

## KONTROLLE BODENBÜRTIGER PATHOGENE MITTELS BIOFUMIGATION

RITA GROSCH<sup>1</sup>, MICHAELA SCHLATHÖLTER<sup>2</sup>, WOLFGANG SCHÜTZE<sup>3</sup>, MATTHIAS DAUB<sup>4</sup>, JOHANNES HALLMANN<sup>5</sup>; <sup>1</sup>Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e.V. (IGZ), Echtermeyer Weg 1, 14979 Großbeeren; <sup>2</sup>P. H. Petersen Saatzucht Lundsgaard GmbH, 24977 Grundhof; <sup>3</sup>Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg; <sup>4</sup>JKI, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Dürener Straße 71, 50189 Elsdorf; <sup>5</sup>JKI, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Toppheideweg 88, 48161 Münster; e-mail: grosch@igzev.de

### Einleitung

Bodenbürtige Pflanzenpathogen sind aufgrund der Persistenz ihrer Überdauerungsstrukturen, ihres mitunter breiten Wirtspflanzenkreises und fehlender Resistenzen in den jeweiligen Kulturpflanzen generell schwer zu bekämpfen. Eine effektive Unterdrückung der durch bodenbürtige Erreger bedingten Krankheiten über entsprechende Fruchtfolgemaßnahmen ist meist nicht möglich. Die Bekämpfung dieser Erreger erfolgte in der Vergangenheit durch Einsatz von Methylbromid (MeBr). Aufgrund der ozonschädigenden Wirkung einigten sich die Industriestaaten bereits 1987, im sogenannten Montreal Protokoll, MeBr aus dem Verkehr zu nehmen, was letztlich 2005 erfolgte. Der Ausstieg aus der Anwendung von MeBr unterstützte die Suche nach entsprechenden Alternativen. Die Biofumigation gilt als natürliches und umweltfreundliches Pflanzenschutzverfahren zur Bekämpfung bodenbürtiger Pathogene. Länder, wie Australien, USA und Italien, in denen MeBr eingesetzt wurde, unterstützten intensiv die Entwicklung der Biofumigation (Brown & Mora 1997, Lazzeri & Manici 2000, Kirkegaard & Matthiessen 2004, Lazzeri et al. 2004, Matthiessen & Kirkegaard 2006).

Hemmende Effekte von sekundären Inhaltstoffen des Ackersenfs gegenüber *Colletotrichum circinans*, *Botrytis alii*, *Aspergillus niger*, *A. alliaceus* und *Gibberella saubinetti* wurden bereits in den 1930iger Jahren in Laboruntersuchungen nachgewiesen (Walker et al. 1937). Die antifungale Wirkung der Hydrolyseprodukte der Glucosinolate einer Brassica-Art, den Isothiocyanaten, wird von deren physikochemischen und biologischen Eigenschaften bestimmt (Manici et al. 1997). Insgesamt konnte in einer Vielzahl von Studien gezeigt werden, dass die antifungale Wirkung einiger Isothiocyanate ein gewisses Potential zur

Bekämpfung bodenbürtiger Pilzpathogene bietet (Dawson et al. 1993, Galletti et al. 2006, Manici et al. 2000, Smolinska et al. 2003). Gegenüber den einzelnen Isothiocyanaten zeigen pilzliche Pathogene jedoch eine sehr unterschiedliche Sensitivität. Durch die Einarbeitung von entsprechenden Pflanzenteilen (Biofumigantien) in den Boden konnte bei verschiedenen bodenbürtigen pilzlichen Pathogenen wie *Fusarium* sp. (Sawar et al. 1998), *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Angus et al. 1994), *Rhizoctonia solani* (Manici et al. 1997, Cohen & Mazzola 2006), *Verticillium dahliae* (Subbaroa & Hubbard 1996, Harding & Wicks 2001), *Sclerotinia* spp. (Sanchi et al. 2005), *Aphanomyces* sp. (Muehlchen et al. 1990) oder *Pythium irregulare* (Manici et al. 1997) eine signifikante krankheitsunterdrückende Wirkung beobachtet werden.

