



Schlussbericht zum Thema

**Untersuchungen zu Verbreitung und
Ausbreitungswegen der Chalara-Fäule an Möhren in
Produktions- und Aufbereitungsbetrieben in
Südwestdeutschland als Grundlage für die Entwicklung
von Maßnahmen zur Befallsreduzierung**

FKZ: 2815NA117; 2815NA178

**Projektnehmer: Dienstleistungszentrum
Ländlicher Raum (DLR) – Rheinpfalz;
Landwirtschaftliches Technologiezentrum
Augustenberg**

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung
und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des
Deutschen Bundestages im Rahmen des
Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere
Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Das Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) hat sich zum Ziel gesetzt, die Rahmenbedingungen für die ökologische und nachhaltige Land- und Lebensmittelwirtschaft in Deutschland zu verbessern. Es wird vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) finanziert und in der BÖLN-Geschäftsstelle in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) in Bonn in die Praxis umgesetzt. Das Programm untergliedert sich in zwei ineinandergreifende Aktionsfelder, den Forschungs- und den Informationsbereich.

Detaillierte Informationen und aktuelle Entwicklungen finden Sie unter
www.bundesprogramm.de

Wenn Sie weitere Fragen haben, wenden Sie sich bitte an:

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft
Deichmanns Aue 29
53179 Bonn
Tel: 0228-6845-3280
E-Mail: boeln@ble.de

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Schlussbericht

Thema: **Untersuchungen zu Verbreitung und Ausbreitungswegen der *Chalara*-Fäule an Möhren in Produktions- und Aufbereitungsbetrieben in Südwestdeutschland als Grundlage für die Entwicklung von Maßnahmen zur Befallsreduzierung**

Zuwendungsempfänger:

Teilvorhaben 1:
Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinland
Institut für Phytomedizin
Breitenweg 71
67435 Neustadt-Weinstraße

Teilvorhaben 2:
Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg
Referat 32, Integrierter Pflanzenschutz – Ackerbau, Gartenbau
Nesslerstr. 25
76227 Karlsruhe

Förderkennzeichen:

Teilvorhaben 1: 2815NA117 - DLR Rheinland

Teilvorhaben 2: 2815NA178 - LTZ Augustenberg

Laufzeit: **01.07.2017 bis 30.06.2020**

Berichterstellung: **08/2020**

Zusammenarbeit mit anderen Stellen:

Beteiligte Betriebe

- Gemüsebau Schlosser GdbR, Ziegeleistr. 8, 67105 Schifferstadt
- Kauffmann, Gäustr. 6, 67361 Freisbach
- Großhans Möhrenverarbeitung GmbH & Co. KG, Sandweg 2, 68799 Reilingen
- Merz Biogemüse GmbH & Co. KG, Waghäuseler Str. 27, 68809 Neulußheim

Aufträge an Dritte

- BOLAP GmbH, Obere Langgasse 40, 67346 Speyer

Informelle Zusammenarbeit

- Max Rubner-Institut, Dr. Bernhard Trierweiler, Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Institut für Sicherheit und Qualität bei Obst und Gemüse, Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe
- Agroscope, Dr. Matthias Lutz, Schloss 1, 8820 Wädenswil / Schweiz

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
Einheiten	3
Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	6
Kurzfassung	7
Abstract	7
1. Einführung	8
1.1 Gegenstand des Vorhabens	8
1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts	8
1.3 Planung und Ablauf des Projektes	8
2. Wissenschaftlicher und technischer Stand	9
3. Material und Methoden	10
3.1 Erfassung der Verbreitung von <i>Chalara thielavioides</i> und <i>Chalara elegans</i> auf den Produktionsflächen (Bodenproben)	10
3.2 Ableitung von Schwellenwerten bei der Bodenbelastung durch <i>Chalara</i> -Erreger	10
3.3 Erfassung von <i>Chalara thielavioides</i> und <i>Chalara elegans</i> während der Aufbereitung der Möhren	10
3.4 Infektionsverlauf der <i>Chalara</i> -Erreger in der Möhre	11
3.5 Phytopathologische und molekularbiologische Charakterisierung der <i>Chalara</i> -Erreger	11
3.6 Entwicklung von Verfahren zur Verhinderung bzw. Reduzierung der Ausbreitung der <i>Chalara</i> - Erreger während der Aufbereitung	12
3.7 Etablierung erfolgversprechender Aufbereitungsverfahren in den Betrieben	16
4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	16
4.1 Erfassung der Verbreitung von <i>C. thielavioides</i> und <i>C. elegans</i> auf den Produktionsflächen (Bodenproben)	16
4.2 Ableitung von Schwellenwerten bei der Bodenbelastung durch <i>Chalara</i> -Erreger	19
4.3 Erfassung von <i>C. thielavioides</i> und <i>C. elegans</i> während der Aufbereitung der Möhren	19
4.4 Infektionsverlauf der <i>Chalara</i> -Erreger in der Möhre	24
4.5 Phytopathologische und molekularbiologische Charakterisierung der <i>Chalara</i> -Erreger	26
4.6 Entwicklung von Verfahren zur Verhinderung bzw. Reduzierung der Ausbreitung der <i>Chalara</i> - Erreger während der Aufbereitung	29
Schonende Aufarbeitung	29
Überprüfung der Oberflächenkontamination	30
Einsatz von Desinfektionsmitteln zur Oberflächendesinfektion	31
Möglichkeiten der Befallsreduktion	31
Entfernen anhaftender Sporen	32
Inaktivierung anhaftender Sporen	35
4.7 Etablierung erfolgversprechender Aufbereitungsverfahren in den Betrieben	39
5. Diskussion der Ergebnisse	39
6. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse	41
7. Gegenüberstellung ursprünglich geplanter zu tatsächlich erreichter Ziele	42
8. Zusammenfassung	42
9. Literaturverzeichnis	43
10. Veröffentlichungen zum Projekt	44

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bar	Einheit für Druck
Bio	Biologische Produktion
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CFU	Colony Forming Units (Koloniebildende Einheiten)
<i>C. elegans</i>	<i>Chalara elegans</i>
CO ₂	Kohlenstoffdioxid oder Kohlendioxid (chemische Verbindung)
<i>C. thielavioides</i>	<i>Chalara thielavioides</i>
DLR	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinland
DNA	Desoxyribonukleinsäure
<i>e. g.</i>	Lat. exempli gratia (zum Beispiel)
<i>et al.</i>	Lat. et alii (und andere)
etc.	Lat. et cetera
FK	Feuchte Kammer (nahezu 100 % relative Luftfeuchtigkeit)
in Vitro	Lat., Bezeichnung für organische Vorgänge, die außerhalb eines lebenden Organismus stattfinden
inkl.	inklusiv, Synonym für einschließlich
IP	Integrierte Produktion
ITS	Internal transcribed spacer
LTZ	Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat (chemische Verbindung)
NaOH	Natriumhydroxid (chemische Verbindung)
N ₂	Stickstoff (chemisches Element)
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NK	Negativkontrolle
N _{min}	Gehalt eines Bodens an verfügbarem mineralisierten Stickstoff (N)
O ₂	Sauerstoff (chemisches Element)
PCR	Polymerase Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion
pH	Einheit für sauren oder basischen Charakter einer wässrigen Lösung
PK	Positivkontrolle
SNA	sehr nährstoffarmer Agar
syn.	Synonym
Tab.	Tabelle
UV	Ultraviolett
z. B.	zum Beispiel

Einheiten

CFU/g	Colony Forming Units pro Gramm, Einheit für Mikroorganismen, die in der Summe eine Kolonie bilden
cm	Zentimeter, Einheit für Länge
cm ²	Quadratcentimeter, Einheit für Fläche
°C	Grad Celsius, Einheit für Temperatur
d	Tage, Einheit für Zeit
g	Gramm, Einheit für Masse
g	Erdbeschleunigung, vektorielle Einheit
h	Stunde, Einheit für Zeit
L	Liter, Einheit für Volumen
m	Meter, Einheit für Länge
mA	Miliampere, Einheit für elektrische Stromstärke
min.	Minute, Einheit für Zeit
mL	Mililiter, Einheit für Volumen
mm	Milimeter, Einheit für Länge
mol	Mol, Einheit für Stoffmenge
n	Anzahl
rpm	Umdrehungen pro Minute, Einheit für Drehzahl
sec.	Sekunde, Einheit für Zeit
V	Volt, Einheit für elektrische Spannung
W	Watt, Einheit für Leistung
µg	Mikrogramm, Einheit für Masse
µL	Mikroliter, Einheit für Volumen
%	Prozent, Zahlenangabe von Hundert
>, ≥	größer, größer gleich
<, ≤	kleiner, kleiner gleich

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Versuchsdurchführung zur Erfassung der <i>Chalara</i> -Belastung an Oberflächen: a) Aufbringen einer definierten Sporenmenge auf die zu testende Oberfläche (Förderband); b) Abreiben der <i>Chalara</i> -belasteten Oberfläche mit Möhrenscheibe; LTZ Augustenberg.	13
Abbildung 2: Hochdruckreinigung von Möhren nach dem Polieren; LTZ Augustenberg.	13
Abbildung 3: Möhren-Waschanlage mit Düsenverband; a) Versuchsdurchführung, b) Düsenkegel; LTZ Augustenberg.	14
Abbildung 4: Versuchsdurchführung zur Inaktivierung anhaftender <i>Chalara</i> -Sporen mittels elektrischer Felder; LTZ Augustenberg.	14
Abbildung 5: Versuchsdurchführung zur Inaktivierung anhaftender <i>Chalara</i> -Sporen mittels UV-Strahlung; a) UV-Bestrahlung der Möhrenscheiben, b) Auswertung des <i>Chalara</i> -Befalls; LTZ Augustenberg.	15
Abbildung 6: Versuchsdurchführung zur Inaktivierung anhaftender <i>Chalara</i> -Sporen mittels Heißwasserdampf; LTZ Augustenberg.	15
Abbildung 7: Versuchsdurchführung zur Inaktivierung anhaftender <i>Chalara</i> -Sporen mittels modifizierter Lageratmosphäre: a) inokulierte Möhrenscheiben, b + c) inokulierte Möhrenscheiben in den Lagerboxen bei kontrollierten Lagerbedingungen; LTZ Augustenberg.	16
Abbildung 8: <i>Chalara</i> -Belastung in Bodenproben in Abhängigkeit von der Produktionsweise (IP bzw. Bio); LTZ Augustenberg.	17
Abbildung 9: <i>Chalara</i> -Belastung in Bodenproben in Abhängigkeit von der Produktionsweise (IP bzw. Bio); DLR Rheinlandpfalz.	17
Abbildung 10: <i>Chalara</i> -Belastung in Bodenproben verschiedener Bodentypen; DLR Rheinlandpfalz.	18
Abbildung 11: <i>Chalara</i> -Belastung im Boden vor Saat und zur Ernte sowie die Befallshäufigkeit von <i>Chalara</i> an Möhren nach der Ernte auf dem jeweiligen Hänger; DLR Rheinlandpfalz.	18
Abbildung 12: <i>Chalara</i> -Befall an Möhren in Abhängigkeit von der Vorfrucht (Mittelwerte); LTZ Augustenberg, DLR Rheinlandpfalz.	19
Abbildung 13: Anteil <i>Chalara</i> -befallener Möhren [%] nach verschiedenen Phasen im Aufarbeitungsprozess, differenziert in Ware der biologischen (Bio) bzw. integrierten Produktion (IP); LTZ Augustenberg, DLR Rheinlandpfalz.	20
Abbildung 14: <i>Chalara</i> -Belastung in Wasserproben (Mittelwerte); LTZ Augustenberg.	22
Abbildung 15: <i>Chalara</i> -Belastung in Wasserproben (Mittelwerte); DLR Rheinlandpfalz.	22
Abbildung 16: Prüfung verschiedener Verpackungsvarianten; dargestellt sind Befallsstärke und Befallshäufigkeit in den verschiedenen Verpackungsvarianten (Mittelwerte; n=50). Die Kontrolle wurde in der Feuchten Kammer (dunkel, 20 °C, 10 Tage) inkubiert; DLR Rheinlandpfalz.	23
Abbildung 17: Einfluss der Lagerung von Sporen in einer Wasserlösung auf die Vitalität der <i>Chalara</i> -Erreger; LTZ Augustenberg.	24
Abbildung 18: <i>Chalara</i> -Befall an Möhren nach Inokulation in Sporensuspension bzw. in Leitungswasser, mit und ohne Verletzung; LTZ Augustenberg.	25
Abbildung 19: Vergleich des <i>Chalara</i> -Befalls zwischen Handernte und maschinell geernteter und folgend entlaubter Möhren (n=50); DLR Rheinlandpfalz.	26
Abbildung 20: Phylogenetischer Baum verschiedener <i>Chalara</i> -Isolate von Möhre (auf Basis der ITS-Region); DLR Rheinlandpfalz.	29
Abbildung 21: Abladen von Möhren über ein Grobsieb; LTZ Augustenberg.	30
Abbildung 22: Zeitdauer von der Infektion bis zum Auftreten von Symptomen (Inkubationszeit) in Abhängigkeit von der Temperatur für <i>C. elegans</i> und <i>C. thielavioides</i> ; LTZ Augustenberg.	32
Abbildung 23: Effekt der Druckluft-Behandlung auf den <i>Chalara</i> -Befall von Möhren; LTZ Augustenberg.	33
Abbildung 24: <i>Chalara</i> -Befall an Möhren nach abschließender Frischwasserreinigung mittels Möhren-Waschanlage bei kurzzeitiger Lagerung (oben, 2 Stunden nach Inokulation) und bei unmittelbarer Reinigung nach Inokulation (mitte) im Vergleich zur Positivkontrolle (unten); LTZ Augustenberg.	35
Abbildung 25: Wirkung von elektrischen Feldern auf den <i>Chalara</i> -Befall bei Möhren; LTZ Augustenberg.	36
Abbildung 26: Einfluss der UV-Strahlung auf den <i>Chalara</i> -Befall von Möhren bei unterschiedlicher Inkubationsdauer; LTZ Augustenberg.	36
Abbildung 27: <i>Chalara</i> -Befall von Möhren bei unterschiedlicher Einwirkdauer von Heißwasserdampf; LTZ Augustenberg.	37

Abbildung 28: Sichtbare Beschädigungen durch Einwirkung von Heißwasserdampf auf die Möhre
(heller Kreis in der Wurzelmitte; links und rechts von dem Kreis ist der *Chalara*-Befall
als Streifen zu erkennen); LTZ Augustenberg. 38

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anteil <i>Chalara</i> -befallener Möhren [%] vor und nach dem Wasch- und Poliervorgang; LTZ Augustenberg.	20
Tabelle 2: Anteil <i>Chalara</i> -befallener Möhren [%] vor und nach dem Waschvorgang; DLR Rheinlandpfalz.	21
Tabelle 3: Anteil <i>Chalara</i> -befallener Möhren (%) in handelsüblichen Verkaufsgebinden (geringer Luftaustausch) und im Netzsack (hoher Luftaustausch); LTZ Augustenberg.	23
Tabelle 4: Anteil <i>Chalara</i> -befallener Möhren (%; n=10) in handelsüblicher Schrumpffolie (geringer Luftaustausch) und im Folienbeutel (höherer Luftaustausch); LTZ Augustenberg.	23
Tabelle 5: <i>Chalara</i> -Befall an Möhren nach Inokulation in Sporensuspension bzw. in Leitungswasser, mit und ohne Verletzung; LTZ Augustenberg.	24
Tabelle 6: Anteil <i>Chalara</i> -Befall an Möhren [%] von 2 Flächen nach Handernte bzw. maschineller Rodung (n=100); LTZ Augustenberg.	25
Tabelle 7: Pathogenität verschiedener <i>Chalara</i> -Isolate an Möhrenscheiben; DLR Rheinlandpfalz.	27
Tabelle 8: <i>Chalara</i> -Befall der Möhren nach der Ernte von Hand, vom Roder und nach Überladen auf Anhänger; LTZ Augustenberg.	29
Tabelle 9: <i>Chalara</i> -Befall der Möhren vom Roder und nach Überladen auf Hänger; DLR Rheinlandpfalz.	29
Tabelle 10: <i>Chalara</i> -Befall der Möhren vor und nach dem Entladen; LTZ Augustenberg.	30
Tabelle 11: Anteil <i>Chalara</i> -befallene Möhrenscheiben (n=13) bei Abreiben mit definierten Sporenmengen kontaminierter Flächen; LTZ Augustenberg.	31
Tabelle 12: Wirkung von Desinfektionsmaßnahmen auf die Keimung von <i>Chalara</i> -Sporen; LTZ Augustenberg.	31
Tabelle 13: Effekt der Hochdruckreinigung nach dem Polieren auf den <i>Chalara</i> -Befall von Möhren; LTZ Augustenberg.	34
Tabelle 14: Effekt der Frischwasserreinigung bei geringem Druck (2 bar) auf den <i>Chalara</i> -Befall von Möhren; LTZ Augustenberg.	35
Tabelle 15: Reduktion des <i>Chalara</i> -Befalls (<i>C. elegans</i> , <i>C. thielavioides</i>) bei Möhren nach Behandlung mit elektromagnetischer Wellen; LTZ Augustenberg.	37
Tabelle 16: Keimung und Myzelwachstum von <i>Chalara</i> -Sporen nach Inkubation im Wasserbad mit verschiedenen Temperaturen und über verschiedene Zeiten (+ = Keimung und Myzelwachstum; - = keine Keimung und kein Myzelwachstum); LTZ Augustenberg.	38
Tabelle 17: Einfluss der Lageratmosphäre von Möhren auf den <i>Chalara</i> -Befall (alle Varianten in stickstoffangereicherter Atmosphäre bei 20 °C und ca. 100 % relativer Feuchte); LTZ Augustenberg.	38

Kurzfassung

Untersuchungen zu Verbreitung und Ausbreitungswegen der *Chalara*-Fäule an Möhren in Produktions- und Aufbereitungsbetrieben in Südwestdeutschland als Grundlage für die Entwicklung von Maßnahmen zur Befallsreduzierung

Dr. Jan Hinrichs-Berger, Landwirtschaftliches Technologiezentrum (LTZ) Augustenberg, Neßlerstr. 25, 76227 Karlsruhe, jan.hinrichs-berger@ltz.bwl.de

Dr. Frederik Gunnar Polzin, Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Breitenweg 71, 67435 Neustadt-Weinstraße, frederik.polzin@dlr.rlp.de

Dr. Jana Reetz, Landwirtschaftliches Technologiezentrum (LTZ) Augustenberg, Neßlerstr. 25, 76227 Karlsruhe, jana.reetz@ltz.bwl.de

Die *Chalara*-Fäule der Möhre tritt nach der Ernte in Form von schwarzen Flecken auf der Wurzelrübe in Erscheinung. Sie hat in den letzten Jahren in allen wichtigen Anbaugebieten Mitteleuropas stetig zugenommen und stellt eine ökonomische Bedrohung für Produzenten dar. Um dieser Problematik zu begegnen, wurden Untersuchungen durchgeführt, die die Bedeutung der Produktion im Feld, der Aufbereitung der Möhren sowie deren Lagerung in Bezug auf den Befall im Verkaufsgebilde aufzeigen. Weiter wurden Behandlungen zur Eindämmung der *Chalara*-Fäule getestet. Weder die Art des Pflanzenschutzes (integriert oder biologisch) noch die Vorfrucht hatten einen signifikanten Einfluss auf die Belastung des Ernteguts. Es gab keine Korrelation zwischen der Sporenbelastung auf der Produktionsfläche und dem Befall des Ernteguts. Beim Transport und der Aufarbeitung erhöht jeder Schritt (Umladen, Abladen, Waschen, Polieren) den Endbefall. Das ist auf Mikro- und Makroverletzungen beim Handling zurückzuführen, durch die die ubiquitär vorhandenen Pilze opportunistisch die Möhre befallen. Um die *Chalara*-Belastung durch die Aufbereitung zu reduzieren, wurden verschiedene Maßnahmen im Nacherntebereich zur Inaktivierung oder Entfernung der *Chalara*-Sporen geprüft. Mechanische (z. B. Hochdruckwasserbehandlung), thermische (z. B. Heißdampf) und Strahlungsverfahren (z. B. Mikrowellen) sowie künstliche Lageratmosphären führten nicht zur gewünschten Reduktion oder verursachten zusätzliche Verletzungen der Möhren und mussten daher verworfen werden. Bei der Prüfung verschiedener Verpackungsarten erwies sich bezüglich der Befallsvermeidung und Qualitätssicherung keine als überlegen. Ein Abklatschtest zur Überprüfung und Optimierung der Oberflächendesinfektion wurde entwickelt. Eine Reduzierung der Möhrenschwärze kann derzeit nur über eine verletzungsarme Ernte, eine schonende Aufbereitung ähnlich die der Bundmöhren, und eine konsequente Kühlkette vom Anbauer bis zum Endverbraucher erzielt werden.

Abstract

Investigations on the prevalence of black root rot of carrots in southwest Germany focused on the course of infection during postharvest handling

Dr. Jan Hinrichs-Berger, Center for Agricultural Technology (LTZ) Augustenberg, Neßlerstr. 25, 76227 Karlsruhe, jan.hinrichs-berger@ltz.bwl.de

Dr. Frederik Gunnar Polzin, State Education and Research Center of Viticulture (DLR), Breitenweg 71, 67435 Neustadt-Weinstraße, frederik.polzin@dlr.rlp.de

Dr. Jana Reetz, Center for Agricultural Technology (LTZ) Augustenberg, Neßlerstr. 25, 76227 Karlsruhe, jana.reetz@ltz.bwl.de

Black root rot, or *Chalara*-rot, of carrot appears after harvesting in the form of black spots on the taproot. In recent years, it has been steadily increasing in all important growing areas of Central Europe and represents an economic threat to producers. In order to counteract this problem, studies have been carried out which show the importance of production in the field, processing of the carrots and their storage in sales containers in relation to infestation. Furthermore, treatments to control black root rot were tested. Neither the system of plant protection (integrated or biological) nor the preceding crop had a significant influence on the contamination of the crop. There was no correlation between the spore load on the production area and the infestation of the final product. During transport and processing, each step (reloading, unloading, washing, polishing) increases the final infestation. This is due to micro and macro injuries during handling, through which the ubiquitously present fungi opportunistically infest the carrot. In order to reduce the *Chalara* contamination during processing, different post-harvest measures for inactivation or removal of the *Chalara* spores were tested. Mechanical (e. g. high pressure water treatment), thermal (e. g. superheated steam) and radiation methods (e. g. microwaves) as well as artificial storage atmospheres did not lead to the desired reduction or caused additional injuries to the carrots and therefore had to be rejected. When testing different types of packaging, none proved superior in terms of infestation prevention and quality assurance. A surface sampling test was developed to check and optimise surface disinfection. A reduction of black root rot can currently only be achieved by harvesting with few injuries, gentle processing similar to that of bunched carrots and a consistent cold chain from the grower to the consumer.

1. Einführung

1.1 Gegenstand des Vorhabens

Die Pilze *Chalara thielavioides* und *Chalara elegans* verursachen die sogenannte *Chalara*-Fäule der Möhre. Ziel des Vorhabens war, die Verbreitung der Erreger auf den Produktionsflächen der beteiligten Betriebe zu erfassen und mögliche Ausbreitungswege während der Aufarbeitung der Möhren zu erkennen und zu bewerten. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sollten vor dem Hintergrund des verfügbaren Wissens genutzt werden, um wirtschaftlich vertretbare Maßnahmen und Verfahren zu entwickeln, um die Ausfälle durch die *Chalara*-Fäule zu reduzieren.

1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Wesentliches förderpolitisches Ziel ist die nachhaltige Landbewirtschaftung. Die *Chalara*-Möhrenfäule führt in allen Möhren-Anbauregionen Mitteleuropas in einzelnen Jahren zu erheblichen Ausfällen im Nacherntebereich, die sowohl die integrierte als auch die biologische Produktion betreffen. Möhren, die mit hohem Aufwand produziert und aufgearbeitet worden sind, verderben durch die *Chalara*-Fäule vor dem Konsum. Durch eine Reduktion des Befallsauftritts wird der Verderb beim Handel und Verbraucher und damit der Verlust aufwendig produzierter Nahrungsmittel reduziert.

Im Rahmen des Vorhabens wurde geprüft, ob man einen Schwellenwert für die *Chalara*-Sporenbelastung des Bodens ermitteln kann, unter dem eine befallsfreie Möhren-Produktion möglich wäre. Weiterhin war zu klären, wann die Infektion der Wurzel erfolgt, um darauf aufbauend vor allem nicht-chemische Maßnahmen zu entwickeln, um den *Chalara*-Befall der Waschmöhren zu reduzieren. Dabei wurden vor allem die Ernte, der Transport und die Aufarbeitung ins Visier genommen.

