

## Abschlussbericht

Zuwendungsempfänger: Julius Kühn-Institut	Förderkennzeichen: 2817 ERA 01 L
Vorhabenbezeichnung: <b>Eurowheat: Fungizidresistenz – Netzwerk</b> <b>Teilprojekt: Bestimmung der Fungizidsensitivität der <i>Zymoseptoria tritici</i>- Population</b>	
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2018 bis 28.02.2020	

### 1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen, auch zwecks Evaluierung von Förderprogrammen.

Das Projekt Eurowheat: Fungicide Resistance Network (EURO-RES) wurde im Rahmen des europäischen C-IPM-Programms gefördert und in der Untergruppe B: Resistenzmanagement eingeordnet. Einerseits sollten integrierte und nachhaltige Anbausystem definiert werden, wo es galt über neu innovative Monitoringverfahren das Auftreten von Krankheiten, hier die Fungizidresistenz, zu erfassen. Die Daten sollten in Entscheidungshilfeprogramme eingespeist werden, um der Beratung und der Praxis Empfehlungen für Bekämpfungsmaßnahmen zu geben. Die vorgeschlagenen Maßnahmen sollten in diesem Projekt speziell die Fungizidresistenzsituation von *Zymoseptoria tritici* (teleomorph: *Mycosphaerella graminicola*) auf länder- und regionaler Ebene berücksichtigen.

Das genehmigte EUOR-RES-Projekt zielte darauf ab, das Niveau der Resistenz von *Z. tritici*-Populationen in Europa zu ermitteln und deren Dynamik mit molekularen Methoden zu untersuchen. Weiterhin war es ein Projektziel, nachhaltige IPM-Kontroll-Strategien zur Bekämpfung von *Zymoseptoria tritici* zu entwickeln, um das Risiko der Resistenzbildung zu minimieren. Die erzielten Forschungsergebnisse sollen in einem nächsten Schritt veröffentlicht und dem Beratungsdienst und den Landwirten in einfacher, nutzbarer Form zur Verfügung gestellt werden (<http://eurowheat.au.dk>).

Abschließend ist der Aufbau eines Netzwerkes bestehend aus Wissenschaftlern, Partnern der chemischen Unternehmen, der Beratung und den Behörden geplant, um eine kontinuierliche Überwachung der Schadpilz-Population und die Publikation von neuen Ergebnissen auch nach Beendigung des Projekts fortführen zu können.

In dem vom JKI durchgeführten Teilprojekt war die Fungizidsensitivität der *Zymoseptoria tritici*-Population zu bestimmen.

Bei dem JKI-Teilprojekt handelt es sich um eine Kombination aus Laborstudien zur Bestimmung der Fungizidsensitivität der *Zymoseptoria tritici*-Population, mykologischen Arbeiten zur Bereitstellung des Pilzherkünfte für weitergehende Studien bei den Projektpartnern sowie Freilandversuche zur Erfassung der Wirksamkeit von verschiedenen fungiziden Wirkstoffen.

Im Hinblick auf die Förderziele lässt sich ein wesentlicher Beitrag für ein nachhaltiges Resistenzmanagement herausstellen. Durch die länderübergreifende Zusammenarbeit konnte die Sensitivitätsveränderung von *Z. tritici* gegenüber fungiziden Wirkstoffen erfasst und beschrieben werden. Auftreten und Verbreitung von bestimmten CYP-51-Mutationen wurden nach Sammlung von befallenen Blattproben ermittelt. Dadurch ergab sich eine große Datenbank, die letztlich als Empfehlung für ein nachhaltiges Resistenzmanagement genutzt werden kann. Auch die genutzten molekularen Testmethoden wurden im Rahmen des Monitoring erarbeitet und optimiert, so dass hier eine weitere Nutzung in anderen Institutionen oder in einem Anschlussprojekt möglich ist. Allerdings muss auch kritisch angemerkt werden, dass in diesem Projekt, welches europaweit durchgeführt wurde, die Befallssituation sehr stark von den natürlichen Bedingungen abhängig war und somit in einigen Jahren oder an einigen Orten ein Sammeln von Blattproben als Untersuchungsmaterial nicht ermöglichte. Letztlich führte das dazu, dass die geplante Anzahl an zu untersuchenden Pilzherkünften nicht erreicht wurde. Eine größere Datenbasis wäre für den Aufbau einer Resistenzmanagementstrategie hilfreicher gewesen. Zur Klärung bestimmter Fragen konnte auf ältere Daten aus dem eurowheat-Programm zurückgegriffen werden.

Das Förderziel, der Definition eines integrierten und nachhaltigen Anbausystems konnte nur bedingt erreicht werden. Die Fragen des Einflusses der Sortenresistenz von Winterweizen auf die Bildung von Fungizidresistenz bei *Z. tritici*, speziell bestimmter Mutationsformen, konnten nur in Vorversuchen untersucht werden. Allerdings wäre diese Fragestellung vor dem Hintergrund zukünftiger Ackerstrategien in Deutschland ein logischer Ansatz für ein Folgeprojekt, denn die Sorte wird mittelfristig eine noch bedeutendere Grundlage für die landwirtschaftliche Produktion darstellen.

Betrachtet man die Förderziele als Gesamtheit, so kann man feststellen, dass angewandte Projekte deren Datenbasis die Freilanduntersuchungen darstellen, eine gute länderübergreifende Kooperation zwischen Institutionen und Partnern benötigen, um den externen Einfluss wie Klimabefall und Befallssituation notfalls kompensieren zu können. Trotz der fachlich kompetenten Zusammensetzung in dem Projekt konnten die Projektpartner aufgrund des klimabedingten geringen *Z. tritici*-Befalls in 2018 nicht die vorab geplanten Datenmengen generieren.

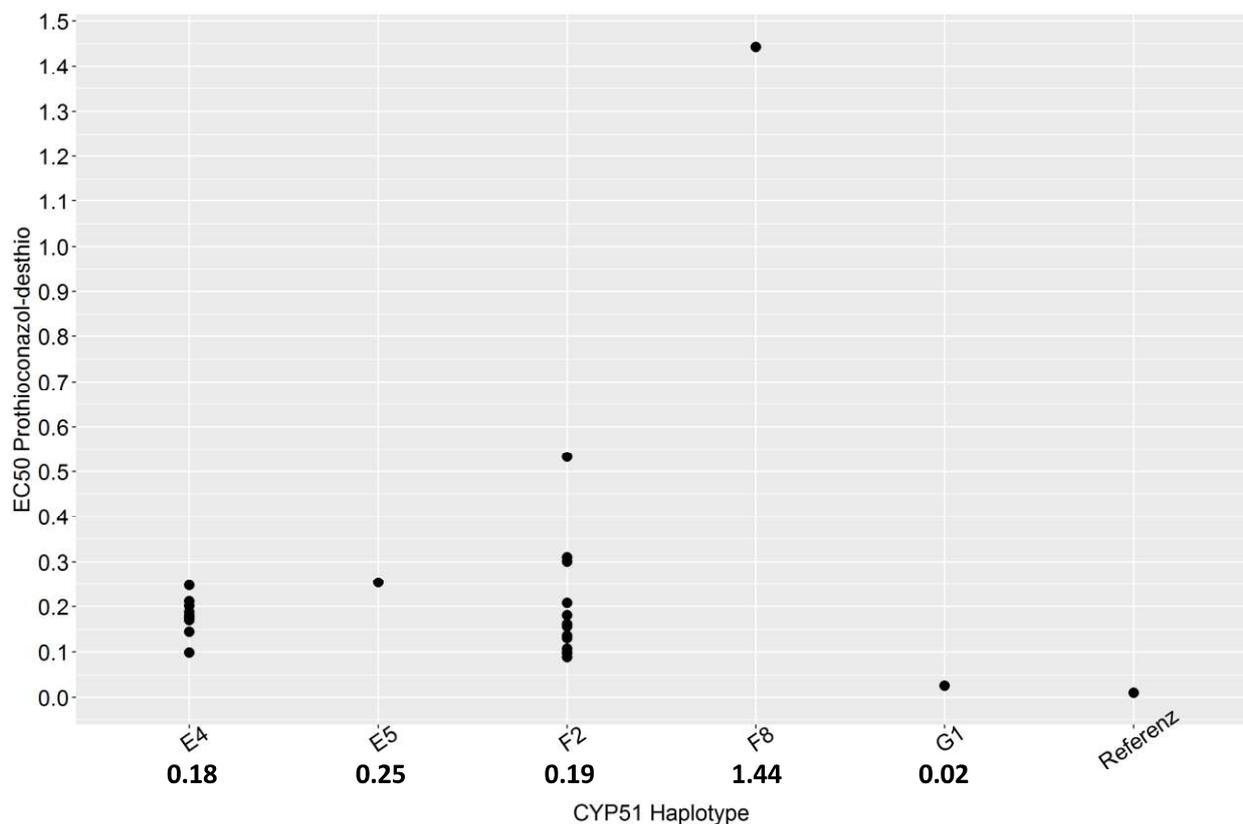
## 2. Aufzählung der wichtigsten wissenschaftlich-technischen Ergebnisse des Vorhabens im Vergleich zu den ursprünglichen Zielen, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen

### a. Laborergebnisse:

Ergänzend zum Zwischenbericht für den Berichtszeitraum vom 01.02. 2019 bis 31.01. 2020 sind die folgenden Ergebnisse noch zu berichten. Diese Daten konnten aufgrund der zeitlichen Vorgaben nicht in den Zwischenbericht integriert werden, bzw. waren noch nicht vollständig abgeschlossen und ausgewertet.

Ergänzend zu den bekannten Sensitivitätsstudien für die Wirkstoffe Tebuconazol, Metconazol und Epoxiconazol werden im Weiteren die Daten für den Wirkstoff Prothioconazol-desthio dargelegt. Zusätzlich wird die Auswertung zur DMI-Kreuzresistenz vorgestellt.

