

## **Einfluss von Unkraut-, Zwischenfrucht- und Blühstreifenarten auf die Epidemiologie und Pathogenität von *Sclerotinia sclerotiorum***

### *Effect of weeds, cover crop cultivation and flowering plant strips on epidemiology and pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum**

Sinja Brand, Hans-Peter Söchting, Nazanin Zamani-Noor\*

Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig

\*nazanin.zamani-noor@julius-kuehn.de

DOI: 10.5073/20220117-071846

### **Zusammenfassung**

*Sclerotinia sclerotiorum* ist ein nekrotrophes Pflanzenpathogen mit einem breiten Wirtsspektrum und weltweit großer wirtschaftlicher Bedeutung. In der vorliegenden Studie wurde eine Reihe von Gewächshausversuchen durchgeführt, um die Ausprägung von *S. sclerotiorum*-Symptomen bei 30 Pflanzenarten zu bewerten, die durch zwei unterschiedliche Isolate von *S. sclerotiorum* verursacht wurden. Darüber hinaus wurde die Anzahl der auf den verschiedenen Testpflanzen produzierten Sklerotien bewertet. Die Ergebnisse zeigten, dass die Aggressivität des Erregers einen signifikanten Einfluss auf die *Sclerotinia*-Befallsstärke und die Vermehrungsrate der Sklerotien hat. Pflanzenarten, die mit einem aggressiven Isolat inokuliert wurden, zeigten stärker ausgeprägte Symptome und eine höhere Anzahl von Sklerotien als Pflanzen die mit einem weniger aggressiven Isolat inokuliert wurden. Von allen getesteten Pflanzenarten waren *Aethusa cynapium* (AETCY) und *Leucanthemum vulgare* (CHYLE) vollständig resistent gegen beide Isolate von *S. sclerotiorum*.

**Stichwörter:** Bodenbürtige Krankheiten, *Brassica napus*, Integrierter Pflanzenschutz, Raps, Weißstängeligkeit

### **Abstract**

*Sclerotinia sclerotiorum* is a necrotrophic plant pathogen with a wide host range of agricultural and economic importance worldwide. In the current study, a series of greenhouse experiments was conducted to assess the development of Sclerotinia stem rot (SSR) in 30 plant species caused by two isolates of *S. sclerotiorum*. Furthermore, the number of sclerotia produced on different test plants was evaluated. The results showed that the pathogen aggressiveness has significant effect on SSR severity as well as the propagation rate of sclerotia. Plant species that were inoculated with a more aggressive isolate exhibited greater severe symptoms and higher number of sclerotia than plants inoculated with a less aggressive isolate. Among all plant species tested, *Aethusa cynapium* (AETCY) and *Leucanthemum vulgare* (CHYLE) were fully resistant to both isolates of *S. sclerotiorum*.

**Keywords:** *Brassica napus*, integrated pest management, oilseed rape, Sclerotinia stem rot, soil-borne diseases

### **Einleitung**

Der Zwischenfruchtanbau und die Anlage von Blühstreifen nehmen in Deutschland weiter an Bedeutung zu. Dies wird zum einen bedingt durch die Greening-Anforderungen im Rahmen der Umsetzung der EU-Agrarpolitik, und zum anderen soll die Biodiversität in der Agrarlandschaft gestärkt werden (BMEL – BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT, 2019). Der Anbau von Zwischenfrüchten bringt zudem viele Vorteile mit sich, da die bodenbiologischen, bodenchemischen und bodenphysikalischen Eigenschaften verbessert werden (SODTKE, 2003). Allerdings sind auch negative Effekte nicht

30. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung, 22. – 24. Februar 2022 online auszuschließen. So kann die Dichte bodenbürtiger Krankheitserreger zunehmen, wenn die Zwischenfrucht eine entsprechend geeignete Wirtspflanze darstellt (ZAMANI-NOOR et al., 2020).

