

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Nematologie und Wirbeltierkunde, Münster,
Osservatorio per le Malattie delle Piante, Bologna, A. Dieckmann-Heimburg, Saatzucht Sülbeck, Nienstädt,
und Istituto Sperimentale per le Culture Industriali, Rovigo

Der Einfluß anfälliger Pflanzen in einer resistenten Zuckerrübenlinie auf die Abundanzdynamik von *Heterodera schachtii*

The influence of susceptible plants in a resistant sugar-beet accession on the population dynamics
of *Heterodera schachtii*

Von J. Müller, R. Tacconi, G. Steinrücken und E. Biancardi

Zusammenfassung

Zuckerrübenlinien mit homozygoter Resistenz gegen *Heterodera schachtii* stehen für die Entwicklung resistenter Sorten jetzt zur Verfügung. Bei Kreuzung mit *Beta vulgaris* wird die theoretisch erwartete vollständige Transmission der Resistenz aber nicht erreicht, so daß in resistenten Sorten ein geringer Prozentsatz anfälliger Pflanzen hingenommen werden muß. In Freiland- und in Gewächshausversuchen wurde geprüft, welchen Einfluß unterschiedlich hohe Anteile anfälliger Pflanzen auf die Entwicklung der Populationsdichte von *H. schachtii* haben. Bei 100 % resistenten Pflanzen konnte die Dichte der Endpopulation (P_f -Wert) immer unter die Anfangspopulationsdichte gesenkt werden. Mit steigendem Anteil anfälliger Pflanzen stieg auch der P_f -Wert kontinuierlich an. Da seine Höhe auch von den Versuchsbedingungen abhing, wurde er in Prozent des Niveaus der anfälligen Vergleichssorte ausgedrückt. Eine Regressionsrechnung zwischen dem Anteil anfälliger Pflanzen und prozentalem P_f -Wert ergab eine lineare Beziehung ($y = 6,9 + 2,2x$). Für die Resistenzbewertung von Zuckerrübensorten wäre es bei Berücksichtigung dieser Beziehung ausreichend, die Transmissionsrate der Resistenz in einem einfachen Sämlingstest zu bestimmen.

Stichwörter: *Heterodera schachtii*, Zuckerrüben, Resistenzzüchtung, Transmissionsrate, Abundanzdynamik, *Beta vulgaris*, Resistenzprüfung

Abstract

Sugar-beet accessions with homozygous resistance to *Heterodera schachtii* are now available for breeding resistant cultivars. Crossings with *Beta vulgaris*, however, do not give the theoretically expected complete transmission of resistance, and consequently resistant cultivars will have a low percentage of susceptible plants. The influence of varying percentages of susceptible plants on the development of population densities of *H. schachtii* was investigated in microplot and in glasshouse trials. With 100 % resistant plants the final population density (P_f) was always below the initial density. With increasing proportions of susceptible plants the P_f increased continuously, its absolute value, however, depended on trial conditions. Therefore, the P_f was expressed in percent of the level attained by the susceptible standard variety. A linear correlation was found between the percentage of susceptible plants and the adapted P_f ($y = 6,9 + 2,2x$). Using this information, the evaluation and classification of resistance in sugar-beet cultivars would be possible by determining the transmission rate of resistance in a simple seedling test.

Key words: *Heterodera schachtii*, sugar beet, breeding for resistance, transmission rate, population dynamics, *Beta vulgaris*, resistance test

Der Rüben nematode, *Heterodera schachtii*, ist ein besonders gefürchteter Schädling der Zuckerrübe. Für seine Bekämpfung sind

Nematizide in Deutschland nicht mehr zugelassen, so daß in betroffenen Gebieten eine Ertragssicherung nur durch angepaßte Fruchtfolgen in Verbindung mit dem Anbau resistenter Zwischenfrüchte erreicht werden kann. Die inzwischen weit verbreitete Nutzung resistenter Öletich- und Senfsorten ist ein Beispiel dafür, daß integrierter Pflanzenschutz durch Einsatz biologischer Verfahren auch in der Landwirtschaft funktionieren kann und von der Praxis angenommen wird. Unbefriedigend bleibt in diesem Bekämpfungssystem aber der regelmäßige Anstieg der Schädlingsdichte in den Fruchtfolgejahren mit Zuckerrüben, da resistente Sorten der Hauptkultur bisher noch nicht zur Verfügung stehen. Es bleibt daher zu hoffen, daß nach gut fünfzigjähriger Züchtungsarbeit in naher Zukunft der Durchbruch gelingt und daß resistente Zuckerrübensorten das integrierte Bekämpfungssystem noch effizienter und zugleich flexibler werden lassen.

