

Auswirkungen von PEN, einem Extrakt aus der Biomasse von *Penicillium chrysogenum*, auf Pathogene und Pflanzen

Tamm L., Rentsch, C., Guyer U. & E. Mösinger

Problemstellung/Ziele: Der Ersatz von Kupfer und anderen Pestiziden ist eine der dringlichen Aufgaben der Forschung im biologischen Landbau. Beim direkten Pflanzenschutz stehen fungizid wirkende Substanzen, Biocontrol-Organismen und Pflanzenstärkungsmittel zur Diskussion. Das Konzept der Pflanzenstärkung ist seit langem im biologischen Landbau bekannt. Beispielsweise werden Kompostextrakte, Brennesselextrakte, aber auch kommerzialisierte Produkte aus *Reynoutria sachalinensis* oder Backpulver eingesetzt. Unter den Resistenzinduktoren (Elicitoren) sind vor allem diejenigen von grossem Interesse, die Resistenz gegen Pathogene auslösen, die ansonsten mit Kupfer bekämpft werden (Tamm, 2000).

Der Dünger Agro Biosol (Biochemie GmbH, A-Kundl) weist nebst einer Düngerwirkung auch krankheitsvermindernde Eigenschaften auf. Dies legen Beobachtungen nahe, die bereits in den achtziger Jahren auf Grasflächen gemacht wurden, die mit *Fusarium nivale* befallen waren. Das aus der Penicillinproduktion gewonnene Trockenmycel ist frei von Penicillin. Agro Biosol enthält 6 % Gesamtstickstoff, 1 % Gesamtphosphor, 1 % Kali, sowie Spurenelemente und Vitamine (Naschberger, pers. Mitteilung). In der Schweiz ist Agro Biosol als Dünger im biologischen Landbau zugelassen (Tamm, Maurer & Alföldi, 2000). E. Mösinger (Sandoz Agro, CH - Witterswil) führte erste Versuche über die krankheitsunterdrückende Wirkung von Agro Biosol durch. Dazu wurde ein Extrakt des Trockenmycels von *P. chrysogenum* hergestellt, der die Kurzbezeichnung ‚PEN‘ erhielt. Diese Untersuchungen von Mösinger und Mitarbeitern wiesen darauf hin, dass PEN an Tomaten und Gurken Resistenz induzieren kann. Ab 1997 wurde das Thema am FiBL weiterverfolgt. Mit den vorliegenden Untersuchungen wurden die Teilziele angestrebt (i) Verifizieren und Charakterisieren der resistenz-induzierenden Eigenschaften von PEN, (ii) Abklären des Potentials für eine Weiterentwicklung von PEN als kommerzialisierbaren Resistenzinduktor und (iii) Charakterisierung der phytotoxischen Eigenschaften von PEN als Ausgangspunkt für die Optimierung von Agro Biosol.

Methoden: Insgesamt wurden 39 verschiedene Proben von Agro Biosol untersucht, die zwischen 1993 bis 1999 produziert wurden. Als Standard wurde eine Charge aus dem Jahr 1997 (97/19-38200111) verwendet. Für das PEN-Standardextrakt (15 % m/v) aus Trockenmycel von *P. chrysogenum* wurde 150 g der zu testenden Produktionscharge in 1.5 l Plastikflaschen abgewogen und 1 l demineralisiertes Wasser beigegeben. Die Suspension wurde dann 16 h bei 20° C mit 75 U/min. auf einem Laborschüttler und anschliessend 90 Minuten bei 140° C autoklaviert. Vor der Filtration wurde die Suspension kurz aufgerührt und durch ein Zellulose-Filterpapier (Rundfilter Nr. 595 Æ 15mm, Schleicher & Schuell) filtriert. Die Wirkung von PEN wurde auf den Systemen Tomate-*Phytophthora infestans*, Gurke-*Colletotrichum lagenarium* und Rebe-*Plasmopara viticola* überprüft. Dabei wurden in zahlreichen Versuchen Konzentration, Aufbereitung des Extraktes und Variabilität des Ausgangsmaterials geprüft. Als Referenz wurde stets der PEN-Standardextrakt (Batch 97/15, 15 % m/v) mitgeführt.

