

**Wirkung von Siproplant® auf die allgemeine Widerstandsfähigkeit
am Beispiel von Falschem Mehltau (*Peronospora parasitica*) im
Winterraps**

Abschlussbericht

16.03.2018

Auftraggeber:
Witteler GmbH & Co. KG
Heidberg 92
59602 Rüthen

Ausführung:
Ingenieurbüro Roderich Garmeister
Feldmühlenweg 35
59494 Soest

1 Einleitung:

Biologische Stoffe als Pflanzenhilfsmittel nehmen in der öffentlichen Wahrnehmung eine seit Jahren steigende Bedeutung ein.

Zu den Parametern eines nachhaltigen, ökologisch vertretbaren Landbaus zählen die Wirksamkeit und Aufwandmenge sowohl als auch Umweltauswirkungen von Pflanzenhilfs-, Pflanzenstärkungs- bis hin zu Pflanzenschutzmitteln.

Wirksamkeit und Aufwandmenge sind direkt mitbestimmend für die Behandlungs- und somit für die Produktionskosten.

Die Umweltauswirkungen von Rückständen sind in den geltenden Rechtsnormen behandelt ^{[1], [2]}.

Siproplant ® ist ein mineralisches Pflanzenstärkungsmittel mit spezifischer Zusammensetzung und definiertem Vermahlungsgrad.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war, die Widerstandskraft von Winterraps in einer Blattapplikation am Beispiel des pilzlichen Schaderregers *Peronospora parasitica* zu testen.

Als Vergleich diente neben einer nicht behandelten Variante auch eine Variante, die mit dem Wirkstoff *Dimethomorph* gebeizt worden war.

2 Material und Methoden:

2.1 Material

2.1.1 Prüfmateriale

- *Dimethomorph*, Hersteller BASF SE
- *Siproplant*®, Hersteller "Witteler GmbH & Co. KG"

2.1.2 Probenmateriale

- Versuchssaatgut Sommerraps *Wotan* der „Deutschen Saatgutveredelung AG"

2.1.3 Schadorganismus

- *Peronospora parasitica* (Falscher Mehltau), isoliert von befallenem Ausfallraps im Feld

2.1.4 Sonstiges Material

- Laborfeinwaage, Fa. Möbius
- Petrischalen, Glas, Ø 90 mm
- Pinzette
- Laborrüttler, Fa. GFL
- Magnetrührer, Fa. WiseStir
- Rührfischchen
- Messzylinder, 25 ml
- Autoklav
- Lichtmikroskop, Fa. Leica
- Kamera, Fa. Canon
- Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal
- Sprühflasche mit Sprühaufsatz, 500 ml
- Pipetten und Pipettenspitzen 100 µl und 20 µl
- Multitopfplatten à 51 Töpfchen mit Untersatz
- Pikierstab
- Einheitserde, Fa. Gebr. Patzer
- Bechergläser, 100 ml
- Becherglas 1000 ml
- Mini-Gewächshaus, 40 X 60 cm², Fa. Meyer, mit Bodenschale und Deckel
- Sprühflasche, PE, 1000 ml
- Punktiernadel
- Klimakammer

2.2 Methoden

2.2.1 Varianten

Es wurden folgende Varianten erstellt (Tabellen 1 und 2):

- Kontrolle (unbehandelt, nicht infiziert)
- 0-Variante (keine Behandlung, jedoch infiziert)
- Blattapplikation (umgerechnet ca. 2l/ha Siproplant ®, anschließend Infektion mit Falschem Mehltau)
- Beizung mit Dimethomorph, anschließend Infektion mit Falschem Mehltau

Tab. 1: *Blockbildung*

	1. Wdh.	2. Wdh.
Block 1 (Referenz)	111	112
Block 2 (0-Variante)	211	212
Block 3 (Blattapplikation)	221	222
Block 4 (Dimetomorph)	231	232

Tab. 2: *Zuordnung der Ziffern zu den Varianten*

1.Ziffer	Okkulation		1 = nein	2 = ja	
2.Ziffer	Applikation		1 = nein	2 = Blatt	3 = DMM
3.Ziffer	Wiederholung		1	2	
Wiederholung = 51 Pflanzen in einer Multitopfplatte					

Die Berechnung der Ausbringungsmengen für diesen Versuch erfolgte nach Vermessung der Töpfchen nach

$$\begin{aligned} \varnothing &= 5,5\text{cm} \\ r &= 2,25\text{cm} \\ A &= 2\pi \cdot 2,25^2\text{cm}^2 \\ A &\approx 32\text{cm}^2 \approx 3,2 * 10^{-7}\text{ha} \end{aligned}$$

Bei 51 Töpfchen pro Multitopfplatte ergibt sich eine Fläche von $1,632 * 10^{-5}$ ha.