Resistenz gegen *H. schachtii* kommt in drei *Beta*-Arten der Sektion Procumbentes vor (JUNG und WRICKE, 1987; LANGE, JUNG und HEIJBROEK, 1990). Züchterisch genutzt wurde in erster Linie ein dominant vererbtes Resistenzgen aus *B. procumbens*, welches nach Einkreuzung in *B. vulgaris* zunächst in Additionslinien ($n = 18 + 1$) vorlag (SAVITSKY, 1975, 1978; LÖPTIEN, 1984). Durch natürlichen Genaustausch wurde ein kurzes Stück des addierten Wildrübenchromosoms, welches das Resistenzgen enthielt, in das Genom von *B. vulgaris* transloziert. Die aus diesem sehr seltenen Ereignis selektierten Translokationslinien ($n = 18$) enthielten das Resistenzgen noch in heterozygoter Form. Durch Selbstung und Prüfung der Nachkommenschaften ließen sich einige in bezug auf das Resistenzgen homozygote Translokationslinien erstellen. Wird dieses Material mit anfälligen Kulturrüben gekreuzt, so sollten die Nachkommen zu 100 % resistent sein. Die züchterische Basis zum Aufbau einer resistenten Sorte ist damit im Prinzip geschaffen worden.

Leider hat die praktische Erfahrung gezeigt, daß die Transmission der Resistenz nicht immer hundertprozentig erfolgt (BRANDES, JUNG und WRICKE, 1987). Die Ursachen dafür konnten noch nicht endgültig geklärt werden. Nach dem derzeitigen Stand enthält das jetzt fast bis zur Sortenreife entwickelte Zuchtmaterial einen geringen Anteil anfälliger Genotypen. Sehr wahrscheinlich wird eine Sorte mit zwei oder drei Prozent anfälligen Pflanzen die Populationsdichte von *H. schachtii* in der Regel nicht erhöhen, bei einer Transmissionsrate von nur 70 oder 80 % könnte dies aber schon anders sein. Es muß daher geklärt werden, wie sich eine unvollständige Transmission in der Praxis in nematologischer Hinsicht auswirkt. Da Untersuchungsergebnisse zu diesem Thema bisher fehlten, sollten die notwendigen Daten durch Versuche an verschiedenen Standorten gewonnen wer-

den. Das Ziel war die Erarbeitung eines Bewertungsschemas, nach dem zur Prüfung angemeldete Sorten klassifiziert werden können.

1 Material und Methoden

1.1 Versuchsanlage

Unterschiedlich hohe Transmissionsraten wurden durch Mischen einer homozygot resistenten Translokationslinie (92024 P, mit Resistenz von Chromosom 1 aus *B. procumbens*) mit der anfälligen Sorte 'Désirée' simuliert. Die Translokationslinie erwies sich in vorangegangenen Prüfungen als nahezu vollständig resistent, was wegen ihrer Homozygotie auch erwartet wurde. Die Versuchsstandorte lagen 1992 in Münster (Westfalen) sowie in Rovigo (Emilia Romagna) und 1994 nochmals in Münster. In allen drei Versuchen wurde in Microplots unter praxisnahen Bedingungen geprüft. Im Jahr 1993 wurde in Münster zusätzlich ein Gefäßversuch im Gewächshaus angelegt.

