

Saatgutbehandlung mit *Pochonia chlamydosporia* an *Phacelia tanacetifolia* zur Bekämpfung von *Meloidogyne hapla*

Jana Uthoff¹, Desiree Jakobs-Schönwandt¹, Jan Henrik Schmidt², Johannes Hallmann², Karl-Josef Dietz³, Anant Patel¹

Keywords: seed treatment, biological control, crop rotation, *Meloidogyne hapla*, intercrop

Abstract

The diversification of crop rotations by integrating green manures plays an essential role in agroecosystem sustainability. For example, *Phacelia tanacetifolia* is a common preceding crop in potato production due to its fine root system improving soil tilth. However, *P. tanacetifolia* can also serve as a host plant for several species of plant-parasitic nematodes, including *Meloidogyne hapla*. Seed coating of *P. tanacetifolia* with potentially endophytic fungi such as *Pochonia chlamydosporia* could be a promising option for regulating these plant-parasitic nematodes. However, maintaining the germination capacity of the seed while establishing *P. chlamydosporia* on the plant is challenging. Here, we ask whether (i) *P. chlamydosporia* can be successfully applied via seed coating and (ii) the establishment of *P. chlamydosporia* in the substrate leads to a reduction of *M. hapla*. For this, *P. chlamydosporia* blastospores were applied to seeds of *P. tanacetifolia* in different coating materials and, after drum drying, were evaluated for their biocontrol effect on *M. hapla* in greenhouse experiments. Subsequently, the substrate pretreated with *P. chlamydosporia* and *M. hapla* was used in a bioassay on tomato to simulate the effect in a crop rotation. The multiplication of *M. hapla* by *P. chlamydosporia* was reduced by up to 95.6% compared to the untreated control. On average, 20% of the eggs were parasitized with *P. chlamydosporia*. Concomitantly, the gall index of the subsequent crop, tomato, was lower in treatments with *P. chlamydosporia*. Ongoing experiments with potato plants will show whether *P. chlamydosporia* can reduce other plant-parasitic nematode species and thus be effective for biological nematode control in a potato crop rotation.

Einleitung und Zielsetzung

Pflanzenparasitäre Nematoden (PPN) verursachen große wirtschaftliche Schäden an Nutzpflanzen und führen zu Ernteverlusten bei zahlreichen Kulturpflanzen (Nicol et al. 2011). Zur Reduktion der PPN können Antagonisten in Saatgutbehandlungen als biologische Bekämpfungsmittel eingesetzt werden. *Pochonia chlamydosporia* ist hierfür hervorragend geeignet, da dieser Nutzpilz verschiedene Nematodengattungen wie *Globodera*, *Heterodora* und *Meloidogyne* parasitieren und damit reduzieren kann (Ciancio et al. 2016). *Phacelia tanacetifolia* ist eine gängige Zwischenfrucht zur Gründüngung (Martina et al. 2017) und unterdrückt die Entwicklung und Bedeckung von Durchwuchs und Unkräutern (Brant et al. 2009, Schappert et al. 2019), was die Reduzierung der Wirtsunkräuter für PPN unterstützt. Folglich ist unsere Hypothese, dass die Anwendung von *P. chlamydosporia* als Saatgutbehandlung an *P. tanacetifolia*

¹Fachhochschule Bielefeld, Interaktion 1, 33619 Bielefeld, Deutschland, jana.uthoff@fh-bielefeld.de, www.fh-bielefeld.de ²Julius Kühn-Institut - Bundesforschungszentrum für Kulturpflanzen, Messeweg 11/12, Braunschweig, Deutschland ³Universität Bielefeld -Biochemie und Physiologie der Pflanzen, Universitätsstraße 25, Bielefeld, Deutschland

die Anzahl der Nematodeneier in der Zwischenfrucht durch Parasitismus reduziert und die Nematodenvermehrung verhindert, wodurch der Befallsdruck in der Folgekultur verringert wird.

