

DR. FRED FÜRSTENFELD(1), MICHAEL ARNDT(2) UND DR. KONSTANTIN NOWIKOW(3)  
Bodengesundheitsdienst GmbH, Marktbreiter Straße 74  
97199 OCHSENFURT  
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Lange Point 10  
85354 FREISING  
Südzucker AG Mannheim/Ochsenfurt, Donauwörther Straße 50  
86641 RAIN

**Original language: German**

## **HALFQUANTITATIVE DETERMINATION OF *HETERODERA SCHACHTII* IN SOILS WITH HATCH INDUCTION BY MEANS OF ACETOX AND FOLLOWING PCR AND GEL ELECTROPHORESIS**

### **Abstract:**

Heterodera schachtii are determined in 2 steps. In the first step the extraction of nematodes from the soil with slippage induction and secondly the detection of H. schachtii by means of the PCR-method with subsequent gel electrophoresis. The nematodes are extracted according to the method of Große and Müller (1995). Soil samples were taken in spring preceding the year before sugar beet were seeded from a soil depth of 10 cm at a soil moisture content of 50% of the field capacity. The sample is then incubated with Acetox (1,0 ml kg<sup>-1</sup>) and kept at 26°C for 3 days. Acetox specifically affects Heterodera schachtii and activates the slippage of the viable larvae and the ovum. Following this the soil sample is put on a water filled Bearmann funnel for 3 days at room temperature. The nematodes migrate out of the soil. They were collected at the bottom of the funnel and taken up for following PCR-method.

For the detection of Heterodera schachtii a special primer for the PCR-method was developed. Samples with DNA from Heterodera schachtii have a characteristic DNA band. This is detected with image analysis. The intensity of the DNA band is compared with calibrated bands.

In 2004 more than 1000 soil samples from farmers praxis were analyzed. The infestation of nematodes were classified into 4 groups.

---

## **INDUCTION D'ÉCLOSION AVEC ACETOX ET DÉTERMINATION SEMI-QUANTITATIVE AVEC LA MÉTHODE PCR DE *HETERODERA SCHACHTII* DANS DES ÉCHANTILLONS DE SOL.**

### **Abrégé :**

La détermination s'effectue en deux pas: premièrement les nématodes sont extraits du sol avec une induction d'éclosion et deuxièmement la détermination de Heterodera schachtii avec la méthode PCR.

L'extraction des nématodes a été effectuée selon le modèle de Große et Müller (1995). Au printemps de l'année précédent le prochain semis de betteraves, les échantillons de sol furent prélevés du sol avec 50% de la capacité au champ dans une profondeur de 10 cm et incubé avec Acetox (1,0 ml/kg de sol) pendant 3 jours à 26°C. Acetox stimule spécifiquement l'éclosion des larves vivantes des nématodes H. schachtii.

Ensuite les échantillons furent mis pour trois jours à température ambiante sur des entonnoirs Baermann remplis d'eau. Les nématodes émigrées s'accumulèrent à la base de l'entonnoir dont elles furent extraites pour l'analyse par la méthode PCR.

Pour la preuve de *H. schachtii* par la méthode PCR des primers spécifiques furent développés. Si les échantillons contiennent l'ADN des nématodes de betterave le test l'indique par une bande spécifique. Cette bande est déterminée par l'analyse des images et l'intensité de la bande comparée aux éprouvettes tarées.

Au printemps 2004 plus de 1000 échantillons de terres agricoles furent analysés et classés en 4 groupes d'après leur niveau d'infection avec des nématodes.

---

## **SCHLUPFINDUKTION MIT ACETOX UND NACHFOLGENDER PCR ZUR HALBQUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON *HETERODERA SCHACHTII* IN BODENPROBEN**

### **Kurzfassung:**

Die Bestimmung von Rübennematoden (*Heterodera schachtii*) erfolgt in 2 Schritten: Die Extraktion von Rübennematoden aus dem Boden mittels einer Schlupfinduktionsmethode und dem Nachweis von *Heterodera schachtii* mittels PCR und Gel-Elektrophorese. Die Nematodenextraktion erfolgt in Anlehnung an Große und Müller (1995). Dazu werden Bodenproben im Frühjahr des Jahres vor dem Rübenanbau bei einer Bodenfeuchte von ca. 50% nFK aus 10 cm Bodentiefe entnommen und anschließend im Labor 3 Tage bei 26°C mit Acetox (1,0 ml kg<sup>-1</sup> Boden) inkubiert. Acetox wirkt hoch spezifisch auf *Heterodera schachtii* und regt die lebensfähigen Larven zum Schlüpfen aus den Eiern an. Anschließend werden die Proben für 3 Tage bei Zimmertemperatur auf mit Wasser gefüllte Baermantrichter gesetzt. Die ausgewanderten Nematoden sammeln sich am Trichtergrund und werden dort zum weiteren Nachweis mittels PCR-Technik und Gel-Elektrophorese aufgenommen.

Für den Nachweis von *Heterodera schachtii* wurde ein spezifischer Primer für die PCR-Technik entwickelt. Proben mit *Heterodera schachtii* haben eine charakteristische Bande. Diese wird per Bildanalyse erfasst und die Intensität der Bande mit kalibrierten Banden verglichen.

Im Jahr 2004 wurden mehr als 1.000 landwirtschaftliche Böden untersucht und der Nematodenbefall in 4 Gruppen eingeteilt.