Tomaten (*Lycopersicon esculentum*) der Sorte „Supermarmande“ wurden bei einer Temperatur von 18 °C bei einem Tag-Nacht-Rhythmus von 16 h / 8h unter Kunstlicht (12 –15 kLux) angezogen. Im Stadium ‚6. bis 8. Laubblatt am Hauptspross entfaltet‘ (BBCH-Code 16 106 bis 19 108) wurden die Tomaten im Gewächshaus mit den zu testenden Extrakten behandelt. Pro Verfahren wurden sechs Pflanzen mit einem Handsprüher mit 210 ml Extrakt behandelt. Nach 7 Tagen wurden die Pflanzen mit *P. infestans* inokuliert (40000Sp./ml, 12 Tropfeninokulationen/Pflanze). Die ersten zwei Tage nach der Inokulation war das Klima in der Feuchtkammer auf 100 % RF, 18° C, ca. 5 kLux und einem Tag-Nacht-Rhythmus von 16 h / 8 h eingestellt. Die folgenden Tage bis zur Bonitur der Läsionen wurde die RF auf 80 – 95 % gesenkt. Sechs Tage nach der Inokulation wurde der Durchmesser der Läsionen von *P. infestans* gemessen und das Auftreten von phytotoxischen Symptomen erfasst. **Gurken** (*Cucumis sativus* L. cv. 'Aramon F1') wurden im Gewächshaus angezogen. Die Behandlung mit PEN erfolgte wie bei den Tomaten. Die Inokulation erfolgte 7 Tage nach Behandlung mit PEN mit 200'000 Konidien/ml. Anschließend wurden die Pflanzen während 24h bei 18°C und 100% RF inkubiert. Die Befallsbonitur (Befallshäufigkeit und –Stärke sowie Läsionsdurchmesser) sowie Bonitur von Phytotoxizität wurde ca. 7 Tage nach Inokulation durchgeführt. **Reben** (*Vitis vinifera* cv. Riesling x Sylvaner) wurden in den Jahren 1997 bis 1999 im Freiland untersucht (Complete Randomized Block Design, 9 Wh.). PEN 97/15 (150 g/l) wurde jeweils mit einer Kontrolle (Wasser) und Reinkupfer (0.05 %) + Schwefel (0.5 %) verglichen. Die Behandlungen wurden alle 7-10 Tage praxisüblich durchgeführt. Der Befall durch *Plasmopara viticola* kam als der Folge des natürlichen Epidemieverlaufes zu Stande. Die Befallsbonitur (Befallshäufigkeit, Befallsstärke, Läsionsdurchmesser und Phytotoxizität) wurde mehrmals durchgeführt.

Direkte Effekte von PEN auf das Pilzwachstum (Mycel- und Sporenkeimung) wurden *in vitro* in Konzentrationsreihen mit *Colletotrichum lagenarium* und *Phytophthora infestans* überprüft. Als Referenzfungizide wurden Metalaxyl (*P. infestans*) und Dithianon (*C. lagenarium*) verwendet.

Ergebnisse/Diskussion: Das Konzept der induzierten Resistenz ermöglicht einen neuen Ansatz im Pflanzenschutz, da nebst der direkten Bekämpfung mit Fungiziden und dem Einsatz von resistenten Sorten ein zusätzlicher Weg offensteht. Bislang sind mehrere Resistenzinduktoren (Elicitoren) bis zur Praxisreife entwickelt worden, u.a. Bion, Milsana oder Natriumbicarbonat. Das Wirkungsspektrum eines Elicitors ist allerdings entscheidend: bislang ist es noch nicht gelungen, einen biotauglichen Elicitor mit Wirkung gegen Oomyceten wie *Phytophthora infestans* oder *Plasmopara viticola* bis zur Praxisreife zu entwickeln. PEN ist ein Kandidat, der diese Wirkungslücke schliessen könnte. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass PEN ein interessantes Wirkungsspektrum haben könnte (Tab. 1). Auf dem Wirt-Pathogen-system Tomate-*P. infestans* kann mit Behandlung mit PEN die Symptomausprägung unter kontrollierten Bedingungen stark reduziert werden, mit Wirkungsgraden von bis zu 89%. Auf Gurken, die sich mit anderen Elicitoren gut induzieren lassen, hat PEN jedoch ein bescheidenes Potential, da im besten Fall lediglich 24% Wirkungsgrad erreicht wurde. Besonders interessant ist der Effekt von PEN auf Weinreben, da bei diesen Untersuchungen gegen *Plasmopara viticola* im Freiland am Ende der Saison Wirkungsgrade bis zu 50% erreicht wurden. Ein Resistenzinduktor sollte per Definition keine fungiziden Eigenschaften aufweisen (Kessmann *et al.*, 1994). PEN scheint keine oder äusserst bescheidene fungizide Eigenschaften zu haben. Auch die Tatsache, dass PEN leicht von Schimmelpilzen besiedelt werden kann, weist in diese Richtung.