### Wirkstoff: Prothioconazol-desthio

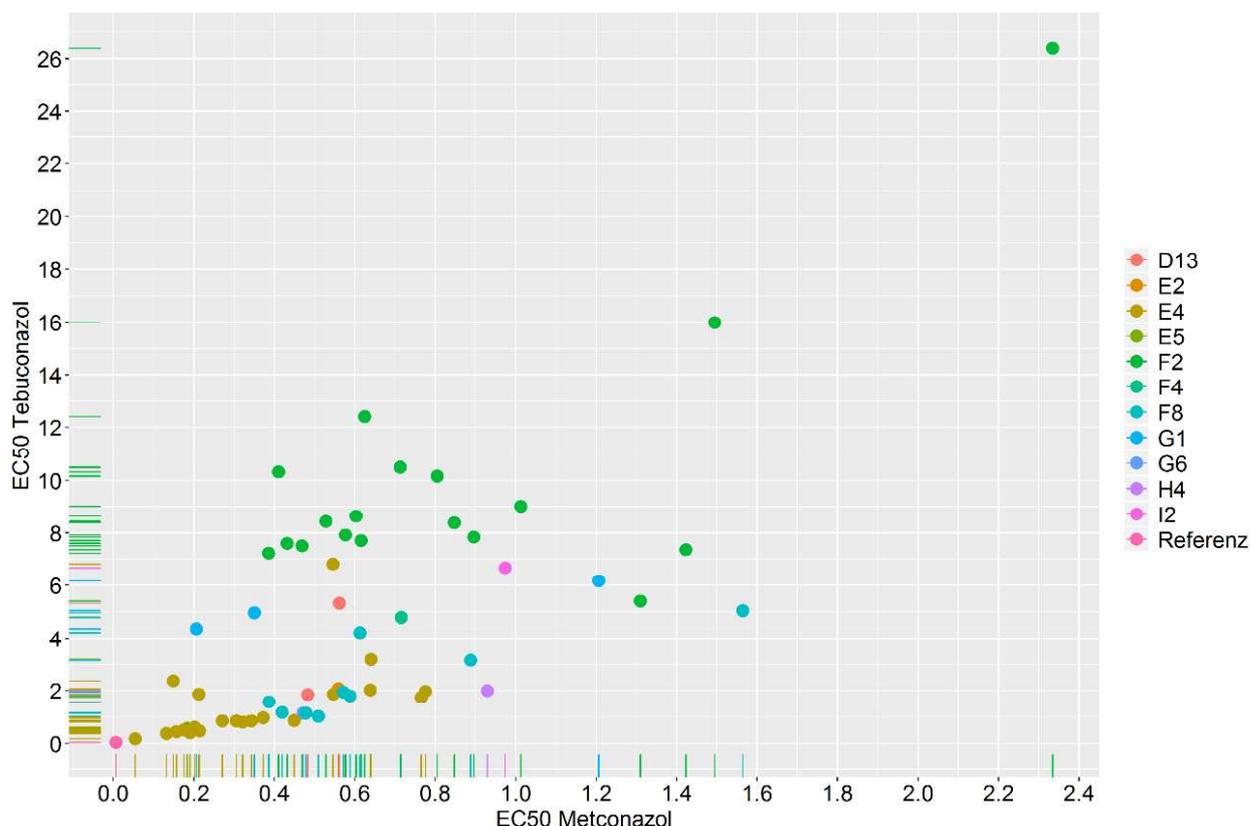


**Abbildung 3:** Einfluss unterschiedlicher CYP51-Haplotypen von *Z. tritici* auf die EC<sub>50</sub>-Konzentrationen für den Wirkstoff Prothioconazol-desthio (N=26)

Gegenüber dem Wirkstoff Prothioconazol-desthio wurden 26 *Z. tritici*-Isolate getestet. Dabei bewegte sich die Spanne der EC<sub>50</sub>-Werte je nach Haplotyp zwischen 0,25 mg/l und 1,43 mg/l,

wobei der Maximalwert 1,43 mg/l betrug. Der mittlere Wert für das sensitive Referenzisolat lag bei 0,01 mg/l (Abb. 3). Insbesondere für die Isolate der F2- (I381V-Mutation) und F8-Haplotypen (D134G, V136A, I381V und S524T) wurden die höchsten  $EC_{50}$ -Werte ermittelt. Diese Ergebnisse deuten auf eine leichte Anpassung dieser *Z. tritici* – Isolate an den Wirkstoff Prothioconazol-desthio hin.

#### DMI-Resistenz – Kreuzresistenz



**Abbildung 4:** Untersuchungen zur DMI-Resistenz – Kreuzresistenz: Korrelation zwischen  $EC_{50}$  Werten (mg/L) für Tebuconazol und Metconazol (N=60;  $R^2=0,49^{***}$ ).

Neben der Testung der Sensitivität von *Z. tritici*-Isolaten gegenüber den Einzelwirkstoffen, wurden auch Untersuchungen zur Kreuzresistenz vorgenommen. In diesen Studien wurden die  $EC_{50}$ -Werte für die Wirkstoffe Tebuconazol und Metconazol miteinander verglichen (Abb. 4). Die absolute Höhe der Werte ist aufgrund der unterschiedlichen intrinsischen Aktivität unerheblich. Vielmehr sind die Reaktionen der Einzelisolate und der verschiedenen Haplotypen von Bedeutung. Hier fallen besonders die *Z. tritici*-Isolate der Haplotypengruppe F2 mit hohen  $EC_{50}$ -Werten für beide Wirkstoffe auf, was auf eine enge positive Korrelation zwischen beiden Wirkstoffen hinweist. Diese vorhandene DMI-Kreuzresistenz wird auch durch die niedrigen Werte für die E4-Haplotypengruppe bestätigt. Für Isolate aus anderen Haplotypengruppen ist die Beziehung nicht ganz so klar.

## DMI-Resistenz – CYP51 Mutationen

Neben der regionalen Verteilung des Auftretens der verschiedenen Haplotypen an den Beprobungsstandorten (siehe Zwischenbericht 2019-2020) konnten mittels molekularer Studien die einzelnen CYP51-Mutationen ermittelt werden. In einem weiteren Schritt wurden diese den verschiedenen Haplotypen zugeordnet und deren Häufigkeit berechnet (Tab. 1). Zur Erläuterung ist anzuführen, dass nicht jede nachgewiesene Mutation für die Bekämpfung von *Z. tritici* von Bedeutung ist (nur die farblich markierten Mutationen).

**Tabelle 1:** Auftreten und Häufigkeit verschiedener Mutationen im CYP51 bei *Zymoseptoria tritici* (N=119).

Haplotyp *	Anzahl Isolate	L50	D134	V136	S188	A379	I381	Y459	G460	Y461	N513	S524
F2	41	S			N		V	Del	Del		K	
E4	38	S	G	A			V			H		
F8	16	S	G	A			V			H		T
G1	5	S			N	G	V	Del	Del		K	
H6	4	S		C	N	G	V	Del	Del			T
D13	2			C			V			H		T
F4	2	S		C	N		V			H		T
H4	3	S		A	N	G	V	Del	Del			T
E2	1	S	G	A			V			S		T
E5	1	S		A			V			H		T
G6	1	S	G	A			V	Del	Del		K	
I2	1	S	G	A		G	V	Del	Del		K	T
<b>Mutationshäufigkeit in %</b>		<b>97,87</b>	<b>50,00</b>	<b>46,80</b>	<b>46,80</b>	<b>10,64</b>	<b>100,00</b>	<b>46,81</b>	<b>46,81</b>	<b>53,19</b>	<b>41,49</b>	<b>26,60</b>

Nach Auswertung von 119 sequenzierten Isolaten konnte in jedem Isolat die I381V-Mutation nachgewiesen werden. In 46-50% der Fälle wurden die ebenfalls effektiven D134G und V136A Mutationen bestimmt. Ein vergleichbarer Wert wurde für die nicht so bedeutenden Mutationen Y459, G460 und Y461H/S ermittelt.

Nach Zuordnung der Daten zu den Haplotypen ergab sich folgendes Bild. Die F2-Haplotypen mit der Mutation I381V waren mit 35,6% am häufigsten zu finden, dicht gefolgt von der Gruppe E4 mit den D134G, A136V und I381V Mutationen bei einer Häufigkeit von 33%. Mit nur 14% folgte an dritter Stelle die F8-Haplotypengruppe. Allerdings wies die Gruppe eine zusätzliche wichtige Mutation mit der S542T auf. Diese ist auch verantwortlich für deutliche Abnahme der Sensitivität der *Z. tritici*-Isolate gegenüber Epoxiconazol und Prothioconazol-desthio.

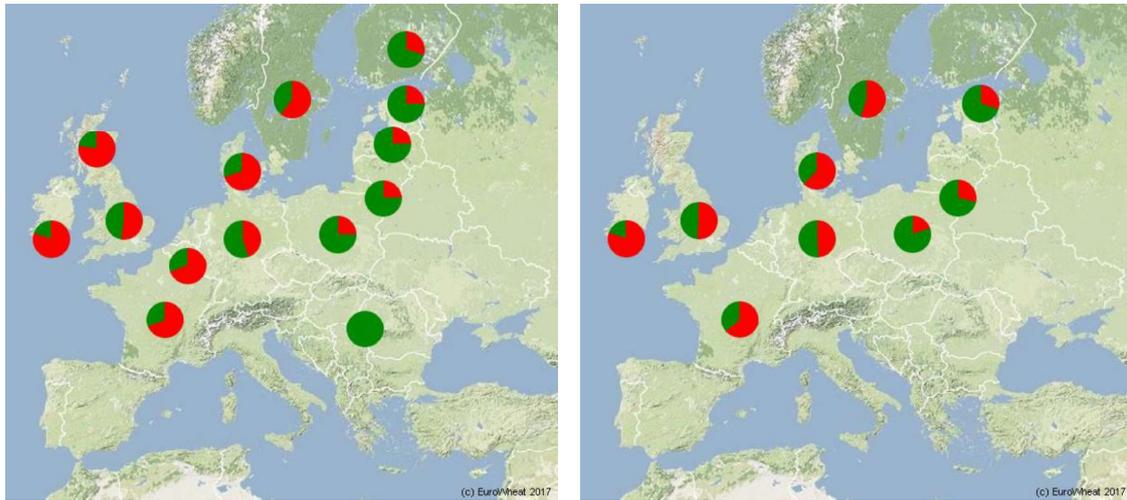
**Tabelle 2:** Einfluss der Einzelwirkstoffe auf die Bildung von Mutation im CYP51-Protein des Schadpilzes *Z. tritici*

Mutationen	Wirkstoffe				
	Epoxiconazol	Prothioconazol	Tebuconazol	Metconazol	Prochloraz
V136A	↑	↑	↓	↓	↑
A379G	↑	↑	↑	↑	↓
I381V	↑	↑	↑	↑	↓
S524T	↑	↑	↔	↓	↔
D134G	↑	↑	↑	↔	↑

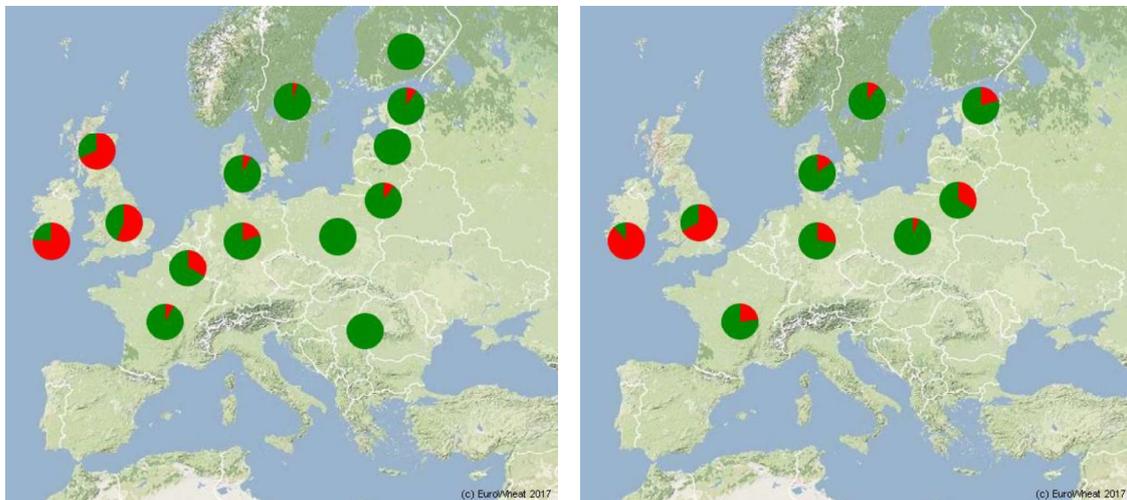
Quelle: Rodemann, 2017

Werden die in dem EURO-RES-Projekt erzielten Ergebnisse mit Angaben aus der Literatur verglichen, lassen sich für die einzelnen Azolwirkstoffe unterschiedliche Effekte auf das Auftreten und die Ausbreitung der CYP51-Mutationen beschreiben (Tab. 2). Während nach einer Anwendung von Epoxiconazol und Prothioconazol die Häufigkeit der meisten Mutationen stieg oder gefördert wird, reduzierte Prochloraz die A379G und I381V und Metconazol die V136A- und S524T-Mutationen. Der Wirkstoff Tebuconazol begünstigte zwar die meisten bedeutenden Mutationen, verminderte aber den Anteil der V136A.