Die Weißstängeligkeit, verursacht durch *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, ist weltweit eine der bedeutendsten Krankheiten an Raps. Der Schaderreger *S. sclerotiorum* ist ein bodenbürtiger Pilz, der mittels Sklerotien (Dauersporen) mehrere Jahre im Boden überdauern kann. Zudem ist das Wirtsspektrum des Pilzes sehr vielfältig. Neben Nutzpflanzen wie Raps, Ackerbohnen und verschiedenen Gemüsearten können auch Wildkräuter, Zwischenfrüchte und Zierpflanzen als Wirt fungieren (BOLAND und HALL, 1994). Diese Pflanzen ermöglichen es dem Erreger, zu wachsen, sich zu vermehren und viele Jahre lang zu überleben. Um den Wirtskreis des Pathogens näher zu analysieren, wurde ein Gewächshausversuch auf Basis von 30 Pflanzenarten aus diversen Pflanzenfamilien am Julius Kühn-Institut (JKI) in Braunschweig durchgeführt.

## Material und Methoden

In dem Gewächshausversuch wurde die Anfälligkeit der 30 Pflanzenarten an je 5 Pflanzen pro Art gegenüber *S. sclerotiorum* untersucht. Dazu wurde das Prüfsortiment der Pflanzen in vier Gruppen eingeteilt.

- Pflanzenauswahl aus einer handelsüblichen Blütmischung (n=4)
- Kulturpflanzen (n=4)
- Unkräuter (n=15)
- Zwischenfrüchte (n=7)

Eine komplette Übersicht der Arten findet sich in den Tabellen 1 bis 4. Es wurde versucht, ein möglichst großes Spektrum abzudecken. Die Nomenklatur der deutschen sowie der wissenschaftlichen Pflanzennamen erfolgte über die EPPO Global Database und über die Webseite <http://www.floraweb.de/>.

**Tabelle 1** Übersicht „Blühpflanzen“

**Table 1** Overview „flowering plant strips“

Deutscher Name	Wissenschaftlicher Name	EPPO-Code	Pflanzenfamilie
Färber-Hundskamille	<i>Cota tinctoria</i>	ANNTI	Asteraceae
Wiesen-Margerite	<i>Leucanthemum vulgare</i>	CHYLE	Asteraceae
Echtes Johanniskraut	<i>Hypericum perforatum</i>	HYPPE	Hypericaceae
Gewöhnlicher Dost	<i>Origanum vulgare</i>	ORIVU	Lamiaceae

**Tabelle 2** Übersicht „Kulturpflanzen“

**Table 2** Overview „crops“

Deutscher Name	Wissenschaftlicher Name	EPPO-Code	Pflanzenfamilie
Feld-Kresse	<i>Lepidium campestre</i>	LEPCA	Brassicaceae
Lupine	<i>Lupinus spec.</i>	LUPXX	Fabaceae
Erbse	<i>Pisum sativum</i>	PIBSA	Fabaceae
Ackerbohne	<i>Vicia faba</i>	VICFX	Fabaceae

**Tabelle 3** Übersicht „Unkräuter“**Table 3** Overview “weeds”

Deutscher Name	Wissenschaftlicher Name	EPPO-Code	Pflanzenfamilie
Gewöhnliche Schafgabe	<i>Achillea millefolium</i>	ACHMI	Asteraceae
Hundspetersilie	<i>Aethusa cynapium</i>	AETCY	Apiaceae
Gebräuchliche Ochsenzunge	<i>Anchusa officinalis</i>	ANCOF	Boraginaceae
Spreizende Melde	<i>Atriplex patula</i>	ATXPA	Chenopodiaceae
Graukresse	<i>Berteroa incana</i>	BEFIN	Brassicaceae
Orientalische Zackenschote	<i>Bunias orientalis</i>	BUNOR	Brassicaceae
Gewöhnliches Hirtentäschel	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	CAPBP	Brassicaceae
Schlitzblättriger Storchschnabel	<i>Geranium dissectum</i>	GERDI	Geraniaceae
Echte Kamille	<i>Matricaria chamomilla</i>	MATCH	Asteraceae
Gemeiner Windenknöterich	<i>Fallopia convolvulus</i>	POLCO	Polygonaceae
Kleiner Sauer-Ampfer	<i>Rumex acetosella</i>	RUMAA	Polygonaceae
Acker-Senf	<i>Sinapis arvensis</i>	SINAR	Brassicaceae
Hohe Rauke	<i>Sisymbrium altissimum</i>	SSYAL	Brassicaceae
Glanz-Rauke	<i>Sisymbrium irio</i>	SSYIR	Brassicaceae
Lösels Rauke	<i>Sisymbrium loeselii</i>	SSYLO	Brassicaceae