Die Wirkung von Resistenzinduktoren hängt typischerweise vom Krankheitsdruck in der Umgebung und vom physiologischen Zustand der Wirtspflanze ab. In unseren Untersuchungen auf Tomate kann gezeigt werden, dass der Wirkungsgrad mit zunehmendem Befallsdruck linear abnimmt (Fig. 1A). In der Praxis bedeutet dies, dass Resistenzinduktoren selten alleine, sondern meist in Kombination mit Fungiziden eingesetzt werden sollten. Erste Pilotversuche an Reben (Tab. 1) haben beispielsweise gezeigt, dass bei Kombination von PEN und Kupfer höhere Wirkungsgrade erreicht werden als beim Einsatz der jeweiligen Einzelkomponente, da die Befallshäufigkeit von Kupfer reduziert wird, die Läsionsgrösse jedoch bei PEN behandelten Reben begrenzt ist.

Tabelle 1. Einfluss von PEN auf den Krankheitsbefall von Tomate (*P. infestans*), Gurke (*Colletotrichum lagenarium*) und Rebe (*Plasmopara viticola*).

	Wirkungsgrad gegenüber Kontrolle (%) von:					
	Befallsstärke (%)		Befallshäufigkeit (%)		Läsionsgrösse (%)	
	Mittel	min/max	Mittel	min/max	Mittel	min/max
Tomate (<i>P. infestans</i>)	56	(17/ 89)	41	(8/ 78)	67	(44/ 90)
Gurke (<i>C. lagenarium</i>)	24	(0/ 64)	2.4	(0/ 24)	–	–
Rebe : PEN (<i>P. viticola</i>)	51	(51/ 51)	37	(37/ 37)	36	(36/ 36)
Rebe: PEN/ Kupfer (<i>P. viticola</i>)	71	(65/ 83)	42	(38/ 51)	37	(33/ 42)

Neben der krankheitsunterdrückenden Wirkung konnte immer wieder beobachtet werden, dass PEN phytotoxische Effekte auslösen kann (Fig. 1B). Dieser Effekt trat nach Blattanwendungen mit PEN auf, nicht aber bei vorschriftsgemässer Düngung mit Agro Biosol über den Boden. Je nach Umständen können die Toxeffekte nach Blattapplikation bei Tomate und Rebe stark auftreten. Die Toxizität und die Resistenzinduktion hängen allerdings nicht in gleichem Masse von der Anwendungskonzentration ab. Bei Tomate weist die krankheitsunterdrückende Wirkung eine deutliche Sättigungskurve auf. Unter den geprüften Bedingungen wurden maximale Wirkungsgrade bereits bei 40g Trockenmycel/l erreicht, währenddem die Toxizität mit zunehmenden Konzentrationen im Prüfbereich bis 150g Trockenmycel/l linear zunahm. Zum jetzigen Zeitpunkt ist noch nicht geklärt, ob das aktive Prinzip der Resistenzinduktion vom toxischen Prinzip getrennt werden kann.