Die erforderlichen Mengen wurden mit dem Spatel entnommen, im Becherglas mit je ½ l aqua dest. gemischt, mit aqua dest. auf die erforderliche Aufwandmenge gebracht und gleichmäßig versprüht.

Bei der Beizung wurde auf eine Ummantelung, z.B. mit Talcum, verzichtet, da die gebeizten Körner unmittelbar nach Beizung einzeln mit der Pinzette pikiert wurden und eine staubarme und abriebfreie Oberfläche nicht notwendig war.

Jede Variante wurde in je einer Multitopfplatte in Einheitserde ausgebracht. Die Töpfchen wurden mehrfach besät und nach dem Auflaufen bei Bedarf umpikiert, um bei ungleichmäßigem Auflaufen durch Umpikieren die Anzahl von 51 Pflanzen je Variante zu erhalten.

Die Multitopfplatten wurden in die Bodenschalen der Minigewächshäuser gestellt und offen im Gewächshaus zur Auskeimung belassen.

Nach dem Auflaufen erfolgte das Umpikieren, so dass jedes Töpfchen mit einer Pflanze belegt war.

2.2.2 Inokulation

Die Erreger von Falschem Mehltau lassen sich nicht in Kultur halten. Daher ist man im Allgemeinen, insbesondere bei Feldversuchen, auf den natürlichen Befall angewiesen. Es wird auch durch Aufstellen infizierter Pflanzen versucht, den Infektionsdruck zu erhöhen ^[3].

Ein Abwaschen von Sporen und anschließende Sprühinokulation mit der Waschlösung ist ebenfalls möglich. Allerdings muss hierfür genügend infiziertes Pflanzenmaterial vorliegen.

Falscher Mehltau tritt im Raps bei Jungpflanzen (Jugendblätter) auf und bildet auf diesen das typische Myzel auf der Blattunterseite ^[4].

Zur Sporenvermehrung wurde daher auf umgebrochenen Rapsfeldern nach infiziertem Ausfallraps gesucht. Dieser wurde geerntet, die Blätter wurden in, bei 121°C für 20 Minuten sterilisiertem aqua dest. im Becherglas gewaschen. Mit der gesiebten Lösung wurden Rapspflanzen im Keimblattstadium besprüht, die zuvor in einem Minigewächshausboden auf Einheitserde großzügig ausgesät worden waren.

Die Pflanzen wurden über zehn Tage bei ca. 7°C gehalten, bis auf einer hinreichend großen Anzahl ein ausgeprägter Myzelrasen ausgebildet war.

Diese Pflanzen wurden wie die Ausfallpflanzen geerntet und bei -20 °C tiefgefroren. Zur Inokulation wurden sie aufgetaut, abgewaschen und die Waschlösung gesiebt, so dass eine Suspension entstand, in der überwiegend die nichtsexuellen Sporen (Konidien) enthalten waren.

Unter dem Lichtmikroskop wurde die Konidienzahl auf 40 000 pro ml eingestellt.

Die Versuchspflanzen wurden mit der frischen Konidienlösung gleichmäßig besprüht, wobei jeweils 1/2 Liter pro Multitopfplatte verwendet wurde.

In vergangenen Versuchen konnte so bei den unbehandelten Referenzen eine Infektionsrate von nahezu 100% erzielt werden.

Die Minigewächshäuser wurden geschlossen und bei 15°C in der Klimakammer mit einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 14 zu 10 Stunden mit einer Beleuchtungsstärke von ca. 6800 lx inokuliert.

2.2.3 Bonitur

Es erfolgten insgesamt zwei Bonituren an den Tagen 10 p.i. und 15 p.i. .

