



## Fungizidresistenz – Netzwerk (EURO-RRES)

### TP: Bestimmung der Fungizidsensitivität der *Zymoseptoria tritici*- Population

Förderkennzeichen: 2817 ERA 01 L

Vorhabenlaufzeit: 01.10.2018 bis 28.02.2020

#### KURZDARSTELLUNG:

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 Schadpathogens *Zymoseptoria tritici* (*Z. 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.

In dem vom Julius Kühn-Institut (JKI) durchgeführten Teilprojekt wurden Phänotypisierungsstudien zur Fungizidsensitivität der *Zymoseptoria tritici*-Population vorzunehmen.

Bei dem JKI-Teilprojekt handelte es sich um eine Kombination aus Laborstudien zur Quantifizierung der Fungizidsensitivität der gesammelten *Zymoseptoria tritici*-Isolate, mykologischen Arbeiten zur Charakterisierung der Pilzherkünfte sowie Freilandversuchen zur Erfassung der Wirksamkeit verschiedener fungizider Wirkstoffe.

Das JKI führte die Sensitivitätsstudien der *Z. tritici*-Isolatproben mit den Azol-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 Korntrag und Sensitivität des Schaderregers bestimmt.

#### VORHABENSCHWERPUNKT und ERA-NET

In der Weizenproduktion Weizen in Nordeuropa sind die Pflanzen durch Infektionen mit dem Blattdürreerreger *Zymoseptoria tritici* gefährdet, so dass ca. 25 % aller Fungizidmassnahmen auf die Kontrolle dieser Krankheit ausgerichtet sind. Mittlerweile hat der Erreger ein hohes Maß an Resistenzen gegenüber den verfügbaren Pflanzenschutzmitteln entwickelt, so dass die Pilzbekämpfung nur noch eingeschränkt möglich ist. Neben der Resistenzbildung bewirkt eine mittelfristig eingeschränkte Verfügbarkeit von Wirkstoffen und Pflanzenschutzmitteln eine unzureichende Pathogenkontrolle. Es ist daher zwingend notwendig, dass sowohl die potenzielle Entwicklung der Fungizidresistenz als auch die nachfolgende Ausbreitung minimiert wird.

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 veröffentlicht sowie Beratungsdienst und Landwirten in einfacher, nutzbarer Form zur Verfügung gestellt werden (<http://eurowheat.eu>).

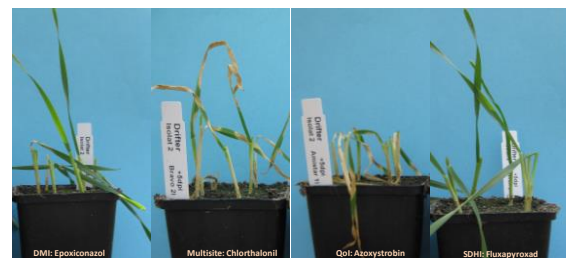
In einem abschließenden Schritt ist der Aufbau eines Netzwerkes bestehend aus Wissenschaftlern, Partnern der chemischen Unternehmen, der Beratung und den Behörden geplant, um eine kontinuierliche Überwachung der Schadpilz-Population und die Publikation von neuen Ergebnissen auch nach Beendigung des Projekts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

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

#### ERGEBNISSE

Die in den Versuchsjahren 2018 bis 2019 erarbeiteten Ergebnisse lassen sich im Wesentlichen wie folgt beschreiben.

Eine Sensitivitätsabnahme war bei den *Z. tritici*-Isolaten sowohl in Freiland- als auch in Gewächshausuntersuchungen anhand visueller Blattsymptome der Testpflanzen zu erkennen (Abb. 1).



**Abbildung 1:** Einfluss von fungiziden Wirkstoffen mit verschiedenen Wirkmechanismen auf den Bekämpfungserfolg von *Zymoseptoria tritici* im Weizen bei kurativer Applikation (+5 dpi), Isolat 2 = Haplotyp E4

Wurden die Wirkstoffe nach der Inokulation in der kurativen Phase (+5 dpi) appliziert, war eine Wirkung des multi site-Wirkstoffes Chlorthalonil kaum vorhanden und auch der wenig systemische Wirkstoff Azoxystrobin konnte das Pilzwachstum im Pflanzengewebe der E4-Haplotypen nur geringfügig stoppen. Demgegenüber wurde eine Ausbreitung von *Z. tritici* durch Fluxapyroxad (SDHI-Carboxamid) fast vollständig gestoppt, während für den Wirkstoff Epoxiconazol (DMI) hohe Wirkungsgrade zwischen 84% und 100% erreicht wurden.

Zusätzlich durchgeführte molekulare Analysen zur Bestimmung der vorhandenen Mutationen im CYP51-Protein zeigten (Tab. 1), dass in allen der 119 sequenzierten Isolate die I381V-Mutation nachgewiesen wurde. In 46-50% der Proben wurden die ebenfalls effektiven D134G- und V136A-Mutationen detektiert.