Der Erreger *R. solani* war ein typisches Beispiel eines bodenbürtigen Erregers, deren Überdauerungsstrukturen (Sklerotien) erfolgreich durch den Einsatz von MeBr bekämpft wurden. In den letzten Jahren ist eine Zunahme an Krankheiten verursacht durch *R. solani* in der Praxis zu beobachten, insbesondere an der Kartoffel, der Zuckerrübe (Späte Rübenfäule) und Salat (Salatfäule). Der Anbau von Brassica-Arten mit einem hohen Gehalt an Glucosinolaten als Zwischenfrüchte könnte zur Reduzierung oder Beeinträchtigung des bodenbürtigen Inokulums bzw. der Vitalität der Sklerotien von *R. solani* beitragen. Die Zusammensetzung der Glucosinolate einer Brassica-Art bestimmt die Art der gebildeten Isothiocyanate, gegenüber denen bodenbürtige Erreger eine unterschiedliche Sensitivität aufweisen. Die Biofumigationswirkung einer Brassica-Art gegenüber einem bestimmtem Pathogen wie z. B. *R. solani* kann somit durch den Anbau einer geeigneten Zwischenfrucht beeinflusst werden. Ziel des Projektes war daher, die krankheitsunterdrückende Wirkung verschiedener Brassica-Arten im Zwischenfruchtanbau gegenüber dem Erreger *R. solani* zu prüfen.

### **Vorgehensweise**

Im Rahmen eines Forschungsvorhabens gefördert durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (Programm zur Innovationsförderung) wurde die Wirkung eines aussichtsreichen Sortiments an Brassica-Sorten *in vitro* und *in vivo* (Tabelle 1) gegenüber dem Erreger der Salatfäule *R. solani* AG 1-IB untersucht.

Tabelle 1. Untersuchte Brassica-Sorten.

Art		Sorte/Name
Sareptasenf	<i>Brassica juncea</i>	Terraplus
Sareptasenf	<i>Brassica juncea</i>	Energy
Sareptasenf	<i>Brassica juncea</i>	Terratop
Sareptasenf	<i>Brassica juncea</i>	Terrafit
Ölrettich	<i>Raphanus sativus</i>	Defender
Ölrettich	<i>Raphanus sativus</i>	Adagio
Gelbsenf	<i>Sinapis alba</i>	Accent
Gelbsenf	<i>Sinapis alba</i>	Luna

### **Wirkung der Biofumigation auf *Rhizoctonia solani* Sklerotien und Myzel *in vitro***

*In vitro* wurde geprüft, ob die Hydrolyseprodukte der Glucosinoloate der untersuchten Brassica-Sorten nach Einarbeitung in den Boden die Aktivität der Sklerotien und des Myzels von *R. solani* AG 1-IB beeinflussen. Dazu wurde Biomasse (2 kg/m<sup>2</sup>) der jeweiligen Brassica-Sorten in mit Sklerotien oder Myzel von *R. solani* bereits inokulierten Boden eingearbeitet. Die Überprüfung der Sklerotienkeimung und der Vitalität des Myzels wurde nach einer Inkubationszeit von 14 Tagen bei 20°C vorgenommen.

Eine deutliche Reduzierung der Sklerotienkeimung war in den Varianten mit den Sareptasensorten Terraplus und Energy sowie der Gelbsensorte Luna zu beobachten (Tab. 2). Im Vergleich zur Aktivität der Sklerotien wurde die Vitalität des Myzels in allen Varianten deutlicher durch die Biofumigation beeinflusst. In den Varianten mit den Brassica-Sorten ‚Adagio‘ und ‚Accent‘ wurde die Myzelaktivität um mehr als 70% reduziert (Tab. 2).

### **Krankheitsunterdrückende Wirkung im Gefäßversuch**

Die krankheitsunterdrückende Wirkung der Biofumigantien wurde im Gefäßversuch an Salat nach künstlicher Inokulation mit dem Erreger *R. solani* AG 1-IB geprüft. In den mit Myzel des Erregers durchwachsenen Boden wurde ebenfalls eine Frischmasse der Brassica-Arten von 2 kg /m<sup>2</sup> eingearbeitet und für ca. zwei Wochen bei 25°C inkubiert. Anschließend erfolgte die Pflanzung der Salatjungpflanzen (cv. Tizian) in die entsprechenden Versuchsgefäße (1 Pflanze pro Topf). Nach einer Kulturdauer von vier Wochen bei 22/15°C wurde die Trockenmasse der Pflanzen ermittelt.