Die Microplots (1 m²) wurden mit einer natürlich mit *H. schachtii* verseuchten Felderde gefüllt, die vorher maschinell gründlich gemischt worden war. Somit war sichergestellt, daß alle Versuchspartzellen bis in 40 cm Tiefe die gleiche Ausgangsverseuchung (P_i-Wert) aufwiesen. Die Aussaattermine lagen Mitte März (Rovigo) und Ende April (Münster). Je Microplot wurden neun Rüben an festgelegten, nummerierten Positionen kultiviert. Die Versuchsglieder waren:

- A = 9 resistente Pflanzen je Microplot
- B = 8 resistente Pflanzen + 1 anfällige Pflanze
- C = 7 resistente Pflanzen + 2 anfällige Pflanzen
- D = 9 anfällige Pflanzen

Jede Behandlung wurde in dreifacher (Münster) bzw. vierfacher (Rovigo) Wiederholung angelegt, wobei in den Versuchsgliedern B und C die Position anfälliger Pflanzen wechselte (Beispiel für Versuchsglied C s. Abb. 1). Die Rüben wurden bis Mitte September (Rovigo) bzw. Mitte November (Münster) praxisüblich kultiviert.

Für den Gefäßversuch im Gewächshaus wurde Felderde künstlich mit Stammkulturen von *H. schachtii* verseucht, wobei ein Anfangsbesatz (P_i-Wert) von 1420 Eiern und Larven (E+L) je 100 g Boden eingestellt wurde. Die Erde wurde in 40 × 30 × 12 cm große Kunststoffkisten gefüllt und anschließend mit resistenten bzw. anfälligen Rüben bepflanzt. 82 Tage später, nach Ausreife einer Nematodengeneration, erfolgte die Auswertung.

Die Versuchsglieder waren:

- A = 15 resistente Pflanzen je Gefäß
- B = 14 resistente Pflanzen + 1 anfällige Pflanze
- C = 12 resistente Pflanzen + 3 anfällige Pflanzen
- D = 10 resistente Pflanzen + 5 anfällige Pflanzen
- E = 15 anfällige Pflanzen

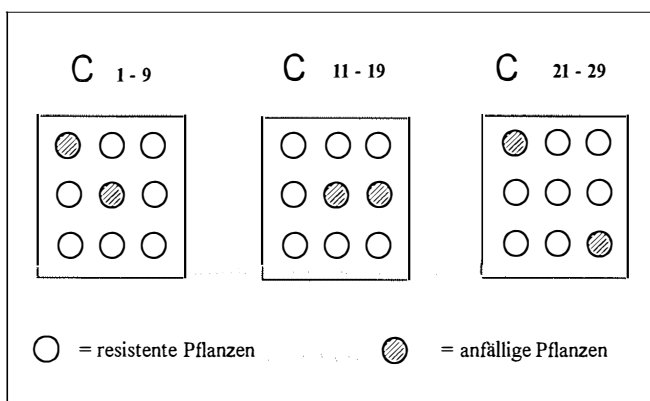


Abb. 1. Verteilung resistenter und anfälliger Pflanzen im Versuchsglied C (Microplots).

Jede Behandlung wurde in sechsfacher Wiederholung angelegt, wobei in den Versuchsgliedern B, C und D anfällige Pflanzen in unterschiedlichen Positionen standen.

1.2 Probenahme und Extraktionsverfahren

Der Anfangsbesatz wurde in allen Fällen durch Untersuchung von 18 Proben à 400 g Boden von der gemischten Versuchserde bestimmt. Zur Ermittlung des Endbesatzes (P_f-Wert) wurde bei dem Gefäßversuch der Boden jeder Kiste für sich gemischt. Der Durchschnitt an Eiern und Larven aus vier Proben à 400 g Boden ergab den P_f-Wert je Kiste und das Mittel aus sechs Kisten den P_f-Wert je Versuchsglied. Bei den Versuchen in Microplots wurde der P_f-Wert für die Position jeder einzelnen Rübe bestimmt. Dazu wurden nach festgelegtem Raster um jede Rübe herum vier Bodeneinstiche (30 cm tief) durchgeführt, die eine Sammelprobe von ca. 500 g Boden ergaben. Die Proben wurden vollständig untersucht und die Ergebnisse auf 100 g Boden umgerechnet. Je Microplot konnten so neun P_f-Werte ermittelt werden, aus denen die Anfälligkeit sowie die Nachbarwirkung der einzelnen Rübenpflanzen abzuleiten waren. Die Erfassung des Zystenbesatzes sowie die Anzahl der in den Zysten erhaltenen Eier und Larven erfolgte nach dem Zentrifugationsverfahren in Magnesiumsulfat-Lösung (MÜLLER, 1980, verändert).