Auch die europäischen Untersuchungen aus den Jahren 2018 und 2019 im Rahmen der eurowheat-Kooperation zeigten ähnliche Effekte. So wurde für die V136A- Mutation in beiden Jahren und in verschiedenen EU-Ländern eine stabile Situation mit einer Frequenz von bis zu 80% festgestellt (Abb. 5). Die Länder in der Nord-Östlichen Zone wiesen geringere Häufigkeiten auf. Demgegenüber zeigte sich für die S524T-Mutatioon ein differenziertes Bild. Neben den sehr hohen Anteilen im Bereich und Großbritannien und Irland, der auch über beide Jahre kaum eine Änderung aufzeigte, waren die Werte in den restlichen EU-Ländern eher gering. Tendenziell kann man eine Erhöhung im zentral-östlichen Anbauggebiet Europas feststellen (Abb. 6).



**Abbildung 5:** Webbasierte Darstellung der in Europa ermittelten CYP 51 Mutationen gegen *Z. tritici*, hier am Beispiel der V136A Mutationen, auf der eurowheat-Plattform; [www.eurowheat.org](http://www.eurowheat.org) für die Jahre 2018 und 2019



**Abbildung 6:** Webbasierte Darstellung der in Europa ermittelten CYP 51 Mutationen gegen *Z. tritici*, hier am Beispiel der S524T-Mutationen, auf der eurowheat-Plattform; <http://eurowheat.au.dk> für die Jahre 2018 und 2019

Quelle:

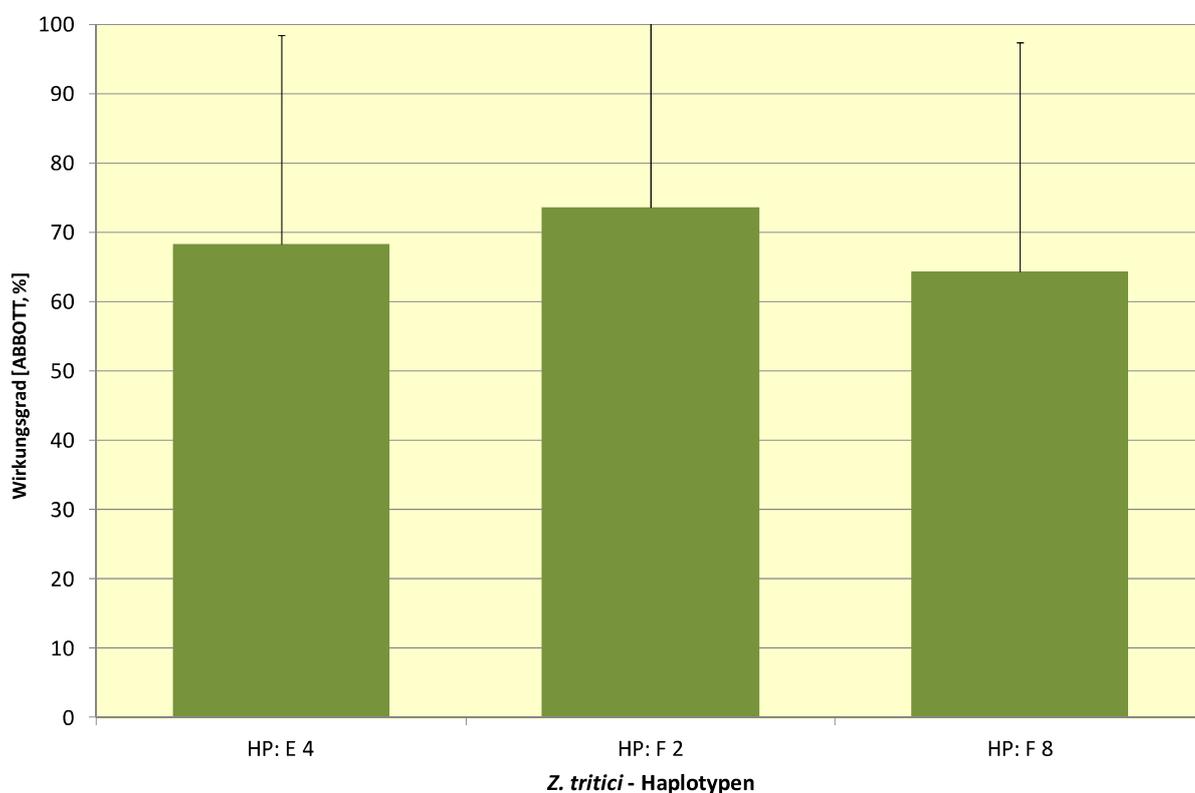
<https://agro.au.dk/forskning/internationale-plattforme/eurowheat/fungicide-resistance/eurowheat-campaign-about-azole-resistance-in-europe/map-with-cyp51-mutation-frequency-in-europe/>

Auf der Basis dieser Erkenntnisse und eines Überblicks über die räumliche Verteilung der CYP51-Mutationen in Europa (<http://eurowheat.au.dk>) wären bestimmte Wirkstoffe für ein geeignetes Resistenzmanagement zu kombinieren.

## b. Nebenergebnisse

Ergänzend zu den Sensitivitätsuntersuchungen wurden ausgewählte *Z. tritici* – Isolate der verschiedenen DMI-Haplotypengruppen gegen die Wirkstoffe Epoxiconazol (DMI), Azoxystrobin (QoI-Strobilurine); Fluxapyroxad (SDHI-Carboxamide) und Chlorthalonil (multi site-Kontaktmittel) ad planta getestet. Alle Isolate wiesen die Strobilurinmutation G 143A auf. Die

unter kontrollierten Bedingungen angezogenen Weizenpflanzen (Sorte Drifter, APS-Septoria-Blattflecken: 6) wurden im 3-Blattstadium mit einer Pyknosporensuspension bei einer Dichte von  $1 \times 10^6$  Sporen /ml inokuliert. Anschließend wurden die Pflanzen für 48 Stunden unter einem Folientunnel bei 100% rLF und 13-15°C inkubiert. Danach wurden diese bis Versuchsende bei 18°C und 90% rLF aufbewahrt. Zusätzlich wurde in den ersten 7 Tagen nach der Inkubation täglich 4x eine Sprühnebelbewässerung der Pflanzen vorgenommen, um eine Befeuchtung an der Blattoberfläche zu gewährleisten. Die Applikation der Fungizide erfolgte protektiv 2 Tage vor und kurativ 5 Tage nach der Inokulation. Die Bonitur des Blattbefalls wurde 17, 21, 25 und 30 Tage nach der Inokulation vorgenommen. Zur Beurteilung der Fungizidwirkung wurde der Wirkungsgrad nach ABBOTT berechnet.

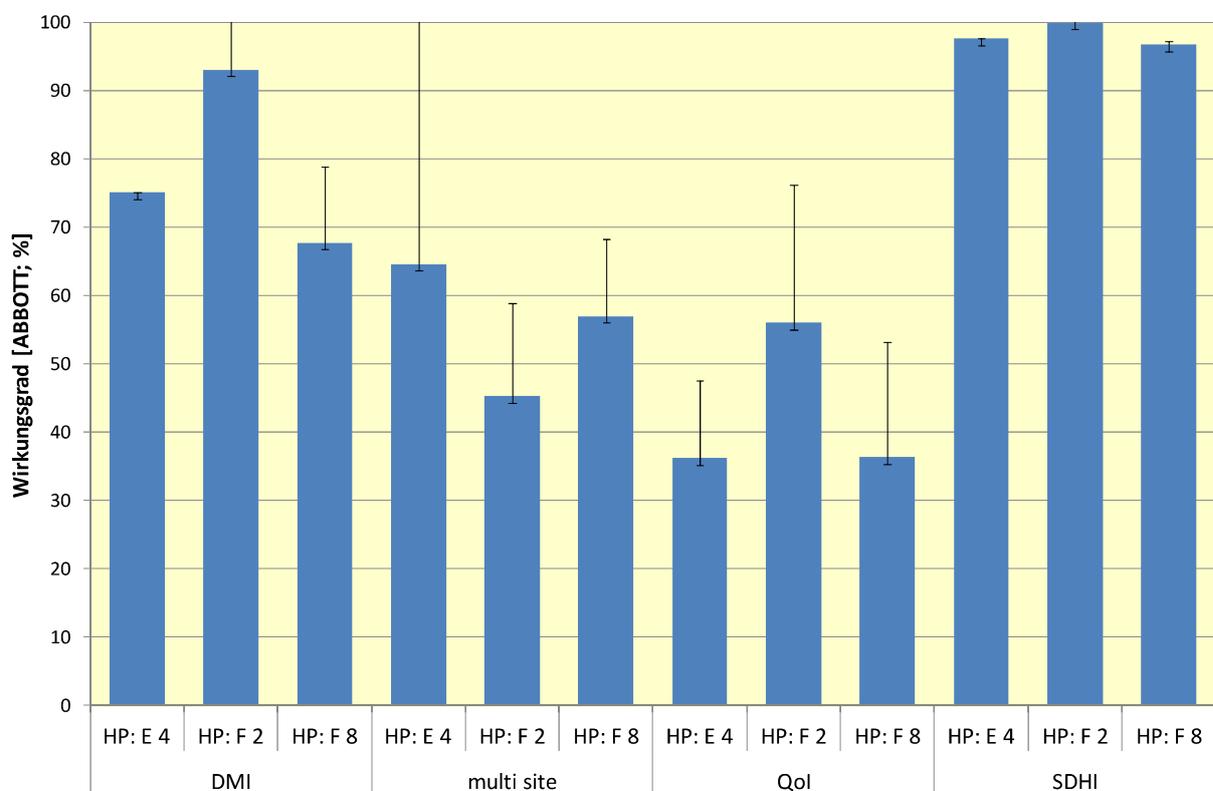


**Abbildung 7:** Einfluß unterschiedlicher Haplotypen von *Z. tritici* auf den mittleren Wirkungsgrad bei der Bekämpfung des Schaderregers bei protektiver und kurativer Applikation der getesteten Fungizide; Bonitur 17-30 dpi; TUKEY,  $p \leq 0,05$ : 8,78

In den Bekämpfungsversuchen an Jungpflanzen wurde im Mittel der untersuchten Wirkstoffe verschiedener Wirkmechanismen ein durchschnittlicher Wirkungsgrad von 68% für den Zeitraum 17-30 dpi ermittelt. Dieser Wert variierte zwischen 64,4% und 73,6% je Haplotypengruppe. Die Isolate aus der Gruppe F 2 konnten am effektivsten bekämpft werden, während Herkünfte aus der Gruppe F 8, also mit mehreren CYP 51-Mutationen, wesentlich schlechter zu kontrollieren waren (Abb. 7). Um detaillierte Informationen zu bekommen, wurden die Daten in der folgenden Abbildung 8 nach den einzelnen MoA (= mode of action) aufgelistet und für jede Haplotypengruppe betrachtet. Bei gleicher mittlerer Fungizidleistung von 68%