1.3 Planung und Ablauf des Projektes

Ende 1. Jahr: Die Verbreitung der beiden *Chalara*-Erreger auf den Produktionsflächen wurde erfasst. Das erfolgte über die an dem Erntegut anhaftende Erde. Dabei zeigte sich, dass alle Flächen belastet waren, wobei die Besatzzahlen sehr stark schwankten (10 CFU/g Boden bis 2.100 CFU/g Boden).

Die Ausbreitung beider Erreger während der Möhrenaufarbeitung von der Anlieferung bis zur Vermarktung wurde an ungefähr 50 Partien untersucht. Die Ausgangsbelastung der angelieferten Möhren mit *Chalara* war in der Regel schon sehr hoch und nahm tendenziell über die Aufarbeitung weiter zu.

In ersten Versuchen wurden die Infektionsvorgänge untersucht. Dabei zeigte sich, dass Verletzungen für eine Infektion unbedingt erforderlich sind. Latente Infektionen, die während der Entwicklung der Möhren erfolgt sind und erst nach Aufarbeitung und Lagerung zum Ausbruch kommen, wurden nicht nachgewiesen. Somit erfolgt die Infektion erst zur Ernte und während der Aufarbeitung.

Die während des Projekts aus infizierten Möhren gewonnenen *C. elegans*- und *C. thielavioides*-Isolate wurden anhand ihrer Pathogenität und ihrer molekularbiologischen Eigenschaften näher charakterisiert und mit anderen Isolaten verglichen. Anhand der ITS-Sequenzen ließen sich die gewonnenen *C. elegans*- und *C. thielavioides*-Isolate eindeutig unterscheiden und entsprechend anderen Isolaten aus der NCBI-Datenbank zuordnen. *C. elegans*-Isolate von Radies und Calibrachoa verursachten ebenfalls Infektionen an Möhren.

Die Belastung des Bodens mit *C. elegans* und *C. thielavioides* zur Saat bzw. zur Ernte wurde ebenso wie der Befall im Erntegut ermittelt. Dabei deutete sich keine enge Korrelation zwischen der Ausgangsbelastung des Bodens zur Saat bzw. zur Ernte an. Gleiches gilt nach den vorliegenden Ergebnissen für eine mögliche Korrelation zwischen Bodenbelastung und Endbefall nach der Aufarbeitung. Somit erschien die Ableitung einer Schadschwelle schwierig bis unmöglich.

Ende 2. Jahr: Auf fast allen geprüften Produktionsflächen lag eine Belastung mit *Chalara* vor. Allerdings war das Auftreten der Schaderreger im Boden in der Regel nicht flächendeckend und meist auf sehr geringem Niveau.

Während der Aufbereitung (Waschstraße, Polierer, Sortierung, Verpackung) wurden auch Erntepartien, die zunächst weniger belastet waren, so stark kontaminiert, dass sich der Endbefall fertig verpackter Ware dieser Partien nicht vom Endbefall von Partien stark belasteter Flächen unterschied. Die *Chalara*-Belastung von fertig aufbereiteter IP-Ware und Bio-Ware war in etwa gleich hoch.

Durch eine schonende Ernte und Aufarbeitung ließ sich der *Chalara*-Befall fast auf Null reduzieren, wie Versuche mit einer schonenden Handernte und mit einem gut eingestellten maschinellen Roder gezeigt haben.

Für eine *Chalara*-Infektion der Möhren sind Verletzungen erforderlich. Ein latenter Befall wurde nicht nachgewiesen. Die Zeit von der Infektion bis zum Auftreten von Symptomen ist temperaturabhängig.

Die Verteilung der Schaderreger auf dem Feld war sehr ungleichmäßig. Es gab zur Ernte keine großen Unterschiede bezüglich der Inokulumdichte in der Saatreihe und zwischen den Saatreihen. Insgesamt war die Belastung des Bodens

eher gering. Es war kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten des Schaderregers im Feld und am Erntegut zu erkennen.

Eine „luftige“ Verpackung reduzierte das Auftreten von *Chalara*-Symptomen am Erntegut. Allerdings führte sie zu starken Wasserverlusten, sodass das Erntegut weich wurde. In Verpackungen, die nur einen geringen Austausch der Luftfeuchtigkeit erlaubten, bleibt das Erntegut länger „knackig“. Allerdings traten hier aufgrund der hohen Luftfeuchtigkeit in der Verpackung häufig ausgeprägte *Chalara*-Symptome in Erscheinung.

Ende 3. Jahr: Da die Belastung der Möhren nach dem Abladen in der Regel sehr hoch ist und die Belastung der Möhren unmittelbar nach der maschinellen Ernte nicht so hoch war, wurde das Abladen näher betrachtet. Dabei zeigte sich, dass die Belastung durch das Abladen sehr stark angestiegen ist, was durch Verletzungen der Möhren bei gleichzeitigem Vorhandensein von *Chalara* in der Anhangserde zu erklären ist.

Die *Chalara*-Belastung der Möhren nimmt über die Aufarbeitung zu. Daher wurde mit dem Möhrenscheiben-Abklatschtest eine Methode entwickelt, um die Kontamination der Transportbänder und der Aufarbeitungsgerätschaften zu ermitteln.

Zur Überprüfung der Wirkung von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln auf die *Chalara*-Erreger wurde ein in vitro-Verfahren etabliert. Dabei zeigte sich, dass handelsübliche Desinfektionsmittel wirksam waren. Die in den Betrieben eingesetzten Mittel konnten jedoch noch nicht geprüft werden.

Die im Rahmen dieses Forschungsvorhabens durchgeführten Versuche und Erhebungen haben gezeigt, dass die *Chalara*-Infektion erst nach der Ernte während des Abladens und der Aufarbeitung erfolgt. Die Infektionen sind also vor dem Verpacken noch sehr frisch und noch nicht in der Wurzel etabliert. Demzufolge sollte man durch Maßnahmen zur Entfernung oder Inaktivierung der Sporen die *Chalara*-Besiedlung der Möhren verhindern können. Dafür wurden verschiedene Verfahren geprüft. Dabei wurden die Auswirkungen auf die Möhren-Qualität (Farbe, Geschmack, Textur, Konsistenz) erfasst. Als nicht erfolgversprechend haben sich Behandlungen mit Druckluft und elektrischen Feldern erwiesen. Gute Erfolgsaussichten hätten nach Optimierung möglicherweise die Heißwasserbeize bzw. der Einsatz von UV-Strahlung. Als am besten geeignet hat sich ein Abspülen der Sporen unter geringem Druck mit Frischwasser erwiesen.

In informeller Zusammenarbeit mit dem Max-Rubner-Institut in Karlsruhe (Dr. Trierweiler) wurden Versuche zum Abpacken von Möhren unter Schutzgas vorgenommen. Dafür wurden mit *Chalara* inokulierte Möhrenscheiben für sieben Tage bei 20 °C und > 90 % relativer Luftfeuchtigkeit unter folgenden Atmosphären gelagert: a) 15 % CO₂, 2 % O₂ und 83 % N₂; b) 15 % CO₂, 6 % O₂ und 79 % N₂; c) 20 % CO₂, 2 % O₂ und 78 % N₂; d) 1 % CO₂, 1 % O₂ und 98 % N₂; e) 1 % CO₂, 3 % O₂ und 96 % N₂; f) 5 % CO₂, 2 % O₂ und 93 % N₂. Als Vergleich erfolgte eine Inkubation ohne Kontrolle der Zusammensetzung der Atmosphäre. In allen Varianten lag der *Chalara*-Befall bei 100 %, wobei die Befallsentwicklung bei 20 % CO₂, 2 % O₂ und 78 % N₂ deutlich verzögert war. In keinem Fall war der Geschmack oder andere Qualitätsparameter der Möhre beeinträchtigt. Die Prüfung weiterer Varianten mit noch höheren CO₂- und geringeren O₂-Konzentrationen in der Lageratmosphäre ist leider an organisatorischen Problemen gescheitert.

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand

Die *Chalara*-Fäule an Möhre wird durch Befall mit den Pilzen *Chalara elegans* (syn. *Thielaviopsis basicola*, derzeit gültiger Name: *Berkeleyomyces basicola*) und/oder *Chalara thielavioides* (syn. *Chalara thielavioides*, derzeit gültiger Name: *Ceratocystis paradoxa*) ausgelöst. Beide Erreger sind bodenbürtig (SCHNEIDER, 2004; WEBER und TRIBE, 2004).

Die Überdauerung erfolgt hauptsächlich über Chlamydosporen, die bis mindestens 10 Jahre lebens- und infektionsfähig sind (KOWALSKA, 2003). Als eine zweite Sporenform bilden sich Phialosporen. Bei *C. elegans* überdauern diese bis zu 19 Wochen in organischem Boden (PUNJA und CHITTARANJA, 1994).

Beide Pilze besitzen ein breites Wirtspflanzenspektrum, das viele Kulturpflanzen umfasst. Sie sind verbreitet in Feldern zu finden, auf denen Möhren angebaut werden, aber auch auf anderen Flächen (Kulturflächen, Brachen). 80 % belastete Felder beschreiben CRESPO et al. (2012), 70 % beschreiben PUNJA et al. (1992). Anfangs finden sich ausgeprägte Befallsnester (PUNJA und CHITTARANJA, 1994).

Der Kontaminationsverlauf mit *C. elegans* bei der Aufbereitung von Möhren wurde von PUNJA und GAYE (1993) untersucht. Bei 7 bis 10 °C entwickelten sich keine Symptome (LASSACHER und BEDLAN, 2003; CRESPO et al., 2007; WU und HUANG, 2015). Ausfälle traten insbesondere nach Verwundung durch Ernte und Sortierung auf (PUNJA und GAYE, 1993; WEBER und TRIBE, 2004; PUNJA et al., 1992). Der *Chalara*-Pilz wurde in anhaftender Erde, in Waschwasser und auf der Oberfläche von Förderbändern gefunden (KRAUTHAUSEN und HÖRNER, 2017; HINRICHS-BERGER et al., 2020). Verwundungen bei der Aufbereitung und anschließender Infektion auf den Förderbändern war der Hauptinfektionsweg. Nacherntebehandlungen mit Natriumhypochlorit (80 µg/mL Chlorine, 2 bis 3 min. tauchen) und anderen Zusatzstoffen erwiesen sich als nicht ausreichend wirksam (PUNJA und Gaye, 1993; WU und HUANG, 2015; ESCHERL et al., 2009).

C. thielavioides wird auf Lagermöhren häufiger gefunden als *C. elegans* (HELLER, 2000). Die Erreger werden innerhalb von Betrieben mit kontaminierten Substraten und Bodenpartikeln an Maschinen weiterverbreitet. Desinfektionsmaßnahmen mit Chlorit-Lösung waren wenig effizient. Oberflächengewässer in kontaminierten Gebieten sind als verseucht anzusehen. Waschen mit Frischwasser führt zu deutlicher Befallsreduktion gegenüber Waschen mit

rezirkulierendem Wasser (CRESPO et al., 2007). Ein abschließender Spülschritt mit Frischwasser unter Hochdruck führt zu einer Befallsreduktion (KÄGI et al., 2008).

3. Material und Methoden

3.1 Erfassung der Verbreitung von *Chalara thielavioides* und *Chalara elegans* auf den Produktionsflächen (Bodenproben)

Entnahme von Bodenproben

Bodenproben wurden im Abstand von 2 Metern bis zu einer Tiefe von 30 cm mittels Spiralbohrer entnommen. Die Probennahme erfolgte über die Diagonale eines Schläges. Bei Schlägen mit stehendem Bestand wurden die Proben aus dem Damm entnommen.

Chalara-Nachweis in Substrat- und Wasserproben (nach HELLER, 2000)

Zur Untersuchung von Substratproben wurde der luftgetrocknete Boden zunächst gemischt und anschließend durch ein 4 mm Sieb gesiebt. Das Substrat wurde nach dem Sieben ca. sieben Tage bei ca. 15 °C gelagert, so dass ein Abbau eventuell vorhandener Endokonidien sichergestellt werden konnte. Zur Erstellung einer Bodensuspension wurden 10 g Boden und 90 mL Wasseragar (0,15 %) in einer 250 mL Blaukappenflasche für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt.

Jede Wasserprobe wurde auf 6 Falcon-Röhrchen (jeweils 45 mL) verteilt und 10 Minuten bei 10.000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet in 1 mL Wasseragar (0,15 %) aufgenommen und resuspendiert. Anschließend wurden die Wasseragar-Suspensionen einer Probe vereinigt.

Bundmöhren in Bio-Qualität wurden mit 70 % Alkohol oberflächlich desinfiziert und mit einem Skalpell in ca. 5 mm breite Scheiben geschnitten. In eine Kunststoffbox mit etwas autoklaviertem Wasser wurde ein Lochblech eingesetzt und mit Vliespapier bedeckt, sodass das Papier auf dem Lochblech über Kapillarkräfte feucht gehalten wurde. Darauf wurden 50 Möhrenscheiben verteilt und auf jede Möhrenscheibe 20 µL Suspension (50 Möhrenscheiben je Probe) gegeben. Die Box wurde mit einem Deckel verschlossen und bei 20 °C im Dunkeln für sieben Tage inkubiert. Anschließend wurde mittels Stereolupe und Mikroskop die Anzahl der mit *C. elegans* bzw. *C. thielavioides* besiedelten Möhrenscheiben ermittelt. Jede besiedelte Möhrenscheibe entspricht 1 CFU je 0,1 g Boden. Für jede Möhrenscheiben-Charge wurde eine Negativ-Kontrolle (Wasseragar) anlegt. Waren mehr als 25 von 50 Möhrenscheiben positiv, so wurde mit höherer Verdünnung ein neuer Test angesetzt.

Untersuchung Möhren

Die noch nicht aufgearbeiteten Möhren wurden unter fließendem Wasser schonend gewaschen. Stark beschädigte Möhren wurden dabei verworfen. Bereits aufgearbeitete Möhren wurden nicht gewaschen, jedoch hinsichtlich Verletzungen geprüft und ggf. verworfen. 50 Möhren wurden auf einem Edelstahllochblech ausgelegt und in einer Feuchten Kammer bei nahezu wassergesättigter Luft für sieben Tage im Dunkeln bei 20 °C inkubiert. Anschließend wurde der *Chalara*-Befall erfasst: Die Auswertung erfolgte unter der Stereolupe und dem Mikroskop. Es wurde jeweils die Gesamtzahl Möhren, die mit *C. thielavioides*, mit *C. elegans*, mit beiden Schaderregern und nicht mit *Chalara* befallenen Möhren erfasst.

3.2 Ableitung von Schwellenwerten bei der Bodenbelastung durch *Chalara*-Erreger

Die *Chalara*-Belastung des Bodens zur Saat, zur Ernte und vom Anhänger der geernteten Möhren-Charge wurde - wie unter 3.1 beschrieben - bestimmt und mit dem Befallsgrad der geernteten Möhren in Beziehung gesetzt.

3.3 Erfassung von *Chalara thielavioides* und *Chalara elegans* während der Aufbereitung der Möhren

In drei Betrieben, die sowohl Bio-Möhren als auch Möhren nach IP-Richtlinien produzieren bzw. von anderen Betrieben produzieren lassen sowie Möhren selbst aufarbeiten und verpacken, wurden von Juli bis Dezember, jeweils getrennt nach Bio- bzw. IP-Anbau Möhren entnommen. Die beteiligten Betriebe haben unterschiedliche Anlagen zur Aufarbeitung und Verpackung der Möhren, z. B. Frischwasser zum Waschen bzw. rezirkulierendes Waschwasser, mit bzw. ohne Kühlwasser, verschiedene Verpackungen. Dabei wurde die Temperatur der Möhren beim Abkippen vom Anhänger, beim Verpacken und beim Warenausgang erfasst. Die Möhren-Proben wurden direkt nach dem Abkippen vom Anhänger, unmittelbar nach Verlassen der Waschtrommel bzw. des Polierers und sofort nach dem Abpacken entnommen. Weiterhin wurden Proben von der Sieberde beim Abkippsband und Waschwasser entnommen. Von jeder Ernteanlieferung wurden Schlagkarteidaten durch die Betriebe zur Verfügung gestellt (Sorte, Boden, Vorfrüchte etc.).

3.4 Infektionsverlauf der *Chalara*-Erreger in der Möhre

Ansetzen einer *Chalara*-Sporensuspension im Labor

Eine Agarplatte, die mit stark sporulierenden Kulturen von *C. elegans* bzw. *C. thielavioides* bewachsen war, wurde mit Leitungswasser überschichtet und die Sporen mittels eines Drigalski-Spatels abgelöst. Die Sporendichte der Suspension wurde in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer bestimmt und durch Verdünnen mit Wasser auf die gewünschte Konzentration eingestellt.

Untersuchungen zur Vitalität der *Chalara*-Sporen

Vitalität in wässriger Lösung

Die Vitalität der *Chalara*-Sporen in Wasser wurde über einen Zeitraum von 14 Tagen erfasst, um Aussagen über die Dauer der Infektiosität der Sporen in wässriger Lösung treffen zu können. Dafür wurde eine Suspensionslösung mit *C. elegans* bzw. *C. thielavioides* hergestellt (10.000 CFU/mL). Diese wurde 14 Tage lang im Brutschrank bei 20 °C inkubiert. Täglich wurde nach vorherigem Rühren der Suspension eine Teilmenge entnommen, von der je 20 µL auf Möhrenscheiben (n=5 je Schaderreger) pipettiert wurden. Die Möhrenscheiben wurden anschließend in eine Feuchte Kammer bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, bevor - wie unter 3.1 beschrieben - der *Chalara*-Befall erfasst wurde.

Vitalität im Boden

Mit diesem Versuch sollte die Frage geklärt werden, ob der *Chalara*-Befall im Boden in Korrelation zum *Chalara*-Befall auf der Möhre steht und inwiefern die Witterung Einfluss darauf nimmt. Der Versuch wurde im Mai 2019 angesetzt und läuft zum Zeitpunkt der Berichterstellung noch.

Mit *C. elegans* bzw. *C. thielavioides* bewachsene Möhrenscheiben wurden, getrennt nach Schaderreger, einem Sand-Erde-Gemisch (10 L Sand, 70 L Erde) untergemischt und in 200 L Mauerkübel abgefüllt. In diese wurden im Mai 2019 sowie im Mai 2020 Möhren ausgesät (2019 Sorte 'White Satin' der Firma Bejo Samen GmbH; 2020 Sorte 'CreamPak, F1' der Firma Hild samen GmbH). Nach der Aussaat wurden mit einem Bohrstock im Abstand von zwei Wochen Bodenproben aus den Kübeln gezogen. Die *Chalara*-Belastung des Bodens wurde, wie unter 3.1 beschrieben, bestimmt. Im Oktober wurden die Möhren von Hand schonend geerntet und anschließend in einer Feuchten Kammer bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, bevor - wie unter 3.1 beschrieben - der *Chalara*-Befall erfasst wurde.

Untersuchungen zu Wachstumsbedingungen der *Chalara*-Erreger

Einfluss von Licht

Die Auswirkungen von Tageslicht auf das Wachstum der bodenbürtigen Schadpilze *C. elegans* und *C. thielavioides* wurde geprüft. Dafür wurden Möhrenscheiben (n=35 je Schaderreger) mit je 200 CFU/Scheibe inokuliert. Die Möhrenscheiben wurden anschließend in einer Feuchten Kammer bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, wobei je eine Charge bei Dunkelheit und eine Charge bei permanentem Licht bzw. bei natürlichem Tag/Nacht-Rhythmus aufgestellt wurde. Abschließend wurde der *Chalara*-Befall - wie unter 3.1 beschrieben - erfasst.

Einfluss von Verletzungen

Inwieweit eine *Chalara*-Infektion über ein intaktes Abschlussgewebe der Wurzel erfolgen kann, wurde untersucht, indem verletzte bzw. unverletzte Möhren in Leitungswasser bzw. eine hoch konzentrierte *Chalara*-Sporensuspension getaucht wurden. Anschließend wurden die Möhren getrennt nach Versuchsvarianten in Feuchten Kammern bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, um abschließend den Befall - wie unter 3.1 beschrieben - zu erfassen. Der Versuch wurde dreimal wiederholt.

Einfluss der Temperatur

Je 50 Möhrenscheiben wurden mit jeweils 200 CFU/Scheibe inokuliert und sofort in Kühlbrutschränken bei 5, 10, 15, 20, 25, 30 und 35 °C inkubiert. Für jede Temperaturstufe wurde die Zeitdauer von der Inokulation bis zum Auftreten erster Symptome (Inkubationszeit) erfasst. Der Versuch wurde dreimal wiederholt.

3.5 Phytopathologische und molekularbiologische Charakterisierung der *Chalara*-Erreger

Um die Isolate molekularbiologisch zu charakterisieren, wurden verschiedene Isolate (aus Möhren und Radies) mittels ITS-PCR (fungal ribosomal ITS-region) und anschließender Sequenzanalyse untersucht. Zur Aufarbeitung der Proben wurde das REDEExtract-N-AmpTM Tissue PCR Kit (Sigma-Aldrich®) verwendet.

Für die DNA-Extraktion wurde mit einer sterilen Pipettenspitze Myzel vom Nährboden abgenommen und in ein Extraktionsgefäß (1,5 mL Eppendorf Tube) überführt. Unter Zugabe von 100 µL Extraction-Buffer (Sigma-Aldrich®) wurde die Lösung 10 Minuten bei 95 °C im ThermoMixer (150 rpm) erhitzt. Anschließend wurden 100 µL Dilution-

Buffer (Sigma-Aldrich®) hinzugefügt, die Lösung gemischt und bis zur Untersuchung mittels PCR bei 4 °C oder 20 °C gelagert.

Zur Amplifikation der DNA-Fragmente wurde folgendes PCR-Programm genutzt: initiale Denaturierung bei 95 °C für 3 Minuten; 30 Zyklen mit jeweils 1 Minute Denaturierung bei 95 °C, einer Annealing-Phase bei 53 °C für 30 Sekunden, und einer Extensionsphase von 1 Minute bei 72 °C. Das Programm endete mit einer finalen Extension über 5 Minuten bei 72 °C. Das Reagenz wurde dann auf 12 °C bis zur Entnahme heruntergekühlt.

Zur Visualisierung der DNA-Produkte wurde eine Gelelektrophorese durchgeführt. Hierfür wurden 3 µL der PCR-Reaktion in eine Tasche eines 1,5 % Agarosegels eingebracht. Das Gel sowie der Puffer in der Gelkammer wurden mit einfachem TBE-Puffer angesetzt. 3 µL MedoriGreen wurde dem Gel zugesetzt, um die Banden im UV-Licht zu erkennen. Die Elektrophorese wurde über 35 Minuten bei 120 V durchgeführt.

Das genutzte Primerpaar ITS1 und ITS4 ergeben bei Pilz-DNA eine Bande, welche ca. 550 Basenpaare lang ist. Sofern die richtige Bandenlänge erkannt wurde, wurde das Fragment anschließend bei der Firma GATC Biotech AG in Köln sequenziert. Nach Erhalt der Sequenzen wurden diese mittels des Chromatogrammprogramms (BioEdit Sequence Alignment Editor) auf ihre Qualität hin überprüft. Anschließend wurden ein NCBI-Blast durchgeführt, relevante Sequenzen ausgewählt und ein phylogenetischer Baum (Neighbour-Joining Tree) mittels MEGA-Software berechnet und erstellt.

Für Infektionsversuche mit *C. elegans* und *C. thielavioides* wurden Calibrachoa jeweils mit Isolaten von *C. elegans* (isoliert aus Calibrachoa bzw. Möhre) und *C. thielavioides* (isoliert aus Möhre) inokuliert. Hierfür wurden entweder ca. 5 cm frisch geschnittene Kopfstecklinge oder auf 5 cm zurückgeschnittene Calibrachoa-Jungpflanzen verwendet. Diese wurden mit den verschiedenen Isolaten konfrontiert. In der ersten Variante wurden infizierte Möhrenscheiben klein geschnitten und in das Substrat eingemischt. In der zweiten Variante wurden Sporen von Möhrenscheiben abgespült und mit dieser Sporensuspension die entsprechenden Versuchspflanzen gleichmäßig angegossen.