1.3 Verrechnung der Ergebnisse

Die einzelnen bei den Versuchen in Microplots gefundenen P_f-Werte wurden mit Hilfe des SAS-Programms nach einem Interpolationsverfahren verrechnet und in einem Gitternetz graphisch dargestellt, um die räumlichen Veränderungen der Populationsdichte deutlich zu machen. Die durchschnittlichen Endpopulationsdichten in den Versuchsgliedern A-D sowie die zugehörigen Streuungen wurden aus den Mittelwerten der einzelnen Microplots berechnet. Entsprechendes gilt für den Gefäßversuch. Da die absolut erreichten P_f-Werte nicht nur von der Transmissionsrate, sondern auch von den Versuchsbedingungen abhängen, wurden sie prozentual auf das von der anfälligen Sorte 'Désirée' erreichte Niveau bezogen. Die Beziehung zwischen beiden Parametern, nämlich Transmissionsrate (als Anteil anfälliger Pflanzen in Prozent) sowie relativ erreichte Populationsdichte (in Prozent der anfälligen Vergleichssorte), wurde als Regressionsgerade berechnet.

2 Ergebnisse

Bei den Versuchen in Microplots erlauben die umfassenden Untersuchungsdaten, die räumlichen Unterschiede in den Populationsdichten graphisch darzustellen. In Abbildung 2 wird beispielhaft für je einen Microplot der Versuchsglieder A bzw. C gezeigt, welche kleinräumigen Veränderungen in der Besatzdichte von *H. schachtii* auftreten können. Während in A bei 100 % resistenten Pflanzen das Niveau durchgehend unter dem P_f-Wert liegt, ist in C die Nematodenvermehrung im Bereich der beiden anfälligen Pflanzen deutlich zu erkennen, und sie korreliert mit den in Abbildung 1 markierten Positionen der anfälligen Rüben. Das Wurzelsystem anfälliger Pflanzen erreicht auch den Standraum benachbarter, resistenter Rüben, so daß auch hier der Nematodenbesatz leicht ansteigt. Zur Bewertung der Gesamtsituation wurden die von allen Wiederholungen gewonnenen Daten herangezogen und als durchschnittliche P_f-Werte für die Versuchsglieder A-E dargestellt. Sowohl bei den Microplots (Abb. 3) als auch für den Gefäßversuch (Abb. 4) ergibt sich durchgehend die gleiche Rangfolge der Versuchsglieder. Waren alle Pflanzen resistent (A), so wurde der Anfangsbesatz (P_i) bei Vegetationsende immer deutlich unterschritten. Bei 11 % anfälligen Pflanzen sank die Populationsdichte in den Microplots teilweise noch unter den P_f-Wert ab, während im Gefäßversuch bereits mit 7 % anfälligen Pflanzen eine etwa dreifache Vermehrung eintrat. Entsprechende Unterschiede zeigen sich bei den übrigen Versuchsgliedern.

