

Methoden für Resistenzprüfung von Rapsorten auf Befall mit *Verticillium dahliae* Kleb. und einige epidemiologische Beobachtungen

Dr. W. KRÜGER

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland,
Messeweg 11/12, D - 300 Braunschweig

Einleitung

Verticillium dahliae hat sich in den letzten Jahren besonders im nördlichen Teil der Bundesrepublik Deutschland ausgedehnt, wie bei einer Befallsanalyse 1987 deutlich wurde (Tabelle 1) (Krüger, 1989); aber auch in anderen Gebieten kam der Pilz vor, jedoch in den meisten Fällen auf niedrigem Befallsniveau.

Bekämpfungsmaßnahmen oder zumindest solche, die einer Verbreitung entgegenstehen, sind nicht wirkungsvoll. Ein gewisser Effekt ist bei weitgestellter Fruchtfolge beobachtet worden (Svensson and Lerenius, 1986). Es wird daher viel Hoffnung auf weniger anfällige Sorten gesetzt. Leider konnten diesbezügliche Beobachtungen nur in geringem Maße durchgeführt werden, da an den meisten Versuchstandorten kein oder nur schwacher Befall vorlag. Diese vereinzelt beurteilten ließen keinen Schluß auf geringeren Befall bei einigen Sorten zu. In Gewächshausversuchen und nach kontrollierten Inokulationen des Bodens sollten daher die bestehende Methode und neue geplante überprüft und fortentwickelt werden, damit Sorten jederzeit beurteilt werden können.

Methoden

Die Versuche wurden im Gewächshaus und im Freiland durchgeführt. Grundlage der Infektion war die Anzucht des Pilzes auf sterilisierten Haferkörnern, die im noch feuchten Zustand in den Boden eingearbeitet worden sind oder von denen eine Suspension hergestellt wurde, in welche die in "Jiffy-Töpfe" angezogenen Rapspflanzen gestellt worden sind (Grøntoft, 1987). Von diesen Töpfen ist vorher der Boden entfernt worden. - Wird das Inokulummaterial getrocknet, dann reicht ein Drittel der angegebenen Menge aus. - Außerdem wurden befallene Rapsstängel zerkleinert und verwendet. Versuchskriterien waren: a) die Menge und Zubereitung des Inokulums, b) die Schichttiefe des Inokulums im Boden, c) der Beurteilungszeitpunkt, d) die Sortenanfälligkeit. Im Freiland wurde a) das Inokulum breitwürfig verteilt und in die obersten 5 cm eingearbeitet oder b) das Inokulum in einer vorher etwa 10 cm tief gezogenen Furche eingebracht und mittels Federzahn-

kultivator verteilt. Diese Furche wurde etwas zugeharkt, die Saat per Hand eingedrillt und mit Erde etwa 1 - 2 cm abgedeckt.

Der Befall der Pflanzen wurde nach folgender Skala (1 - 9) beurteilt:

- 1 = kein Befall
- 2 = geringe (1 - 5 cm) und einseitige Ausbreitung von Mikrosklerotien
- 3 = noch geringe einseitige Ausdehnung der Besiedlung mit Sklerotien (3 - 10 cm Stengelabschnitt) auch im Innern des Stengels
- 4 = Zwischenwert
- 5 = sehr deutliche Symptomausprägung. Die Sklerotien haben ein 15 - 20 cm langes Stengelstück besiedelt, auch im Innern ist das Mark dicht mit Sklerotien befallen.
- 6 = Zwischenwert
- 7 = mehr als die Hälfte des Stengels weist Sklerotien auf, wobei der Befall überwiegend den Stengel rundum erfaßt; im Innern ist das Mark rundum besiedelt
- 8 = Zwischenwert
- 9 = Pflanzen völlig mit Sklerotien bedeckt und abgestorben.

Diese Skala soll demnächst geringfügig verändert werden. Die Bearbeitung hat Frau Dr. Ahlers vom Pflanzenschutzamt Hannover übernommen.