3.6 Entwicklung von Verfahren zur Verhinderung bzw. Reduzierung der Ausbreitung der *Chalara*-Erreger während der Aufbereitung

Untersuchungen zu Ernte und Transport

Untersuchungen zum Ernteprozess (Handernte, maschinelle Ernte)

Bei der Handernte wurden die Möhren nach Lockern des Bodens mittels Spaten manuell schonend aus dem Boden gezogen. Die Probennahme nach maschineller Ernte durch die in dem Betrieb vorhandenen Roder erfolgte vom Anhänger.

Im Fall der Untersuchungen durch das DLR wurde der maschinelle Erntebetrieb temporär eingestellt, um Möhrenproben direkt nach dem Herausziehen und aus dem Bunker entnehmen zu können.

Untersuchungen zum Transportprozess (Abladen vom Roder und Überladen auf Hänger)

Die Probennahme erfolgte zum einen aus dem Bunker des Roders und zum anderen unmittelbar nach dem Überladen der Möhren auf den Anhänger.

Untersuchungen zum Entladen vom Hänger in die Aufarbeitungsanlage

Die Proben wurden vor dem Abladen vom Anhänger bzw. vom Transportband unmittelbar nach dem Abladen entnommen.

Untersuchungen zur Oberflächenkontamination

Abklatschversuche im Betrieb (Nährmedien)

An 14 verschiedenen Stellen der Möhren-Aufarbeitung im Betrieb (Transportband von Hänger; Steigband zum Zyklon; Förderband hinter Entkrauter; Steigband hinter Waschmaschine; Band hinter Bruchsortierer; Metallauslauf hinter Polierer; Förderband hinter Polierer; Steigband hinter Polierer; Rüttelbecken; Band oben vor Fotosortierer; schmales Band vor Fotosortierer; Förderband nach Fotosortierer; Förderband zum Bunker für Beutel; Förderband hinter Waage) wurden mit OXOID-Abklatschplatten (Malzagar mit Chloramphenicol) Abklatschproben von den entsprechenden Stellen entnommen. Nach Inkubation bei 20 °C erfolgte die Auswertung 2, 6 und 7 Tage nach Probennahme.

Abklatschversuche im Labor

Diese Versuchsreihe hatte das Ziel, unter standardisierten Laborbedingungen einen selektiven Abklatschtest zum *Chalara*-Nachweis zu entwickeln. Hierzu stand ein Förderband aus dem Betrieb zur Verfügung.

Vor jedem Versuchsansatz wurde das Förderband mit Alkohol desinfiziert. Um eine gute Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden auf dem Förderband Versuchsfelder mit den Maßen 10 x 10 cm markiert. In diesen Feldern wurden immer 1.000 µL Sporensuspension in unterschiedlichen Konzentrationen aufgetragen, um die unterste Infektionsgrenze zu definieren (Abb. 1 a). Nach dem Antrocknen der Sporensuspensionen wurden die Felder nach einem standardisierten Schema mit einer Möhrenscheibe abgerieben (Abb. 1 b).

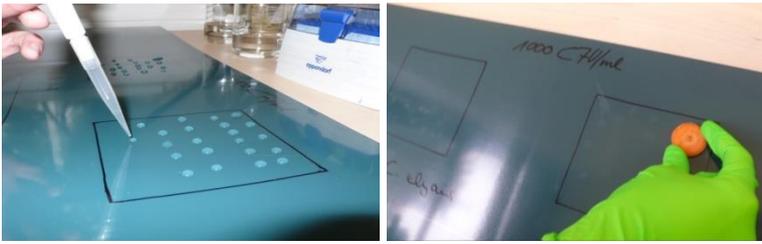


Abbildung 1: Versuchsdurchführung zur Erfassung der *Chalara*-Belastung an Oberflächen: a) Aufbringen einer definierten Sporenmenge auf die zu testende Oberfläche (Förderband); b) Abreiben der *Chalara*-belasteten Oberfläche mit Möhrenscheibe; LTZ Augustenberg.

Untersuchungen zur Oberflächendesinfektion

Desinfektionsmittel

Die Eignung von Desinfektionsmitteln zur Inaktivierung von *Chalara*-Sporen wurde im Labor untersucht. Dafür wurden definierte *Chalara*-Sporenmengen auf Plastikfolie aufgebracht. Nach dem Antrocknen wurden die Folienstücke mit verschiedenen Desinfektionsmaßnahmen behandelt. Anschließend erfolgte ein Abklatsch der Folienstücke auf SNA-Medium und die Keimung von *Chalara*-Sporen wurde über einen Zeitraum von 10 Tagen ermittelt.

Infektionsverlauf im Aufarbeitungsprozess

Zur Überprüfung der Effektivität der betriebsüblichen Oberflächendesinfektion wurden in den Praxisbetrieben befallsfreie (andersfarbige) Möhren in den Aufarbeitungsprozess beim Förderband, welches vom Bunker in die Waschanlage führt, eingeschleust und nach dem Waschen bzw. nach dem Waschen und Polieren aussortiert. Der *Chalara*-Befall dieser Möhren wurde im Labor ermittelt.

Untersuchungen zur Entfernung anhaftender Sporen

Druckluft

Mit Hilfe eines Kompressors wurden mit je 200 Sporen inokulierte Möhrenscheiben (n=30 je Schaderreger) aus einem Abstand von ca. 5 cm für 10 Sekunden mit Druckluft (5 bar) abgeblasen. Die Möhrenscheiben wurden anschließend in einer Feuchten Kammer bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, bevor der *Chalara*-Befall - wie unter 3.1 beschrieben - erfasst wurde.

Hochdruckreinigung mit Frischwasser

Ca. 100 Möhren wurden nach dem Polierer entnommen und in zwei Europool-Kisten gelegt. Eine Hälfte wurde mit einem handelsüblichen Hochdruckreiniger (Kärcher Professional HDS 12/18-4S) auf Stufe 6 abgespritzt (Abb. 2). Die andere Hälfte blieb zum Vergleich unbehandelt. Der *Chalara*-Befall wurde - wie unter 3.1 beschrieben - im Labor erfasst.



Abbildung 2: Hochdruckreinigung von Möhren nach dem Polieren; LTZ Augustenberg.

Frischwasserreinigung bei geringem Druck

Von der Applikationstechnik des LTZ Augustenberg wurde für diesen Versuchsansatz eine Möhren-Waschanlage (Abb. 3 a) mit einem Düsenverband von zwei Flachstrahldüsen (Lechler Baureihe 625, Typ 652.726) gebaut. Mithilfe dieser Versuchsreihe wurde untersucht, ob sich anhaftende Sporen mit Hilfe von geringem Wasserdruck (2 bar) von den Möhren abspülen lassen. Die verwendeten Düsen wurden senkrecht nach unten und überlappend ausgerichtet (Abb. 3 b). Die Möhren wurden an einer Stelle mit einem Messerabrieb der Länge nach verletzt und inokuliert, indem die

Möhren in eine Sporensuspension getaucht wurden. Die verletzten Möhren wurden mit der Verletzung zu den Düsen zeigend unmittelbar nach der Inokulation durch den Wasserstrahl mit ca. 1 cm pro Sekunde gezogen. Die Befallsermittlung erfolgte wie unter 3.1 beschrieben.

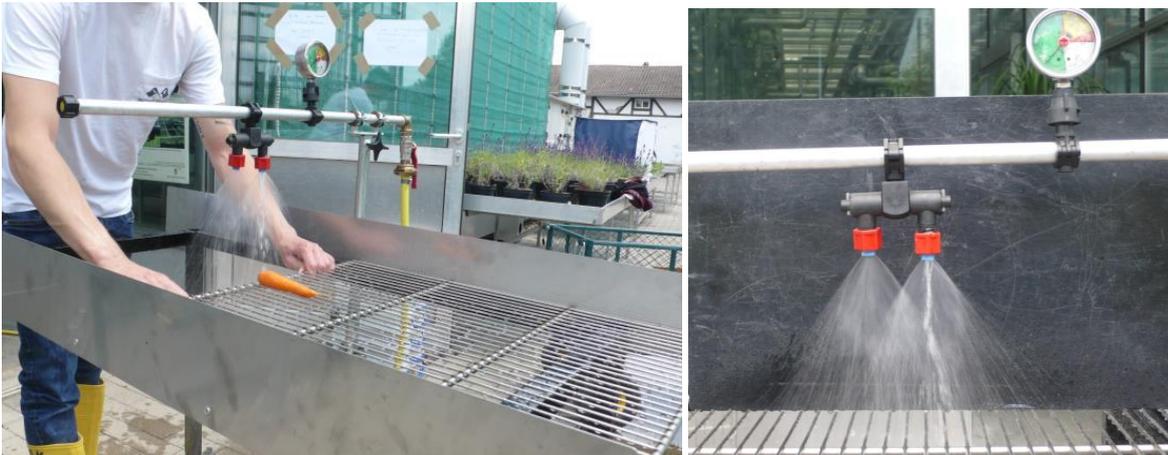


Abbildung 3: Möhren-Waschanlage mit Düsenverband; a) Versuchsdurchführung, b) Düsenkegel; LTZ Augustenberg.

Untersuchungen zur Inaktivierung anhaftender Sporen

Änderung des pH-Wert

Um die bevorzugten Wachstumsbedingungen der *Chalara*-Erreger festzustellen, wurde das Wachstum der *Chalara*-Erreger bei verschiedenen pH-Bereichen untersucht. Hierzu wurde eine *Chalara*-Sporensuspension im Verhältnis 2:1 a) mit NaOH (0,1 mol mit pH 13) für den basischen pH-Bereich bzw. b) mit NaH_2PO_4 -Puffer (pH 2,75) für den sauren pH-Bereich bzw. c) mit Leitungswasser für den pH-neutralen Bereich gemischt. Aus diesen Lösungen wurden dann je 200 Sporen auf Möhrenscheiben pipettiert. Die Möhrenscheiben wurden anschließend in einer Feuchten Kammer bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, bevor abschließend der *Chalara*-Befall - wie unter 3.1 beschrieben - erfasst wurde.

Elektrische Felder

In einer Elektrophorese-ähnlichen Kammer wurden Möhren (n=50 je Schaderreger) in einer 5 % Natriumchlorid-Lösung für 5 Minuten unter Spannung gesetzt (Abb. 4). Die Möhren wurden zuvor in Stäbchenform geschnitten und auf einer Seite mit 200 Sporen inokuliert. Nachdem die Sporensuspension angetrocknet war, wurden die Möhrenstücke mit der inokulierten Seite nach unten zeigend in das Wasserbad gegeben. Die Spannung wurde durch einen Transformator kontrolliert auf die Kammer weitergeleitet. Die Befallsauswertung erfolgte wie oben beschrieben.

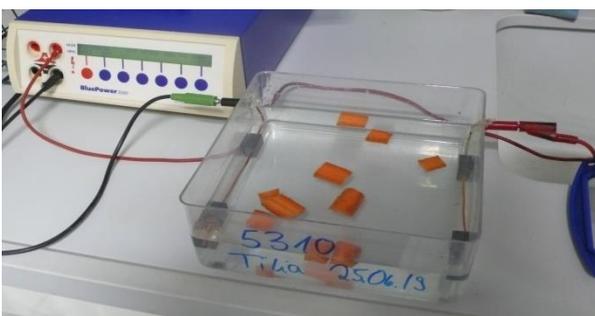


Abbildung 4: Versuchsdurchführung zur Inaktivierung anhaftender *Chalara*-Sporen mittels elektrischer Felder; LTZ Augustenberg.

Ultraschall

Zuvor inokulierte Möhren wurden für 3 Minuten in ein Ultraschall-Bad mit 5 % Citronensäure-Lösung bzw. Leitungswasser gegeben. Die Möhren wurden anschließend in einer Feuchten Kammer bei 20 °C für sieben Tage aufbewahrt, bevor der *Chalara*-Befall - wie unter 3.1 beschrieben - erfasst wurde.

UV-Strahlung

Bei der UV-Strahlung handelt es sich um eine sehr energiereiche Strahlung, welche unter anderem zur Oberflächendesinfektion eingesetzt wird. Daher wurde die desinfizierende Maßnahme an Möhren untersucht. Dafür wurden Möhrenscheiben mit je ca. 200 Sporen inokuliert. Je Schaderreger wurden 93 Möhrenscheiben mit UV-Strahlung für unterschiedliche Zeiträume (1, 2, 3 und 5 min.) behandelt (Abb. 5 a). Anschließend wurden die

Möhrenscheiben in einer Feuchten Kammer bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, bevor der *Chalara*-Befall - wie unter 3.1 beschrieben - erfasst wurde (Abb. 5 b).



Abbildung 5: Versuchsdurchführung zur Inaktivierung anhaftender *Chalara*-Sporen mittels UV-Strahlung; a) UV-Bestrahlung der Möhrenscheiben, b) Auswertung des *Chalara*-Befalls; LTZ Augustenberg.

Mikrowellen

Zunächst wurden Möhrenscheiben mit je 200 Sporen je Scheibe inokuliert und mit der inokulierten Seite nach oben in eine haushaltsübliche Mikrowelle gelegt. Der Effekt einer Inaktivierung der *Chalara*-Sporen wurde in der Mikrowelle bei verschiedenen Wattzahlen (300, 450, 650 und 800 Watt) für verschiedene Zeiträume (1 und 2 min., 30 und 45 sec.) getestet.

Da sich in den ersten Versuchen zeigte, dass bei niedriger Wattzahl die Einwirkzeit entsprechend lang sein muss, um eine Inaktivierung zu erzielen, gleichzeitig aber der Schädigungsgrad hoch ist, wurden weitere Versuchsreihen bei hoher Wattzahl (650 und 800 Watt) und kürzeren Einwirkzeiten (5 sec. bis 30 sec.) getestet. Hierbei wurden ganze Möhren verwendet, die zuvor mit einem Messerabrieb der Länge nach verletzt und mit Sporen inokuliert wurden (vollständiges Eintauchen der Möhren in eine Sporensuspension mit ca. 10.000 CFU/mL). Die Möhren wurden anschließend in einer Feuchten Kammer bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, bevor abschließend der *Chalara*-Befall - wie unter 3.1 beschrieben - erfasst wurde.

Heißwasserdampf

Ziel einer Behandlung mit Heißwasserdampf war die Inaktivierung der Sporen auf der Möhrenoberfläche. Dafür wurden für verschiedene Zeiträume (20, 30, 45 sec. bzw. 1 min.) inokulierte Möhren auf einen 3-Liter-Erlenmeyer mit kochendem Wasser gelegt (Abb. 6). Anschließend wurden die Wurzeln in einer Feuchten Kammer bei 20 °C für sieben Tage inkubiert, bevor abschließend der *Chalara*-Befall - wie unter 3.1 beschrieben - erfasst wurde.



Abbildung 6: Versuchsdurchführung zur Inaktivierung anhaftender *Chalara*-Sporen mittels Heißwasserdampf; LTZ Augustenberg.

Wasserbad

Dieser Versuchsaufbau hat das Ziel verfolgt, die Temperaturgrenze (in vitro) zu definieren, an der die *Chalara*-Erreger inaktiviert werden. In Vorversuchen wurde zunächst ein relevanter Temperaturbereich abgesteckt. Für die Vorversuche wurde 1 mL einer Sporensuspension mit 50.000 CFU/mL in ein Reaktionsgefäß gegeben und im Wärmeblock auf die jeweilige Temperatur aufgeheizt. Die Wandstärke des Reaktionsgefäßes führte zu einer zeitlichen Verzögerung, bis die darin befindliche Suspension auf die entsprechende Temperatur erhitzt war.

Für die weiterführenden Versuche wurden daher 30 mL Wasser auf 40, 50 bzw. 60 °C temperiert und anschließend 1 mL Sporensuspension hinzugegeben, sodass eine Endkonzentration von 50.000 CFU/mL erreicht wurde. 30 bzw. 60 Sekunden nach Zugabe der konzentrierten Sporensuspension wurde das Becherglas zum raschen Herunterkühlen in ein Eiswasserbad gestellt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 100 µL entnommen und auf SNA-Agar plattiert. Anschließend wurden die Agarplatten für sieben Tage im Brutschrank bei 20 °C inkubiert und die Anzahl keimender Sporen ermittelt.

Lageratmosphäre

In Kooperation mit Herrn Dr. Trierweiler vom Max-Rubner-Institut in Karlsruhe wurde der Effekt von der Zusammensetzung der Lageratmosphäre (Reduzierung des Sauerstoffgehaltes durch Anreicherung von Kohlendioxid und Stickstoff) bezüglich der *Chalara*-Entwicklung und der Möhrenqualität (Textur, Farbe, Geschmack) untersucht. Nach dem Einstellen der inokulierten Möhrenscheiben (Abb. 7 a) in die Lagerungsboxen (Abb. 7 b, c) wurde die Atmosphäre 24 Stunden mit Stickstoff gespült; erst im Anschluss an den Spülvorgang konnte technisch bedingt die jeweilige Lageratmosphäre eingestellt werden (Tab. 17).



Abbildung 7: Versuchsdurchführung zur Inaktivierung anhaftender *Chalara*-Sporen mittels modifizierter Lageratmosphäre: a) inokulierte Möhrenscheiben, b + c) inokulierte Möhrenscheiben in den Lagerboxen bei kontrollierten Lagerbedingungen; LTZ Augustenberg.

3.7 Etablierung erfolgversprechender Aufbereitungsverfahren in den Betrieben

Entfällt.

4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

4.1 Erfassung der Verbreitung von *C. thielavioides* und *C. elegans* auf den Produktionsflächen (Bodenproben)

Vor der Saat und zur Ernte wurden Bodenproben entnommen und auf ihre *Chalara*-Sporenbelastung untersucht (Abb. 8 und 9). Außerdem wurde die Belastung der am Erntegut anhaftenden Erde ermittelt. Die vorliegenden Daten zeigen, dass die Belastung zur Saat meist gering ist und bis zur Ernte etwa um den Faktor 10 ansteigt. Sehr hoch war dagegen die Belastung der Erde, die am Erntegut anhaftete. Hier blieb allerdings unklar, ob die Belastung erst nach der Ernte während des Transports zur Aufarbeitung und der Lagerzeit vor dem Waschen angestiegen war, zumal die Temperaturen während Transport und Lagerung über 20 °C lagen und der Boden mit Möhrenwurzelbruchstücken ein ideales Substrat für *Chalara* dargestellt hat.

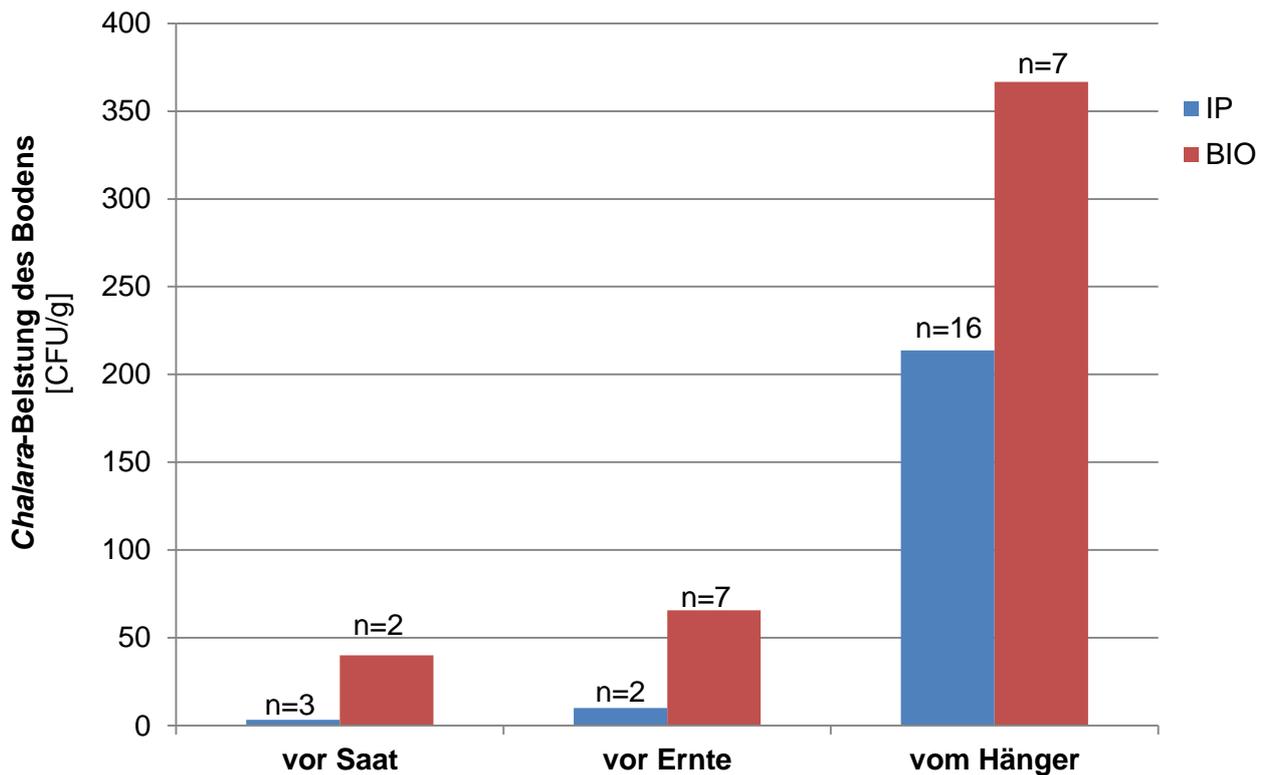


Abbildung 8: *Chalara*-Belastung in Bodenproben in Abhängigkeit von der Produktionsweise (IP bzw. Bio); LTZ Augustenberg.

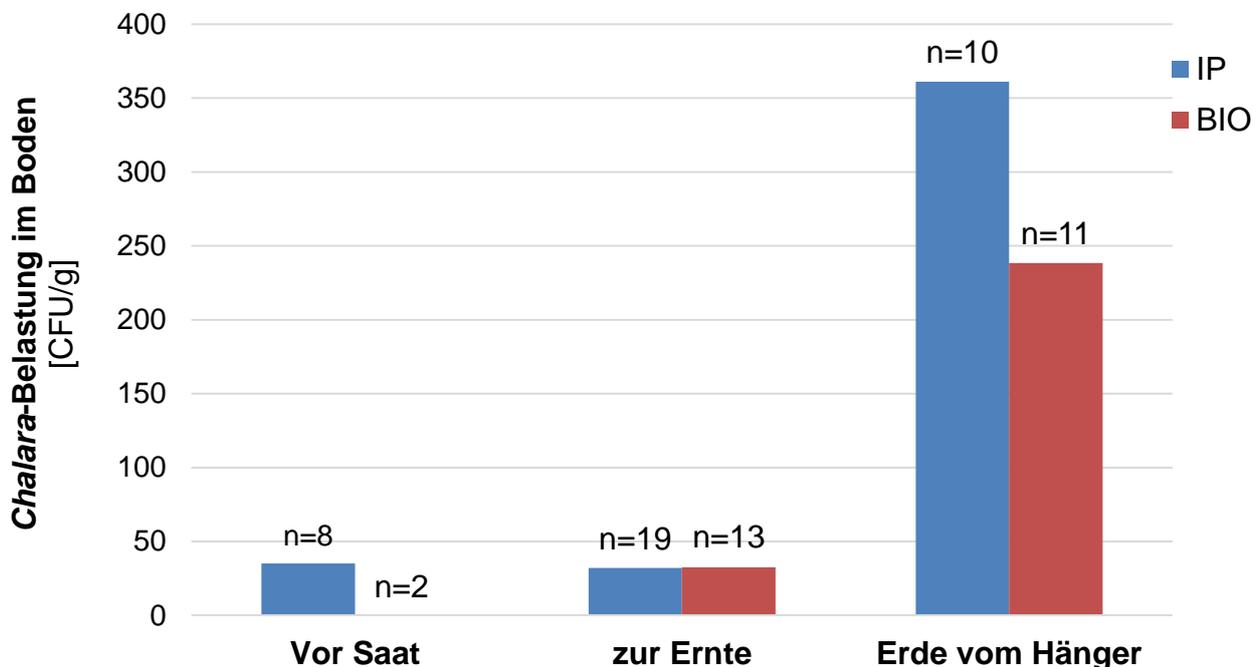


Abbildung 9: *Chalara*-Belastung in Bodenproben in Abhängigkeit von der Produktionsweise (IP bzw. Bio); DLR Rheinpfalz.

In einer engmaschigen Beprobung wurde auf jeweils einem Möhrenschnagel kurz vor der Ernte vom DLR und vom LTZ Proben entnommen. In der Möhrenschnagelreihe wurde je laufendem Meter eine Bodenprobe gezogen. Dabei wurde nur in einer von 22 Proben eine leichte *Chalara*-Belastung festgestellt, und zwischen den Reihen war überhaupt kein *Chalara*-Befall nachweisbar (LTZ Augustenberg).