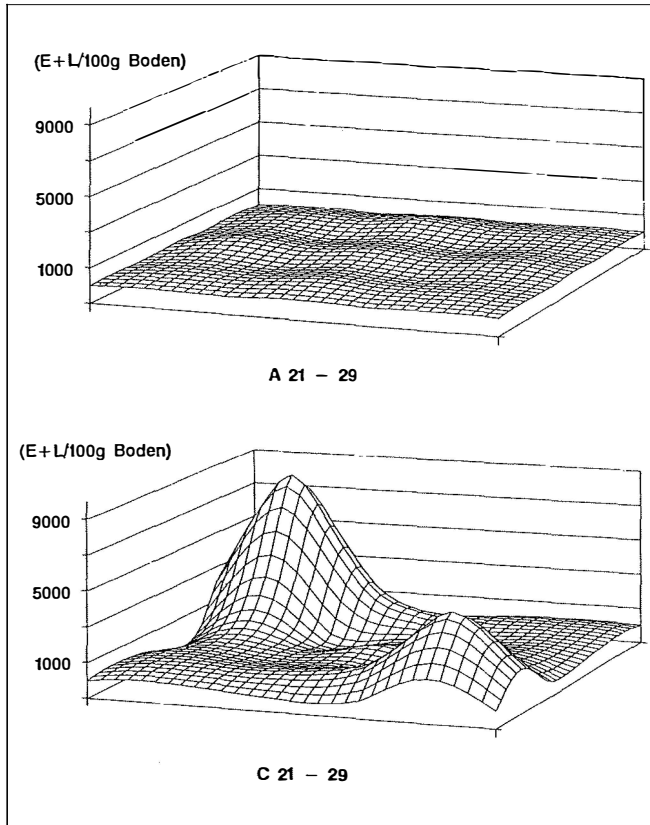


Abb. 2. Populationsentwicklung von *H. schachtii* in zwei Microplots. A 21-29: alle Pflanzen resistent. C 21-29: 7 Pflanzen resistent, 2 Pflanzen anfällig.

3 Diskussion

Resistenzgene aus Wildrüben der Sektion Procumbentes sind hochwirksam gegenüber *H. schachtii*. Zahlreiche Untersuchungen belegen, daß die Vermehrung des Rüben nematoden durch nur ein dominantes Resistenzgen praktisch völlig unterbunden wird (SAVITSKY, 1975; LÖPTIEN, 1984; JUNG und WRICKE, 1987). Die hier vorgestellten Ergebnisse der Versuchsglieder A bestätigen dies. Es gibt jedoch auch abweichende Beobachtungen, die vermuten lassen, daß die eingekreuzte Resistenz unwirksam war. Das kann zwei Gründe haben: Einerseits können in *H.-schachtii*-Populationen unterschiedliche Virulenzgene vorkommen, die bei wiederholtem Anbau resistenter Rüben selektiert werden, so daß die Resistenz schließlich völlig überwunden wird (MÜLLER, 1992; LANGE, MÜLLER und DE BOCK, 1993). Unter Feldbedingungen ist dieser Fall bisher nicht beobachtet worden. Auch die hier vorgelegten Daten zeigen, daß die verwendete Population die Resistenz nicht brechen konnte. Andererseits kann es vorkommen, daß eine Kreuzungsnachkommenschaft, die theoretisch zu 100 % resistent sein müßte, einen geringen Anteil anfälliger Pflanzen aufweist. Ist ungewollte Bestäubung durch Fremdpollen sicher auszuschließen, so muß die aus der Wildrübe translozierte Gensequenz entweder abgestoßen oder inaktiviert worden sein (BRANDES, JUNG und WRICKE, 1987; HEJNBROEK et al., 1988).

Die Rate der Resistenztransmission wird von der genetischen Konstitution des Zuchtmaterials offenbar beeinflusst, denn einzelne Translokationslinien weisen unterschiedliche Transmissionsraten auf. Dies könnte also ein sortentypisches Merkmal sein, welches wegen seiner nematologischen Bedeutung sicher erfaßt und bewertet werden müßte. Die hier vorgestellte Untersuchung wurde mit dem Ziel durchgeführt, erste Erkenntnisse über die Auswirkungen einer unvollständigen Transmission der Resistenz auf die Abundanzdynamik des Nematoden zu erarbeiten. Darüber hinaus sollte für Zwecke

