

1. Einleitung

1.1. Die Genetik des Erregers *Rhizoctonia solani*

Auslöser der Späten Rübenfäule an Zuckerrüben (engl. root and crown rot) ist der bodenbürtige Pilz *Rhizoctonia solani* Kühn, welcher 1858 beschrieben wurde (Kühn, 1858). Hierbei handelt es sich um einen vielkernigen Pilz im Stamm Basidiomycota. Die Gattung *Rhizoctonia* ist eine große, komplexe, aber auch sehr diverse Gruppe, in der über 100 Arten beschrieben sind. Anhand der Hauptfruchtform können die drei Gattungen *Thanatephorus* (anamorph = *R. solani* Kühn), *Ceratobasidium* (anamorph = zweikernige *Rhizoctonia*) und *Waitea* (anamorph = *R. zaeae*, *R. oryzae* und weitere) unterschieden werden (Ogoshi, 1987; Carling & Sumner, 1992). Die Gattung *Thanatephorus* wird dabei der Klasse Hymenomycetes zugeordnet. Die Gruppe *R. solani* Kühn wird in 13 verschiedene Anastomosegruppen (AG) untergliedert (Anderson, 1982; Ogoshi, 1987; Carling, 1996; Carling et al., 2002a; Hallmann et al., 2007). Diese Einteilung beruht auf der Fähigkeit der einzelnen Isolate zur Hyphenfusion miteinander (Richter & Schneider, 1953; Anderson, 1982; Carling, 1996). Bei nah verwandten Isolaten kommt es zur Ausbildung einer perfekten Fusion. Bei genetisch weniger nah verwandten Isolaten kommt es nicht zu diesen perfekten Reaktionen, sondern zu imperfekten Fusionen, in deren Verlauf die umgebenden Zellen absterben (Carling, 1996). Damit kommt die somatische und vegetative Inkompatibilität zum Ausdruck, welche dazu führt, dass die Gruppen genetisch isolierte Populationen bilden (Carling, 1996; Agrios, 1997). Gleichzeitig spiegelt die Einteilung in Anastomosegruppen auch physiologische Leistungen des Pilzes wider, wie Anforderungen an die Lebensbedingungen oder die Pathogenität. Es ist damit der Versuch, diese große, diverse Gruppe anhand der phylogenetischen Verwandtschaft in logische, zusammengehörende kleinere Gruppen einzuteilen (Richter & Schneider, 1953;

Anderson, 1982; Ogoshi, 1987). Das AG Konzept kann heute auch mittels molekulargenetischer Untersuchungen bestätigt werden (Toda et al., 1999; Guillemaut et al., 2003). Neben dieser älteren, aber immer noch aktuellen Einteilung, haben sich in den letzten Jahren weitere Unterteilungsmöglichkeiten in Untergruppen der einzelnen AGs entwickelt. Diese Untergruppierungen können anhand von biochemischen, genetischen oder pathogenen Unterschieden vorgenommen werden (Cubeta & Vilgalys, 1997). Ogoshi (1987) hat für diese den Begriff der „intraspecific group“ eingeführt. Die AG 2 ist diejenige Gruppe, welche dabei die meisten Untergruppen enthält (Carling et al., 2002b). So lässt sich über eine Auftrennung von Isozymen einer oder verschiedener Enzymklassen nach dem Molekulargewicht und die Erzeugung von Polymorphismen eine taxonomische Differenzierung bzw. Identifizierung vornehmen (Jabaji-Hare, 1996). Als Beispiele seien hier die Untergliederungen von AG 2 und AG 3 mittels Isozymanalysen unterschiedlicher Klassen aufgeführt (Laroche et al., 1992; Liu & Sinclair, 1992) oder die Analyse von nur einer Enzymklasse wie z.B. mittels „pectic isozymes“ (zymogram). Mit Hilfe dieser Methode konnte MacNish et al. (1993) eine Unterteilung für AG 8 und Schneider et al. (1997) für AG 2 durchführen. Daneben ist eine weitere Unterteilung der AG 2-2 auch mittels Unterschieden in der Fettsäurezusammensetzung möglich (Stevens Johnk & Jones, 1993). Große Bedeutung für die Taxonomie haben in den letzten Jahren die molekulargenetischen Methoden bekommen. Zu nennen sind hier als Beispiele eine mögliche Identifizierung und taxonomische Differenzierung mittels „restriction fragment length polymorphism“ (RFLP) (Vilgalys & Gonzalez, 1990) oder „random amplified polymorphic DNA“ (RAPD) (Yang et al., 1995; Toda et al., 2004). Häufig werden auch die ribosomalen „internal transcribed spacer“ (ITS) Sequenzen genutzt, indem man diese Genombereiche sequenziert oder nach Amplifizierung mittels spezifischer Primer für die Unterteilung nutzt (Liu & Sinclair, 1992; Salazar et al., 1999; Carling et al.,