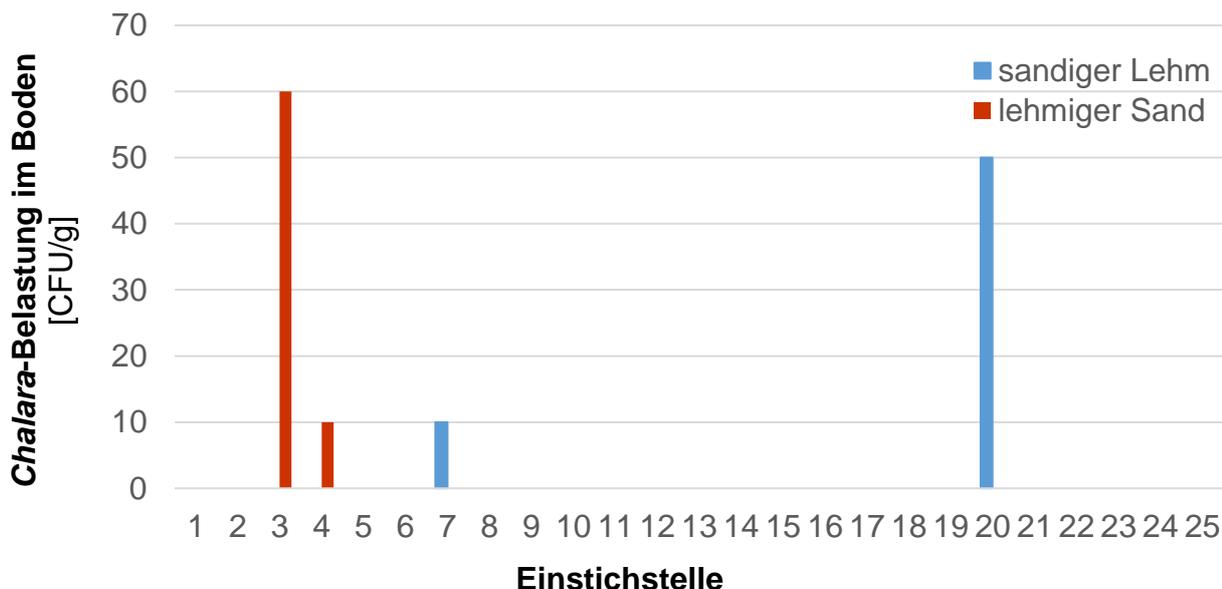


Abbildung 10: *Chalara*-Belastung in Bodenproben verschiedener Bodentypen; DLR Rheinpfalz.

Beim DLR wurde bei dieser Untersuchung zudem die Auswirkung der Bodenart auf die *Chalara*-Abundanz berücksichtigt (Abb. 10). So wurde eine intensive Bodenbeprobung auf sandigem Lehm und lehmigen Sand durchgeführt. Hierbei wurden auf 50 m Dammlänge 25 Einstiche zur Bodenentnahme getätigt. Die beiden Bodenarten unterschieden sich nicht in der Anzahl der *Chalara*-Sporen (Abb. 10). Insgesamt war die Belastung auf der Fläche sehr ungleichmäßig verteilt und sehr gering (nur zwei von 25 Proben je Bodenart).

Die Auswertung der vom DLR durchgeführten Bodenprobennahmen vor der Saat bzw. zur Ernte sowie der dazugehörigen Möhrenproben vom Hänger zeigten keinerlei Trend oder Korrelation. Zu erwarten wäre gewesen, dass die *Chalara*-Belastung des Bodens über die Kulturdauer der Möhren, die eine ideale Wirtspflanze für den Pilz ist, ansteigt. Das war jedoch nur in drei Fällen der Fall (Abb. 11). In vier Fällen nahm die *Chalara*-Belastung dagegen ab und in sieben Fällen war weder zur Saat noch zur Ernte *Chalara* im Boden nachweisbar.

Genauso wenig war eine Beziehung zwischen den *Chalara*-Funden im Boden und dem Befall im Hänger zu erkennen (Abb. 11).

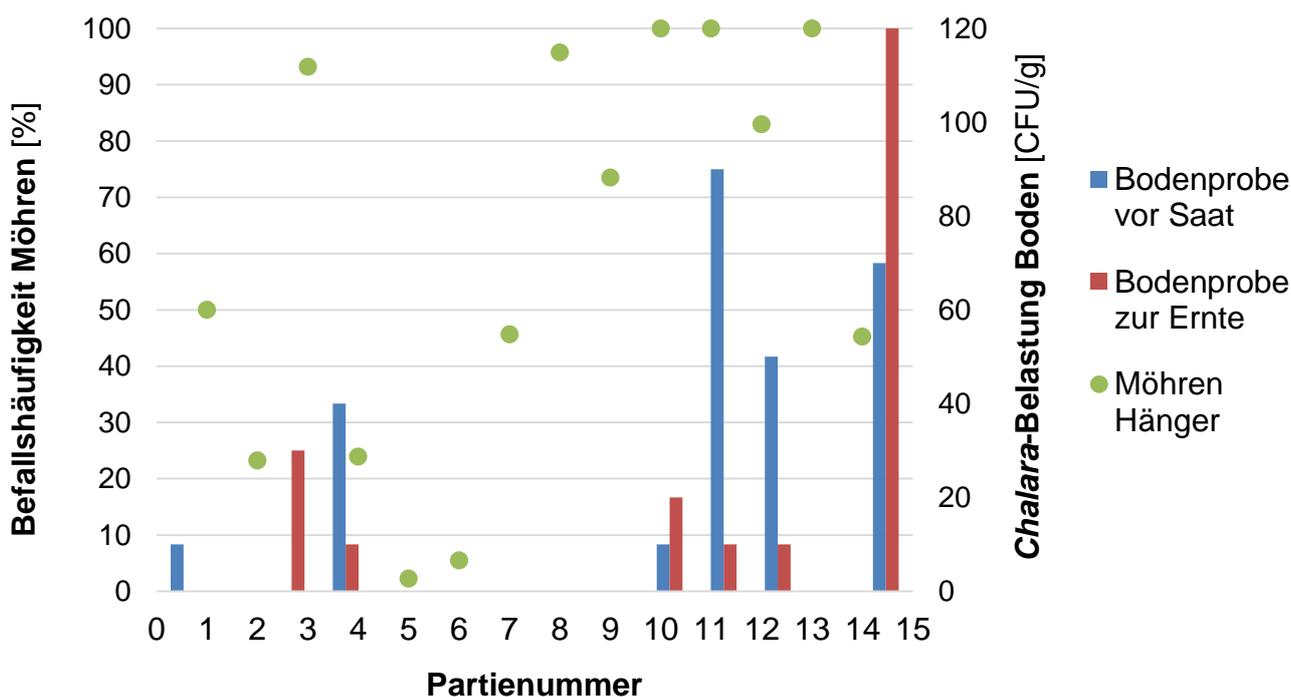


Abbildung 11: *Chalara*-Belastung im Boden vor Saat und zur Ernte sowie die Befallshäufigkeit von *Chalara* an Möhren nach der Ernte auf dem jeweiligen Hänger; DLR Rheinpfalz.

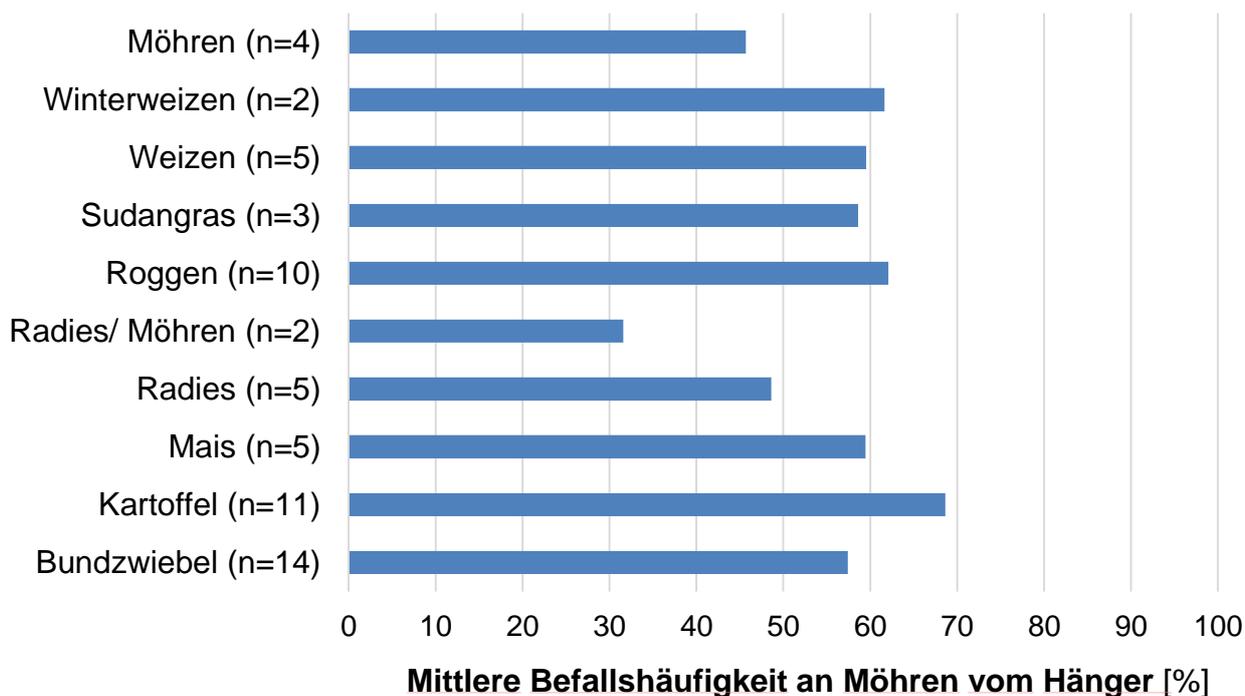


Abbildung 12: *Chalara*-Befall an Möhren in Abhängigkeit von der Vorfrucht (Mittelwerte); LTZ Augustenberg, DLR Rheinpfalz.

Um zu verstehen, welchen Einfluss die Vorfrucht auf die Befallshäufigkeit der Möhre mit *Chalara* hat, wurden die Vorfrüchte von verschiedenen Feldern ermittelt. Diese Ergebnisse wurden dann mit den festgestellten Befallshäufigkeiten der Möhren verglichen, die auf diesen Feldern angebaut worden waren. Die Vorfrucht und der festgestellte Befall der Möhren mit *Chalara* zeigten weder eine Korrelation noch einen erkennbaren Trend (Abb. 12).

4.2 Ableitung von Schwellenwerten bei der Bodenbelastung durch *Chalara*-Erreger

Ziel dieses Arbeitspakets war es, einen Schwellenwert der *Chalara*-Belastung im Boden zu ermitteln, unter dem eine befallsfreie Möhrenproduktion möglich wäre. Korrelationen zwischen der Belastung des Bodens zur Saat bzw. zur Ernte oder vom Anhänger und der *Chalara*-Belastung des Ernteguts waren nicht vorhanden (Abb. 11). So war bei einigen Probensätzen die Belastung des Bodens vom Anhänger sehr hoch gewesen, der Befall an den Möhren, die vom Anhänger gezogen wurden, aber gering und umgekehrt. Daher war es (leider) nicht möglich, aus der Belastung des Bodens auf den Befall im Erntegut zu schließen und auf diese Weise einen Schwellenwert zu ermitteln. Man kann sogar so weit gehen, zu sagen, dass die *Chalara*-Belastung auf der Möhren-Anbaufläche keinen Einfluss auf die *Chalara*-Fäule des Ernteguts hat.

4.3 Erfassung von *C. thielavioides* und *C. elegans* während der Aufbereitung der Möhren

In zwei Möhren verarbeitenden Betrieben, die selbst oder von anderen Betrieben produzierte Möhren aufarbeiten und verpacken, wurden verteilt über die gesamte Saison (Juli bis Dezember) von mehr als 100 Partien Proben entnommen. Der dritte für die Probennahme vorgesehene Betrieb hat dagegen nur sehr sporadisch Proben geliefert und wurde daher aus dem weiteren Untersuchungsprogramm heraus genommen. Während der Betrieb, mit dem das DLR Rheinpfalz zusammenarbeitete, sowohl nach Bio- als auch IP-Richtlinien Möhren produziert, hat der Betrieb in Baden-Württemberg ausschließlich nach IP-Richtlinien produzierte Möhren verarbeitet.

Der Anteil an *Chalara*-befallenen Möhren wurde getrennt nach Bio- und IP-Produktion beim Abladen und nach dem Waschen, nach dem Polieren und an der abgepackten Ware erfasst (Abb. 13). Diese Untersuchung erfolgte in der Saison 2017/18 und 2018/19. Auffallend war, dass die Ausgangsbelastung bei Möhren aus der integrierten Produktion mit im Mittel mehr als 50 % (latent) befallener Möhren bei der Anlieferung bereits sehr hoch war. In der Bio-Produktion lag die Belastung geringfügig darunter.

Nach dem Waschen stieg der Anteil befallener Möhren um etwa 10 Prozentpunkte an. Somit scheint es während des Waschvorgangs zu einer weiteren Ausbreitung der Schaderreger zu kommen. Die Befallshäufigkeit nahm nach dem Polieren ganz leicht ab, um schließlich in der Verpackung Werte von um die 75 % zu erreichen.

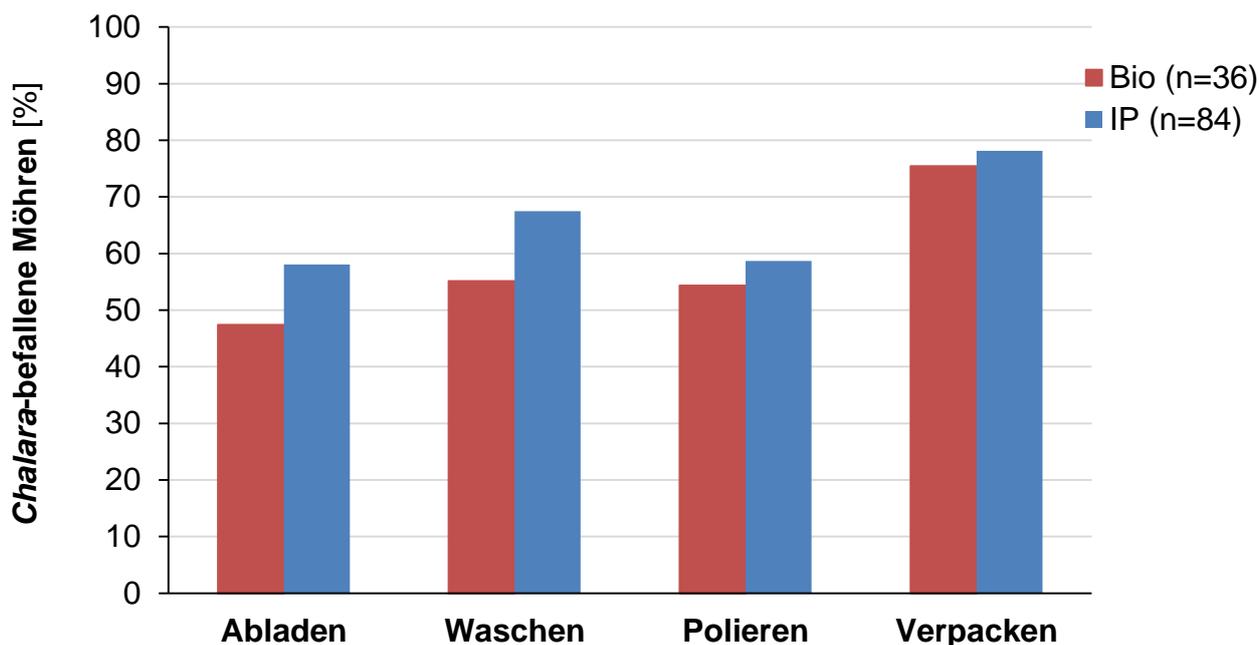


Abbildung 13: Anteil *Chalara*-befallener Möhren [%] nach verschiedenen Phasen im Aufarbeitungsprozess, differenziert in Ware der biologischen (Bio) bzw. integrierten Produktion (IP); LTZ Augustenberg, DLR Rheinpfalz.

Dieser Trend wurde durch Versuche bestätigt, in denen gering belastete (andersfarbige) Möhren in den Waschvorgang eingeschleust wurden (Tab. 1). Diese Möhren waren nach dem Waschen deutlich belastet: Der Anteil befallener Möhren stieg von 4 % auf über 40 % (Tab. 1) bzw. von 0 % auf 72 % bis 84 % nach dem Waschen und 100 % nach dem Polieren (Tab. 2).

Tabelle 1: Anteil *Chalara*-befallener Möhren [%] vor und nach dem Wasch- und Poliervorgang; LTZ Augustenberg.

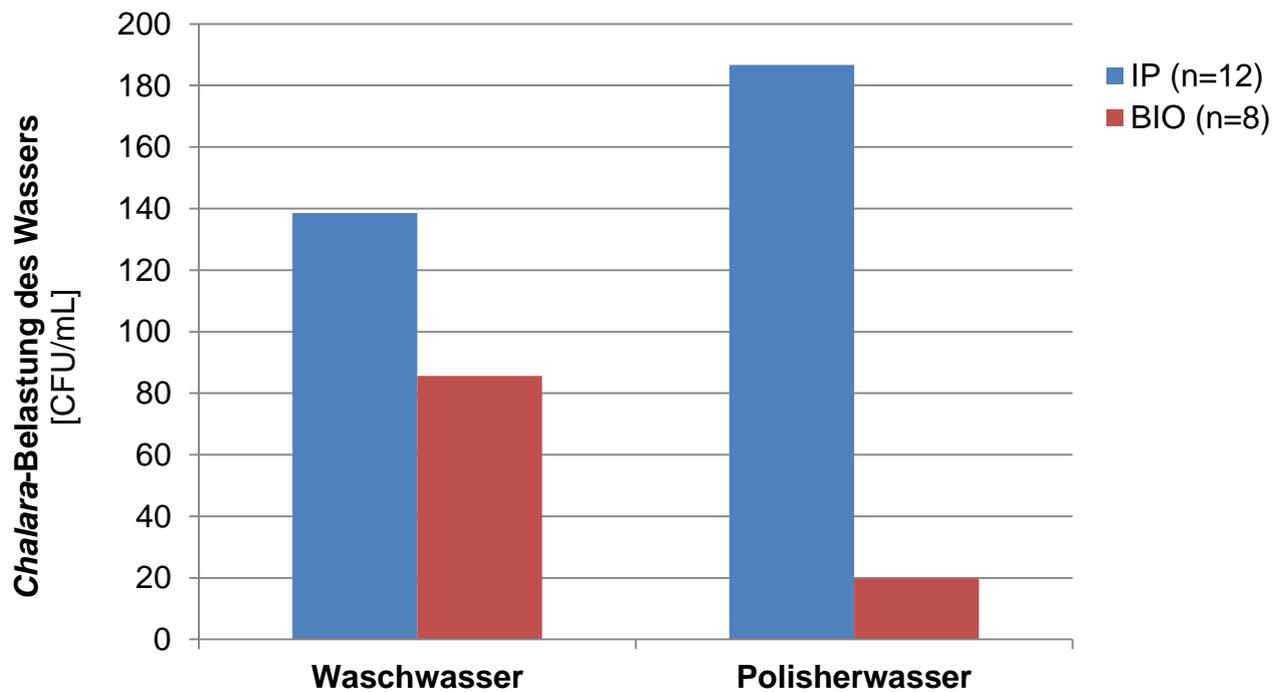
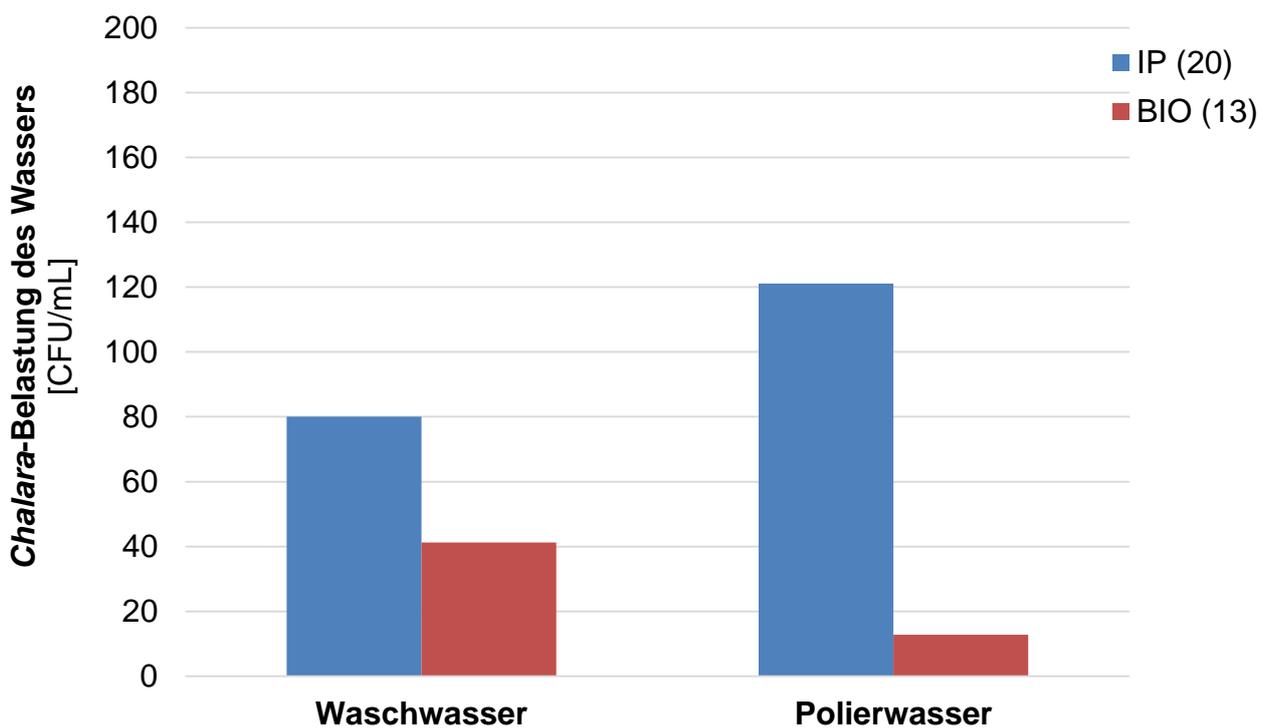
Zeitpunkt	Anzahl Möhren	Anzahl Möhren mit <i>Chalara</i>	<i>Chalara</i> -Befall [%]
vor Waschen	25	1	4
nach Waschen und Polieren	153	66	43

Tabelle 2: Anteil *Chalara*-befallener Möhren [%] vor und nach dem Waschvorgang; DLR Rheinland.

Zeitpunkt	Anzahl Möhren	Anzahl Möhren mit <i>Chalara</i>	<i>Chalara</i> -Befall [%]
Handwäsche 1	25	0	0
Handwäsche 2	25	0	0
Waschtrommel 1	25	18	72
Waschtrommel 2	25	21	84
Polierer 1	25	25	100
Polierer 2	25	25	100

Beim Polieren gab es bei einzelnen Partien teils gegenläufige Tendenzen: Bei einigen Partien wurde durch das Polieren die (hohe) Belastung nach dem Waschen leicht reduziert, während sie bei anderen (weniger belasteten) Partien erhöht wurde. Im Durchschnitt kam es jedoch zu einer leichten Abnahme des Befalls durch das Polieren (Abb. 13).

Sowohl das aufgefangene Wasser aus der Waschtrommel als auch das Wasser aus dem Polierer war jeweils deutlich mit *Chalara*-Sporen belastet (Abb. 14 und 15). Das lässt vermuten, dass sowohl beim Waschen als auch beim Polieren eine starke Umverteilung der *Chalara*-Sporen erfolgt. So gelangen Sporen beim Waschen über Bodenpartikel und Möhrenbruchstücke ins Wasser. Diese Sporen sind dann in der Lage bis dahin befallsfreie Möhren über die beim mechanischen Waschvorgang unvermeidlichen Verletzungen zu infizieren. Das gleiche gilt für das Polieren, bei dem durch das Entfernen der feinen Seitenwurzeln und von Unebenheiten vom Rübenkörper sogar bewusst Verletzungen geschaffen werden, in die die an den Polierborsten anhaftenden Sporen hineingerieben werden. Diese Umverteilung erfolgt mutmaßlich nicht nur innerhalb einer Partie sondern auch zwischen den Partien: Da das Wasser in der Waschtrommel zwischen den Partien in der Regel nicht gewechselt wird, ist davon auszugehen, dass nach dem Waschen einer nach dem Abladen befallsfreien Partie der Befall ansteigt, wenn zuvor eine hoch belastete Partie gewaschen wurde.