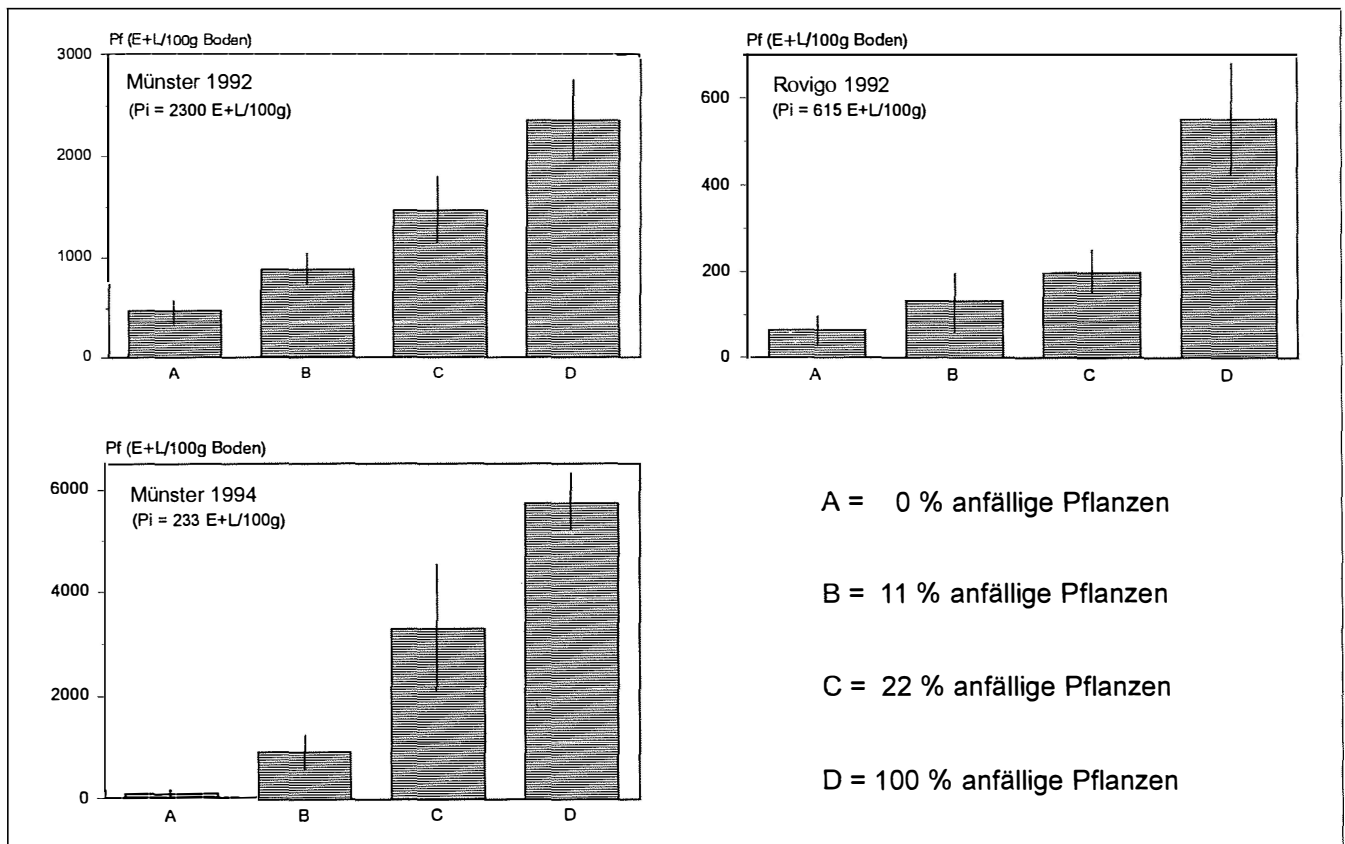
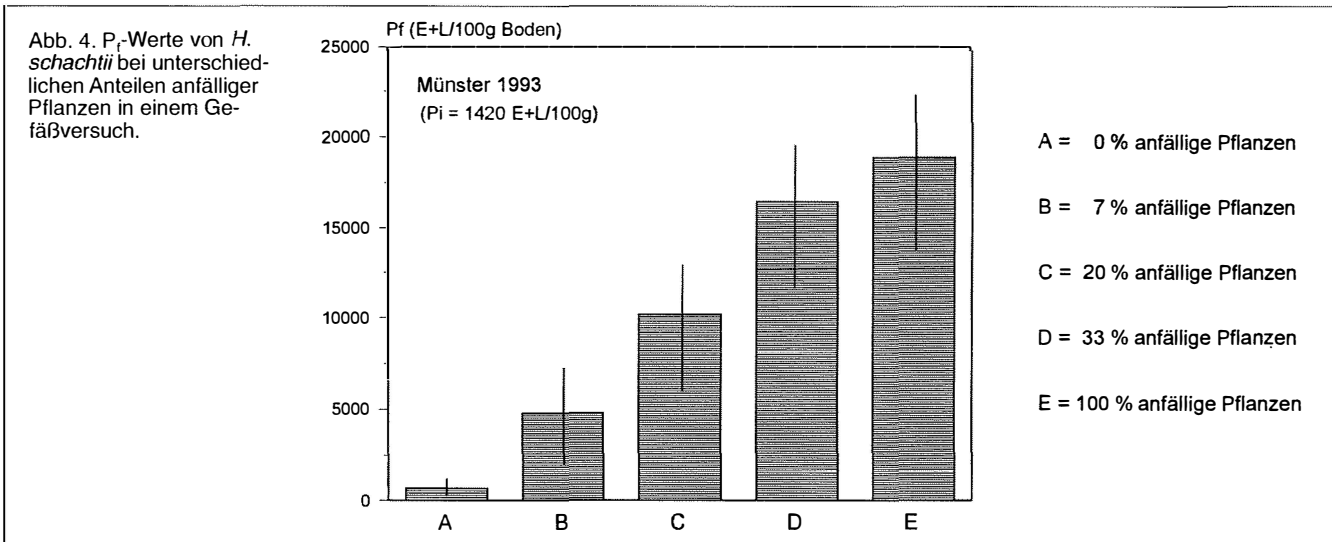


