



Abb. 1: Zuckerrübenbestand mit starkem *Cercospora*-Befall.

Foto: IfZ

Wirksamkeit der Fungizide zur Bekämpfung von *Cercospora beticola*

Ergebnisse der Resistenzanalysen und Empfehlungen für Fungizidstrategien

Zurzeit erfolgt eine Ausdehnung des Zuckerrübenanbaus, die zu einer Erhöhung der Anbaudichte in den Regionen führt. Dadurch werden viele Krankheiten und Schädlinge der Zuckerrübe in der Ausbreitung und Schadrelevanz begünstigt. Dies gilt insbesondere für *Cercospora beticola*, welche in europäischen Anbauregionen bereits heute die wirtschaftlich bedeutendste pilzliche Blattfleckenkrankheit darstellt.

Tobias Erven und Gerd Stammler, BASF SE, Limburgerhof
Frederike Imbusch und Mark Varrelmann, Institut für Zuckerrübenforschung, Göttingen

Der wärme- und feuchtigkeitsliebende Pilz erzeugt nekrotische Blattflecken, aus denen er sporuliert (Abb. 1). Auf dem Feld verbliebene befallene Zuckerrübenblätter stellen das Inokulum für den Befall in Folgejahren dar. Der Erreger kann als Stroma über mehrere Jahre im Boden überdauern und infiziert über neu gebildete Sporen die Zuckerrüben in Folgejahren, insbesondere von direkt benachbarten Flächen mit der Vorfrucht Zuckerrübe. Daher birgt die Kon-

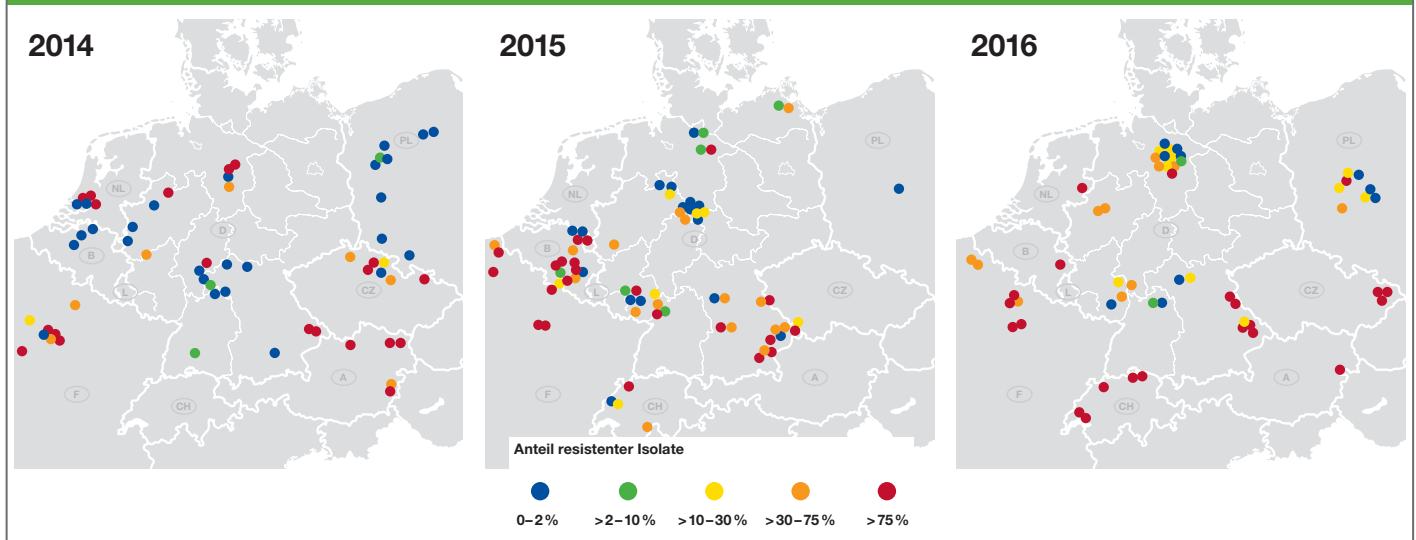
zentration des Rübenanbaus ein Risiko für höhere Inokulumdichten und höheren Krankheitsdruck und daraus resultierend stärkere und ggf. früher einsetzende Epidemien. Hierdurch und bedingt durch die Auswirkungen des Klimawandels könnte es zukünftig zu größeren Ertragsverlusten kommen.