Ergebnisse

Einfluß von Inokulummenge und Schichttiefe im Boden

Die Tabelle 2 bringt die Ergebnisse dieses Versuches. Wie aus den Zahlen entnommen werden kann, war der stärkste Befall bei der dritten Bonitur zu beobachten, das heißt nach der Reife der Pflanzen. Zur Zeit des Schwadlegens (EC 85) (Schütte, Steinberger und Meier, 1982) war der Befall gering und das unterstützt die Beobachtungen im Freiland, bei denen nur wenige Pflanzen Symptome aufwiesen, die auch noch begrenzt waren. Die unterschiedliche Inokulummenge von 2, 4 und 6 % hatte keinen großen Einfluß, so daß die geringste Hafermenge von 2 % ausreichend war. Bei dieser geringen Menge sollte die inokulierte Schicht etwas tiefer bei 5 bis 8 cm und nicht bei 3 bis 5 cm liegen.

Eine Variation der "Jiffy-Topf-Methode", bei der die jungen Pflanzen im unterschiedlichen Alter von zwei oder fünf Laubblättern in die Suspension gestellt wurden, ergab bei zehn Sorten keine Unterschiede in der Befallsstärke, es wird auf die tabellarische Wiedergabe der Daten verzichtet.

Bei einem anderen Versuch wurden die Haferkörner geschrotet, um eine gleichmäßigere Verteilung zu erreichen, oder ganz appliziert; außerdem wurden die Inokulummenge und die Schichttiefe im Boden variiert. Auch bei dieser Methode ist es unerheblich, ob das Inokulum noch feiner verteilt wird; der Befall war mit einem Wert über sieben sehr hoch. Bei der geringsten Menge von 1 % trat *V. dahliae* bei der geschroteten Serie etwas stärker auf. Allgemein war die Krankheit ebenfalls ausgeprägter, wenn das Inokulum im ganzen Topf von zwei bis elf Zentimeter Tiefe verteilt war, als in Schichten von zwei bis sieben oder sieben bis elf Zentimetern, jedoch war der Befall so stark, daß eine geringe Inokulummenge empfohlen werden kann.

Im Freiland wurde die Wirkung befallener Rapsstengel mit der von infizierten Haferkörnern verglichen. Je m² wurden 400 g zerkleinerte Rapsstengel oder 500 g Haferkörner in die oberste Bodenschicht eingearbeitet. Der Befall war sehr unterschiedlich und zwar hatten Rapsstengel nur einen Befall mit dem Wert 2,7 bewirkt, während nach Applikation der Haferkörner ein solcher von 5,3 erreicht wurde. Der Grund ist nicht in der 100 g geringeren Menge zu sehen, sondern sicherlich im geringen Besatz mit Mikrosklerotien und Myzel bei befallenen Stengeln.

Ein weiterer Versuch wurde mit Inokulum in den Reihen durchgeführt, bei denen ebenfalls befallene Stengel oder Haferkörner in ähnlicher Menge eingearbeitet worden waren. Auch bei diesem Versuch betrug der Durchschnittsbefall bei 17 Sorten = 1,8, wenn Rapsstengel eingearbeitet waren und 6,6 nach Haferkörner-Applikation. Wurden die Haferkörner geschrotet, dann erhöhte sich der Befall nicht.

Bei den Gewächshausversuchen wurde auch der Einfluß der Temperatur auf die Symptombildung geprüft, wobei wieder beide Inokulationsmethoden verglichen wurden (Tabelle 3). Bei der "Haferkornmethode" konnte ein etwas stärkerer Befall als mit der "Jiffy-Topf-Methode" erreicht werden. Die Temperatur des Gewächshauses spielte bei der Symptombildung eine bedeutende Rolle, bei 20° C konnte der Versuch bereits am 11. 07. abgeschlossen werden. Standen die Pflanzen bei 17° bis 19° C, dann erfolgte die Endbonitur einen Monat später und bei 14° bis 16° C wurde der Versuche abgebrochen, weil sich fast keine Symptome bis zum 10. August entwickelt hatten.

Ertragsbeeinflussung

Infolge der Spätsymptomentwicklung bei Raps ist die Ertragsverringeringung nicht so gravierend, wie nach Infektion mit Phoma lingam. Einleitende Analysen an Einzelpflanzen, bei denen der Befallsgrad und der Ertrag bestimmt wurden, ergaben eine Verringerung um 30 % bei mittelschwer erkrankten Pflanzen (Befallsgrad 5 - 7) und um 45 % bei stark befallenen (9). Weitere Versuche sind diesbezüglich angelegt worden.