Tabelle 2. Einfluss der Brassica-Sorten auf die Sklerotienkeimung (SK) und die Aktivität von *Rhizoctonia solani* Myzel (AM) 14 Tage nach Einarbeitung der Biofumigantien (2 kg Frischmasse /m<sup>2</sup>) und Inkubation bei 20°C.

Sorte	SK [%]	AM [%]
Kontrolle	66,7	96,7
Terraplus	22,2	40,0
Energy	38,9	40,0
Terratop	72,2	50,0
Terrafit	66,7	66,7
Defender	55,6	60,0
Adagio	55,6	26,7
Accent	66,7	23,3
Luna	11,1	40,0

Durch die Inokulation des Erregers *R. solani* wurde das Wachstum von Salat signifikant reduziert. In allen Varianten mit Biofumigat war eine im Vergleich zur Erregerkontrolle (*R. solani*) höhere Biomasse gegeben. Doch nur in der Variante mit der Brassica-Sorte Energy konnte die durch den Erreger bedingte Reduktion der Biomasse kompensiert werden (Abb. 1).

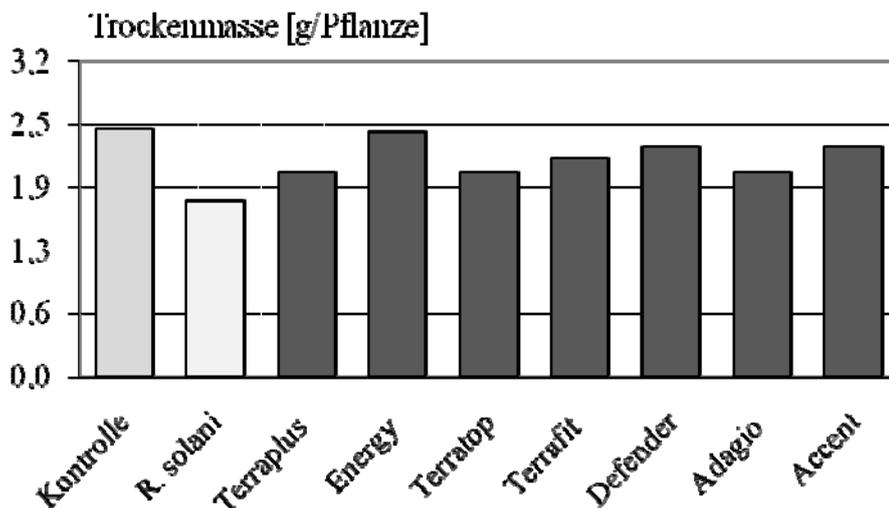


Abb. 1: Krankheitsunterdrückende Wirkung verschiedener Brassica-Sorten gegen *Rhizoctonia solani* an Salat, gemessen an der Biomasse von Salat cv. Tizian nach vierwöchiger Kultivierung bei 22/15°C (Tag/Nacht).