Die Bekämpfung von *C. beticola* erfolgt aktuell vor allem durch den Einsatz von Fungiziden nach den Leitlinien

des Integrierten Pflanzenschutzes, wobei die Behandlung nach zeitspezifischen Bekämpfungsschwellen durchgeführt wird. Zur *Cercospora*-Bekämpfung sind in Deutschland noch mehrere Wirkstoffe zugelassen. Diese können den Wirkstoffgruppen der Azole (SBI class I/DMI), Strobilurine (QoI), Piperidine (SBI class II) und Benzimidazole (MBC) zugeordnet werden.

Abb. 2: Prozentualer Anteil Strobilurin-resistenter *Cercospora*-Isolate in Zuckerrübenanbaugebieten verschiedener europäischer Länder

Monitoringergebnisse 2014 (n = 65), 2015 (n = 68) und 2016 (n = 72). Rot: > 75 %, Orange: 30–75 %, Gelb: 10–30 %, Grün: 2–10 %, Blau: 0–2 %. (Daten BASF, IfZ, Eplilogic).



Nach Beobachtungen zur verringerten Fungizidwirksamkeit und der wissenschaftlichen Klassifizierung von *C. beticola* als Risikopathogen für die Selektion von Fungizidresistenzen wiesen in 2010 Studien zum Sensitivitäts-Monitoring in Südeuropa die Wirkortresistenz gegen Strobilurine in *C.-beticola*-Populationen nach. Darüber hinaus konnte in Laborversuchen eine verringerte *In-vitro*-Sensitivität des Pilzes gegenüber Azolen detektiert werden (siehe Kasten). Aufgrund dessen initiierten die BASF und das IfZ gemeinsame Aktivitäten zum Nachweis dieser Eigenschaften in deutschen und europäischen *Cercospora*-Populationen. Daraus sollte die Entwicklung der Wirksamkeit beider Produktgruppen und ggf. Maßnahmen eines Resistenzmanagements abgeleitet werden.

Monitoringaktivitäten zum Nachweis von Fungizidresistenz

In den Jahren 2014 bis 2016 wurden Blattproben aus verschiedenen europäischen Ländern, mit Einbindung der Zuckerindustrie und verschiedener Beratungsträger, zur Analyse der Sensitivität von *C. beticola* gegenüber Strobilurinen und Azolen zur Verfügung gestellt (Abb. 2).

In den meisten Anbauregionen wurden Standorte mit Strobilurin-resistenten Isolat nachgewiesen. Die Häufigkeit der Strobilurinresistenz in den untersuchten Populationen war sehr va-

riabel, sie reichte von voll sensitiv (0 % G143A) bis hin zu sehr hohen Werten (100 %). Dies ist häufig mit der Schlaghistorie (Fruchtfolge, Epidemieverlauf, Bekämpfungserfolg etc.) korreliert. Vor allem in südlichen Anbauregionen hat sich

die Strobilurinresistenz in den vergangenen Jahren stärker erhöht. Es muss davon ausgegangen werden, dass bei einem gewissen Anteil von resistenten Isolat in der Population die Feldwirkung der Strobilurine deutlich verringert ist.

