeit und wirksame Konzentration von Cantus und Caramba auf die Keimung der Ascosporen von *S. sclerotiorum* zu bekommen, wurde ein Keimtest der Ascosporen von *S. sclerotiorum* (Isolat M01) durchgeführt.

In der Kontrolle wurden 97,9 % gekeimte Ascosporen gefunden.

Cantus reduzierte bei protektiver Applikation in einer Wirkstoffkonzentration ab 0,5 ppm die Keimung der Ascosporen auf 22,4 % hoch signifikant. Ab 10 ppm der Wirkstoffkonzentration trat keine Keimung in nennenswertem Umfang auf.

Im Vergleich dazu führte bei Caramba erst eine Wirkstoffkonzentration von 10 ppm zu einer Keimhemmung von 51,1 %. Bei 100 ppm fand keine Keimung mehr statt.

Folicur reduzierte den Anteil gekeimter Ascosporen bei einer Wirkstoffkonzentration von 10 ppm nur auf 90,8 %. Ab 100 ppm Wirkstoffkonzentration war aber auch hier keine Keimung mehr feststellbar (Abb. 43 und 44).

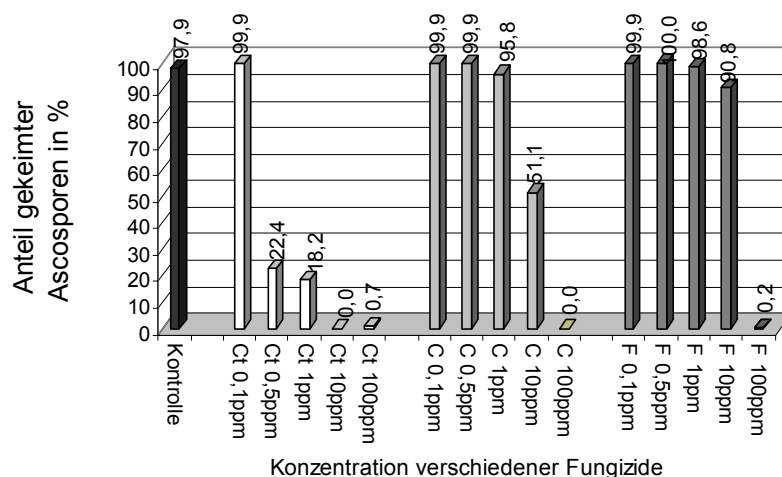


Abb. 43: Wirkung von Cantus (Ct), Caramba (C) und Folicur (F) in verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen auf die Keimung der Ascosporen von *S. sclerotiorum* (n=3), (24 h nach der Keimung, GD 5% = 16,4, GD 1% = 21,9)

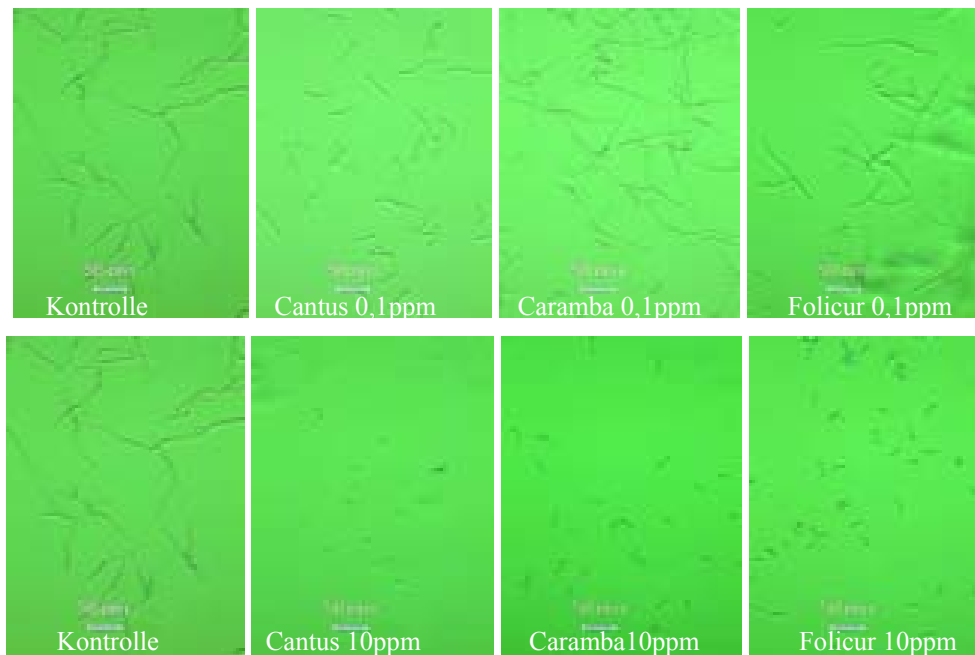


Abb. 44 Wirkung der Fungizide Cantus, Caramba und Folicur auf die Ascosporenkeimung von *Sclerotinia sclerotiorum* (Inkubationsdauer 20 h)

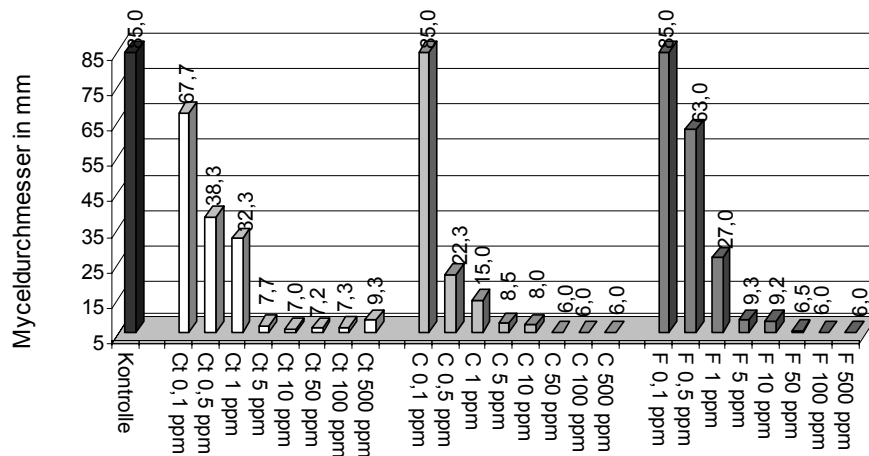
3.3.1.2 Hemmwirkung auf das Wachstum des Mycels

Um einen Hinweis auf die Wirksamkeit und die wirksame Konzentration von Cantus und Caramba auf das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum* zu bekommen, wurde ein *in-vitro*-Wachstumstest auf synthetischem Nährmedium durchgeführt.

Dazu wurden die beiden o. g. Präparate sowie Folicur als Vergleichsmittel in acht unterschiedlichen Wirkstoffkonzentrationen (500ppm, 100ppm, 50ppm, 10ppm, 5ppm, 1ppm, 0,5ppm und 0,1ppm) den sterilisierten Nährmedien nach Abkühlung auf ca. 50 °C beigemischt und zu je 25 ml Gesamtvolumen in 9 cm Plastik-Petrischalen gefüllt. Die Petrischalen wurden mit je einem Mycelscheibchen (Durchmesser: 6 mm) einer gut gewachsenen *S. sclerotiorum*-Kultur beimpft. Nach 72 Stunden Wachstum bei 23°C wurde das Mycelwachstum auf den Nährmedien gemessen (n=4) (Abb. 46).

Wie die Abb. 45 zeigt, reduzierte Metconazol und Tebuconazol *in vitro* ab einer Konzentration von 0,5 ppm des Wirkstoffs im Nährmedium sehr hoch signifikant das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum*. Metconazol zeigte *in vitro* immer einen besseren reduzierten Effekt auf das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum* als Tebuconazol bei gleichen Konzentrationen.

Boscalid dagegen zeigte bereits bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,1 ppm eine hoch signifikante Reduzierung des Mycelwachstums von *S. sclerotiorum* im Vergleich zur Kontrolle (0 ppm). Die stärkste Hemmung wurde erwartungsgemäß mit einer Konzentration von 5 bis 500 ppm erzielt.



GD 5%=1,0 mm; GD 1%=1,4 mm; GD 0,1%=1,8 mm

Abb. 45. Hemmwirkung von Cantus (Ct), Caramba (C) und Folicur (F) bei verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen auf das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum* in vitro (Isolat M01, 3 dpi)

Auffällig war die Nebenwirkung von Boscalid bei hohen Konzentrationen (über 50ppm) durch Förderung des Mycelwachstums von *S. sclerotiorum* (Abb. 46). Die Wirkstoffkonzentration bei 100 ppm zeigte keine stärkere Hemmwirkung auf das Mycelwachstum als die Konzentrationen 10 ppm und 50 ppm 10 Tage nach der Inokulation. Drei unterschiedliche Isolate wie M01, MZ und 504 wiesen sogar ein unterschiedliches ausgeprägtes Mycelwachstum bei 100 ppm Wirkstoffkonzentration auf als bei 10 ppm und 50 ppm (Tab. 32).



(o.l: Kontrolle, 0,1, 0,5, 1,0, 5,0, 10, 50, 100 und 500 ppm v.r.)

Abb. 46 Hemmwirkung von Cantus (l), Caramba (m) und Folicur (r) bei verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen auf das Mycelwachstum (mm) von *S. sclerotiorum* in vitro 20 dpi.

Tab. 32 Wirkung der Fungizide Cantus, Caramba und Folicur auf das Mycelwachstum der vier *Sclerotinia sclerotiorum* Herkünfte M01, F504 und MZ in vitro

Fungizide	1 dpi			2 dpi			4 dpi			6 dpi			10 dpi		
	M01	F504	MZ	M01	F504	MZ	M01	F504	MZ	M01	F504	MZ	M01	F504	MZ
Kontrolle	37,0*	40,0	21,0	78,7	79,0	62,7	79,0	79,0	79,0	79,0	79,0	79,0	79,0	79,0	79,0
Ct1ppm**	4,3	8,3	4,0	12,7	19,0	13,7	29,3	34,7	33,0	79,0	79,0	79,0	79,0	79,0	79,0
Ct5ppm	0,7	2,0	1,0	0,3	2,7	5,0	0,7	4,3	11,7	1,0	41,3	47,3	1,0	75,0	77,3
Ct10ppm	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2	2,3	0,7	1,3	3,3	1,0	7,7	7,3	0,7	25,3	11,3
Ct50ppm	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,3	1,0	1,0	0,7	7,3	0,0	0,0	27,3	0,0
Ct100ppm	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	5,3	0,0	25,7	35,7	12,0
C1ppm	1,0	1,0	0,0	4,0	4,3	0,0	8,0	8,3	2,0	22,3	21,0	12,3	55,3	34,7	50,3
C5ppm	1,0	1,0	0,0	0,8	1,0	0,3	1,7	1,7	1,0	3,7	1,7	1,3	5,3	1,7	2,0
C10ppm	1,0	1,0	0,0	1,0	1,3	0,0	1,3	1,0	0,0	3,3	1,3	0,3	3,0	2,0	3,0
C50ppm	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C100ppm	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
F1ppm	2,0	2,0	2,0	8,7	8,3	8,7	14,0	16,3	17,3	37,7	34,0	45,0	69,0	54,3	77,3
F5ppm	1,0	1,0	0,0	1,7	2,0	2,0	3,7	3,7	3,0	11,0	8,3	6,3	21,7	26,3	21,3

F10ppm	1,0	1,0	0,0	1,7	1,0	1,2	2,0	2,0	2,0	3,0	2,0	2,0	4,7	2,7	4,0
F50ppm	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
F100ppm	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

*Koloniedurchmesser in mm **berechnet auf Wirkstoffkonzentration

3.3.2 Klimakammeruntersuchungen zur protektiven und kurativen Wirkung von Cantus, Caramba und Folicur gegen Weißstängeligkeit

Im Folgenden wurde der Frage nach der Protektiv- und Kurativwirkung gezielt nachgegangen.

3.3.2.1 Protektive Wirkung

Als Pflanzenmaterial wurden in der Klimakammer angezogene Rapspflanzen (Sorte Artus) in BBCH 15 verwendet. Die Inokulation erfolgte am dritten Laubblatt in Kap. 2.8.3 beschrieben. Wie aus Abb. 47 und 48 hervorgeht, konnte ein maximaler Behandlungserfolg durch Cantus direkt nach Abtrocknen des Spritzbelages erzielt werden. Auch bei den späteren Applikationsterminen erwies sich Cantus meist als das effektivste Mittel zur Verhinderung der Ausprägung von Schadsymptomen. Speziell 4, 5 und 6 Tage vor der Inokulation zeigte sich Cantus auch dem Caramba hoch signifikant überlegen. Die Wirkung von Folicur zeigte sich uneinheitlich, war jedoch allgemein schwächer als die Wirkung von Cantus und Caramba.

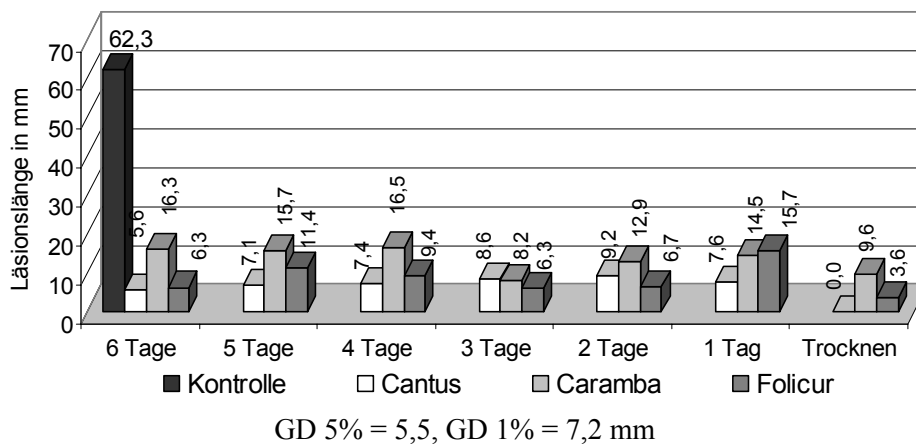


Abb. 47: Protektive Wirkung von Cantus, Caramba und Folicur auf *S. sclerotiorum*-Befall im Blattstiel in der Klimakammer. Behandlung 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Tage vor der Inokulation (Artus, n=20)

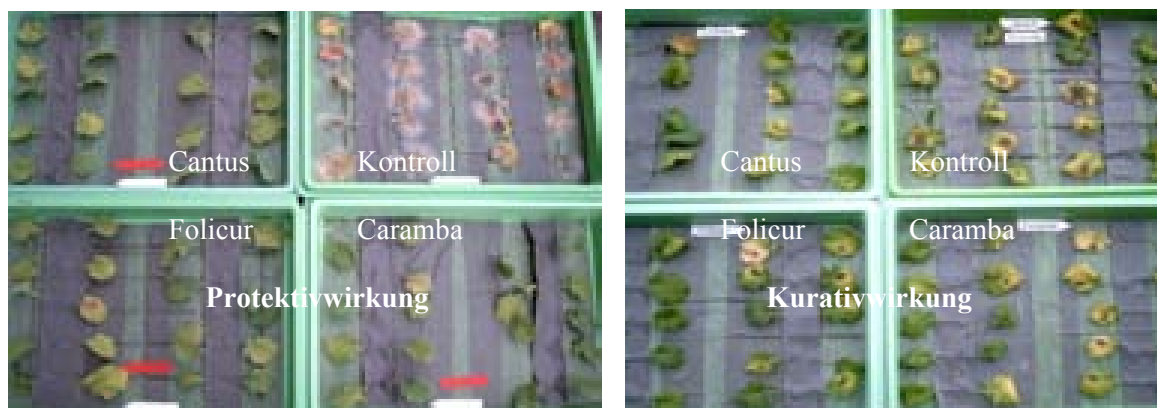


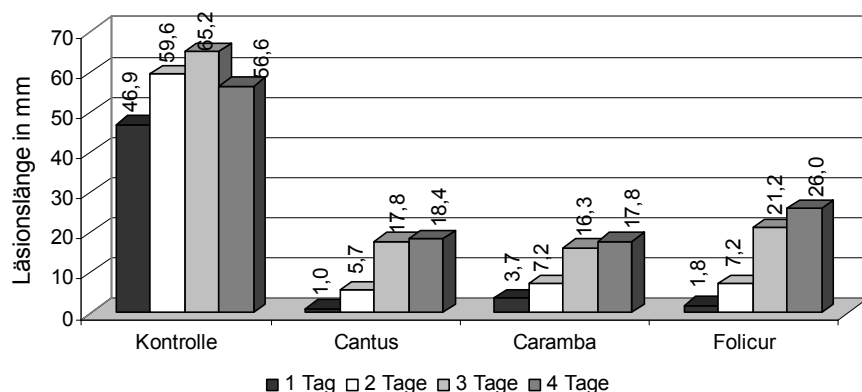
Abb. 48 Protektive (l) und kurative (r) Wirkung von Cantus (h.l.), Caramba (v.l.) und Folicur (v.r.) mit vollen Konzentration drei Tage vor und nach der Inokulation

3.3.2.2 Kurative Wirkung

Die Pflanzenanzucht und Inokulation erfolgte wie unter Kap. 2.8.3. beschrieben. Die Bonitur erfolgte durch Messung der Läsionslänge in mm 6 Tage nach der Inokulation.

Wie Abb. 49 zeigt, konnte mit allen Präparaten eine höchst signifikante Reduzierung der Schadsymptome (Läsionslänge) im Blatttest erzielt werden. Bis zu einer Behandlung 3 Tage nach der Inokulation unterschieden sich die Präparate in ihrer Effizienz nicht signifikant voneinander, aber immer höchst signifikant von der unbehandelten Kontrolle. Allerdings zeigte Folicur tendenziell eine schwächere Wirkung als Cantus und Caramba. Wurde erst 4 Tage nach Inokulation behandelt, so erwies sich Folicur den Präparaten Cantus und Caramba hoch signifikant unterlegen. Letztere Präparate zeigten deutlich bessere kurative Effekte als Folicur.

Es zeigte sich erwartungsgemäß eine deutliche Korrelation in der Form, je früher der Applikationszeitpunkt und je höher die Applikationskonzentration des eingesetzten Mittels waren, umso stärker war die befallsreduzierende.



Behandlung in Tagen nach Inokulation (GD 5% = 4,5, GD 1% = 5,9 mm, n=20)

Abb. 49: Kurative Wirkung von Caramba, Cantus und Folicur auf den *S. sclerotiorum*-Befall im Blatttest in der Klimakammer

3.3.2.3 Protektive und kurative Wirkung vor bzw. nach Ascosporeninokulation

Im Folgenden wurde der Frage nach der Protektiv- und Kurativwirkung durch Ascosporen-Inokulation gezielt nachgegangen.

Als Pflanzenmaterial wurde das 2. Laubblatt von in den Klimakammern angezogenen Rapspflanzen (Kap. 2) der Sorten Artus, Bristol und Express in BBCH 14 verwendet. Die Inokulation erfolgte durch Aufbringen eines Tropfens einer Ascosporensuspension von *S. sclerotiorum* (Isolat M01). Die Bonitur erfolgte durch Messung der Läsionslänge in mm 10dpi. Bei den gezielten Anwendungen (protektive und kurative Behandlung) zeigte sich bis fünf Tage vor bzw. nach der Inokulation eine nahezu vollständige Wirkung bei allen Präparaten zu diesen zwei Einsatzterminen. Signifikante Unterschiede waren weder zwischen den

Präparaten noch zwischen den Einsatzterminen und den Sorten erkennbar, obwohl die Befallsstärke zwischen den Sorten sehr unterschiedlich war (Tab. 33).

In den Klimakammeruntersuchungen zeigte sich, dass der Befall mit Weißstängeligkeit durch Blattbehandlung mit Caramba, Cantus oder Folicur (100% Aufwandmenge) bis 5 Tage vor und nach Inokulation mit Ascosporen sehr stark reduziert wurde (Tab. 33).

Tab. 33: Protektiv- und Kurativwirkung von Cantus, Caramba und Folicur auf den *Sclerotinia sclerotiorum*-Befall im Blatttest mit den Sorten Artus, Bristol und Express in der Klimakammer vor bzw. nach Ascosporeninokulation

(Behandlung 1 und 5 Tage vor bzw. nach Inokulation) 10 dpi, n=20, Läsionslänge [cm]

Behandlungstermin	Variant	Protektive Behandlung			Kurative Behandlung		
		Artus	Bristol	Express	Artus	Bristol	Express
	Kontrolle	48,5	56,8	8,4	49,4	58,2	8,5
1. Behandlung: 1 Tag vor/nach Inokulation	Cantus 1	0,5	0,9	1,1	0,8	0,8	1,1
	Caramba 1	1,3	0,6	0,5	0,7	1,0	0,8
	Folicur 1	0,6	1,7	1,1	1,3	1,4	1,9
2. Behandlung: 5 Tag vor/nach Inokulation	Cantus 5	0,5	0,8	1,5	3,3	4,5	2,9
	Caramba 5	1,3	1,9	1,1	4,2	6,4	5,5
	Folicur 5	2,3	4,6	2,8	6,0	5,7	4,3
	GD 5%	5,1	3,3	1,5	5,9	5,9	1,5
	GD 1%	6,8	4,3	1,9	7,8	7,8	1,9

3.4 Untersuchungen zu biologischen Bekämpfungsmaßnahmen gegen den Erreger der Weißstängeligkeit.

3.4.1 Wirkung von *Coniothyrium minutans* auf Mycelwachstum und Keimung von *S. sclerotiorum* im Labor

Die Wirksamkeit von *C. minutans* auf die Apothecienkeimung von *S. sclerotiorum* wurde im Labor und auch im Feldversuch geprüft. Wie in Abb. 50 zu sehen ist, überwächst der parasitische Pilz *C. minutans* in Laborversuchen die Sclerotien von *S. sclerotiorum* und verhindert die Bildung von Apothecien und Ascosporen und unterbindet somit den wichtigsten Weg der Neuinfektion durch *S. sclerotiorum*.

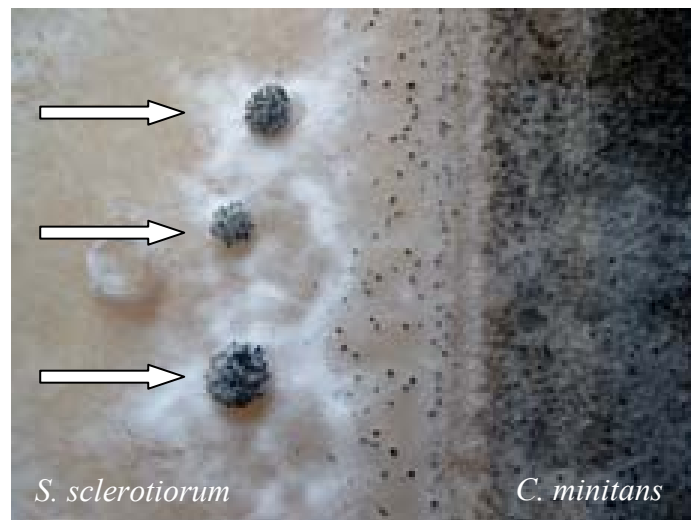


Abb. 50: Sclerotien von *S. sclerotiorum* überwachsen und parasitiert (Pfeil Bildmitte) durch *Coniothyrium minitans* (Co-kultur auf PDA)

Im Labor wurde das parasitäre Verhältnis und die Wirkungsweise von *C. minitans* gegen *S. sclerotiorum* getestet. Die Sclerotien von *S. sclerotiorum* wurden 3 bis 6 Wochen nach dem Kontakt mit dem hyperparasitierenden Pilz abgebaut. Das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum* *in vitro* wurde vom Hyperparasiten *C. minitans* vermindert. Die von *C. minitans* befallenen Sclerotien (Abb. 50) konnten nicht mehr auf PDA keimen.

3.4.2 Wirkung der Rapsfungiziden auf das Wachstum von *Coniothyrium minitans*

Im Labor wurde der Einfluss der im Rapsanbau eingesetzten Fungizide Cantus, Caramba und Folicur auf den hyperparasitierenden Pilz untersucht. Es zeigte sich, dass wenn die Konzentration von Cantus und Caramba unter 0,5 ppm und von Folicur unter 1 ppm lag, *C. minitans* auf PDA normal wuchs (Abb. 51).

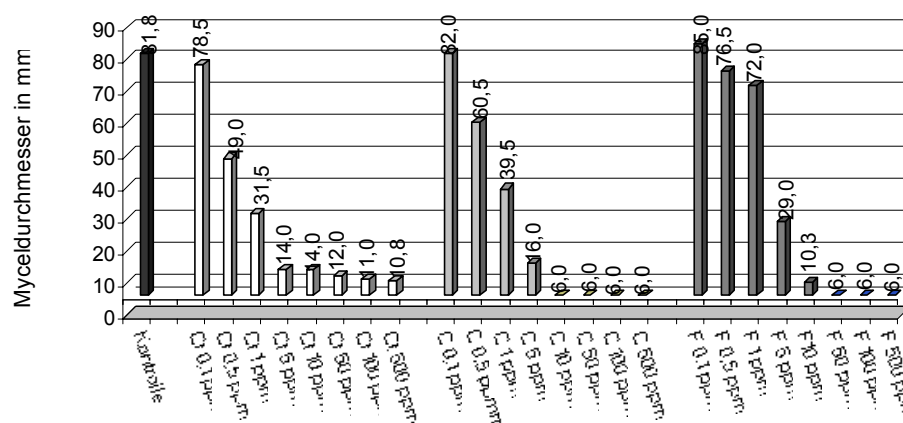
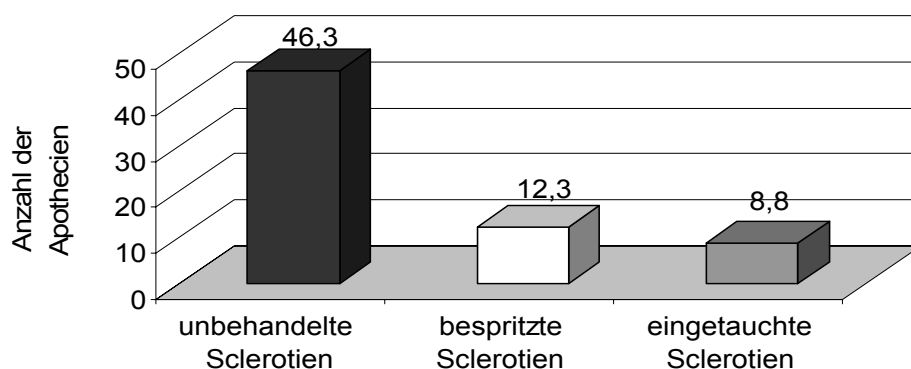


Abb. 51. Hemmwirkung von Cantus (Ct), Caramba (C) und Folicur (F) in verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen auf das Mycelwachstum (mm) von *C. minitans* *in vitro* 21 Tage nach Inokulation (22 °C)

3.4.3 Bekämpfungsmöglichkeit der Weißstängeligkeit mit *Coniothyrium minutans* durch Verhinderung der Bildung von Apothecien im Feld:

Im Winter 2001 und 2002 wurden je Wiederholung 100 Sclerotien 5 Minuten in eine Konidiensuspension von *C. minutans* eingetaucht und auf einer Rapsfläche von einem Quadratmeter verteilt. Parallel wurden je Wiederholung 100 Sclerotien auf einer Rapsfläche von einem Quadratmeter verteilt und mit einer Konidiensuspension von *C. minutans* besprüht. Als Kontrolle wurden 100 Sclerotien ohne Behandlung mit *C. minutans* direkt auf einer separaten Rapsfläche verteilt. Ermittelt wurde die Anzahl der Apothecien während der Blüte. Die durch Eintauchen und Sprühen von *C. minutans* behandelten Sclerotien wurden im Feld von *C. minutans* abgetötet und konnten in der Rapsblüte nicht keimen. Dies wurde in der Rapsblüte bestätigt, dass nur wenige Apothecien von 100 eingetauchten und mit *C. minutans* besprühten Sclerotien im Vergleich zu nicht behandelten Sclerotien (Kontrolle) pro Quadratmeter gezählt wurden (in Jahre 2001/2002) (Abb. 52). Der gleiche Versuch wurde auch in Jahre 2002/2003 durchgeführt. Auch hier konnte festgestellt werden, dass in den mit *C. minutans* behandelten Varianten keine Apothecien im Vergleich zur Kontrolle mit 63 Apothecien pro Quadratmeter gezählt wurden (Abb. 53).



(n=4, je 100 Sclerotien, GD 5% = 7,9; GD 1% = 11,1)

Abb. 52: Wirkung von *Coniothyrium minutans* auf die Verhinderung der Keimung und Apothecienbildung von Sclerotien im Feld



Abb. 53. Keimung der Sclerotien und Apothecienbildung im Feld (ohne Behandlung von *Coniothyrium minutans*) (l: 2002, r: 2003)

3.5 Felduntersuchungen: Anbaujahre 1999/2000, 2000/2001, 2001/2002 und 2002/2003

3.5.1 Ergebnisse im Anbaujahr 1999/2000

3.5.1.1 Bonitur zur Rapsblüte

Zur Rapsblüte (BBCH 63) in 2000 konnte noch kein Befall mit Weißstängeligkeit gesehen werden.

3.5.1.2 Bonitur zur Schotenbildung

Die Freilandbonitur zur Schotenbildung (BBCH 75) (Tab. 34) zeigte keine Unterschiede zwischen den Varianten bei Krankheiten, Lagerneigung und Pflanzenzustand.

Tab. 34: Ergebnisse der Feldbonitur zur Ende Rapsblüte (BBCH75) in 2000

Die Varianten sind hinsichtlich Aufwandmengen und Applikationsterminen der Fungiziden Tab. 13 (2.9.1) dargestellt.

Variante	Krankheiten (24.05.00)										Pflanzenentwicklung	
	Falscher Mehltau		Blatt-Phoma		Weißstängeligkeit		Grauschimmelfäule		Raps-schwärze		Lagerneigung	Pflanzenzustand
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Note 1-9	Note 1-9
1	20,0	1,8	1,3	1,3	13,8	2,6	77,5	2,3	10,0	1,6	1	2
2	12,5	1,9	3,8	1,5	21,3	3,4	65,0	2,5	7,5	1,8	1	2
3	20,0	1,8	2,5	1,6	15,0	3,1	78,8	2,4	10,0	1,8	1	2
4	26,3	2,0	5,0	1,0	20,0	3,0	67,5	2,4	7,5	1,8	1	2
5	17,5	1,9	2,5	1,3	18,8	3,8	68,8	2,5	3,8	1,4	1	2
6	31,3	2,0	0,0	1,0	17,5	4,6	77,5	2,1	8,8	1,6	1	2
7	18,8	2,0	5,0	1,4	10,0	3,5	56,3	2,5	8,8	1,8	1	2
8	20,0	1,9	3,8	2,1	10,0	3,8	66,3	2,6	10,0	2,0	1	2
9	35,0	2,0	2,5	1,4	15,0	2,9	61,3	1,9	7,5	1,6	1	2
10	28,8	2,0	2,5	1,6	22,5	4,3	76,3	2,5	13,8	2,0	1	2
11	26,3	1,9	1,3	1,3	16,3	3,9	71,3	2,1	18,8	1,9	1	2
12	28,8	2,0	1,3	1,1	8,8	4,0	66,3	2,4	11,3	1,9	1	2
13	30,0	2,0	6,3	1,8	7,5	2,6	53,8	2,3	6,3	1,4	1	2
14	18,8	1,8	0,0	1,0	13,8	2,4	67,5	2,1	7,5	1,8	1	2
GD 5%	16,8	0,3	7,0	0,9	13,6	2,0	19,1	0,6	12,0	0,6	0	0
GD 1%	22,5	0,5	9,4	1,2	18,2	2,7	25,5	0,8	16,1	0,8	0	0
GD0,1%	29,5	0,6	12,3	1,6	23,9	3,5	33,5	1,1	21,1	1,0	0	0

Bei der Laborbonitur zur Schotenbildung (BBCH 75) (Tab. 35) war der Befall mit Wurzelhals- und Stängelfäule in den Fungizidvarianten um 10% – 40% im Vergleich zur Kontrolle (100%) geringer. Weiter war die Häufigkeit von Stängel-Phoma in den Caramba-Varianten (meistens bei 10% - 20%) und im Vergleich zur Kontrolle geringer. Bei dem Befall mit Weißstängeligkeit war der Unterschied in den Fungizidvarianten mit 0%-30% im Vergleich zur Kontrolle (30%) nicht erkennbar.