### **Krankheitsunterdrückende Wirkung unter Feldbedingungen**

Zur Einschätzung der Biofumigationswirkung verschiedener Brassica-Sorten gegen *R. solani* (Tab. 1) unter Feldbedingungen wurden zwei Versuche auf den Standorten des IGZ in Großbeeren (lehmgiger Sand, pH 6,6) und Golzow (sandiger Lehm, pH 7,6) durchgeführt. Auf beiden Standorten stand jeweils eine natürlich mit dem Erreger der Salatfäule (*R. solani* AG 1-IB) infizierte Fläche (ca. 100 m x 25 m) zur Verfügung. Die Brassica-Sorten wurden in Parzellen von 30 x 1,8 m ausgesät, wobei die Parzellen der Kontrollvariante unbearbeitet blieben. Jede Variante umfasste drei randomisiert verteilte Wiederholungen bzw. Parzellen auf der jeweiligen Versuchsfläche. Zehn Tage nach der Einarbeitung der Brassica-Sorten mittels Umkehrfräse wurde Salat cv. Tizian im 2-3 Blattstadium auf den entsprechenden Versuchsflächen per Hand gepflanzt. Nach einer Kulturdauer von ca. 6 Wochen wurde der Salat geerntet, die Befallsstärke (BS) der Salatfäule bonitiert sowie die Trockenmasse der Salatköpfe bestimmt. Die Bonitur der Salatfäule erfolgte anhand einer vierstufigen Befallsskala (1 – befallsfrei, 3 – leichte Symptome am unteren Blattkranz, 5 – moderater Befall, Symptome bis zum 2. Blattkranz, 7 – schwerer Befall bis ganze Fäule des Kopfes). Je Wiederholung wurden 96 Pflanzen ausgewertet.

Auf beiden Standorten wurde der Einfluss der Biofumigation auf die Trockenmasse von Salat als auch auf die BS mit dem Salatfäuleerreger untersucht (Abb. 2). In den Varianten mit Sareptasenf cv. Energy und Weißer Senf cv. Adagio war die Trockenmasse von Salat im Vergleich zur Kontrolle ohne Biofumigat auf beiden Versuchsstandorten signifikant erhöht. Auf dem Standort in Großbeeren war auch ein signifikanter Einfluss auf die Trockenmasse von Salat in der Variante mit Ölrettich cv. Defender und in Golzow mit der Sareptasensorte Terrafit gegeben.

Die BS der Salatfäule war auf beiden Standorten und in allen Varianten um 7 bis 25% im Vergleich zur Kontrolle ohne Biofumigation reduziert (Abb. 2).

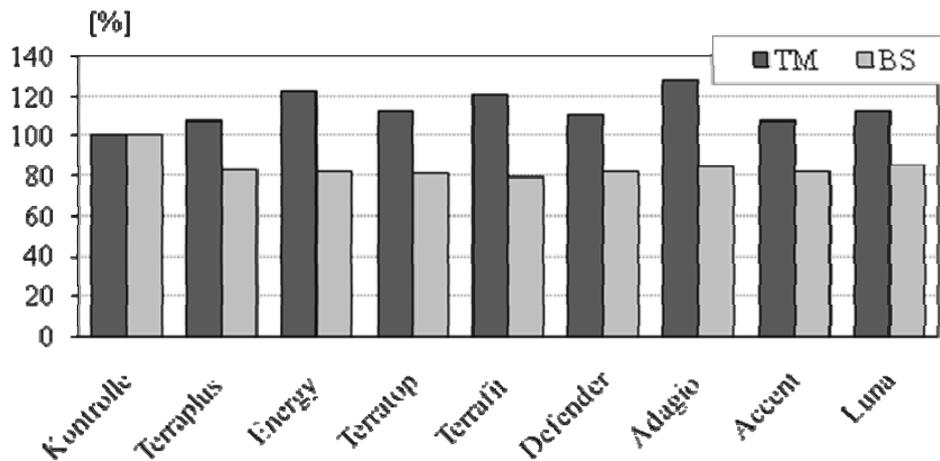


Abb. 2: Wirkung verschiedener Brassica-Sorten auf die Trockenmasse (TM) von Salat cv. Tizian und die Befallsstärke (BS) mit *Rhizoctonia solani* im Vergleich zur Kontrolle (= 100%). Dargestellt ist der Mittelwert von zwei Versuchen auf den Standorten Großbeeren und Golzow.