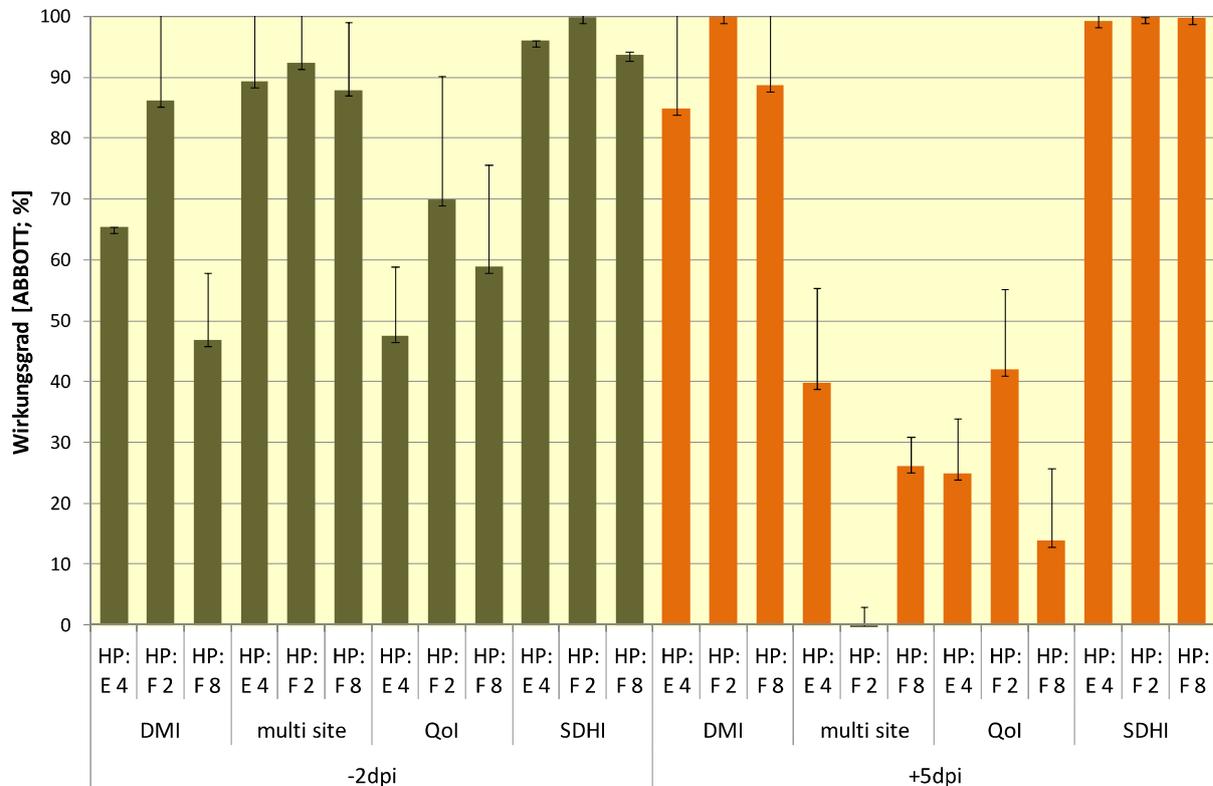
bewegte sich dieser Wert zwischen 36% und 100%. Der SDHI-Caboxamidwirkstoff Bixafen kontrollierte unabhängig von der Haplotypengruppe das Pilzwachstum fast vollständig. Effekte verschiedener CYP 51- Mutationen auf die Bekämpfungsleistung konnte bei den getesteten Isolaten nicht nachgewiesen werden. Das stellt einen klaren Beleg für eine nicht vorhandene Kreuzresistenz dar.

Der Wirkstoff Azoxystrobin, ein Strobilurin (QoI), zeigte eine deutlich verminderte Hemmung des Pilzwachstums mit nur 36-54% Wirkung. Die vorhandene Target site –Mutation G143A wurde damit auch im Pflanzentest bestätigt (Abb .8). Die Isolate der Gruppe F2 scheinen ein geringere „fitness“ aufzuweisen, so dass der Pilz immerhin zu 50% in seiner Ausbreitung gestoppt werden konnte. Bei den DMI, also den Azolen, war wie erwartet eine deutliche Differenzierung zwischen den Haplotypen festzustellen. Wie bereits durch die Sensitivitätstest belegt, werden durch den Wirkstoff Epoxiconazol die Isolate E4 und F8 nur zu 70% bekämpft, da sie aufgrund mehrerer Mutationen mittlerweile besser adaptiert sind. Nur bei den Isolaten aus der Gruppe F2 mit der einzigen Mutation I381V ausgestattet, lagen die Wirkungsgrade im Mittel über 90%. Als interessant sind die Ergebnisse des multi site - Wirkstoffs Chlorthalonil mit Werten zwischen 45% und 65% einzustufen. Diese geringen Wirkungsgrade lassen sich durch die Mittelung der Werte aus protektiver und kurativer Anwendung erklären. Dennoch überrascht die Differenzierung zwischen den Haplotypengruppen, die bislang in vielen Studien und Publikationen nicht so gesehen wurde.



**Abbildung 8:** Einfluß einzelner Wirkmechanismen der getesteten Fungizide auf den mittleren Wirkungsgrad in der Bekämpfung unterschiedlicher Haplotypen von *Z. tritici* bei protektiver und kurativer Applikation; Bonitur 17-30 dpi; TUKEY(Haplotypen),  $p \leq 0,05$ : 8,78; TUKEY(Wirkmechanismen),  $p \leq 0,05$ : 11,14

Da für die Definition eines effektiven und nachhaltigen Resistenzmanagement neben den Wirkstoffen verschiedener Wirkstoffgruppen auch der Applikationszeitpunkt hinsichtlich der Selektion von insensitiven Herkünften von Bedeutung ist, wurden die Effekte des Applikationstermins zusätzlich ausgewertet (Abb. 9).

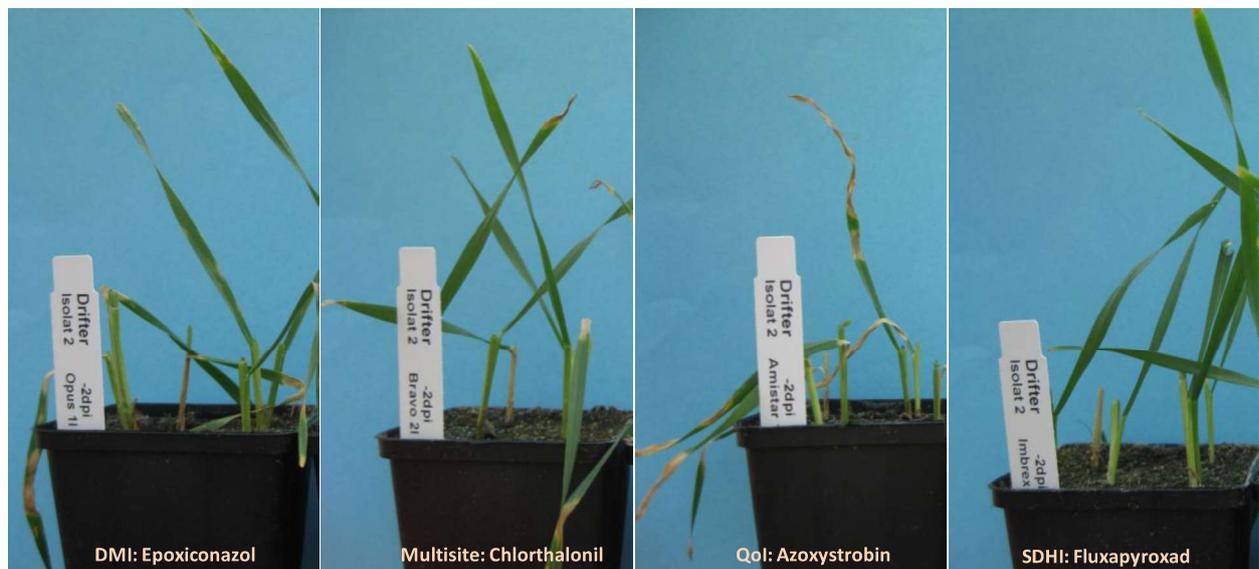


**Abbildung 9:** Einfluß einzelner Wirkmechanismen der getesteten Fungizide und des Applikationszeitpunktes auf den mittleren Wirkungsgrad bei der Bekämpfung unterschiedlicher Haplotypen von *Z. tritici*; Bonitur 17-30 dpi; TUKEY(Haplotypen),  $p \leq 0,05$ : 8,78; TUKEY(Wirkmechanismen),  $p \leq 0,05$ : 11,14; TUKEY(Applikationszeitpunkt),  $p \leq 0,05$ : 5,98

Die bereits beschriebenen Wirkstoffe wurden 2 Tage vor der Inokulation und später 5 Tage nach der Inokulation appliziert. Durch die protektive Anwendung wurde ein Wirkungsgrad von 77,8% erreicht, während in der kurativen Applikation dieser Wert nur bei 59,8% lag.

Bei der Auswertung der Daten aus der **vorbeugenden Anwendung** wird deutlich, dass die Wirkstoffe Chlorthalonil und Bixafen einen Wirkungsgrad von 90% bis 100% erreichten. Darüber hinaus war eine Differenzierung zwischen den Haplotypen nicht festzustellen. Die QoI-Resistenz der *Z. tritici*-Isolate gegenüber Azoxystrobin wurde erneut bestätigt. Dennoch konnten die Isolate aus der F2-Gruppe zu 70% kontrolliert werden. Das heißt, das Auskeimen der Pykno-sporen und die Penetration des Pflanzengewebes konnte hier moderat verhindert oder verlangsamt werden. Bei den DMI wurde die Variation zwischen den Haplotypen bestätigt, insbesondere der deutliche Wirkungsverlust bei der Gruppe F8. Hier lagen die Werte auf gleichem Niveau wie den Strobilurinen.

In der folgenden Abbildung 10 mit den Befallssymptomen an den Jungpflanzen ist der klare Wirkungsverlust von Azoxystrobin (Mittel: Amistar) bei vorbeugender Anwendung zu erkennen, während der Kontaktwirkstoff Chlorthalonil (Mittel Bravo 500) die Pflanze vor einer Besiedlung durch *Z. tritici* schützen konnte.



**Abbildung 10:** Einfluss von fungiziden Wirkstoffen mit verschiedenen Wirkmechanismen auf den Bekämpfungserfolg von *Zymospetoria tritici* im Weizen bei protektiver Applikation (- 2dpi); Isolat 2 = Haplotyp E4

Werden die Wirkstoffe nach der Inokulation in der **kurativen Phase** (+5 dpi) appliziert, ändern sich die Ergebnisse grundlegend (Abb. 9). Eine Wirkung des multi site-Wirkstoffes Chlorthalonil ist fast nicht vorhanden und auch der wenig systemische Wirkstoff Azoxystrobin kann das Pilzwachstum im Pflanzengewebe nur geringfügig stoppen. Das gilt hier besonders für die Isolate der F8- und E4-Gruppe. Demgegenüber wurde eine Ausbreitung von *Z. tritici* durch Bixafen (SDHI-Carboxamid) fast vollständig gestoppt. Durch den Wirkstoff Epoxiconazol (DMI) wurden ebenfalls hohe Wirkungsgrade zwischen 84% und 100% erreicht, dennoch gab es wiederum eine Differenzierung zwischen den Haplotypen. Erneut waren die E4- und F8-Isolate schlechter zu bekämpfen, was sich in den niedrigeren Werten ausdrückte.

Der Sensitivitätsabnahme bei den *Z. tritici*-Isolaten ist an den Blattsymptome in Abbildung 11 zu erkennen. Nach Anwendung des Kontaktwirkstoffes Chlorthalonil (Mittel Bravo 500) und des Strobilurinwirkstoffes Azoxystrobin (Mittel: Amistar) konnte die vorhandene Infektion nicht gestoppt werden, während durch Fluxapyroxad und Epoxiconazol eine sehr gute Kontrolle gegeben war.