**Tabelle 4** Übersicht „Zwischenfrüchte“**Table 4** Overview “cover crops”

Deutscher Name	Wissenschaftlicher Name	EPPO-Code	Pflanzenfamilie
Saat-Leindotter	<i>Camelina sativa</i>	CMASA	Brassicaceae
Echter Lein	<i>Linum usitatissimum</i>	LIUUT	Linaceae
Büschelschön	<i>Phacelia tanacetifolia</i>	PHCTA	Hydrophyllaceae
Ölrettich	<i>Raphanus sativus</i>	RAPSO	Brassicaceae
Weißer Senf	<i>Sinapis alba</i>	SINAL	Brassicaceae
Inkarnat-Klee	<i>Trifolium incarnatum</i>	TRFIN	Fabaceae
Saat-Wicke	<i>Vicia sativa</i>	VICSA	Fabaceae

Die Versuchspflanzen wurden in Einzeltöpfen in Einheitserde ausgesät und im Gewächshaus vorgezogen. Ab einem Entwicklungsstadium (BBCH) von >35 wurden die Pflanzen an zwei Stellen (unterer Teil des Stängels und in einer Blattachsel mittig am Stängel) mit einem Myzel-Agar-Plug ( $\varnothing = 5$  mm) inokuliert. Das Myzel wurde 3 Tage vor der Inokulation auf Kartoffel-Dextrose-Agar (Potato dextrose agar (PDA)) angezogen und befand sich noch in der aktiven Wachstumsphase. Auf einen guten Kontakt zur Pflanze wurde geachtet. Es wurden zwei Isolate verwendet, das aggressivere Isolat 6 und das weniger aggressive Isolat 34. Neben dem oben aufgeführten Artenspektrum wurden als Kontroll- und Vergleichspflanzen die Winterraps-Sorten *Brassica napus* cv. Avatar und cv. Kicker verwendet. Nach der Inokulation wurden die Pflanzen unter Gewächshausbedingungen unter Folie bei 16 °C inkubiert. Dabei wurde auf eine nahezu 100 %ige Luftfeuchte unter der Folie geachtet, um eine möglichst optimale Umgebung für den Pilz zu schaffen und ein Austrocknen des Agar-Plugs zu verhindern. Als Kontrolle wurden je Art 3 Pflanzen mit einem nicht bewachsenen PDA-Agar-Plug scheininokuliert und ebenfalls unter Folie inkubiert. Die Pflanzen wurden 9 Tagen nach der Inokulation (9 dpi = days post inoculation) bonitiert. Bei der Bonitur wurde der Infektionsgrad anhand einer 1-4 Skala visuell bestimmt (1 = gesund; 2 = Stängelumfang 1-25 % befallen; 3 = Stängelumfang 26-50 % befallen; 4 = Stängelumfang >50 % befallen). Aus diesem Infektionsgrad wurde mit

Hilfe der folgenden Formel der Befallsstärke-Index (disease severity index (DSI)) ermittelt. Dies ist ein prozentualer Index, der den Infektionsgrad abbildet.

$$DSI (\%) = \frac{\sum(n_1 \cdot 0 + n_2 \cdot 1 + n_3 \cdot 2 + n_4 \cdot 3)}{N \cdot 3} \cdot 100$$

Die Zahlen 1, 2, 3 und 4 geben den unterschiedlichen Infektionsgrad an. N ist die Gesamtzahl der untersuchten Pflanzen, und  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  und  $n_4$  sind die jeweilige Anzahl der Pflanzen mit dem entsprechenden Infektionsgrad.

Zum Ende des Versuchs (21 dpi) wurden die Pflanzen auf die Bildung von Sklerotien untersucht. Diese bildeten sich an den Blättern, am Stängel sowie im Stängelinneren. Die gebildeten Sklerotien wurden je Einzelpflanze gesammelt und gezählt. Nachdem die Sklerotien 6 Tage bei Raumtemperatur an der Luft getrocknet wurden, wurde das durchschnittliche Gewicht (mg) und die durchschnittliche Größe (mm) der Sklerotien je Art bestimmt.