Abbildung 14: *Chalara*-Belastung in Wasserproben (Mittelwerte); LTZ Augustenberg.Abbildung 15: *Chalara*-Belastung in Wasserproben (Mittelwerte); DLR Rheinpfalz.

Im Verpackungsgebäude stieg der Anteil befallener Möhren deutlich an und erreichte im Mittel Werte um 70 % unabhängig von der Produktionsweise (Abb. 13). Das ist für die Vermarktung deutlich zu hoch. Die Ursache hierfür ist vermutlich der Effekt der Feuchten Kammer: Im Verpackungsgebäude herrscht eine hohe relative Luftfeuchte (fast 100 %) in Kombination mit Lagertemperaturen von um die 20 °C im Lebensmitteleinzelhandel und beim Endverbraucher. Beides begünstigt das Auftreten von Symptomen sowie das Überwachen des Schaderregers von befallenen auf unbefallene Möhren, die im Verkaufsgebäude oft unmittelbar neben bzw. übereinander liegen.

Bei einer versuchsweise durchgeführten „luftigen“ Verpackung in „Kartoffelnetzsäcken“ ließ sich der *Chalara*-Befall der Möhren deutlich reduzieren (Tab. 3). Allerdings kam es durch die hohe Verdunstung des Erntegutes zu einer deutlichen Welke der Möhren. Diese waren damit nicht mehr vermarktungsfähig.

Tabelle 3: Anteil *Chalara*-befallener Möhren (%) in handelsüblichen Verkaufsgebinden (geringer Luftaustausch) und im Netzsack (hoher Luftaustausch); LTZ Augustenberg.

Partie	<i>Chalara</i> -Befall in Verpackungsgebinde [%]	<i>Chalara</i> -Befall in „Kartoffelnetzsack“ [%]
A	100	45
B	100	8
C	95	53

Tabelle 4: Anteil *Chalara*-befallener Möhren (%; n=10) in handelsüblicher Schrumpffolie (geringer Luftaustausch) und im Folienbeutel (höherer Luftaustausch); LTZ Augustenberg.

Schrumpffolie	Folienbeutel
85	71

Beim Vergleich zwischen den handelsüblichen Verpackungen „Schrumpffolie“ und „Folienbeutel“ lag der Befall mit 85 % bzw. 71 % sehr hoch (Tab. 4). Der leichte Vorteil des Folienbeutels lag vermutlich an den „Lüftungslöchern“, die der Beutel aufwies. Aber sie reichten nicht aus, um den Effekt der Feuchten Kammer zu eliminieren.

Die Ergebnisse der Verpackungsversuche konnten unabhängig in ähnlicher Form am DLR reproduziert werden. Hierbei wurden Möhren im „Flow Pack“, „Schale“ und „Beutel“ inkubiert und deren Befall bonitiert. Weder bei der Befallsstärke noch bei der Befallshäufigkeit ließen sich hierbei signifikante Unterschiede erkennen (Abb. 16).

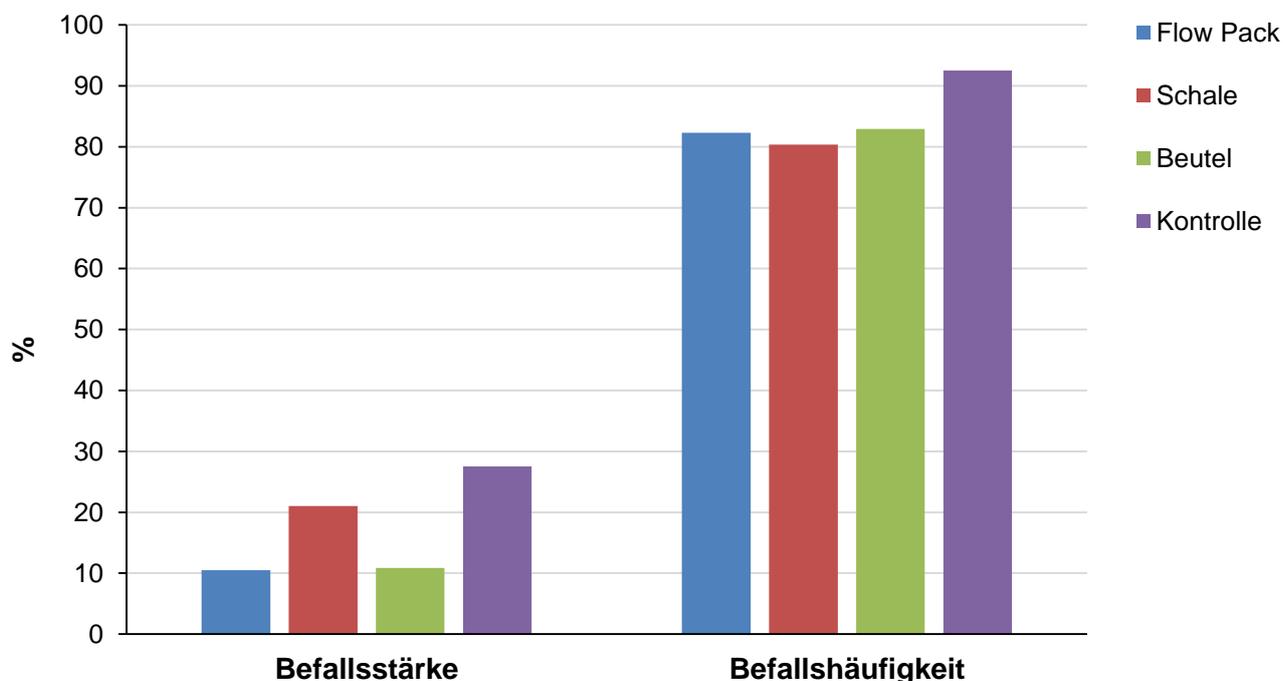


Abbildung 16: Prüfung verschiedener Verpackungsvarianten; dargestellt sind Befallsstärke und Befallshäufigkeit in den verschiedenen Verpackungsvarianten (Mittelwerte; n=50). Die Kontrolle wurde in der Feuchten Kammer (dunkel, 20 °C, 10 Tage) inkubiert; DLR Rheinpfalz.

4.4 Infektionsverlauf der *Chalara*-Erreger in der Möhre

Die Zeitdauer, die sich die Sporen in einer wässrigen Lösung befanden, hatte zumindest für den Zeitraum von neun Tagen keinen Vitalitätsverlust für die Sporen zur Folge (Abb. 17).

Dies macht die Notwendigkeit von Maßnahmen zur Reduzierung der einerseits an Möhren und andererseits an Oberflächen der Aufarbeitungsanlage anhaftenden Sporen deutlich.

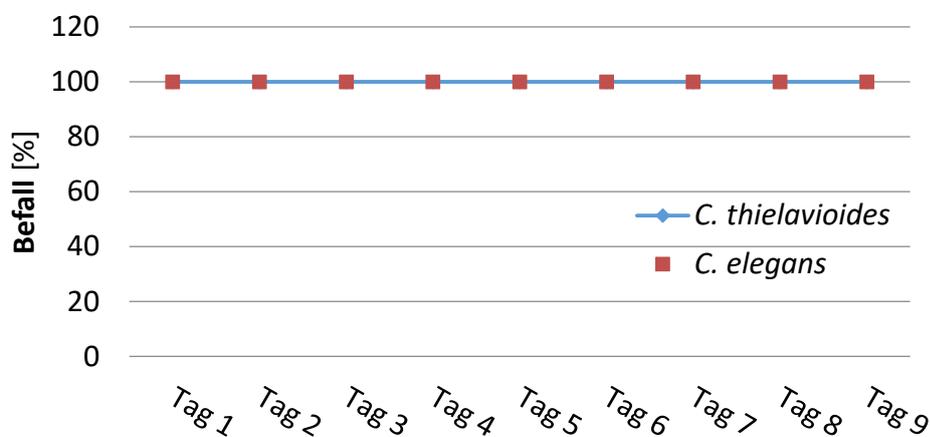


Abbildung 17: Einfluss der Lagerung von Sporen in einer Wasserlösung auf die Vitalität der *Chalara*-Erreger; LTZ Augustenberg.

Äußere Faktoren wie Licht und Witterung haben keinen Einfluss auf die Vitalität der *Chalara*-Erreger: Möhrenscheiben wurden mit jeweils 200 Sporen/Scheibe inokuliert. Je ein Drittel der Scheiben wurde anschließend permanent hell, permanent dunkel bzw. hell und dunkel im Tag-Nacht-Rhythmus für sieben Tage in einer Feuchten Kammer bei 20 °C inkubiert. Alle Scheiben waren ohne Einfluss der Inkubationsbedingungen befallen.

Außerdem wurde ein Langzeitversuch über 12 Monate (Mai 2019 bis Mai 2020) zur Erfassung der Vitalität der *Chalara*-Erreger im Boden im Freiland angelegt, um zu überprüfen, ob der Sporenbesatz im Boden in Korrelation zum Befall auf der Möhre steht und inwiefern die Witterungsverhältnisse Einfluss darauf nehmen können. Verwendet wurde ein zuvor inokuliertes Substrat, in welches im Mai 2019 Möhren gesät wurden, die jeweils mittels schonender Handerte geerntet wurden. Im Mai 2020 wurde erneut in das Substrat gesät; die Erntewerte von 2020 stehen zum Zeitpunkt der Berichterstellung noch aus. Begleitet wurden diese Untersuchungen von regelmäßigen Bodenproben. Der Langzeitversuch zeigte, dass die im Boden vorhandenen *Chalara*-Erreger ihre Vitalität über die Zeitdauer - auch unter Einwirkung der am Standort einwirkenden Witterungsverhältnisse - nicht verlieren und die Sporenkonzentration im gesamten Versuchszeitraum extrem hoch war.

Für eine erfolgreiche Infektion sind Verletzungen des Möhregewebes maßgeblich: Verletzte und unverletzte Möhrenwurzeln wurden in eine hoch konzentrierte wässrige Suspensionen von *Chalara*-Phialosporen und -Chlamydosporen getaucht. Als Kontrolle wurden verletzte und unverletzte Möhren in Wasser ohne Sporen getaucht (Tab. 5). Dieser Versuch wurde dreimal mit dem gleichen Ergebnis wiederholt.

Tabelle 5: *Chalara*-Befall an Möhren nach Inokulation in Sporensuspension bzw. in Leitungswasser, mit und ohne Verletzung; LTZ Augustenberg.

Möhre	Inokulum	<i>Chalara</i> -Befall
verletzt	Sporen	+
verletzt	Leitungswasser	-
unverletzt	Sporen	-
unverletzt	Leitungswasser	-

Während alle verletzten Möhren, die in die Sporensuspension getaucht worden waren, nach kurzer Zeit deutliche Krankheitssymptome und einen deutlich sporulierenden Pilzrasen an der Verletzungsstelle aufwiesen, blieben die übrigen Varianten symptom- und befallsfrei (Abb. 18). Somit scheinen die Sporen ausschließlich über Verletzungen in die Möhrenwurzel einzudringen. Einen latenten Befall gibt es offensichtlich nicht.

Bestätigt wird dieser Befund durch die Tatsache, dass an Möhren grundsätzlich unmittelbar nach der Ernte (noch) keine Schadsymptome zu erkennen sind. Die Symptome treten erst nach einer temperaturabhängigen Inkubationszeit in Erscheinung.



Abbildung 18: *Chalara*-Befall an Möhren nach Inokulation in Sporensuspension bzw. in Leitungswasser, mit und ohne Verletzung; LTZ Augustenberg.

Außerdem wurde am LTZ in zwei Versuchen die verletzungssarme Handerte mit der verletzungsträchtigen maschinellen Ernte und Aufarbeitung verglichen. Während nach der Handerte der Befall bei 0 % bzw. 1 % lag, betragen die Befallswerte nach der Maschinenernte 100 % bzw. 91 % (Tab. 6).

Tabelle 6: Anteil *Chalara*-Befall an Möhren [%] von 2 Flächen nach Handerte bzw. maschineller Rodung (n=100); LTZ Augustenberg.

Fläche	<i>Chalara</i> -Befall [%] nach Handerte	<i>Chalara</i> -Befall [%] nach maschineller Ernte
A	0	100
B	1	91
C	0	0

Diese Beobachtung konnte durch Versuche am DLR bestätigt werden. Während der *Chalara*-Befall an Möhren bei reiner Handerte nur in einem Fall beobachtet werden konnte, fiel der Befall bei maschineller Ernte drastisch höher aus (bis zu 100 %; Abb. 19).

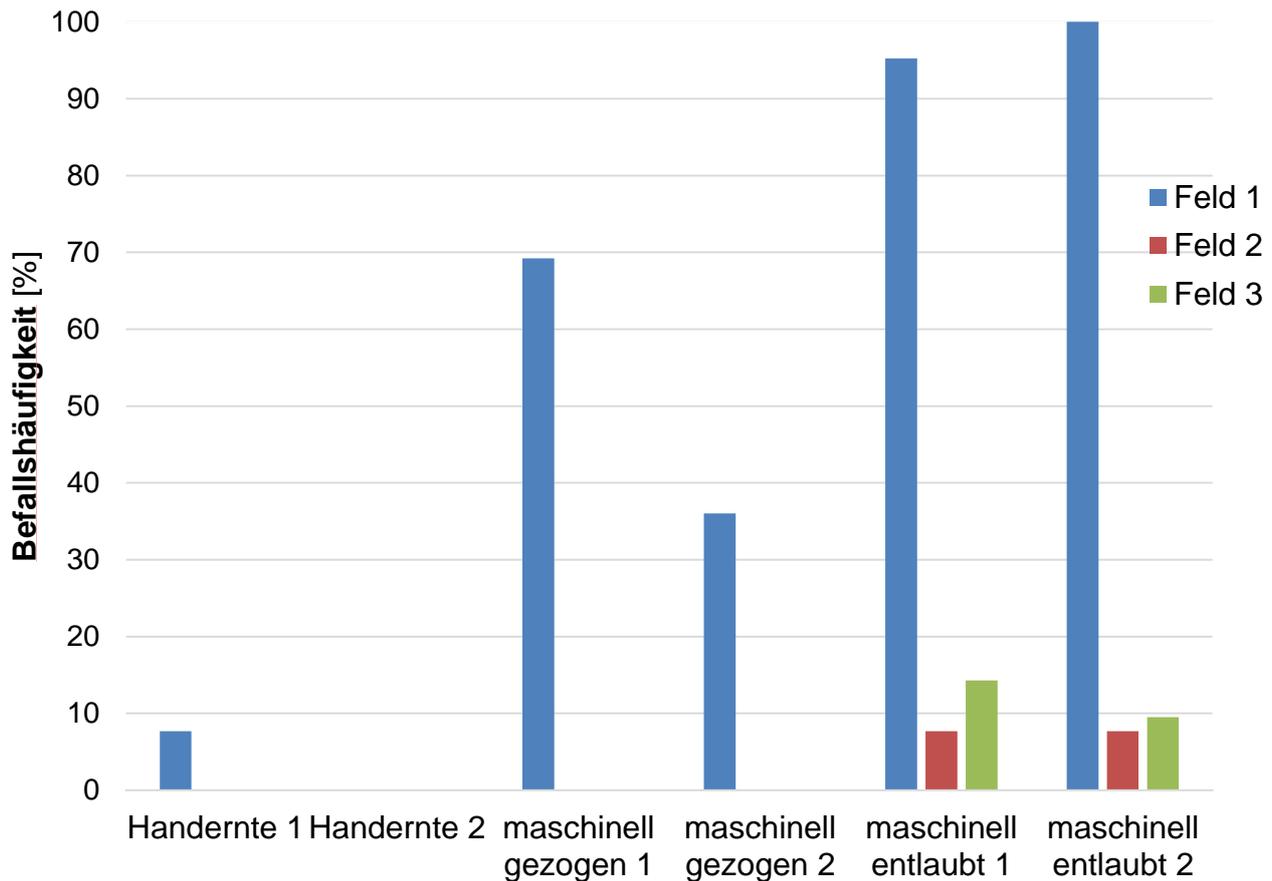


Abbildung 19: Vergleich des *Chalara*-Befalls zwischen Handernt und maschinell geernteter und folgend entlaubter Möhren (n=50); DLR Rheinpfalz.

4.5 Phytopathologische und molekularbiologische Charakterisierung der *Chalara*-Erreger

Die Pathogenität an Möhren wurde für verschiedene *Chalara*-Isolate ermittelt. Für *C. elegans*-Isolate erfolgte ein Pathogenitätstest auch an anderen Wirtspflanzen. So waren Isolate von Radies und Callibrachoa an Möhren pathogen (Tab. 7). Außerdem wurde die Nukleinsäuresequenz von einigen *Chalara*-Isolaten von Möhre bestimmt. *C. elegans* und *C. thielavioides* konnten auf diese Weise eindeutig voneinander unterschieden werden (Abb. 20).

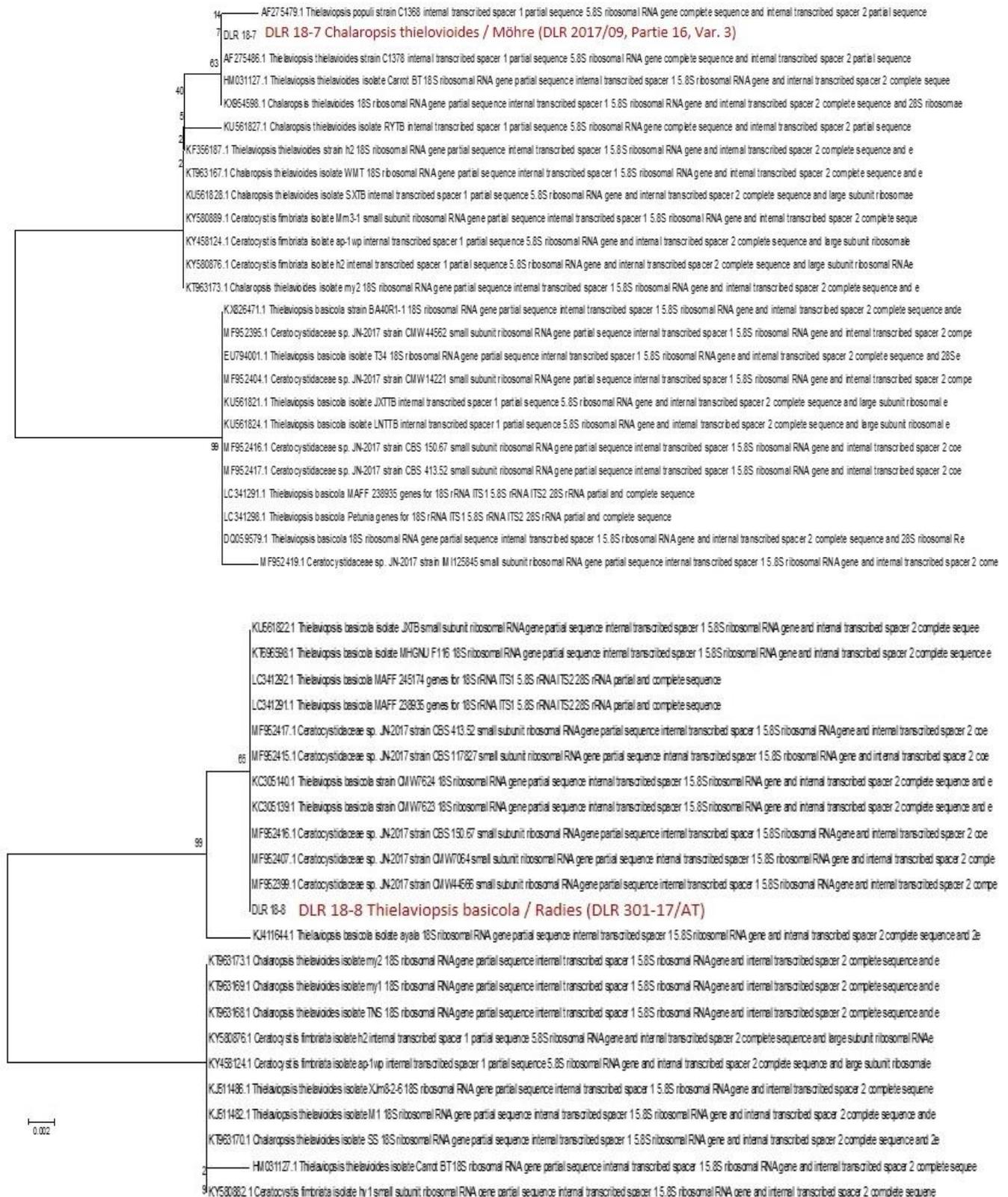
Untersuchungen zum Wirtspflanzenkreis

Die Untersuchungen der beiden *Chalara*-Arten an Wirtspflanzen im Bereich des Zierpflanzenbaus bestätigte das in der Literatur beschriebene weite Wirtspflanzenspektrum der Schadpilze. Hierfür wurden hauptsächlich Isolate, welche an Calibrachoa pathogen sind, auf Möhren getestet und Calibrachoa-Pflanzen mit *Chalara* von Möhren inokuliert. Bei beiden Untersuchungen kam es zu den entsprechenden Schadsymptomen und zur Sporulation der Schadpilze.

Ergebnisse zur PathogenitätTabelle 7: Pathogenität verschiedener *Chalara*-Isolate an Möhrenscheiben; DLR Rheinpfalz.

Bezeichnung Isolat	Isolation	Infektion	Bonitur	Anzahl inokulierter Möhrenscheiben	Anzahl befallener Möhrenscheiben
<i>Chalara elegans</i> Möhre I	31.08.2017	02.03.2018	12.03.2018	25	25
<i>Chalara elegans</i> Möhre II	31.08.2017	02.03.2018	12.03.2018	25	25
<i>Chalara thielavioides</i> Möhre I	07.09.2017	02.03.2018	12.03.2018	25	25
<i>Chalara thielavioides</i> Möhre II	07.09.2017	02.03.2018	12.03.2018	25	25
<i>Chalara elegans</i> Radies II	25.09.2017	02.03.2018	12.03.2018	25	25
<i>Chalara elegans</i> Calibrachoa I	05.09.2017	02.03.2018	12.03.2018	25	25

Ergebnisse zu molekularbiologischen Eigenschaften



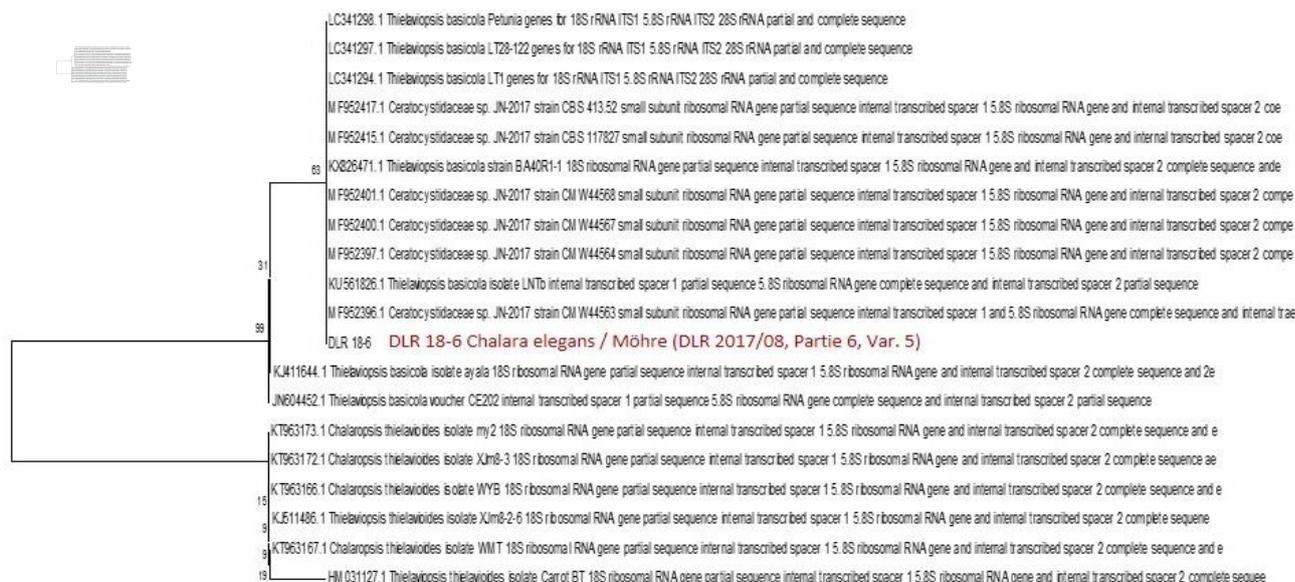


Abbildung 20: Phylogenetischer Baum verschiedener *Chalara*-Isolate von Möhre (auf Basis der ITS-Region); DLR Rheinpfalz.