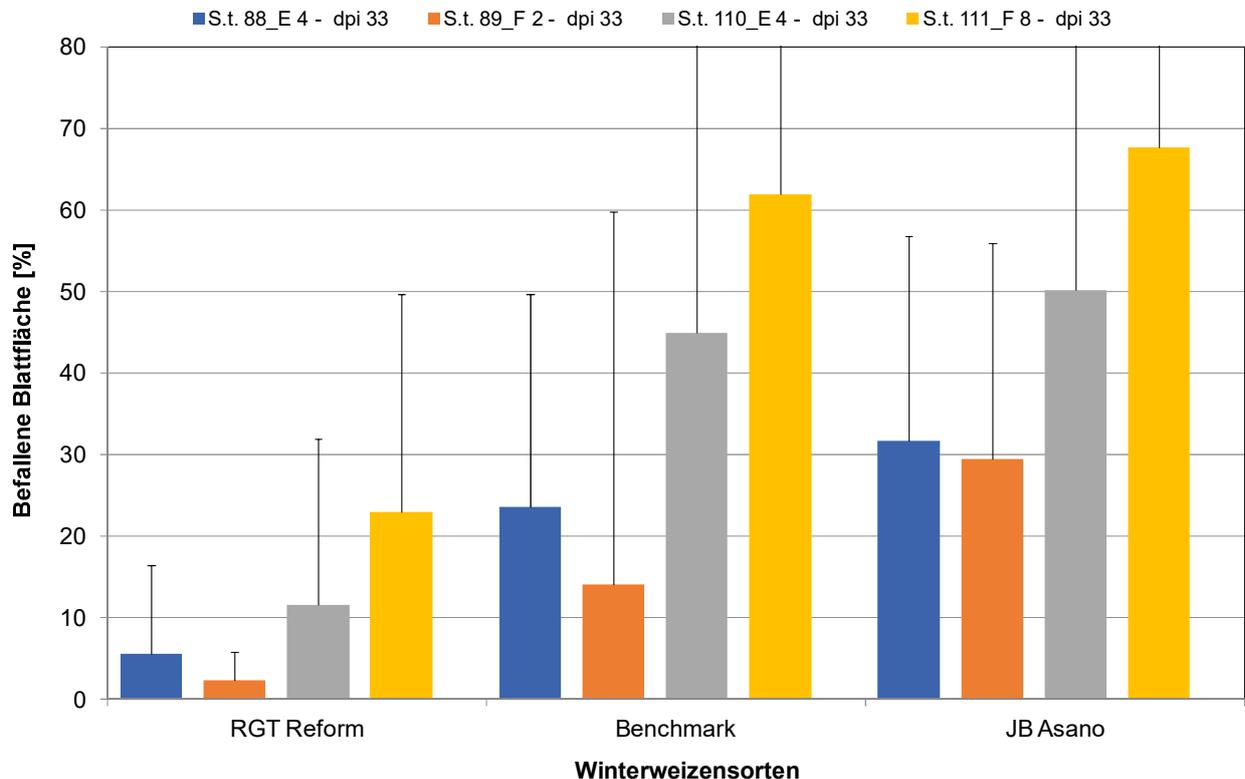
**Abbildung 11:** Einfluss von fungiziden Wirkstoffen mit verschiedenen Wirkmechanismen auf den Bekämpfungserfolg von *Zymospetoria tritici* im Weizen bei protektiver Applikation (+5 dpi), Isolat 2 = Haplotyp E4

Neben den Wirkstoffen, den Anwendungszeitpunkten besitzt auch die **Resistenz der Sorte** gegenüber *Z. tritici* eine große Bedeutung für die Erarbeitung einer geeigneten und regional angepassten Resistenzvermeidungsstrategie. Um die Sorteneffekte zu erfassen, wurde ergänzend ein erster Testversuch mit drei Weizensorten (RGT Reform, Benchmark und JB Asano) unterschiedlicher Septoria-Resistenzausprägung und vier *Z. tritici*-Isolaten der verschiedenen Haplotypengruppen durchgeführt. Der Versuchsaufbau erfolgte nach der zuvor beschriebenen Vorgehensweise.

Bei diesen Ergebnissen wurde 33 Tage nach der Inokulation ein mittlerer Blattbefall von 35,2 % bonitiert (Abb. 12). Je nach Sorte variierte dieser zwischen 19,5% für RGT Reform und 41,2% bei der Sorte JB Asano. Der Blattbefall bewegte sich in Abhängigkeit vom Testisolat im Mittel der Sorten zwischen 2,3% für das Isolat S.t.89\_F2 und 67,6 % für das Isolat S.t. 111\_F8.

Bei detaillierter Betrachtung der Sorte x Isolat x Interaktion zeigte sich, dass alle Isolate jede Sorten infizieren konnten. Allerdings führte das Isolat S.t. 89\_F2 zu sehr geringen Befallswerten, während das Isolat S.t. 111\_F8 bei allen Sorten die höchste Blattschädigung verursachte. Insgesamt wurde in der Sorte RGT Reform für jedes Isolat der niedrigste Blattbefall bonitiert. Es konnte eine Infektion und Besiedlung jeder Sorte erfolgen. Da aber keine flächige Ausbreitung aufgrund der Sortenresistenz möglich war, konnte der Erreger auch keine Fruchtkörper bzw. Sporen für eine Sekundärverbreitung bilden.

Diese ersten Voruntersuchungen zeigten, dass für die Zukunft die Sortenresistenz sowie deren Wirkung auf die Bildung von Mutationen und Verbreitung bei der Entwicklung von neuen nachhaltigen Resistenzstrategien berücksichtigt werden müssen. Da diese Zusammenhänge aber sehr komplex sind, bedarf es weiterer Untersuchungen und Folgeprojekte.



**Abbildung 12:** Einfluss der Sortenanfälligkeit ausgewählter Winterweizensorten auf den Septoria-Blattbefall unterschiedlicher *Z. tritici*-Haplotypen

### c. Erfahrungen der Versuchstätigkeit:

Neben den Ergebnisse durch die Versuchstätigkeit wurden in diesem verbundvorhaben wichtige Erfahrungen und Erkenntnisse für zukünftige Projekte gesammelt, die sich wie folgt beschreiben lassen.

Die Erfahrungen aus den zweijährigen Felduntersuchungen zeigen, dass bei der Projektantragstellung von einer günstigeren Einschätzung zum Schaderregerauftreten und zur Durchführung des Monitoring mit der Sammlung von befallenen Blättern ausgegangen wurde. Der Einfluss der Witterung und der extremen Bedingungen im Frühjahr des Versuchsjahres, der nicht nur für das Befallsauftreten sondern auch für die Ausbreitung des Schadpilzes erforderlich ist, wurde nicht so nachteilig eingeschätzt. Das gilt insbesondere für das JKI-Teilprojekt.

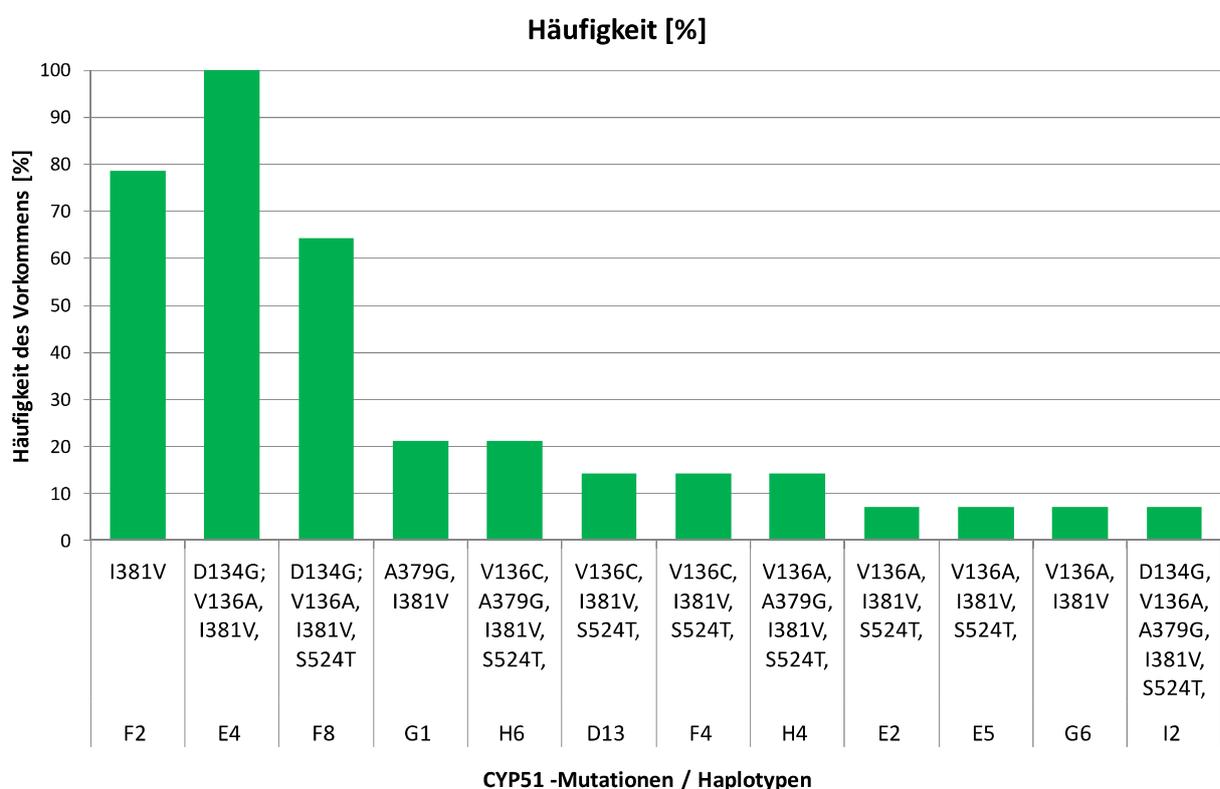
Aus diesen Erkenntnissen abgeleitet, kann man das Fazit ziehen, dass bei Projekten mit einer großen Abhängigkeit von den natürlichen Bedingungen mehrjährige Freilandhebungen erforderlich sind. Darüber hinaus ist es bei Pathogenen mit hohen Ansprüchen an Feuchtigkeit und Blattnässe dringend notwendig, diese an Standorten unterschiedlicher Klimazonen durchzuführen.

Als eine sehr positive Erfahrung des internationalen Verbundprojektes muss hier die sehr gute und fachlich kompetente Zusammenarbeit mit den anderen Kooperationspartnern erwähnt werden. Durch den regelmäßigen Austausch, was Methoden, Verfahren wie auch Ergebnisse

betrifft, konnte sich hervorragend ergänzt werden. Dadurch diese positive Kommunikation war man in der Lage Defizite auszugleichen oder Lösung für Probleme zu erarbeiten.

#### d. Zusammenfassung der molekularer Studien und Sensitivitätsuntersuchungen

In molekularen Untersuchungen wurden die verschiedenen CYP51-Mutationen bei *Z. tritici* sowie wie auch deren Frequenz bestimmt. Anhand dieser Daten wurden die Pilzherkünfte in Haplotypen, also Isolatgruppen mit gleichen Mutationen, eingeteilt. Die Häufigkeit und Verteilung der Haplotypen ist langfristig für eine übergreifende oder auch regionale Erarbeitung von nachhaltigen Kontrollstrategien von großer Bedeutung.