Bei den pflanzenmorphologischen Messgrößen traten keine signifikanten oder tendenziellen Unterschiede auf. Im Vergleich zur Kontrolle hatten die meisten Carambavarianten (außer 2, 8) und zwei Folicurvarianten 11 und 13 hoch signifikant kleinere Sprosslängen.

Tab. 35: Ergebnisse der Laborbonitur zur Schotenbildung (BBCH75) in 2000

Variante	Krankheiten									
	Phoma-Wurzel		Phoma-Stängel		Grauschimmelfäule		Falscher Mehltau		Weißstängeligkeit	
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9
1	90,0	2,5	50,0	1,8	100,0	2,0	40,0	1,3	0,0	0,9
2	80,0	2,4	30,0	1,4	70,0	2,0	50,0	1,4	0,0	0,9
3	80,0	2,2	10,0	1,1	90,0	1,9	50,0	1,6	10,0	2,2
4	60,0	2,1	10,0	1,1	70,0	1,9	80,0	1,8	0,0	0,9
5	90,0	2,7	10,0	1,1	90,0	2,0	40,0	1,4	30,0	4,7
6	70,0	2,1	10,0	1,1	80,0	1,9	50,0	1,4	30,0	4,7
7	90,0	3,1	60,0	1,9	70,0	1,9	50,0	1,6	0,0	0,9
8	60,0	2,1	20,0	1,3	70,0	2,1	50,0	1,4	10,0	2,1
9	80,0	2,5	20,0	1,4	70,0	1,7	10,0	1,0	20,0	3,5
10	80,0	2,1	60,0	1,8	90,0	2,2	90,0	1,9	20,0	3,5
11	90,0	2,9	60,0	1,7	90,0	2,0	60,0	1,8	30,0	4,7
12	90,0	2,7	70,0	2,2	80,0	1,8	50,0	1,4	10,0	2,2
13	90,0	3,5	70,0	2,0	90,0	2,0	60,0	1,7	0,0	0,9
14	100,0	2,9	60,0	1,8	90,0	2,0	70,0	1,8	30,0	4,7
GD 5%		1,1		0,7		0,6		0,8		0,4
GD 1%		1,4		0,9		0,7		1,1		0,6
GD0,1%		1,8		1,2		1,0		1,4		0,8

Bonitiert wurden die vorhandenen Krankheiten (Wurzelhals- und Stängelfäule, Grauschimmelfäule, Falscher Mehltau und Weißstängeligkeit Boniturnoten: 1= kein Befall, 9 = 67-100%). Je Variante wurden 10 Pflanzen entnommen und im Labor bonitiert. n=10

3.5.1.3 Bonitur zur Schotenbildung nach Sturm

In BBCH80 wurde die Stängelfestigkeit, Lagerneigung und die Krankheiten, insbesondere Weißstängeligkeit, bonitiert (Tab.36). Die Bonitur erfolgte nach einem starken Sturm.

Bei den anderen Krankheiten wie Falscher Mehltau, Wurzelhals- und Stängelfäule und Grauschimmelfäule waren keine signifikanten Unterschiede zu beobachten.

Die Befallshäufigkeit (in %) von Weißstängeligkeit lag bei den meisten Varianten, insbesondere Fungizidapplikationen im Frühling (Var. 7, 8 und 9 bzw. Variante 11, 12 und 13) signifikant niedriger im Vergleich zur Kontrolle.

Bedingt durch den Sturm in der Nacht vom 03. auf den 04. 06. 2000 konnten insbesondere signifikante Unterschiede in der Lagerneigung im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden. So zeigten die Varianten mit Fungizidapplikationen im späten Herbst und zur Blüte bei beiden Präparaten eine hochsignifikant geringere Lagerneigung (Boniturnoten 3,0-4,5) als die Kontrolle (Boniturnote 5,8). Weiter wurde die Lagerneigung durch eine sehr späte Präparatapplikation in der Blüte (Caramba 3,0 und Folicur 3,8) tendenziell verringert.

Tab. 36: Ergebnisse der Feldbonitur (BBCH80) in 2000 (nach Sturm)

Variante	Krankheiten (19.06.00)										Pflanzenentwicklung
	Falscher Mehltau		Wurzelhalsfäule		Raps-schwärze		Grauschimmelfäule		Weißstängeligkeit		
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Lagerneigung [1-9]
1	60,0	2,0	18,8	2,8	22,5	3,0	17,5	2,1	26,3	5,8	5,0
2	47,5	2,0	12,5	2,3	32,5	2,9	20,0	1,8	43,8	5,5	5,5

3	45,0	2,0	21,3	2,8	30,0	3,0	13,8	3,1	35,0	5,4	6,5
4	40,0	2,0	21,3	2,9	31,3	2,9	6,3	1,6	42,5	6,4	3,5
5	48,8	2,0	13,8	2,5	31,3	3,0	11,3	2,5	46,3	5,9	3,5
6	47,5	2,0	22,5	3,0	32,5	3,0	11,3	1,6	41,3	5,8	3,5
7	46,3	2,0	18,8	2,8	15,0	2,8	11,3	1,9	21,3	5,8	5,5
8	52,5	2,0	22,5	2,9	23,8	3,0	8,8	3,0	26,3	5,6	4,5
9	55,0	2,0	16,3	3,0	32,5	3,0	11,3	1,9	25,0	5,4	3,0
10	46,3	2,1	20,0	3,1	32,5	3,0	16,3	1,8	37,5	6,4	4,5
11	42,5	2,0	18,8	3,1	30,0	3,0	8,8	1,6	27,5	6,5	4,0
12	48,8	2,0	20,0	3,1	23,8	3,0	13,8	2,4	17,5	5,4	4,5
13	47,5	2,0	25,0	3,3	27,5	2,9	2,5	1,3	17,5	5,5	3,8
14	43,8	2,1	21,3	3,0	46,3	2,8	10,0	3,8	43,8	6,5	5,8
GD 5%	13,4	0,1	14,6	1,0	9,6	0,6	13,0	1,7	13,2	1,7	1,0
GD 1%	18,0	0,2	19,6	1,4	12,8	0,8	17,4	2,2	17,7	2,3	1,3
GD 0.1%	23,5	0,2	25,7	1,8	16,8	1,0	22,8	2,9	23,2	3,0	1,7

Bonitiert wurden die vorhandenen Krankheiten (Rapsschwärze an Schoten, Grauschimmelfäule, Weißstängeligkeit am Stängel und Falscher Mehltau, Wurzelhalsfäule, Befallshäufigkeit in % sowie die Befallsstärke, Boniturnote von 1-9, 1=kein Befall) und die Pflanzenentwicklung (Lager, Boniturnote: 1-9, 1=kein Lager). n=4, 20 Pflanzen je Wiederholung

3.5.1.4 Bonitur vor Ernte

Zur Rapsreife (BBCH87) (Tab.37) war der Befallshäufigkeit der Krankheiten Echter Mehltau, Grauschimmelfäule und Weißstängeligkeit in den behandelten Varianten hochsignifikant verringert im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Bei der Befallshäufigkeit der Rapsschwärze konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Die Befallshäufigkeit der Weißstängeligkeit lag bei den meisten Varianten, insbesondere bei denen mit Fungizidapplikationen im Frühling (Var. 7, 8 und 9 bzw. Var. 12 und 13), hochsignifikant niedriger als in der Kontrolle.

Bei der Lagerneigung traten signifikante Unterschiede zwischen den Fungizid-Varianten (Werte zwischen 2,0–3,8) (Ausnahme Variante 2 und 3 mit Boniturnote: 4,3) und der Kontrolle (4,8) auf. Die Fungizidapplikationen im späten Herbst und Frühling mit Caramba (Var. 4, 5, 6 und 9) zeigten eine signifikant geringere Lagerneigung (Boniturnote 2,0-2,5) als die Kontrolle (4,3); bei der späten Frühlingsvariante mit Folicur (Var. 13) war der Boniturnote der Lagerneigung mit 2,0 signifikant geringer als bei der Kontrolle. Beim Pflanzenzustand war eine Tendenz zu beobachten, dass sich die Herbstvarianten (Var. 4, 5, 6, 11 und 12) und Frühlingsvarianten (Var. 8 und 9, bzw. 13) signifikant zur Kontrolle unterschieden.

Tab. 37: Ergebnisse der Feldbonitur zur Rapsreife (BBCH87) in 2000

Variante	Krankheiten (04.07.00)									Pflanzenentwicklung	
	Echter Mehltau	Wurzelhalsfäule		Rapsschwärze		Grauschimmelfäule		Weißstängeligkeit		Lager	Pflanzenzustand
	Befall [%]	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Note 1-9	Note 1-9
1	33,8	28,8	3,3	42,5	3,0	1,3	1,1	38,8	8,1	3,3	3,8
2	36,3	28,8	3,0	50,0	3,0	1,3	0,8	42,5	7,9	4,3	4,3
3	37,5	17,5	3,4	46,3	3,0	1,3	1,1	53,8	7,8	4,3	4,5
4	31,3	21,3	3,3	51,3	3,0	0,0	0,0	40,0	7,5	2,3	3,3
5	22,5	21,3	2,9	38,8	2,8	0,0	0,0	43,8	7,4	2,5	2,8

6	23,8	27,5	3,3	45,0	3,0	1,3	0,9	48,8	8,1	2,3	3,3
7	27,5	28,8	3,3	46,3	3,0	0,0	0,0	27,5	7,9	3,8	3,5
8	33,8	28,8	3,5	48,8	3,0	1,3	0,8	33,8	7,3	3,3	2,8
9	25,0	25,0	3,3	48,8	3,0	0,0	0,0	27,5	8,1	2,0	2,3
10	35,0	38,8	3,5	55,0	3,0	0,0	0,0	47,5	7,9	3,3	3,8
11	38,8	32,5	3,6	50,0	3,0	1,3	0,6	45,0	8,1	2,3	3,0
12	28,8	26,3	3,3	37,5	3,0	1,3	0,8	36,3	8,0	3,3	3,0
13	31,3	26,3	3,8	56,3	3,0	1,3	0,9	33,8	7,9	2,0	2,0
14	46,3	31,3	3,4	53,8	3,0	2,5	1,4	52,5	8,4	4,3	4,8
GD 5%	16,5	12,0	0,7	9,7	0,2	2,9	1,0	11,9	0,9	0,9	1,5
GD 1%	22,1	16,0	1,0	13,0	0,3	3,9	2,7	15,9	1,2	1,2	2,0
GD 0.1%	29,0	21,0	1,3	17,0	0,3	5,1	3,5	20,8	1,6	1,6	2,6

Bonitiert wurden die vorhandenen Krankheiten (Rapsschwärze an Schoten, Grauschimmelfäule, Weißstängeligkeit und Echter Mehltau am Stängel, Wurzelhalsfäule, Befallshäufigkeit in % und die Befallsstärke, Boniturnote von 1-9, 1=kein Befall) sowie die Pflanzenentwicklung (Lagerneigung, Boniturnoten 1-9, 1=kein Lager, Pflanzenzustand, Boniturnoten:1-9, 1=guter Zustand), n=4, 20 Pflanzen je Wiederholung

Die Laborbonitur zur Rapsreife (BBCH87) zeigte bei den Krankheiten Weißstängeligkeit und Rapsschwärze eine hochsignifikant verringerte Befallsstärke und Befallshäufigkeit der Fungizid-Varianten im Vergleich zur Kontrolle. Beim Befall mit Echem Mehltau waren die Frühlingsvarianten mit Caramba (Var. 7, 8 und 9) signifikant, bei den übrigen Varianten (Ausnahme Var. 10) tendenziell im Vergleich zur Kontrolle verringert (Tab.38).

Bei den pflanzenmorphologischen Messgrößen traten signifikante bzw. tendenzielle Unterschiede auf. Der Durchmesser des Hypocotyls war bei den Fungizidbehandelten Pflanzen größer als bei der Kontrolle. Nach Fungizidapplikationen waren Wurzellänge und Sprosslänge im Vergleich zur Kontrolle verkürzt. Bei der Wurzelmasse waren die Trockengewichte der Fungizidvarianten deutlich höher (bis doppelt so hoch) als die der Kontrollepflanzen.

Tab. 38: Ergebnisse der Laborbonitur zur Rapsreife (BBCH87) in 2000

Variante	Krankheiten (30.06.00)							pflanzenmorphologische Messgrößen			
	Wurzelhalsfäule		Weißstängeligkeit		Rapschwärze		Echter Mehltau	Durchmesser Hypocotyl	Wurzellänge	Sprosslänge*	Wurzelmasse
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	[mm]	[cm]	[cm]	[g]
1	70,0	3,5	50,0	2,3	70,0	1,8	60,0	21,3	14,4	148,3	64,5
2	30,0	3,6	20,0	1,8	40,0	1,4	60,0	18,3	13,5	145,0	42,9
3	60,0	3,3	0,0	1,0	50,0	1,5	70,0	18,1	12,1	147,9	42,0
4	50,0	2,9	30,0	1,6	50,0	1,5	50,0	19,3	13,8	134,6	52,0
5	50,0	3,0	70,0	2,7	70,0	1,9	40,0	19,9	13,1	137,0	65,1
6	70,0	3,4	40,0	1,7	50,0	1,6	30,0	18,6	15,7	140,1	47,1
7	60,0	3,7	10,0	1,3	50,0	1,6	20,0	19,9	14,4	134,6	55,1
8	80,0	2,5	20,0	1,3	60,0	1,7	30,0	19,5	12,9	147,8	43,0
9	70,0	2,9	60,0	2,0	50,0	1,6	10,0	20,0	15,4	139,4	51,0
10	80,0	4,1	50,0	2,2	70,0	2,0	80,0	17,6	14,7	152,9	32,1
11	60,0	3,8	60,0	3,1	90,0	2,4	40,0	18,0	14,9	138,6	45,2
12	90,0	3,3	30,0	1,7	50,0	1,6	30,0	18,9	13,3	148,5	42,9
13	70,0	4,2	40,0	2,0	70,0	1,8	50,0	19,6	15,7	142,2	48,3
14	90,0	4,8	90,0	4,2	100,0	2,9	60,0	16,2	17,2	152,2	21,4
GD 5%		1,0		1,2		0,6		3,2	2,5	7,5	
GD 1%		1,4		1,6		0,8		4,3	3,3	9,9	
GD 0,1%		1,7		2,1		1,1		5,5	4,3	12,8	

Sprosslänge. Gemessen wurde der Abstand zwischen Hypocotyl und dem Ende des Haupttriebes. Bonitiert wurden die Krankheiten (Wurzelhalsfäule, Weißstängeligkeit, Echter Mehltau an Stängel und Rapsschwärze an Schoten; Boniturnoten: 1= kein Befall, 9 = 67-100%) und pflanzenmorphologische Messgrößen (Durchmesser des Hypocotyls in mm, Wurzel- und Sprosslänge in cm, trockene Wurzelmassen in g). Je Variante wurden 10 Pflanzen entnommen und im Labor bonitiert

Bei der Laborbonitur der Schotenparameter (BBCH85) zur Rapsreife (Tab.39) zeigte die Anzahl der Schoten am Haupttrieb keine signifikanten Unterschiede oder Tendenzen zwischen behandelt und unbehandelt. Die Anzahl der Schoten am Haupttrieb wies keine Unterschiede zwischen Fungizidapplikationen und Kontrolle auf. Weiter waren bei den Fungizidapplikationen die Haupttrieblänge und Anzahl der Körner am Haupttrieb im Vergleich zur Kontrolle signifikant verkürzt bzw. geringer. Bei den Parametern Nebentrieb und Anzahl Schoten war deren Anzahl bei erster Ordnung und zweiter Ordnung bei allen Fungizidvarianten im Vergleich zur Kontrolle hochsignifikant erhöht. Außerdem war deutlich zu erkennen, dass die Trockenmasse der Körner je Pflanze bei Fungizidapplikationen signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht waren. Beim Tausendkorngewicht und Körneranzahl je Schote traten keine signifikanten Unterschiede zwischen Fungizidapplikationen und Kontrolle auf.

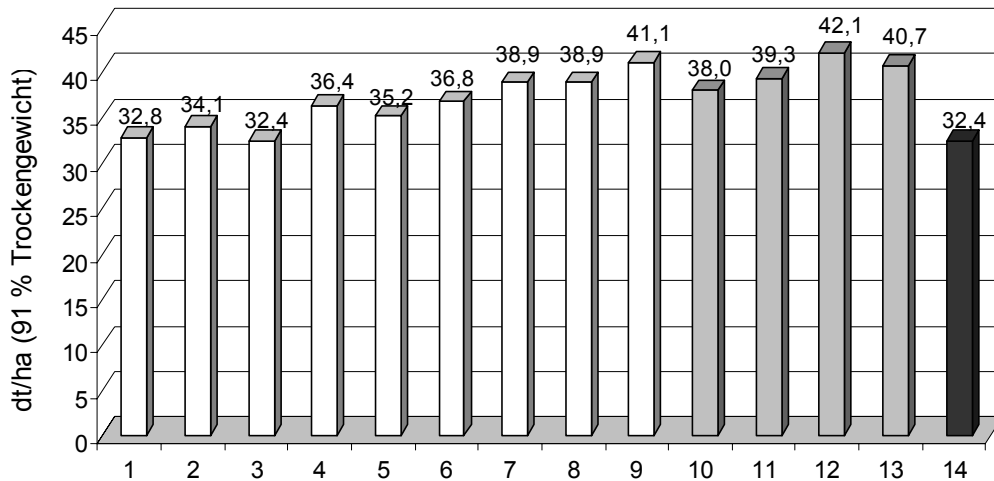
Tab. 39: Laborergebnisse der Schotenbonitur zur Rapsreife (BBCH87) in 2000

Variante	Anzahl								Trockenmasse Körner/Pfl. [g]	TKG [g]	Körner je Schote **	Ertrag dt/ha [kg]
	Haupttrieb			Nebentrieb 1. Ordnung		Nebentrieb 2. Ordnung		Schoten je Pflanze				
	Länge [cm]	Schoten	Körner /H*	Triebanzahl	Schoten	Triebanzahl	Schoten					
1	40,8	40,7	487,1	12,4	378,2	12,8	124,9	543,8	35,7	5,0	13,2	32,8
2	43,5	58,0	599,3	7,1	192,7	4,3	44,3	295,0	21,5	5,0	15,1	34,1
3	48,8	51,9	628,4	9,1	247,9	7,1	70,2	370,0	24,7	5,0	13,2	32,4
4	42,9	40,2	459,6	10,4	283,3	8,4	91,8	415,3	27,9	4,9	14,5	36,4
5	47,0	44,4	577,9	10,0	250,9	7,7	68,1	363,4	28,7	4,7	18,0	35,2
6	42,4	48,6	564,9	11,1	290,1	4,4	37,6	376,3	25,4	5,0	13,4	36,8
7	41,9	50,1	641,6	10,3	380,9	8,8	113,2	544,2	32,4	5,0	12,0	38,9
8	45,7	55,6	734,5	10,2	257,6	2,2	9,4	322,6	23,4	4,9	15,2	38,9
9	43,3	52,6	648,5	10,8	301,0	9,6	56,3	409,9	26,9	5,1	12,9	41,1
10	52,0	49,8	629,0	7,7	194,6	3,2	24,1	268,5	18,2	4,6	15,3	38,0
11	44,5	50,4	630,4	8,2	268,1	5,0	52,4	370,9	23,5	4,8	12,9	39,3
12	46,4	48,1	576,5	9,8	263,4	3,2	24,3	335,8	21,7	4,7	13,7	42,1
13	41,3	47,1	546,5	9,3	254,7	6,5	47,9	349,7	26,0	5,0	14,5	40,7
14	54,3	52,5	756,0	6,2	130,7	0,9	4,9	188,1	13,2	5,1	14,5	32,4
GD5%	8,16	10,4	182,1	2,3	89,6	4,6	60,6	137,6	10,1	0,3	2,6	2,0
GD1%	10,8	13,8	240,7	3,0	118,4	6,1	80,1	181,8	13,4	0,4	3,4	3,0
GD0,1%	13,9	17,8	310,2	3,8	152,6	7,9	103,2	234,3	17,2	0,5	4,4	3,9

*Die Anzahl der Körner auf dem Haupttrieb. ** Es wurde das Trockengewicht der Körner pro Pflanze durch TKG und auch durch die Anzahl der Schoten einer Pflanze geteilt. Es wurden 10 Pflanzen W-förmig vor der Reife aus dem Feld entnommen. Es wurde die Anzahl der Schoten des Haupttriebs und die Anzahl der Schoten der Nebentriebe 1. und 2. Ordnung sowie deren Anzahl bestimmt. Weiter wurden die Haupttrieblänge, das Körnergewicht je Pflanze und die Anzahl der Körner je Schote und auf dem Haupttrieb bestimmt, n=10.

3.5.1.5 Ertragsdaten des Anbausjahres 1999/2000

In der Abb. 54 sind die Kornerträge der Varianten bezogen auf 91 % Trockengewicht in grafischer Form dargestellt. Es zeigte sich, dass die Erträge der Varianten der Fungizidapplikationen (außer der Var. 1, 2 und 3) hochsignifikant (Var. 5 signifikant) im Vergleich zur Kontrolle erhöht waren.



(ungerechnet auf 91 % Trockengewicht), n=4 (GD5%= 2,0; GD1%=3,0; GD0,1%=3,9)

Abb. 54: Erträge des Rapsfungizidversuchs 1999/2000 (unbehandelte Kontrolle Variante 14)

3.5.2 Ergebnisse im Anbaujahr 2000/2001

3.5.2.1 Bonitur zur Rapsblüte

Die Krankheitsbonitur im Feld zur Vollblüte des Rapses (BBCH 65) zeigte zu diesem Zeitpunkt keine Weißstängeligkeit.

3.5.2.2 Bonitur zur Milchreife

Alle Behandlungsvarianten zeigten bei der Feldbonitur zur Milchreife (BBCH 71-73) (Tab. 40) durchweg höchst signifikant positive Effekte bei der Bekämpfung der Weißstängeligkeit. Allerdings muss auch hier einschränkend darauf hingewiesen werden, dass durch den allgemein geringen Krankheitsdruck (s. Boniturnoten) keine eindeutige Aussage gemacht werden konnte.

Der Pflanzenzustand zeigte sich kaum beeinflusst wohl aber die Standfestigkeit; diese wurde insbesondere durch die späten Applikationstermine mit Caramba positiv beeinflusst (Var. 6, 7, 13 signifikant; Var. 4, 5, 9 und 11 hoch signifikant).

Tab. 40: Ergebnisse der Feldbonitur zur Milchreife des Rapses (BBCH 71-73)

Aufwandmengen und Applikationsterminen der Fungiziden in den verschiedenen Varianten sind Tab. 13 (2.9.1) zu entnehmen.

Variante	Krankheiten (05.06.2001)										Pflanzenentwicklung		
	Blatt-Phoma		Raps-schwärze		Falscher Mehltau		Grauschim-melfäule		Weiß-stängeligkeit		Pflanzen-zustand	Lagernei-gung	Pflanzen-Höhe
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	1-9	1-9	[cm]
1	16,3	2,0	28,8	2,0	1,1	2,4	0,0	1,0	16,3	2,0	2,0	2,3	174,6
2	23,8	1,9	22,5	2,0	2,1	2,6	0,1	1,5	23,8	1,9	2,0	2,5	167,5
3	16,3	1,9	20,0	2,0	1,1	3,0	0,0	1,0	16,3	1,9	2,0	2,5	174,4
4	22,5	2,0	10,0	1,5	0,4	1,8	0,0	1,0	22,5	2,0	2,0	1,5	169,9
5	22,5	2,0	3,8	1,4	1,0	2,3	0,1	1,4	22,5	2,0	2,3	1,5	172,7
6	27,5	2,1	10,0	1,5	0,6	2,3	0,1	1,3	27,5	2,1	2,0	2,0	171,3
7	18,8	2,0	13,8	1,9	1,4	2,5	0,0	1,0	18,8	2,0	2,0	2,0	167,4
8	26,3	2,1	10,0	1,6	1,8	3,1	0,0	1,0	26,3	2,1	2,0	3,0	172,0
9	30,0	1,9	2,5	1,3	1,5	2,6	0,0	1,0	30,0	1,9	2,0	1,5	172,7
10	21,3	2,1	25,0	2,0	1,3	2,0	0,1	1,6	21,3	2,1	2,0	2,8	173,6
11	23,8	2,0	7,5	1,6	0,9	1,9	0,0	1,0	23,8	2,0	2,3	1,8	172,5
12	23,8	1,8	7,5	1,8	1,0	3,8	0,0	1,0	23,8	1,8	2,0	2,5	172,7
13	31,3	2,1	7,5	1,6	0,9	2,3	0,0	1,0	31,3	2,1	2,3	2,0	174,1
14	38,8	2,1	30,0	2,0	2,0	2,6	0,3	1,4	38,8	2,1	2,0	3,3	175,8
GD5%	17,5	0,5	12,1	0,5	1,0	1,6	1,0	0,5	1,0	0,7	0,3	1,1	3,3
GD1%	23,7	0,7	16,2	0,6	1,3	2,2	1,3	0,6	1,3	1,0	0,4	1,5	4,3
GD0,1%	30,8	0,9	21,0	0,8	1,7	2,8	1,7	0,8	1,7	1,3	0,6	2,0	5,5

Bonitiert wurde die Befallshäufigkeit von Blatt-Phoma, Rapsschwärze, Falschem Mehltau, Grauschimmel und Weißstängeligkeit in % und Note (Note 1-9, 1 = kein Befall) sowie die Pflanzenentwicklung (Pflanzenzustand (Boniturnoten 1-9, 1 = guter Zustand) und Lagerneigung (1-9, 1=keine Lager))

3.5.2.3 Bonitur vor der Ernte

Wegen des niedrigen Befalls wurde vor der Ernte (BBCH 87-89) keine Unterschiede bei der Weißstängeligkeit festgestellt (Tab. 41).

Tab. 41: Ergebnisse der Feldbonitur vor Ernte des Rapses (BBCH 87-89)

Variante	Krankheiten (16.07.2001)										Pflanzenentwicklung	
	Phoma-Wurzel		Raps-schwärze		Echter Mehltau		Weißstängeligkeit		Grauschi-mmelfäule		Pflanzen-länge	Lagernei-gung
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	[cm]	Note
1	51,3	4,5	100,0	4,0	100,0	3	0,0	1,0	3,8	1,9	85,5	5,3
2	48,8	4,5	100,0	3,6	100,0	3	0,0	1,0	1,3	1,8	89,7	4,5
3	57,5	4,4	100,0	3,5	100,0	3	0,0	1,0	2,5	2,4	87,0	5,3
4	51,3	4,4	100,0	3,4	100,0	3	0,0	1,0	0,0	1,0	107,6	3,5
5	61,3	4,5	100,0	3,8	100,0	3	0,0	1,0	0,0	1,0	102,4	4,3
6	58,8	4,8	100,0	3,5	100,0	3	0,0	1,0	0,0	1,0	97,9	4,0
7	66,3	4,8	100,0	3,5	100,0	3	1,3	1,5	1,3	2,0	87,9	4,5
8	60,0	4,6	100,0	3,4	100,0	3	0,0	1,0	1,3	1,5	76,0	4,5
9	47,5	4,8	100,0	3,4	100,0	3	0,0	1,0	0,0	1,0	95,0	4,5
10	56,3	5,0	100,0	3,8	100,0	3	2,5	2,8	0,0	1,0	76,1	5,3
11	47,5	4,0	100,0	3,8	100,0	3	1,3	3,0	2,5	2,4	100,8	4,3
12	61,3	4,4	100,0	3,6	100,0	3	0,0	1,0	1,3	1,9	82,9	4,8
13	60,0	5,1	100,0	3,3	100,0	3	0,0	1,0	0,0	1,8	91,9	4,5
14	73,8	6,0	100,0	3,8	100,0	3	0,0	1,0	2,5	1,6	68,6	6,5
GD 5%	12,1	0,9	0	0,8	0	0	1,7	1,2	3,2	1,7	15,8	1,2
GD 1%	16,2	1,2	0	1,0	0	0	2,3	1,6	4,3	2,3	21,1	1,6
GD0,1%	21,1	1,6	0	1,3	0	0	3,0	2,1	5,6	3,0	27,4	2,1

Bonitiert wurden die vorhandenen Krankheiten (Blatt-Phoma, Phoma-Wurzel, Rapsschwärze, Falscher Mehltau, Cylindrosporiose, Weißstängeligkeit und Grauschimmelfäule; Boniturnoten: 1=kein Befall, 9 =67-100%)

3.5.2.4 Ertragsdaten des Anbausjahres 2000/2001

Bei den Erträgen (Abb. 55) zeigten sich gesichert signifikante Unterschiede zur Kontrolle nur bei den Zweifachbehandlungen mit voller Aufwandmenge beider Produkte (Var. 5, 7 und 12). Generell waren jedoch alle Erträge der Behandlungsvarianten (Ausnahme 3) tendenziell erhöht gegenüber der Kontrolle.

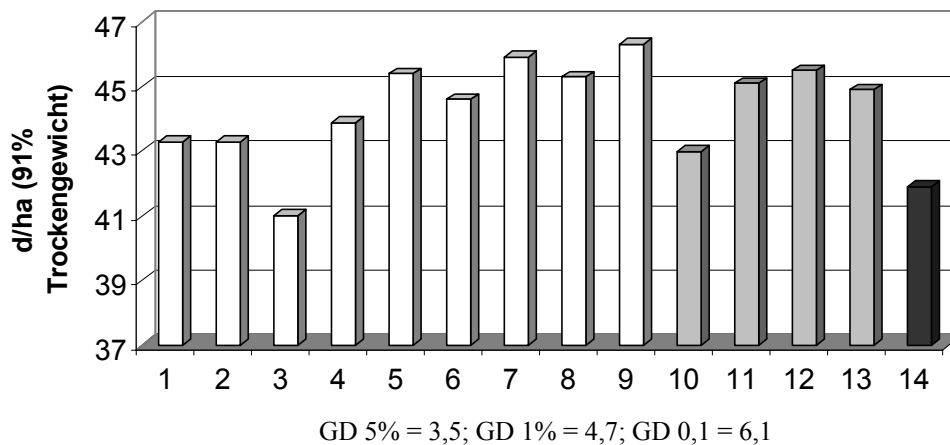


Abb. 55 Erträge des Rapsfungizidversuchs 2000/2001 am Versuchsgut Merklingens Uni-GH Paderborn (91% Trockengewicht), n=4

3.5.3 Ergebnisse in Anbaujahr 2001/2002

In Blüte erfolgte eine Kombination mit Behandlungsterminen und künstlicher Infektion durch Einstreuen von gehäckseltem Rapspflanzenmaterial, bewachsen mit *S. sclerotiorum*.

3.5.3.1 Bonitur zum Blütebeginn

Es wurden die vorkommende Krankheiten und Pflanzenentwicklung zum Blühbeginn (BBCH 60/61) im Mai bonitiert (Tab. 42). Auffällig war der Befall von *S. sclerotiorum* sehr früh in diesem Jahr. Hier konnten nur der Befall von Weißstängeligkeit bei der Sorte Artus festgestellt werden und wurden nur bei der Weißstängeligkeit (Artus Var. 2, 3, 4 und 5) signifikante Effekte bezüglich der Befallsreduktion ermittelt.

Tab. 42: Ergebnisse der Feldbonituren zum Blühbeginn (BBCH 60/61) 2002

Versuchsanlagee und Behandlungszeitpunkte der verschiedenen Varianten sind Tab. 16 und 17. zu entnehmen. Boniturtermine sowie Fungizidmaßnahmen sind in Tab. 18 dargestellt.