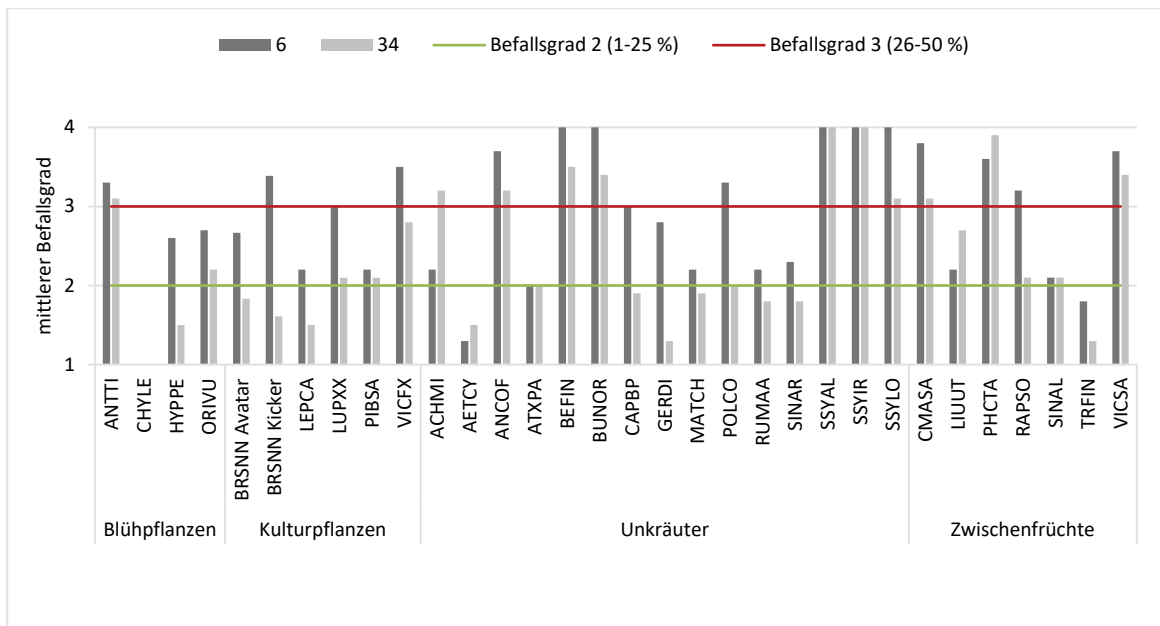
## Ergebnisse

Es konnte an vielen der untersuchten Arten visuell Krankheitsmerkmale festgestellt werden. Dabei zeigten sich allerdings erhebliche Unterschiede bezüglich der Befallsstärke und der Symptomausprägung zwischen den Arten.

### **Analyse des Befallsgrads und des Befallsstärke-Index (DSI)**

Fast alle Arten wiesen gegenüber dem aggressivem Isolat 6 eine stärkere Anfälligkeit auf als gegenüber dem Isolat 34 (Abb. 1). Ausnahmen waren nur die Arten *Achillea millefolium* (ACHMI), *Aethusa cynapium* (AETCY), *Linum usitatissimum* (LIUUT) und *Phacelia tanacetifolia* (PHCTA). Bei diesen vier Arten wurde ein stärkerer Befall bei dem Isolat 34 bonitiert.

Der Unterschied zwischen den Isolaten zeigt sich sehr deutlich, wenn man die Anzahl an befallenen Arten mit einem mittleren Befallsgrad unter 2 (Stängelumfang 1-25 % befallen) (grüne Linie) vergleicht (Abb. 1). Bei dem aggressiven Isolat 6 waren es nur 4 Arten (13,3 %) die einen milden Befallsverlauf zeigten, bei dem weniger aggressiven Isolat 34 waren es 12 Arten (40 %). Bei der Untersuchung der Arten mit einem Befall von mehr als 50 % des Stängelumfangs (Befallsgrad >3) (rote Linie) zeigt sich ein dazu passendes Bild. 13 Arten (43,3 %) zeigen einen schweren Befall bei Inokulation mit dem Isolat 6 und nur 11 Arten (36 %) mit dem Isolat 34.



**Abbildung 1** Mittlerer Befallsgrad der Versuchspflanzen 9 Tage nach der Inokulation (9 dpi), die mit dem aggressivem *S. sclerotiorum*-Isolat 6 (dunkelgrau) und dem weniger aggressivem *S. sclerotiorum*-Isolat 34 (hellgrau) inokuliert wurden. Die grüne Linie markiert den Grenzwert 2 (Stängelumfang 1-25 % befallen) und die rote Linie den Grenzwert 3 (Stängelumfang 26-50 % befallen).