Abb. 3. P_f -Werte von *H. schachtii* bei unterschiedlichen Anteilen anfälliger Pflanzen für drei Versuche in Microplots.



der amtlichen Resistenzprüfung ein praktikables Prüf- und Bewertungsverfahren entwickelt werden.

Zum ersten Punkt erlauben die gewonnenen Daten klare Aussagen. Bereits ein Anteil von 7% anfälliger Pflanzen hatte einen meßbaren und gesicherten Einfluß auf die Abundanzdynamik von *H. schachtii*. Dieser Einfluß nimmt in allen Versuchen in gleichem Maße zu, wie die Transmissionsrate der Resistenz abnimmt. Allerdings liegen die absoluten P_T -Werte für gleiche Transmissionsraten auf sehr unterschiedlichem Niveau und erlauben daher keine direkte Bewertung, denn die Vermehrungsbedingungen waren in den einzelnen Versuchen sehr unterschiedlich. So haben sich in den Microplots 1992 die Populationsdichten auch unter der anfälligen Sorte 'Désirée' kaum über den P_T -Wert hinaus erhöht bzw. sie lagen dicht darunter, im Gefäßversuch 1993 dagegen wurde eine etwa 13fache Vermehrung erreicht und im Microplot-Versuch 1994 sogar ein P_T/P_1 -Wert von fast 25. Es ist daher sinnvoll, die P_T -Werte der Prüfglieder A, B und C bzw. D (im Gefäßversuch) relativ in Prozent der anfälligen Vergleichssorte auszudrücken. Werden die vorhandenen Daten in dieser Form auf die zugehörigen Anteile anfälliger Pflanzen bezogen, so läßt sich die in Abbildung 5 dargestellte Regressionsgerade ($y = 6,9 + 2,2 x$) errechnen. Sie zeigt an, daß z. B. bei einem Anteil von 15% anfälligen Pflanzen ein P_T -Wert von ca. 40% des Niveaus zu erwarten ist, welches die anfällige Vergleichssorte erreicht.

Im Rahmen der amtlichen Resistenzprüfung wäre eine Sortenbewertung mit der hier eingesetzten Methodik wegen des ganz erheblichen Arbeitsaufwandes nicht realisierbar. Bei Nutzung der gefundenen Regressionsgeraden würde es jedoch ausreichend sein, den Anteil anfälliger Pflanzen in einem einfachen Sämlingstest (TOXOPEUS und LUBBERTS, 1979) zu erfassen und die Prüfsorte danach zu klassifizieren. Diesem Test müßten wahrscheinlich 200–300 Pflanzen unterzogen werden. Unter Feldbedingungen wäre eine nematologische Prüfung in diesem Umfang zu aufwendig.