2002b, Führer Ithurrart, 2003). Gute Überblicke zu diesem Thema finden sich auch bei Cubeta et al. (1996), Kuninaga (1996) und Cubeta & Vilgalys (1997).

Insgesamt ist die Genetik der Gattung *Rhizoctonia* sehr komplex und leider auch immer noch wenig verstanden (Adams, 1996). Die genannten molekularen Untersuchungen sollten helfen zu einem besseren Verständnis des komplexen Gebietes der genetischen Verwandtschaft innerhalb der Gattung *Rhizoctonia* zu führen (Vilgalys & Cubeta, 1994).

1.2. Der Lebenszyklus und Infektionswege des Erregers

Die Überdauerung des Erregers kann durch die Bildung von langlebigen Sklerotien, als Hyphenmyzel im Boden oder in Form von Basidiosporen geschehen (Agrios, 1997). Bei Sklerotien handelt es sich um Zusammenballungen von sehr stark melanisierten Hyphen des Erregers, die damit auch lebensfeindliche Bedingungen gut überstehen können (Sumner, 1996). Beobachtungen aus Australien zeigen, dass die Sklerotien von AG 11 ohne Probleme mehrere Zyklen von Austrocknung und wiederholter Keimung ohne Einbuße an Vitalität überstehen können und damit gut an die dort herrschenden Bedingungen angepasst sind (Kumar et al., 2002). Neben dieser Langzeitüberdauerung kann der Erreger kurze Zeit als Myzel im Boden überleben, wobei dies als Saprophyt gebunden an der organischen Substanz auch über eine längere Zeit möglich ist (Keijer, 1996). Die sexuell gebildeten Basidiosporen spielen zwar für die Überdauerung keine bedeutende Rolle, wohl aber für die genetische Variation und die sehr weite Ausbreitung. Die Ausbreitung über Sporen spielt vor allem bei den Blatterregern von *R. solani* eine Rolle, welche auch an Zuckerrüben auftreten können (Naito, 1996), unter europäischen Klimaverhältnissen aber nicht beobachtet werden. Für die bodenbürtigen Erreger ist dieser Infektionsweg zu vernachlässigen. Hier spielt die vegetative Ausbreitung über Myzelwachstum im Boden die größere Rolle. Die Ausbreitung von einer Nahrungsgrundlage zur nächsten ist als relativ begrenzt anzusehen und ist

abhängig von den Bodenverhältnissen und der Anfälligkeit der angebauten Kulturen (Bailey et al., 2000; Otten et al., 2001; Otten et al., 2005). Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass *R. solani* über die Verschleppung mit Erntemaschinen auf andere Felder gelangen kann und sich dort dauerhaft etabliert (MacNish et al., 1993; Agrios, 1997).

Wenn das Myzel im Boden eine neue Wirtspflanze erreicht oder aus den Sporen auskeimt, bildet *R. solani* ein recht spezifisches t-förmiges Myzelwachstum und spezielle Infektionskissen aus. Ausgehend von diesen Strukturen penetriert und infiziert der Erreger seine Wirtszellen. Dies geschieht vor allem über den Aufbau von mechanischem Druck (Keijer, 1996). Daneben sind aber auch Enzyme beteiligt, welche die Zellwand der Pflanze angreifen und degradieren (Weinhold & Motta, 1973; Weinhold & Sinclair, 1996; Gvozdeva et al., 2006). Als nekrotropher Erreger geht der Besiedlung durch den Pilz immer eine Abtötung des Gewebes voraus (Ruppel, 1973; Weinhold & Sinclair, 1996). Von befallenden Wirtspflanzen ist dann eine weitere Ausbreitung zur nächsten Wirtspflanze möglich (Otten et al., 2005) oder es kommt zur Bildung der Sklerotien als Überdauerungseinheiten des Pilzes. An Zuckerrüben werden die Sklerotien nicht gleichmäßig verteilt gebildet, sondern es kommt zu einer vermehrten Bildung im Bereich stark befallener Pflanzen. Die Anzahl der gebildeten Sklerotien steigt mit zunehmender Befallsstärke. Die meisten Sklerotien werden dabei in den obersten 10 cm des Bodens gebildet (Naiki & Ui, 1977). In japanischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass in Zuckerrüben hauptsächlich die Überdauerung in Form von Sklerotien für die spätere Neuinfektion und das Befallsauftreten von Bedeutung ist (Hyakumachi et al., 1990). Damit ist der Infektionszyklus von *R. solani* geschlossen. Einen guten Überblick zu diesem Thema findet man bei Agrios (1997).