4.6 Entwicklung von Verfahren zur Verhinderung bzw. Reduzierung der Ausbreitung der *Chalara*-Erreger während der Aufbereitung

Schonende Aufarbeitung

Die *Chalara*-Belastung der Möhren ist bereits vor dem Waschen mit im Mittel über 50 % ausgesprochen hoch. Das liegt zum einen an dem maschinellen Ernteverfahren (Tab. 6, Abb. 19) und zum anderen am Transport und Umladen des Ernteguts (Tab. 8, 9, 10). Zwar ist es durchaus möglich, bei optimaler Einstellung des Roder und vorsichtigem Überladen auf dem Anhänger die *Chalara*-Belastung gering zu halten. Einen Schwachpunkt stellt jedoch das Abladen dar: Die Möhren werden von dem Anhänger abgekippt und der an ihnen anhaftende Boden abgesiebt. Dabei reiben die Möhren aneinander, an Anhänger-Bordwand und Anhänger-Boden sowie an dem rotierenden Grobsieb (Abb. 21). Die Folge sind kleinere und größere Verletzungen, über die die Schaderreger in die Wurzel eindringen können. Es ist davon auszugehen, dass über den Transport-, Wasch- und Poliervorgang *Chalara*-Sporen in größerem Maße umverteilt werden und nach dem Polieren auf den verwundeten Möhren liegen.

Tabelle 8: *Chalara*-Befall der Möhren nach der Ernte von Hand, vom Roder und nach Überladen auf Anhänger; LTZ Augustenberg.

Probennahme	Anzahl Möhren [n]	<i>Chalara</i> -Befall [%]
Roder	94	0
Anhänger	67	1

Tabelle 9: *Chalara*-Befall der Möhren vom Roder und nach Überladen auf Hänger; DLR Rheinpfalz.

Wiederholung	Probennahme	Anzahl Möhren [n]	<i>Chalara</i> -Befall [%]
1	Handernte	26	7,7
	Roder	51	52,6
	Bunker	42	97,6
2	Handernte	52	0,0
	Roder	52	0,0
	Bunker	52	7,7
3	Handernte	42	0,0
	Roder	42	0,0
	Bunker	42	11,9

Tabelle 10: *Chalara*-Befall der Möhren vor und nach dem Entladen; LTZ Augustenberg.

Partie	Probennahme	Anzahl Möhren insgesamt [n]	Anzahl Möhren mit <i>Chalara</i> [n]	<i>Chalara</i> -Befall [%]
1	vor Entladen	72	5	7
	nach Entladen	73	35	48
2	vor Entladen	50	0	0
	nach Entladen	44	12	27



Abbildung 21: Abladen von Möhren über ein Grobsieb; LTZ Augustenberg.

Überprüfung der Oberflächenkontamination

Untersuchungen der Transportbänder zwischen der Waschanlage und dem Polierer ergaben, dass sie mit *Chalara*-Sporen kontaminiert sind. Diese Untersuchungen müssen allerdings noch optimiert und standardisiert werden, um zu validen Ergebnissen zu kommen. So haben Abklatsch-Versuche an den Transportbändern und Verarbeitungsmaschinen mit verschiedenen Nährmedien eine *Chalara*-Kontamination ergeben. Weil die Nährmedien nicht hinreichend selektiv für *Chalara* waren und sie demzufolge von anderen Mikroorganismen (vor allem schnell wachsenden Bakterien) überwuchert wurden, war eine Quantifizierung der *Chalara*-Belastung der untersuchten Flächen nicht möglich.

Als Alternative zu künstlichen Nährmedien wurde in Folge mit Möhrenscheiben gearbeitet. Dafür wurden Felder von 10 x 10 cm auf einem Transportband, wie es in der Möhrenaufarbeitung eingesetzt wird, mit definierten Sporenmengen kontaminiert (Abb. 1 a). Nach dem Auftragen auf dem Förderband trocknete die Sporensuspension an. Anschließend wurden die Felder flächendeckend mit einer Möhrenscheibe abgerieben (Abb. 1 b).

Schrittweise wurde die Konzentration von 50.000 CFU/mL auf 1.000 CFU/mL herabgesetzt. Ein erster Nachweis von *C. elegans* war bei einer Konzentration von 10 CFU/cm² möglich. Ab 100 CFU/cm² ließen sich sowohl *C. elegans* als auch *C. thielavioides* sicher nachweisen (Tab. 11). In der Versuchsreihe wurden jedoch nicht nur Sporen aufgetragen, sondern auch sonstige Verunreinigungen, deren Einfluss auf das *Chalara*-Wachstum ermittelt werden sollte. Es zeigte sich hierbei, dass die in einer Erdsuspension enthaltenen Mikroorganismen keinen Einfluss auf den *Chalara*-Nachweis mittels Möhrenscheiben hatten.

Mit Hilfe dieses Möhrenscheiben-Abklatschtests könnte man künftig den Effekt des bestehenden betriebsüblichen Reinigungs- und Desinfektionsplans überprüfen und gegebenenfalls optimieren.

Tabelle 11: Anteil *Chalara*-befallene Möhrenscheiben (n=13) bei Abreiben mit definierten Sporenmengen kontaminierter Flächen; LTZ Augustenberg.

Sporenkonzentration [CFU/cm ²]	befallene Möhrenscheiben [%]	
	<i>C. elegans</i>	<i>C. thielavioides</i>
0	0	0
10	0	25
30	50	50
50	85	92
100	100	100
200	100	100
300	100	100
500	100	100

Einsatz von Desinfektionsmitteln zur Oberflächendesinfektion

Dass geeignete Desinfektionsmittel prinzipiell vorhanden sind, wurde in Laborversuchen ermittelt (Tab. 12). Dafür wurden definierte *Chalara*-Sporenmengen auf Plastikfolie aufgebracht. Nach dem Antrocknen wurden die Folienstücke mit verschiedenen Desinfektionsmaßnahmen behandelt. Anschließend erfolgte ein Abklatsch der Folienstücke auf SNA-Medium. Die Keimung von *Chalara*-Sporen wurde über einen Zeitraum von 10 Tagen ermittelt. Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl 70 % Ethanol als auch 4 % Milchsäure sowie ein Handdesinfektionsmittel die Keimung der *Chalara*-Sporen unterbindet (Tab. 12).

Tabelle 12: Wirkung von Desinfektionsmaßnahmen auf die Keimung von *Chalara*-Sporen; LTZ Augustenberg.

Inokulation	Desinfektionsmaßnahme	Keimung von <i>Chalara</i> -Sporen
keine	keine	-
<i>Chalara</i>	keine	++
<i>Chalara</i>	Abwischen	+
<i>Chalara</i>	70 % Ethanol	-
<i>Chalara</i>	4 % Milchsäure	-
<i>Chalara</i>	Handdesinfektionsmittel	-

Möglichkeiten der Befallsreduktion

Kühlung

Da die *Chalara*-Infektion nicht auf dem Feld, sondern erst bei der Ernte, dem Transport und der Aufarbeitung erfolgt und die Krankheit erst nach einer gewissen temperaturabhängigen Zeitdauer nach dem Verpacken zum Ausbruch kommt, ergeben sich prinzipiell zwei Optionen:

1. Durch Kühlung den Zeitraum der Inkubationszeit soweit verlängern, dass es nicht zum Auftreten von Symptomen vor der Verwertung der Möhren durch den Verbraucher kommt. Das setzt allerdings eine mehr oder weniger geschlossene Kühlkette von der Ernte bis zum Verbraucher voraus.
2. Die *Chalara*-Sporen gelangen erst nach der Ernte bei Transport und Aufarbeitung und den damit einhergehenden Verletzungen an die Möhre. Zur eigentlichen Infektion, das heißt dem Eindringen des Pilzes in die Möhre, kommt es mutmaßlich erst nach dem Verpacken. Somit könnten die Sporen nach dem Polieren und vor dem Verpacken durch entsprechende Maßnahmen entfernt oder inaktiviert werden. Im Labormaßstab wurden diesbezüglich verschiedene Verfahren untersucht.

Die Zeitdauer von der Infektion bis zum Auftreten von Symptomen in Abhängigkeit von der Temperatur ist in Abbildung 22 dargestellt. So kommt es bei Temperaturen zwischen 20 und 30 °C innerhalb weniger Tage zum Auftreten von Symptomen, während die Inkubationszeit bei Temperaturen von 5 °C für beide Schaderreger mehr als 20 Tage beträgt. Somit ist bei ausreichender Kühlung ein Auftreten des Schadbildes über einen langen Zeitraum zu unterbinden.

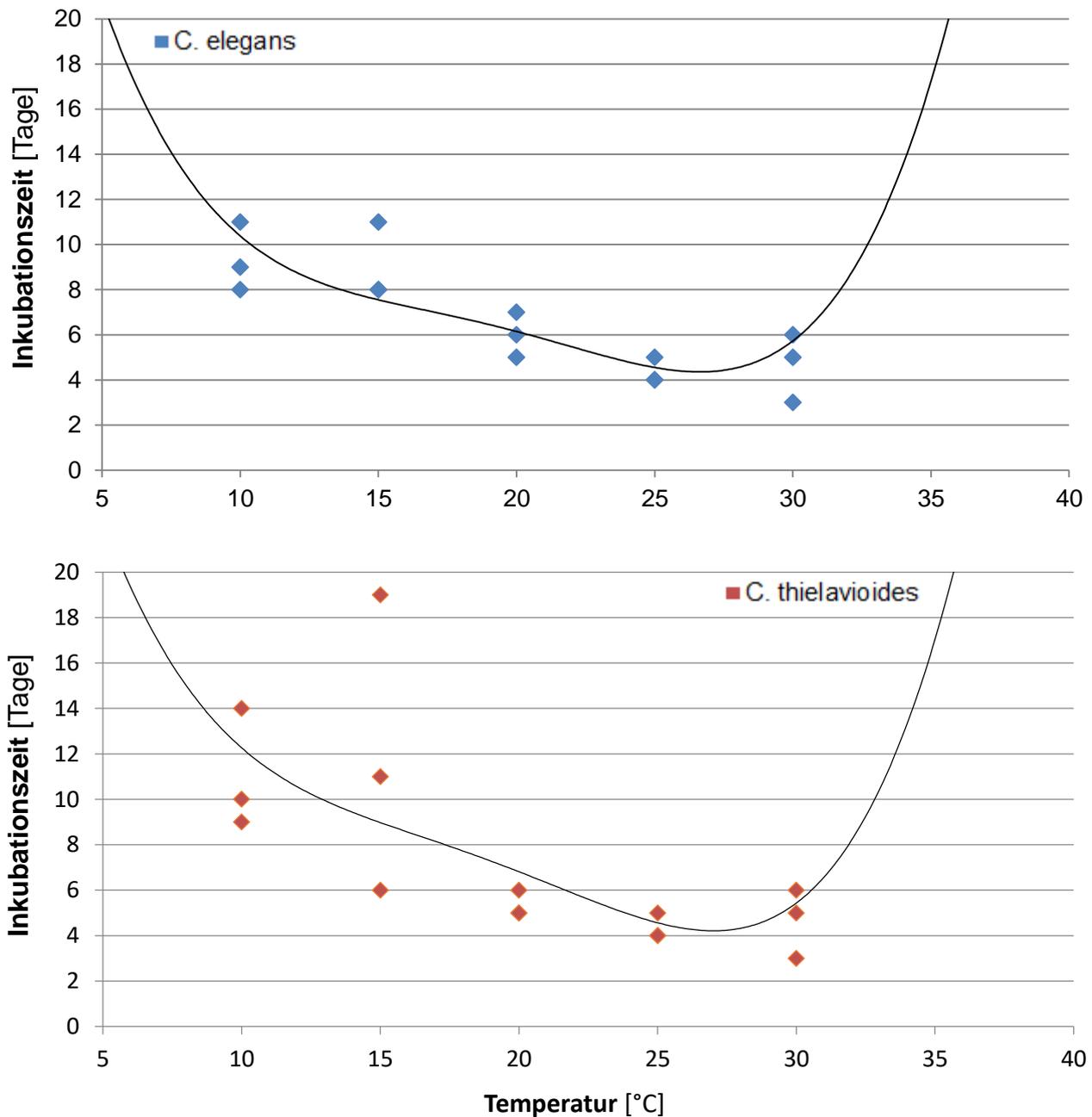


Abbildung 22: Zeitdauer von der Infektion bis zum Auftreten von Symptomen (Inkubationszeit) in Abhängigkeit von der Temperatur für *C. elegans* und *C. thielavioides*; LTZ Augustenberg.

Entfernen anhaftender Sporen

Zum Entfernen anhaftender Sporen von der Möhrenoberfläche wurde Druckluft und Frischwasserreinigung bei unterschiedlichem Wasserdruck (5 bar bzw. 2 bar) geprüft.

Druckluft

Bei der Druckluft-Behandlung wurde mit Möhrenscheiben gearbeitet, die zuvor mit je ca. 200 Sporen inokuliert wurden. Diese wurden mit Druckluft (Kompressor mit 10 bar) aus einem Abstand von ca. 5 cm für 10 Sekunden abgeblasen. Die Bonitur erfolgte nach einer Inkubation von sieben Tagen bei 20 °C. Vereinzelt wurde der Befall durch diese Behandlung reduziert, bei anderen Versuchsdurchläufen war jedoch auf allen behandelnden Möhrenscheiben der Schaderreger nachzuweisen (Abb. 23). Demnach war mit dieser Maßnahme keine zuverlässige Befallsreduktion zu gewährleisten. Zudem wiesen die Möhrenscheiben deutliche Trockenschäden auf.

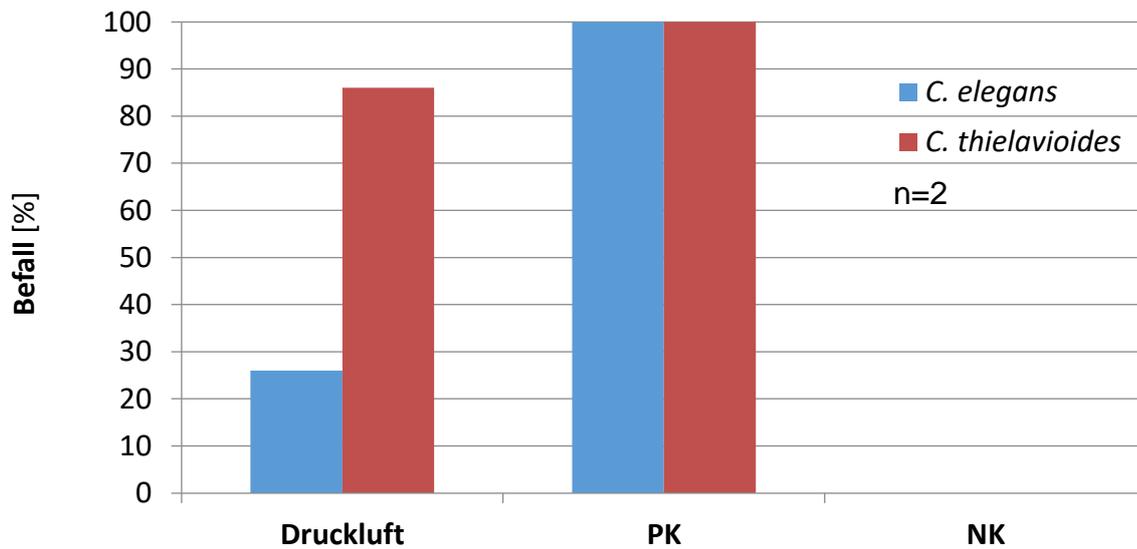


Abbildung 23: Effekt der Druckluft-Behandlung auf den *Chalara*-Befall von Möhren; LTZ Augustenberg.

Hochdruckreinigung mit Frischwasser (5 bar)

Durch eine Hochdruckreinigung mit Frischwasser (Wasserdruck 5 bar) nach dem Polieren und vor dem Verpacken sollten die Schaderreger abgespült werden (Abb. 2). Erste Versuche unter Verwendung eines handelsüblichen Hochdruckreinigers zeigten, dass der *Chalara*-Befall der Möhren mit dieser Methode nicht reduziert werden kann (Tab. 13), was sicherlich auf den hohen Druck des Hochdruckreinigers und die damit einhergehenden Mikroverletzungen des Gewebes zurückzuführen ist.

Tabelle 13: Effekt der Hochdruckreinigung nach dem Polieren auf den *Chalara*-Befall von Möhren; LTZ Augustenberg.

Partie	Behandlung	Anzahl Möhren insgesamt [n]	Anzahl Möhren mit <i>Chalara</i> -Befall [n]	Befall [%]
1	unbehandelt (1. Partie)	50	3	6
	Hochdruckreinigung	50	0	0
2	unbehandelt (2. Partie)	51	41	80
	Hochdruckreinigung	107	32	30
3	unbehandelt (1. Partie)	96	0	0
	Hochdruck	59	0	0
4	unbehandelt (1. Partie)	58	58	100 (6,9 leicht; 93,1 stark)
	Hochdruck	81	81	100 (13,6 leicht; 86,4 stark)
5	unbehandelt (2. Partie)	54	51	94,4 (18,5 leicht; 75,9 stark)
	Hochdruck	35	34	97,1 (31,4 leicht; 65,7 stark)
6	unbehandelt (3. Partie)	50	50	100 (2 leicht; 98 stark)
	Hochdruck	42	42	100 (2,3 leicht; 97,6 stark)
7	unbehandelt (4. Partie)	61	61	100 (9,8 leicht; 90,2 stark)
	Hochdruck	43	43	100 (5 leicht; 95 stark)
8	unbehandelt (5. Partie)	91	91	100 (27,4 leicht; 73,6 stark)
	Hochdruck	48	48	100 (12,5 leicht; 87,5 stark)
9	unbehandelt (1. Partie)	52	52	100 (stark)
	Hochdruck	56	56	100 (stark)
10	unbehandelt (2. Partie)	51	51	100 (stark)
	Hochdruck	52	52	100 (stark)
11	unbehandelt (3. Partie)	58	24	41,1 (8,6 leicht; 32,8 stark)
	Hochdruck	71	71	100 (2,8 leicht; 97,2 stark)
12	unbehandelt (4. Partie)	53	46	86,8 (leicht)
	Hochdruck	65	65	100 (10,8 leicht; 89,2 stark)
13	unbehandelt (5. Partie)	55	22	40 (30,9 leicht; 9,1 stark)
	Hochdruck	45	42	93,4 (17,8 leicht; 75,6 stark)
14	unbehandelt (1. Partie)	32	7	21,8
	Hochdruck	37	15	40,4
15	unbehandelt (2. Partie)	30	5	16,9
	Hochdruck	62	11	17,8
16	unbehandelt (3. Partie)	42	1	2,4
	Hochdruck	42	15	35,7

Frischwasserreinigung bei geringem Druck (2 bar)

Um den Effekt einer Frischwasserreinigung mit geringerem Wasserdruck (2 bar) in einem einfachen labortechnischen Maßstab zu prüfen, wurde eine Möhren-Waschanlage von der Gerätetechnik des LTZ Augustenberg gebaut (Abb. 3). In dieser wurden kurz zuvor verletzte und inokulierte Möhren abgespült. Erste Untersuchungsergebnisse zeigen, dass man die *Chalara*-Sporen kurz nach der Inokulation effektiv abspülen kann (Tab. 14, Abb. 24). Wichtig war jedoch, dass die Reinigung unmittelbar nach der Inokulation durchgeführt wurde. War die Sporensuspension erst angetrocknet, war ein effektives Entfernen der Sporen durch die Frischwasserreinigung nicht mehr möglich und es kam zu Infektionen (Abb. 24).

Tabelle 14: Effekt der Frischwasserreinigung bei geringem Druck (2 bar) auf den *Chalara*-Befall von Möhren; LTZ Augustenberg.

Ansatz	Behandlung	Anteil befallener Möhren [n]	
		mit Frischwasser	ohne Frischwasser
1	<i>Chalara elegans</i> , 1.000 CFU/mL, 3 Spülvorgänge	2 / 20	20 / 20
	<i>Chalara thielavioides</i> , 1.000 CFU/mL, 3 Spülvorgänge	2 / 20	20 / 20
2.1	<i>Chalara elegans</i> , 1.000 CFU/mL, 1 Spülvorgang	0 / 10	7 / 10
	<i>Chalara thielavioides</i> , 1.000 CFU/mL, 1 Spülvorgang	0 / 10	7 / 10
2.2	<i>Chalara elegans</i> , 1.000 CFU/mL, 1 Spülvorgang	0 / 10	7 / 10
	<i>Chalara thielavioides</i> , 1.000 CFU/mL, 1 Spülvorgang	0 / 11	7 / 10
2.3	<i>Chalara elegans</i> , 1.000 CFU/mL, 1 Spülvorgang	0 / 10	7 / 10
	<i>Chalara thielavioides</i> , 1.000 CFU/mL, 1 Spülvorgang	0 / 10	7 / 10

Abbildung 24: *Chalara*-Befall an Möhren nach abschließender Frischwasserreinigung mittels Möhren-Waschanlage bei kurzzeitiger Lagerung (oben, 2 Stunden nach Inokulation) und bei unmittelbarer Reinigung nach Inokulation (mitte) im Vergleich zur Positivkontrolle (unten); LTZ Augustenberg.

Inaktivierung anhaftender Sporen

Für die Inaktivierung der Sporen wurde der Einfluss elektrischer Felder, UV- und Mikrowellenstrahlung sowie eine Heißwasserdampf-Behandlung untersucht. Außerdem wurde mit einer Heißwasser-Behandlung eine Kombination aus Entfernen und Inaktivieren ausprobiert.

Elektrische Felder

Um den Einfluss elektrischer Felder auf die *Chalara*-Infektion zu untersuchen, wurden inokulierte Möhren in einer 5 % Natriumchlorid-Lösung verschiedenen Spannungen (2 bis 300 V) und Stromstärken (0,3 bis 169 mA) ausgesetzt (Abb. 4). Mit den geprüften Parametern war maximal eine Befallsreduktion von 50 % zu erreichen (Abb. 25).

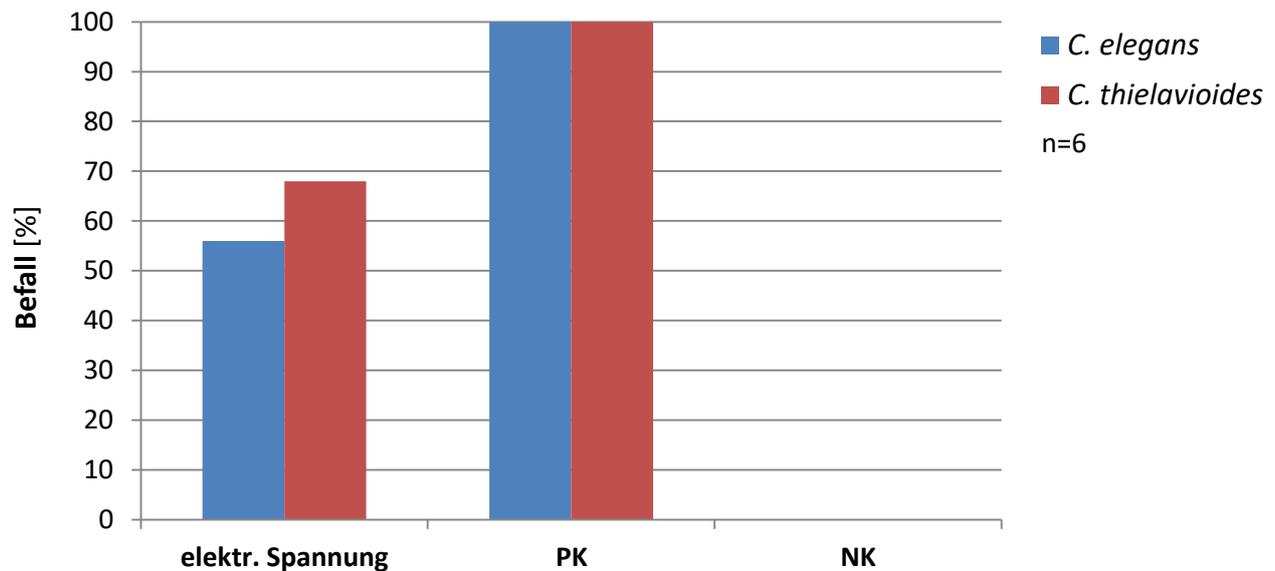


Abbildung 25: Wirkung von elektrischen Feldern auf den *Chalara*-Befall bei Möhren; LTZ Augustenberg.