**Figure 1** Mean degree of infestation of the test plants 9 days post inoculation (9 dpi), which were inoculated with the aggressive *S. sclerotiorum* isolate 6 (dark grey) and the less aggressive *S. sclerotiorum* isolate 34 (light grey). The green line marks threshold 2 (stem circumference 1-25 % infested) and the red line means threshold 3 (stem circumference 26-50 % infested).

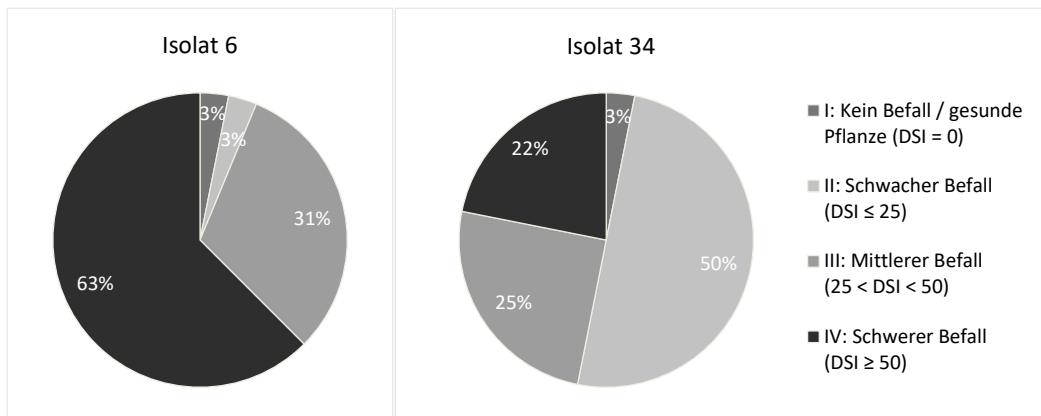
Bei der Auswertung des Befallsstärke-Indexes (DSI) ergibt ein ähnliches Bild. Zur Bewertung der Aggressivität der Isolate wurde der Befall in vier Befallsklassen eingeteilt (Tab. 5).

**Tabelle 5** Klassen zur Einstufung der Befallsstärke der Pflanze durch *S. sclerotiorum*.

**Table 5** Classes to classify the infestation level of the plant by *S. sclerotiorum*.

Befallsklasse	Disease severity index (DSI)
I: Kein Befall / gesunde Pflanze	= 0 %
II: Schwacher Befall	≤ 25 %
III: Mittlerer Befall	>25 % ≤ 50 %
IV: Schwerer Befall / Absterben der Pflanze	> 50 %

Nach dieser Einstufung zeigt sich ein deutliches Bild in Bezug auf die Aggressivität der beiden untersuchten Isolate. Die Verteilung ist in den beiden nachfolgenden Diagrammen graphisch dargestellt. Das Isolat 6 weist einen deutlich schweren Befall an den Versuchspflanzen auf als das Isolat 34. 63 % der Arten wurden in die Befallsklasse IV eingeteilt, beim Isolat 34 sind es nur 22 %. Daraus folgt, dass 50 % der Arten beim weniger aggressiven Isolat nur einen Befall der Klasse II aufweisen. Anders sieht es beim aggressiven Isolat 6 aus, dort ist nur eine Art in der Befallsklasse II (*Aethusa cynapium*, AETCY). *Leucanthemum vulgare* (CHYLE) ist die einzige der untersuchten Arten, die von keinem der beiden Isolate befallen wurde. Alle anderen Arten zeigten mindestens einen schwachen Befall. Dies zeigt die Größe des potentiellen Wirkkreises von *S. sclerotiorum* sehr deutlich.