Variante	Krankheiten (08.04.02)									Pflanzenentwicklung			
	Blatt-Phoma		Falscher Mehltau		Grauschimmelfäule		Cylindrosporiose Stängel		Weißstängeligkeit	Pflanzenzustand	Präparat effekte	Pflanzenhöhe	
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9					
Artus1	43.8	2.0	30.0	2.0	26.3	2.0	0.0	0.0	2.5	2.0	2,3	8,0	74,6
Artus 2	42.5	2.0	30.0	2.0	30.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2,0	8,0	74,0
Artus 3	45.0	2.0	22.5	2.0	28.8	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2,0	8,0	74,3
Artus 4	41.3	2.0	25.0	2.0	27.5	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2,3	8,0	74,5
Artus 5	42.5	2.0	22.5	2.0	22.5	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2,3	8,0	73,7
Artus 6	45.0	2.0	22.5	2.0	23.8	2.0	1.3	2.0	1.3	2.0	2,0	8,0	71,4

Artus 7	47,5	2,0	27,5	2,0	25,0	2,0	1,3	2,0	6,3	2,0	2,0	8,0	73,4
Artus 8	46,3	2,0	27,5	2,0	22,5	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	8,0	70,8
GD 5%	12,3	0	11,0	0	12,8	0	6,3	0	1,7	0	0,5	0	3,0
GD 1%	16,5	0	14,7	0	17,1	0	8,4	0	2,3	0	0,7	0	4,0
GD 0,1%	21,7	0	19,4	0	22,5	0	11,0	0	3,0	0	0,9	0	5,1
Express1	51,3	2,0	25,0	2,0	16,3	2,0	2,5	2,0	0,0	0,0	2,0	8,0	64,4
Express2	55,0	2,0	16,3	2,0	27,5	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	8,0	62,1
Express3	48,8	2,0	17,5	2,0	28,8	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	8,0	59,3
Express4	47,5	2,0	20,0	2,0	20,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	8,0	63,7
Express5	47,5	2,0	18,8	2,0	17,5	2,0	2,5	2,0	0,0	0,0	2,5	8,0	61,3
Express6	45,0	2,0	18,8	2,0	21,3	2,0	2,5	2,0	0,0	0,0	2,0	8,0	61,5
Express7	51,3	2,0	18,8	2,0	18,8	2,0	5,0	2,0	0,0	0,0	2,0	8,0	61,7
Express8	52,5	2,0	26,3	2,0	26,3	2,0	5,0	2,0	0,0	0,0	2,3	8,0	63,7
GD 5%	11,4	0	10,2	0	14,0	0	4,5	0	1,6	0	0,6	0	3,0
GD 1%	15,3	0	13,6	0	18,7	0	6,0	0	2,2	0	0,8	0	4,0
GD 0,1%	20,2	0	17,9	0	24,6	0	7,9	0	2,8	0	1,0	0	5,1

Bonitiert wurde die Befallshäufigkeit von *Phoma lingam*, *Peronospora parasitica* und *Botrytis cinerea* in %, Befallsstärke (Note: 1-9, 1= gesund), der Pflanzenzustand (Boniturnoten 1-9, 1= guter Zustand) und die Präparate-Effekte (1-9, 1 = komprimiert/gestaucht (hoher Effekt) Pflanzenhöhe ab Boden bis zum Letzten Laubblatt).

3.5.3.2 Bonitur zur Rapsblüte (BBCH 65/67)

Bei der Feldbonitur zur Rapsblüte (BBCH 65-67) betrachtet man die Anzahl offener Blüten zum Zeitpunkt der Bonitur, zeigte sich bei Express eine signifikant niedrigere Zahl offener Blüten bei den Varianten 5 (signifikant) sowie 3 und 6 (hoch signifikant). Dies bedeutet eine Verzögerung der Blüte. Tendenziell gilt dieser Effekt auch für die Sorte Artus. Relativ gesehen fällt dabei nur die Variante 3 der Sorte Artus auf. Hier zeigte sich eine signifikante Verzögerung der Blüte.

Der Befall mit Weißstängeligkeit zeigte keine gesicherten Unterschiede (Tab. 43).

Tab. 43: Ergebnisse der Feldbonituren zur Blüte (BBCH 65/67) 2002

Variante	Krankheiten (03.05.02)														Pflanzenentwicklung	
	Blatt-Phoma		Stängel-Phoma		Falscher Mehltau		Cylindrosporiose				Grauschimmelfäule		Weißstängeligkeit		Lagerneigung	Pflanzenhöhe
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	1-9	[cm]
Artus1	50,0	2,0	13,8	2,0	60,0	2,0	16,3	2,0	5,0	1,5	15,0	2,8	1,3	1,3	3,3	145,5
Artus 2	28,8	2,0	2,5	3,0	57,5	2,0	17,5	2,3	1,3	1,5	16,3	5,0	1,3	1,3	2,8	147,4
Artus 3	18,8	2,0	10,0	1,8	65,0	2,0	22,5	2,9	6,3	2,0	17,5	3,0	2,5	1,8	3,0	146,7
Artus 4	52,5	2,0	6,3	1,5	56,3	2,0	16,3	2,3	0,0	1,0	20,0	5,3	0,0	1,0	2,5	144,4
Artus 5	18,8	2,0	11,3	1,8	67,5	2,0	21,3	2,0	0,0	1,0	6,3	2,5	0,0	1,0	3,0	144,7
Artus 6	22,5	2,0	5,0	1,8	60,0	2,0	22,5	2,0	1,3	1,5	16,3	2,0	2,5	2,4	3,8	145,8
Artus 7	56,3	2,0	3,8	1,8	66,3	2,0	21,3	2,1	2,5	2,8	11,3	4,0	1,3	1,3	3,3	147,2
Artus 8	53,8	2,0	6,3	2,0	55,0	2,0	25,0	2,2	0,0	1,0	11,3	2,0	2,5	1,5	4,8	148,6
GD 5%	21,0	0	11,0	1,7	21,5	0	14,1	0,8	7,0	1,7	13,5	2,9	2,4	1,2	1,4	3,1
GD 1%	28,1	0	14,7	2,2	28,8	0	18,9	1,0	9,4	2,2	18,1	3,9	4,5	1,7	1,9	4,1
GD0,1%	37,0	0	19,4	2,9	37,9	0	24,9	1,4	12,4	2,9	23,9	5,1	6,0	2,2	2,5	5,2
Express1	40,0	2,0	1,3	1,3	76,3	2,0	28,8	2,0	0,0	1,0	13,8	3,0	1,3	1,9	2,5	123,6
Express2	36,3	2,0	2,5	1,3	77,5	2,0	36,3	2,1	1,3	1,5	8,8	1,8	1,3	1,3	3,0	124,9
Express3	22,5	2,0	0,0	1,0	71,3	2,0	21,3	2,1	0,0	1,0	5,0	1,0	0,0	1,0	2,0	124,5
Express4	37,5	2,0	5,0	1,5	73,8	2,0	31,3	2,0	1,3	1,5	11,3	2,3	1,3	1,0	2,8	125,5
Express5	21,3	2,0	0,0	1,0	80,0	2,0	33,8	2,0	1,3	1,3	8,8	4,3	2,5	1,5	3,0	121,6
Express6	21,3	2,0	0,0	1,0	76,3	2,0	32,5	2,1	2,5	1,3	5,0	2,0	0,0	1,0	3,3	123,5

Express7	38,8	2,0	0,0	1,0	80,0	2,0	30,0	2,3	0,0	1,0	12,5	4,0	1,3	1,0	2,5	126,2
Express8	43,8	2,0	1,3	1,3	75,0	2,0	18,8	2,3	0,0	1,0	20,0	2,0	1,3	1,0	2,8	128,9
GD 5%	23,1	0	4,3	0,8	17,8	0	14,8	0,4	3,2	0,8	14,0	2,4	3,2	0,9	1,2	2,8
GD 1%	30,1	0	5,7	1,1	23,9	0	19,8	0,5	4,2	1,0	18,8	3,2	4,3	1,3	1,6	3,7
GD0,1%	40,7	0	7,5	1,5	31,5	0	26,0	0,6	5,6	1,3	24,7	4,2	5,7	1,7	2,1	4,8

Bonitiert wurde die Befallshäufigkeit von *Phoma lingam*, *Peronospora parasitica*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Cylindrosporium* und *Botrytis cinerea* in % , Befallsstärke (Note: 1-9, 1= gesund), die Lagerneigung (Boniturnoten 1-9, 1= guter Zustand) und Pflanzenhöhe ab Boden bis zum Letzten Laubblatt).

3.5.3.3 Bonitur auf Weißstängeligkeit vor der Ernte nach Zahnstocherinokulation

Wie Abb. 56 zeigt, fällt zunächst der höchst signifikante Unterschied im Befall der Sorten bei der Bonitur vor der Ernte auf.

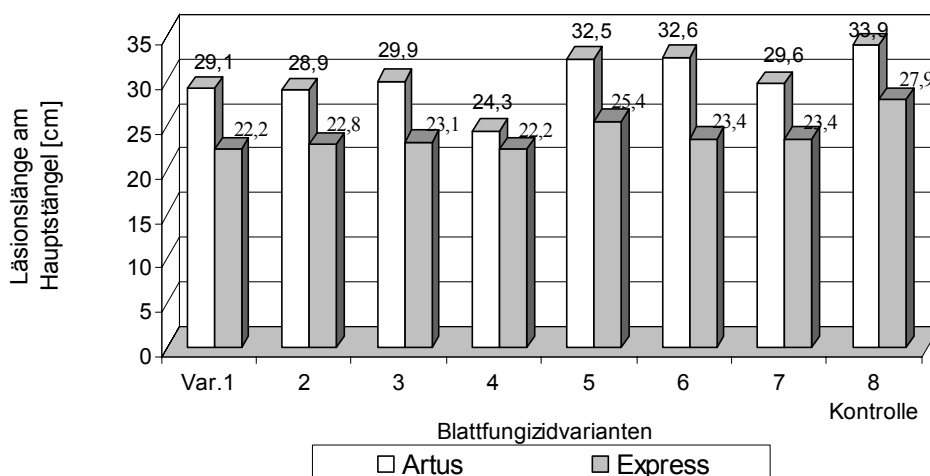
Bei der Sorte Artus zeigten die Varianten 1, 2, 3, 4 und 7 eine höchst signifikante Reduktion der Stängelläsionen. Die Varianten 5 und 6 zeigten dagegen keinen verifizierbaren Effekt.

Bei der Sorte Express zeigten alle Behandlungsvarianten einen sehr hoch signifikanten Effekt mit Ausnahme der Variante 5, die nur einen hoch signifikanten Effekt zeigte.

Bei beiden Sorten fiel die Variante 4 als die effektivste Behandlung hinsichtlich der Reduktion der Stängelläsionen auf.

Speziell die Variante 4 (Sorte Artus) zeigte einen sehr hoch signifikant schützenden Effekt und erwies sich auch bei der Sorte Express als die tendenziell effektivste Variante. Aber auch die Varianten 1, 2, 3 und 7 (bei Artus und Express) zeigten eine deutliche Reduzierung des Schadbildes im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle.

Der hoch signifikante Effekt von Caramba plus Cantus (Var.1, 2, 3 und 4) fiel besonders bei der Sorte Artus im Vergleich zur Wirkung der reinen Folicur-Varianten auf.



Inokulation am 25.04.02 mit Zahnstocher, Bonitur am 28.05.02

GD	5%	1%	0,1%
Artus	2,2	2,8	3,6
Express	1,8	2,3	2,9

Abb. 56: Ergebnisse der Feldbonituren auf Weißstängeligkeit zum Zeitpunkt der Schotenbildung (BBCH 67-69) nach Inokulation mit Zahnstochern im BBCH 65

3.5.3.4 Bonitur vor der Ernte

Eine spezielle Bonitur vor der Ernte wurde auf Weißstängeligkeit (BBCH 87) durchgeführt (Tab. 44). Zum Zeitpunkt der Blüte wurde das natürliche Inokulum an *S. sclerotiorum* in der Versuchsfläche durch zweimaliges Einstreuen von gehäckseltem Rapspflanzenmaterial, bewachsen mit *S. sclerotiorum*, erhöht.

Der maximale Effekt mit 0% befallener Pflanzen wurde bei der Variante 4 in beiden Sorten festgestellt, wobei die Befallshäufigkeit bei Artus deutlich größer war als bei Express. In der Befallsschwere konnten keine deutlichen Unterschiede festgestellt werden.

Bei der Weißstängeligkeit hingegen waren eindeutige Effekte zu erkennen. Die Varianten 2, 4, 5, 6 und 7 zeigten hoch ($p \leq 1\%$; Var. 5, 7 Artus und Var. 2, 6 und 7 Express) bis sehr hoch ($p \leq 0,1\%$; Var. 2, 4 und 6 Artus, Var. 4 Express) signifikante Reduktionen des Befalls bei beiden Sorten.

Signifikante Unterschiede zeigten sich ebenfalls sortenabhängig im Hinblick auf die Pflanzenhöhe und die Lagerneigung / Standfestigkeit (Abb. 57 und Abb. 58).

Während die Behandlungen die Pflanzenhöhe der Varianten 5, 6 und 7 die Sorte Express hoch (Var.5) bis sehr hoch (Var. 6, 7) signifikant einkürzten, zeigte keine der Behandlungen signifikanten Effekte bei der Sorte Artus.

Umgekehrt zeigte sich im Falle der Lagerneigung / Standfestigkeit kein Effekt bei der Sorte Express während die Varianten 2, 4, 5 und 7 bei Artus signifikant ($p \leq 5\%$) bessere standfestigkeit aufwiesen als die übrigen Varianten.

Tab. 44: Ergebnisse der Feldbonituren vor der Ernte (BBCH 87) 2002

Variante	Krankheiten (27.06.02)									Pflanzenentwicklung			
	Stängel-Phoma		Falscher Mehltau		Echter Mehltau		Grauschimmelfäule		Weißstängeligkeit	Pflanzenhöhe	Pflanzenzustand	Lagerneigung	
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	[cm]	1-9	1-9
Artus1	75,0	3,9	23,8	2,0	13,8	1,8	52,5	2,3	18,8	6,1	79,8	4,3	6,5
Artus 2	57,5	3,3	17,5	2,0	12,5	1,8	47,5	2,0	3,8	3,4	92,2	4,0	5,0
Artus 3	72,5	4,0	21,3	2,0	13,8	2,0	48,8	2,0	17,5	6,9	89,5	4,0	5,3
Artus 4	63,8	3,6	30,0	2,0	17,5	1,8	48,8	2,0	0,0	1,0	99,1	4,0	4,5
Artus 5	65,0	3,2	27,5	2,0	20,0	2,0	42,5	2,0	6,3	6,3	97,6	4,0	4,5
Artus 6	70,0	3,5	13,8	2,0	5,0	1,8	26,3	2,0	2,5	4,0	89,3	4,0	5,8
Artus 7	73,8	4,5	23,8	2,0	12,5	1,8	46,3	2,0	6,3	6,3	94,3	4,0	5,0
Artus 8	68,8	3,3	25,0	2,0	18,8	1,8	58,8	2,0	31,3	8,5	72,5	4,3	7,0
GD 5%	13,8	1,4	12,9	0	19,3	0,6	20,2	0,3	15,3	4,4	12,8	0,4	1,9
GD 1%	18,6	1,9	17,4	0	26,1	0,8	27,3	0,3	20,6	5,9	16,9	0,5	2,6
GD0,1%	24,7	2,6	23,1	0	34,6	1,1	36,1	0,5	27,3	7,8	21,7	0,6	3,4
Express1	75,0	3,8	36,3	2,0	20,0	1,8	52,5	2,3	13,8	8,3	106,4	4,0	3,5
Express2	56,3	2,9	36,3	2,0	13,8	1,8	55,0	2,3	1,3	1,5	101,5	4,3	3,8
Express3	72,5	3,0	35,0	2,0	18,8	1,8	52,5	2,3	8,8	6,4	110,0	4,3	3,3
Express4	58,8	2,9	42,5	2,0	10,0	1,5	55,0	2,3	0,0	1,0	114,1	4,0	3,3
Express5	78,8	2,8	40,0	2,0	7,5	1,8	66,3	2,3	5,0	5,3	91,9	4,3	4,3
Express6	61,3	3,2	53,8	2,0	10,0	1,8	65,0	2,5	3,8	6,3	94,8	4,5	4,3
Express7	65,0	3,2	45,0	2,0	16,3	1,8	52,5	2,5	3,8	3,0	95,8	4,0	3,8

Express8	72,5	3,2	51,3	2,0	33,8	2,0	46,3	2,0	13,8	8,3	110,1	4,5	4,3
GD 5%	20,2	1,0	22,6	0	20,9	0,7	29,8	0,7	7,3	3,9	12,4	0,6	2,0
GD 1%	27,3	1,4	30,5	0	28,2	0,9	40,2	1,0	9,8	5,3	16,4	0,8	2,8
GD0,1%	36,1	1,9	40,4	0	37,3	1,2	53,2	1,3	13,0	7,0	21,1	1,1	3,6

Bonitiert wurde die Befallshäufigkeit von *Phoma lingam*, *Peronospora parasitica*, *Erysiphe cruciferarum*, *Botrytis cinerea*, und *Sclerotinia sclerotiorum* in % , Befallsstärke (Note: 1-9, 1= gesund), die Lagerneigung, Pflanzenzustand (Boniturnoten 1-9, 1= guter Zustand)



Abb. 57 Unterschiede in der Stängelstabilität zwischen der Kontrolle (links und vorne) mit stärker Lagerneigung und Cantus-Behandlung (rechts und hinten) (vital) vor der Ernte



Abb. 58 Unterschiede in der Stängelstabilität zwischen der Kontrolle (l) und Behandlung mit Cantus mit vorwiegend grünen Stoppeln (v) vor der Ernte



Abb. 59 Unterschied der Stoppelfarbe und des Krankheitsbefalls durch *Phoma* (grau), *Verticillium* (grau oder dunkel) und *Sclerotinia* (weiß) zwischen der Kontrolle (l) und Behandlung (r)

Bei der Schotenbonitur (Tab. 45) zeigte sich, dass die Sorte Artus nur in den Parametern Anzahl Nebentriebe 1. Ordnung und Schotenzahlen sowie der Korngewichte der 10 ersten

Schoten des Haupttriebes auf einige Behandlungen mit absicherbaren Veränderungen reagierte.

Demgegenüber reagierte Express in nahezu allen Boniturparametern auf die Varianten 3 oder 4 (Caramba-Varianten), jedoch in keinem Fall auf die Folicur-Varianten.

Im Einzelnen zeigte sich demnach für Artus mit Ausnahme der Variante 1 eine signifikante ($p \leq 5\%$; Var. 2, 3, 7), hoch ($p \leq 1\%$; Var. 4) bis sehr hoch signifikante ($p \leq 0,1\%$) Zunahme der Triebe 1. Ordnung.

In Variante 5 wurde eine signifikant höhere Schotenzahl an diesen Trieben sowie an den Trieben 2. Ordnung festgestellt. Die Schotenlänge der ersten 10 Schoten des Haupttriebes wurde durch Variante 4 signifikant erhöht und das Korngewicht in diesen Schoten durch die Variante 4 signifikant und durch die Variante 5 sogar hoch signifikant gesteigert.

Bei Express war neben der signifikant höheren Anzahl nicht entwickelter Schoten in der Behandlungsvariante 1 nur die Varianten 3 und 4 mit verifizierbaren Abweichungen zur Kontrolle erkennbar.

Durch Behandlungen der Pflanzen in Variante 4 wurde signifikant die Länge des Haupttriebes und die Schotenanzahl gesteigert.

Dagegen zeigte Variante 3 bei der Triebzahl 1. Ordnung und der Trockenmasse der Körner je Pflanze signifikante Steigerungen und bei den Parametern Schoten an Trieben 1. Ordnung, Triebanzahl 2. Ordnung und deren Schoten sowie der Gesamtschotenzahl je Pflanze sogar hoch signifikante ($p \leq 1\%$) Steigerungen.

Alle anderen Parameter oder Varianten bleiben in ihrer Änderung unterhalb des Signifikanzbereiches.

Tab. 45: Ergebnisse der Laborbonitur vor Ernte des Rapses (BBCH 87) im 2002

Variante	pflanzenmorphologische Messgrößen (07.2002) Anzahl												Trockenmasse Körner/Pflanze [g]	Körner je Schote ***	TKG [g]
	Haupttrieb				Nebentrieb 1. Ordnung		Nebentrieb 2. Ordnung		Schoten je Pflanze	10 Schoten vom Haupttrieb					
	Länge [cm]	Schoten Anzahl	n. entw. Schoten *	Körner/Haupttr. **	Triebanzahl	Schoten	Triebanzahl	Schoten		Länge [cm]	Körner	Korn Gewicht [g]			
Artus1	53,0	59,6	15,5	931,2	8,1	156,8	3,8	25,7	242,1	4,8	186,1	1,0	18,5	17,7	4,3
Artus 2	52,3	54,9	10,5	990,7	8,6	206,8	5,6	45,0	306,7	4,7	194,0	1,0	25,4	18,8	4,4
Artus 3	56,1	69,9	8,3	1265,8	8,4	222,7	6,8	47,2	339,8	4,4	201,3	1,1	33,0	20,4	4,8
Artus 4	53,7	63,3	8,3	1173,7	9,0	215,9	4,7	29,4	308,6	5,4	228,0	1,2	27,4	20,2	4,4
Artus 5	54,2	66,7	6,2	1211,3	9,8	253,5	5,7	32,9	353,1	4,7	202,5	1,3	34,2	20,8	4,7
Artus 6	57,4	77,4	5,5	1368,3	10,0	232,6	3,8	33,2	343,2	4,6	193,7	1,0	28,0	20,6	4,0
Artus 7	58,6	63,9	16,3	966,4	8,7	215,0	4,1	28,5	307,4	4,6	166,7	0,8	21,6	16,0	4,4
Artus 8	54,8	63,7	10,5	1097,9	6,2	150,7	3,4	18,8	233,2	4,8	207,8	0,9	20,8	19,8	4,5
GD 5%	5,8	14,3	6,8	350,3	2,1	84,3	3,6	34,1	118,4	0,5	35,7	0,3	13,9	3,6	1,5
GD 1%	7,7	19,0	9,0	464,8	2,8	111,8	4,8	45,2	157,1	0,7	47,4	0,4	18,4	4,8	2,0
GD 0,1%	9,9	24,6	11,7	600,3	3,6	144,4	6,1	58,4	202,9	0,9	61,1	0,5	23,8	6,2	2,6
Express1	45,8	55,6	12,5	768,5	9,6	217,8	5,9	29,0	302,4	4,8	190,8	0,9	21,5	17,1	4,1
Express2	38,9	53,4	6,3	843,4	9,6	229,7	6,4	31,6	314,7	4,8	173,6	0,8	23,0	18,2	4,0
Express3	42,2	58,7	6,6	797,8	10,5	318,9	13,0	97,9	475,5	4,6	180,9	0,8	31,9	16,5	4,1
Express4	47,1	68,2	10,3	1024,7	9,1	246,8	7,7	50,9	365,9	4,4	172,7	0,8	24,1	17,2	3,8

Express5	42,9	57,7	6,5	851,8	9,0	241,5	7,2	37,8	337,0	4,7	191,4	0,9	22,4	16,9	3,9
Express6	42,0	58,5	7,2	863,9	9,2	246,4	7,7	43,4	348,3	4,5	185,2	0,8	22,7	16,5	3,9
Express7	45,5	66,1	7,1	982,9	9,7	253,1	6,8	52,0	371,2	5,0	204,9	0,9	24,3	16,7	3,9
Express8	37,3	57,8	7,5	818,2	9,0	216,3	5,5	27,4	301,5	5,0	191,7	0,8	19,9	17,1	3,9
GD 5%	8,6	9,2	3,6	210,3	1,4	75,1	5,2	51,6	123,5	0,5	33,9	0,2	10,6	2,1	1,7
GD 1%	11,4	12,2	4,7	279,0	1,9	99,6	6,8	68,5	163,8	0,7	45,0	0,3	14,1	2,8	2,2
GD 0,1%	14,8	15,8	6,1	360,3	2,4	128,7	8,9	88,4	211,5	0,9	58,1	0,3	18,2	3,6	2,0

* Anzahl nicht entwickelter Schoten am Haupttrieb.**Körner auf dem Haupttrieb ***Es wurde das Trockengewicht der Körner pro Pflanze durch das TKG und auch durch die Anzahl der Schoten einer Pflanze geteilt. Es wurden 10 Pflanzen W-förmig vor der Reife aus dem Feld entnommen. Es wurde die Anzahl der Schoten des Haupttriebs und die Anzahl der Schoten der Nebentriebe 1. und 2. Ordnung sowie deren Anzahl bestimmt. Weiter wurden die Haupttrieblänge, Körnergewicht je Pflanze und die Anzahl der Körner je Schote am Haupttrieb bestimmt.

Die Analyse der Stoppelbonituren nach der Ernte zeigte, dass die zu diesem Zeitpunkt messbaren Effekte zweigeteilt waren. Einerseits konnten keine Unterschiede mehr in den Befallshäufigkeiten festgestellt werden, andererseits zeigten sich die Unterschiede in den Befallsschweren sortenabhängig (Tab. 46). Trotzdem ist der Unterschied der Stoppelfärbung zwischen den Behandlung und der Kontrolle deutlich zu sehen (Abb. 59).

Bei der Weißstängeligkeit zeigten sich keine Sortenunterschiede und keine verifizierbaren Effekte durch die Behandlungsvarianten.

Tab. 46: Ergebnisse der Stoppelbonituren nach Ernte 2002

Variante	Krankheiten (08.2002)					
	Wurzelhalsfäule		Rapswelke		Weißstängeligkeit	
	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9	Befall [%]	Note 1-9
Artus 1	46,3	3,3	53,8	4,9	1,3	1,1
Artus 2	62,5	3,3	45,0	2,8	0,0	1,0
Artus 3	53,8	3,4	36,3	3,3	2,5	1,2
Artus 4	48,8	3,3	40,0	3,5	1,3	1,1
Artus 5	55,0	3,4	37,5	3,2	1,3	1,1
Artus 6	60,0	3,2	30,0	2,8	0,0	1,0
Artus 7	63,8	4,2	32,5	2,9	0,0	1,0
Artus 8	70,0	4,6	35,0	3,5	1,3	1,1
GD 5%	27,3	0,9	22,2	1,1	3,6	0,3
GD 1%	36,8	1,2	30,0	1,5	4,9	0,4
GD 0,1%	48,7	1,6	39,7	1,9	6,4	0,5
Express 1	72,5	4,7	26,3	2,7	0,0	1,0
Express 2	55,0	2,9	26,3	2,7	0,0	1,0
Express 3	62,5	3,8	47,5	3,2	2,5	1,2
Express 4	67,5	4,2	22,5	2,5	1,3	1,1
Express 5	65,0	3,9	26,3	2,7	1,3	1,1
Express 6	65,0	3,8	26,3	2,6	0,0	1,0
Express 7	76,3	4,2	21,3	2,6	1,3	1,1
Express 8	57,5	3,8	40,0	3,9	0,0	1,0
GD 5%	25,8	0,9	25,1	1,0	2,7	0,2
GD 1%	34,8	1,2	33,8	1,4	3,6	0,3
GD 0,1%	46,1	1,5	44,8	1,8	4,7	0,4

Bonitiert wurden die Befallshäufigkeit von *Phoma lingam*, *Verticillium dahliae* (*V. longisporium*) und *Sclerotinia sclerotiorum* in %, Befallsstärke (Note: 1-9, 1= gesund) an den Stoppeln und Wurzeln nach der Ernte des Rapses. n=20*4

3.5.3.5 Ertragsdaten des Anbausjahres 2001/2002

Die Erträge (Abb. 60) unterschieden sich in den Sorten erwartungsgemäß. Die Erträge der Kontrollen betragen bei Artus 30,6 dt/ha (berechnet auf 91% TM) und bei Express 28,1 dt/ha. Die Behandlungsvariante 1 zeigte in beiden Sorten keinen nennenswerten Ertragseffekt. Dagegen steigerten alle anderen Varianten den Ertrag und zwar bei Artus deutlicher als bei Express.

Im Einzelnen zeigten bei Artus die Varianten 3 und 4 eine signifikante Ertragssteigerung ($p \leq 5\%$), Variante 2, 6 und 7 signifikante ($p \leq 1\%$) und Variante 4 sehr hoch signifikante ($p \leq 0,1\%$) Ertragswirkungen.

Bei Express waren es die Varianten 1, 2 und 7 mit einer signifikanten ($p \leq 5\%$) Steigerung und Variante 4 mit einer hoch signifikanten ($p \leq 1\%$) Steigerung des Ertrages.

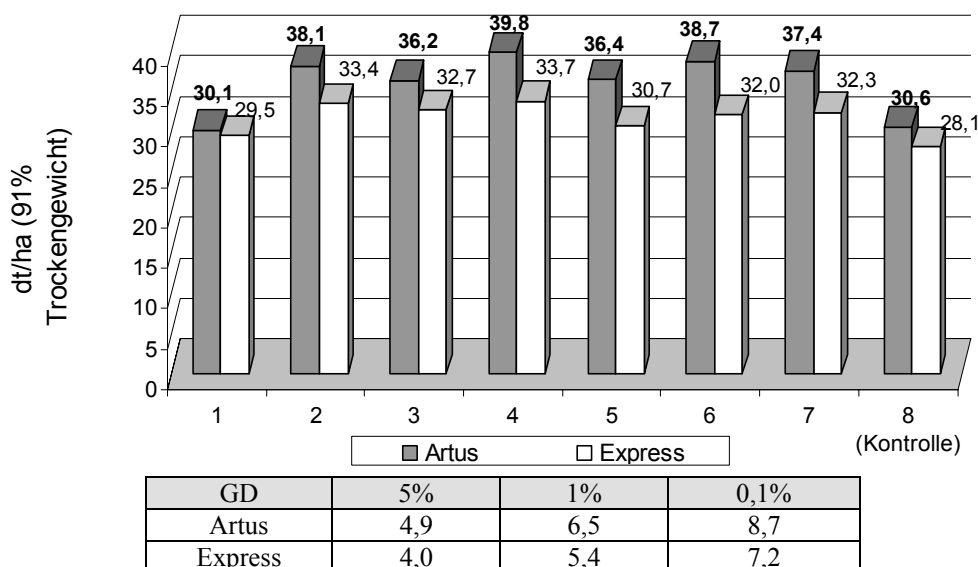


Abb. 60 Erträge des Raps-Fungizidversuchs 2001/2002 am Versuchsgut Merklingsen (91% Trockengewicht), n=4

3.5.4 Ergebnisse in Anbaujahr 2002/2003

Zu Blühbeginn erfolgte eine Kombination mit Behandlungsterminen und künstlicher Infektion durch Ascosporensuspension.

3.5.4.1 Bonitur zu Blühbeginn (BBCH 60-63, 24.04.03)

Zu diesem Boniturtermin (BBCH60-63) konnte kein Befall von Weißstängeligkeit festgestellt werden.

3.5.4.2 Bonitur in Rapsblüte (BBCH 68-71, 15-23.05.03)

Der Befall mit Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) zeichnete sich zum Stadium BBCH 68-71 durch eine sehr hohe Streubreite im Befall aus (Abb. 61). Allerdings zeigte auch hier die

Fungizidvariante F5 in den meisten Fällen signifikant geringeren Befall als die Kontrollen (Ausnahme S1B3 und S2B2). Die übrigen Varianten wiesen sich weder signifikante noch klare tendenzielle Unterschiede (Tab. 63, Anhang 8.5) auf.

