

Wirkungsweise von Myco-Sin bei der Feuerbrandbekämpfung

Stefan Kunz¹, Annegret Ernst²

Abstract

The biocontrol agent Myco-Sin is used as plant health enhancer for fire blight control in ecological fruit growing. Using two *in-vivo*-systems indications for the mechanism of action of Myco-Sin were found. Myco-Sin clearly reduced the development of fire blight symptoms on detached pear blossoms, because the growth of *Erwinia amylovora* on stigmas and hypanthia was inhibited. With a pathogenicity test on immature pear fruits the resistance inducing effect of Myco-Sin was confirmed.

1 Einleitung

Im ökologischen Obstbau wird Myco-Sin zur Feuerbrandbekämpfung eingesetzt. Nachdem das Antibiotikum Plantomycin in Deutschland nicht mehr angewendet werden darf, ist der gesamte Obstbau auf wirksame Alternativen angewiesen, und es werden vermehrt Mittel aus dem ökologischen Anbau verwendet. Bei Versuchen mit künstlicher Inokulation zeigte sich, dass Myco-Sin eine vielversprechende Alternative ist (Römmelt et al., 1999). Mit verschiedenen Testmethoden ergaben sich, in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Applikation, widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der Wirksamkeit von Myco-Sin mit Wirkungsgraden von 0% - 70% (Fried, 1999; Knewitz und Lehn, 1999; Römmelt et al., 1999).

Entscheidend für eine gute Wirkung im Freiland ist sicher die richtige Terminierung der Behandlungen (Berger, 1999). Die von den Prognosemodellen abgeleiteten Behandlungstermine gehen alle von dem Einsatz bakterizid wirkender Mittel aus, zum Beispiel Antibiotika. Andere Wirkungsmechanismen bedingen eine Änderung der Applikationstermine. Mit zwei *in-vivo*-Testmethoden sollte untersucht werden, ob Myco-Sin eine resistenzinduzierende und/oder eine bakterienhemmende Wirkung hat.

2 Material und Methoden

2.1 Populationsentwicklung auf Blüten

Birnenblüten ('Österreichische Weinbirne') wurden in 10% Zuckertlösung gestellt und bei 25° C in feuchten Kammern inkubiert. Auf diese Art blieben die Blüten 6 Tage ohne erkennbare Degeneration. Die Behandlung der Blüten mit den Präparaten erfolgte 2h vor der Inokulation mit *E. amylovora*. Als Kontrolle diente eine unbehandelte nicht inokulierte Variante. Zur Inokulation wurde pro Blüte 1µl einer *E. amylovora* Suspension ($2 \cdot 10^6$ cfu/ml) auf die Narben getropft.

1h und 24h nach der Inokulation wurde die Bakterienkonzentration auf den Narben bestimmt. Danach wurden die Blüten mit Wasser besprüht. Dies sollte einen Regen simulieren, durch den Bakterien von der Narbe auf den Blütenboden gespült werden. Kurz nach dem Besprühen wurde die Bakterienkonzentration auf den

¹ Bio-System GmbH, Löhnerhofstr. 7, D-78467 Konstanz, e-mail: st.kunz@t-online.de

² Gebrüder Schaeette KG, Stahlstr. 5, D-88339 Bad Waldsee, e-mail: ernst@schaeette.de

Blütenböden, weitere 24h später (48h nach der Inokulation) noch einmal auf den Narben und auf den Blütenböden bestimmt.

Von jeder Variante wurden 7d nach der Inokulation Blüten auf Feuerbrandsymptome untersucht. Die Blüten wurden dabei in Befallsklassen eingeteilt (keine Symptome = 0; Blütenboden schwarz = 1; Fruchtknoten schwarz = 2; Blütenstiel schwarz = 3; Austritt von Bakterien Schleim = 4). Blüten, auf denen Pilzmycel zu sehen war, wurden für die Auswertung nicht berücksichtigt.

2.2 Pathogenitätstest mit unreifen Birnen

Pro Versuchsvariante wurden in 2x8 walnussgroße Birnen mit einer Pipettenspitze je 16 Löcher gestanzt. Die Birnen wurden zur angegebenen Zeit in eine Lösung des jeweiligen Präparates getaucht und in einer feuchten Kammer bei 25°C inkubiert. Zur Inokulation wurden die Birnen in eine *E. amylovora* - Suspension ($2 \cdot 10^8$ - $1 \cdot 10^9$ cfu/ml) getaucht. Eine Kontrolle bestand aus unbehandelten, nicht inokulierten Birnen. Als zweite Kontrolle dienten unbehandelte, inokulierte Birnen. Die Birnen wurden täglich (3-6 Tage nach der Inokulation) auf Schwarzfärbung und Exsudatbildung kontrolliert.