Symptomausbreitung und Schotenbefall

Bei der Beurteilung der Symptomausbreitung fiel auf, daß sich V. dahliae nicht nur nach künstlicher Injektion in die Stengelbasis, sondern auch nach Infektion der Wurzeln nach der Schotenausbildung und Abreife im oberen Stengelbereich zeigte. Aus dem Innern der Schoten entnommene Proben ergaben die Anwesenheit von V. dahliae. Ein Teil der Samen selbst war ebenfalls befallen. Es ist jedoch nicht so, daß in jeder befallenen Schote auch alle Samen den Pilz enthalten, es gab ebenfalls viele, die noch frei von Befall waren. Eine genaue Beschreibung des Symptoms an den Schoten und besonders wann die Schote befallen sein muß, damit auch der Samen den Pilz enthält, steht noch aus.

Zusammenfassung

1. Im Gewächshaus kann mit der "Jiffy-Topf"- oder "Haferkörnermethode" starker Befall des Rapses mit V. dahliae erreicht werden.
2. Inokulummenge, Schichttiefe des inokulierten Bodens und Expositionsdauer der Pflanzen in einer Mikrosklerotien-Suspension (Jiffy-Topf-Methode) sind von untergeordneter Bedeutung.
3. Die Temperatur sollte etwa 20^o C betragen, die Symptome bilden sich dann schneller aus. Nach bisherigen Ermittlungen betrug die Ertragsreduktion bei mittelstark und sehr stark befallenen Pflanzen etwa 30 - 45 %.

4. Schoten- und Samenbefall wurden besonders bei Gewächshausversuchen nachgewiesen, bei denen sich die Symptome sehr schnell in den Pflanzen ausbreiteten und den oberen Teil der Pflanze erreichten.

Summary

In greenhouse experiments a severe infection of oil seed rape ^{with *V.dahliae*} can be obtained with the "Jiffy-pot" method as well as with the "oat kernel" method.

Inoculum amounts, inoculum layers in the soil and time of exposition of plants in microsclerotia/mycelium-suspension when the "Jiffy-pot" method was applied are of minor importance.

The temperature should be about 20^o C and slightly more, when symptoms developed within "normal" times. A delay of 4 weeks was experienced when the temperature was about 17 - 19^o C.

Yield reductions have to be expected, which were up to 30 - 45 % in completely infected plants. This was determined on single (4 x 10 plants) infected plants in the field.

Literaturverzeichnis

- Krüger, W.: Untersuchungen zur Verbreitung von *Verticillium dahliae* Kleb. und anderen Krankheits- und Schaderregern bei Raps in der Bundesrepublik Deutschland. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **41**, 49 - 56, 1989.
- Svensson, C. and C. Lerenius: An investigation on the effect of *Verticillium* Wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) on oilseed rape. Pers. communication.
- Gröntoft, M.: *Verticillium* wilt on rape seed: Symptoms and resistance. 7th Intern. Rape Seed Congress, Poznan 1987. p. 248.
- Schütte, F., J. Steinberger und U. Meier: Entwicklung des Rapses einschl. Rüb- sen, Senfarten und Ölrettich. Merkblatt Nr. 27/7 der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig, 1982.

Tabelle 1: Regionale Zusammenstellung des Befalls von Rapspflanzen mit Verticillium dahliae im Jahre 1987 in der Bundesrepublik Deutschland

Gebiete	Anzahl Felder mit folgenden Befallsgraden (Skala 1 - 9)						Σ
	1	1,1 - 2	2,1 - 3	3,1 - 4	4,1 - 5	> 5,1	
Schleswig-Holstein	16	15	3	7	1	5	47
Niedersachsen	28	5	0	1	0	0	34
Hessen	15	2	0	0	1	0	18
Baden-Württemberg	14	3	1	0	0	0	18
Rheinland-Pfalz und Saarland	13	4	1	0	0	0	18
Bayern	20	2	1	0	1	1	24

Tabelle 2: Einfluß unterschiedlicher Inokulumengen und Tiefenlagen des Inokulums auf den Befall (1 - 9) des Rapses mit V. dahliae