**Abbildung 13:** Häufigkeit der einzelnen CYP51-Haplotypen von *Z. tritici* einschließlich der nachgewiesenen Mutationen im Versuchszeitraum

In den deutschen Proben wurden insgesamt 12 Haplotypen nachgewiesen (Abb. 13). In allen Proben waren Isolate der Haplotypengruppe E4, d.h. mit den CYP51-Mutationen D134G, V136A und I381V vertreten. In 78% der Proben wurde die Gruppe F2 mit der I381V-Mutation und die Gruppe F8 mit den vierfachen Mutationen D134G, V136A, I381V und S524T mit 64% detektiert.

#### Mutationen:

**QoI:** Von den getesteten 119 Isolaten wiesen 99 Isolate diese hochwirksame Mutation G143A auf. Damit besaßen 86% der Pilzherkünfte besaßen diese genetische Veränderung am Wirkort.

**DMI:** Jedes der 119 sequenzierten Isolate besaß die I381V-Mutation. In 46-50% der Fälle wurden die ebenfalls wichtigen D134G und V136A Mutationen nachgewiesen.

In den **Mikrotiterplatten-Assay** auf Basis der FRAC-Anleitung für Azole von 2009 wurde die Sensitivität der *Z. tritici*-Isolate gegenüber den fungiziden Wirkstoffen Tebuconazol, Metconazol, Epoxiconazol und Prothioconazol-desthio getestet. Gegenüber den Referenzisolaten wiesen alle *Z. tritici*-Testisolate nach Fungizidbehandlung einen Anstieg der EC<sub>50</sub>-Werte auf. Das deutet auf eine Abnahme der Sensitivität hin und gilt als erster Hinweis auf die Anpassung des Erregers an die Azolwirkstoffe (Tab. 3).

**Tabelle 3:** Einfluss des fungiziden Wirkstoffs auf die Änderung der EC<sub>50</sub>-Werte der im Projektzeitraum am häufigsten vorkommenden Haplotypen von *Z. tritici* (N = 119)

Haplotyp*	Mutationen	Häufigkeit [%]	Tebuconazol	Metconazol	Epoxiconazol	Prothioconazol-desthio
F2	I381V	78,6	+++	++	+++	++
E4	D134G; V136A, I381V,	100	++	++	++	++
F8	D134G; V136A, I381V, S524T	64,3	++	++	+++	+++
G1	A379G, I381V	21,3	++			
H6	V136C, A379G, I381V, S524T,	21,3		+++		

Tebuconazol:

Die Ergebnisse der Labortests mit Tebuconazol deuten auf eine klare Anpassung hin. Dabei wurden für die Isolate der F2-Haplotypen (I381V-Mutation) die höchsten EC<sub>50</sub>-Werte ermittelt.

Metconazol:

Für den Wirkstoff Metconazol zeigten die H6-Haplotypen (V136C, A379G, I381V und **S524T**) besonders hohe EC<sub>50</sub>-Werte. Gerade die Mutationen S524T verringerte die Wirksamkeit von Metconazol.

Epoxiconazol:

Auch hier können die *Z. tritici*-Isolate der F2-Haplotypen (I381V-Mutation) als auffällig eingestuft werden. Diese erhöhten Werte bestätigen die bei Tebuconazol gewonnenen Ergebnisse und weisen deutlich auf die Kreuzresistenz zwischen beiden Wirkstoffen hin.

Prothioconazol-desthio:

Insbesondere für die Isolate der F2 (I381V-Mutation)- und F8( D134G, V136A, I381V und S524T)- Haplotypen wurden die höchsten  $EC_{50}$ -Werte ermittelt. Diese Ergebnisse weisen auf eine leichte Anpassung dieser *Z. tritici* – Isolate an den Wirkstoff Prothioconazol-desthio hin.

#### Kreuzresistenz:

Hier fallen besonders die *Z. tritici*-Isolate der Haplotypengruppe F2 mit hohen  $EC_{50}$ -Werten für beide Wirkstoffe auf, was auf eine enge positive Korrelation zwischen beiden Wirkstoffen hinweist. Diese vorhandene DMI-Kreuzresistenz wird auch bei den niedrigen Werten für die E4-Haplotypengruppe bestätigt.

#### **e. Zusammenfassung der Feldversuchsergebnisse**

Im **WP 2** wurden am Standort Braunschweig mit einer Sporenfalle luftbürtige Sporen von *Zymospetoria tritici* gesammelt, der Erreger isoliert und vermehrt (Abb. 14). Ein Teil der auf Sporenbändern gesammelten Sporen wurden an den Projektpartner Walloon Agricultural Research Centre, Gembloux für weitergehende molekulare Studien gesandt. Aufgrund der Witterung war die Anzahl von *Z. tritici* –Sporen im Herbst 2018 sehr gering, dafür konnte das Probenaufkommen na befallenen Blättern in 2019 deutlich erhöht werden, wie der Abb. 15 zu entnehmen ist.



**Abbildung 14:** Burkhard-Sporenfalle mit Sporentapeband



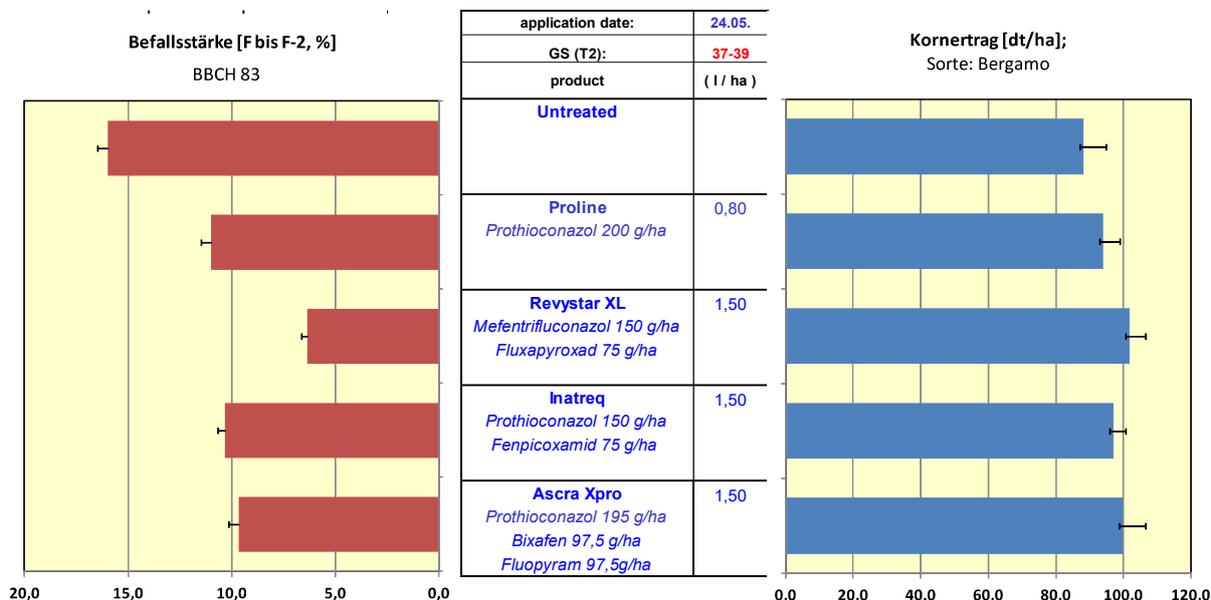
**Abbildung 15:** Übersicht über die Probenahmestandorte in 2019

Für das **WP 3** wurde in 2019 Feldversuche zur Bekämpfung von *Z. tritici* angelegt und durchgeführt. Darüber hinaus wurden in den Versuchen infizierte Blattproben sowohl für molekulargenetische Studien bei den Projektpartnern und als auch für Sensitivitätsstudien im JKI –Labor gesammelt.

Die Versuche waren durch einen moderaten Blattbefall mit *Z. tritici* auf den Blattetagen F bis F-2 gekennzeichnet. Dieser lag allerdings auf einem geringem Niveau und betrug in der Bonitur (BBCH 83) 16,0 % bei *Zymoseptoria tritici* (Abb. 16).

Die Krankheitsbekämpfung mit einer Wirkstoffkombination von Mefentrifluconazol + Fluxapyroxad zeigte die wirksamsten Effekte von über 60%. Eine Anpassung von *Z. tritici* gegenüber dem neuen Azolwirkstoff Mefentrifluconazol konnte nicht festgestellt werden.

Weiterhin belegten die Ergebnisse aus 2019, dass der Wirkstoff Prothioconazol, ein Basiswirkstoff für viele Fungizidkombinationen, im Getreide nach wie vor eine gute Wirksamkeit aufwies.



**Abbildung 16:** Einfluss der unterschiedlichen Fungizidvarianten auf den mittleren Blattbefall auf den Blattetagen F bis F-2 mit *Zymoseptoria tritici* (SEPTTR) in BBCH 83 und den Kornertrag [dt/ha]; Salzdahlum 2019, TUKEY (*Befall*),  $p \leq 0,05$ : 1,56; LSD (*Kornertrag*),  $p \leq 0,05$ ; 9,03

Die Beerntung der Feldversuche ergab einen mittleren Kornertrag von 96,3 dt/ha bei einer Variation zwischen 88,1 (unbehandelte Kontrolle) und 101,8 dt/ha (Abb. 16). Durch den Fungizideinsatz wurden Mehrerträge von bis 13 dt/ha erzielt. Insbesondere die Variante mit den Wirkstoffkombination von Mefentrifluconazol + Fluxapyroxad (Azol+SDHI-Carboxamid) erreichte den höchsten Kornertrag. Eindeutige Effekte von abnehmender Wirksamkeit infolge des Sensitivitätsverlustes auf der Schaderregerseite waren für die JKI-Versuche nicht anhand des Parameters Kornertrag belegbar.

## f. Zusammenfassung der Nebenergebnisse / Gewächshausuntersuchungen

### Isolateffekte X Applikationszeitpunkt

Zusätzlich zu den Sensitivitätsuntersuchungen wurden ausgewählte *Z. tritici* – Isolate der verschiedenen DMI-Haplotypengruppen gegen die Wirkstoffe Epoxiconazol (DMI), Azoxystrobin (QoI-Strobilurine); Fluxapyroxad (SDHI-Carboxamide) und Chlorthalonil (multi site-Kontaktmittel) getestet.

Durch die protektive Anwendung 2 Tage vor der Inokulation wurde ein Wirkungsgrad von 77,8% erreicht, während in der kurativen Applikation 5 Tage nach der Inokulation dieser Wert nur bei 59,8% lag.

In der vorbeugenden Anwendung wurde durch Chlorthalonil und Bixafen ein Wirkungsgrad von 90% bis 100% bei der Schaderregerkontrolle erreicht. Eine Differenzierung zwischen den Haplotypen war nicht festzustellen. Die QoI-Resistenz der *Z. tritici*-Isolate gegenüber Azoxystrobin wurde bestätigt.

Bei den DMI-Wirkstoff Epoxiconazol wurde die Variation zwischen den Haplotypen aufgezeigt. Insbesondere der deutliche Wirkungsverlust bei der Gruppe F8 bestätigte die Sensitivitätsstudien im Labor. Die Werte lagen auf gleichem Niveau wie den Strobilurinen.

Bei einer kurativen Anwendung wurde keine Wirkung des multi site-Wirkstoffes Clorthalonil und des wenig systemischen Wirkstoffes Azoxystrobin festgestellt. Das galt hier besonders für die Isolate der F8-Gruppe. Demgegenüber wurde die Ausbreitung von *Z. tritici* durch Bixafen (SDHI-Carboxamid) fast vollständig unterbunden. Durch den Wirkstoff Epoxiconazol (DMI) wurden zwar auch hohe Wirkungsgrade zwischen 84% und 100% erreicht. Es gab es eine Differenzierung zwischen den Haplotypen; die Isolate der E4-Gruppe waren schwieriger zu bekämpfen.