Methoden

P. chlamydosporia Pilzsporen wurden in Kartoffel-Dextrose-Brühe sieben Tage bei 26°C und 150 U/min kultiviert. Pilzmyzel und Sporen wurden durch Filtration getrennt. Die Sporensuspension wurde zweimal in sterilem Leitungswasser gewaschen und in 0,9% Natriumchlorid resuspendiert. Die Saatgutbehandlungen erfolgten im Labor an der FH Bielefeld bzw. als Mantelsaat® durch die Firma Feldsaaten Freudenberg GmbH & Co.KG, Krefeld. Um die Hypothesen zu untersuchen, wurde eine Fruchtfolge im Gewächshaus simuliert. Zunächst wurde *P. tanacetifolia* in zehn Töpfen mit zehn Samen pro Topf mit und ohne Saatgutbehandlung mit *P. chlamydosporia* in einem mit *M. hapla* verseuchten Substrat (Sand-Vermiculit (v:v, 4:1), 0,125% Osmocoote Düngung, 600 ml) angezogen (6 Varianten). Nach acht Wochen wurde der oberirdische Aufwuchs von *P. tanacetifolia* entfernt und die *M. hapla* Eier aus den Wurzeln isoliert. 200 ml des Substrats wurden in Faltschachteln überführt und mit vier Wochen alten Tomatenpflanzen bepflanzt. Zur Bestimmung der Wurzelschäden an den Tomaten wurde nach 50 Tagen der Gallindex gemäß Bridge und Page (1980) visuell erfasst.

Ergebnisse und Diskussion

Die Vermehrung von *M. hapla* durch *P. chlamydosporia* wurde in beiden Gewächshausversuchen im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle reduziert (Tabelle 1 und 2). Durch die Saatgutbehandlung FH Bi mit *P. chlamydosporia* im ersten Experiment konnten 37 % der *M. hapla* Eier parasitiert werden und somit im Vergleich zur Kontrolle ohne *P. chlamydosporia* die Gesamtanzahl der Eier in *P. tanacetifolia* um 95,6% und der Gallindex in der Folgefrucht Tomate signifikant reduziert werden (Tabelle 1). Im zweiten Experiment konnten insgesamt deutlich weniger der *M. hapla* Eier durch *P. chlamydosporia* parasitiert werden. Dennoch wurde die Gesamtanzahl der Eier in *P. tanacetifolia* um 29,3% bzw. 49,5 % reduziert (Tabelle 2). Der Gallindex der Folgefrucht Tomate zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede. De Leij et al. (1993) fanden in ihren Experimenten heraus, dass fünfzig Tage nach der Inokulation mit *M. hapla*-Juvenilen sowohl die Eier als auch die Juvenilen an Tomatenwurzeln durch *P. chlamydosporia* reduziert waren. Siddiqui et al. (2009) zeigten für verschiedene Isolate von *P. chlamydosporia* ebenfalls variables Potential zur Parasitierung von *M. hapla* und *Globodera pallida*, abhängig von deren Herkunft und den Biotopen. Weiterhin sind diverse Schlüsselfaktoren, die die Wirksamkeit einer Formulierung mit *P. chlamydosporia* gegen PPN beeinflussen, beschrieben (Stirling, 2014). Die dargestellten Experimente sind zu unterschiedlichen Jahreszeiten durchgeführt worden, wodurch Temperatur und Lichtverhältnisse nicht identisch waren. Der Hauptunterschied der Experimente liegt jedoch in der Anzahl vitaler Sporen/Samen. In Experiment I sind etwa vier Mal so viele vitale Sporen/Samen ausgebracht worden als in Experiment II. Demnach scheint es als wäre eine Mindestmenge vitaler Sporen am Saatgut notwendig, um eine Parasitierung der *M. hapla* Eier durch *P. chlamydosporia* zu gewährleisten. Bontempo et al. (2017) beschreiben eine solche Dosis-Wirkungsabhängigkeit für *P. chlamydosporia* gegen *Meloidogyne incognita* an Karotten unter Freilandbedingungen. Demnach ist eine Menge von mindestens 3 kg/ha der Pulverformulierung Rizotec® mit *P. chlamydosporia* Chlamydosporien (Rizoflora Biotechnologia S.A., Brasilien) notwendig, um die Population von *M. incognita* zu reduzieren und die Qualität und den Ertrag von Karotten zu steigern. Ein solcher