3 Ergebnisse

3.1 Etablierung des Erregers auf Blüten

Auf abgeschnittenen Birnenblüten wurde die Entwicklung von Bakterienpopulationen nach der Behandlung mit 1% Myco-Sin, einer Mischung von 1% Myco-Sin und 0,5% Milsana, und 0,06% Plantomycin verfolgt. 1h nach der Inokulation der Blüten mit *E. amylovora* war die Bakterienkonzentration in den behandelten Varianten geringer als in der nicht inokulierten Kontrolle. In der Myco-Sin-Variante lag die Anzahl der Bakterien unter der Nachweisgrenze von 100 Bakterien pro Blüte. 24h und 48h nach der Inokulation stieg die Anzahl der Bakterien in der unbehandelten, inokulierten Variante durch die Vermehrung von *E. amylovora* auf der Narbe stark an. Alle getesteten Präparate hemmen diese Vermehrung von *E. amylovora* deutlich (Abb. 1).

Kurz nach dem Besprühen mit Wasser waren auf den Blütenböden zwischen $5 \cdot 10^4$ und $1 \cdot 10^5$ Bakterien pro Blüte zu finden. Auf unbehandelten Blüten vermehrte sich *E. a.* 385 auf dem Blütenboden sehr stark, was letztlich zum Eindringen in pflanzliche Gewebe führte. Die Behandlung mit Myco-Sin, mit Myco-Sin+Milsana und mit Plantomycin verringerte das Bakterienwachstum (Abb.2).

Bei der Auswertung der Feuerbrandsymptome 7 Tage nach der Inokulation fanden sich in der inokulierten, unbehandelten Variante an 6 von 17 Blüten Bakterien Schleim. Die Feuerbrandsymptome wurden durch alle Präparate deutlich verringert (Tab. 1)

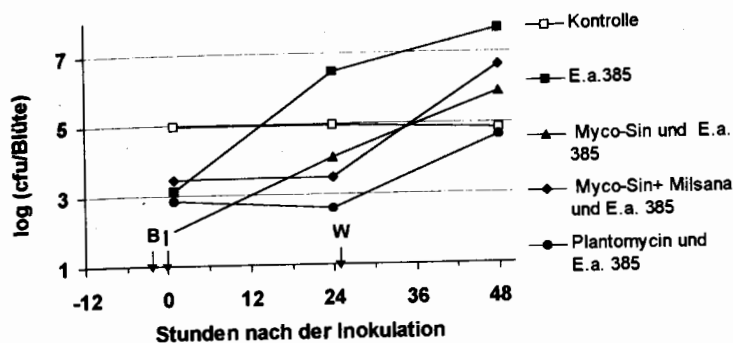


Abbildung 1: Entwicklung der Bakterienpopulationen auf den Narben von Bienenblüten. Unbehandelte und nicht inokulierte Blüten (Kontrolle) im Vergleich mit mit *E. amylovora* inokulierten Blüten. Die inokulierten Blüten waren entweder unbehandelt, mit 1% Myco-Sin, 1% Myco-Sin+0,5% Milsana oder mit 0,06% Plantomycin behandelt. B = Behandlung; I = Inokulation; W = Besprühen mit Wasser.

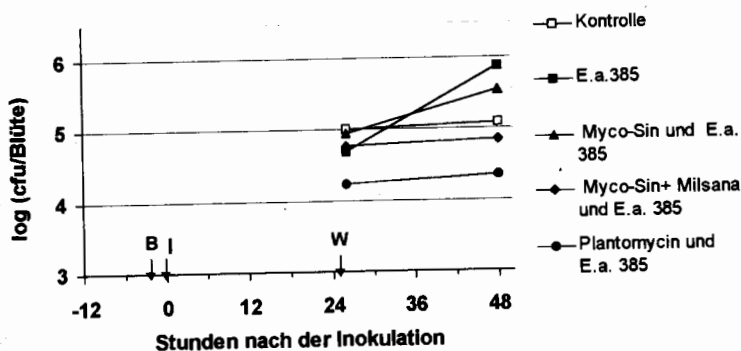


Abbildung 2: Entwicklung der Bakterienpopulationen auf dem Blütenboden von Bienenblüten. Unbehandelte und nicht inokulierte Blüten (Kontrolle) im Vergleich mit mit *E. amylovora* inokulierten Blüten. Die inokulierten Blüten waren entweder unbehandelt, mit 1% Myco-Sin, mit 1% Myco-Sin+0,5% Milsana oder mit 0,06% Plantomycin behandelt. B = Behandlung; I = Inokulation; W = Besprühen mit Wasser.

Tab. 1: Auftreten von Feuerbrandsymptomen an Birnenblüten nach künstlicher Inokulation im Labor.