#### Sorteneffekte:

Bei detaillierter Betrachtung der Sorte x Isolat x Interaktion zeigte sich, dass alle Isolate jede Sorte infizieren konnten. Allerdings führte das Isolat S.t. 89\_F2 nur zu sehr geringen Werten, während das Isolat S.t. 111\_F8 bei allen Sorten die höchsten Befallswerte verursachte. Von den verglichenen Weizensorten RGT Reform, Benchmark und JB Asano wurde in der Sorte RGT Reform für jedes Isolat der geringste Blattbefall bonitiert. Eine Infektion und Besiedlung jeder Testsorte war möglich. Bei Sorten mit Resistenzeigenschaften erfolgte keine flächige Ausbreitung und Fruchtkörperbildung.

Diese ersten Hinweise machen deutlich, dass der Resistenz der Sorte sowohl hinsichtlich der Bekämpfung wie auch des nachhaltigen Resistenzmanagements eine besondere Bedeutung zukommen wird. Diese Zusammenhänge sind aber sehr komplex und bedürfen weiterer Untersuchungen und Folgeprojekte.

### **3. Darstellung und Erläuterung der Angemessenheit von Aufwand und Zeit („Wirtschaftlichkeit“)**

Die im Vorhaben beschriebenen Arbeiten, zur Erreichung der Projektziele waren sehr aufwendig, zeitintensiv und fast ausschließlich manuell durchzuführen. Mögliche Kosteneinsparungen durch Nutzung von Geräten und technischen Lösungen waren nur bedingt möglich.

Im Einzelnen waren Sporengewinnung, Isolation und Erhaltung der Pilzherkünfte von *Z. tritici* nur manuell zu erledigen. Teilweise musste zum verfügbaren technischen Projektpersonal sogar JKI eigenes Personal zuarbeiten.

Die Durchführung der Sensitivitätsstudien war bis auf die colorimetrischen Messungen und multifunktionale Laborgeräte manuell machbar. Aufgrund der hohen Zahl der Isolatproben war hier ein erheblicher Zeitaufwand erforderlich.

Die Anlage und Durchführung der Feldversuche waren kosten- und zeitintensiv. Allerdings konnten hier die Arbeiten durch die im JKI vorhandenen Versuchstechnik zielführend unterstützt und die Arbeitsprozesse vereinfacht werden.

In der Gesamtbetrachtung war der Arbeits- und Kostenaufwand in einem angemessenen Verhältnis, obwohl aufgrund des Umfangs der Laborarbeiten der kalkulierte Arbeitskräftebedarf für das technische Personal hätte höher angesetzt werden müssen. Wäre das Probenaufkommen aufgrund eines stärkeren Befallsauftretens an den verschiedenen Versuchsstandorten erheblich größer gewesen, hätte zusätzliches technisches Personal eingestellt werden müssen. Der Bedarf hätte nicht durch Eigenleistung aus dem JKI gedeckt werden können. Insbesondere das Aufarbeiten vieler, eingeschickter Proben, die trotz klarer Anleitung nicht korrekt verpackt waren, erforderte unerwartet ein 2-3 faches an Arbeitszeit für die Isolation und Gewinnung der Testisolate.

#### **4.   Aufführen von Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben.**

Folgende im Projektantrag geplanten Arbeiten führten teilweise oder nicht zu der erwarteten Lösung:

Das Sammeln Ascosporen des Schadpathogens *Zymoseptoria tritici* mit Hilfe einer Burkhard-Sporenfalle führte im Herbst an einigen Standorten zu keinem positiven Ergebnis, da aufgrund der Witterung kein Sporenflug stattfand. Für die vorgesehenen Laborarbeiten fehlte somit Pilzmaterial, um molekulargenetische Studien durchführen zu können. Das galt besonders für den Standort auf den Versuchsflächen des JKI.

Im Versuchsjahr 2019 führten die Freilandversuche im näheren Einzugsgebiet des JKI, wo aufgrund der Trockenheit eine Ausbreitung des Primärbefalls aus den Wintermonaten nicht möglich, nur teilweise zu einem auswertbaren Ergebnis. In der Folge war der auswertbare Blattbefall sehr gering, so dass eine Einschätzung zur Wirksamkeit oder Änderungen der Wirksamkeit der Fungizide nur bedingt vorgenommen werden. Meist zeigte sich ein guter Kontrolleffekt, so dass möglicherweise der Effekt einer Sensitivitätsanpassung von *Z. tritici* mit visuellen Bewertungsmethoden nicht zu detektieren war. Auch der Parameter Kornertrag, der normalerweise gut nutzbar gewesen wäre, da keine andern pilzlichen Pathogene auftraten, brachte keine Differenzierung. Zusätzlich war durch das stark eingeschränkte Befallsauftreten auch eine Sammlung befallener Blattproben für Sensitivitätsanalysen im Labor wie auch molekularen Studien zur Detektion von Mutationen nicht zielführend.

Eine finale Bewertung zur Anpassung des Schadpilzes an die Wirkstoffe über die Applikation von fungiziden Einzelwirkstoffen, wie am JKI Standort und teilweise auch an einigen externen Orten der Projektpartner vorgenommen, war nur auf einer eingeschränkten Datenbasis möglich.

In zukünftigen Vorhaben müssen bei der Planung von Projekten mit großen Freilandaktivitäten die Risiken abiotischer Einflußfaktoren stärker bedacht oder ggfs. alternative Untersuchungsmethoden integriert werden, um die Projektziele sicher zu erreichen.

## **5. Darstellung und Erläuterung der wissenschaftlichen und ggf. Anschlussfähigkeit für eine mögliche nächste Phase.**

Aus Sicht des JKI-Teilprojektes sind die Untersuchungen abgeschlossen und die Aussichten für eine nächste Verlängerungsphase nur bei Änderung der Projektziele und Arbeitsschwerpunkte gegeben.

Die für dieses Teilprojekt gemachten Vorgaben wurden aufgrund der Witterung nicht vollständig erreicht und eine weitere Untersuchungsperiode könnte die für Deutschland formulierten Projektziele sicher erreichen. Darüber hinaus hat sich in Europa lokal eine weitere Adaption von *Z. tritici* an andere Wirkstoffgruppen wie SDHI-Carboxamiden ergeben oder es stehen mittlerweile neue Wirkstoffe zur Schaderregerbekämpfung zu Verfügung. Darunter sind sowohl neuartige Azole wie Mefentrifluconazol, andere SDHI-Carboxamide oder auch Respirationsinhibitoren, die einen neuen Wirkort aufweisen. Diese Änderungen konnten im laufenden Projekt nur ansatzweise oder nur in Gewächshausversuchen integriert werden. Da aber die Testmethodik wie auch optimierte Laborverfahren für die Sensitivitätsstudien zur Verfügung stehen, wäre es für die Bereitstellung der Daten für ein nachhaltiges Resistenzmanagement sehr zielführend, eine Anschlussförderung zu bekommen.

Welche Fragestellung in dem Projekt nicht final bearbeitet werden konnte und auch nicht ein Projektziel war, ist der Einfluss der *Z. tritici*-Resistenz von Weizensorten auf die Bildung und Verbreitung Fungizidresistenz / Mutationen des genannten Pathogens. Da die zukünftige Ausrichtung der pflanzlichen Produktion (siehe BMEL-Ackerbaustrategie) in Deutschland sehr stark auf die Nutzung resistenter Sorten ausgerichtet ist, wäre es sehr wichtig gewesen, diesen Aspekt intensiver bearbeiten zu können. Sollten resistente Sorten die Bildung oder zumindest die Ausbreitung von *Z. tritici*-Herkünften mit Mutationen gegenüber den wichtigsten Wirkstoffgruppen verhindern können, wäre die Sorten der Baustein für ein nachhaltiges Resistenzmanagement. Damit könnten die derzeit ausgebrachten Wirkstoffmengen deutlich reduziert werden. Erste Ansätze und Hinweise aus Gewächshausversuchen wurden im Anschlussbericht dargestellt. Der Bedarf einer Anschlussförderung über nationale oder internationale Förderinstitutionen wäre somit sehr groß und zeitnah erforderlich.

## **6. War der Einsatz der Bundesmittel für die Erreichung des geplanten Vorhabenziels ursächlich oder wäre dieses Ziel auch ohne Bundesmittel erreicht worden (einschließlich Bewertung evtl. Mitnahmeeffekte)?**

In diesen international aufgestelltem Verbundvorhaben mit Kooperationspartnern aus verschiedenen Ländern der EU wäre eine Durchführung ohne die Finanzierung durch Bundesmittel nicht möglich gewesen. Bei nicht vorhandener finanzieller Beteiligung Deutschlands an dem Fördervorhaben, hätte das Projekt in der beantragten Struktur nicht durchgeführt werden können. Einige der im Projektantrag formulierten Arbeitspakete, wie Feldversuche oder die Durchführung der Sensitivitätsstudien einschließlich der stetigen Bereitstellung von Pilzmaterial für die Projektpartner hätten in dem Umfang nicht bearbeitet werden können. Damit hätte nur eingeschränktes Projekt durchgeführt werden können bei dem aber wesentliche Informationen für eine nachhaltige Resistenzstrategie nicht zu erarbeiten gewesen wären. Weiterhin hätte sich für Deutschland der Nachteil ergeben, dass die Internetplattform <http://eurowheat.au.dk>, welche in Dänemark gepflegt wird, für die Berater und Praktiker in Deutschland nicht zur Verfügung gestanden hätte. Es wären folglich keine aktuellen deutschen Daten eingepflegt worden und Empfehlungen für eine regionale Strategie wären nicht abrufbar gewesen. Der Vorteil eines Verbundvorhabens lag zusätzlich darin, dass als Nebenergebnis Wissen zur Fungizidresistenz auf breiter Ebene zu generieren war. Neben den Angaben zum Schadpathogen *Z. tritici* stehen weiterhin auch Informationen zur Resistenzsituation bei anderen Schadpathogen einschließlich von Bekämpfungsempfehlungen zur Verfügung.

Neben der Erreichung dieser Projektziele mit Unterstützung durch die Bundesmittel hätte das JKI ihren Arbeitsanteil ohne die bereitgestellten Drittmittel nicht leisten konnten. Das beinhaltete die finanzielle Unterstützung für Personal, Kleingeräte und Verbrauchsmittel. Der Umfang der notwendigen Chemikalien hätte aus dem eigenen Haushalt nicht beschafft werden können bzw. auch die technische Ausrüstung wäre nicht vorhanden gewesen.

Bei diesem C-IPM-Projekt mit diversen Partnern wurden auch Reisemittel für den Ergebnisaustausch oder Projektbesprechung zur Arbeitsteilung, zur Prüfung der erzielten Ergebnisse wie auch zur laufenden Optimierung der geplanten Arbeiten bereitgestellt. Insbesondere muss beachtet werden, dass die Reisemittel vorrangig für die Betreuung und Durchführung der Versuche als Basis für weitere Projektschritte notwendig waren.

Ohne diese Unterstützung hätte das JKI mit ihrem kleinen Anteil an Eigenleistung diese Arbeiten nicht durchführen und wäre folglich als Projektpartner für das Verbundvorhaben in nicht Frage gekommen. Dieser damit verbundene Informations- und Wissensnachteil würde somit mittelfristig der Weizenproduktion in Deutschland schaden.