Zusammenhang ist ebenfalls für *P. chlamydosporia* Blastosporen zu erwarten und kann als weitere Begründung für die Unterschiede der hier dargestellten Experimente herangezogen werden.

Tabelle 1: Gesamtanzahl Eier, Anzahl und Anteil parasitierter Eier und prozentuale Reduktion vom *M. hapla* (MH) an der Zwischenfrucht *P. tanacetifolia* nach acht Wochen sowie Gallindex der Tomatenpflanzen nach acht Wochen aus Experiment I (Mittelwert \pm Standardfehler, n=10, Kruskal-Wallis-Test mit gepaartem Wilcoxon-Test als posthoc Test ($p < 0,05$)).

	Gesamtanzahl MH-Eier	davon parasitierte MH-Eier	Anteil parasitierter MH-Eier (%)	Mittlere Reduktion der MH-Eier im Vgl. zur Kontrolle (%)	Gallindex der Tomatenpflanzen
ohne <i>P. chlamydosporia</i>	10.962 \pm 3.201 ^a	1.017 \pm 349 ^a	9 \pm 1 ^a	-	2,6 \pm 0,5 ^a
<i>P. chlamydosporia</i> inokuliert als Sporensuspension	2.683 \pm 1.194 ^b	447 \pm 192 ^{ab}	21 \pm 6 ^{ab}	75,5	2,3 \pm 0,6 ^a
Saatgutbehandlung FH Bi mit <i>P. chlamydosporia</i>	485 \pm 122 ^c	114 \pm 25 ^b	37 \pm 11 ^b	95,6	0,9 \pm 0,3 ^b

Tabelle 2: Gesamtanzahl Eier, Anzahl und Anteil parasitierter Eier und prozentuale Reduktion vom *M. hapla* (MH) an der Zwischenfrucht *P. tanacetifolia* nach acht Wochen sowie Gallindex der Tomatenpflanzen nach acht Wochen aus Experiment II (Mittelwert \pm Standardfehler, n=10, generalized linear model, forward selection ($p < 0,05$)).

	Gesamtanzahl MH-Eier	davon parasitierte MH-Eier	Anteil parasitierter MH-Eier (%)	Mittlere Reduktion der MH-Eier im Vgl. zur Kontrolle (%)	Gallindex der Tomatenpflanzen
ohne <i>P. chlamydosporia</i>	15.074 \pm 2.270 ^a	180 \pm 46 ^a	1,06 \pm 0,17 ^a	-	3,6 \pm 0,7 ^a
<i>P. chlamydosporia</i> als Sporensuspension	11.206 \pm 3.151 ^a	194 \pm 47 ^A	2,38 \pm 0,5 ^A	25,7	2,8 \pm 0,9 ^a
Saatgutbehandlung FH Bi ohne <i>P. chlamydosporia</i>	11.337 \pm 2.370 ^a	214 \pm 55 ^b	2,3 \pm 0,8 ^b	24,8	4,4 \pm 0,4 ^a
Saatgutbehandlung FH Bi mit <i>P. chlamydosporia</i>	10.658 \pm 3.464 ^a	180 \pm 83 ^B	1,7 \pm 0,5 ^B	29,3	3,6 \pm 0,6 ^a
Saatgutbehandlung Mantelsaat® ohne <i>P. chlamydosporia</i>	14.625 \pm 4.298 ^a	144 \pm 44 ^c	1,0 \pm 0,4 ^c	2,8	3,1 \pm 0,5 ^a
Saatgutbehandlung Mantelsaat® mit <i>P. chlamydosporia</i>	7.669 \pm 1.809 ^a	91 \pm 30 ^B	1,7 \pm 0,8 ^B	49,1	3,4 \pm 0,5 ^a