Inokulum- tiefe in cm	Inokulumengen (Haferkörner) - Gew. %								
	2 %			4 %			6 %		
	Bonitur			Bonitur			Bonitur		
	1	2	3 ^{*)}	1	2	3	1	2	3
3 - 5	1,7	3,7	5,4	3,0	5,8	6,6	4,2	5,9	6,7
5 - 8	2,3	5,6	7,6	3,7	5,3	6,6	1,6	5,4	7,6
8 - 11	2,3	5,4	6,2	3,4	5,5	6,6	3,0	5,9	6,7
3 - 11	3,3	5,9	8,4	5,1	6,5	6,6	4,0	5,9	8,7

^{*)} Bonitur: 1 = EC 85, 2 = EC 89, 3 = EC 92

Tabelle 3: Einfluß des Pflanzenalters zur Zeit der Inokulation mit der "Jiffy-Topf"-Methode (EC 17 und 21) auf den Befall (1 - 9) des Rapses mit Verticillium dahliae

Rapssorten	Befalls-Bonitur im					
	EC 85		EC 89		EC 92	
	Zeit der Inokulation					
	EC 17	EC 21	EC 17	EC 21	EC 17	EC 21
Arabella	1,9	1,4	6,2	5,9	8,7	8,3
Ceres	1,4	1,3	3,1	5,6	5,9	8,3
Cobra	1,4	1,4	6,0	5,2	8,8	8,3
Diadem	1,3	3,5	8,7	8,4	9,0	9,0
Konstanze	6,3	2,3	8,4	7,5	9,0	9,0
Korina	4,4	3,9	7,0	7,7	9,0	9,0
Liporta	1,5	2,7	7,0	4,3	8,1	7,7
Lirakus	1,0	2,6	7,5	6,8	7,9	8,3
Rubin	1,3	1,1	6,0	6,0	8,3	8,4
Santana	3,5	2,9	9,0	8,5	9,0	9,0
\bar{x}	2,4	2,3	6,9	6,6	8,4	8,4

Tabelle 4: Einfluß unterschiedlicher Tiefenlagen des Inokulums und der Art der Aufbereitung des Inokulums auf den Befall des Rapses mit V. dahliae (Beurteilung 1 - 9)

Tiefenlage des Inokulums	Ganze Haferkörner ^{x)}				Geschrotete Haferkörner		
	Bonitur ^{y)}				Bonitur		
	1	2	3		1	2	3
2 - 7 cm	1,1	3,1	6,0	1 %	2,0	5,5	6,9
7 - 11 cm	2,0	3,9	4,9		3,0	4,5	6,7
2 - 11 cm	2,3	4,3	7,2		3,6	5,9	7,4
2 - 7 cm	2,1	4,7	6,4	2 %	1,3	5,0	6,7
7 - 11 cm	1,1	4,7	6,7		4,0	5,1	7,7
2 - 11 cm	3,5	6,3	9,0		5,0	5,8	8,6
2 - 7 cm	2,5	4,8	7,3	3 %	2,2	5,2	6,8
7 - 11 cm	3,2	4,0	6,7		2,0	4,1	6,3
2 - 11 cm	3,4	6,4	7,5		3,6	6,1	7,5
2 - 7 cm	2,2	5,5	8,4	4 %	2,7	4,8	7,7
7 - 11 cm	2,4	5,3	8,6		3,3	4,6	6,9
2 - 11 cm	4,3	6,7	9,0		3,2	6,2	6,7

x) Die Haferkörner waren vom Pilz völlig durchwachsen

y) Bonitur: 1 = EC 85, 2 = EC 89, 3 = EC 92

Tabelle 5: Entwicklung von Befallssymptomen (1 - 9) bei Sommerrapspflanzen, die bei unterschiedlicher Temperatur standen (1988)

Behandlung/Infektionsmethode	20° C		17° - 19° C		14° - 16° C	
	83 22.06.	92 04.07.	79 22.06.	92 04.07.	65 22.06.	65 04.07.
Boden inokuliert (3 Gewicht.sprozent.)	3,3	8,3	1,7	4,2	5,9	6,9
Kontrolle	1,0	1,4	1,0	1,0	1,0	1,0
"Jiffy-Topf"-Methode	2,7	7,2	1,1	1,3	3,2	5,0
Kontrolle	1,0	2,1	1,0	1,0	1,0	1,0

x) abgebrochen

y) Endbonitur