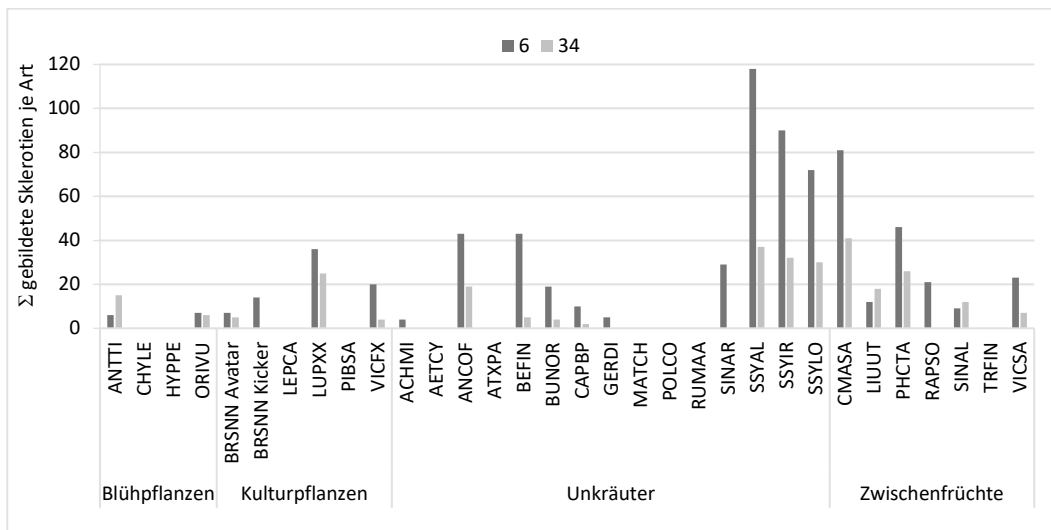


**Abbildung 2** Prozentuale Verteilung der 4 Befallsklassen (I-IV) bei den untersuchten Arten (inklusive der beiden Kontroll-Rapssorten) bei den beiden Isolaten 6 (aggressives Isolat) und 34 (weniger aggressives Isolat).

**Figure 2** Percentage distribution of the 4 infestation classes (I-IV) in the investigated plant species (including the two control-oilseed rape varieties) in the two isolates 6 (aggressive isolate) and 34 (less aggressive).

### Untersuchung der gebildeten Dauersporen (Sklerotien)

Nach der Inokulation mit dem Isolat 6 bildeten 22 der 32 Arten Sklerotien aus, beim Isolat 34 waren es nur 17 Arten. Die Arten *Aethusa cynapium* (AETCY), *Atriplex patula* (ATXPA), *Fallopia convolvulus* (POLCO), *Hypericum perforatum* (HYPPE), *Lepidium campestre* (LEPCA), *Leucanthemum vulgare* (CHYLE), *Matricaria chamomilla* (MATCH), *Pisum sativum* (PIBSA), *Rumex acetosella* (RUMAA) und *Trifolium incarnatum* (TRFIN) bildeten bei keiner der beiden verwendeten Isolate Sklerotien. Die Anzahl, Größe und das Gewicht der Sklerotien waren von Art zu Art unterschiedlich. Die durchschnittliche Anzahl an gebildeten Sklerotien lag bei dem Isolat 6 bei 32,5 und beim Isolat 34 bei 16,9 Sklerotien pro Pflanze. Die meisten Sklerotien pro Pflanze (118 Stück) bildeten sich bei *Sisymbrium altissimum* (SSYAL) nach der Inokulation mit Isolat 6.



**Abbildung 3** Gesamtzahl der gebildeten Sklerotien je Art und *S. sclerotiorum*-Isolat (aggressives Isolat 6 = dunkelgrau; weniger aggressives Isolat 34 = hellgrau).

**Figure 3** Total number of sclerotia formed per species and *S. sclerotiorum* isolate (aggressive isolate 6 = dark grey; less aggressive isolate 34 = light grey).

### Korrelationen

Die Ergebnisse wurden auf mögliche Korrelationen untersucht. Dabei konnten mehrere Korrelationen festgestellt werden. Die Daten der beiden Isolate korrelierten stark in Bezug auf die Anzahl der Sklerotien und auch mäßig in Bezug auf die Sklerotiengröße und -gewicht. Ebenso korrelieren die Gesamtergebnisse

30. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung, 22. – 24. Februar 2022 online stark in Bezug auf die Sklerotiengröße und deren Gewicht. Mäßige Korrelationen konnten beim Vergleich von DSI und Sklerotienanzahl bzw. -größe, sowie bei der Sklerotienanzahl und Sklerotiengewicht bzw. -größe festgestellt werden.