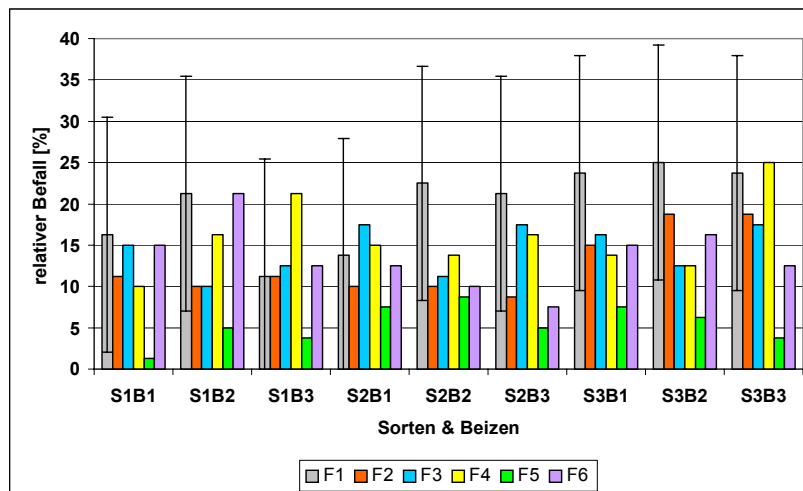


Abb. 61: Befall mit Weißstängeligkeit (*Sclerotinia sclerotiorum*) zum Ende der Blüte BBCH 68-71 in 2003; GD5%=14,2 wie dargestellt (Originalwerte Tab. 63, Anhang 8.5)

Die verwendeten Saatgutbeizen (B1-B3) sowie die Fungizidaufwandmengen und Applikationstermine sind in Tab. 19-21 beschrieben.

Betrachtet man die unbehandelten Kontrollen (Variante F1), so zeigten sich außer einer leichten Tendenz zu geringerer Wuchshöhe bei der Sorte Lion (S1) keine Unterschiede.

Zwischen den Behandlungsvarianten konnten keine klaren Unterschiede gefunden werden. In einigen Fällen wurden signifikante Unterschiede im Hinblick auf größere Wuchshöhen im Vergleich zur Kontrolle festgestellt, allerdings waren die Ergebnisse uneinheitlich und nicht eindeutig reproduzierbar.

3.5.4.3 Bonitur vor Ernte (BBCH 92-97, 14.-15.07.03)

Es zeigte sich ein sehr hoher Gesamtbefall von über 94 % mit einem tendenziellen Sorteneffekt bei dem die Sorte Lion (S1) weniger anfällig erschien als die beiden Hybridsorten Maja (S2) und Debora (S3) (Tab. 64, Anhang 8.5).

Im Hinblick auf die Fungizidvarianten waren keine signifikanten Unterschiede feststellbar. Tendenziell zeigte sich in vielen Fällen die Variante F5 als weniger stark befallen. Auch die Variante F2 zeigte speziell bei der Sorte Lion (S1) tendenziell bessere Ergebnisse.

Für den Befall mit Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) zeigte sich trotz der relativ hohen Grenzdifferenz von 14,0 mit $p \leq 5\%$ (Abb. 62) ein deutlicher Effekt der Fungizidvarianten. Tendenziell führten alle Varianten zu geringerem Befall. Insbesondere die Cantus-Varianten F4, F5 und F6 zeigten einen signifikant positiven Effekt, wobei in der Variante F5 der Befall unter 10 % reduziert werden konnte (Tab. 64, Anhang 8.5).

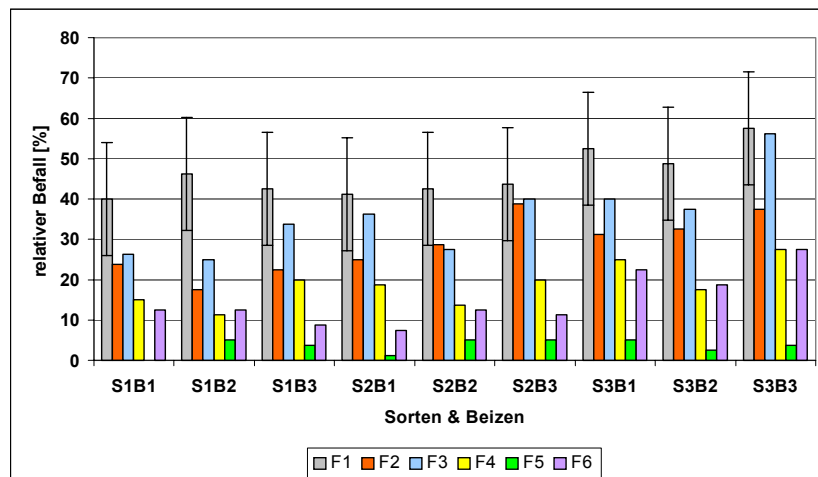


Abb. 62: Befall mit Weißstängeligkeit (*Sclerotinia sclerotiorum*) vor Ernte BBCH 92-97 (14.-15.07.03); GD5%=14,0 wie dargestellt (Originalwerte Tab. 64, Anhang 8.5)

3.5.4.4 Ertragsdaten des Anbausjahres 2002/2003

Der Ertrag zeigte durchweg eine deutliche Steigerung bedingt durch die Fungizidvarianten. In vielen Fällen zeigte sich diese Ertragssteigerung auch signifikant über die Sorten und Beizen (Abb. 63). Dies galt insbesondere für die Fungizidvarianten F2, F4 und F5 (Ausnahme F4 in S1B1, Abb. 63).

Ein tendenzieller Sorteneffekt war ebenfalls feststellbar. Dabei zeigte die Hybridsorte Debora (S3) den höchsten und die Hybridsorte Maja (S2) den geringsten Ertrag (Abb. 63).

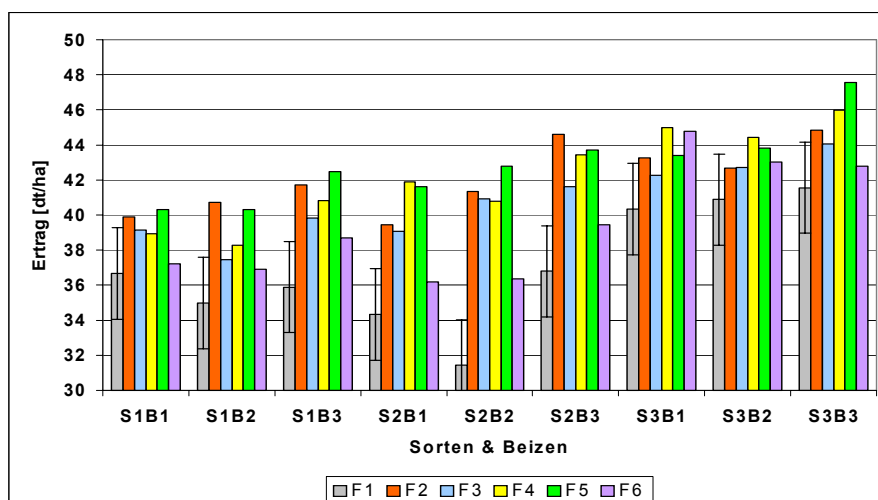


Abb. 63: Ertrag des Feldversuchs 2002/03 umgerechnet auf 91% Restfeuchte (Ernte 16.07.03) mit GD5%_{über alles}=2,6 wie dargestellt (Tab.65)

Betrachtet man dagegen die Fungizidvarianten im Vergleich zueinander, so zeigen sich für alle Varianten signifikante Ertragssteigerungen (Ausnahme S1B1F6, Abb.64) (GD5%=0,9). Auch zeigt sich in diesem Fall ein erwartungsgemäß signifikanter Sortenunterschied, wobei die Sorten Lion (S1, Liniensorte) und Maja (S2, Hybridsorte) sich nicht und die Sorte Debora (S3, Hybridsorte) positiv von den anderen Sorten unterschied.

Als beste Behandlungsvariante erschien im Anbaujahr 2002/03 die Variante F5 (jeweils 1,0 l Caramba im Herbst und Frühjahr plus 0,5 kg Cantus zur Vollblüte). Diese Kombination erzielte die höchsten Erträge (Ausnahme S2 (Maja), hier wurde mit der Variante F2 der höchste Ertrag erzielt) (Abb. 64).

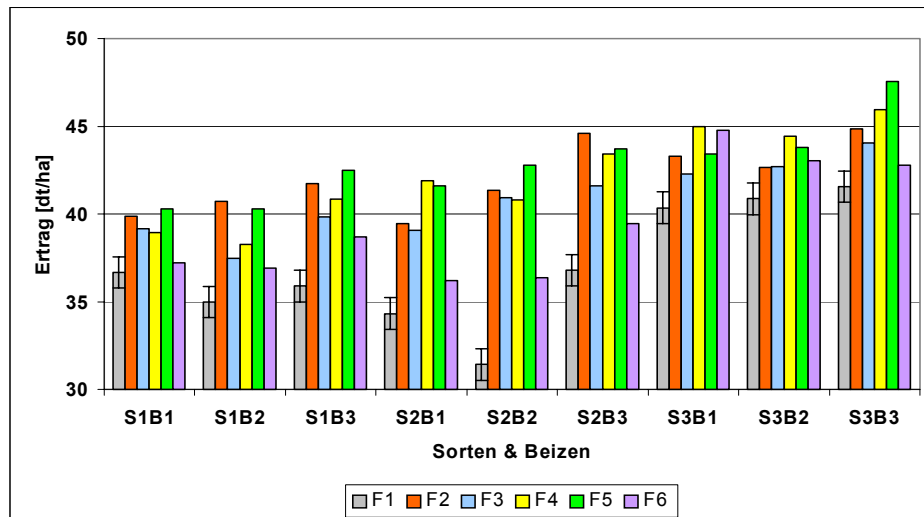


Abb. 64: Ertrag des Feldversuch 2002/03 umgerechnet auf 91% Restfeuchte (Ernte 16.07.03) mit $GD5\%_{\text{Fungizide}}=0,9$ wie dargestellt (Tab. 65, Anhang 8.5)

3.5.4.5 Stoppelbonitur nach der Ernte (16.-17.08.03)

Zusätzlich zu den allgemeinen Boniturstellen wurde in 2003 nach der Ernte eine Übersichtsbonitur der nach der Ernte verbliebenen Stoppeln durchgeführt (Tab.66, Anhang 8.5).

Weißer Stoppeln deuten normalerweise auf Befall mit Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) hin (Abb.65).

Im Hinblick auf den Befall von Weißstängeligkeit fielen neben signifikanten Sorteneffekten auch Fungizideffekte auf.

Über alle drei Sorten zeigten die Behandlung F5 sehr deutlich signifikant weniger weiße Stoppeln als Stoppeln die Kontrolle und die anderen Behandlungen. Die Behandlungen F4 und F5 zeigten tendenziell geringere Anteile weißer Stoppeln. Im Falle der Sorte Debora (S3) wies die Behandlung F3 signifikant mehr weiße Stoppeln zum Zeitpunkt der Ernte auf.

Beim Vergleich der Sorten zeigte die Liniensorte Lion (S1) signifikant mehr lebende Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte als die beiden Hybridsorten.

Einen Beizeffekt im Hinblick auf den Befall von Weißstängeligkeit je Parzelle zeigte die Beizung 3 (B3) in Kombination mit Behandlung F6 bei den Hybridsorten (S2 und S3) signifikant mehr weiße Stoppeln zum Zeitpunkt der Ernte auf.

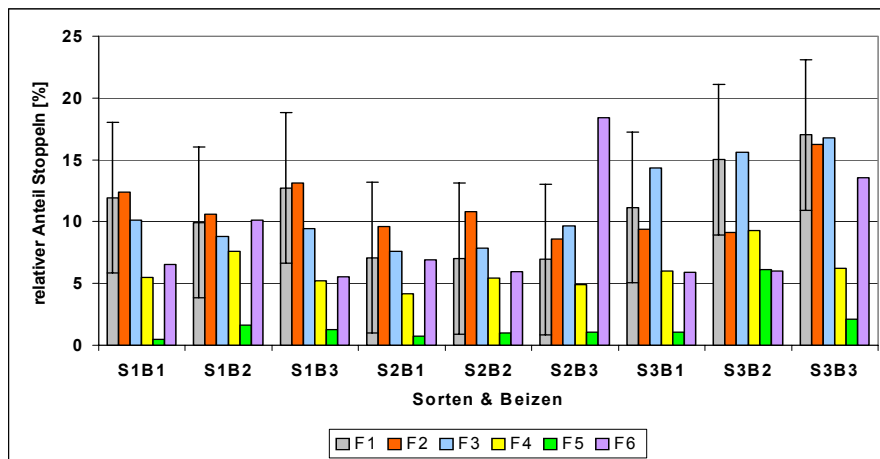


Abb. 65: Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) (Weiße Stoppeln) an Rapsstoppeln nach Ernte (BBCH 92-99) (16.-17.07.03) mit GD5% = 6,1 wie dargestellt (Tab. 66, Anhang 8.5)

4 Diskussion

Die Weißstängeligkeit, ausgelöst durch das Pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* gehört zu den wichtigsten Krankheiten an vielen Kulturpflanzen weltweit.

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 46 Herkünfte, die in den Jahren 1998-2003 von verschiedenen Kulturpflanzen und aus verschiedenen Ländern gesammelt wurden, auf ihre Variabilität in Hinblick auf pathologische und morphologische Eigenschaften sowie deren Bekämpfung mit neuen Fungiziden untersucht. Mit etablierten und neu entwickelten Prüfmethode konnten viele neue und wichtige Aussagen über die Anfälligkeit von Winterraps für *S. sclerotiorum* getroffen werden.

Insbesondere die Aggressivität der unterschiedlichen Herkünfte konnte genau und reproduzierbar eingeschätzt werden.

Durch die mehrfaktorielle Charakterisierung des Pathogens konnten viele neue Erkenntnisse gewonnen werden (Kap. 3), deren Bedeutung im Folgenden detaillierter diskutiert wird.

Zudem wurde mit der Prüfung des neuen Fungizids Cantus (Wirkstoff Boscalid) eine neue und sehr effektive Strategie zur Bekämpfung der Weißstängeligkeit im Feld nachgewiesen.

4.1 Prüfmethode zur Beurteilung von Rapsorten und –Zuchtmaterial

Um Aussagen über die Resistenz/Anfälligkeit einzelner Sorten gegenüber einem bestimmten Schaderreger treffen zu können, bedarf es einer möglichst frühen Prüfung des Zuchtmaterials.

Um die Aggressivität einer Herkunft und mögliche Anfälligkeit neuer Rapsorten schnell und einfach zu ermitteln, bedarf es einer reproduzierbaren Prüfmethode, mit der in einem frühem Pflanzenentwicklungsstadium unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer eine Einstufung bezüglich Aggressivität oder Anfälligkeit möglich ist.

Bei der in der vorliegenden Arbeit entwickelten Prüfmethode wurde ein Laubblatt einer Pflanze in einem bestimmten Entwicklungsstadium entnommen und inokuliert. Diese Inokulation erfolgte entweder durch Aufbringen einer Mycelsuspension, eines Mycelscheibchen oder einer Ascosporensuspension von *S. sclerotiorum*. Alle drei Inokulationsformen erwiesen sich in Laborversuchen als geeignet.

Dabei gab es einen deutlichen Unterschied zwischen den Methoden bei gleichen Inokulationsbedingungen. D. h. das Befallssymptom der oben genannten drei Inokulationsformen trat nicht bei allen Inokulationsformen nach der gleichen Inkubationszeit und nicht in der gleichen Ausprägung auf. Aber alle Methoden erwiesen sich in ihrer individuellen Form als zuverlässig reproduzierbar. Die Effizienz dieser Labortests zeigt sich in der gesicherten Korrelation von $r = 0,841$ im Vergleich mit den Felduntersuchung (Abb. 28 und Abb. 30).

Unter Anwendung der hier entwickelten Methoden, ist neben eines temperaturkontrollierten, lichtgesteuerten Raumes, als einzige technische Voraussetzung zur Resistenzprüfung eine transparente, feuchte Kammer oder ein Mini-Gewächshaus mit einer Einrichtung zur kontinuierlichen und gleichmäßigen Wasserversorgung für das pflanzliche Prüfmaterial erforderlich, in der eine relativ hohe Luftfeuchtigkeit gewährleistet werden kann. Als Prüfmaterial werden grüne Pflanzenteile, in der Regel Blätter oder Rapstriebe vom Feld oder Gewächshaus/Klimakammer benötigt, im Labor inokuliert und unter definierten Bedingungen inkubiert. Die in der Regel nach 4-10 Tagen auftretenden Befallssymptome, je nach Temperatur während des Inkubierens, werden vermessen (Läsionslänge), und der Vergleich der Läsionslängen erlaubt eine Klassifizierung des geprüften Materials.

Aufgrund der in der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse kann festgestellt werden, dass die Methodik zur quantitativen Resistenzprüfung, für ein Befallsscreening sowie für exakte Befallsprüfungen geeignet ist. Dabei ist die Methode mit Mycelstück besonders für die Prüfung der Aggressivität des Schaderregers geeignet, weil sie leicht zu kontrollieren und exakt zu quantifizieren ist.

Um die Resistenz/Anfälligkeit von Sorten oder Linien zu ermitteln, ist die Infektion mit Mycelsuspension oder Ascosporensuspension besonders geeignet. Bei der Ascosporeninokulation werden, in Anlehnung an den natürlichen Infektionsweg, Blütenblätter in die Methode involviert. Außerdem ist diese Inokulationsmethode auch geeignet für die Untersuchung der Wirkeffizienz von Fungiziden, weil die Befallsstärke durch die Mycel- bzw. Ascosporenkonzentration regulierbar ist. Die Zuverlässigkeit der Infektion mit Mycelsuspension wurde auch bei Untersuchungen mit Blattscheiben und Stängelsegmenten von Raps nach Gieffers (1999) bestätigt. Vergleichbare Ergebnisse konnten auch durch Laubblatttests von Brun, (1989) und Liu (1993) erzielt werden.

Infektionsversuche mit dem Schaderreger *S. sclerotiorum* im Feld zeigen auf Grund der ständigen Veränderung des Kleinklimas im Bestand immer einen unterschiedlichen Befallswert, und sind in ihrer Aussage schwierig zu beurteilen. Da Feldversuche, auf Grund der natürlichen Infektionen, viel zu unsicher und häufig nicht erfolgreich sind (je nach Witterung), wurde ein Verfahren entwickelt, dass einerseits in seiner Symptomausprägung der natürlichen Infektionen sehr nahe kommt, andererseits kaum von den klimatischen Faktoren abhängig ist.

Die weiter entwickelte Prüfmethode von Brun (1983) mit Zahnstocherinokulationen am Rapsstängel im Feld bietet erstmals die Möglichkeit, unter natürlichen Befallsbedingungen eine Sorten- bzw. Stammprüfung vorzunehmen, bei gleichzeitig 100 % kontrollierbarer Vorgaben der Befallshäufigkeit.

Der mit dem Zahnstocher in den Haupttrieb eingebrachte Schaderreger wird durch den Saftstrom der Wirtspflanze ernährt und kann so vom Zahnstocher problemlos in die Pflanze einwachsen. Dadurch findet eine problemlose Etablierung des Erregers im Rapsstängel statt, solange das verwendete Pathogen aggressiv ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass ein erfolgreicher Befall an allen durch Zahnstocher infizierten Rapspflanzen erfolgen konnte. Dies bestätigt die Aussage von Brun (1983) und Liu (1993), wonach Stängelinokulation durch Zahnstocher im Feld nach 4 bis 5 Wochen Läsionen von über 30 cm Länge am Haupttrieb verursachen können.

In den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit erwies sich, dass selbst nach Zahnstocher-inokulation die schwach aggressiven Herkünfte von *S. sclerotiorum* nicht zu vollem Befall der inokulierten Pflanzen führten, wegen ihrer schwachen Aggressivität. Dies geht aus dem Aggressivitätstest der Herkünfte 266 (mit 76,7% Befallshäufigkeit der Pflanzen an der Sorte Express, und 73,3% an der Sorte Artus) und DK (Befallshäufigkeit mit 53,3% bzw. 100%) hervor. Sie bewirkten sehr kurze Läsionen (durchschnittlich kleiner als 2 cm lang) am Stängel, weil sie fast nicht mehr aggressiv waren (Abb. 30). Dagegen war mit allen anderen Herkünften die Inokulationsmethode mit Zahnstochern im Feld sicher und reproduzierbar. Die unterschiedliche Aggressivität zwischen den Herkünften und die Anfälligkeit der Rapsorten konnten zuverlässig und reproduzierbar durch Vergleich der entstanden Läsionslängen am Rapsstängel nach der Inokulation erfasst werden.

Nach den Inokulationsversuchen ist eine zutreffende Resistenzeinschätzung dann gegeben, wenn zwischen Labor- und Freilandbefallsprüfung gesicherte Korrelationen bestehen. Dieser Nachweis konnte für verschiedene Erreger-Wirtbeziehungen beobachtet werden (Gieffers, 2000). Für transgenes Material kann mit dieser Methodik vor einem Freisetzungsversuch eine erste Resistenzeinschätzung erfolgen (Fladung, 1993, Düring, 1999, Gieffers, 1999).

4.2 Variabilität

4.2.1 Morphologie verschiedener *Sclerotinia*-Herkünfte

Häufig wird über Unterschiede in der Morphologie unterschiedlicher *S. sclerotiorum*-Herkünfte berichtet (Jian et al, 2000), die durch Mycelkompatibilitätstest bestätigt werden können (Kohn et al, 1990, 1991).

Um möglichst einfach Unterschiede zwischen den Herkünften vergleichen zu können und den Einfluss der Temperatur auf Variabilität des Mycelwachstums und der Sclerotienbildung in vitro zu ermitteln, wurden 10 Ascosporenlinien, die aus jeweils einem Sclerotium der jeweiligen Herkünfte isoliert wurden, erstellt. Zwischen den 10 Ascosporenlinien zeigten sich

signifikante Unterschiede in Bezug auf Mycelwachstum und Sclerotienbildung (Tab.25 und 26).

Damit konnte erstmals gezeigt werden, dass die Aggressivität mit langsamem Mycelwachstum und der Bildung vieler kleiner Sclerotien (kleine als 2 mm große) korreliert (Tab.25 und Tab. 26, 27).

Laut Steadman (1974), Yang (1995), Xu (1997) und Li (1999) gibt es unterschiedliche Testmethoden zur Überprüfung der Vitalität der Sclerotien, bei denen die Sclerotien während ihrer Keimung und Apothecienbildung unbedingt mit unterschiedlichen Temperaturen und Beleuchtungen behandelt werden müssen. Die eigenen Untersuchungen widerlegen diese Angaben. So wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine Methodik entwickelt, die zur Keimung der Sclerotien und Apothecien- und Ascosporenbildung unter kontrollierten Bedingungen führt. Diese Bedingungen sind eine konstante Temperatur von 10 °C, Beleuchtung mit 500 Lux und eine Wassergehalt im Boden von 28 % bis 35 % (Kap.2.4.2). Unter diesen Bedingungen war die Sclerotienkeimung einfach und problemlos reproduzierbar. So konnten z.B. 1000 Apothecien auf 150 Sclerotien in einem einzigen Kulturgefäß produziert werden.

Damit zeigte sich, dass die hier optimierte Methode zur Produktion von Apothecien die einfachste und reproduzierbarste ohne Veränderung mit unterschiedlichen Temperaturbehandlungen im Vergleich zu den diversen Literaturvorgaben ist (Steadman, 1974; Brun, 1987; Sansford, 1992; Liu, 1993; Yang, 1995; Xu, 1997).

Generell zeigte sich, dass Sclerotien von chinesischen Herkünften 30 bis 50 Tage früher keimten und Apothecien bildeten als die von deutschen Herkünften. So keimten die Sclerotien der deutschen Herkunft M01 21 Tage später als die der chinesischen Herkunft MZ. Dies bedeutet, dass Sclerotien der Herkünfte aus kälteren Regionen eine längere Kältebehandlung vor der Keimung erfordern, was sich mit den Berichten von Yang (1995) und Xu (1997) deckt. Die Untersuchungen zu Keimung und Apothecienbildung der Sclerotien von unterschiedlichen Herkünften ergaben, dass die Nahrungsquelle eine bedeutende Rolle im Keimungsverhalten der Sclerotien spielte. Die Sclerotien, die auf nährstoffreichen Substraten gewachsen waren, keimten langsamer als die von Nährstoffarmen. Bedi (1962) berichtet, dass nur die Sclerotien, die auf moderat-nährstoffhaltigem Medium kultiviert wurden, normal und gut keimen. Diejenigen, die auf einem Mangelmedium gebildet wurden, bildeten unförmige Apothecien. Dagegen bildeten Sclerotien von sehr reichem Medium kaum Apothecien aus. So bildeten Sclerotien die auf Weizen kultivierten wurden über 1000 Apothecien auf 150 Sclerotien aus. Im Vergleich dazu bildeten auf PDA kultivierte Sclerotien weniger als 20 Apothecien. Die auf PDA kultivierten Sclerotien keimten 8 Tage später mit nur 10 Stielchen.

Bei den Sclerotien, die von einem infizierten Rapsblatt stammten, konnten 124 Tage nach dem Auslegen in Einheitserde nur weniger als 10 Stielchen beobachtet werden. Das bedeutet, dass sich auf PDA kultivierte Sclerotien für die Apothecienbildung und damit für die Ascosporenproduktion nicht eignen. Ähnliche Ergebnisse werden auch von anderen Autoren berichtet (Yang, 1995 und Xu, 1997).

Das Auftreten von Apothecien bei den unterschiedlichen Herkünften lag zwischen zwei und acht Monaten. Die Ausschleuderungsmenge und –dauer der Ascosporen war abhängig von den Herkünften und der Beleuchtung.

Von der Stärke der Beleuchtung und der Temperatur wurde die Geschwindigkeit der Keimung beeinflusst. Allerdings hängt die Keimung der Sclerotien nicht unbedingt von der Beleuchtung ab. Ohne Licht keimten die Sclerotien dennoch, sofern die Temperaturen günstig waren. Diese Erkenntnis ist wichtig, da in älterer Literatur immer wieder berichtet wurde, dass die Bekämpfung der Weißstängeligkeit durch simples Abdecken der Sclerotien, z.B. durch Pflügen, zu erreichen sei, weil die im Boden unter 5 cm liegenden Sclerotien ohne Licht nicht keimen könnten. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wiesen darauf hin, dass die in tieferen Boden (5 bis 10 cm) versteckten Sclerotien in Praxis selbst mehr Ascosporen als man gedacht hat, produzieren können.

Eine weitere wichtige und bisher unbekanntes Erkenntnis aus den vorliegenden Untersuchungen der Sclerotienkeimung von *S. sclerotiorum* ist die Tatsache, dass sich bei den meisten Herkünften 5 bis 8 Monaten nach dem Absterben der gebildeten Apothecien ohne weitere Behandlung in der Klimakammer erneut normale Apothecien und Ascosporen entwickeln können. Dies weist darauf hin, dass in der Praxis die Keimung der im Boden liegende Sclerotien mehrmals stattfinden kann und das Ausschleudern der infektiösen Ascosporen bei günstigen Witterungen länger andauern kann als bisher angenommen. Diese neue Entdeckung könnte die Ergebnisse der Feldversuche von Kreye (2003) erklären. Dabei war nach zweimaliger Rotation (1996 und 1999) die Befallshäufigkeit der Weißstängeligkeit plötzlich bei der dritten Rotation im Raps (6 Jahre später) von 2-5 % (1996) auf 32 % (Pflugsystem) bzw. 59 % (Direktsaat) in 2002 gestiegen.

Die Ergebnisse aus den vorliegenden Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die Kultur auf Weizenkörnern eignet sich gut für die Vermehrung / Anzucht der Sclerotien, dabei war die Produktion von Apothecien unter den Bedingungen 10 °C und 500 Lux optimal.
2. Die Asci reiften in 5 bis 15 Tagen nach Bildung der Apothecien.
3. Unterschiedliche Asci in einem Apothecium reiften nicht gleichzeitig.

4. Das Ausschleudern der Ascosporen eines einzigen Apotheciums dauerte im Schnitt 10 bis 20 Tage.
5. Ein einzelnes Apothecium konnte durchschnittlich über 1 Mio. Ascosporen produzieren und in drei bis acht Portionen ausschleudern.
6. Die Vitalität der Ascosporen bei Lagerung im Kühlschrank kann aufgrund der vorliegenden Ergebnisse für über ein Jahr gewährleistet werden, ohne dass ihre Vitalität messbar abnahm. Werden die Ascosporen über ein Vakuumsystem auf Papierfilter gesammelt, so können sie über mehrere Jahre bis zur Inokulation (im Kühlschrank) gelagert werden (Liu und Brun 1993).
7. Die aus Weizenkulturen gewonnenen Sclerotien konnten bei Raumtemperatur über zwei Jahre gelagert werden, ohne ihre Keimfähigkeit zu verlieren. Sie bildeten normale Stiele und Apothecien.
8. Sclerotien konnten nach der Kältebehandlung in der Dunkelheit direkt keimen und sie bildeten auch normale lange Stiele.
9. Sclerotien können mehr als ein Mal keimen. Die meisten Herkünfte bildeten 5 bis 8 Monaten nach dem Absterben der Apothecien erneut normale Apothecien. In der Praxis bedeutet dies, dass das Sclerotium solange lebensfähig ist, wie es selbst genug Nährstoffe zur Keimung verfügbar hat.

4.2.2 Infektion und Aggressivität der *Sclerotinia*-Herkünfte

Die Überprüfung der Aggressivität verschiedener Herkünfte mittels eines Blatt-Tests an Laubblättern zweier Rapsorten ergab unter den Herkünften signifikante Unterschiede in der Stärke ihrer Aggressivität.

Als apathogen konnte die Herkunft 266 bezeichnet werden. Dieses Isolat konnte in der Regel keine Symptome hervorrufen. Auch die Herkunft 1946 zeigte keine Pathogenität. Allerdings unterschied sich diese Herkunft in der DNA-Untersuchung von der Art *S. sclerotiorum* und musste der Art *S. trifoliorum* zugeordnet werden.

Es ist bekannt, dass die Aggressivität vieler Erreger während längerer Lagerung *in vitro* unter ungünstigen Bedingungen verloren geht (Fischer, 1929). Die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnisse zeigten, dass die Aggressivität von *S. sclerotiorum* *in vitro* in einem stabilen Zustand während ihrer Langzeitlagerung blieb.

Bei der DNA-Untersuchung unterschied sich die Ascosporenlinie F503 von den anderen Ascosporenlinien, die aus der gleichen Herkunft stammten. Selbst innerhalb der 10 Ascosporenlinien eines einzigen Apotheciums unterschieden sich die Linien F507 und F503 deutlich von den anderen 8 Linien. Selbst im Blatttest mit verschiedenen Rapsorten

unterschieden sich die beiden Linien trotz des allgemein schwachen Befalls deutlich aufgrund ihrer Befalleswerte (Läsionslänge). Speziell die Linie F507 konnte ihre Eigenschaften während der Kultur oft verändern (Tab. 23 und 24).

Die am gleichen Ort (Versuchsgut Merklingsen) aber in unterschiedlichen Jahren isolierte Pathogene M99, M01, M08 und M05 wiesen eine unterschiedliche Aggressivitätsstärke auf. Interessant war die Tatsache, dass drei Herkünfte, die aus Rapsbeständen mit unterschiedlicher Befallsstärke an Weißstängeligkeit in der Provinz Sichuan, China, gesammelt wurden (Isolat Ya (geringer Befall), CD (mittlerer Befall) und MZ (starker Befall)), einen deutlichen Unterschied in ihrer Aggressivität zeigten. Diese Unterschiede korrelierten mit den Unterschieden in der Wachstumsgeschwindigkeit des Mycels in vitro sowie mit dem Gewicht der gebildeten Sclerotien. D.h. die Herkunft, die aus einem Gebiet mit geringem *Sclerotinia*-Befall stammte, hatte eine schwache Aggressivität und langsames Mycelwachstum.

Bei der Einzelbetrachtung der Rapsorten wird deutlich, dass ihre *Sclerotinia*-Anfälligkeit abhängig ist von der Herkunft des Pathogens, und die Pathogene die Sorten somit unterschiedlich stark befallen. So befiel das Isolat 507 und 503 die Hybridsorte Artus deutlich stärker, als die Liniensorte Express.

Yang (1959) berichtet, dass es keine Unterschiede der Aggressivität unter den von ihr untersuchten 15 Herkünften in China gab. Dagegen zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit einen deutlichen Unterschied in der Aggressivität der verschiedenen Herkünfte von *S. sclerotiorum*. Es erwies sich sogar, dass ein deutlicher, signifikanter Aggressivitätsunterschied selbst zwischen Ascosporenlinsen, hervorgegangen aus einem einzigen Sclerotium, existiert.

