

7.13 BOINE BARBARA¹, JAN NECHWATAL¹, CHRISTINE DIRCKS², KLAUS BÜRCKY³, RUDOLF APFELBECK⁴, MARK VARRELMANN², MICHAEL ZELLNER¹

¹Bavarian State Research centre for Agriculture, Lange Point 10, D – 85354 Freising

²Institut für Zuckerrübenforschung, Holtenser Landstr. 77, D – 37079 Göttingen

³Südzucker AG Mannheim/Ochsenfurt, Geschäftsbereich Zucker/Rüben, Marktbreiter Straße 74, D – 97199 Ochsenfurt

⁴Arbeitsgemeinschaft zur Förderung des Zuckerrübenanbaues Regensburg, Sandstraße 4, D – 93092 Barbing

Original language: German

EVALUATION OF METHODS BASED ON INDICATOR PLANTS AND QUANTITATIVE PCR TO ESTIMATE *RHIZOCTONIA SOLANI* AG2-2 IIIB SOIL INOCULUM DENSITY IN A MAIZE-SUGAR BEET CROP ROTATION

ABSTRACT

Rhizoctonia solani AG2-2 IIIB is the causal agent of late crown and root rot in sugar beet (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*). In a 4-year field study, we analyse the effect of different maize cultivars on the inoculum density of the pathogen and on the damage caused in a subsequent sugar beet crop. Here, we report on the evaluation of different field and laboratory methods to estimate the inoculum potential of this pathogen in field soils. The field trial consisted of a fully randomised block design with 3.0 x 6.7 m plots, 3 maize cultivars and 4 replications, in Lower Bavaria, Germany. The field was artificially inoculated with *R. solani* in 2009 before being planted with sugar beet. Control plots remained uninoculated. In 2010, maize was grown on the site, and *R. solani* inoculum was monitored monthly using maize root damage and root damage of the on-site indicator plant *Vicia faba*. In addition, soil samples were taken in autumn for a greenhouse bioassay with *V. faba*, and a quantitative PCR (qPCR) test with quinoa (*Chenopodium quinoa*) seed baits. All tests were in good agreement and able to clearly discriminate between inoculated and control plots, with the latter showing significantly lower disease indices in field and greenhouse assays. The different susceptibility levels of the maize cultivars, as shown by root rot symptoms, were not generally reflected in the other assays at the present stage of the project. However, over all plots and cultivars, qPCR data (Ct values) of quinoa baits incubated on soil samples revealed clear and significant negative correlations with most remaining inoculum indices. This confirms the suitability of the tests applied here and proves that a quinoa bait assay combined with qPCR techniques is able to reflect *R. solani* AG2-2 IIIB soil inoculum density. It might therefore be an alternative method to monitor a soilborne pathogen notoriously difficult to handle.

EVALUATION DE METHODES BASEES SUR L'UTILISATION DE PLANTES INDICATRICES ET DE LA PCR QUANTITATIVE POUR ESTIMER LA DENSITE DE L'INOCULUM DU SOL DE *RHIZOCTONIA SOLANI* AG2-2 IIB AVEC UNE CULTURE EN ROTATION MAÏS – BETTERAVE A SUCRE