### Schlussfolgerungen

Die *in vitro* Ergebnisse zeigen, dass durch Biofumigation die Aktivität von Pflanzenpathogenen beeinträchtigt werden kann. Dies bestätigen auch die Ergebnisse der Feldversuche. Während *in vitro* deutlichere Unterschiede zwischen den Brassica-Sorten zu verzeichnen sind, wurde unter Feldbedingungen die Befallsstärke der Salatfäule in allen Varianten vergleichbar reduziert. Neben einer Verminderung der Aktivität von *R. solani* sind auch andere Effekte, wie Erhöhung der Pflanzengesundheit durch verbesserte Nährstoffverfügbarkeit oder eine erhöhte mikrobielle Aktivität und eine damit verbundene gewisse suppressive Wirkung gegen *R. solani* denkbar. Insgesamt zeigen die Ergebnisse jedoch, dass Biofumigation als Teil des Managements bodenbürtiger Pathogenen durchaus von Bedeutung sein kann. Langfristig interessiert vor allem die Frage, wie sich die Wirkung eines wiederholten und langjährigen Einsatzes der Biofumigation auf die Krankheitsentwicklung von bodenbürtigen Schaderregern auswirkt.

### Literatur

- Angus J., Gardner P., Kirkegaard J., Desmarchelier J. (1994). Biofumigation: isothiocyanates release from *Brassica* roots inhibit growth of take-all fungus. *Plant and Soil* 162: 107-112.
- Brown P.D., Morra M.J. (1997). Control of soilborne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advances in Agronomy* 61: 167-231.

- Cohen M., Mazzola M. (2006). Resident bacteria, nitric oxide emission and particle size modulate the effect of *Brassica napus* seed meal on disease incited by *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Plant and Soil* 286: 75-86.
- Dawson G.W., Doughty K.J., Hick A.J., Pickett J.A., Pye B.J., Smart L.E., Wadhams L.J. (1993). Chemical precursors for studying the effects of glucosinolate catabolites on diseases and pests of oilseed rape (*Brassica napus*) or related plants. *Pesticide Sciences* 39: 271-278.
- Galletti S., Burzi P.L., Sala E., Marinello S., Cerato C. (2006). Combining Brassicaceae green manure with *Trichoderma* seed treatment against damping-off in sugarbeet. *IOBC/wprs Bulletin* 29: 71-75.
- Kirkegaard J.A., Matthiesen J.N. (2004). Developing and refining the biofumigation concept. *Agroindustria* 3: 233-239.
- Lazzeri L., Leoni O., Bernardi R., Malaguti L., Cinti S. (2004). Plants, techniques and products for optimising biofumigation in the full field. *Agroindustria* 3: 81-287.
- Manici L.M., Lazzeri L., Palmieri S. (1997). In vitro antifungal activity of glucosinolates and their enzyme derived products towards plant pathogenic fungi. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 45: 2768-2773.
- Manici L.M., Lazzeri L., Baruzzi G., Leoni O., Galletti S., Palmieri S. (2000). Suppressive activity of some glucosinolate enzyme degradation products on *Pythium irregulare* and *Rhizoctonia solani* in sterile soil. *Pest Management Science* 56: 921-926.
- Matthiessen J.N., Kirkegaard, J.A. (2006). Biofumigation and enhanced biodegradation: Opportunity and challenge in soilborne pest and disease control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25: 235-265.
- Muehlchen A.M., Rand R.E., Parke J.L. (1990). Evaluation of crucifer green manures for controlling *Aphanomyces* root rot of peas. *Plant Disease* 74: 651-654.
- Sanchi S., Odorizzi S., Lazzeri L., Marciano P. (2005). Effect of *Brassica carinata* seed meal treatment on the *Trichoderma harzianum* T39-Sclerotinia species interaction. *Acta Horticulturae* 698: 287-292.
- Sarwar M., Kirkegaard J.A., Wong P.T.W., Desmarchelier J.M. (1998). Biofumigation potential of brassicas: III. In vitro toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant and Soil* 201: 103-112.
- Smolinska U., Morra M.J., Knudsen G.R., James R.L. (2003). Isothiocyanates produced by Brassicaceae species as inhibitors of *Fusarium oxysporum*. *Plant Disease* 87: 407-412.
- Subbaroa K.V., Hubbard J.C. (1996). Interactive effects of broccoli residue and temperature on *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil and on wilt in cauliflower. *Phytopathology* 86: 1303-1310.
- Walker J.C., Morell S., Foster H. (1937). Toxicity of mustard oils and related sulphur compounds to certain fungi. *American Journal of Botany* 24: 536-541.