Die Erfassung der Unterschiede der Aggressivität erfolgte auf der Basis des Ausmaßes der Läsionen im Blatttest in Klimakammeruntersuchungen einerseits, und dem Ausmaß (Länge) der Schadsymptome am Rapsstängel im Feld nach Zahnstocherinjektion andererseits. Dabei variierten die Läsionen im Blatttest von 0 mm (nicht aggressiv) bis 80 mm (sehr stark aggressiv) (Abb. 28 und 29). Bei den parallel durchgeführten Feldinjektionen variierten die Schadsymptome (Läsionen) am Stängel zwischen 0,5 cm und 45,0 cm (Abb. 32, 31, 30).

Es wurde außerdem festgestellt, dass für Laboruntersuchungen zur Resistenz von Rapsorten sehr stark aggressive Herkünfte / Isolate zu verwenden sind, damit die Resistenz der Sorte gegen Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) in ihrem vollen Umfang erfasst werden kann.

Nach Mitchell (1984) gibt es keinen präzisen Weg die Virulenz zu quantifizieren. In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals eine Quantifizierung über die Vergabe von Noten auf der Basis der Befallsstärke (Läsionslänge) versucht.

4.2.3 Genomuntersuchungen verschiedener *Sclerotinia*-Herkünfte

Mit Hilfe von DNA-Fingerprints lassen sich genetische Variationen erkennen. Für die Untersuchungen an *Sclerotinia* eignete sich nur die RAPD-Technik, da keine kompletten Sequenzdaten für eine gezieltere Analyse zur Verfügung stehen. Mit den erhaltenen Bandenmustern können Aussagen über Gemeinsamkeiten oder Unterschiede im Genom gemacht und daraufhin eine Gruppierung vorgenommen werden. Allerdings wird die RAPD Methode vielfach als nicht reproduzierbare Methode angesehen. So zeigte ein Ringversuch unter Beteiligung von 9 Laboratorien nur sehr uneinheitliche Ergebnisse (Jones et al., 1998). Als mögliche Ursache für die schwere Reproduzierbarkeit konnten die unterschiedlichen Termalcycler ausgemacht werden (Penner, 1993).

Aus diesem Grund wurde nicht nur für alle Untersuchungen ein und derselbe Termalcycler verwendet, sondern es wurden auch alle Untersuchungen mit dem gleichen Primer in einem PCR-Lauf durchgeführt. So konnte sichergestellt werden, dass die Bedingungen für alle Proben gleich waren. Dass mit Hilfe dieser Technik eine Differenzierung von Stämmen innerhalb einer Spezies möglich ist, wurde von Williams et al. (1990) bei Pflanzen, Bakterien, Tieren und Pilzen sowie von Regner & Messner (1993) und Mulcahy et al. (1995) an Rebsorten gezeigt. Bei *Rhizoctonia* ist nicht nur eine Zuordnung zu den einzelnen Anastomose-Gruppen durch diese Methode möglich, sondern auch eine Gruppierung innerhalb dieser Gruppen in Pektin-Zymogramm-Gruppen (Duncan et al. 1993). Ähnliches gilt auch für die Identifizierung von Pilzen auf der Ebene der Rassen (*Fusarium*, *Drechslera*), bzw. Pathogenen bei *Xanthomonas campestris* (Krämer, 1994) und auch von *Sclerotinia* (Kohli und Kohn, 1998). Generell sind aber auch die Grenzen der RAPD-Analyse bei Pilzen zu beachten. Diese liegen in der genetischen Variabilität der Pilze begründet. So können z. B. schon Isolate aus anderen geografischen Regionen andere Bandenmuster als das arttypische aufweisen (Hering et al., 1994).

Aus den getesteten 20 Primern wurden 8 für die Charakterisierung der Herkünfte von *S. sclerotiorum* verwendet. Mit diesen Primern (10 Basen) konnte jedes einzelne Isolat eindeutig unterschieden werden. Alle Herkünfte hatten ein individuelles Bandenmuster. Die RAPD-Technik gilt als eine Technik, die, im selben Labor unter gleichen Bedingungen durchgeführt, als reproduzierbar angesehen wird, aber in anderen Laboren kann es unter Umständen zu Unterschieden in den amplifizierten Banden kommen. Um solche Unstimmigkeiten zu vermeiden wurden folgende Vorkehrungen getroffen:

Ausgewertet wurden nur Banden, die deutlich als solche zu erkennen waren und keinen ausgedehnten DNA-Bereich (Schmier) im Gel zeigten. Häufig entstanden solche nicht klaren

Banden im kurzen Fragmentbereich, seltener bei einer Fragmentlänge von über 3000 bp. Aus diesem Grund wurde für jeden Primer ein eigener Auswertbereich festgelegt.

Fragmente außerhalb dieser Kernzone wurden nicht bewertet.

Da insgesamt vier Gele für die Auswertung eines Primers herangezogen werden mussten und geringfügige Unterschiede in den einzelnen Gelläufen trotz der Verwendung eines Längenstandards nicht ausgeschlossen werden konnten, wurden geringe Unterschiede zwischen den Banden nicht bewertet. Als Toleranzwert zwischen gleichen Banden wurde ein Wert von 2 % angenommen.

Die so errechneten Marker können daher als gesicherte Unterschiede angesehen werden. Insgesamt konnten aus den 8 verwendeten Primern, 213 Merkmale für die Erstellung des Dendrogramms verwendet werden.

Das Dendrogramm (Abb. 36) aus den genetischen Merkmalen zeigt eine deutliche Trennung in vier Gruppen und eine ersichtliche genetische Distanz für Herkunft 503 und dem Kontrollorganismus *Fusarium* spp.. Die isolierte Stellung von 503 wurde auf eine Unstabilität zurückgeführt und zeigt die Empfindlichkeit der Untersuchungsmethode. Zu erwarten war die entfernte Position von *Fusarium* im Dendrogramm, da es sich hier um eine andere Pilzgattung handelt. Gleichzeitig war auch die entfernte Position der Herkünfte von *S. minor* und *S. trifoliorum* im Dendrogramm wegen ihres Artunterschieds zu erwarten. Die entfernte Stellung der unbekannt Herkünfte 1946 gibt einen Hinweis auf die Verlässlichkeit der PCR-Methode. Hier war es sofort erkennbar, dass das Isolat 1946 der Art *S. trifoliorum* zugeordnet werden musste. Diese Zuordnung konnte auch in den Untersuchungen zur Aggressivität und der allgemeinen Charakterisierung der Herkünfte bestätigt werden, nach denen die Herkunft 1946 den Charakteristika von *S. trifoliorum* entsprach.

Als erste Schlussfolgerung zeigte es sich, dass mit der RAPD-PCR-Methode eine Aussage über die Zugehörigkeit unbekannter Herkünfte zur *Sclerotinia*-Art möglich ist. Auch unbekannte Herkünfte / Isolate lassen sich so vor einem Inokulationsversuch bereits einordnen, ohne vorher aufwendige Wirtspassagen durchzuführen.

Die Vermutung liegt nahe, dass Isolate, die aus einer Region gesammelt wurden, sich auch genetisch relativ ähnlich sind. Eine Vermischung des Erbgutes findet hier eher statt, als bei Herkünften / Isolaten, die aus weit entfernten Regionen stammen. Unter Umständen ist auch noch eine genetisch fixierte Anpassung auf regionale Besonderheiten möglich. Ein Vergleich der Genomuntersuchungen mit der geografischen Verteilung der Isolate zeigt, dass diese Vermutung, basierend auf den gemachten Untersuchungen, zutrifft.

Die größte Ähnlichkeit des Genoms zeigten die Herkünfte CD und CD2 aus Chengdu, China. Sie stammen aus dem gleichen Rapsanbaugebiet vom dem Versuchgut der

landwirtschaftlichen Akademie der Provinz Sichuan und wurden in zwei unterschiedlichen Versuchsjahren gesammelt. Betrachtet man hier auch die Herkünfte M05 und M08, die vom Versuchsgut Merklingsen der FH-SWF aus dem Jahr 2000 stammen, würde die Vermutung nahe liegen, dass diese Herkünfte auch im Dendrogramm zusammen stehen. Ähnliches trifft auch für die untersuchten Ascosporenlinien zu. Dies führt zu dem zweiten Schluss, dass es einen Zusammenhang zwischen der geografischen Herkunft der Herkünfte und der Ähnlichkeit des Genoms gibt.

Vergleicht man die Ergebnisse der Genomuntersuchung mit denen der Aggressivitäts-Untersuchungen (Läsionslänge) der einzelnen Herkünfte, kann jedoch keine Korrelation festgestellt werden.

4.3 Sortenreaktion von Winterraps auf den Befall von Weißstängeligkeit

Die Anfälligkeit von Winterrapsorten für *S. sclerotiorum* findet wegen des meist starken Befalls in vielen Rapsanbaugesieten und ihrer wirtschaftlichen Bedeutung besondere Beachtung. Von der Wirtseite her konnte keine Abwehrreaktion oder vorgebildete Eigenschaften (Resistenz) erwartet werden. Die Sorten, die vom Bundessortenamt bis 2003 aufgeführt wurden, sind als mittel (Note 4-5) bis stark (6-7) anfällig klassifiziert (Manthey, 2000; 2003).

Aus den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit geht hervor, dass es keine Sorten oder Linien gab, die eine Resistenz gegen *S. sclerotiorum* aufwiesen. Aber eine signifikante ausgeglichene Befallsstärke zwischen den Sorten und –Linien (Abb. 39) war auf der Basis der Läsionslängen im Blatttest und nach Zahnstocherinkokulation immer erkennbar.

Wie in der Abb. 38 erkennbar, zeigten sich die Sorten Nr.1, 2, 3, 7, 9, 13, 15, 16 und 17 als höher anfällig. Jedoch ist der in dieser Form messbare Unterschied zu den Sorten Nr. 6, 10 und 11, die hier geringer anfällig erscheinen, festzustellen.

Die grafischen Darstellungen der Mittelwerte des Befalls der in China gezüchteten 69 Rapslinien zeigt eine unterschiedliche Anfälligkeit für Weißstängeligkeit dergestalt, dass die Blattläsionen im Bereich von 22 mm bis 76 mm variieren (Abb. 37).

Dies weist daraufhin, dass die Sortenreaktion auf Weißstängeligkeit durch gezielte Züchtung, wie durch Auswahl der Zuchteltern und Anwendung moderner Technologien wie der Microsporenkultur-Methode (Liu and Xu, 2001), verbessert werden konnte (Abb. 37). In China gab es Winterrapsorten, wie Zhong You 821, die im letzten Jahre hohen Ertrag wie auch sehr geringen Befall von Weißstängeligkeit aufwiesen. Diese Aussage konnte die Ergebnisse von Wu (1999), Liu (1991) und Mullins (1999) bestätigen. 12 hoch-resistente Genotypen wurden aus einem chinesischen Genbankmaterial für die Gattung *Brassica napus*

gefunden (Wu, 1999). Ebenfalls wurde 1996 eine Quelle genetischer Resistenz gegenüber *Sclerotinia* in einer wilden Senf-Art (*Erucastrum gallicum* (Willd.)) von Lefol et al. (1997) gefunden. Außerdem wurde die Toleranz der Rapspflanzen durch Züchtung ohne Blütenblätter verbessert (Jiang und Becker, 2003).

In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, dass die Hybridsorte Artus eine signifikant höhere Anfälligkeit für Weißstängeligkeit als die Liniensorte Express im Labor wie auch im Feldversuch zeigte. Diese Tendenz konnte in einem Sortendemonstrationsversuch auf dem Versuchsgut Merklingsen 2002 von 14 untersuchten deutschen Rapssorten (Abb. 42) bestätigt werden.

Der Befall mit Weißstängeligkeit im Feld ist hauptsächlich vom Witterungsverlauf abhängig, da Sporenflug, Blüte und Feuchtigkeit optimal zusammentreffen müssen. Warmes, wechselfeuchtes Wetter vor und während der Blüte fördert einen starken Befall, hingegen verringern Trockenheit oder anhaltende Niederschläge den Sporenflug und somit den Befall (Brun, 1983).

Dies macht eine gezielte Sortenprüfung auf Resistenz gegen Weißstängeligkeit nach den Ergebnissen aus den Landessortenversuchen derzeit schwierig, da diese Prüfungen nur mit natürlichem Befall von *S. sclerotiorum* durchgeführt werden. Dennoch werden Sortenprüfungen auf der Basis von Feldversuchen mit natürlichem Befall herangezogen, um die Anfälligkeit für Weißstängeligkeit von Rapssorten in Deutschland zu ermitteln.

Um allerdings eine gesicherte Aussage über die Resistenz von Rapssorten und -linien gegenüber *S. sclerotiorum* treffen zu können, sollten die Prüfungen unter Anwendung gesicherter Inokulationstechniken erfolgen und die Ergebnisse der Feldversuche durch Laboruntersuchungen unterstützt und überprüft werden. Diese Prüfmethoden sind im Rahmen der vorliegenden Arbeit erarbeitet worden und geben die tatsächliche Situation im Hinblick auf Anfälligkeit / Resistenz an.

Die Ergebnisse aus den Laboruntersuchungen (Blatttest) stimmten mit den Ergebnissen aus den Felduntersuchungen (Zahnstocherinokulation, natürlicher Befall) im Hinblick auf Anfälligkeit und Sortenreaktion der untersuchten Rapssorten überein.

4.4 Bekämpfung von Weißstängeligkeit mit Fungiziden

4.4.1 Hemmwirkung der Fungizide auf das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum* in vitro

Caramba ist ein breitwirksames, Fungizid für den Raps- und Getreideanbau mit systemischen Eigenschaften. Der Wirkstoff Metconazol dringt sehr schnell in die Pflanze ein und wird akropetal mit dem Saftstrom verteilt. Einmal in die Pflanze eingedrungen ist der Wirkstoff vor

nachfolgendem Regen geschützt. Caramba wirkt sowohl vorbeugend als auch bei beginnendem Befall. Die Ausbreitung schon vorhandener Infektionen wird verhindert.

Im Raps zeigt Caramba neben sehr guten fungiziden Effekten herausragende Aktivitäten als Wachstumsregler (Grayson, 1995, Sampson, 1995).

Cantus mit seinem neuartigen Wirkstoff Boscalid gehört zu der neuen Wirkstoffklasse der Carboxanilide und besitzt einen einzigartigen Wirkungsmechanismus. Herkömmliche Fungizide greifen oft nur an untergeordneten Stellen im Stoffwechsel der Pilze ein. Da diese aber häufig über mehrere Möglichkeiten verfügen, bei sich ändernden Bedingungen ihre Stoffwechselprozesse umzusteuern, wird das Wachstum der Pilze nur kurzzeitig unterbrochen. Nach der Umstellung des Stoffwechsels geht das Pilzwachstum ungehindert weiter. Ganz anders die Wirkungsweise von Cantus. Sein Wirkungsmechanismus setzt an einem zentralen Ort im Pilz an, und zwar dort, wo der Tricarbonsäurezyklus (TCA-Zyklus) und die Atmungskette unmittelbar verzahnt sind. Die Aufnahme und Verteilung des Wirkstoffs Boscalid zeichnet sich durch eine mittlere Wasser- und Fettlöslichkeit aus. Diese Eigenschaften sind wichtig für die Aufnahme und systemische Verteilung von Boscalid in der Pflanze. Ein Teil des applizierten Wirkstoffs durchdringt das Blattgewebe und schützt auch die Unterseite der Blätter, ein anderer Teil wird im Xylem acropetal, d. h. mit dem Saftstrom, zu den Blattspitzen bzw. zu höher gelegenen Pflanzenteilen verlagert. Hierdurch erhalten auch die nicht direkt von der Spritzbrühe getroffenen Pflanzenteile einen umfassenden fungiziden Schutz.

Die lang anhaltende Wirkungsdauer von Cantus beruht auf den Wirkstoffdepots, die sich nach der Spritzung in den Blattachsen bilden. Aus diesen Depots wird Cantus nach und nach freigesetzt. Im Xylem der Pflanze wandert ein Teil des Wirkstoffs in die Blattspitze. Ein anderer Teil gelangt in den Stängel und weiter hinauf in die höheren Etagen. Dadurch entsteht ein umfassender Schutz aller gefährdeten Pflanzenteile.

Mit Hilfe des Agarplatten-Tests wurde die Wirkung der Fungizide Caramba, Cantus und Folicur auf das Mycelwachstum von drei *S. sclerotiorum*-Herkünften (M01, MZ und F506) in vitro überprüft.

Die Berechnung der in den in vitro Tests verwendeten Wirkstoffkonzentrationen erfolgte auf der Grundlage des Wirkstoffgehalts im jeweiligen Produkt. So konnte die Leistung der einzelnen Wirkstoffe direkt miteinander verglichen werden.

In den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit traten Unterschiede zwischen den verwendeten *S. sclerotiorum*-Herkünften im Hinblick auf die Hemmwirkung der Fungizide auf.

Das Produkt Caramba erwies sich in einer Wirkstoffkonzentration von 1 ppm effektiver als die anderen eingesetzten Präparate in gleicher Wirkstoffkonzentration, so wurde das Wachstum selbst bei dem weniger empfindlichen Isolat M01 innerhalb von 6 Tagen um 84% reduziert.

Das seit März 2003 zugelassene Fungizid Cantus erreichte im Agarplatten-Test nach 10 Tagen keine zufrieden stellende Ergebnisse hinsichtlich seiner Hemmwirkung auf das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum*, wenn die Konzentrationen über 10 ppm waren. Im Vergleich mit den Produkten Folicur und Caramba wies Cantus die geringste Hemmwirkung auf.

Bei der Betrachtung der Wirksamkeit des Fungizids Cantus fällt auf, dass die Wirkstoffkonzentration 100 ppm keine höhere Hemmwirkung auf das Mycelwachstum ausübte als die Konzentrationen 10 ppm und 50 ppm. Zwei Herkünfte MZ und 504 wiesen sogar ein ausgeprägteres Mycelwachstum bei 100 ppm Wirkstoffkonzentration auf als bei 10 ppm und 50 ppm. Diese Feststellung könnte darauf beruhen, dass die Begleitstoffe oder Hilfsmittel im Produkt ab einer bestimmten Konzentration im Test das Wachstum von *S. sclerotiorum* förderten und dies die erwünschte hemmende Wirkung des eigentlichen Wirkstoffes überdeckte. Es gibt außer dem Wirkstoff Boscalid einen zusätzlichen physiologischen Effekt (greening Effekt) von Cantus (BASF, 2003). Um dieser Hypothese mit dem zusätzlichen Stoff weiter nachzugehen, müssen weitere Untersuchungen mit den Einzelkomponenten des Produktes hinsichtlich ihrer Wirkung auf das Mycelwachstum von *S. sclerotiorum* durchgeführt werden.

Im Hinblick auf die Ascosporenkeimung zeigte sich eine deutliche Überlegenheit des Fungizids Cantus, welches auch in geringer Konzentration (0,5 ppm Wirkstoff auf Präparatbasis) eine 81,9 %ige Hemmung der Ascosporenkeimung bewirkte. Allerdings zeigten auch die Ergebnisse der Ascosporenkeimung in Fungizidsuspension für das Produkt Cantus bei einer sehr hohen Konzentration von 100 ppm, ähnlich wie bereits bei den Untersuchungen zum Mycelwachstum festgestellt (s.o.), dass hier keine vollständige Hemmung sondern eine Keimung von 0,7 % der Ascosporen zu beobachten war.

Vergleicht man den Effekt der Fungizide auf Mycelwachstum und Ascosporenkeimung so fällt auf, dass die Fungizide unterschiedlich auf Mycel bzw. Ascosporen wirken. So zeigte sich beim Einsatz von Cantus, dass die gleiche Konzentration, welche die Keimung der Ascosporen vollständig verhinderte (hier 10 ppm), nur einen sehr geringen reduzierenden Effekt auf das Mycelwachstum hatte.

Im Falle der Triazolfungizide stellte sich der Effekt der Wirkstoffe umgekehrt dar. Wurde das Mycelwachstum, z.B. von Isolat M01, durch Caramba bei einer Wirkstoffkonzentration von 1

ppm nach 4 Tagen fast vollständig gehemmt, so konnte die Ascosporenkeimung erst ab einer Wirkstoffkonzentration von 100 ppm vollständig verhindert werden. Ähnliche Ergebnisse erzielte das Produkt Folicur.

4.4.2 Hemmwirkung der Fungizide auf *S. sclerotiorum* im DLT

Im Test auf protektive Wirkung der Fungizide gegen den Weißstängeligenbefall auf Blättern der Liniensorte Express und Hybridsorte Artus erwies sich das Produkt Cantus als hochwirksam. Die hemmende Wirkung der Produkte Caramba und Folicur war bei einer Behandlung 96 h vor Inokulation im Einzelblatt-Test (Detached-leaf-test, DLT) jedoch signifikant reduziert im Vergleich zur Kontrolle.

Der Test auf kurative Wirkung der Fungizide zeigte eine deutliche Abhängigkeit der Wirksamkeit einer Behandlung vom Zeitpunkt, an dem die Behandlung durchgeführt wurde (Abb. 46, 48). Eine Behandlung mit den Fungiziden Folicur, Caramba und Cantus in einer Konzentration von 50 %, 75 % und 100 % der empfohlenen Aufwandmenge 24 h nach der Inokulation verhinderte eine Infektion des Blattmaterials durch *S. sclerotiorum* fast vollständig. Die sehr gute Wirkung der Fungizide bei einer Behandlung 24 h nach der Inokulation lässt sich dadurch erklären, dass vermutlich eine erfolgreiche Infektion des Blattmaterials durch das Inokulum zu diesem Zeitpunkt noch nicht stattgefunden hatte, oder sich in einem sehr frühen Stadium befand, welches eine hohe Anfälligkeit gegen die eingesetzten Wirkstoffe bedingte.

Wurde die Behandlung 96 h nach der Inokulation durchgeführt so konnte keines der verwendeten Fungizide die fortgeschrittene Infektion stoppen. Das neue Produkt Cantus zeigte in dieser Variante die eindeutig beste Wirkung, da es die Ausbreitung der Läsionen um 50% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle reduzieren konnte. Die Produkte Caramba und Folicur wiesen hier die geringste Wirksamkeit auf.

Die nachlassende Wirkung der Fungizide Folicur, Caramba und Cantus bei einer kurativen Behandlung 96 h nach Inokulation wurde auch in Untersuchungen mit dem Pilz *S. sclerotiorum* durch Liu et al. (2002) und Paul et al. (2003) bestätigt. Jedoch waren die Fungizide Folicur, Caramba und Cantus in der Lage, die Ausbreitung der Läsionen, verursacht durch den Erreger *S. sclerotiorum*, noch um mehr als 50% in Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (bei 14°C Kulturtemperatur) einzuschränken.

Eine Einschränkung der Aufwandmenge auf 75 % der empfohlenen Aufwandmenge brachte bei einer protektiven und frühen kurativen Behandlung mit allen geprüften Fungiziden keinen Wirkungsverlust mit sich. Bei einer späten kurativen Behandlung (96 h nach Inokulation)

zeigte sich bei den Produkten Caramba und Folicur ein geringer Wirkungsverlust durch eine Einschränkung der Aufwandmenge.

Aufgrund der Forderungen des Umweltschutzes nach möglichst geringem Chemikalieneintrag in die Umwelt wäre also zu prüfen, ob eine Reduzierung der Aufwandmenge in der Praxis angebracht ist. Jedoch ist zu beachten, dass eine Reduzierung der Aufwandmenge immer das Risiko einer Resistenzbildung beim Schaderreger in sich birgt. In den Untersuchungen der vorliegenden Feldversuche konnte nachgewiesen werden, dass eine Behandlung mit den Fungiziden Caramba und Folicur in voller Aufwandmenge immer die beste Wirkung auf den Befall mit Weißstängeligkeit und somit höhere Rapsertträge zu Folge hatte (Abb. 53).

Die Ergebnisse aus den Laboruntersuchungen zeigten eine positive protektive und kurative Wirkung von Caramba und Cantus auf den Befall mit Weißstängeligkeit. Es wurde festgestellt, dass beide Fungizide, insbesondere das Fungizid Cantus eine gute Wirkung auf Weißstängeligkeit zeigte. Dies galt besonders für den Einsatztermin 5 Tage vor bzw. 4 Tage nach der Inokulation unter kontrollierten Bedingungen.

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit mit *S. sclerotiorum* lassen den Schluss zu, dass eine im Rapsanbau standardmäßig durchgeführte Behandlung gegen Weißstängeligkeit durchaus einen sehr effizienten Schutz vor einer Infektion durch *S. sclerotiorum* bieten kann. Schließlich ist zu sagen, dass sich die Ausprägung der Schadsymptome unter kontrollierten Bedingungen gut mit den in dieser Arbeit geprüften, im Rapsanbau eingesetzten Fungiziden durch eine rechtzeitige Behandlung verhindern bzw. einschränken lässt. Diese unter kontrollierten Bedingungen gewonnenen Ergebnisse und Aussagen dieser Arbeit korrelieren gut mit den Ergebnissen aus vierjährigen Freilandversuchen.

4.4.3 Bekämpfung von Weißstängeligkeit im Feldversuch

In Deutschland ist im Rapsanbau beim Befall mit Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) als auch beim Befall mit Wurzelhals- und Stängelfäule in den letzten Jahren ein klarer Trend zur Zunahme zu erkennen. Besonders stark betroffen sind Regionen mit langjährigem intensivem Anbau, wo Befallshäufigkeiten von deutlich über 30 % keine Seltenheit mehr sind. Unter solchen Befallsbedingungen muss eine *Sclerotinia*-Bekämpfung mit Fungiziden zur Blüte erwogen werden. Dennoch ergab eine unlängst erarbeitete Studie, dass eine Fungizidbehandlung gegen Weißstängeligkeit zur Blüte nur zu etwa 33 % wirtschaftlich war (von Tiedeman, 2004).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen darauf hin, dass ein Risiko des Befalls von *S. sclerotiorum* im Feld immer dann besteht, wenn genügend Inokulum von *S. sclerotiorum* vorhanden und die Witterung befallsfördernd ist.

Das Wetter im Frühling 2002 war nicht geeignet für den Befall von Weißstängeligkeit wegen des zu geringen Niederschlags. Allerdings konnte ein ausreichender Befall durch künstliche Inokulation erreicht werden.

Für die Versuchsfrage wurden die zu der damalige Zeit am häufigsten angebaute Sorte Express mit zwei Fungiziden, vier Einsatzterminen und 3 Konzentrationen 2000 und 2001 ausgewählt. Die Krankheit Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) trat 2000 auf der Versuchsfläche während der Blütezeit sehr stark, 2001 hingegen sehr gering auf.

Die Ergebnisse 2000 zeigten, dass alle in den Blüten behandelten Varianten (Var. 7, 8, 9, 12, 13) den Befall ersichtlich reduzieren konnten.

Die Ernteerträge aller Blütenapplikationen (4 bis 9 und 11 bis 13) von beiden Jahren erreichten eine abgesicherte Steigerung (Abb. 53 und 54).

Für die Versuchsfrage 2002 wurden die Hybridsorte Artus und Liniensorten Express mit drei Fungiziden, vier Einsatzterminen und sechs Kombinationen ausgewählt. Die Krankheit Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) trat 2002 auf der Versuchsfläche in der Blütezeit sehr gering auf. Durch Ascosporeninokulation während der Blüte wurde die Befallshäufigkeit von Weißstängeligkeit vor der Ernte sehr deutlich erhöht (Tab. 43 und 44).

Speziell die Variante 4 zeigte bei beiden Sorten einen höchst signifikanten völlig schützenden Effekt. Alle Blütenapplikationen bei der Sorte Artus und Express zeigten einen signifikanten Effekt im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Fungizidapplikationen von Caramba mit Cantus zum Blühbeginn (Var. 2 und 4) zeigten eine bessere Wirkung.

Ein ersichtlicher Unterschied des *Sclerotinia*-Befalls fiel hier zwischen den Sorten auf. Die Sorte Artus zeigte eine höhere Befallshäufigkeit (31,3%) als die Sorte Express (13,8%). Besonders wurde in diesem Jahr die Fungizidwirkung gegen Weißstängeligkeit durch zusätzlich Zahnstocherinokulation ermittelt. Wie die Abb. 55 zeigt, fällt zunächst der höchst signifikante Unterschied im Befall auf der Basis der Läsionslänge der Sorten auf.

Obwohl die Fungizide nicht direkt alle Inokulationspunkte am Hauptstängel (durch Inokulation mit Zahnstocher) bei der Behandlung erreichen konnten (Laubwerk als Schirm lenkte die Spritzbrühe ab), erwiesen sich die Ergebnisse aus allen Behandlungsvarianten als befallsreduzierend. Dieser Effekt zeigte sich bei Express deutlicher als bei Artus, obwohl Artus sich im Gesamtbefall stärker zeigte.

Speziell die Variante 4 (Sorte Artus) zeigte einen höchst signifikant schützenden Effekt und erwies sich auch bei der Sorte Express als die tendenziell effektivste Variante. Aber auch die Varianten 1, 2, 3 und 7 (bei Artus und Express) zeigten eine deutliche Reduzierung des Schadbildes im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle.

Der hoch signifikante Effekt von Caramba plus Cantus (Var.1, 2, 3 und 4 in Blüte) fiel besonders bei der Sorte Artus im Vergleich zur Wirkung der reinen Folicur-Varianten auf.

Die Versuchsfrage wurde in 2002/2003 auf drei Sorten mit guter Standfestigkeit, drei Beizungen und zwei Fungizide mit sechs Einsatzterminen eingesetzt. Die Krankheit Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) trat 2003 auf der Versuchsfläche in starkem Umfang auf. Das Apothecienvorkommen setzte kurz vor Blühbeginn ein, Neuzuwachs war bis Blühende (BBCH 70) zu erkennen. Der Befall in der Kontrolle im BBCH 68-70 lag zwischen 11.3 bis 25% befallener Pflanzen. Zur diesen Boniturtermin konnte nur bei Blütenapplikationen bzw. in Vollblüte (BBCH 65) mit Cantus (F5) ein deutlich geringerer *Sclerotinia*-Befall gesehen werden.

Für den Befall mit Weißstängeligkeit vor Ernte (BBCH 87-88) zeigte sich mit der relativ hohen Grenzdifferenz von 14,0 mit $p \leq 5\%$ ein deutlicher Effekt der Fungizidvarianten. Im Hinblick auf die Fungizidvarianten waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Blütenbehandlungen (F4, F5 und F6) feststellbar. Aber die Vollblütenbehandlung mit Cantus (F5) zeigte einen hoch signifikant ($p \leq 1\%$) geringeren Befall in allen Fällen als die Behandlungsvarianten F2 und F3.

Tendenziell führten alle Behandlungsvarianten zu geringerem Befall in Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Insbesondere die Blütenapplikationen F4, F6 (BBCH 61) und F5 (BBCH 65) zeigten einen signifikant positiven Effekt wobei die Variante F5 (Cantusbehandlung in Vollblüte) den Befall unter 5 % mit hoher Signifikanz reduzieren konnte. Bei der Sorte 1 mit Beize 1 (S1B1F5) konnte der Befall durch Cantus-Applikation in Vollblüte völlig vermieden werden. Dies wies darauf hin, dass der Einsatztermin mit Cantus in Vollblüte (BBCH 65) einen optimalen Effekt gegen Weißstängeligkeitbefall hatte.

Hier wurde noch mal bestätigt, dass in allen Varianten hohe Mehrerträge erreicht wurden, die gegenüber der unbehandelten Kontrolle statistisch abgesichert werden konnten.

Bei der Stoppelnbonitur wurde festgestellt, dass die Pflanzen durch Blütenapplikationen in allen Fällen bis zur Ernte auch signifikant vitaler waren. Da die Blütenbehandlungen (F4, F5 und F6) signifikant mehr lebende Pflanzen und weniger Befallene hatten.

Die vorliegenden Ergebnisse der 4-jährigen Feldversuche wiesen darauf hin, dass die Erträge aller Varianten durch Einsatz der Fungiziden im Vergleich zur nicht behandelten Variante (Kontrolle) sehr deutlich und signifikant erhöht werden konnten. Auffällig war die Verbesserung der Erträge durch Fungizideinsatz im Zeitraum der Rapsblüte (BBCH 61-65). Außerdem wurde festgestellt, dass ein sehr geringer Befall von Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) durch Fungizideinsatz in der Blüte (BBCH 61-65), insbesondere zum Einsatztermin Vollblüte (BBCH 65) erreicht werden konnte. Dieser Effekt wurde

insbesondere durch die Untersuchungen aus dem Jahr 2002 nach Anwendung zusätzlicher Zahnstocherinjektion sicher bestätigt (Abb. 55).