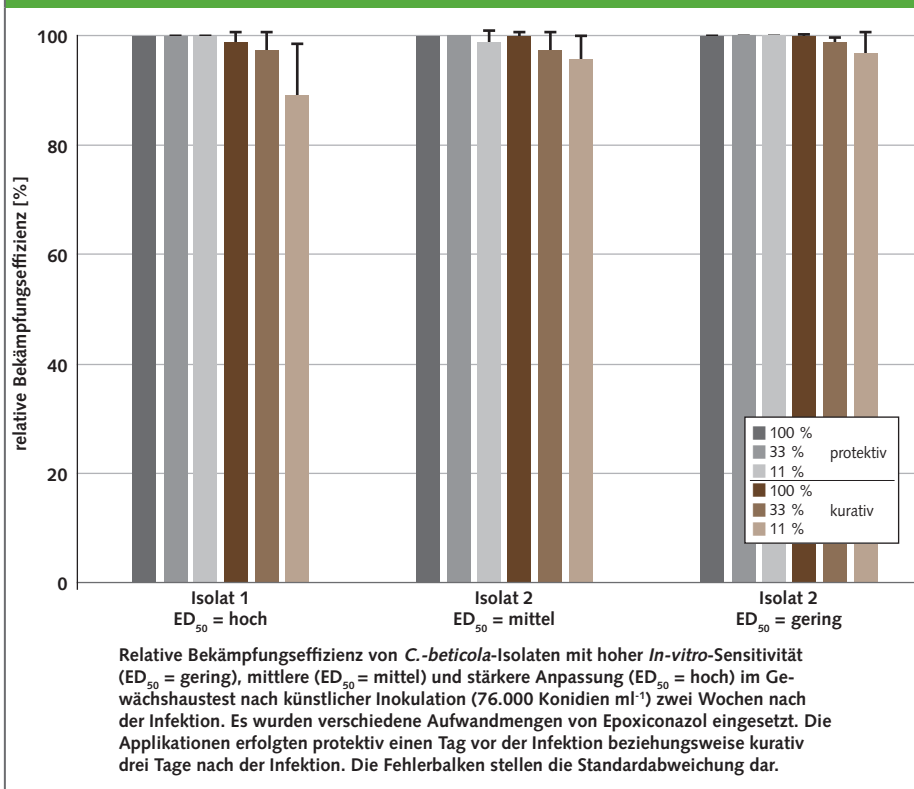
Nachweis von Strobilurinresistenz

Strobilurine gehören zu einer Wirkstoffklasse, die ein hohes Risiko zur Selektion von Fungizidresistenz aufweist. Bei der G143A-Punktmutation ist der pilzliche Zielort (das Cytochrom b) des Fungizids so verändert, dass es zu einem qualitativen Wirkungsverlust der Strobilurine kommt. Daher spricht man hier von einer Wirkortresistenz. Bei einigen Strobilurinen (z. B. Pyraclostrobin) ist dieser Wirkungsverlust nicht vollständig und es ist noch eine Restwirkung zu beobachten. Die G143A-Mutation beeinträchtigt die Fitness des Pathogens nur gering, d. h., mutierte Isolate verhalten sich hinsichtlich ihrer Pathogenität, Sporenproduktion etc. ähnlich wie sensitive Isolate. Zum Nachweis der Strobilurin-Wirkortresistenz wurde ein quantitatives molekularbiologisches Verfahren (allelspezifische quantitative PCR) etabliert. Dieses erlaubt die Untersuchung von Tausenden von Läsionen in repräsentativen Proben und die Bestimmung des Anteils der Population, welches die resistenz-vermittelnde Mutation G143A aufweist.

Bestimmung verringerter Azolsensitivität

Die Azole weisen ein geringeres Resistenzrisiko als die Strobilurine auf. Grund hierfür ist, dass die pilzlichen Erregerpopulationen sich nur schrittweise mittels verschiedener Resistenzmechanismen, die jeweils geringe Effekte bewirken, anpassen können („shifting“). Im Gegensatz zu den Strobilurinen ist die Produktwirksamkeit hier meist nur reduziert, aber nicht vollständig verloren. In Abhängigkeit von den mit den Resistenzmechanismen korrelierten Fitnessverlusten für den Pilz und dem Selektionsdruck durch Azole kann das „shifting“ sogar reversibel sein, d. h., angepasste Populationen können wieder eine höhere Sensitivität aufweisen. Die Bestimmung der Sensitivität gegenüber Wirkstoffen der Gruppe der Azole ist über eine Labormethode (*in vitro*) möglich. Hierbei wird die Wirkstoffkonzentration bestimmt, welche eine 50 %ige Wachstumshemmung (ED_{50}) von *C. beticola* erzeugt. Je höher der ED_{50} -Wert, desto geringer die Sensitivität. Aufgrund des hohen experimentellen Aufwandes ist die Anzahl der zu prüfenden Isolate eines Standortes begrenzt.