RÉSUMÉ

Rhizoctonia solani AG2-2 IIB cause le retard et la pourriture de la racine chez la betterave à sucre (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*). Dans une étude au champ de 4 ans, nous avons analysé l'effet de différents cultivars de maïs sur la densité de l'inoculum du pathogène et sur les dégâts causés dans une culture ultérieure de betterave à sucre. Ici, nous présentons les résultats de l'évaluation des différentes méthodes au champ et au laboratoire pour estimer le potentiel de l'inoculum de ce pathogène du sol. L'expérience au champ consistait d'un dispositif en blocs randomisés avec des parcelles de 3.0 x 6.7 m, avec 3 cultivars de maïs et 4 répétitions, en Basse Bavière, Allemagne. Le champ a été inoculé artificiellement avec *R. solani* en 2009 avant de planter la betterave à sucre. Les parcelles témoin n'ont pas été inoculées. En 2010, le maïs a été cultivé sur le site et l'inoculum de *R. solani* a été contrôlé tous les mois en utilisant les racines de maïs endommagées et les racines endommagées des plantes indicatrices *Vicia faba* sur le site. De plus, des échantillons du sol ont été prélevés en automne pour un bio-essai en serre avec *V. faba* et une PCR quantitative (qPCR) avec des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa*) comme appât. Tous les tests concordent et étaient capable de différencier clairement entre les parcelles inoculées et les parcelles témoin, ces dernières montrant des indices de maladie significativement inférieurs aux expériences au champ et en serre. Les différents niveaux de susceptibilité des cultivars de maïs, comme le démontrent les symptômes de pourriture des racines, n'ont pas été généralement reflétés dans les autres essais jusqu'à présent. Néanmoins, parmi toutes les parcelles et tous les cultivars, les résultats de la qPCR (valeurs de la Ct) des appâts de quinoa incubés sur les échantillons du sol ont clairement révélés des corrélations significativement négatives avec la plupart des indices d'inoculum restant. Ceci confirme la pertinence des tests utilisés ici et démontre que l'utilisation du quinoa comme appât combinée à la qPCR est capable de refléter la densité de l'inoculum de *R. solani* AG2-2 IIB du sol. Il pourrait ainsi être utilisé comme une méthode alternative pour contrôler un pathogène du sol, reconnu comme étant difficile à manipuler.

PRÜFUNG VON METHODEN ZUR ABSCHÄTZUNG DER *RHIZOCTONIA SOLANI* AG 2-2 IIB INOKULUMSDICHTE IM BODEN ANHAND VON ZEIGERPFLANZEN UND QUANTITATIVER PCR

KURZFASSUNG

Rhizoctonia solani AG2-2 IIB ist der Erreger der Späten Rübenfäule der Zuckerrübe (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*). In einer 4-jährigen Studie wird der Effekt verschiedener Maissorten auf die Inokulumdichte des Pathogens und das Schadausmaß bei sich in der Fruchtfolge anschließenden Zuckerrüben untersucht. Der Feldversuch besteht aus einer randomisierten Anlage mit 3.0 x 6.7 m großen Parzellen und 3

Maissorten, in 4-facher Wiederholung. Das Feld wurde in 2009 vor der Aussaat von Zuckerrübe zunächst künstlich mit *R. solani* infiziert, wobei die Kontrollparzellen uninokuliert blieben. 2010 und 2011 wurde Mais gesät, und das Bodeninokulum-Potential wurde in monatlichen Abständen anhand der Wurzelschäden an Mais sowie an der Zeigerpflanze Ackerbohne (*Vicia faba*) abgeschätzt. Zusätzlich wurden im Herbst Bodenproben für einen Gewächshaus-Versuch mit Ackerbohne und einen quantitativen PCR-Assay (qPCR) mit Quinoasamen-Ködern (*Chenopodium quinoa*) genommen. Alle Tests stimmten in ihren Ergebnissen im Wesentlichen überein, und konnten deutliche Unterschiede zwischen inokulierten und Kontroll-Parzellen zeigen, wobei letztere deutlich geringere Befallsindizes aufwiesen. Die anhand von Wurzelschäden gezeigten Unterschiede in der Anfälligkeit der Maissorten konnten jedoch bislang mit den übrigen Tests nicht abgebildet werden. Gemittelt über alle Parzellen und Sorten zeigten die qPCR-Daten (Ct-Werte) der Quinoa-Köder signifikant negative Korrelationen mit den meisten übrigen erhobenen Indizes. Dies bestätigt die grundsätzliche Eignung der hier angewandten Tests und zeigt, dass ein Quinoa-Köder-Assay in Kombination mit qPCR das Inokulumpotential von *R. solani* AG2-2 IIB im Boden abbilden kann. Er stellt somit eine mögliche Methode zum Monitoring eines schwierig zu analysierenden bodenbürtigen Pathogens dar.