Behandlung	N ^a	Befall ^b	Wirkungsgrad (%)
unbehandelt, nicht inokuliert	13	0,1	-
unbehandelt	17	1,9	-
1% Myco-Sin	20	0,1	97
1% Myco-Sin + 0,5% Milsana	20	0,6	68
0,06 % Plantomycin	19	0,0	100

^a Anzahl der Blüten

^b Durchschnitt der ermittelten Befallsklassen

3.2 Pathogenitätstest mit unreifen Birnen

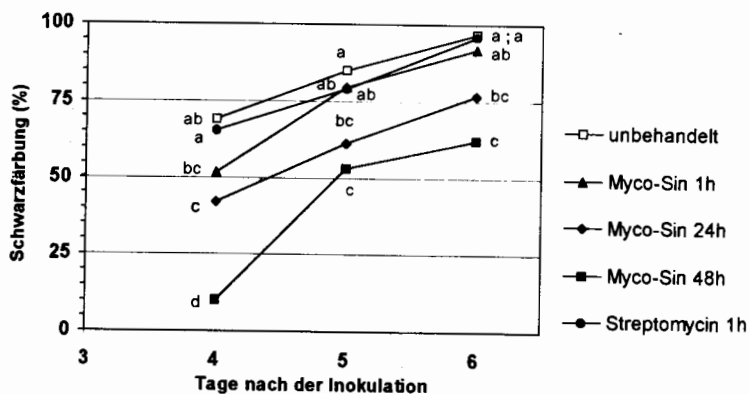


Abbildung 3: Entwicklung von Feuerbrandsymptomen (Schwarzfärbung) auf unreifen Birnen nach Inokulation mit *E. amylovora*. Die Birnen wurden 1h, 24h oder 48h vor der Inokulation in 1% Myco-sin oder 1h vor der Inokulation in 0,02% Streptomycin-Sulfat getaucht. Im Vergleich dazu wurden unbehandelte Birnen ausgewertet. Mittelwerte aus zwei Versuchen mit jeweils 9 Birnen pro Behandlung sind aufgetragen. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) innerhalb eines Auswertzeitpunktes im Mann-Whitney U-Test.

Der verwendete *E. amylovora* Stamm E.a. 385 führte in unbehandelten Birnen
 in
 erh
 alb
 vo

innerhalb von 6 Tagen zu einer Schwarzfärbung von 97% der Oberfläche. Die Tauchbehandlung in 0,02% Streptomycin-Sulfat war wirkungslos. Die Wirkung von 1% Myco-Sin auf die Schwarzfärbung der Birnen war abhängig vom Zeitpunkt der Tauchbehandlung. Die Behandlung 1h vor der Inokulation ergab keine signifikante Reduktion der Schwarzfärbung. Wurden die Birnen 24h oder 48h vor der Inokulation in 1% Myco-Sin getaucht, zeigte sich auch nach 6Tagen noch eine signifikante Wirkung. Mit der Behandlung 48h vor der Inokulation mit *E. amylovora* wurde die beste Wirkung erreicht (Abb. 3).

4 Diskussion

Auf abgeschnittenen Apfel- oder Birnenblüten kann die Entwicklung von Bakterienpopulationen auf den Blütenorganen verfolgt werden (Pusey, 1997). Mit diesem Testsystem zeigte sich, dass Myco-Sin die Vermehrung des Feuerbranderreger hemmt. Diese Hemmung auf der Oberfläche deutet auf eine direkte, bakterizide Wirkung durch den sauren pH-Wert hin, was mit weiteren Laboruntersuchungen in Flüssigmedium und auf Agarplatten bestätigt wurde. Es bleibt zu klären, wie weit der pH-Wert in der Blüte durch eine Behandlung mit Myco-Sin abgesenkt wird und wie lange der pH-Wert auf niedrigem Niveau bleibt.

Im Pathogenitätstest auf unreifen Birnen zeigte sich, dass die Wirkung von Myco-Sin mit zunehmender Zeitspanne zwischen Behandlung und Inokulation erhöht wird. Dies bestätigt die resistenzinduzierende Wirkung des Myco-Sin. Mit 0,02% Streptomycin-Sulfat (Diese Wirkstoffkonzentration entspricht der zur Feuerbrandbekämpfung mit Plantomycin empfohlenen Anwendungskonzentration) war keine Wirkung nachweisbar. Die besten Ergebnisse wurden mit einer frühzeitigen Behandlung mit Myco-Sin erzielt. Die Behandlung mit Myco-Sin 48 h vor der Inokulation führte in den vorliegenden Versuchen zu einem Wirkungsgrad von bis zu 85 %.

5 Literatur

- BERGER, F. (1999): Vergleich verschiedener Systeme (bzw. Modelle) zur Prognose des Feuerbrandes. *Gesunde Pflanzen* 51, 1-9.
- FRIED, A. (1999): Feuerbrand - Bekämpfungsversuche 1998 - Fortsetzung der Prüfung alternativer Mittel zu Plantomycin. *Obstbau* 71-74.
- KNEWITZ, H. und F. LEHN (1999): Feuerbrandbekämpfung - Gibt es Alternativen zu Plantomycin? *Obstbau* 75-76.
- PUSEY, P. L. (1997): Crab apple blossoms as a model for research on biological control of fire blight. *Phytopathology* 87, 1096-1102.
- RÖMMELT, S., J. PLAGGE, D. TREUTTER und W. ZELLER (1999): Untersuchungen zur Bekämpfung des Feuerbrandes (*Erwinia amylovora*) an Apfel mit Gesteinsmehlpräparaten und anderen alternativen Präparaten. *Gesunde Pflanze* 51, 72-74.