Abb. 3: Relative Bekämpfungseffizienz von *C.-beticola*-Isolaten mit unterschiedlicher *In-vitro*-Sensitivität gegenüber Epoxiconazol



zu hohes Inokulumpotenzial oder Umweltbedingungen als Ursachen für eine verringerte Feldwirksamkeit ausgeschlossen werden. Es wurden drei Isolate mit unterschiedlicher *In-vitro*-Sensitivität verglichen (Abb. 3). Zwei Wochen nach der Applikation konnten jedoch nur geringe Unterschiede in der relativen Bekämpfungseffizienz (Effizienz in der Bekämpfung relativ zur unbehandelten Kontrolle) in Abhängigkeit der ermittelten ED_{50} -Werte beobachtet werden. Aufgrund der geringen Differenzierung wurde kein ausgeprägter Zusammenhang zwischen *In-vitro*-Sensitivität und Fungizidwirksamkeit an Pflanzen deutlich. Die protektive Applikation des Fungizids zeigte selbst bei sehr geringen Aufwandmengen eine ähnlich hohe Bekämpfungseffizienz. Bei der kurativen Behandlung wurde eine geringfügig reduzierte Effizienz ebenso wie eine Differenzierung nach Verwendung unterschiedlicher Wirkstoffkonzentrationen beobachtet.

Strobilurin- und Azol-Wirksamkeit in Feldversuchen mit natürlicher Infektion

Um die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der Labor- und Gewächshausversuche zu überprüfen, wurden in 2016 Feldexperimente mit natürlicher Infektion an zwei *Cercospora*-Problemstandorten in Bayern (Makofen) und Hessen (Nordheim) durch die ARGEN Regensburg und Südwest durchgeführt. Hierbei fanden Azoxystrobin und alle drei aktuell verfügbaren Azole in zwei Exaktversuchen in Kombination mit einer *Cercospora*-anfälligen Zuckerrübensorte Verwendung. Dabei wurden Einzelwirkstoff-

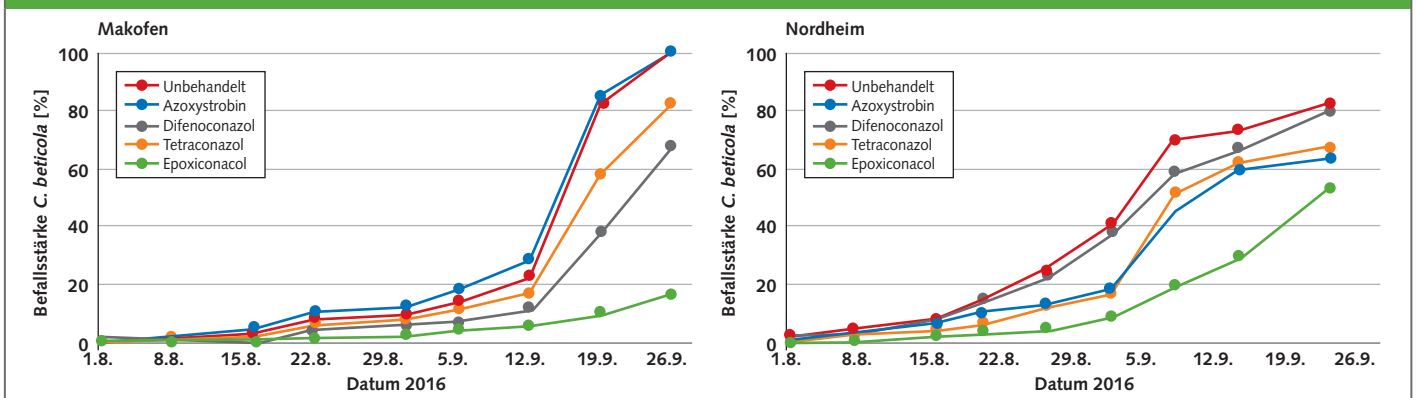
Die Azolsensitivität wurde für fünf (2014, 2015) bzw. zehn (2016) Isolate je Standort *in vitro* gegenüber dem Wirkstoff Epoxiconazol bestimmt. Dabei wurde eine hohe Variabilität der ED_{50} -Werte beobachtet. Im Vergleich zu Referenzisolaten konnte bei einzelnen Isolaten eine bis zu 100-fache Verringerung der Sensitivität detektiert werden. Anpassungen in dieser Höhe sind für zahlreiche Pathogene bekannt (z. B. *Zymoseptoria tritici*, *Erysiphe necator*), die dennoch mit Azolen erfolgreich bekämpft werden.