1.3. Der Erreger an Zuckerrüben

Die Untergruppe 2-2 ist der Verursacher der Späten Rübenfäule an Zuckerrüben (Herr, 1996). Für Europa und Deutschland konnte hauptsächlich die AG 2-2 IIIB als Erreger der Späten Rübenfäule nachgewiesen werden (Coosemans et al., 2001; Zens, 2001; Führer Ithurrart, 2003). In Amerika ist neben der AG 2-2 IIIB auch die AG 2-2 IV für die Krankheit verantwortlich (Engelkes & Windels, 1996). Die Isolate der AG 2-2 IIIB sind gegenüber Zuckerrüben aggressiver als die Isolate der AG 2-2 IV (Windels & Brantner, 2007). Insgesamt lassen sich von Zuckerrüben aber auch andere AGs, wie AG 3 und 5 sowie zweikernige Isolate, in geringen Anteilen isolieren (Windels & Nabben, 1989; Rush et al., 1994). Neben der Späten Rübenfäule löst *R. solani* im Erregerkomplex mit anderen Erregern, wie *Pythium ultimum*, *Aphanomyces cochlioides*, *Phoma betae* und *Fusarium oxysporum*, auch Keimlingsfäulen an jungen Zuckerrübenpflanzen aus (Brendler et al., 2008). Hauptverursacher dieser Krankheit ist aber nicht die AG 2-2, sondern die AG 4, welche deshalb ebenfalls häufig auch noch von älteren Zuckerrüben isoliert werden kann (Windels & Nabben, 1989; Rush et al., 1994). Entsprechend lassen sich zwischen diesen beiden Gruppen auch Unterschiede in der Pathogenität feststellen. Während die Isolate der AG 2 an älteren Zuckerrübenpflanzen deutlich aggressiver sind, sind es an jungen Zuckerrübenkeimpflanzen die Isolate der AG 4 (Herr & Roberts, 1980).

Sehr charakteristisch für das Auftreten der Späten Rübenfäule ist das Auftreten des Pathogens in Befallsnestern im Rübenbestand (Herr, 1996). Auch in anderen Kulturen, wie Getreide, Kartoffeln, Tulpen und Rasen, kommt es zum Auftreten von *R. solani* in Befallsnestern (Jager & Velvis, 1995; MacNish, 1996; Schneider et al., 2001). Da physikalische Bodenunterschiede zwischen Befallsnestern und befallsfreien Stellen keinen Hinweis für den Ursprung dieser Nester liefern, wird gefolgert, dass biologischen Ursachen dafür verantwortlich sind (MacNish, 1996). Eng verknüpft mit