Literatur

BRANDES, A., C. JUNG and G. WRICKE, 1987: Nematode resistance derived from wild beet and its meiotic stability in sugar beet. *Plant Breeding* **99**, 56–64.
 HEIJBOEK, W., A. J. ROELANDS, J. H. DE JONG, C. G. VAN HULST, A. H. L. SCHOONE and R. G. MUNNING, 1988: Sugar beets homozygous for resistance to beet cyst nematode (*Heterodera schachtii* Schm.) developed from monosomic additions of *Beta procumbens* to *B. vulgaris*. *Euphytica* **38**, 121–131.
 JUNG, C. and G. WRICKE, 1987: Selection of diploid nematode-resistant sugar beet from monosomic addition lines. *Plant Breeding* **98**, 205–214.
 LANGE, W., C. JUNG and W. HEIJBOEK, 1990: Transfer of beet cyst nematode resistance from *Beta* species of the section *Patellares* to cultivated beet. In-

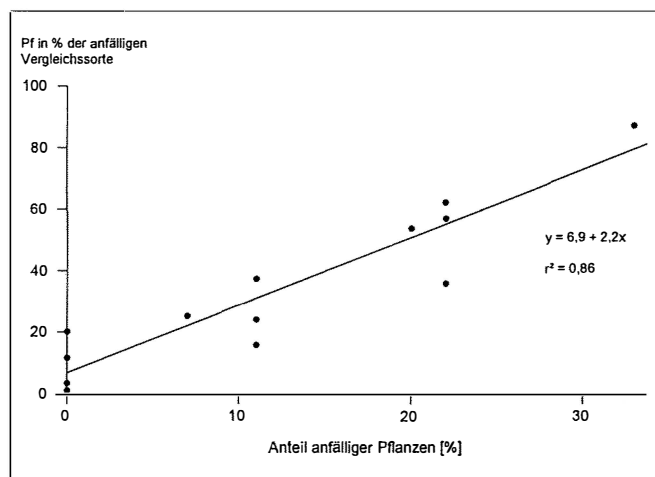


Abb. 5. Beziehung zwischen dem Anteil anfälliger Pflanzen in einer Prüfsorte und dem erreichten P_T -Wert, ausgedrückt in % der anfälligen Vergleichssorte.

ternational Institute for Sugarbeet Research, 53rd Winter Congress, 89–103.
 LANGE, W., J. MÜLLER and T. S. M. DE BOCK, 1993: Virulence in the beet cyst nematode (*Heterodera schachtii*) versus some alien genes for resistance in beet. *Fundam. appl. Nematol.* **16**, 447–454.
 LÖPTIEN, H., 1984: Breeding nematode-resistant beets. I. Development of resistant alien additions by crosses between *Beta vulgaris* L. and wild species of the section *Patellares*. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung* **92**, 208–220.
 MÜLLER, J., 1980: Ein verbessertes Extraktionsverfahren für *Heterodera schachtii*. *Nachrichtenbl. Deut. Pflschutzd.* (Braunschweig) **32**, 21–24.
 MÜLLER, J., 1990: Virulenzunterschiede bei *Heterodera schachtii* gegenüber resistenten Rübengenotypen. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstw. Berlin-Dahlem* **266**, 455.
 MÜLLER, J., 1992: Detection of pathotypes by assessing the virulence of *Heterodera schachtii* populations. *Nematologica* **38**, 50–64.
 SAVITSKY, H., 1975: Hybridization between *Beta vulgaris* and *B. procumbens* and transmission of nematode (*Heterodera schachtii*) resistance to sugar beet. *Can. J. Genet. Cytol.* **17**, 197–209.
 SAVITSKY, H., 1978: Nematode (*Heterodera schachtii*) resistance and meiosis in diploid plants from interspecific *Beta vulgaris* × *B. procumbens* hybrids. *Can. J. Genet. Cytol.* **20**, 177–186.
 TOXOPEUS, J. H. and H. LUBBERTS, 1979: Breeding for resistance to the sugar beet nematode (*Heterodera schachtii* Schm.) in cruciferous crops. *Proc. Eucarpia Cruciferae Conf.*, Wageningen, the Netherlands, 1–3 October 1979, 151.
 Kontaktanschrift: Dr. Joachim Müller, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Nematologie und Wirbeltierkunde, Toppeideweg 88, D-48161 Münster