Wirksamkeit von Epoxiconazol in Gewächshausversuchen mit Inokulation

Die Ergebnisse der *In-vitro*-Sensitivitätstests mit Epoxiconazol wurden durch Gewächshausversuche mit künstlicher Inokulation und verschiedenen Wirkstoffmengen (0, 11, 33 und 100 % der zugelassenen Aufwandmenge) unter protektiven und kurativen Spritzapplikationen (einen Tag vor bzw. drei Tage nach der Inokulation) ergänzt. Hierdurch können Faktoren wie zu späte Behandlung,

Abb. 4: Entwicklung der Befallsstärke von *C. beticola*

2-fache Applikation nach Schadschwelle von Azoxystrobin sowie verschiedener Azole im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle am Standort Makofen und Nordheim in 2016. Azoxystrobin (Ortiva 1,0 l/ha), Difenoconazol (Score 0,4 l/ha), Tetraconazol (Domark 10 EC 1,0 l/ha), Epoxiconazol (Opus 1,0 l/ha).



fe in Marktprodukten in 2-facher Applikation nach Schadschwelle eingesetzt. Neben der Erhebung der Befallsstärke wurde, wie oben beschrieben, der Strobilurin-Resistenzstatus und für jeweils 20 Isolate die *In-vitro*-Sensitivität gegenüber Epoxiconazol bestimmt. Das Ergebnis zeigt für den Standort Makofen eine sehr hohe und den Standort Nordheim eine mittlere Befallsstärke zum Vegetationsende (Abb. 4). Die im Labor ermittelte Azol-Sensitivität (bestimmt durch mittlere Epoxiconazol ED₅₀) war in Makofen im niedrigen bis mittleren und in Nordheim im hohen Bereich, d. h., die Isolate aus Nordheim waren Epoxiconazol-sensitiver als die aus Makofen. Trotzdem wurde die Befallsstärke in Makofen durch Epoxiconazol deutlich reduziert. Bei der Analyse des Strobilurin-Resistenzstatus betrug der Anteil resistenter *Cercospora*-Isolate in der Population 92 % auf dem bayrischen und 38 % auf dem hessischen Standort.

Die Behandlung mit Azoxystrobin führte in Makofen zu keiner sichtbar reduzierten oder verzögerten Befallsentwicklung im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. In Nordheim konnte noch ein Wirkungsbeitrag von Azoxystrobin gemessen werden. Die Bekämpfungseffizienz war, verglichen mit der Epoxiconazol-Behandlung deutlich geringer. Diese Beobachtungen korrelieren mit dem im Labor ermittelten Strobilurin-Resistenzstatus der *Cercospora*-Isolate an den jeweiligen Standorten. Somit ist bei einem Resistenzstatus von 38 % wie in Nordheim mit einer reduzierten Wirksamkeit von Strobilurinen zu rechnen. Ein guter Bekämpfungserfolg wurde hingegen durch Epoxiconazol an beiden Standorten erreicht. Die Befallsentwicklung war nach jeweils zwei Applikationen bis Ende September, verglichen mit den übrigen Wirkstoffen, deutlich geringer. Die Wirkstoffe Difenoconazol und Tetracozonazol zeichneten sich durch eine deutlich geringere Bekämpfungseffizienz aus.

Managementmaßnahmen

Der häufige Nachweis von Strobilurinresistenz in verschiedenen europäischen Ländern und deren Ausbreitung geben Anlass zur Sorge über die verbleibende Zeitspanne für einen wirksamen Einsatz von Strobilurinen zur Kontrolle von *Cercospora* ohne ein geeignetes Resistenzmanagement. Das Risiko eines Wirkungsverlustes von Strobilurinen im

BASF-Fungizidempfehlung:

Zur Behandlung von *C. beticola* stehen in der kommenden Saison Produkte mit guter Wirksamkeit zur Verfügung. Die Hauptempfehlung bleibt weiterhin:

- erste Behandlung: Juwel (1,0 l/ha),
- zweite und ggf. dritte Behandlung: Duett Ultra (0,6 l/ha).