UV-Strahlung

Eine starke befallsreduzierende Wirkung war nach 3 Minuten zu verzeichnen (Abb. 26). Das Gewebe der behandelten Möhren wurde dabei nicht geschädigt.

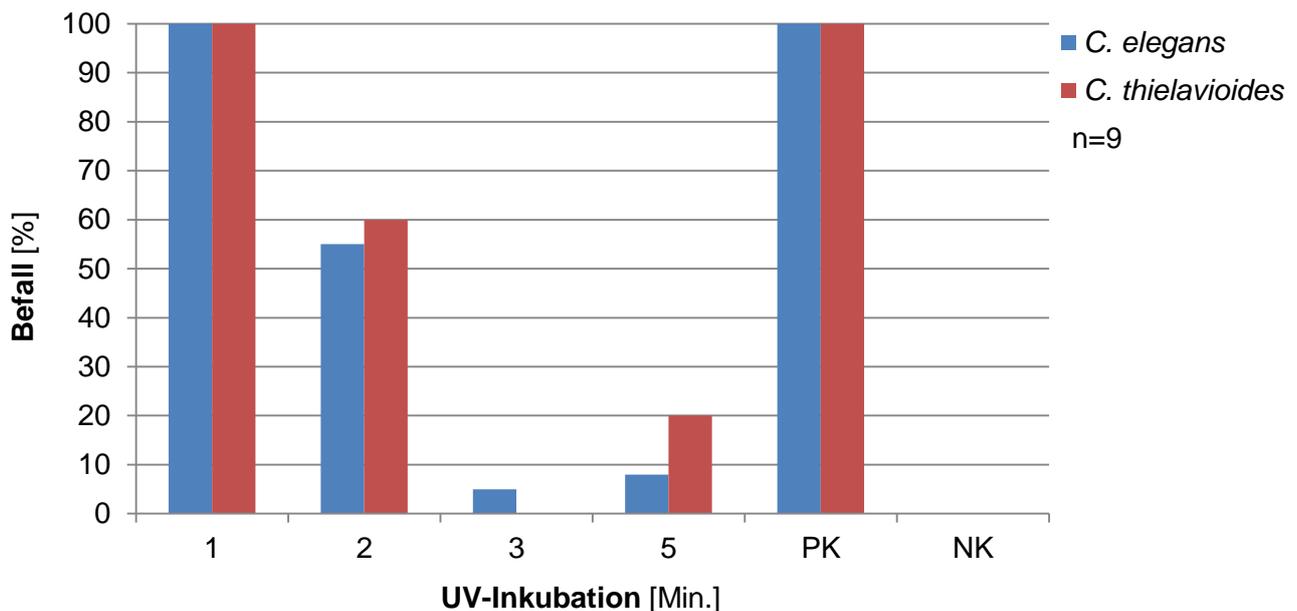


Abbildung 26: Einfluss der UV-Strahlung auf den *Chalara*-Befall von Möhren bei unterschiedlicher Inkubationsdauer; LTZ Augustenberg.

Mikrowellen

Die Wirkung elektromagnetischer Wellen wurde in einer haushaltsüblichen Mikrowelle überprüft. Dafür wurden Möhrenscheiben mit je 200 CFU/Scheibe inokuliert. Die Möhrenscheiben wurden mit der inokulierten Seite nach oben für unterschiedliche Zeiten unterschiedlichen Mikrowellenleistungen ausgesetzt (Tab. 15). Bereits 30 Sekunden bei 800 Watt waren ausreichend, um den Erreger abzutöten. Allerdings entstand dabei bereits so viel Wärme, dass das Gewebe der Möhren geschädigt wurde. Die Möhrenscheiben erreichten je nach Parameter Temperaturen an der Oberfläche von 80 bis 95 °C. Sie waren dadurch so stark geschädigt, dass sie nicht mehr verkaufsfähig waren. Schonender für das Gewebe der Möhren ist eine geringere Wattzahl bzw. kürzere Verweildauer in der Strahlung. Dementsprechend

verlängert sich der Zeitraum der Behandlung, um die reduzierende Wirkung zu erhalten. Bei schonender Mikrowellen-Behandlung wiesen die Möhren nur leichte Schädigungen des Gewebes auf.

Tabelle 15: Reduktion des *Chalara*-Befalls (*C. elegans*, *C. thielavioides*) bei Möhren nach Behandlung mit elektromagnetischen Wellen; LTZ Augustenberg.

	300 Watt	450 Watt	650 Watt		800 Watt	
			Reduktion [%]	Schädigung	Reduktion [%]	Schädigung
2 min		100	100	+++	100	+++
		100	100		100	
1 min	10	60	100	+++	100	+++
	50	90	95		100	
45 sec			100	++		+++
			100			
30 sec			60	+	100	+++
			40		100	
20 sec				+		++
10 sec				-	0	-
					0	
5 sec				-	60	-
					80	

Legende: keine Schäden (-), Schäden (+ gering, ++ mittel, +++ stark)

Heißwasserdampf

Bereits bei einer Einwirkdauer des Heißwasserdampfs von 20 Sekunden war eine deutliche Reduktion des Befalls zu verzeichnen (Abb. 27). Je länger die Einwirkdauer war, umso größer war die Befallsreduktion. Allerdings wurde das Möhrengewebe durch den Dampf sichtbar geschädigt (Abb. 28).

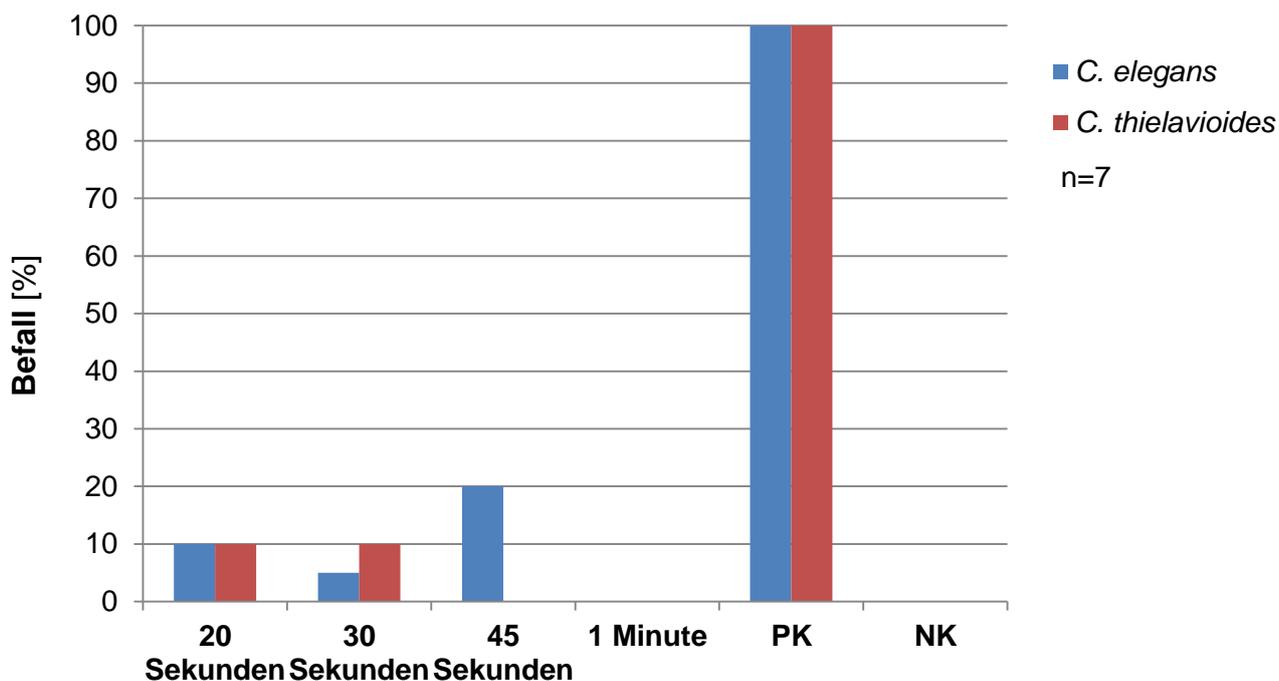


Abbildung 27: *Chalara*-Befall von Möhren bei unterschiedlicher Einwirkdauer von Heißwasserdampf; LTZ Augustenberg.



Abbildung 28: Sichtbare Beschädigungen durch Einwirkung von Heißwasserdampf auf die Möhre (heller Kreis in der Wurzelmitte; links und rechts vom Kreis ist der *Chalara*-Befall als Streifen zu erkennen); LTZ Augustenberg.

Wasserbad

Bei Inkubation von *Chalara*-Sporen im Wasserbad bei unterschiedlichen Temperaturen erwies sich *C. elegans* als temperatursensitiver im Vergleich zu *C. thielavioides* (Tab. 16). Bei einer Einwirkdauer von 30 Sekunden ließen sich bei 50 °C jedoch beide Schaderreger zuverlässig abtöten. Inwieweit diese Parameter für eine Behandlung der Möhren vor dem Verpacken ausreichen, sollte in Labor- und Praxisversuchen noch geklärt werden.

Tabelle 16: Keimung und Myzelwachstum von *Chalara*-Sporen nach Inkubation im Wasserbad mit verschiedenen Temperaturen und über verschiedene Zeiten (+ = Keimung und Myzelwachstum; - = keine Keimung und kein Myzelwachstum); LTZ Augustenberg.

	Dauer [sec.]	<i>C. elegans</i>		<i>C. thielavioides</i>	
		30	60	30	60
Temperatur [°C]	40 °C	+	-	+	+
	50 °C	-	-	-	-
	60 °C	-	-	-	-

Lageratmosphäre

Die eingestellten Zusammensetzungen der Lageratmosphäre zeigten keine Reduzierung bzw. Hemmung des Pilzwachstums, wobei die Variante mit 20 % CO₂ und 2 % O₂ tendenziell eine verzögerte Pilzentwicklung sieben Tage nach Einlagerung aufwies (Tab. 17). Eine Beeinträchtigung der Qualität (Geschmack, Geruch, Textur, Farbe) wurde in keiner der getesteten Varianten festgestellt. Die Prüfung weiterer Varianten mit noch höheren CO₂- und geringeren O₂-Konzentrationen in der Lageratmosphäre ist leider an organisatorischen Problemen gescheitert.

Tabelle 17: Einfluss der Lageratmosphäre von Möhren auf den *Chalara*-Befall (alle Varianten in stickstoffangereicherter Atmosphäre bei 20 °C und ca. 100 % relativer Feuchte); LTZ Augustenberg.

Lageratmosphäre	<i>Chalara</i> -Befall [%]
1 % CO ₂ und 1 % O ₂	100
1 % CO ₂ und 3 % O ₂	100
5 % CO ₂ und 2 % O ₂	100
15 % CO ₂ und 2 % O ₂	100
15 % CO ₂ und 6 % O ₂	100
20 % CO ₂ und 2 % O ₂	100
Kontrolle	100

4.7 Etablierung erfolgversprechender Aufbereitungsverfahren in den Betrieben

Im Rahmen des Projektzeitraumes war eine erfolgreiche Etablierung erfolgversprechender Maßnahmen in den Betrieben nicht möglich. Unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse werden als erfolgversprechende Maßnahmen angesehen:

- * Etablierung eines Abklatsch-Testes zur Kontrolle und Optimierung der Oberflächendesinfektion der Anlage
- * Etablierung einer Reinigung mit Frischwasser bei niedrigem Wasserdruck unmittelbar vor dem Verpacken
- * Optimierung der Arbeitsschritte Ernte, Transport und Abladen sowie Aufarbeitung hinsichtlich der Vermeidung von Verletzungen

5. Diskussion der Ergebnisse

Die Verluste durch die *Chalara*-Fäule an gewaschen verpackten Möhren haben in den letzten Jahren in allen wichtigen Anbaugebieten weltweit und vor allem in Mitteleuropa stetig zugenommen (HELLER, 2014; KÄGI et al., 2008; LASSACHER und BEDLAN, 2003; MILOSAVLJEVIC et al., 2015; SCHAFFRATH, 1980; WEBER und TRIBE, 2004; WU und HUANG, 2015). Hervorgerufen wird die Fäule von *Berkeleyomyces basicola* (Berk. und Broome) (NEL et al., 2018), der gemeinhin als *Chalara elegans* bezeichnet wird, und *Ceratocystis paradoxa* (Dade) (MOREAU, 1952), bekannt als *Chalara thielavioides*.

Die beiden *Chalara*-Arten ließen sich auch in molekulargenetischen Untersuchungen sauber voneinander abgrenzen (Abb. 20). Der Wirtspflanzenkreis von *C. elegans* ist mit 22 Pflanzenarten relativ groß, der von *C. thielavioides* mit acht Arten dagegen etwas kleiner (FARR und ROSSMAN, 2020). Sie sind jedoch wenig spezialisiert: So waren Isolate von *Calibrachoa* an Möhre pathogen und vice versa Möhren-Isolate konnten *Calibrachoa* infizieren (Kapitel 4.5).

Da es sich bei den beiden Pilzen um bodenbürtige Schaderreger handelt, lag es nahe, sich die Verbreitung auf den Produktionsflächen näher anzusehen.

Zur Ermittlung der Bodenbelastung mit *Chalara* wurde die Methode von HELLER (2012) gewählt, da damit bereits die Vorarbeiten zu diesem Forschungsvorhaben durchgeführt wurden (KRAUTHAUSEN und HÖRNER, 2017). Alternativverfahren erschienen hingegen als weniger geeignet (CHITTARAJAN und PUNJA, 1993; YARWOOD, 1981).

Auf der Fläche war die Belastung zur Saat bzw. Ernte relativ gering. An der Anhangserde stieg sie jedoch mindestens um den Faktor fünf an (Abb. 8, 9). Dieser Anstieg lässt sich damit erklären, dass die Anhangserde nicht auf der Fläche sondern erst bei der Aufarbeitung entnommen wurde. Der Zeitraum von der Ernte bis zum Abladen, in dem oftmals Temperaturen von mehr als 20 °C geherrscht haben, könnte die Vermehrung des Erregers begünstigt haben, zumal die Erde mit von der Ernte herrührenden Wurzelbruchstücken ein ideales Substrat gebildet hat. Von einer hohen Belastung der Anhangserde berichten auch PUNJA und GAYE (1993).

Die recht geringe Belastung auf der Produktionsfläche ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass eine Mischprobe über die gesamte Fläche genommen wurde (siehe 3.1 Entnahme von Bodenproben), die Schaderreger aber nesterweise auf der Fläche auftreten (PUNJA und CHITTARANJAN, 1994). Um dem zu begegnen, wurden kurz vor der Ernte engmaschig Proben aus der Saatreihe genommen und jeweils separat untersucht. Dabei war *Chalara* nur in 4 von 50 Proben (Abb. 10) bzw. in keiner von 22 Proben nachweisbar. Das spricht für das Vorhandensein von wenigen kleinen Befallsnestern, in denen die Belastung mit maximal 12 CFU/g Boden ebenfalls nur sehr gering war (Abb. 10).

Dass die Belastung des Bodens mit *Chalara*-Sporen von der Aussaat bis zur Ernte nicht ansteigt, haben auch CHITTARANJAN und PUNJA (1994) gezeigt, während HELLER (2014) eine starke Zunahme beobachtet hat.

Allgemein sind die meisten Flächen, die für die pflanzliche Produktion genutzt werden, mit *Chalara* zumindest geringfügig belastet (CRESPO et al., 2007; KÄGI et al., 2008). Ein Schwellenwert, bis zu dem eine befallsfreie Produktion von Möhren auf der Fläche möglich wäre, war jedoch nicht zu ermitteln (siehe 4.2). Zwar hat HELLER (2014) versucht, derartige Schwellenwerte zu ermitteln, diese schwankten jedoch je nach Fläche zwischen 0 und 70 CFU/g Boden. Darüber hinaus war es in unseren Versuchen und Erhebungen möglich, von stark belasteten Flächen unbeeinträchtigte Wurzeln zu ernten und umgekehrt trat an Möhren die *Chalara*-Fäule auf, die von nicht messbar belasteten Flächen geerntet worden sind (Abb. 11). CRESPO et al. (2007) und KÄGI et al. (2008) führen aus, dass auch eine hohe *Chalara*-Belastung des Bodens nicht zwingend zu Qualitätseinbußen am Erntegut führt. Demnach kommt es offensichtlich nicht vor, sondern erst zu oder nach der Ernte zu Infektionen der Wurzel (PUNJA et al., 1992; WEBER und TRIBE, 2004).

Einen Einfluss der Vorfrucht auf den Befall von Möhren scheint es nicht zu geben. So wiesen Möhren nach Möhren eine Befallshäufigkeit von im Mittel weniger als 50 % auf, während Möhren nach Bundzwiebeln zu knapp 60 % befallen waren (Abb. 12). Dabei sollten Zwiebeln nach CHITTARANJAN und PUNJA (1993) die *Chalara*-Belastung des Bodens reduzieren.

Die Anfälligkeit der Möhrensornten für *Chalara* unterscheidet sich zwar, es sind jedoch keine hoch widerstandsfähigen Sorten verfügbar (LASSACHER und BEDLAN, 2003). Möglicherweise ließe sich über gentechnische Veränderungen gegen *Chalara*-resistente Sorten erzeugen (IMANI et al., 2006). Über die Sortenwahl lässt sich somit ein Befall derzeit nicht verhindern. Daher wurden produktionstechnische Maßnahmen bei der Aufarbeitung näher untersucht.

In Abbildung 13 ist der Anstieg des Anteils *Chalara*-befallener Möhren vom Abladen über das Waschen und Polieren bis zum verkaufsfertig abgepackten Gebinde dargestellt. Auffallend ist die sehr hohe Ausgangsbelastung der Wurzeln von um die 50 % schon vor dem Waschen. Der Anteil des befallenen Ernteguts stieg schließlich bis auf 75 % im fertigen Verkaufsgebilde an. Damit wurden die Voruntersuchungen zu diesem Vorhaben von KRAUTHAUSEN und HÖRNER (2017) bestätigt. Ein ähnlicher Anstieg wurde von PUNJA und GAYE (1993) beobachtet, wobei hier die Ausgangsbelastung nach dem Abladen der Ware deutlich geringer war.

Diese Zunahme des Befalls im Aufarbeitungsprozess ist sehr wahrscheinlich durch die Verletzungen zu erklären, die die Wurzeln beim Transport auf den Transportbändern, dem Waschen in der Waschtrommel und insbesondere beim Polieren erfahren. Gerade beim Polieren werden bewusst Verletzungen durch das Entfernen von Seitenwurzeln und Unebenheiten auf dem Rübenkörper erzeugt, was den Befall erhöht (ESHEL et al., 2009).

Sowohl das Wasch- als auch das Polierwasser waren hochgradig mit bis zu 180 CFU/mL belastet (Abb. 14, 15). Da darüber hinaus alle Oberflächen, mit denen die Möhre in Kontakt kommt, mit *Chalara* kontaminiert waren, stand bei der Aufarbeitung immer ausreichend Inokulum zur Verfügung. Allerdings gab es bislang keine brauchbaren Verfahren, die *Chalara*-Kontamination von Oberflächen selektiv zu erfassen. In der Regel haben andere Mikroorganismen die *Chalara* auf den entsprechenden Nährmedien überwachsen, sodass eine Auswertung sehr schwierig war. Dagegen war der entwickelte Möhrenscheibentest deutlich selektiver und es ließen sich 30 CFU/cm² sicher nachweisen (Tab 11). Damit hat man ein optimiertes Testverfahren, um die *Chalara*-Kontamination von Oberflächen zu überprüfen.

Dass prinzipiell Desinfektionsmittel vorhanden sind, um die *Chalara*-Belastung von Oberflächen zu reduzieren, haben Versuche im Labor gezeigt (Tab. 12). Leider war es nicht möglich, die in den Betrieben eingesetzten Desinfektionsmittel zu prüfen.

Dass Verletzungen erforderlich sind, zeigte ganz augenfällig der Versuch, bei dem verletzte und unverletzte Möhren in Sporensuspensionen getaucht wurden (Tab. 5, Abb. 18): Nur die verletzten Möhren wiesen einen *Chalara*-Befall auf, nachdem sie in eine Sporensuspension getaucht wurden. Unverletzte Möhren waren hingegen auf diese Weise nicht zu infizieren und bei den verletzten Möhren kam es nur im Bereich der Wunden zur Infektion und nicht in den unverletzten Wurzelabschnitten. Nach HELLER (2000) waren jedoch auch unverletzte Möhren mit *Chalara* künstlich zu infizieren. Die gleiche Beobachtung machen LASSACHER und BEDLAN (2003), wobei sie feststellen, dass verletzte Möhren deutlich schneller als unverletzte Möhren besiedelt werden. Je nach Art und Weise der Inokulation und der Sporenkonzentration kam es bei WU und HUANG (2015) zu einer oder keiner Infektion unverletzter Möhren. Festzuhalten bleibt somit, dass Verletzungen der Wurzel den *Chalara*-Befall sehr deutlich begünstigen. Das ist sicherlich auch der Grund dafür, dass die Möhren vor der Ernte befallsfrei sind und dass Bundmöhren, die verletzungsfrei per Hand geerntet und schonend gewaschen werden, keine *Chalara*-Symptome aufweisen.

Außerdem spielt die Verpackung eine Rolle. So benötigt die *Chalara*-Fäule für ihre Entwicklung auf den Möhren mindestens 85 % relative Luftfeuchtigkeit. Bei Werten über 96 % steigt sie rasant an (WU und HUANG, 2015). Das ist somit ein weiterer Grund, dass die unverpackten Bundmöhren keinen Befall aufweisen. Das gleiche gilt bei einem Verpacken der Wurzeln in einem luftigen „Kartoffelnetzack“ (Tab. 3). Allerdings welken die Karotten im Netzack aufgrund der geringen Luftfeuchtigkeit recht schnell. Die Standardverpackungen für Waschmöhren (Schrumpffolie um Schale, Folienbeutel, Flow Pack) zeichnen sich allesamt durch eine hohe Luftfeuchtigkeit der verpackten Möhren aus, sodass die Befallshäufigkeit unabhängig von der Verpackung mit mehr als 70 % und teilweise über 90 % ausgesprochen hoch war (Tab. 4, Abb. 16).

Neben der Luftfeuchtigkeit hat die Umgebungstemperatur einen herausragenden Einfluss auf das Pilzwachstum und die Entwicklung von Symptomen an den Möhrenwurzeln (Abb. 22). So traten bei Temperaturen von 20 bis 30 °C bereits drei bis sieben Tage nach der Inokulation erste Symptome an Möhren auf. Bei Temperaturen von unter 5 °C und über 35 °C waren hingegen bis drei Wochen nach Inokulation noch keine Krankheitsanzeichen zu erkennen. Diese Angaben decken sich mit den in vitro Untersuchungen zum Pilzwachstum von LASSACHER und BEDLAN (2003) sowie WU und HUANG (2015), die als optimalen Temperaturbereich für das Myzelwachstum 20 bis 25 °C angeben. Somit kann man durch Kühlung das Pilzwachstum und die Symptomentwicklung auf dem Erntegut deutlich reduzieren. CRESPO et al. (2012), PUNJA und GAYE (1993) und KÄGI et al. (2008 b) empfehlen eine geschlossene Kühlkette < 8 °C von der Ernte bis zum Verzehr.

Da die Möhren solange sie im Boden stecken noch befallsfrei sind, kommt es zum infektiösen Kontakt mit den Schaderregern erst ab der Ernte und hier vor allem beim Abladen und in den Aufarbeitungsanlagen. Da die Aufarbeitung vom Entladen bis zum Verpacken unter einer Stunde liegt, ist davon auszugehen, dass es in diesem Zeitraum erst zu einer Anlagerung der Sporen an die Wurzel kommt. Die eigentliche Infektion, d. h. das Eindringen von *Chalara* in den Rübenkörper, erfolgt mutmaßlich erst nach dem Verpacken. Somit sollte es möglich sein, die anhaftenden Sporen nach dem Polieren abzuwaschen. Dafür eignet sich nach KÄGI et al. (2008 a) eine Hochdruckreinigung mit Frischwasser. In unseren Versuchen mit einer Hochdruckreinigung nach dem Polieren ließ sich gelegentlich der Befall reduzieren. Meistens blieb der Befall jedoch unbeeinflusst oder stieg nach der

Hochdruckwasser-Behandlung sogar noch an (Tab. 13). Ursache dürfte hierbei der hohe Druck des Wassers sein, der die Möhren zusätzlich verletzt und Sporen in die frischen Wunden gespült hat.