Der Fungizideinsatz in der Rapsblüte konnte den Befall durch Krankheiten wie Weißstängeligkeit, Wurzelhals- und Stängelfäule, Grauschimmelfäule, Cylindrosporiose, Rapsschwärze und Falschen Mehltau deutlich verringern.

Daher wurde auf der Basis von vierjährigen Blattfungizidversuchen im Feld das folgende geschlussfolgert:

- Die besten Wirkungsgrade in der Krankheitsbekämpfung gegen Weißstängeligkeit wurden bei allen Infektionsbedingungen zur Vollblüte (BBCH 61-65) erzielt.
- Der Befall auch mit geringerer Befallshäufigkeit (wie in 2001) ist deutlich ertragsrelevant und Bekämpfungsmaßnahmen in der Blüte sind wirtschaftlich.
- Die Ertragsabsicherung zur Blüte (BBCH 61-65) durch Fungizideinsatz resultierte in 5,1 bis 11,4 dt/ha Mehrertrag im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle.
- Zwischen den Präparaten Caramba und Cantus gab es bei Einsatz in der Vollblüte (BBCH 65) statistisch gesicherte Unterschiede. Das neue Fungizid Cantus hat sich gut bewährt und kann den Befall mit Weißstängeligkeit bei Einsatz in der Vollblüte (BBCH 65) und Blütebeginn (BBCH 61) sicher verhindern.
- Eine Bekämpfungsmaßnahme gegen Weißstängeligkeit bzw. Wurzelhals- und Stängelfäule wurde durch viermalige Applikationskombination von Caramba und Cantus in Herbst, Frühjahr, Blühbeginn und Vollblüte von vierjährigen Feldversuchen erzielt.
- Durch Anwendung von Fungiziden konnten die Wurzellänge und -Dicke verstärkt werden. Außerdem wurden die Pflanzenmorphologie wie Anzahl der Schoten, Zweittriebe und die Körner verbessert.
- Das Symptom von Weißstängeligkeit kam meistens nach Blühende vor. Die Applikationen der Fungizide sind sehr schwer nach Prognose in der Blüte einzusetzen.

4.4.4 Biologische Bekämpfung der Weißstängeligkeit

Im intensiven Anbau von Winterraps werden jährlich mehrere Millionen Euro zur Bekämpfung der Weißstängeligkeit ausgegeben. Zu diesem Zweck sind in Deutschland verschiedene synthetische Fungizide wie Konker, Folicur, Caramba, Cantus für eine Blütenbehandlung zugelassen.

Eine Blütenbehandlung zum Zeitpunkt der Vollblüte hat sich als guter Durchschnittstermin für eine zufrieden stellende Bekämpfung der Weißstängeligkeit herausgestellt. In den meisten Fällen führt ein geringer Befall kurzfristig zwar zu keiner Verminderung der Erträge, dieser Restbefall hat aber immer einen Eintrag von Sclerotien in den Boden zur Folge. Da die

Sclerotien bis zu 10 Jahre im Boden überdauern können, steigt langfristig die Bodenverseuchung mit Sclerotien von Rapsanbau zu Rapsanbau.

Sind dann, wie zum Beispiel im Jahr 2001, die Infektionsbedingungen für den Krankheitserreger günstig, kann durch eine Blütenbehandlung ein Stängelbefall nur unzureichend und ein Wurzelbefall überhaupt nicht verhindert werden (Quentin, 2004).

Um den Befall von Weißstängeligkeit jährlich sicher zu bekämpfen bedarf es eine zusätzliche Bekämpfungsstrategie zum Abbau der Sclerotien in Ernterückständen durch Anwendung des Bodenpilzes *Coniothyrium minitans*.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeiten zeigen, dass der hyperparasitische Bodenpilz *C. minitans* in Laboruntersuchungen in vitro die Sclerotien von *S. sclerotiorum* überwächst und die Sclerotien in einem Zeitraum von einem bis drei Monaten abtötet. Nach Lüth (1992) wird so die Bildung von Apothecien und Ascosporen verhindert und somit der Weg der Neuinfektion im Feld unterbrochen.

In einem zweijährigen Feldversuch (in Jahre 2001/2002 und 2002/03) wurden auch in vivo die Sclerotien durch *C. minitans* abgetötet und die Apothecienbildung zur Blüte (BBCH 65-70) von 46 bis 65 Apothecien in der Kontrolle auf 0 bis 5 Apothecien pro Quadratmeter in der behandelten Parzelle deutlich reduziert.

Durch eine Behandlung befallener Ernterückstände mit dem Pilz *C. minitans* wird eine Neuverseuchung der Böden mit Sclerotien verhindert und damit kann die Ursache der Krankheit bekämpft werden, bevor sie sich in Boden anreichert. Damit wird der Befall mit Weißstängeligkeit langfristig und nachhaltig auf einem niedrigen Niveau gehalten.

Die Möglichkeit zur Bekämpfung der Weißstängeligkeit durch Anwendung von *C. minitans* steht theoretisch zur Verfügung (Grendene, 1999, von Tiedemann, 2000). Leider ist die Bekämpfung durch Anwendung von *C. minitans* allein in der Praxis zurzeit bedingt durch die Übertragung von Ascosporen über längere Strecken und zu viele andere natürlich vorkommende Wirtspflanzen für *S. sclerotiorum* nicht praxisgerecht. Ohne den Einsatz von Fungiziden besteht für den Raps immer die Gefahr von Weißstängeligkeit befallen zu werden. Außerdem wird die Behandlung zur Bekämpfung von Rapsschwärze (*Alternaria brassicae*), Grauschimmel (*Botrytis cinerea*) und Cylindrosporiose (*Cylindrosporium concentricum*) sowie zur Erhöhung der Platzfestigkeit der Schoten und damit der Absicherung der Ernteerträge eine Blütenbehandlung auch in Zukunft ihre Berechtigung haben. Somit wird eine Fungizidbehandlung nicht ausschließlich zur Bekämpfung der Weißstängeligkeit, jedoch besonders bei hoher Infektionswahrscheinlichkeit, weiterhin notwendig bleiben, obwohl negative Auswirkungen auf *C. minitans* zu erwarten sind (Abb. 51).

Die Einsatztermine der Fungizide sind nach der Prognose von Ascosporen sowie durch Ascosporenfalle, Blüteblatttest usw. in Rapsblüte machbar (Ahlers, 1986; Turkington, 1999; Friesland, 2000; McCartney, 2001). Aber die Validierung der Prognosemodelle gegen *S. sclerotiorum* ergab keine ausreichende Vorhersagegenauigkeit bzw. ein Prognosemodell zur Vorhersage des *Sclerotinia*-Befalls konnte bis heute nicht praxisreif für den Rapsanbau zur Verfügung gestellt werden, weil die Vorhersage auf Ascosporen basiert. Die Ursache dafür liegt in den Witterungsbedingungen, denn der Sporenflug des Pilzes, die Rapsblüte und die Feuchtigkeit müssen für eine Infektion optimal zusammentreffen. Vierjährige Feldversuche stellten fest, dass der natürliche Befall nach der Blüte zu sehen ist und der Fungizideinsatz mit Caramba und Cantus in Blüte immer empfohlen werden soll. Die Anwendung von Caramba und Cantus verbesserte Erträge auch ohne Befall von Weißstängeligkeit (Versuchsjahr 2000/2001), weil Triazole sowohl fungizide Wirkung auf andere Pathogene als auch physiologische Effekte (wie Lagerneigung) haben (Paul et al 2003; Dapprich et al 2002). Um höheren Rapsertag zu sichern ist die Fungizidbehandlung im Herbst bzw. Frühling mit Caramba und in der Rapsblüte mit Cantus gegen Wurzelhals- und Stängelfäule, Weißstängeligkeit und anderen Krankheiten zu empfehlen. Die vorliegenden 4-jährigen Feldversuche hatten diese Fungizidbehandlungstermine als effektiv abgesichert.

5 Zusammenfassung

Der Erreger der Weißstängeligkeit, *Sclerotinia sclerotiorum*, ist in den letzten Jahren zum wichtigsten und gefährlichsten Schadpilz im Rapsanbau geworden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es:

- 1). die Variabilität von *S. sclerotiorum* zu untersuchen,
- 2). praktikable Methoden für die Selektion auf Resistenzeigenschaften von Rapssorten gegen *S. sclerotiorum* zu entwickeln bzw. zu optimieren,
- 3). den gezielten Einsatz aktueller Rapsfungizide (Cantus, Caramba und Folicur) im Hinblick auf Aufwandmengen, Termine und deren Effektivität im Winterraps zu ermitteln und ggf. zu optimieren. Dabei sollten biologische Bekämpfungsmöglichkeiten mitberücksichtigt werden.

Die Erfassung der **Variabilität** von *Sclerotinia*-Herkünften erfolgte mit verschiedenen Parametern.

Zunächst konnten die *Sclerotinia*-Herkünfte in vitro anhand der Sclerotienbildung in Agar-Kulturen (PDA), der Sclerotienkeimung und der Apothecienbildung unterschieden werden. Auch die Wachstumsgeschwindigkeit des Mycels in vitro sowie das Gewicht der gebildeten Sclerotien dienten zur Unterscheidung der Herkünfte.

Die Herkünfte, die aus einem Gebiet mit geringem *Sclerotinia*-Befall stammten, zeigten allgemein eine schwache Aggressivität und langsames Mycelwachstum.

Die Untersuchung der genetischen Eigenschaften von 42 *Sclerotinia*-Herkünften erfolgte mit der RAPD-PCR-Methode. Diese Methode ergab eine zuverlässige Aussage über die Zugehörigkeit unbekannter Herkünfte von *Sclerotinia*-Arten. Weiterhin wurde zwischen der geografischen Herkunft der *S. sclerotiorum*-Herkünfte und dem Genom, d.h. dem PCR-Bandenmuster eine hohe Korrelation festgestellt.

Eine weitere Methode zur Erfassung der Unterschiede der verschiedenen *S. sclerotiorum*-Herkünfte erfolgte auf der Basis des Ausmaßes der Läsionen im Blatt-Test in der Klimakammer einerseits und dem Ausmaß (Länge) der Läsionen am Rapsstängel im Feld nach Zahnstocherinokulation, andererseits. Durch den Vergleich der Läsionsgrößen konnte eine unterschiedliche Aggressivität der unterschiedlichen Herkünfte reproduzierbar erfasst werden.

Im Labor und Feld wurden 42 *Sclerotinia*-Herkünfte im Hinblick auf ihre Aggressivität untersucht und in 3 Gruppen unterteilt: 13 der 42 Herkünfte wurden als sehr stark, 23 als mittel bis stark und 6 als sehr schwach aggressiv eingestuft.

Es wurden ein **Labor-Blatt-Test** weiter entwickelt und optimiert, mit der die Anfälligkeit von Winterrapsorten für *S. sclerotiorum* klar erfasst werden können. Diese Methode eignet sich ebenfalls für die Unterscheidung unterschiedlicher Aggressivität von *S. sclerotiorum*-Herkünften. Mit der Feld-Zahnstochermethode konnten die Ergebnisse des Labortests mit einer Korrelation von 0,841 bestätigt werden.

Der **Sortenversuch** zur Prüfung der Anfälligkeit für *S. sclerotiorum* ergab ein höheres Toleranzniveau der Liniensorten (z.B. Sorte Express) im Vergleich zu Hybridsorten (z.B. Sorte Artus). Die Ergebnisse aus den Laboruntersuchungen (DLT) stimmten dabei mit den Ergebnissen aus den Felduntersuchungen (Zahnstocherinokulation, natürlicher Befall) im Hinblick auf Anfälligkeit und Sortenreaktion der untersuchten Winterrapsorten überein.

Differenzierte **Fungizidapplikationen** von Cantus, Caramba, und Folicur sowie deren Kombinationen im Herbst, Frühjahr und zur Blüte (Beginn und Vollblüte) wurden hinsichtlich der Befallskontrolle und Ernteverluste untersucht. Weiterhin wurden Veränderungen auf die Pflanzenmorphogenese (Wurzel- und Sprosslänge, Lagerneigung, Schotenbildung) untersucht. Die Untersuchungen umfassten im Rahmen integrierter Pflanzenschutzverfahren die Prüfung zeitlich unterschiedlich terminierter Fungizidanwendungen, sowie im Rahmen eines Sortenversuchs die Erfassung des Einflusses des Genotyps und der Beizungen auf Krankheiten und Ertragsleistung.

Die Weißstängeligkeit trat meistens nach Blütenfall auf und wurde insbesondere durch die Witterungsparameter Niederschlag und Temperatur beeinflusst.

Ein verstärkter Befall der Weißstängeligkeit (*S. sclerotiorum*) konnte durch künstliche Infektion gewährleistet werden. Fungizidapplikationen zum Zeitpunkt der Vollblüte (BBCH 65) bewirkten deutliche Effekte, wobei eine Doppelbehandlung (zusätzlich BBCH 61) die befallsreduzierenden Effekte auf Blättern und Haupttriebe erhöhte. Der Sortenvergleich ergab deutliche Unterschiede im Anfälligkeitsgrad für Weißstängeligkeit, die den Angaben der Beschreibenden Bundessortenliste entsprachen. Wachstumsregulatorische Effekte (Sprossachseneinkürzung, verringerte Lagerneigung) traten sowohl nach Herbst- als auch nach Frühjahrsbehandlungen ein.

Die Ausprägung der Schadsymptome unter kontrollierten Bedingungen ließ sich gut mit den in dieser Arbeit geprüften Rapsfungiziden durch eine rechtzeitige Behandlung verhindern bzw. einschränken. Laboruntersuchungen zur Optimierung des Einsatzes von Fungiziden zeigten, dass eine unterschiedliche positive protektive und kurative Wirkungsdauer von Caramba (Metconazol), Folicur (Tebuconazol) und Cantus (Boscalid) gegen den Befall mit

Weißstängeligkeit besteht. Dies wurde im DLT für den Einsatztermin 5 Tage vor bzw. 4 Tage nach der Inokulation festgestellt. In vitro-Untersuchungen zeigten, dass das Produkt Cantus eine bessere Hemmwirkung auf die Keimung von Ascosporen bei niedrigen Wirkstoffkonzentrationen (ab 0,5 ppm) hatte als die Produkte Caramba und Folicur (ab 10 ppm). Auch diese unter kontrollierten Bedingungen erzielten Ergebnisse und Aussagen korrelieren gut mit den Ergebnissen aus den vierjährigen Freilanduntersuchungen.

Maßnahmen zur biologischen Bekämpfung der Weißstängeligkeit wurden ebenfalls untersucht. Eine erfolgreiche Verhinderung der Apothecienbildung aus Sclerotien durch den parasitischen Pilz *Coniothyrium minitans* wurde in Labor und auch in einem zweijährigen Feldversuch festgestellt.

In den Feldversuchen bewirkten alle Fungizidvarianten im Mittel der Versuche signifikante Ertragssteigerungen im Vergleich zur unbehandelten Kontrollvariante. Erzielte Ertragssteigerungen sind einerseits auf die Reduktion der Pilzkrankheiten, andererseits auf induzierte pflanzenmorphologische Effekte zurückzuführen.

6 Summery

Studies on the variability of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, causal agent of Stem Rot on Oilseed Rape (*Brassica napus* L.), with special regard to the infection biology, cultivar susceptibility and its control

The main goals of this study were:

- 1) to examine the variability of *S. sclerotiorum*,
- 2) to develop and to optimize practicable methods for the selection on resistance characteristics of oilseed rape cultivars against *S. sclerotiorum*,
- 3) to determine and optimize the application dosage, time, combination of three different fungicides (Cantus, Caramba and Folicur) and their effect,
- 4) to examine the possibility to control the stem rot of oilseed rape biologically by

Coniothyrium minitans.

The following parameters of the variability of the different isolates were examined.

- 1) the mycelial growth rate,
- 2) the sclerotium number, size and germination time,
- 3) the apothecial formation.

These parameters were examined on 42 *S. sclerotiorum* strains *in vitro*. The results showed that the growth rate of the mycelia *in vitro* as well as the quantity of the sclerotia was correlated with the aggressiveness of the strains. Strains, which originated from an area with little disease frequency, generally had a weak aggressiveness and a slow mycelial growth performance.

Furthermore, DNA fingerprints were used for analysing the genetic characteristics of the 42 *Sclerotinia* strains. The results showed that with the RAPD PCR method, it was possible to exactly predict the affiliation of unknown strains, which did not belong to the strain of *Sclerotinia sclerotiorum* being analysed. There was a strong correlation between geographical origination of *Sclerotinia* strains and their genetic background, i.e. their PCR DNA band muster.

Another method for determining differences between the various strains of *Sclerotinia* was developed on the basis of lesion sizes after inoculation. The lesion sizes after inoculation on detached leaves (DLT) was compared to the lesion sizes of toothpick inoculation in the field.

The aggressiveness of the different isolates could be reproducibly measured through comparative examinations of the lesion sizes.

The 42 *Sclerotinia* strains were divided in three groups regarding their aggressiveness:

- 1) 13 strains, very strong,
- 2) 23 strains, middle to strong,
- 3) 6 strains, very weak.

The DLT method to test the variability of the fungus and the cultivar susceptibility was developed further and optimized. This method is also suitable for the determination of the variability of aggressiveness in different *Sclerotinia* strains. The results in the laboratory with DLT could be confirmed with a correlation of 0,841 with the results by the toothpick inoculation in the field.

The investigation on cultivar susceptibility against stem rot caused by *S. sclerotiorum*, showed a higher tolerance level in line varieties (e.g. Express) compared with hybrid varieties (e.g. Artus). The results from the laboratory tests (DLT) in regard to susceptibility and cultivar reaction of the examined winter oilseed rape cultivars were in accord with the results from the field infections (toothpick inoculation, natural infection).

Differentiated fungicide applications in autumn, spring and flowering time using Cantus, Caramba and Folicur, as well as combinations thereof, of oilseed rape were tested in regard to infections and yield loss. Furthermore, changes on plant morphology (shoot and root length, plant lodge and pod formation) were investigated. With regard to integrated plant protection, the investigations included the examination of different application times of fungicides, as well as the influence of the genotypes and different seed dressings on plant diseases and yield achievement. Stem rot occurred most often at the end of flowering (flower loss) and was influenced most by weather factors (rain and temperature). Stronger infections with stem rot could be achieved by artificial infection. The results showed that fungicide application at the time of full bloom (BBCH 65) had a very good effect on plant health, whereby a double treatment (a further application of fungicides at the beginning of bloom; BBCH 61) could reduce the infection further. The cultivar comparison showed clear differences in regard to susceptibility to stem rot and corresponds with the data of the describing cultivar list from the federal agency of cultivar. The effects on plant morphology (shortening of branches, reducing plant lodge) occurred both after autumn and after spring treatments. The symptom occurrence

and the development of the disease under controlled conditions could be well prevented or inhibited with the timely treatment of the fungicides tested in this study.

Laboratory studies to optimize the fungicide application showed a different duration of the protective and curative effects of Cantus (boscalid), Caramba (metconazol) and Folicur (tebuconazol) against stem rot. With the DLT, the effects of application of the fungicides five days before and four days after an inoculation with stem rot were tested. *In vitro* tests showed that the fungicide Cantus had better inhibiting effects on the ascospore germination and mycelial growth with low active ingredient (a.i.) concentrations (with a.i. 0.5 ppm) than the fungicides Caramba and Folicur (a.i. 10 ppm). These results from the laboratory correlate well with the results from the four year field trials.

Besides the chemical control measures, the biological method to control the stem rot was examined by use of the mycoparasite of *S. sclerotiorum*. The results revealed that the sclerotium germination und apothecium formation of *S. sclerotiorum* could be successfully inhibited by *Coniothyrium minitans* in the laboratory as well as in a two-year field test.

In average, all the fungicide treatments in the field trials caused a significant raise of seed yield, compared to the untreated control. These yield increases are caused through the decrease of plant disease infection as well as effects on plant morphology.

7 Literatur

- Abawi, G.S. and Grogan, R.G., 1975. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture in infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. *Phytopathology*. 65:300-309.
- Abawi, G.S. and Grogan, R.G., 1979. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 69 (8): 899-904.
- Adams, P.B. and AYERS, W.A 1979. Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*. 69 (8): 896-899.
- Ahlers, D. 1986. Untersuchungen über den Erreger der Weißstängeligkeit an Winterraps. *Raps* 4 (4): 189-191.
- Alphey, L., 1997. DNA Sequencing. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford.
- Baer, A. 1996. Winteraps-Verbundhybriden – Anbauempfehlung. *Raps* 14 (1): 44-45.
- BASF, 2003. Neues Fungizid für Raps zugelassen. *Raps* 21 (2). 95.
- Baswana, KS, Rastogi, KB, Sharma, PP 1991. Inheritance of stalk rot resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *Botrytis* L.). *Euphytica* 57:93–96.
- Bedi, K.S. 1962. Effect of temperature on the formatio of Sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Indian Phytopathology*. 15: 55-60.
- Ben-Yephet, Y. and Bitton, S. 1985. Use of a selective medium to study the dispersal of ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytoparasitica*. 13: 33–40.
- Bertram, H.-J., 1999. Agenda 2000, *Raps*, 17 (3): 108-111.
- Boland, G. J. and Hall, R. 1994. Index of plant hosts for *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Bot.* 16: 93-108. *Canadian Journal of Plant Pathology* 16:93-108.
- Brown, T.A., 1996. Gentechnologie für Einsteiger. 2. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg, Berlin, Oxford.
- Brun, H., Bautrais, P. und Renard, M. 1983. Importance de l'Humidite Relative de l'Air et de la Temperature sur la Contamination du Colza. *Proc. 6. Int. Rapskongress Paris*: 897-902.
- Brun, H., Pierre, J.P. und Renard, M. 1983. Technique d'inokulation du Colza par *Sclerotinia sclerotiorum*. *Proc. 6. Int. Rapskongress Paris*: 1044-1049.
- Brun, H. 1987. A field study of rapeseed resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *7eme Congress International sur le Colza*. 14. Mai:11.
- Cessna, S.G, Sears, V.E., Dickman, M.B. and Low, P.S. 2000. Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst of the host plant. *Plant Cell*. 12 (11): 2191-2199.

- Cober, E. R., S. Rioux^b, I. Rajcanc, P. A. Donaldson^a and D. H. Simmonds^a, 2003. Partial Resistance to White Mold in a Transgenic Soybean Line. *Crop Science* 43:92-95.
- Dapprich, P.D., Liu, Y., Henneken, M., Paul, V.H., Föllner, I. 2002. First results of a three year field on the influence of Metconazol on plant morphology and yield development of oilseed rape (*Brassica napus*). IOBC, WPRS Bulletin 25 (2): 67-75.
- Davies, J.M.L. 1986. Collins, London, UK. Diseases of oilseed rape. *Oilseed Rape*: 83-126.
- Donaldson, P.A., T. Anderson, B.G. Lane, A.L. Davidson, and D.H. Simmonds. 2001. Soybean plants expressing an active oligomeric oxalate oxidase from the wheat *gf-2.8* (germin) gene are resistant to the oxalate-secreting pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 59:297–307.
- Duncan, S., Barton, J.E., O'Brien, P.A., 1993. Analyse of variation in isolates of *Rhizoctonia solani* by random amplified polymorphic DNA assay. *Mycol. Res.* 97: 1075-1082.
- Dutton, M.V., and Evans, C.S. 1996. Oxalate production by fungi: Its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. *Can. J. Microbiol.* 42: 881–895.
- During, K., Porsch, P., Mahn, A., Brinkmann, O. and Gieffers, W., 1999. The non-enzymatic microbicidal activity of lysozymes. *FEBS letters* 449: 93-100.
- Fitt, B.D.L., McCartney, H.A. and Davies, J. 1992. Strategies for the control of *Sclerotinia*. *The Agronomist*. 1: 12-13.
- Fladung, M. and Gieffers, W. 1993. Resistance reactions of leaves and tubers of role transgenic tetraploid potato to bacterial and fungal pathogens. Correlation with sugar, starch and chlorophyll content. *Physiological and Molecular Plant Physiology*. 42:123-132.
- Franke, D., 1984. Weißstängeligkeit – Einige Ergebnisse aus den Jahren 1981 – 1983. *Raps*. 1 (2): 74-75.
- Fraissinet-Tachet, L. Reymond-Cotton, P. and Fevre, M. 1995. Characterization of a multigene family encoding polygalacturonase in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Curr. Genet.* 29: 96-99.
- Freeman, J, Ward, E. Calderon, C. and McCartney, A. 2002. A polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum*. *European Journal of Plant Pathology* 108: 877–886.
- Friesland, H. 2000, Agrarmeteorologisches Verfahren zur Prognose von Rapskrebs. *Raps*18 (1): 14-17.
- Gieffers, W. und Fladung, M. 1999. Zur Methodik der Befallsprüfung pathogener Pilze an der Aspe. *Texte Umweltbundesamt, Freisetzung transgener Gehölze Stand, Probleme, Perspektive*, Berlin: 92-97.
- Godoy, G., Steadman, J.R., Dickman, M.B. and Dam, R. 1990. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 37:179–191.

- Grayson, B.T. Boyd, S.L. Sampson, A.J. Drummond, J.N. And Walter D. 1995. Effect of adjuvants on the performance of the new cereal fungicide, metconazole. I Glasshouse trials. Pestic. Sci. 45: 153-160.
- Grendene, A., Marciano, P., 1999. Interaction between *Sclerotinia sclerotiorum* and *Coniothyrium minitans* Strains with Different Aggressiveness. Phytoparasitica. 27(3):98-103.
- Grogan, R. G. 1979. *Sclerotinia* species: Summary and comments on needed research. Phytopathology. 69: 908-911.
- Gutierrez, W. A. and Shew, H. D. 1998. Identification and quantification of ascospores as the primary inoculum for collar rot of greenhouse-produced tobacco seedlings. Plant Disease 82: 485-490.
- Gutter, B. 2002. Untersuchung des Blattfleckenregerkomplexes bei Viola-Wittrockiana-Hybriden unter besonderer Berücksichtigung der Virulenz von *Mycocentrospora acerina*.
- Hancock, J.G. 1966. Degradation of pectic substances associated with pathogenesis by *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower and tomato stems. Phytopathology. 56: 975-979.
- Hancock, J.G., 1967. Hemicellulose degradation in sunflower hypocotyls infected with *Sclerotinia sclerotiorum*. Phytopathology. 56: 975-979.
- Hancock, J.G. 1972. Changes in cell membrane permeability in sunflower hypocotyls infected with *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Physiology. 49: 358-364.
- Haugland, R.A, Vesper, S.J and Wymer, L, 1999. Quantitative measurement of *Stachybotrys chartarum* conidia using real time detection of PCR products with the Taqman™ fluorogenic probe system. Molecular and Cellular Probes 13: 329-340.
- Heid, C.A, Stevens, J, Livak, K.J. and Williams, PM, 1996. Real time quantitative PCR. Genome 6: 986-994.
- Hering, O., Nirenberg, H.I, Deml, G., 1994. Grenzen und Möglichkeiten der RAPD-Analysen zur Charakterisierung von Pilzen. Mitt. a.d. Biol. Bundesanst. H. 301.S. 160.
- Hoffmann, G.M., Schmutterer, H. 1983. Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Eugen Ulmer-Verlag, 330-331.
- Honermeier, B., Behle-Schalk, L. und Gaudchau M. 2002. Vorfruchtwirkung von Winterraps. Raps 20 (3): 108-110.
- Hornig, H. 1983. Zur Epidemiologie und Bekämpfung der Weißstängeligkeit (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) DE BARY). Raps. 1: 31-34.
- Hornig, H. 1984. Die Bekämpfung der Weißstängeligkeit und anderen Krankheiten. Raps. 2: 67-70.
- Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. & White, T. J.: 1990. PCR Protocols. Academic Press, Inc., San Diego, CA.

- Institute of Oilcrop Research, Chinese Academy of Sciences. 1975. *Sclerotinia* disease of oilseed crops. Chinese Agriculture Press, Beijing.
- Jamaux, L., B. Gelie, and C. Lamarque. 1995. Early stages of infection of rapeseed petals and leaves by *Sclerotinia sclerotiorum* revealed by scanning electron microscopy. *Plant Pathol.* (Oxford) 44:22–30.
- Jiang, LX, and Becker, HC, 2003. Inheritance of apetalous flower in a mutant of oilseed raps. *Crop Science*. 43: 508-510.
- Jones, C.J., Edwards, K.J., Castiglione, S., et al., 1998. Reproducibility testing of RAPDs by Network of European Laboratories. In: Karp, A., Isaac, P.G., Ingram, D.S.: *Molecular Tools for Screening Biodiversity*. Chapman and Hall, London. Weinheim, New Zork, Tokyo, Melbourne, Madras.
- Kapoor, K.S., Lamarque, C. and Berrier, J. 1983. Some aspects of the host-parasite relation between *Sclerotinia sclerotiorum* and rapeseed. *Proc. 6. Int. Rapeseedkongress Paris*. 991-994.
- Kim, H.S., Diers, B.W. 2000. Inheritance of partial resistance to *Sclerotinia* stem rot in soybean. *Crop Sci* 40:55–61.
- Kohli, Y., Kohn, L.M. 1998. Random association among alleles in clonal populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Fungal Genet Biol.* 23(2):139-49.
- Kohn, L. M., E. Stasovski, I. Carbone, J. Royer, and J. B. Anderson. 1991. Mycelial incompatibility and molecular markers identify genetic variability in field populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 81: 480-485.
- Kohn, L. M., I. Carbone, and J. B. Anderson. 1990. Mycelial interactions in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Experimental Mycology* 14: 255-267.
- Kreye, H. 2003. Auftreten von Krankheiten im Raps-Welsche Rolle spielen Fruchtfolge und Bodenbearbeitung. *Raps* 21 (2): 66-69.
- Krämer, I., 1994. Charakterisierung und Differenzierung von *Xanthomonas campestris* Pathovaren mittels PCR. *Mitt. a.d.Biol. Bundesanst. H. 301*. P. 158.
- Krüger, W. 1975. Über die Wirkung der Witterung auf den Befall des Rapses durch *Sclerotinia sclerotiorum*. *Nach. Dt. Pflanzenschutzd.* 27:1-6.
- Krüger, W. 1975. Die Beeinflussung der Apothecien- und Ascosporenentwicklung des Rapskrebsesregers *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary durch Umweltfaktoren. *Z. Pfl. Krank. Pfl. Schutz* 82: 101-108.
- Krüger, W. 1975. Über die Bildung von Sclerotien des Rapskrebsesregers *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mitt. BBA.* 163: 32-40.
- Krüger, W. 1976, Untersuchungen zur Beeinflussung der Apothecienentwicklung von *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 28: 129-135.