In den Feldversuchen Makofen und Nordheim 2016 haben Juwel und Duett Ultra ihre sehr gute Leistung bestätigt. BASF entwickelt zurzeit einen neuen Azol-Wirkstoff, der den Rübenanbauern mittelfristig eine neue Lösung zur Bekämpfung von *C. beticola* bieten wird.

Feld lässt sich durch die Bestimmung des G143A-Resistenzstatus in einer *Cercospora*-Population abschätzen. Ein gezieltes Resistenzmanagement umfasst erregerspezifische Strategien zur Vermeidung der Ausbreitung. Dazu sind sowohl eine weiter gestellte Fruchtfolge als auch angepasste Fungizidmanagement-Strategien konsequent einzusetzen. Auf problematischen Standorten sollten Strobilurine ausschließlich zur ersten Behandlung und in voller Aufwandmenge eingesetzt werden. Bei der Notwendigkeit mehrmaliger Fungizidapplikationen ist zwischen den Anwendungsterminen bei der Produktwahl auf einen Wechsel des Wirkmechanismus zu achten.

Im Gegensatz hierzu konnte die Wirksamkeit von Epoxiconazol im Feld und Gewächshaus in keinen Zusammenhang mit der im Labor ermittelten *In-vitro*-Sensitivität gebracht werden. So konnte in einem Gewächshaustest gezeigt werden, dass eine Bekämpfung von Isolat mit unterschiedlichen ED₅₀-Werten mithilfe von Epoxiconazol ähnlich effizient sein kann. Die geringere Feldwirksamkeit von Difenoconazol und Tetracozonazol im Vergleich zu Epoxiconazol ist möglicherweise durch ein „shifting“ der Sensitivität gegenüber beiden Wirkstoffen begründet. Jedoch kann ebensodas Bekämpfungseffizienz-Niveau dieser Wirkstoffe prinzipiell geringer sein als das von Epoxiconazol. Insbesondere in Bezug auf die Azole ist zu beachten, dass die Daten nur einen kleinen Teil aller Isolate eines Feldes zu einem bestimmten Zeitpunkt abbilden. Da sich *Cercospora* durch eine genetisch diverse Populationsstruktur auszeichnet, können die Aussagen nur bedingt auf eine ganze Region übertragen werden. Eine abweichende Schlaghistorie innerhalb der gleichen Anbauregion bezüglich Fruchtfolge und Fungizideinsatz kann bereits zu einer abweichenden Resistenzsituation führen. Es werden durch *In-vitro*-Sensitivitätstests jedoch trotzdem wichtige Hinweise zur aktuellen Sensitivitätssituation in einem Feld gewonnen.

Weiterentwicklung der Fungizid-Strategie

Nachdem in 2016 in Zusammenarbeit von IfZ und BASF erste Versuche zum Resistenzmanagement durchgeführt wurden, wird in 2017, eingebunden in den Arbeitskreis Pflanzenschutz mit allen PSM-Herstellern des Sektors, an mehreren Standorten ein Versuch zur Entwicklung von neuen Fungizidstrategien angelegt. Dies dient dazu, Erfahrungen zu sammeln und die Beratung der Landwirte zu unterstützen. Es erfolgen weitere Untersuchungen in Feld, Gewächshaus und Labor, um angepasste, regionale Empfehlungen für ein effizientes Resistenzmanagement geben zu können.

Regulatorische Einschränkungen bei verschiedenen wichtigen Wirkstoffen werden zukünftig das Portfolio an verfügbaren Fungiziden zur *Cercospora*-Bekämpfung vermindern. Eine zielorientierte Behandlung wird damit in den kommenden Jahren weiter in den Fokus rücken, um den Selektionsdruck für die zur Verfügung stehenden Wirkstoffe möglichst gering zu halten. Hierfür ist die Zusammenarbeit von Wissenschaft, Herstellern, Beratungsinstitutionen und Anbauern von großer Bedeutung. <<

■ KONTAKT ■ ■ ■

Tobias Erven und Gerd Stammler

BASF SE, Pflanzenschutz Deutschland
Limburgerhof
tobias.erven@basf.com

Friederike Imbusch und Mark Varrelmann

Institut für Zuckerrübenforschung,
Abteilung Phytomedizin, Göttingen
varrelmann@ifz-goettingen.de