

Entwicklung einer Methode zum Wirkungsnachweis resistenzinduzierender Präparate (Pflanzenstärkungsmittel)

Marx, P.¹; Kühne, S.¹; Jahn, M.¹ und Makulla, A.²

Keywords: induced resistance, plant strengthening products

Abstract

*A method for testing the efficacy of products which improve the resistance of plants was developed in the Julius Kühn-Institute. The susceptible radish (*Raphanus sativus*) cultivar 'Saxa 3' was infected with *Peronospora parasitica* isolated in the field. Different plant resistance improvers (PRI) like plant or algal extracts were tested compared to aqua dest. as control and β -aminobutyric acid (BABA) as a standard. PRI were sprayed twice on intact plants (BBCH 10: Cotyledons completely unfolded; growing point or true leaf initial visible). 24 h, 48 h or 72 h after the last application with PRI, the plants were inoculated with *P. parasitica*. 10 to 14 days after inoculation, the concentration of spore suspension from cotyledons was determined. The efficacy of all tested products was shown. Optimum time lags between two PRI applications as well as last application and inoculation were defined. This method is useful as a standard method in the lab to test the efficacy of products for improving the resistance of plants.*

Einleitung und Zielsetzung

Pflanzenstärkungsmittel wirken über Mechanismen der induzierten Resistenz. Deren Wirkung konnte bisher nur anhand molekularbiologischer Methoden nachgewiesen werden. Während einerseits die Verfügbarkeit von Pflanzenstärkungsmitteln stark zugenommen hat, wächst andererseits bei den Anwendern die Unsicherheit, ob Pflanzenstärkungsmittel in der Praxis eine ausreichende Wirksamkeit zeigen. Im Julius Kühn-Institut wurden im Auftrag des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) Untersuchungen zur Entwicklung einer Methode zum Wirkungsnachweis resistenzinduzierender Pflanzenstärkungsmittel durchgeführt. Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand dabei die Entwicklung einer praktikablen, leicht handhabbaren Methode mit universeller Durchführbarkeit.

Nach umfangreichen Voruntersuchungen mit verschiedenen Wirt-Pathogen-Systemen erwies sich die Kultur Radies (*Raphanus sativus*) in Verbindung mit dem Schaderreger Falscher Mehltau (*Peronospora parasitica*) als das am besten geeignete Prüfsystem. In mehreren Schritten wurden die Versuchsdurchführung modifiziert und optimale Parameter bestimmt.

Methoden

Der Test erfolgte im Keimblattstadium. Geprüft wurden verschiedene Pflanzenextrakte, Algenpräparate oder anorganische Salze im Vergleich zu einem Standard

¹ JKI, Stahnsdorfer Damm 81, 14532 Kleinmachnow, Deutschland, stefan.kuehne@jki.bund.de, www.jki.bund.de

² BVL, Messeweg 11/12, 38104, Braunschweig, Deutschland, alexandra.makulla@bvl.bund.de, www.bvl.bund.de

(β -Aminobuttersäure (BABA), 5 mM) und zu einer Kontrolle (aqua dest.). Beispielhaft erfolgt hier die Darstellung des Tests mit einem Pflanzenextrakt. Die Pflanzen wurden mit je 0,5 ml Lösung/Pflanze zweimal durch Besprühen behandelt; sieben Tage nach der Aussaat erfolgte die erste, nach elf Tagen die zweite Anwendung des Extraktes bzw. Standard und Kontrolle.

Die Pflanzen der drei Varianten wurden anschließend in jeweils drei Gruppen unterteilt. Jede Gruppe wurde 24, 48 oder 72 Stunden nach der letzten Applikation der Prüfsubstanzen mit einer Sporensuspension der Dichte $2 \cdot 10^4$ Sporen ml^{-1} inokuliert.

Anschließend wurde regelmäßig die Entwicklung der Sporulation verfolgt. Bei einer sichtbaren Sporulation in den Kontrollen auf etwa 50 % der Keimblattfläche (in der Regel 10 bis 14 Tage nach Inokulation) erfolgte die Auswertung. Dazu wurde aus den befallenen Keimblättern eine Sporensuspension gewonnen und deren Dichte bestimmt. Von jeder Wiederholung und Variante erfolgte zehnmal die Entnahme eines Aliquot, von dem dreimal die Sporen gezählt wurden. Für die statistische Auswertung wurde der Median (mittlerer Wert aus den drei Zählungen der Sporenkonzentration) je Wiederholung berechnet. Zum Vergleich jeweils zweier Varianten (Kontrolle vs. BABA, Kontrolle vs. Präparat und BABA vs. Präparat) wurde der Mann-Whitney-Test (Wilcoxon-Test für 2 Stichproben) unter Verwendung der t-Approximation zum Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ (zweiseitig) durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Insgesamt konnte unter Berücksichtigung der entsprechenden Versuchsp Parameter eine Reduktion der Dichte der Sporensuspension in den behandelten Varianten im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden. Im Ergebnis zeigten sich deutliche Unterschiede: In der Kontrolle war die Dichte der Sporensuspension aus befallenem Keimblattmaterial in allen drei Gruppen (24, 48 und 72 Stunden) am höchsten (12.500, 10.000, 12.000 Sporen ml^{-1}). Etwas niedriger war die Dichte in der Prüfpräparat-Variante der 24 Stunden-Gruppe (10.000 Sporen ml^{-1}) und deutlich niedriger in den Gruppen 48 und 72 Stunden (5.000, 2.500 Sporen ml^{-1}). Die BABA-Variante wies in der Gruppe 24 Stunden (2.500 Sporen ml^{-1}) und 48 Stunden (Null Sporen ml^{-1}) die geringste Dichte auf. In der Gruppe 72 Stunden wurden 5.000 Sporen ml^{-1} gemessen. Für die Gruppen 24 und 72 Stunden sind die Unterschiede bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % signifikant.

In dem getesteten Wirt-Pathogen-System Radies-Falscher Mehltau war die Bestimmung der Dichte der Sporensuspension aus befallenem Keimblattmaterial sehr gut geeignet, um Unterschiede zwischen den Varianten herauszustellen. Insgesamt konnte unter Berücksichtigung der entsprechenden Versuchsp Parameter eine Reduktion der Sporendichte in der Präparatvariante im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden.

Für das geprüfte Wirt-Pathogen-System wurden die Sorte, die Anzucht der Kulturpflanzen, die Haltung der Stammkultur, die Anwendung der Präparate sowie Anwendungsabstände, Inokulumdichten, Zeitabstände zwischen Inokulation und Behandlung sowie Boniturverfahren definiert.

Nach der Publikation der Methode steht diese anderen Einrichtungen zur Verfügung, so dass deren Zuverlässigkeit umfangreich geprüft werden kann. Mit dieser Methode steht erstmalig ein standardisierbares Ganzpflanzen-Testsystem für einen Wirkungsnachweis resistenzinduzierender Präparate zur Verfügung.