- Krüger, W. and Stoltenberg, J. 1983. Die Bekämpfung von Rapskrankheiten 2. Maßnahmen zur Befallsverringerung von *S. Sclerotiorum* unter Berücksichtigung ökonomischer Faktoren. *Phytopath. Zeitschrift*. 108: 114-126.
- Langbehn, C. 1983. Zur betriebswirtschaftlichen Bedeutung des Rapsanbaus. *Raps*. 1: 6-8.
- Lefol, C. and Morrall, RAA. 1996. Immunofluorescent staining of *Sclerotinia* ascospores on canola petals. *Canadian Journal of Plant Pathology* 18: 237–241.
- Lefol, C., Seguin-Swartz, G. and Morrall, R.A.A, 1997. Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in a weed related to canola. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 19: 113.
- Liu, CQ., Du, DZ., Huang, YJ., Wang, CH. 1991. Study on tolerance to *Sclerotinia sclerotiorum* and the hereditary properties in *B. napus*. *Scientia Agricultura Sinica*, 24(3): 43-49.
- Liu, SY., Xu, ZY., Zhang, JK. et. al., 2001. Inheritance and mechanisms of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* an in vitro mutagenesis via microspore culture in *Brassica napus*. In: *Proceedings of Sclerotinia 2001*, Central Science Laboratory, York, England. 8–12 July 2001 P: 174-175.
- Liu Yong, Brun H, Tribodet M. 1993. Screening methods for resistance to *S. sclerotiorum* in rapeseed in the field. I. Evaluation of rapeseed resistance to *S. sclerotiorum* using artificial inoculation by match infested with mycelia. *Southwest China J.of Agri. Sci.* 6:42-46.
- Liu Yong, Brun H, 1993. Studies on the resistance of rapeseed seedling to *Sclerotinia sclerotiorum* in Glasshouse. I. Screening rapeseed seedlings for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* by inoculating dedached leaves by ascospores with petals. *Southwest China J.of Agri. Sci.* 6:74-78.
- Liu Yong, Brun H, Tribodet M, 1993. A method to induce and collect ascospore from *S. sclerotiorum* of rapeseed in glasshouse. *Southwest China J.of Agri. Sci.* 6:92-94.
- Liu Yong, 1996. Variation in pathogenicity among ascospore isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*. *J. of Southwest Agricultural University*. Vol. 18: (6): 536-538.
- Liu, Y., Henneken, M., Föllner, I., Paul, V.H. 2002. Investigation on the effects of Metconazol on chosen oilseed rape diseases under controlled conditions. *IOBC, WPRS Bulletin* 25 (2): 77-85.
- Larmarque, C, 1983. Conditions climatiques qui favorisent le processus natureide ia contamination du colza par le *Sclerotinia sclerotiorum*. *Proc. 6th International Congress Paris France*: 957-962.
- Lumsden, R.D. 1979. Histology and physiology of plant diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*. 69: 890-896.
- Lumsden, R.D. and Wergin, W.P. 1980. Scanning electron microscopy of infection of bean by species of *Sclerotinia*. *Mycologia*. 72: 1200-1209.

- Luo K, Zhou B-W. 1994. Oilseed Rape Diseases and Their Controls. Beijing: China Business Press.
- Lüth, P. Pfeffer, H. und Schutz, RR. 1992. Der Einfluss verschiedener Pilzarten und –isolate auf die Apothezienbildung von *Sclerotinia sclerotiorum* unter simulierten Frühjahrsbedingungen. Zentralbl. Mikrobiol. 147: 368-377.
- Manthey, R. 2000. Stand der in Deutschland zugelassenen Rapsorten. Raps 18(3): 150-153.
- Manthey, R. 2002. Innovationen für den europäischen Rapsmarkt. Raps 20 (3): 140-143.
- Manthey, R. 2003. Nutzbarer Züchtungsfortschritt für den europäischen Rapsmarkt. Raps. 21 (3): 138-141.
- Marciano, P., Lenna, P. and Magro, P. 1983. Oxalic acid, cell wall degrading enzymes and pH in pathogenesis and their significance in the virulence of two isolates on sunflower. *Physiol. Plant Pathol.* 22: 339–345.
- Martel, MB., Letoublon, R., Fevre, M. 1998. Purification of endo polygalacturonases from *Sclerotinia sclerotiorum*: Multiplicity of the complex enzyme system. *Current Microbiology.* 33:243.
- Maxwell, D.P., Lumsden, R.D., 1970. Oxalic acid production by *Sclerotinia sclerotiorum* in infected bean and in culture. *Phytopathology* 60:1395–1398.
- McCartney, H A, Heran, A., Li Q., 2001. Infection of oilseed rape (*Brassica napus*) by petals containing ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. In: Proceedings of *Sclerotinia* 2001, Central Science Laboratory, York, England. p: 186–187.
- McCartney, H. A., Heran, A., Li Q., Freeman, J. 2001. Petal fall, Petal retention and petal duration in oilseed rape. In: Proceedings of *Sclerotinia* 2001, Central Science Laboratory, York, England. p: 188–189.
- McCartney, H. A. and Lacey, M. E. 1999. Timing and infection of sunflowers by *Sclerotinia sclerotiorum* and disease development. *Aspects of Applied Biology* 56: 151–156.
- McLean, D.M. 1958. Role of dead flower parts in infection of certain crucifers by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Plant Dis. Rep.* 42: 663-666.
- Meng, J., Sharp, A., Bowman, C. et al. 1996. Genetic diversity of *Brassica napus* accessions mainly from China detected with RFLP markers. *Chinese J Genet.* 23:221–232.
- Mulcahy, D.L., Cresti, M., Linskens, H.F., et al., 1995. DNA fingerprinting of Italian grape varieties: a test of reliability in RAPDs. *Adv. Hort. Sci.* 9: 185-187.
- Mullins, E., Quinlan, C., Jones, P. 1995. Analyse of mechanisms of partial physiological resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* using induced mutants of *Brassica napus*. *Aspects of Applied Biology.* 42: 307-314.

- Mullins, E., Quinlan, C., Jones, P. 1999. Isolation of mutants exhibiting altered resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* from small M₂ populations of an oilseed rape (*Brassica napus*) variety. European J. of plant pathology. 105: 465-475.
- Mylchreest, S.J. and Wheeler, B.E.J. 1987. A method for inducing apothecia from sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Pathology 36: 16–20.
- Newton, C.R., Craham, A., 1994. PCR. Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg, Berlin, Oxford.
- Noyes, R.D., Hancock, J.G. 1981, Role of oxalic acid in the *Sclerotinia* wilt of sunflower. Pysiol Plant Pathol 18:123–132.
- Paul, V.H., Henneken, M., Liu, Y., Föller, I. 2000. Rapsjahr 2000 – Jahr der Weißstängeligkeit, Neue Aspekte zum Pflanzenschutz, Raps, 18 (4): 184-187.
- Paul, V.H. 2003. RAPS Krankheiten. Schädlinge. Schadpflanzen. Verlag Th.Mann Gelsenkirchen-Buer. 41-46.
- Paul, V.H., Liu, Y., Dapprich, P., Rose, S. 2003. Neue Fungizide gegen Rapskrankheiten. Raps. 21 (1): 50-51.
- Penner, G.A., Bush, A., Wise, R. et al. 1993. Reproducibility of Random amplified polymorphie DNA (RAPD) analysis among laboratories. PCR Methods Appl. 2: 341-345.
- Priestley, R.H. and Knight, C. 1985. Diseases of oilseed rape and fodder brassicas. National Institute of Agricultural Botany, Cambridge. P: 22-23.
- Purdy, L.H. and Bardin, R. 1953. Mode of infection of tomato plants by ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. Pl. Dis. Rep. 37: 361-362.
- Prudy, L.H. 1958. Some factors affecting penetration and infection by *Sclerotinia sclerotiorum*. Phytopathology. 48: 605-609.
- Purdy, L.H. 1979. History, diseases and symptomatology. Phytopathology. 69: 875-881.
- Purdy, L.H., 1979. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution and impact. Phytopathology 69: 875–880.
- Quentin, U. 2004. Weißstängeligkeit erfolgreich bekämpfen. Raps 22 (3) 100-102.
- Raeder, U., Broda, P., 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Lett. Appl. Microbiol. 1: 17-20.
- Rashid, K.Y., 2001. Sclerotinia stem infection in flax in western Canada. In: Proceedings of *Sclerotinia* 2001, Central Science Laboratory, York, England. 8–12 July 2001, P.106-107.
- Regner, F., Messner, R. 1993. Molekulare Differenzierung von Rebsorten mittels RAPD-Analyse. Mitt. Klosterneuburg 43: 160-164.

- Reymond, P., Deleage, C. and Fevre, M. 1994. Cloning and sequence analysis of a polygalacturonase-encoding gene from the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *Gene* 146, 233-237.
- Röbbelen, G., 1980. Qualitätsentwicklung für den Körnerraps der Zukunft. *Kali-Briefe* 3: 157-168.
- Röbbelen, G., 1983. Fachgruppe 1: Genetik und Züchtung. *Raps* 1: 36.
- Rowe, D.E., 1993. Oxalic acid effects in exudates of *Sclerotinia trifoliorum* and *S. sclerotiorum* an Potential Use in Selection. *Crop Sci.* 33:1146-1149.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- Sampson, A.J. Burnhams, A.F. Grayson, B.T. 1995. Effect of adjuvants on the performance of the new cereal fungicide, metconazole. II Feld trials. *Pestic. Sci.* 45: 161-166.
- Sansford, C.E. and Coley-Smith, J.R. 1992. Production and germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathology*. 41: 154-156.
- Sauer, P., Müller, M. and Kang, J., 1998. Quantitation of DNA. *Quiagen News* 2:23-26.
- Sauer, R. und Löcher, F. 1984. Untersuchungen zum Wirtspflanzenkreis von *Sclerotinia sclerotiorum* *Mitt. F. Landbau* 3, BASF.
- Sauermann, W. 1993. Vorfruchteffekte von Winterraps. *Raps* 11 (3): 118-120.
- Schöpe, M. und Britschkat, G., 2002. Gesamtwirtschaftliche Bewertung des Rapsanbaus zur Biodieselproduktion in Deutschland. *Ifo Schnelldienst*. 55. 6:15-21.
- Schwartz, H.F. und Steadman, J.R., 1978. Factors affecting sclerotium populations and Apothecium production by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*. 68: 383-388.
- Schweizer, P., Andreas, C. and Dudler, R., 1999. Transient expression of members of the germin-like gene family in epidermal cells of wheat confers disease resistance. *The Plant Journal*. 20 (5), 541-552.
- Singh, U.P. and Singh, R.B. 1983. The effect of soil texture, soil mixture soil moisture and depth of soil on carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheit und Pflanzenschutz*. 90: 662-669.
- Steadman and Cook, 1974. Producing apothecia and collecting ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease Rep.* 58:190.
- Stiftung Waretest: 2003. Rapsöl ist mustergültig. *Raps*. 21 (4): 162.
- Sweet, J.B., Pope, S.J. and Thomas, J.E., 1992. Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in linseed, oilseed rape and sunflower cultivars, and its role in integrated control. *Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases*. p: 117–125.

- Tarig, V.N. and Jeffries, P. 1984. Appressorium formation by *Sclerotinia sclerotiorum*. Trans. Br. Mycol. Soc. 82: 645-651.
- Thomson, J.R., Kondra, Z.P., 1983. Techniques for artificially inoculating oilseed rape with *Sclerotinia sclerotiorum*. Proc. 6. Int. Rapeseedkongress Paris. 969-974.
- Turkington, TK., Morrall, RAA. and Gugel, RK., 1991. Use of petal infestation to forecast *Sclerotinia* stem rot of canola: Evaluation of early bloom sampling, 1985–1990. Canadian Journal of Plant Pathology 13: 50–59.
- Van De Peer, Y., De Wachter, R. 1994. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. Comput. Applic. Biosci. 10: 569-570.
- VautardMey, G., Cotton, P. and Fevre, M. 1999. Expression and compartmentation of the glucose repressor CRE1 from the phytopathogenic fungus. Eur. J. Biochem. 266: 252-259.
- Von Tiedemann, A., Hedke, K., Mögling, R. 2000. Biologische Bekämpfung der *Sclerotinia*-Weißstängeligkeit – Eine Möglichkeit zur nachhaltigen Pilzbekämpfung im Raps. Raps 18 (1): 10-13.
- Von Tiedemann, A. 2004. Aktuelle Krankheiten, Welche Lösungen zeichnen sich ab? Raps. 22 (2): 56-59.
- Wamhoff, W. 2000. Integrierter Rapsanbau. Initiativen zum Umweltschutz 16, Deutsche Bundesstiftung Umwelt, Erich Schmidt Verlag, Berlin.
- Willets, HJ. and Wong, JA-L. 1980. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum* and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. The Botanical Review 46: 101–165.
- Wu, CR. and Liu, HL. 1991. The toxic effects of oxalic produced by *Sclerotinia sclerotiorum* on organs, cells and protoplasts of rape (*Brassica napus*). MacGregor (Hrsg.) GIRC 1991 Congress – Rapeseed in a Changing World. 1629-1635.
- Wu, XM. and Sheng, XY. 1999. Collection, evaluation, enhancement, Conservation and genetic diversity assessment of *Brassica* oilseed – Genetic resources in China. Proceedings of the X International Rapeseed congress, September 1999, Canberra, Australia.
- Xu, WD., 1997. Observations on physiological properties of *Sclerotinia sclerotiorum*. J. of Tianjin Agri. College. 4 (4).43-48.
- Yang, Q. 1995. The effects of some factors influencing carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. J. of Northeast Forestry University. 23 (3):126-130.
- Yang, X.M. 1959. Index of plant hosts and the biological characters for *Sclerotinia sclerotiorum* in china. ACTA PHYTOPATHOLOGICA SINICA. 3:25-36.
- Zhao, J-W., Xiao, L., He, F-X.. 1998. Relationship between some enzyme activity and resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* of new strain selected by intergeneric hybridization in *Brassica napus*. Chinese J. Oil Crop Sci. (1): 10-13.

Zhou, BW., Yu, Q., Liu, SY., Zhou, LC., Chen, DY., 1994. Identification and screening of oilseed rape resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and virus. Oil Crops of China (supplement) 4:57–61.

Zhou, J. and Meng, J. 2003. Genetic analysis of loci associated with partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in rapeseed (*Brassica napus* L.). Theoretical and Applied Genetics. 106 (4): 759 – 764.

Zhou, T., and Boland, G.J. 1999. Mycelial growth and production of oxalic acid by virulent and hypovirulent isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*. Can. J. Plant Pathol. 21:93–99.

8 Anhang

8.1 Verwendete Kulturmedien

PDA

Potato-Dextrose-Agar
Fertigmedium (Fa. Merck, 1.10130)
39 g pro Liter demin. Wasser

½ PDA

Halbe Konzentration der Potato-Dextrose-Agar
Potato-Dextrose-Broth
Fertigmedium (Fa. Sigma,)
12 g pro Liter demin. Wasser plus 15 g Agar (Fa. Sigma, 232-658-1)

PDB

Potato-Dextrose-Broth
Fertigmedium (Fa. DIFCO, 254920)
12 g pro Liter demin. Wasser

MB

Malzextrakt-Broth
Fertigmedium (Fa. Merck, 1.05391)
30g pro Liter demin. Wasser

Alle Medien wurden 15 min. bei 121 °C autoklaviert.

8.2 Übersicht der verwendeten Winterrapssorten

Tab. 47: Übersicht der verwendeten Winterrapssorten

Bezeichnung	Sorte	H/L	Herkunft
1	Action	F	NPZ
2	Artus	H	NPZ
3	Elan	H	NPZ
4	NPZ 2004		NPZ
5	NPZ 2005		NPZ
6	Express	F	NPZ
7	Prince	F	NPZ
8	Pronto	H	NPZ
9	Talent	H	NPZ
10	Viking	F	NPZ
11	Cadillac	F	DSV
12	Lion	F	DSV
13	Liprima		DSV
14	Lisek		DSV
15	Oase		DSV
16	Chuan You 16		Sichuan, China
17	Chuan You 20		Sichuan, China
18	Zhong Suan 4	F	China
19	Bristol	F	DSV
20	Lirajet	F	DSV

*H-Hybridsorte, L-Liniesorte

Tab. 48: Liste der verwendeten Winterrapszuchtlinien aus China

Bezeichnung	Herkunft	Bezeichnung	Herkunft	Bezeichnung	Herkunft	Bezeichnung	Herkunft
HL1		HZ1		HP4		HP22	
HL2		HZ2		HP6		HP23	
HL3		HZ3		HP7		HP24	
HL4		HZ4		HP8		HP25	
HL5		HZ5		HP9		HP26	
HL6		HZ6		HP10		HP27	
HL7		HZ7		HP11		HP28	
HL8		HZ8		HP12		HB	
HL9		HZ9		HP13		HJ1	
HL10		HZ10		HP14		HJ2	
HY1		HZ11		HP15		HJ3	
HY2		HZ12		HP16		HH1	
HY3		HZ13		HP17		HH2	
HY5		HZ14		HP18		UH1	
HY6		HP1		HP19		UH2	
HY7		HP2		HP20		BG1	
HY8		HP3		HP21		BG2	
						BG3	

Tab. 49: Vergleich der Virulenz verschiedener *Sclerotinia*-Isolate an Rapssorten Artus, Bristol, Zhongyou 4 und Chuanyou 18 mit , n=20

Isolate	Sorte Wirt	Artus	Bristol	Bristol	ZhongYou4	ChuanYou18
		12°C 2.LB 4 dpi	18°C 2.LB 3 dpi	12°C 4.LB 6 dpi	18°C 2.LB 4 dpi	18°C 3.LB 4 dpi
503	Raps	28,6	24,5	47,6	47,7	68,7
504	Raps	65,6	69,6	70,0	54,1	87,3
505	Raps	66,9	61,3	69,3	47,9	67,3
506	Raps	71,8	53,5	63,1	35,4	78,0
507	Raps	34,9	17,2	37,2	21,3	19,3
508	Raps	31,8	56,1	62,1	17,9	51,2
509	Raps	57,7	68,9	75,3	55,3	47,3
510	Raps	72,8	69,0	75,0	53,7	47,5
511	Raps	57,5	50,9	57,8	59,5	44,9
512	Raps	72,6	61,6	61,9	61,1	62,5
526	Raps	25,5	39,7	57,8	32,4	62,0
665	Raps	67,9	65,0	67,3	58,3	56,7
Ya	Raps	45,6	42,5	42,4	50,5	32,4
Yaan	Raps	72,4			60,1	52,4
CD	Raps	60,7	42,4	49,2	52,7	49,4
CD2	Raps	74,2	60,5	60,1	68,2	43,3
MZ	Raps	77,9	63,4	61,9	66,4	72,6
M99	Raps	68,7	46,5	23,2	62,0	59,9
M05	Raps	73,5	50,4	58,7	54,1	72,9
M08	Raps	70,1	69,5	72,1	60,9	55,5
M01	Raps	71,9	62,3	74,2	64,7	55,8
Proph	Raps	55,2			62,5	31,5
W276	Leindotter	69,5	58,6	67,6	67,1	69,6
DK97	Leindotter	42,9	58,4	41,0	58,7	24,7
Rhh95	Leindotter	57,3	58,4	64,9	54,3	27,1
I-106-1	Leindotter	77,6	69,7	73,9	62,8	50,8
SW97	Leindotter		56,2	66,9	53,7	73,8
PoI97	Leindotter	53,5	62,3	45,6	63,8	78,9
Th97	Leindotter	62,4	66,7	62,9	49,0	42,2
1946		3,0	0,0	0,0	1,2	0,0

266		1,1	0,4	0,0	0,5	0,0
ECW		68,1	42,0	47,8	28,1	53,7
56D	Tabak	67,9	57,8	68,3	60,5	64,9
5520	Tabak	71,0	45,6	48,1	38,5	70,6
Karls	Tabak	65,3			45,9	73,3
Tabak	Tabak	76,8	60,7	67,9		39,8
Salat	Salat	52,3	41,7	20,3	45,5	50,5
T97	Tomate	59,4	58,8	32,8	36,2	12,7
Rostock	SB	66,2	62,0	62,1	59,4	59,6
Soest	SB	70,6			54,8	36,5
S.m		50,3	44,5	56,4	40,4	60,4
S.t		0,0	0,0	0,0	0,0	2,5
GD 5%		4,7	4,4	5,9	5,5	6,7

Tab. 50: Statistische Schätzungen der Mittelwertvergleich von 4 Sorten (Läsion mm)

SORTEN	Mittelwert	Standardfehler	95% Konfidenzintervall	
	Von 24 Isolaten		Untergrenze	Obergrenze
Artus	47,507	,286	46,945	48,069
Express	48,948	,286	48,386	49,510
CHY 20	43,167	,286	42,605	43,728
CHY 18	43,378	,286	42,817	43,940

Tab. 51: Statistische Schätzungen der Mittelwertvergleich von 24 Isolaten (Läsion mm)

ISOLATEN	Mittelwert	Standardfehler	95% Konfidenzintervall	
	von vier Sorten		Untergrenze	Obergrenze
507	15,396	,701	14,020	16,772
506	56,104	,701	54,728	57,480
503	31,646	,701	30,270	33,022
508	63,875	,701	62,499	65,251
509	61,667	,701	60,291	63,043
M01	55,750	,701	54,374	57,126
M08	59,021	,701	57,645	60,397
M99	52,313	,701	50,937	53,688
Ya	37,667	,701	36,291	39,043
CD	45,833	,701	44,457	47,209
MZ	50,563	,701	49,187	51,938
S.m	44,333	,701	42,957	45,709
S.t	,000	,701	-1,376	1,376
Salat	52,375	,701	50,999	53,751
Soest	58,833	,701	57,457	60,209
ECW	42,854	,701	41,478	44,230
Th95	56,625	,701	55,249	58,001
T98	44,313	,701	42,937	45,688
Proph	60,792	,701	59,416	62,168
266	5,646	,701	4,270	7,022
Express	50,333	,701	48,957	51,709
Talent	49,854	,701	48,478	51,230
Catinka	51,833	,701	50,457	53,209
Elektra	50,375	,701	48,999	51,751

Tab. 52: Statistische Schätzungen (Isolaten *Sorten) der Mittelwertvergleich (Läsion mm)

Isolaten	Sorten	Mittelwert	Isolaten	Sorten	Mittelwert	Isolaten	Sorten	Mittelwert	Standardfehler
507	Artus	15,3	Ya	Artus	38,6	Salat	Artus	49,6	1,402
	Express	17,6		Express	43,3		Express	58,5	1,402
	CHY 20	15,8		CHY 20	36,1		CHY 20	54,1	1,402
	CHY 18	12,9		CHY 18	32,8		CHY 18	47,3	1,402

506	Artus	60,4	CD	Artus	43,7	Soest	Artus	65,6	1,402
	Express	57,1		Express	52,6		Express	60,6	1,402
	CHY 20	54,8		CHY 20	41,4		CHY 20	50,4	1,402
	CHY 18	52,1		CHY 18	45,7		CHY 18	58,8	1,402
503	Artus	30,8	MZ	Artus	50,1	ECW	Artus	46,9	1,402
	Express	41,0		Express	55,4		Express	39,8	1,402
	CHY 20	29,7		CHY 20	49,8		CHY 20	44,0	1,402
	CHY 18	25,1		CHY 18	47,0		CHY 18	40,8	1,402
508	Artus	66,2	Express	Artus	47,3	Th95	Artus	62,7	1,402
	Express	64,8		Express	58,2		Express	59,7	1,402
	CHY 20	64,3		CHY 20	45,8		CHY 20	47,6	1,402
	CHY 18	60,3		CHY 18	50,1		CHY 18	56,6	1,402
509	Artus	69,3	Talent	Artus	45,1	T98	Artus	47,6	1,402
	Express	61,4		Express	58,2		Express	49,8	1,402
	CHY 20	60,7		CHY 20	46,7		CHY 20	40,5	1,402
	CHY 18	55,3		CHY 18	49,5		CHY 18	39,4	1,402
M01	Artus	56,3	Catinka	Artus	53,9	Proph	Artus	65,3	1,402
	Express	55,6		Express	52,3		Express	62,8	1,402
	CHY 20	52,8		CHY 20	42,7		CHY 20	53,5	1,402
	CHY 18	58,3		CHY 18	58,4		CHY 18	61,6	1,402
M08	Artus	64,6	Elektra	Artus	56,3	266	Artus	0,7	1,402
	Express	67,5		Express	54,4		Express	6,3	1,402
	CHY 20	55,8		CHY 20	45,2		CHY 20	10,8	1,402
	CHY 18	48,3		CHY 18	45,6		CHY 18	4,8	1,402
M99	Artus	59,8	S.t	Artus	0,0	S.m	Artus	44,3	1,402
	Express	55,3		Express	0,0		Express	42,8	1,402
	CHY 20	47,4		CHY 20	0,0		CHY 20	46,4	1,402
	CHY 18	46,8		CHY 18	0,0		CHY 18	43,9	1,402

8.3 Ergebnisse der Photometrischen DNA-Messung

Tab. 53: Ergebnisse der Photometrischen Messungen der extrahierten DNA

Herkunft	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₃₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₃₀	DNA (ug/ml)
503	0,528	0,259	0,278	2,04	1,90	264,0
504	0,488	0,230	0,340	2,12	1,44	244,0
505	0,360	0,170	0,218	2,12	1,65	180,0
506	0,475	0,225	0,295	2,11	1,61	237,5
507	0,455	0,213	0,238	2,14	1,91	227,5
508	0,341	0,164	0,260	2,08	1,31	170,5
509	0,444	0,219	0,233	2,03	1,91	222,0
510	0,542	0,263	0,258	2,06	2,10	271,0
511	0,414	0,199	0,179	2,08	2,31	207,0
512	0,361	0,179	0,253	2,02	1,43	180,5
526	0,373	0,182	0,163	2,05	2,29	186,5
665	0,393	0,190	0,185	2,07	2,12	196,5
YA	0,484	0,250	0,305	1,94	1,59	242,0
CD	0,404	0,189	0,175	2,14	2,31	202,0
CD2	0,455	0,229	0,262	1,99	1,74	227,5
MZ	0,463	0,244	0,259	1,90	1,79	231,5
M99	0,620	0,311	0,295	1,99	2,10	310,0
M08(00)	0,317	0,154	0,178	2,06	1,78	158,5
M05(00)	0,420	0,202	0,195	2,08	2,15	210,0
M01	0,313	0,147	0,223	2,13	1,40	156,5
W276	0,338	0,162	0,163	2,09	2,07	169,0
DK97/98	0,360	0,169	0,191	2,13	1,88	180,0
Rhh'95	0,414	0,199	0,235	2,08	1,76	207,0
I 106-1	0,483	0,235	0,291	2,06	1,66	241,5
1946	0,409	0,179	0,060	2,28	6,82	204,5

266	0,382	0,154	0,024	2,48	15,92	191,0
ECW	0,307	0,145	0,139	2,12	2,21	153,5
Rost	0,651	0,318	0,353	2,05	1,84	325,5
56D	0,557	0,288	0,292	1,93	1,91	278,5
5520	0,460	0,223	0,228	2,06	2,02	230,0
Tabak	0,462	0,225	0,212	2,05	2,18	231,0
Salat	0,469	0,225	0,295	2,08	1,59	234,5
Th'95	0,317	0,165	0,241	1,92	1,32	158,5
Pol'97	0,376	0,187	0,320	2,01	1,18	188,0
T'97	0,673	0,316	0,291	2,13	2,31	336,5
SW'97	0,352	0,167	0,200	2,11	1,76	176,0
Prophy	0,612	0,300	0,441	2,04	1,39	306,0
Soest	0,317	0,171	0,382	1,85	0,83	158,5
Yaan2001	0,344	0,170	0,325	2,02	1,06	172,0
S. Minor	0,685	0,324	0,353	2,11	1,94	342,5
S. trifoliorum	0,520	0,249	0,257	2,09	2,02	260,0
Fusarium.a	0,366	0,155	0,046	2,36	7,96	183,0

8.5 Feldversuchsunterlagen

Unterlage von Anbausjahr 2002/2003

Tab. 61: Flächenvorbereitung und Variantenbeschreibung der Versuchsanlage (02/03)

Winterraps - Fungizide					
Versuchs-Nr.:	RA3FU				
Versuchsfrage:	Fungizideinsatz in Winterraps				
Frucht (-folge):	RA – WW – HA – WG - RA				
Schlag:	Hammbusch I		Fläche in ha: 3,81		
Bodenanalyse:	NO3 ges.	0 - 30 cm	30 - 60 cm	60 - 90 cm	Datum
	14	8	6	-	03.03
	pH-Wert	P2O5	K2O	MgO	Datum
	6,7	19	29	5	2002
Vorfrucht:	Kulturart	dt/ha	Blatt / Stroh	Ernte	
	Wintergerste	99,0	gehäckselt	20.07.02	
Bearbeitung:	Arbeitsgerät	Tiefe (cm)	km/h	Boden	Datum
	Häcksler	-	11,8	feucht	20.07.02
	Rollege / Walze	6	10	feucht	23.07.02
	Rollege / Walze	6	10,5	feucht	19.08.02
	EGge / Krümmler	4	8	feucht	27.08.02
	Kreiselege / Drille	3 - 4	7	trocken	30.08.02
Aussaat:	Sorte	TKG	KF	kf. Kö / m ²	kg/ha
	Lion (L)		95 %	60-70	3,0
	Maja (H)		95 %	40-50	3,0
	Debora (H)		95 %	40-50	3,0
Anerk. Nr.:	01 – 01 – 0260				
Beizung:	Standard(Combicoat CB)	Standard	Standard +DMM + SAT2002 (Metconazol)		
		+DMM			
Pflanzenschutz:	Produkt	Menge /ha	Stadium	Datum	
Herbizide:	Round up ultra	1,5	VS	14.08.02	
	Butisan	1,0	11	04.09.02	
	Butisan Top + Agil	1,0 + 0,35	13 - 15	12.09.02	
Molluscizide:	Metarex	5,0	11	05.09.02	
Insektizide:	Agil + Fastac + Bor	0,35 + 0,1 + 3	5. Lbl.	01.10.02	
	Karate Zeon + Bor + Micro Top	0,75+ 1,5+6,4	ca.10-15 cmWH	27.03.03	
Fungizide:	vgl. Versuchsplan Tab. 2	vgl. Tab. 2	vgl. Tab. 2	vgl. Tab. 4	
Düngung:	Produkt	Menge /ha	Stadium	Datum	
	HTK	ca. 3,5 t		19.08.02	
	Bor (21%)	3,0 kg (630g)		01.10.02	
	AHL+ATS (außer Düngeversuch)	80 N + 34 S		10.03.03	
	AHL	9 N		27.03.03	
	AHL (außer Düngeversuch)	65 N		04.04.03	
	AHL (TM)	8 N	55	15.04.03	

Tab. 62: Bonitur zum Beginn der Blüte BBCH 60-63 (24.04.03)

Variante	Phoma-Blattl		<i>Botrytis</i> -Blatt		Pflanzenhöhe [cm]	Pflanzenzustand
	[%]	Note	[%]	Note	Note	Note
S1B1F1	0	1,0	0	1,0	75,5	3,0
S1B1F2	2,5	1,3	2,5	2,3	77,1	2,5
S1B1F3	0	1,0	0	1,0	70,9	3,3
S1B1F4	0	1,0	0	1,0	73,1	3,3
S1B1F5	0	1,0	0	1,0	74,4	3,0
S1B1F6	0	1,0	0	1,0	66,8	4,0
S1B2F1	2,5	1,3	0	1,0	73,3	3,0
S1B2F2	2,5	1,3	0	1,0	76,6	3,3
S1B2F3	0	1,0	0	1,0	74,7	3,1
S1B2F4	0	1,0	0	1,0	72,0	3,0
S1B2F5	2,5	1,3	0	1,0	70,2	3,5
S1B2F6	2,5	1,3	0	1,0	68,4	3,8
S1B3F1	7,5	1,5	0	1,0	80,0	2,3
S1B3F2	10	1,8	0	1,0	83,2	2,0
S1B3F3	2,5	1,3	2,5	2,5	81,7	2,4
S1B3F4	0	1,0	0	1,0	73,7	2,9
S1B3F5	2,5	1,3	0	1,0	77,8	2,6
S1B3F6	10	1,5	0	1,0	76,9	3,0
S2B1F1	7,5	1,8	2,5	2,8	93,4	2,0
S2B1F2	2,5	1,3	0	1,0	97,0	1,5
S2B1F3	10	1,8	2,5	2,5	93,4	1,8
S2B1F4	12,5	1,8	0	1,0	93,6	1,5
S2B1F5	2,5	1,3	0	1,0	93,7	1,8
S2B1F6	5	1,5	0	1,0	91,3	1,9
S2B2F1	10	1,5	0	1,0	94,9	2,0
S2B2F2	7,5	1,5	0	1,0	97,1	1,8
S2B2F3	0	1,0	0	1,0	91,7	1,8
S2B2F4	7,5	1,5	5	3,8	94,2	1,8
S2B2F5	2,5	1,3	0	1,0	94,0	1,5
S2B2F6	5	1,5	0	1,0	90,7	1,8
S2B3F1	10	1,5	0	1,0	97,3	1,0
S2B3F2	10	1,8	0	1,0	101,2	1,3
S2B3F3	5	1,5	0	1,0	98,0	1,0
S2B3F4	10	1,8	0	1,0	98,2	1,0
S2B3F5	0	1,0	0	1,0	100,2	1,0
S2B3F6	2,5	1,3	0	1,0	97,8	1,0
S3B1F1	7,5	1,5	0	1,0	88,7	1,8
S3B1F2	5	1,5	0	1,0	92,4	2,0
S3B1F3	5	1,5	0	1,0	90,2	2,0
S3B1F4	5	1,5	0	1,0	92,7	1,8
S3B1F5	2,5	1,3	0	1,0	89,7	1,8
S3B1F6	0	1,0	0	1,0	88,3	2,0
S3B2F1	10	1,8	0	1,0	90,5	2,0
S3B2F2	15	1,8	0	1,0	93,3	2,0
S3B2F3	10	1,8	0	1,0	89,2	2,0
S3B2F4	5	1,5	0	1,0	87,3	2,0
S3B2F5	0	1,0	0	1,0	89,0	2,0
S3B2F6	2,5	1,3	0	1,0	87,3	2,0
S3B3F1	17,5	2,0	0	1,0	94,4	1,6
S3B3F2	5	1,5	0	1,0	94,8	1,8
S3B3F3	2,5	1,3	0	1,0	91,7	1,8
S3B3F4	7,5	1,8	0	1,0	93,4	1,8
S3B3F5	5	1,3	2,5	2,5	92,3	1,3
S3B3F6	2,5	1,3	0	1,0	88,6	1,8
GD5%	0,9	0,6	0,2	1,3	4,9	0,7
GD1%	1,2	0,8	0,3	1,8	6,5	0,9