diesem Phänomen ist das Vorkommen der „soil suppressiveness“, also von krankheitsunterdrückenden Böden. Die Suppressivität von Böden ist biologischen Ursprungs und wird wahrscheinlich durch antagonistische Mikroorganismen ausgelöst (Hyakumachi, 1996; Mazzola, 2002; Weller et al., 2002; Garbeva et al., 2006; Hallmann et al., 2007). Dieser Aspekt wird im folgenden Kapitel zu biologischen Kontrollmöglichkeiten noch einmal aufgegriffen und vertieft. Entsprechend können suppressive Böden durch die Zugabe von organischem Material induziert werden, die eine Anregung des im Boden vorhandenen mikrobiellen Bodenlebens zu Folge haben (Huber & Sumner, 1996). Durch Einmischen suppressiver Böden kann die Suppressivität auf vorher anfällige Böden übertragen werden (Hallmann et al., 2007). Hierfür ist die Übertragung von möglichen Antagonisten über die Einbringung des organischen Materials verantwortlich. Durch starke Erhitzung kann die Suppressivität hingegen auch zerstört werden (Mazzola, 2002; Mazzola et al., 2007). Der Übergang von einem zum anderen Boden ist damit möglich (Henis et al., 1979). Für holländische Flächen konnten Schneider & Lamers (2008) zeigen, dass Suppressivität nicht von der Fruchtfolge abhängt, sondern es sich dabei um einen standortspezifischen Prozess handelt. Auch für Zuckerrüben sind suppressive Böden nachgewiesen, welche sich nach einigen Jahren der Monokultur ausbilden. In diesem Fall ist das Phänomen ebenfalls mit einer gesteigerten Antagonistenzahl zu erklären. In den Untersuchungen konnten im Gegensatz zu den förderlichen Böden in den suppressiven Böden dreifach höhere Gehalte an Bakterien, insbesondere verschiedene *Bacillus* spp., nachgewiesen werden (Hyakumachi et al., 1990). Beim Anbau von Zuckerrüben in der Fruchtfolge kommt es zu einem An- und Abstieg der Erregerpopulation im Boden. Während beim Anbau von Zuckerrüben ein dramatischer Anstieg der Population von *R. solani* zu beobachten ist, fällt dieser in der folgenden Kultur dann wieder schnell ab (Herr, 1987). Aus geringen Erregerpopulationen können sich auf diese Weise starke Befallsnester in Zuckerrüben

entwickeln, was dazu führt, dass eine Vorhersage des zu erwartenden Befalls bisher nicht möglich ist (Herr, 1996).

1.4. Die wirtschaftliche Bedeutung des Erregers in Zuckerrüben

In den letzten Jahren ist es durch die Späte Rübenfäule in Deutschland und anderen Zuckerrüben anbauenden Ländern zu einer Zunahme der Schäden gekommen (Brendler et al., 2008). In Europa sind nach der letzten Umfrage des Internationalen Instituts für Rübenforschung (IIRB) rund 36 000 ha von der Krankheit befallen (Ayala Garcia et al., 2001). In Amerika gehen Schätzungen von einem wirtschaftlichen Verlust von ungefähr 2 % aus (Schneider & Whitney, 1986; Kiewnick et al., 2001). Dabei werden Ertragsausfälle von bis zu 60 % beobachtet (Allen et al., 1985), wobei diese von Feld zu Feld sehr unterschiedlich ausfallen können (Herr, 1996; Kiewnick et al., 2001). Ähnliche Ertragsausfälle werden durch den Befall auch in Europa verzeichnet (Büttner et al., 2002). Bei Befall kommt es neben dem reinen Ertragsrückgang auch zu einer deutlichen Verschlechterung der technischen Qualität, was dann zu weiteren Problemen während des Fabrikationsprozesses führt (Bruhns et al., 2004).

Für Deutschland kommt als ein weiteres Phänomen hinzu, dass der Erreger lediglich in vier Hauptbefallsgebieten zu deutlichen Schäden führt, obwohl er auch außerhalb dieser Gebiete nachzuweisen ist und somit wahrscheinlich in allen Ackerböden vorkommt (Führer Ithurrart, 2003). Bei den Hauptbefallsgebieten handelt es sich um den Raum Plattling in Niederbayern, das Gebiet um St. Michaelisdonn in Schleswig Holstein, im Rheinland und Südbaden (Büttner et al., 2002).

1.5. Die integrierte Bekämpfung von *R. solani* in Zuckerrüben

Für *R. solani* in Zuckerrüben wird eine integrierte Bekämpfung des Erregers angestrebt (Herr, 1996). Eine allgemeine Definition des integrierten Pflanzenschutzes (IPS)

beschreibt diesen als die Kombination von Verfahren, bei denen unter vorrangiger Berücksichtigung von biologischen, biotechnischen, anbau- und kulturtechnischen Möglichkeiten die Anwendung des chemischen Pflanzenschutzes auf das notwendige Maß beschränkt wird. Für Deutschland ist der IPS inzwischen im Pflanzenschutzgesetz verankert und auch die EU hat diesen zu ihrer Zielsetzung erklärt (Hallmann et al., 2007).