**Tabelle 1:** Auftreten und Häufigkeit verschiedener Mutationen im CYP51-Protein bei *Zymoseptoria tritici* (N=119) in Deutschland

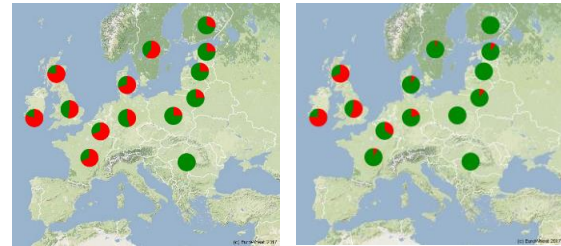
Haplo- typ*	Anzahl Isolate	CYP51-Mutationen										
		L50	D134	V136	S188	A379	I381	Y459	G460	Y461	N513	S524
F2	41	S			N		V	Del	Del		K	
E4	38	S	G	A			V			H		
F8	16	S	G	A			V			H		T
G1	5	S			N	G	V	Del	Del		K	
H6	4	S		C	N	G	V	Del	Del			T
D13	2			C			V					T
F4	2	S		C	N		V			H		T
H4	3	S		A	N	G	V	Del	Del			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>Mutations- häufigkeit in %</b>	<b>97,9</b>	<b>50,0</b>	<b>46,8</b>	<b>46,8</b>	<b>10,6</b>	<b>100,0</b>	<b>46,8</b>	<b>46,8</b>	<b>53,2</b>	<b>41,5</b>	<b>26,6</b>	

Nach Zuordnung von Isolaten mit verschiedenen Mutationen zu bestimmten Haplotypen waren die F2-Haplotypen mit der I381V-Mutation 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 einer Frequenz von 14% folgte an dritter Stelle die F8-Haplotypengruppe. Allerdings wies diese Gruppe zusätzlich die wichtige Mutation S542T auf, welche eine deutliche Sensitivitätsabnahme der *Z. tritici*-Isolate gegenüber Epoxiconazol und Prothioconazol bewirkt.

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. 2). Für die S524T-Mutation wurden sehr hohe Anteile für Großbritannien und Irland bestimmt, während die Werte in den restlichen EU-Ländern eher gering waren.

Zusammenfassend lassen sich für die einzelnen Azolwirkstoffe unterschiedliche Effekte auf das Auftreten und die Ausbreitung der CYP51-Mutationen beschreiben. Während nach einer Anwendung von Epoxiconazol und Prothioconazol die Häufigkeit der meisten Mutationen stieg, 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.



**Abbildung 2:** Webbasierte Darstellung der in Europa ermittelten CYP 51 Mutationen von *Z. tritici*, hier am Beispiel der V136A Mutationen (links) und S524T (rechts) für die Jahre 2018 und 2019 auf der eurowheat-webpage; (<http://eurowheat.au.dk>)

## FAZIT

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

In Fungizidversuchen wurde bei einer kurativen Anwendung eine Minderwirkung von Epoxiconazol bei der Haplogruppe E4 und F8 festgestellt. Dagegen zeigten die SDHI-Carboxamidwirkstoffe Bixafen und Fluxapyroxad einen Wirkungsgrad von über 90%. Dieser Wert wurde nur bei vorbeugender Anwendung durch den multi site-Wirkstoff Chlorthalonil erreicht.

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 jeder Sorte infizieren. Weizensorten mit geringer Anfälligkeit verlangsamten allerdings die Befallsausbreitung auf den Blattetagen.

## PUBLIKATIONEN (ggf.)

HUF, A.; REHFUS, A.; LORENZ, K. H.; BRYSON, R.; VOEGELE, R. T.; STAMMLER, G. (2018): Proposal for a new nomenclature for CYP51 haplotypes in *Zymoseptoria tritici* and analysis of their distribution in Europe. - *Plant Pathology*, 67 (8), p.1706-1712.

HELLIN, P., DUVIVIER, M.; CLINCKEMAILLIE, A.; BATAILLE, C.; LEGRÈVE, A.; HEICK, T. M.; JØRGENSEN, L. N.; ANDERSSON, B.; SAMILS, B.; RODEMANN, B.; BERG, G.; KILDEA, S. (2020): Multiplex qPCR assay for simultaneous quantification of CYP51-S524T and SdhC-H152R substitutions in European populations of *Zymoseptoria tritici*. - *Plant Pathol.* 00: 1-12; DOI: 10.1111/ppa.13252

### Projektbeteiligte:

Teagasc, Irland; Aarhus University, Dänemark; Walloon Agricultural Research Centre, Belgien; Universite' catholique de Louvain, Belgien; Swedish University of Agricultural Sciences, Schweden.

### Kontakt:

Dr. Bernd Rodemann, Tel.: 0531-2994550, mail: [bernd.rodemann@julius-kuehn.de](mailto:bernd.rodemann@julius-kuehn.de), Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig; [www.julius-kuehn.de](http://www.julius-kuehn.de)