Bei der Gesamtbetrachtung muss berücksichtigt werden, dass die mykologischen Arbeiten zur Isolation, Erhaltung und Vermehrung zahlreicher Herkünfte von *Z. tritici* sehr arbeitsintensiv

sind. Also hier bestand ein umfangreicher finanzieller Bedarf an Personalmitteln, wo auch das JKI unterstützend Eigenleistung erbracht hat, um die Projektziele zu erreichen. Zusätzlich musste für die Tätigkeiten ein erhebliches finanzielles Volumen an Laborchemikalien, Verbrauchsmaterial und auch Energiekosten für die Erhaltung der Pilzisolat eingeplant werden. Dies war mit nur Hilfe der Förderung aus Bundesmitteln möglich. Ohne die Unterstützung hätte die fachliche JKI-Expertise zu den Schadpilzen aufgrund jahrelanger Sortenresistenz- und Fungizidtestung nicht in das Projekt eingebracht werden können.

#### **7. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer – z. B. Anwenderkonferenzen (soweit die Art des Vorhabens dies zulässt) und Darstellung der erfolgten und geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses**

Um eine abschließende Bewertung des Projektes hinsichtlich der Projektziele und der Verwertung der Ergebnisse vorzunehmen, ist es vorgesehen ein internationales Fachsymposium mit Experten verschiedener Institutionen und Forschungseinrichtungen abzuhalten. Der Ort des Fachsymposiums war noch nicht festgelegt, könnte aber in Dublin beim Teagasc als Koordinator sein. Aufgrund der derzeitigen kritischen Situation in Europa muss der für den Herbst 2020 vorzugesehene Termin überprüft werden.

Im Anschluss an die projektbezogene Veranstaltung sollen die Ergebnisse auf der jährlichen Tagung des Fachausschuss für Fungizidresistenz im Februar 2021, welcher unter Federführung des JKI durchgeführt wird, vorgestellt und damit ein Bestandteil für zukünftige Resistenzmanagementstrategien werden. Jährliche Empfehlungen werden in dieser Veranstaltung von Officialberatung, Chemischer Industrie und universitärer Forschung besprochen und verabschiedet. Darüber hinaus sollen auch Fortbildungsveranstaltung der amtlichen Officialberatung genutzt werden, um die Ergebnisse mit der Empfehlung für eine Fungizidresistenz-Vermeidungsstrategie vor Praktikern und Beratern zu präsentieren wie auch zu diskutieren.

Auch die Deutsche Pflanzenschutztagung, eine der größten wissenschaftlichen Tagungen in Europa, wird in 2021 ein gutes Forum bieten, um die erzielten Ergebnisse vorzustellen und im Kontext mit Daten anderer Kollegen zu diskutieren sowie Empfehlungen für die Praxis daraus abzuleiten.

Neben den Fachveranstaltungen ist es vorgesehen, Publikationen sowohl in angewandten Fachzeitschriften als auch in Kooperation mit den Projektpartnern in peer reviewed Journalen zu

veröffentlichen. Wie im Zwischenbericht bereits aufgeführt, wurden erste Zwischenergebnisse bereits auf internationalen Tagungen präsentiert, bzw. befinden sich in Vorbereitung zur Veröffentlichung in anerkannten Journalen.

#### Quellen:

RODEMANN, B. (2017): Wie sieht es aktuell aus? - DLG-Mitteilungen, Heft 2, S. 42-46.

RODEMANN, B. & LIEBE, S. (2020): Ergebnisse zur Resistenzsituation von *Mycosphaerella graminicola* in DE - EURO-RES-Projekt 2019. – Vortrag beim 14. Treffen des Fachausschusses Pflanzenschutzmittelresistenz – Fungizide 2020, JKI Braunschweig

JØRGENSEN, L. N. et al. (2019): Eurowheat: Status for control of *Septoria tritici* blotch across Europe using azoles. - – Vortrag beim 19th International Reinhardsbrunn Symposium - Modern Fungicides and Antifungal Compounds, Friedrichroda

DUVIVIER, M. et al. (2019): Tracking the spread of key mutations in *Zymoseptoria tritici* conferring resistance to the DMI and SDHI fungicides. – Vortrag beim 19th International Reinhardsbrunn Symposium - Modern Fungicides and Antifungal Compounds, Friedrichroda

Bei den verschiedenen Möglichkeiten der Präsentation muss beachtet werden, dass die Daten, die in mehrjährigen Untersuchungen erarbeitet und ausgewertet wurden, auch von den Praktikern über die Internetplattform: <http://eurowheat.au.dk> genutzt werden sollen. Die von den Kollegen der Universität Aarhus gepflegte Plattform wird Informationen zum regionalen Auftreten von CYP51-Mutationen von *Z. tritici* in den beteiligten Ländern enthalten. Damit können Beratung und Praxis sehen in welchen Anbaugebieten welche Wirkstoffe nicht mehr eine volle Wirksamkeit bis hin zur Unwirksamkeit aufweisen. Zu dem bietet die Plattform Angaben über Wirkstoffkombinationen zur effizienten und nachhaltigen Kontrolle von *Zymoseptoria tritici*. Darüber hinaus haben einige Projektpartner signalisiert, auch zukünftig mit neuen Ergebnissen zur Fungizidresistenz bei *Z. tritici* für die Datenbank, insbesondere bei neuen Wirkstoffen oder Wirkstoffgruppen, bereit zu stellen.

**Feldversuche:**

Für die Durchführung der Freilandversuche, der direkten Versuchsbetreuung und Probenahme wurden weniger finanzielle Mittel benötigt als im Ansatz vorgesehen. Diese Abweichung begründet sich in den Wegfall von Versuchsstandorten, da diese infolge des fehlenden *Z. tritici*- Auftretens nicht auswertbar waren. Die Kosteneinsparung bezog sich insbesondere auf nicht benötigte Mittel für die Feldversuche direkt (z.B. Verbrauchsmaterial, Erntetüten, etc.) wie auch für Übernachtung und Fahrtkosten.

**Projekttreffen/ Projektbesprechungen:**

Im Antrag wurden mehrerer Projekttreffen und Besprechungen wie Projekttreffen mit Feldbesichtigungen geplant und als finanzielle Mittel beantragt.

Dadurch dass einige dieser bei verschiedenen Projektpartnern vorgesehene Treffen abgesagt wurden bzw. gemeinsam entschieden wurde, den Informationsaustausch über andere digitale Medien vorzunehmen, wurde für diese Kostenposition Mittel eingespart.

## 9. Kurzfassung zum Abschlussbericht

Zuwendungsempfänger: Bundesforschungsanstalt für Kulturpflanzen, Julius Kühn- Institut	Förderkennzeichen: 2817 ERA 01 L
Vorhabenbezeichnung: <b>Eurowheat: Fungizidresistenz – Netzwerk</b> <b>Teilprojekt: Bestimmung der Fungizidsensitivität der <i>Zymoseptoria tritici</i>- Population</b>	
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2018 bis 28.02.2020	

### Projektbeschreibung:

In dem Eurowheat-Projekt (EURO-RES) mit Wissenschaftlern aus Belgien, Dänemark, Deutschland, Irland und Schweden galt es integrierte und nachhaltige Anbausysteme zur Hemmung der Fungizidresistenzausbreitung des Schadpathogen *Zymoseptoria tritici* zu entwickeln. Dazu waren die Fungizidsensitivität sowie die dynamische Verbreitung von *Z. tritici* -Populationen in Europa zu bestimmen und effektive IPM-Kontrollstrategien für die Praxis zu erarbeiten. Ergebnisse sollten Beratung und Praktikern bereitgestellt werden.

Im diesem Teilprojekt war das JKI für das Freilandmonitoring, sowie Isolatgewinnung und Kultivierung verantwortlich. Das JKI führte Sensitivitätsstudien der *Z. tritici*-Isolatproben mit den DMI-Wirkstoffen Tebuconazol, Epoxiconazol, Metconazol, Prothioconazol-desthio durch und bestimmte EC<sub>50</sub>-Werte für die einzelnen Isolate.

Im Freiland wurden Fungizidversuche zur Bekämpfung von *Z. tritici* mit verschiedenen Wirkstoffen angelegt, visuelle Befallsbonituren vorgenommen, sowie Kornertrag und Sensitivität des Schaderregers bestimmt.

### Projektergebnisse:

Es wurde eine deutliche Anpassung der *Z. tritici*-Isolate mit der Mutation I381V (Haplotyp F2) an die Wirkstoffe Tebuconazol und Epoxiconazol festgestellt. Die Isolate der Haplotypengruppe F8 (D134G; V136A, I381V, S524T) zeigten diese Adaption bei Epoxiconazol und Prothioconazol-desthio, während bei Metconazol nur Isolate mit den Mutationen V136C, A379G, I381V, S524T diese Reaktion aufwiesen.

In Fungizidversuchen unter kontrollierten Bedingungen wurde bei einer kurativen Anwendung von Epoxiconazol eine Minderwirkung bei der Isolatgruppe F8 festgestellt. Dagegen zeigte der SDHI-Carboxamidwirkstoff Bixafen einen Wirkungsgrad von über 90%. Dieser Wert konnte in der vorbeugenden Anwendung nur durch den multisite Wirkstoff Chlorthalonil erreicht werden.

In Freilandstudien war *Z. tritici* durch die Wirkstoffkombination Mefentrifluconazol + Fluxapyroxad oder Prothioconazol + Fenpicoxamid am wirksamsten zu bekämpfen. Eine Anpassung von *Z. tritici* gegenüber dem neuen Azolwirkstoff Mefentrifluconazol konnte nicht festgestellt werden.

In Begleituntersuchungen zum Einfluss der Sortenresistenz auf den Infektionsverlauf konnten alle Haplotypen jede Sorte infizieren. Weizensorten mit geringer Anfälligkeit verlangsamten jedoch die Befallsausbreitung.

## **Abstract**

Project name:

**Eurowheat: Fungicide resistance network**

**Subproject: Determination of the fungicide sensitivity of the *Zymoseptoria tritici*-population**

Duration of the project:

01.10.2018 until 28.02.2020

### **Project description:**

The Eurowheat project (EURO-RES) with scientists from Belgium, Denmark, Germany, Ireland and Sweden aimed at preventing the spread of fungicide resistance of the pathogen *Zymoseptoria tritici* by means of integrated and sustainable cultivation systems. The aim was to determine the fungicide sensitivity and the dynamic distribution of *Z. tritici* populations in Europe and to develop effective IPM control strategies for practical use. Results were to be made available to consultants and practitioners.

In this subproject, the JKI was responsible for field monitoring, isolate collection and cultivation. The JKI conducted sensitivity studies of the *Z. tritici* isolate samples with the DMI substances tebuconazole, epoxiconazole, metconazole, prothioconazole-desthio and determined EC50 values for the individual isolates.

### **Project results:**

A clear adaptation of the *Z. tritici* isolates with the mutation I381V (haplotype F2) to the active ingredients tebuconazole and epoxiconazole was observed. For the haplotype group F8 (D134G; V136A, I381V, S524T) the same was determined for epoxiconazole and prothioconazole-desthio, whereas for metconazole only isolates with the mutations V136C, A379G, I381V, S524T showed this reaction.

In fungicide trials under controlled conditions, a curative application of epoxiconazole was found to be less effective in group F8. In contrast, the SDHI carboxamide active ingredient bixafen showed an efficiency of more than 90%. This value could only be achieved in preventive application by the multisite active ingredient chlorothalonil.

In field studies, the most effective *Z. tritici* control was achieved by the active ingredient combination mefentrifluconazole + fluxapyroxad or prothioconazole + fenpicoxamide. An adaptation of *Z. tritici* to the new azole active substance mefentrifluconazole could not be determined.

In accompanying studies on the influence of varietal resistance on the course of infection, no differences between the haplotypes were found. Wheat varieties with low susceptibility could slow down the spread.

gez. Dr. B. Rodemann