Tab. 63: Bonitur zum Ende der Blüte BBCH 68-71 (15-23.05.03)

Variante	<i>Phoma Stängel</i>		<i>Grauschimmel</i>		<i>Weißstängeligkeit</i>		Pflanzenzustand Note	Pflanzenlänge [cm]
	[%]	Note	[%]	Note	[%]	Note		
S1B1F1	62,5	3,9	35,0	2,4	16,3	1,5	2,0	128,2
S1B1F2	47,5	2,1	36,3	2,8	11,3	1,9	1,3	129,1
S1B1F3	73,8	3,3	56,3	2,3	15,0	2,0	1,5	132,6
S1B1F4	57,5	3,1	20,0	1,8	10,0	1,8	1,5	128,5
S1B1F5	48,8	3,3	13,8	1,9	1,3	1,1	1,8	127,3
S1B1F6	47,5	3,1	25,0	2,5	15,0	1,8	1,8	132,9
S1B2F1	75,0	3,9	37,5	2,3	21,3	2,6	2,0	127,0
S1B2F2	35,0	2,6	31,3	2,0	10,0	1,8	1,5	130,1
S1B2F3	75,0	2,8	52,5	2,4	10,0	2,3	1,5	128,3
S1B2F4	50,0	3,1	23,8	2,1	16,3	1,6	1,5	127,9
S1B2F5	45,0	3,4	16,3	1,9	5,0	1,5	1,8	127,4
S1B2F6	51,3	2,5	23,8	3,3	21,3	2,0	1,8	133,8
S1B3F1	62,5	3,0	50,0	2,1	11,3	1,6	1,8	128,3
S1B3F2	33,8	2,9	41,3	2,4	11,3	1,9	1,3	135,4
S1B3F3	51,3	2,4	38,8	2,4	12,5	2,3	1,3	131,4
S1B3F4	41,3	2,8	20,0	2,1	21,3	1,9	1,3	133,6
S1B3F5	32,5	2,9	6,3	1,5	3,8	1,3	1,8	122,1
S1B3F6	53,8	3,5	23,8	1,9	12,5	1,5	1,5	134,0
S2B1F1	61,3	3,1	35,0	2,4	13,8	1,9	1,0	129,5
S2B1F2	46,3	2,9	30,0	2,8	10,0	1,6	1,0	136,9
S2B1F3	70,0	3,4	37,5	2,6	17,5	1,9	1,0	127,9
S2B1F4	40,0	3,0	21,3	2,1	15,0	2,0	1,0	137,9
S2B1F5	46,3	3,9	22,5	2,5	7,5	1,5	1,3	131,8
S2B1F6	56,3	4,4	20,0	3,3	12,5	1,8	1,0	128,5
S2B2F1	63,8	3,5	40,0	2,9	22,5	2,3	1,0	125,9
S2B2F2	38,8	2,9	40,0	2,6	10,0	1,8	1,0	135,5
S2B2F3	65,0	3,4	40,0	2,1	11,3	1,8	1,0	128,8
S2B2F4	47,5	3,4	25,0	2,4	13,8	1,8	1,0	130,9
S2B2F5	45,0	3,1	18,8	2,6	8,8	1,6	1,0	131,3
S2B2F6	53,8	4,3	21,3	3,4	10,0	1,9	1,3	133,5
S2B3F1	40,0	2,8	27,5	2,3	21,3	2,4	1,0	132,5
S2B3F2	28,8	2,3	37,5	2,3	8,8	1,5	1,0	140,9
S2B3F3	50,0	3,0	35,0	2,0	17,5	1,8	1,0	136,5
S2B3F4	33,8	3,4	13,8	2,1	16,3	2,1	1,0	134,3
S2B3F5	25,0	2,4	17,5	2,3	5,0	1,5	1,0	135,0
S2B3F6	30,0	3,1	18,8	3,4	7,5	1,4	1,0	133,5
S3B1F1	56,3	2,8	52,5	2,4	23,8	2,1	1,0	129,7
S3B1F2	22,5	2,0	36,3	2,1	15,0	1,8	1,0	134,8
S3B1F3	57,5	2,6	42,5	2,0	16,3	1,9	1,0	132,2
S3B1F4	32,5	2,1	27,5	2,5	13,8	1,9	1,0	135,1
S3B1F5	37,5	2,1	23,8	2,1	7,5	1,8	1,0	134,2
S3B1F6	35,0	2,3	20,0	2,7	15,0	1,8	1,0	131,9
S3B2F1	50,0	2,5	45,0	2,1	25,0	2,0	1,0	133,4
S3B2F2	36,3	2,4	43,8	2,3	18,8	2,1	1,0	137,1
S3B2F3	48,8	2,8	47,5	2,4	12,5	1,8	1,0	132,1
S3B2F4	38,8	2,4	30,0	2,0	12,5	1,8	1,0	133,6
S3B2F5	36,3	2,4	20,0	2,4	6,3	1,8	1,0	136,2
S3B2F6	32,5	2,5	20,0	2,0	16,3	1,8	1,0	130,9
S3B3F1	43,8	2,4	40,0	2,3	23,8	2,1	1,0	132,1
S3B3F2	20,0	1,9	42,5	2,0	18,8	1,8	1,0	136,5
S3B3F3	42,5	2,4	48,8	2,3	17,5	1,6	1,0	136,0
S3B3F4	25,0	1,9	21,3	2,0	25,0	2,3	1,0	134,6
S3B3F5	25,0	2,0	18,8	2,0	3,8	1,3	1,0	136,4

S3B3F6	27,5	2,3	21,3	1,8	12,5	1,6	1,0	137,8
GD 5%	34,7	1,1	16,7	1,2	14,2	0,8	0,4	3,1
GD 1%	45,8	1,5	22,1	1,6	18,7	1,0	0,6	4,0

Tab. 64: Bestandesbonitur vor Ernte BBCH 92-97 (14-15.07.03)

Variante	<i>Erysiphe cruciferarum</i>	<i>Alternaria brassicae</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Pflanzen höhe	Pflanzen zustand	Lagerneigung
	[%]	[%]	[%]	[cm]	Note	Note
S1B1F1	98,8	71,9	40,0	111,0	6,3	3,3
S1B1F2	95,0	71,3	23,8	122,5	5,3	1,0
S1B1F3	100,0	75,0	26,3	121,1	5,3	1,0
S1B1F4	100,0	66,3	15,0	119,8	5,5	1,0
S1B1F5	97,5	67,5	0,0	118,1	4,8	1,0
S1B1F6	98,8	57,5	12,5	113,8	5,8	1,0
S1B2F1	98,8	91,3	46,3	109,1	6,8	3,5
S1B2F2	96,3	71,3	17,5	123,3	5,3	1,0
S1B2F3	96,3	76,3	25,0	118,9	5,3	1,3
S1B2F4	98,8	76,3	11,3	114,8	5,0	1,0
S1B2F5	97,5	58,8	5,0	119,6	4,3	1,3
S1B2F6	98,8	50,6	12,5	109,8	5,3	1,5
S1B3F1	100,0	92,5	42,5	116,0	6,5	1,8
S1B3F2	100,0	63,8	22,5	129,9	4,3	1,0
S1B3F3	100,0	82,5	33,8	124,4	5,5	1,0
S1B3F4	97,5	75,0	20,0	124,3	4,5	1,0
S1B3F5	97,5	66,3	3,8	122,5	5,0	1,3
S1B3F6	98,8	61,3	8,8	116,1	5,3	1,0
S2B1F1	98,8	100,0	41,3	85,6	7,8	6,8
S2B1F2	96,3	96,3	25,0	118,0	6,8	2,5
S2B1F3	100,0	98,8	36,3	117,5	7,0	1,3
S2B1F4	98,8	92,5	18,8	121,8	6,5	1,0
S2B1F5	96,3	90,6	1,3	121,0	7,0	2,0
S2B1F6	95,0	91,3	7,5	106,3	6,8	2,8
S2B2F1	100,0	98,8	42,5	81,9	8,0	7,0
S2B2F2	100,0	97,5	28,8	118,1	7,0	2,0
S2B2F3	100,0	95,0	27,5	120,6	7,0	1,8
S2B2F4	98,8	90,0	13,8	119,1	6,5	1,0
S2B2F5	100,0	88,1	5,0	120,1	7,0	1,5
S2B2F6	96,3	98,8	12,5	105,3	7,3	4,8
S2B3F1	100,0	98,8	43,8	93,1	7,3	5,8
S2B3F2	100,0	98,8	38,8	126,4	6,5	1,3
S2B3F3	100,0	97,5	40,0	123,8	6,5	1,0
S2B3F4	100,0	87,5	20,0	124,4	5,8	1,0
S2B3F5	100,0	82,5	5,0	126,6	6,3	1,3
S2B3F6	100,0	92,5	11,3	118,1	6,5	1,5
S3B1F1	100,0	92,5	52,5	108,4	6,8	3,8
S3B1F2	98,8	65,0	31,3	127,5	5,8	1,0
S3B1F3	100,0	83,8	40,0	125,5	5,8	1,0
S3B1F4	98,8	62,5	25,0	129,4	4,5	1,0
S3B1F5	96,3	67,5	5,0	123,9	4,5	1,0
S3B1F6	100,0	71,9	22,5	123,4	5,5	1,8
S3B2F1	100,0	95,0	48,8	116,9	7,0	3,3
S3B2F2	97,5	78,8	32,5	125,1	6,0	1,0
S3B2F3	100,0	86,3	37,5	124,6	5,8	1,0
S3B2F4	100,0	62,5	17,5	127,4	4,8	1,0
S3B2F5	96,3	73,8	2,5	124,1	5,3	1,0

S3B2F6	100,0	64,4	18,8	120,4	5,0	1,0
S3B3F1	100,0	93,8	57,5	123,3	6,0	1,5
S3B3F2	96,3	70,0	37,5	131,3	4,8	1,0
S3B3F3	100,0	75,0	56,3	128,8	5,3	1,0
S3B3F4	100,0	40,0	27,5	133,0	3,8	1,0
S3B3F5	98,8	55,0	3,8	133,0	4,8	1,0
S3B3F6	98,8	75,0	27,5	129,0	5,0	1,0
GD 5%	4,3	18,9	14,0	7,1	1,1	1,1
GD 1%	5,7	24,9	18,4	9,3	1,4	1,5

Tab. 65: Ertrag in dt/ha und auf 91% Trockenmasse umgerechnet

Variante	dt/ha (9%)	dt/ha FM	Variante	dt/ha (9%)	dt/ha FM	Variante	dt/ha (9%)	dt/ha FM
S1B1F1	36,7	37,6	S2B1F1	34,3	35,0	S3B1F1	40,3	41,3
S1B1F2	39,9	40,9	S2B1F2	39,5	40,4	S3B1F2	43,3	44,4
S1B1F3	39,1	40,1	S2B1F3	39,1	40,0	S3B1F3	42,3	43,2
S1B1F4	38,9	39,6	S2B1F4	41,9	43,0	S3B1F4	45,0	46,0
S1B1F5	40,3	41,2	S2B1F5	41,6	42,8	S3B1F5	43,4	44,4
S1B1F6	37,2	38,1	S2B1F6	36,2	37,0	S3B1F6	44,8	46,0
S1B2F1	35,0	35,7	S2B2F1	31,4	31,8	S3B2F1	40,9	41,8
S1B2F2	40,7	41,3	S2B2F2	41,4	42,3	S3B2F2	42,7	43,7
S1B2F3	37,4	38,4	S2B2F3	40,9	42,0	S3B2F3	42,7	43,7
S1B2F4	38,3	39,2	S2B2F4	40,8	41,8	S3B2F4	44,4	45,5
S1B2F5	40,3	41,1	S2B2F5	42,8	43,8	S3B2F5	43,8	44,8
S1B2F6	36,9	37,7	S2B2F6	36,4	37,2	S3B2F6	43,0	44,2
S1B3F1	35,9	36,7	S2B3F1	36,8	37,7	S3B3F1	41,6	42,6
S1B3F2	41,7	42,4	S2B3F2	44,6	45,6	S3B3F2	44,9	45,9
S1B3F3	39,8	40,9	S2B3F3	41,6	42,7	S3B3F3	44,1	45,0
S1B3F4	40,8	41,9	S2B3F4	43,4	44,6	S3B3F4	46,0	47,0
S1B3F5	42,5	43,5	S2B3F5	43,7	44,8	S3B3F5	47,6	48,8
S1B3F6	38,7	39,6	S2B3F6	39,4	40,5	S3B3F6	42,8	43,9
GD 5% über alles=2,6						Sorte	5%=0,7	1%=0,9
GD 1% über alles=3,4						Beizung	5%=0,7	1%=0,9
						Fungizid	5%=0,9	1%=1,2

Tab. 66: Überblick über die Ergebnisse der Stoppelbonitur nach der Ernte (pro Parzelle)

Variante	Stoppeln gesamt		Stoppeln grün		Stoppeln braun		Stoppeln weiß	
	Anzahl		Anzahl	in %	Anzahl	in %	Anzahl	in %
S1B1F1	113,0		42,0	36,9	57,3	51,1	13,7	11,9
S1B1F2	142,7		40,0	29,7	84,3	57,9	18,3	12,4
S1B1F3	148,7		53,7	36,3	79,7	53,6	15,3	10,1
S1B1F4	136,7		65,0	49,2	62,7	45,3	9,0	5,5
S1B1F5	123,3		70,7	58,1	52,3	41,5	0,3	0,5
S1B1F6	133,7		58,0	46,7	67,0	46,8	8,7	6,5
S1B2F1	117,3		38,3	32,7	67,0	57,4	12,0	9,9
S1B2F2	142,3		49,3	36,0	78,7	53,5	14,3	10,6
S1B2F3	136,7		57,3	42,1	67,3	49,1	12,0	8,8
S1B2F4	146,7		64,3	52,0	70,7	40,4	11,7	7,6
S1B2F5	136,0		69,7	50,0	64,7	48,4	1,7	1,6
S1B2F6	131,7		48,3	39,3	71,0	50,6	12,3	10,1
S1B3F1	132,3		44,7	33,8	71,0	53,5	16,7	12,7
S1B3F2	150,3		45,0	30,5	84,7	56,4	20,7	13,1
S1B3F3	182,0		73,3	40,3	92,3	50,2	16,3	9,4

S1B3F4	151,7	73,7	53,5	68,7	41,3	9,3	5,2
S1B3F5	152,3	87,0	53,2	63,7	45,5	1,7	1,3
S1B3F6	164,3	63,0	41,3	92,3	53,1	9,0	5,6
S2B1F1	112,7	8,3	7,2	96,3	85,7	8,0	7,1
S2B1F2	136,0	9,7	8,0	113,7	82,4	12,7	9,6
S2B1F3	117,3	16,3	13,7	92,0	78,7	9,0	7,6
S2B1F4	137,0	28,7	24,5	102,0	71,3	6,3	4,2
S2B1F5	135,3	36,3	25,3	98,3	73,9	0,7	0,7
S2B1F6	121,7	24,7	19,0	89,3	74,1	7,7	6,9
S2B2F1	100,3	7,3	7,2	86,0	85,8	7,0	7,0
S2B2F2	133,0	11,0	8,8	108,3	80,4	13,7	10,8
S2B2F3	129,7	15,0	11,3	104,3	80,8	10,3	7,9
S2B2F4	132,7	28,7	25,3	94,7	69,3	9,3	5,4
S2B2F5	156,7	48,7	28,5	107,0	70,5	1,0	1,0
S2B2F6	113,3	20,0	16,1	87,0	77,9	6,3	6,0
S2B3F1	134,3	10,0	7,6	115,3	85,5	9,0	6,9
S2B3F2	144,7	9,0	6,3	123,7	85,1	12,0	8,6
S2B3F3	153,7	17,0	11,2	121,7	79,1	15,0	9,7
S2B3F4	137,0	29,7	25,8	100,0	69,3	7,3	4,9
S2B3F5	150,0	38,3	24,0	110,0	75,0	1,7	1,1
S2B3F6	115,3	29,0	30,2	79,0	51,3	7,3	18,4
S3B1F1	129,7	16,7	13,1	98,7	75,8	14,3	11,1
S3B1F2	166,3	17,0	11,3	131,3	79,3	18,0	9,4
S3B1F3	139,3	23,7	17,0	95,7	68,7	20,0	14,4
S3B1F4	143,3	31,0	25,0	100,7	69,0	11,7	6,0
S3B1F5	132,0	50,0	37,2	80,7	61,7	1,3	1,1
S3B1F6	135,0	33,0	27,1	93,3	67,0	8,7	5,9
S3B2F1	116,0	15,3	13,1	83,3	71,9	17,3	15,0
S3B2F2	145,3	11,0	7,4	119,7	83,5	14,7	9,1
S3B2F3	134,0	23,3	17,4	89,7	67,0	21,0	15,6
S3B2F4	155,3	41,3	30,3	95,0	60,5	19,0	9,3
S3B2F5	130,0	55,0	38,5	70,0	55,4	5,0	6,1
S3B2F6	133,7	38,0	30,0	88,0	64,0	7,7	6,0
S3B3F1	147,3	14,3	9,8	108,0	73,2	25,0	17,0
S3B3F2	157,0	17,3	11,1	117,0	72,7	22,7	16,3
S3B3F3	152,3	28,0	18,8	98,7	64,4	25,7	16,8
S3B3F4	149,3	41,3	31,8	95,7	62,0	12,3	6,2
S3B3F5	152,7	70,0	44,9	80,7	53,0	2,0	2,1
S3B3F6	140,0	41,0	30,2	83,7	56,2	15,3	13,6
GD5%	43,1	17,5	11,6	36,6	11,9	7,5	6,1
GD1%	56,7	23,0	15,3	48,1	15,6	9,9	8,1

8.6 Wetterdatei Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2000-2003

Abb. 73. Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2000

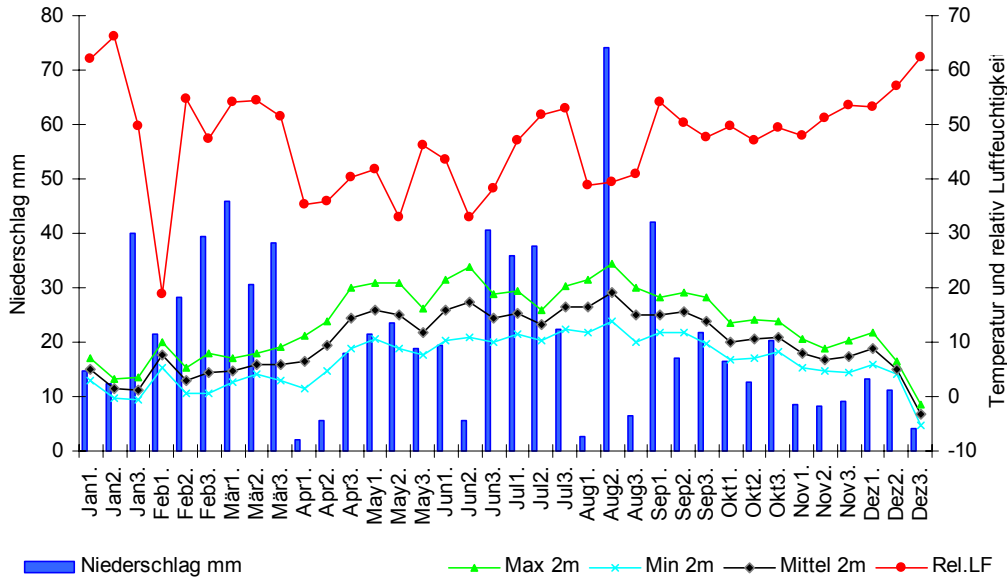


Abb. 74. Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2001

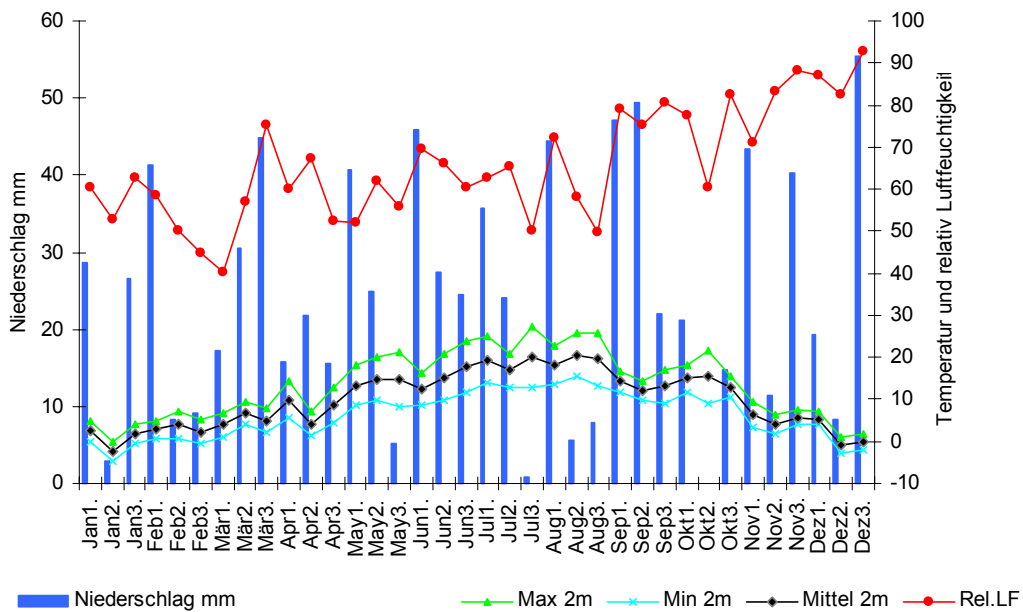


Abb. 75. Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2002

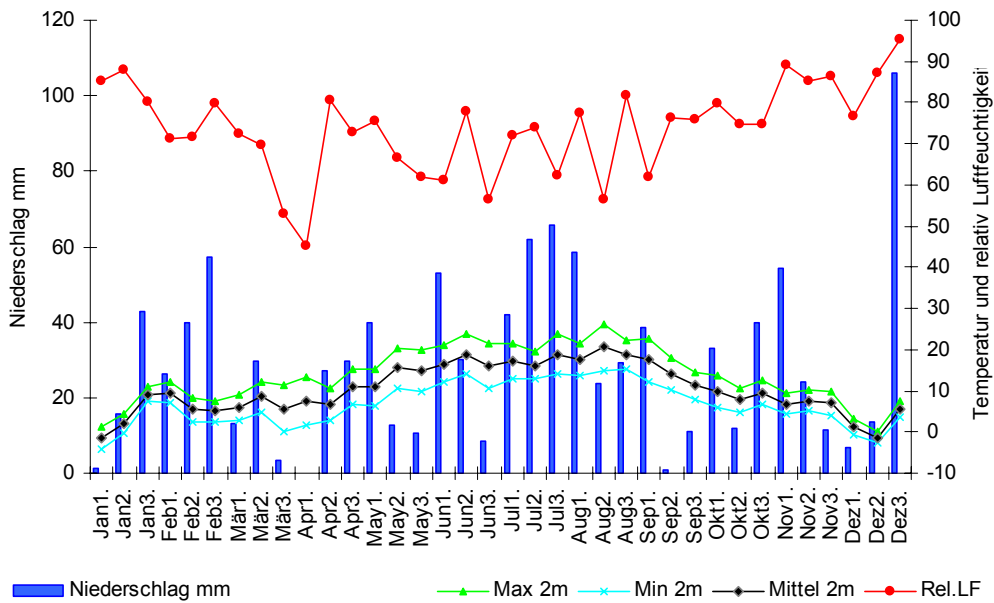


Abb. 76. Niederschlag-, Temperatur- und relativ Luftfeuchtigkeitverlauf 2003

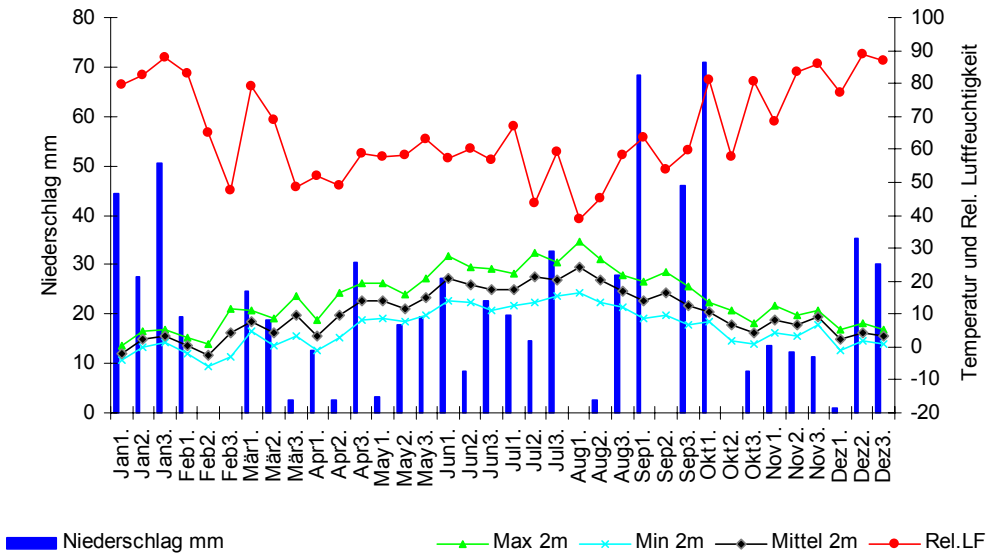


Abb. 77: BBCH - Entwicklungsstadium des Rapses (Paul, 2003)



Danksagung

Herrn Prof. Dr. H. Buchenauer, danke ich herzlich für die Möglichkeit, am Institut für Phytomedizin der Universität Hohenheim promovieren zu können.

Herrn Prof. Dr. V. H. Paul danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit der Durchführung dieser Arbeit im Labor für Biotechnologie und Qualitätssicherung der Fachhochschule Südwestfalen in Soest sowie für die wohlwollend kritischen und konstruktiven Anregung zu meiner Arbeit.

Dem Ministerium für Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen danke ich für die finanzielle Unterstützung der vorliegenden Arbeit.

Meinem Kollegen Herrn Dr. P. Dapprich gilt mein herzlicher Dank für seine stete Bereitschaft zu inhaltlich fundierten und anregenden Diskussionen und für seine konstruktiven Vorschläge bei den Korrekturen.

Meinen ehemaligen Kollegen in Soest danke ich für ihre Unterstützung: Herrn Dr. B. Gutter für die Unterstützung bei den PCR-Untersuchungen, Frau Dr. I. Föller und Herrn Dr. M. Henneken für die große Hilfe bei den Felduntersuchungen. Auch für die Unterstützung von Frau A. Holzmann, Frau K. Brandau, Frau S. Rose, Herrn Tran, Herrn Stemann von Versuchsgut Merklingsen des Fachbereiches Agrarwirtschaft der FH-SWF bedanke ich mich herzlich.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie – Hongyu und Yingluo – die mir während dieser Zeit verständnisvoll und liebevoll zur Seite stand.

Lebenslauf

Name Yong Liu
Geboren am 23.09.1964 in Tongnan, Chongqing, Volksrepublik China
Familienstand: verheiratet, eine 12 jährige Tochter

Schulbildung

1972 – 1977 Grundschule, Tongnan
1977 – 1979 Mittlere Schule, Tongnan
1979 – 1982 Höhere Schule, Tongnan, Abschluss: Hochschulreife

Studium und Berufsbildung

06-08/07/1982 staatliche Aufnahmeprüfung für ein Universitätsstudium
09/1982 – 07/1986 Studium der Gartenbau an der Landwirtschaftlichen Universität Sichuan, Abschluss: **Bachelor**, Thema: Untersuchung zur Biologie des Pilzes *Alternaria alternata* am Apfel
22-23/02/1986 staatlich Aufnahmeprüfung zum Magister-Studiengang
09/1986 – 07/1989 Studium der Phythopathologie an der landwirtschaftlichen Universität Sichuan, Abschluss: **Magister der Naturwissenschaft**,
Betreuer: Prof. Huiqiong Leng, Thema: „Untersuchung zu Kerngehäusefäule am Apfel -- Entwicklungskreislauf von *Alternaria alternata* und dessen chemische und biologische Bekämpfung“

Beruflicher Werdegang

08/1989 – 09/1996 Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Pflanzenschutz der Landwirtschaftswissenschaftlichen Akademie der Provinz Sichuan
Forschung von Krankheiten und Resistenzen an Rapspflanzen,
Mikrosporenkulturmethode beim Raps,
Forschung zu biologischen Bekämpfungsmaßnahmen gegen *Sclerotinia sclerotiorum* und *Alternaria alternata*
seit 01/1993 Leiter des Forschungslabors für Pflanzenkrankheiten und Resistenz
seit 10/1996 Associate Professor am Institut für Pflanzenschutz der Landwirtschaftswissenschaftlichen Akademie der Provinz Sichuan
seit 01/1996 Betreuung von Magisterstudenten

an der Landwirtschaftlichen Universität Sichuan (Phytopathologie),
Yaan und an der Universität Sichuan (Biochemie), Chengdu
03/2000 – 12/2004 Wissenschaftliche Mitarbeiter im Labor für Biotechnologie und
Qualitätssicherung der Universität-Gesamthochschule Paderborn (bis
2000) / Fachhochschule Südwestfalen (ab 2001), Fachbereich
Agrarwirtschaft, Soest

Fortbildung

10/1996 Virusdiagnose bei Pflanzen, Landwirtschaftliche Universität Nordwest
09/1997 – 07/1998 Sprachkurs am Ausbildungszentrum für deutsche Sprache an der
University international Business and Economics, Beijing
03/2001 – 06/2001 Fortbildung an der Universität Hohenheim "Gentransferverfahren in
Tabak und Raps"

Auslandsaufenthalt

04/1991 – 03/1992 Station de Pathologie Vegetale, Institut National de la Recherche
Agronomique (INRA), Le Rheu, Rennes, Frankreich
Forschung bei Krankheiten und Mikrosporenkultur an Raps
10/1998 – 02/2000 Stipendiat der Deutschen Stiftung für internationale Entwicklung
04/1999 - 06/1999 Lehrstuhl für Phythopathologie, Fakultät für Biologie an der
Universität Konstanz, Untersuchung zu endophytischen Pilzen am
Schilf
07/1999 - 02/2000 Labor für Biotechnologie und Qualitätssicherung, Universität-GH
Paderborn, Abteilung Soest

Erklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig ohne fremde Hilfe angefertigt und keine anderen als die angegebenen und bei Zitaten kenntlich gemachten Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Die Arbeit wurde weder in gleicher, noch in ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Soest, den 23. September 2004

(Yong Liu)