Schlussfolgerungen

P. chlamydosporia ist ein vielversprechender Kandidat in der biologischen Bekämpfung von PPN. Die Saatgutbehandlungen mit *P. chlamydosporia* reduzierten die *M. hapla* Eier effektiver als die Sporensuspension. Die Verbesserung der Vitalität der Sporen am Samen für eine konstante (Wurzel-)Besiedelung von *P. chlamydosporia* im Boden muss angestrebt werden. Dadurch wäre es möglich, ein zuverlässiges Produkt für den ökologischen Landbau auf den Markt zu bringen, das Schäden an Kulturpflanzen durch Nematoden präventiv reduziert.

Danksagung

Unser Dank gilt Ute-Christina Mertens für die technische Unterstützung bei der Durchführung der Versuche. Weiterhin bedanken wir uns bei Feldsaaten Freudenberger GmbH & Co.KG für die Bereitstellung von Saatgut sowie der Produktion der Mantelsaat® in unterschiedlichsten Varianten. Diese Arbeit ist Teil des Projektes FORK und wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF, FKZ: 13FH118PA8) finanziert.

Literatur

- Bontempo AF, Lopes EA, Fernandes RH, et al (2017) DOSE-RESPONSE EFFECT OF *Pochonia chlamydosporia* AGAINST *Meloidogyne incognita* ON CARROT UNDER FIELD CONDITIONS. *Rev Caatinga* 30:258–262. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n129rc>
- Brant V, Neckář K, Pivec J, et al (2009) Competition of some summer catch crops and volunteer cereals in the areas with limited precipitation. *Plant Soil Environment* 55:17–24. doi:10.17221/378-PSE
- Bridge J, Page SLJ (1980) Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. *Tropical Pest Management* 26:296–298. doi:10.1080/09670878009414416
- Ciancio A, Colagiero M, Pentimone I, Rosso LC (2016) Formulation of *Pochonia chlamydosporia* for plant and nematode management. In: Arora NK, Mehnaz S, Balestrini R (eds) *Bioformulations: for Sustainable Agriculture*. Springer India, New Delhi, pp 177–197
- De Leij FAAM, Kerry BR, Dennehy JA, (1993) *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pot and micro-plot tests. *Nematologica* 39:115-126.
- Martina H, Vojtěch L, Vladimír S (2017) Yield and soil coverage of catch crops and their impact on the yield of spring barley. *Plant Soil Environment* 63:195–200. doi:10.17221/801/2016-PSE
- Nicol JM, Turner SJ, Coyne DL, et al (2011) Current nematode threats to world agriculture. In: Jones J, Gheysen G, Fenoll C (eds) *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 21–43
- Schappert A, Linn AI, Sturm DJ, Gerhards R (2019) Weed suppressive ability of cover crops under water-limited conditions. *Plant Soil Environment* 65:541–548. doi:10.17221/516/2019-PSE
- Siddiqui IA, Atkins SD, Kerry BR (2009) Relationship between saprotrophic growth in soil of different biotypes of *Pochonia chlamydosporia* and the infection of nematode eggs. *Annals of Applied Biology* 155:131–141. doi:10.1111/j.1744-7348.2009.00328.x
- Stirling GR (2014) *Biological Control of Plant-parasitic Nematodes*, 2nd Edition, Soil Ecosystem Management in Sustainable Agriculture, Chapter 12, pp 363-365, Biological Crop Protection Pty Ltd, Brisbane, Australia, ISBN: 978 1 78064 415 8