## Diskussion und Fazit

Aus den gezeigten Ergebnissen ist ersichtlich, dass der Schaderreger *S. sclerotiorum* einen sehr weiten Wirtskreis hat und daher die Auswahl an Zwischenfrüchten, Kulturpflanzen sowie Blühpflanzen sehr bewusst gewählt werden sollte. Auch die spezifische Bekämpfung bestimmter Unkrautarten ist wichtig. Beim Anbau von Raps sollte man jedoch auch andere Schaderreger im Blick behalten. So sind zum Beispiel einige der hier untersuchten Arten nicht nur sehr anfällig gegenüber *S. sclerotiorum* (Befallsgrad > 3 und DSI > 50 %), sondern auch anfällig gegenüber dem pilzlichen Schaderreger der Kohlhernie *Plasmodiophora brassicae* (ZAMANI-NOOR et al., 2021). Dies betrifft die Unkrautarten *Capsella bursa-pastoris* (CAPBP), *Sisymbrium altissimum* (SSYAL) und *S. loeselii* (SSYLO) und die Zwischenfruchtart *Camelina sativa* (CMASA). Besonders hervorzuheben sind die Arten, die nach ZAMANI-NOOR et al. (2020) gegenüber Kohlhernie keine Symptome aufwiesen, jedoch in diesem Versuch eine hohe Anfälligkeit gegenüber *S. sclerotiorum* gezeigt haben (ZAMANI-NOOR et al., 2021). Dies sind die Unkrautarten *Bunias orientalis* (BUNOR) und *Fallopia convolvulus* (POLCO), sowie die Zwischenfrüchte *Linum usitatissimum* (LIUUT) und *Phacelia tanacetifolia* (PHCTA). Denn das zeigt, dass eine gute Kenntnis des Standorts wichtig ist, um zu entscheiden, welche Zwischenfruchtarten verwendet werden können.

Für die Zukunft ist eine Überprüfung der erzielten Ergebnisse und ein Test der Keimfähigkeit der geernteten Sklerotien geplant. In der Literatur ist oft beschrieben, dass die Keimfähigkeit signifikant mit der Sklerotiengröße zusammenhängt. Je größer ein Sklerotium ist, desto schneller und besser bildet dieses Apothezien aus (DILLARD, 1995; TAYLOR et al., 2018). Daher könnte man davon ausgehen, dass die Sklerotien von einigen Arten (zum Beispiel *Geranium dissectum* (GERDI) oder *Vicia faba* (VICFX) und *V. sativa* (VICSA)) nicht oder nur sehr wenig keimen, da deren Sklerotien im Durchschnitt kleiner als 2 mm sind.

## Literatur

- BMEL – BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT: Diskussionspapier Ackerbaustrategie 2035. Perspektiven für einen produktiven und vielfältigen Pflanzenbau, 2019.
- BOLAND, G.J., R. HALL, 1994: Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. Canadian Journal of Plant Pathology **16** (2), 93–108, DOI:10.1080/07060669409500766.
- DILLARD, H.R., 1995: Conditioning *Sclerotia* of *Sclerotinia sclerotiorum* for Carpogenic Germination. Plant Disease **79** (4), 411–415, DOI:10.1094/PD-79-0411.
- SODTKE, R.M., 2003: Ein Entscheidungsunterstützungssystem für den Zwischenfruchtanbau: Konzeption, Entwicklung, Validierung.
- TAYLOR, A., E. COVENTRY, C. HANDY, J.S. WEST, C.S. YOUNG, J.P. CLARKSON, 2018: Inoculum potential of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia depends on isolate and host plant. Plant Pathology **67** (6), 1286–1295, DOI:10.1111/ppa.12843.
- ZAMANI-NOOR, N., S. BRAND, H.-P. SÖCHTING, 2020: Einfluss des Zwischenfruchtanbaus und der Verunkrautung auf die Epidemiologie und Pathogenität von *Plasmodiophora brassicae*. 29. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und - bekämpfung, Braunschweig, Julius-Kühn-Archiv **464**, 29, DOI: 10.5073/JKA.2020.464.014.
- ZAMANI-NOOR, N., S. BRAND, H.-P. SÖCHTING, 2021: Effect of pathogen virulence on pathogenicity, host range and reproduction of *Plasmodiophora brassicae*, the causal agent of clubroot disease. Plant Disease, DOI:10.1094/PDIS-02-21-0410-RE.