Somit sollten bei der Bekämpfung von *R. solani* nicht nur der chemische Pflanzenschutz, sondern auch weitere Bekämpfungsmöglichkeiten berücksichtigt werden. Zu nennen sind die Fruchtfolgegestaltung, die Bodenbearbeitung, biologische Bekämpfungsverfahren und die Resistenzzüchtung, auf die nun im Folgenden genauer eingegangen wird.

1.5.1. Chemische Bekämpfung

In Europa ist eine chemische Bekämpfung nicht möglich, da keine Fungizide gegen den Erreger zugelassen sind. In Versuchen mit Fungiziden in Deutschland fanden sich zudem bisher nur sehr unbefriedigende Ergebnisse (Ettl & Weislmeier, 2000). Der Einsatz chemischer Fungizide ist bei Zuckerrüben über eine Saatgutbeizung oder durch die Applikation auf dem Feld möglich. Bei einer Ausbringung über das Saatgut lässt sich aber lediglich der frühe Befall im Keimlingsstadium reduzieren, da die Wirkungsdauer der Fungizide auf zwei bis drei Wochen beschränkt ist (Windels & Brantner, 2002 und 2003). In Amerika werden deshalb noch weitere Applikationen im Feld gegen *R. solani* durchgeführt (Stump et al., 2004; Poindexter et al., 2005). Die späteren Infektionen geschehen hier häufig durch Sklerotien des Erregers, welche durch mechanische Unkrautbekämpfungsmaßnahmen oder Wind- bzw. Wassererosion in den Kopfbereich gelangen, wo sie für die Applikation von Fungiziden eher erreichbar sind (Schneider et al., 1982; Jacobsen et al., 2005). In Zuckerrüben spielen Mittel und

Applikationszeitpunkt eine Rolle (Jacobsen et al., 2005; Poindexter et al., 2005). Eine gute Wirkung erzielt in der Regel die Ausbringung von Strobilurinen. Strobilurine müssen protektiv ausgebracht werden, da sie nicht in der Pflanze verlagert werden. Durch die lange Depotwirkung gelten sie aber als quasisystemisch (Hallmann et al., 2007). Auch bei der Bekämpfung von *R. solani* an Zuckerrübe konnten Zens & Dehne (2000) nur eine schlechte Mobilität des applizierten Wirkstoffs feststellen. Die Applikation sollte deshalb möglichst vor oder zum Zeitpunkt der durch die Bearbeitung ausgelösten Infektion im Kopfbereich erfolgen (Stump et al., 2004; Jacobsen et al., 2005), spätestens aber im 2- bis 4-Blattstadium (Poindexter et al., 2005), da deutliche Schäden an den Zuckerrüben nicht mehr rückgängig gemacht werden können (Windels & Brantner, 2002). Bei zu später Applikation, in diesem Fall bei einer Bodentemperatur von über 23 °C, ist kein positiver Ertragseffekt mehr nachzuweisen, da Pflanzenausfälle dann schon vorliegen. Dies wirkt sich negativ auf den Ertrag aus (Khan et al., 2005b).

Auch in Gurken und Bohnen sind Bekämpfungserfolge mit Fungiziden zu verzeichnen (Kataria et al., 2002). Ein guter Überblick zur Bekämpfung von *R. solani* in einer Vielzahl von Kulturen mit Fungiziden findet sich bei Kataria & Gisi (1996). Es gibt daneben auch Ansätze den chemischen Pflanzenschutz mit biologischen Verfahren zu verbinden, um auf diesem Weg bessere Wirkungen zu erzielen (Kiewnick et al., 2001; Zens, 2001; Kataria et al., 2002). Gerade im Bereich der Pillierung von Zuckerrüben wird versucht die Kombination von chemische Mittel mit biologischen Antagonisten in praxistaugliche Produkte umzusetzen (Danisco, 2007). Auf Grund der bisher fehlenden Möglichkeit des chemischen Pflanzenschutzes gegen *R. solani* in Zuckerrüben in Europa, hat die Suche nach weiteren Bekämpfungsmöglichkeiten im Sinne der integrierten Bekämpfung eine so große Bedeutung.