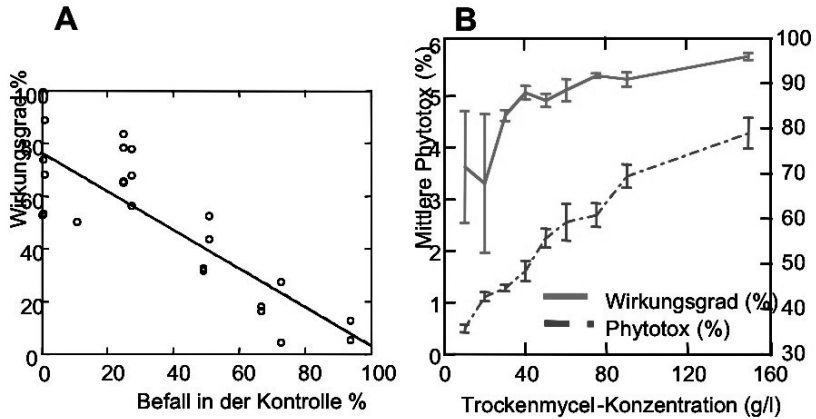


Fig. 1A: Einfluss von PEN auf den Krankheitsbefall von Tomate durch *Phytophthora infestans*. Der Wirkungsgrad nimmt bei zunehmendem Befallsdruck ab. Jeder Punkt repräsentiert den Mittelwert von 6 Wiederholungen. Fig 1B: Einfluss der Konzentration von PEN auf den Befall von Tomaten durch *Phytophthora infestans* und auf die Ausprägung von Phytotoxizität.

Fazit: PEN, der Extrakt von *Penicillium chrysogenum*, kann bei zahlreichen Wirt-Pathogen-Systemen den Krankheitsbefall markant reduzieren. Dies ist insbesondere bei Krankheitserregern von Interesse, die ansonsten mit biotauglichen Produkten nur schwer kontrollierbar sind. Das Ausgangsmaterial wird als biotauglich eingeschätzt und steht in genügenden Mengen in konstanter Qualität zur Verfügung. Dies sind günstige Voraussetzungen, um einen neuartigen Resistenzinduktor für den biologischen Anbau bis zur Praxisreife zu entwickeln. PEN kann allerdings phytotoxische Effekte auslösen, die eine Praxisanwendung als Resistenzinduktor vorerst ausschliessen. Unsere Forschung hat gegenwärtig zwei Stossrichtungen. Einerseits werden die Effekte von PEN auf die Pflanzenphysiologie untersucht und die involvierten Stoffwechselprozesse detailliert abgeklärt. Andererseits suchen wir nach den aktiven Prinzipien, die für Resistenzinduktion und Phytotoxizität verantwortlich sind.

Literaturangaben:

Kessmann, H., Staub, T., Hofmann, C., Maetzke, T. & Herzog, J. (1994). Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annu. Rev. Phytopathol.* **32**, 439-459.

Naschberger, S. Ecological evaluation of organic fertilisers. *Ökologische Bewertung organischer Dünger*. Biochemie Kundl, Kundl, Austria.

Rentsch, C. (1998). Induced Resistance Caused by PEN in Tomato (*Phytophthora infestans*), Cucumber (*Colletotrichum lagenarium*, *Pseudoperonospora cubensis*) and Grapevine (*Plasmopara viticola*). MS thesis. University of Basel, Switzerland.

Tamm, L., Maurer, V. & Alföldi, T. (2000). *Hilfsstoffliste: Zugelassene Hilfsstoffe für den biologischen Landbau*. Forschungsinstitut für Biologischen Landbau, Frick, Switzerland.

Tamm, L. (2000). The impact of pests and diseases in organic agriculture. Proceedings of the BCPC Conference Pests & Diseases 2000, held in Brighton, UK 13th-16th November 2000: 159-166.

Bibliographische Angabe:

L., Tamm and C., Rentsch and U., Guyer and E., Möisinger (2003) Auswirkungen von PEN, einem Extrakt aus der Biomasse von *Penicillium chrysogenum*, auf Pathogene und Pflanzen. Paper presented at 7. Wissenschaftstagung zum ökologischen Landbau, Wien, 24.2. - 26.2.2003; Published in Bernd, Freyer, Eds. *Beiträge zur 7. Wissenschaftstagung zum ökologischen Landbau: Ökologischer Landbau der Zukunft*, page 137-140. Institut für ökologischen Landbau, Wien

Archiviert unter

<http://orgprints.org/000001016/>