Durch eine selbst gebaute Möhren-Waschanlage, die mit Frischwasser mit einem Druck von 2 bar an der Düse arbeitete, ließen sich Sporen aus Verletzungen des Möhrenkörpers abwaschen, sodass der Befall damit um 90 bis 100 % reduziert wurde (Tab. 14). Somit scheint der geringe Druck keine Verletzungen des Rübenkörpers hervorzurufen, aber dennoch die anhaftenden Sporen effektiv abzuspielen. Das hierzu eingesetzte Frischwasser könnte aufgefangen und aufgrund der zu erwartenden geringen Sporenbelastung zu Beginn des Aufarbeitungsprozesses als Waschwasser zum Einsatz kommen.

Ein alternatives Verfahren zum Entfernen von Sporen vom Möhrenrübenkörper mittels Druckluft erwies sich hingegen zumindest gegenüber *C. thielavioides* als wenig effektiv (Abb. 23).

Neben einem Entfernen der *Chalara*-Sporen wäre auch ihre Inaktivierung denkbar, sodass sie die Möhren nicht mehr infizieren können. Dafür wurden elektrische Felder (Abb. 25), UV-Licht (Abb. 26), Mikrowellenstrahlung (Tab. 15), Heißwasserdampf (Abb. 27, 28), Warmwasserbad (Tab. 16) sowie die Zusammensetzung der Lageratmosphäre (Tab. 17) geprüft.

Durch eine Behandlung inokulierter Möhren in elektrischen Feldern wurde der Befall der Möhren reduziert, der Effekt war aber nur gering (Abb. 25). Daher und aufgrund der zu erwartenden Schwierigkeiten bei der technischen Umsetzung erscheint es nicht sinnvoll, diesen Ansatz weiter zu verfolgen.

Durch UV-Strahlung bzw. Mikrowellenstrahlung ließ sich die *Chalara*-Fäule zumindest bei längerer bzw. kürzerer Strahleneinwirkung reduzieren (Abb. 26, Tab. 15), ohne dass es zu einer Schädigung des Rübenkörpers kam. Durch eine Optimierung des Verfahrens der UV-Strahlung wäre möglicherweise eine Bekämpfung der Lagerfäule möglich. Der Vorteil wäre, dass weder das UV-Licht noch die Mikrowellen Rückstände auf dem Rübenkörper hinterlassen.

Auch Heißwasserdampf hinterlässt keine Rückstände und erlaubt eine effektive Bekämpfung der *Chalara*-Fäule (Abb. 27). Allerdings kam es zu erheblichen Gewebeschädigungen (Abb. 28), die zu einer Unverkäuflichkeit der Ware führen würden. Dampf wurde von ESHEL et al. (2009) mit demselben Ergebnis geprüft.

Wassertemperaturen ab 50 °C töten in vitro innerhalb von 30 Sekunden alle *Chalara*-Sporen ab (Tab. 16). In Analogie zur Heißwasser-Beizung von Saatgut bzw. der Bekämpfung von Lagerfäulen im Obstbau wäre dies möglicherweise ein Verfahren, der *Chalara*-Fäule an Möhren zu begegnen. Allerdings müssten noch der Einfluss der Wassertemperatur auf die Qualität des Ernteguts sowie der Bekämpfungserfolg geprüft werden.

Das Verpacken verderblicher Waren in Gebinden mit Schutzgas stellt bei hochwertigen Lebensmitteln ein gängiges Verfahren dar. Daher wurde der Effekt verschiedener Lageratmosphären mit reduziertem Sauerstoffgehalt auf das Auftreten der *Chalara*-Lagerfäule untersucht. Die geprüften Varianten konnten die Lagerfäule jedoch nicht reduzieren (Tab. 17). Aus organisatorischen Gründen war es leider nicht mehr möglich, eine sauerstofffreie Atmosphäre zu prüfen. Dieser Ansatz sollte jedoch nicht weiter verfolgt werden, da sich eine teure Verpackung unter Schutzgas wirtschaftlich mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht darstellen lässt.

Konservierungsmittel (PUNJA und GAYE, 1993), Chlordioxid bzw. Wasserstoffperoxid und Antagonisten (WU und HUANG, 2015; ESHEL et al., 2009) wurden mehr oder weniger erfolgreich zur Bekämpfung der *Chalara*-Fäule an Möhre eingesetzt. Da diese Anwendungen im Nacherntebereich in Europa unzulässig sind, wurden sie hier versuchsmäßig nicht verfolgt.

Auf Basis der Ergebnisse dieses Forschungsvorhabens und den Angaben aus der wissenschaftlichen Literatur sollte eine Strategie zur Vermeidung der *Chalara*-Fäule an Waschlöhren diese beiden Maßnahmen umfassen:

1. möglichst verletzungsarme Bedingungen bei Ernte, Transport und Aufarbeitung
2. eine möglichst geschlossene Kühlkette mit Temperaturen unter 8 °C ab der Ernte bis zum Konsum

Da beide Punkte in der Praxis schwer umzusetzen sind, könnte man den Befall durch ein Abspielen der Sporen mit Frischwasser vor dem Verpacken reduzieren.

6. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Bereitstellung von qualitativ hochwertigen, gesunden, rückstandsarmen Lebensmitteln ist ein zentrales Ziel der Politik des BMEL, zu deren Erreichen dieses Projekt beiträgt. Auch die Vermarktungsorganisationen warten dringend auf wirtschaftlich tragfähige Lösungen bei der Verbesserung der Möhrenqualität.

Die zur Reduzierung des *Chalara*-Befalls bei Möhren erforderlichen Maßnahmen sind keine Maßnahmen des Pflanzenbaus bzw. des Pflanzenschutzes, da die Infektion nicht auf dem Feld sondern erst bei der Ernte und Aufarbeitung erfolgt.

Erfolgsversprechend sind alle Maßnahmen, die die Verletzung der Wurzel reduzieren, wie beispielsweise ein schonender Ernte- und Auf- bzw. Abladevorgang und ein Abspülen der Möhren mit Frischwasser bei niedrigem Wasserdruck unmittelbar vor dem Abpacken der Ware in die Verkaufsgebäude.

Die Etablierung eines Abklatsch-Testes im Aufarbeitungsprozess könnte den Betrieben ein Werkzeug zur Überprüfung der Oberflächendesinfektion und deren Optimierung an die Hand geben. Der *Chalara*-Befall von Partien, die unmittelbar nach der Reinigung und Desinfektion der Aufarbeitungsanlage verarbeitet werden, ist gering. Mit jeder weiteren Partie steigt der *Chalara*-Befall aufgrund der Verschleppung der Schaderreger aus der vorhergehenden Partie erneut an.

Im Rahmen einer Projektverlängerung hätten diese Aspekte unter Praxisbedingungen getestet und bei Erfolgsaussicht in der Praxis etabliert werden sollen.

Im Vergleich zu den Jahren vor Projektbeginn, in denen es teils starke *Chalara*-bedingte Beeinträchtigungen gegeben hat, war die *Chalara*-Befallssituation während des dreijährigen Projektzeitraumes verhältnismäßig gering.

Die gewonnenen Erkenntnisse fließen zeitnah in die bundesweite Pflanzenschutz- und Produktions-Beratung ein.

7. Gegenüberstellung ursprünglich geplanter zu tatsächlich erreichter Ziele

Die mit dem Vorhaben angestrebten wissenschaftlichen bzw. technischen Ziele wurden im Rahmen des Projektes weitestgehend erreicht. So wurde die Verbreitung der beiden *Chalara*-Erreger auf den Produktionsflächen erfasst. Da keine Korrelation zwischen der *Chalara*-Belastung der Produktionsflächen und dem jeweiligen Befall des Ernteguts bestand, ließ sich kein Schwellenwert ableiten, bis zu dem eine nahezu befallsfreie Möhrenproduktion möglich wäre. Während der Aufarbeitung der Möhren wurden die *Chalara*-Erreger erfasst und deren Ausbreitung im Aufarbeitungsprozess durch Einschleusen befallsfreier (andersfarbiger) Möhren ermittelt. Über Versuchsreihen im Labor wurde der Infektionsverlauf der *Chalara*-Erreger nachvollzogen; weitere Untersuchungen hierzu wurden im Feld und in der Aufarbeitung durchgeführt. Gestützt wurden diese Versuchsreihen durch die phytopathologische als auch molekularbiologische Charakterisierung der *Chalara*-Erreger. Eine Vielzahl von Verfahren zur Verhinderung bzw. Reduzierung der Ausbreitung der *Chalara*-Erreger wurde im Labormaßstab sowie in ersten Tastversuchen getestet, von denen jedoch einige Ansätze aufgrund fehlender oder nicht ausreichender Effektivität verworfen werden mussten. Eine erfolgreiche Etablierung erfolgversprechender Ansätze in der Praxis war im Rahmen des Projektes nicht möglich, da diese Verfahrensansätze einer weiteren Optimierung bedürfen.

8. Zusammenfassung

Um ein besseres Verständnis über das Verhalten der *Chalara*-Fäule in der Produktion zu erhalten, wurden verschiedene Monitoringansätze für Möhrenschnitte gewählt, um potentielle Einflussfaktoren wie Sporenbelastung des Bodens oder Vorfrüchte mit dem Endbefall der Möhren korrelieren zu können.

Die Untersuchung von Bodenproben auf Produktionsflächen vor der Saat, nach der Ernte und der anhaftenden Erde vom Hänger zeigten eine Entwicklung auf, die auf eine leichte Akkumulation der Sporenbelastung über die Anbauphase hinweist. Während die Belastung vor der Saat noch relativ gering war, stieg diese bis zur Ernte an und zeigte einen immensen Zuwachs nach der Ernte. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass die Anhangserde im Anhänger der Möhrenbruchstücke ein ideales Substrat für die Entwicklung von *Chalara* darstellt, sodass es zu einer Entwicklung der Pilze nach der Ernte kommen konnte. Zwischen dem integrierten und dem biologischen Anbau gab es keine signifikanten Unterschiede, was darauf hinweist, dass die unterschiedlichen Produktionsweisen keinen Einfluss auf die Entwicklung der Pilze im Bestand hatten.

Ein Zusammenhang zwischen der Bodenart (sandiger Lehm, lehmiger Sand) und der Entwicklung von *Chalara* war nicht zu erkennen. Ebenso ergab die Analyse des *Chalara*-Befalls von Möhren nach unterschiedlichen Vorfrüchten keinen Hinweis darauf, dass die *Chalara*-Belastung signifikant durch den Anbau spezieller Vorfrüchte reduziert werden könnte.

Ein wesentliches Ziel des Vorhabens war es, einen Schwellenwert für die Anbauer zu entwickeln, um die *Chalara*-Fäule an Möhre einzudämmen. Es ergaben sich jedoch keinerlei Korrelation zwischen der Bodenbelastung vor der Saat bzw. vor der Ernte und der Belastung des Ernteguts. Daher ist der Hauptfokus der Bemühung auf die Nacherntebehandlung der Möhren zu setzen, um *Chalara* bedingte Verluste zu reduzieren.

Der Ausgangsbefall von Möhren mit *Chalara* ist bereits zu Beginn des Aufbereitungsprozesses unabhängig von der Produktionsweise mit ca. 50 % sehr hoch. Der Effekt der verschiedenen Aufbereitungsschritte auf den Endbefall ließ sich durch die Einschleusung von unbelasteten Möhren zeigen. Durch Waschen in der Waschtrommel und Polieren stieg der *Chalara*-Besatz auf bis zu 100 %. Dies ist auf die intensive mechanische Belastung der Möhren, die dadurch entstehenden Verletzungen und dem Vorhandensein von *Chalara*-Sporen im Wasch- und Polierwasser sowie an den Oberflächen der Anlage anhaftenden Sporen zurückzuführen.

Im letzten Schritt nach Waschen und Polieren werden die Möhren für den Verkauf verpackt. Einen Effekt von unterschiedlichen Verpackungsgebinden auf die Entwicklung der Möhrenschrätze ließ sich jedoch unter den Lagerbedingungen, wie sie im Einzelhandel vorliegen, nicht aufzeigen.

Für eine erfolgreiche Infektion benötigen die Erreger der Möhrenschrätze zwingend eine Verletzung des Gewebes. Selbst bei immens hohen Bodenbelastungen mit Sporen waren keine Infektionen der Möhre nachzuweisen, sofern die Möhren verletzungsfrei per Hand geerntet und aufbereitet wurden. Nach erfolgter Infektion führten hohe Luftfeuchte und hohe Lagertemperaturen zu einem raschen Auftreten von Krankheitssymptomen.

Die Erreger der Möhrenschrätze *Chalara elegans* und *Chalara thielavioides* ließen sich molekularbiologisch mittels ITS-Sequenzierung klar unterscheiden. Die Isolation der jeweiligen Erreger von anderen Kulturpflanzen (Radies und Calibrachoa) und deren Inokulation auf Möhrenscheiben zeigten, dass diese sich ebenfalls auf der Möhre entwickeln können. Umgekehrt führten *Chalara*-Isolate von Möhre an Calibrachoa zu Krankheitssymptomen. Diese Ergebnisse verdeutlichen das potentiell weite Wirtspflanzenspektrum der *Chalara*-Erreger.

Besondere Relevanz im Hinblick auf die *Chalara*-Bekämpfung erlangt der Ernte- und Nacherntebereich durch die fehlenden Möglichkeiten, den *Chalara*-Befall der Möhre durch pflanzenbauliche und/oder pflanzenschutzliche Maßnahmen zu reduzieren.

Jegliche Verletzung der Wurzeln führt ab der Ernte zu einer Erhöhung des Befalls im Verkaufsgebinde, denn die Sporenbelastung im Wasch- und Polierwasser sowie auf Oberflächen der Aufarbeitungsanlage ist hoch. Durch Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen der Anlage sowie die Verwendung von Frischwasser beim Waschen und Polieren bzw. dem Abspülen der Wurzel vor dem Abpacken ließe sich die Sporenbelastung reduzieren.

Da die Infektion der Möhren zum großen Teil erst beim Abladen und während der Aufarbeitung erfolgt, haben sie sich an der Wurzel noch nicht etabliert. Das bedeutet, dass sich die Sporen durch entsprechende Maßnahmen, noch bevor es zu einer stabilen Infektion kommt, inaktivieren und/oder entfernen lassen.

Durch eine geschlossene Kühlkette von der Aufarbeitung bis zum Konsum wären darüber hinaus Krankheitsentwicklung und Auftreten der Fäulesymptome deutlich zu verzögern.

9. Literaturverzeichnis

- CHITTARANJAN, S. UND Z. K. PUNJA, 1993: A semiselective medium and procedures for isolation and enumeration of *Chalara elegans* from organic soil. *Plant Disease* 77 (9), 930–932.
- CHITTARANJAN, S. UND Z. K. PUNJA, 1994: Factors influencing survival of phialospores of *Chalara elegans* in organic soil. *Plant Disease* 78, 411–415.
- CRESPO, P., D. BAUMGARTNER, A. KÄGI, W. HELLER UND E. HÖHN, 2007: Préservation de la qualité de la carotte après récolte. *Revue suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture* 39 (5), 327–331.
- CRESPO, P., W. HELLER, E. HOEHN UND D. BAUMGARTNER, 2012: Yield, quality traits and black root rot during storage and distribution of carrots grown in a *Chalara* infested field. *European Journal of Horticultural Science* 77 (2), 68–77.
- ESHEL, D., R. REGEV, J. ORENSTEIN, S. DROBY UND S. GAN-MOR, 2009: Combining physical, chemical and biological methods for synergistic control of postharvest diseases: A case study of Black Root Rot of carrot. *Postharvest Biology and Technology* 54 (1), 48–52, DOI:10.1016/j.postharvbio.2009.04.011.
- FARR, D. F. UND A. Y. ROSSMAN, 2020: Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved July 21, 2020, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases>.
- HELLER, W., 2000: Schwarzfleckenpilze: unterschätzte Krankheitserreger der Karotte? *Agrarforschung Schweiz* 7 (9), 420–423.
- HELLER, W. E., 2012: A new method of quantitative detection of *Chalara elegans* and *C. thielavioides* in soils using carrot discs. *Journal of Plant Diseases and Protection* 119 (5-6), 169–173.
- HELLER, W. E., 2014: *Chalara*-Pilze als Krankheitserreger bei Kulturpflanzen in der Schweiz. *Agroscope Merkblatt* (2), 1–3.
- HINRICHS-BERGER, J., G. HÖRNER, J. REETZ, F. G. POLZIN UND A. HERR, 2020: *Chalara*-Belastung des Bodens ohne Einfluss auf die Lagerfäule der Möhre. *Kontaminierte Erde in Verletzungen vermeiden. Gemüse* 56 (4), 15–17.
- IMANI, J., H. BALTRUSCHAT, E. STEIN, G. JIA, J. VOGELBERG, K.-H. KOGEL UND R. HÜCKELHOVEN, 2006: Expression of barley BAX Inhibitor-1 in carrots confers resistance to *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant Pathology* 7 (4), 279–284, DOI:10.1111/j.1364-3703.2006.00339.x.
- KÄGI, A., P. CRESPO, R. TOTAL UND W. HELLER, 2008 a: Frischwasser unter Hochdruck gegen *Chalara*-Schwarzflecken auf Karotten. *Der Gemüsebau/Le Maraicher* (1), 27–29.
- KÄGI, A., R. BAUR, L. BERTSCHINGER, E. HÖHN UND W. HELLER, 2008 b: Qualitätssicherung in der Karotten-Produktionskette: Forschungsprojekt erfolgreich abgeschlossen. *Der Gemüsebau/Le Maraicher* (2), 33.

- KOWALSKA, B., 2003: Black Rot on Carrots. *Ochrona Roślin* (Institute of Plant Protection Poznan, Poland), 47, 9, pp 20-21 (Engl. Abstr.).
- KRAUTHAUSEN, H.-J. UND G. HÖRNER, 2017: Die *Chalara*-Fäule der Möhre. *Gemüse* 53 (2), 14–16.
- LASSACHER, V. UND G. BEDLAN, 2003: Untersuchungen zu Wachstumsbedingungen und Infektionsdichten von *Thielaviopsis basicola* an verschiedenen Sorten von *Daucus carota*. *Pflanzenschutzberichte* 61 (1), 1–20.
- MILOSAVLJEVIĆ, A., N. TRKULJA, T. POPOVIĆ, Ž. IVANOVIĆ, M. MITROVIĆ, J. JOVIĆ UND I. TOŠEVSKI, 2015: First report of *Thielaviopsis thielavioides*, a causal agent of postharvest blackening on *Daucus carota* in Serbia. *Plant Disease* 99 (9), 1274, DOI:10.1094/pdis-12-14-1261-pdn.
- MOREAU, C., 1952: Coexistence des formes *Thielaviopsis* et *Graphium* chez une souche de *Ceratocystis major* (van Beyma) nov. comb. *Revue de Mycologie. Supplement Colonial* No 1 (12), 17–25.
- NEL, W. J., DUONG, T. A., WINGFIELD, B. D., WINGFIELD, M. J. UND DE BEER, Z. W., 2018: A new genus and species for the globally important, multihost root pathogen *Thielaviopsis basicola*. *Plant Pathology* 67 (4), 871–882; DOI: 10.1111/ppa.12803.
- PUNJA, Z. K., S. CHITTARANJAN UND M.-M. GAYE, 1992: Development of black root rot caused by *Chalara elegans* on fresh market carrots. *Canadian Journal of Plant Pathology* 14, 299–309.
- PUNJA, Z. K. UND M.-M. GAYE, 1993: Influence of postharvest handling practices and dip treatments on development of black root rot on fresh market carrots. *Plant Disease* 77 (10), 989–995.
- PUNJA, Z. K. UND S. CHITTARANJAN, 1994: Prevalence and inoculum density of *Chalara elegans* in soils of the Fraser Valley of British Columbia. *Canad. J. Pl. Path.* 16, 299-309.
- REETZ, J., J. HINRICHS-BERGER, I. HÄRTH, J. PISTER, G. HÖRNER UND H.-J. KRAUTHAUSEN, 2018: Zur *Chalara*-Fäule der Möhre (*Chalara spp.*) im Südwesten und Maßnahmen zur Befallsreduzierung. *Julius-Kühn-Archiv* 461, 353.
- SCHAFFRATH, J., 1980: Zum Auftreten der *Chalaropsis*-Fäule an Möhren in der Lagerperiode 1978/79 im Bezirk Frankfurt (O.). *Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR* 34 (8), 163–165.
- SCHNEIDER, J., 2004: Validierung und Adaptierung von Biotests für ausgewählte bodenbürtige Pflanzenpathogene. *Univ. für Bodenkultur, Wien* (Diplomarbeit).
- WEBER, R. W. S. UND H. T. TRIBE, 2004: Moulds that should be better known: *Thielaviopsis basicola* and *T. thielavioides*, two ubiquitous moulds on carrots sold in shops. *Mycologist* 18 (1), 6–10, DOI:10.1017/S0269915X04001028.
- WU, T. L. UND J. W. HUANG, 2015: Carrot black rot caused by *Thielaviopsis basicola* - identification of the pathogen and factors affecting its occurrence in Taiwan. *Plant Pathology Bulletin* 24, 53–66.
- YARWOOD, C. E., 1981: The occurrence of *Chalara elegans*. *Mycologia* 73 (3), 524–530.

Die Literaturrecherche wurde mittels CAB Abstracts (<https://www.cabi.org>) durchgeführt.

10. Veröffentlichungen zum Projekt

Präsentationen und Veröffentlichungen bei Fachtagungen

- Krauthausen, H.-J. und Reetz, J. et al. (2017): Verbreitung und Ausbreitung der *Chalara*-Fäule an Möhren in Produktions- und Aufbereitungsbetrieben im Südwesten und Entwicklung von Maßnahmen zur Befallsreduzierung; 28. Tagung der Fachreferenten für Pflanzenschutz im Gemüse- und Zierpflanzenbau/Baumschulen, 07. - 09.11.2017, Braunschweig.
- Reetz, J. et al. (2018): Verbreitung und Ausbreitung der *Chalara*-Fäule an Möhren in Produktions- und Aufbereitungsbetrieben im Südwesten und Entwicklung von Maßnahmen zur Befallsreduzierung; 27. Bundesberaterstagung Gemüsebau, 06. - 08.03.2018, Grünberg.
- Reetz, J. et al. (2018): Zur *Chalara*-Fäule der Möhre (*Chalara spp.*) im Südwesten und Maßnahmen zur Befallsreduzierung (Beitrag 42-5); 61. Deutsche Pflanzenschutztagung, 11. - 14.09.2018, Universität Hohenheim.
- Reetz, J. et al. (2018): Zur *Chalara*-Fäule der Möhre (*Chalara spp.*) im Südwesten und Maßnahmen zur Befallsreduzierung. *Julius-Kühn-Archiv* 461, 353.
- Reetz, J. et al. (2020): Zur *Chalara*-Fäule der Möhre (*Chalara spp.*) und Maßnahmen zur Befallsreduzierung.; 62. Deutsche Pflanzenschutztagung, vom 01. - 04.09.2020, Universität Göttingen. (Veranstaltung auf 2021 verschoben)
- Polzin, F. et al. (2021) *Chalara*-Reduzierung an Möhren (Arbeitstitel); Beitrag zum Möhrenforum und Zwiebelforum 2021, AMI (Agrarmarkt Informations-Gesellschaft) und RLV (Rheinische Landwirtschafts-Verlag), Velbert. (in Vorbereitung)

Veröffentlichungen in Fachzeitschriften

- Krauthausen, H.-J., und Hörner, G. (2017): Die *Chalara*-Fäule der Möhre - Ursachen, Befallslage und mögliche Gegenmaßnahmen. Gemüse 2/2017.
- Hinrichs-Berger, J. (2019): „Möhren-Kärchern“ rückt Pilzsporen zu Leibe – *Chalara*-Fäule befällt plastikverpackte Waschkarotten / Verletzungen beim Aufarbeiten des Gemüses. Badische Neueste Nachrichten, 24.09.2019.
- Hinrichs-Berger, J. et al. (2020): Kontaminierte Erde in Verletzungen vermeiden - *Chalara*-Belastung des Bodens ohne Einfluss auf die Lagerfäule der Möhre. Gemüse 4/2020.
- Hinrichs-Berger, J. et al. (2020): *Chalara*-Fäule an Möhre. Landinfo 2/2020.
- Hinrichs-Berger, J. und Reetz, J. (2020): Wie lässt sich *Chalara*-Lagerfäule bei Möhren reduzieren? LTZ-Report 2020. (in Vorbereitung)