In Adaption einer Methode nach Krüger wurde folgendes Boniturchema verwendet:

Tab. 3: *Boniturchema nach Krüger, adaptiert*^[5]

Boniturnwerte 1. Bonitur	% der befallenen Blattfläche
1	0
2	1 – 25
3	26 – 50
4	51 – 75
5	76 – 100

Der Idealfall einer Bonitur in diesem Versuch ist: „Keine Pflanze hat Symptome“. Dies führt zu einem einzigen 100%-Balken auf der Stufe 1.

Der schlechteste Fall ist: „Die Blattoberfläche aller Pflanzen ist zu 100 % befallen“, was dementsprechend zu einem einzigen 100 %-Balken pro Bonitur auf Stufe 5 führt.

Erwartungsgemäß wird stattdessen näherungsweise eine Verteilung auftreten, deren Maximum sich bei der ersten Bonitur auf der linken Seite befindet und sich zur zweiten Bonitur nach rechts bewegt hat.

Je stärker dann die Verteilungsdichte auf der Stufe 5 liegt, desto schwerer ist der Infektionsverlauf.

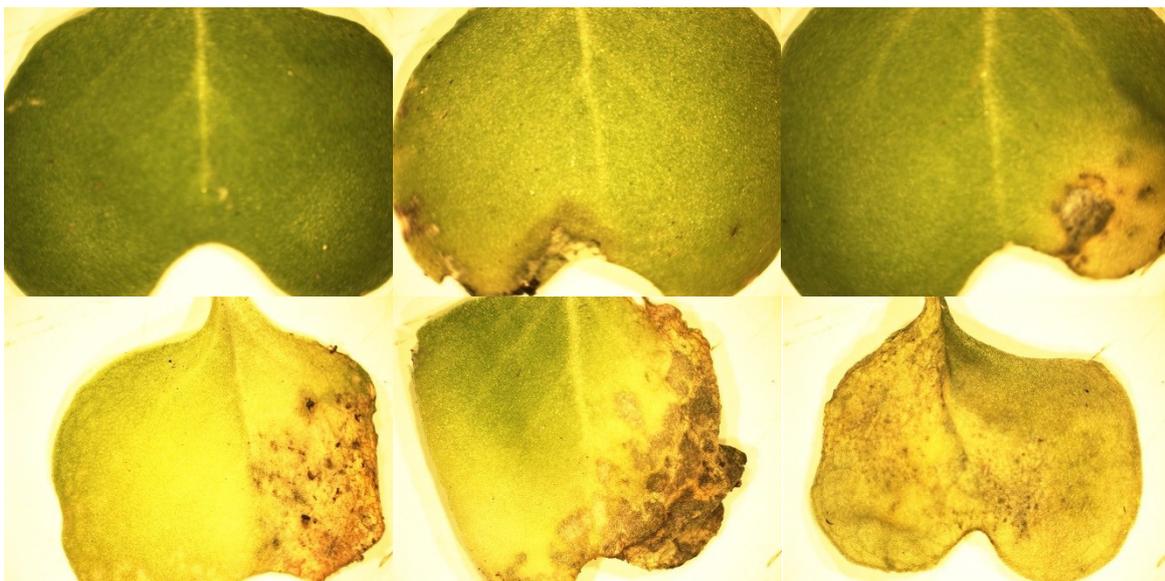


Abb. 1: Infizierter Raps mit den Boniturstufen 1, 2a, 2b, 3, 4, 5 (von links oben nach rechts unten).

3 Ergebnisse:

3.1 Bonituren

3.1.1 Erste Bonitur

Tab. 4: *Boniturwerte der ersten Bonitur*

1. Bonitur:	1	2	3	4	5	
Normiert	0,00	1-25%	26-50%	51-75%	76-100%	Prozent
111 Referenz	80,22	19,78	0,00	0,00	0,00	100
112 Referenz	83,70	16,30	0,00	0,00	0,00	100
211 0-Variante	61,76	33,33	4,90	0,00	0,00	100
212 0- Variante	61,00	34,00	3,00	0,00	2,00	100
221 Blattapplikation	66,67	32,29	1,04	0,00	0,00	100
222 Blattapplikation	73,53	24,51	1,96	0,00	0,00	100
231 Dimethomorph	71,43	26,37	2,20	0,00	0,00	100
232 Dimethomorph	63,89	33,33	0,00	2,78	0,00	100

Tab. 5: *Mittelwerte der ersten Bonitur*

1. Bonitur:	1	2	3	4	5	
Normiert, Durchschnitt	0	1-25%	26-50%	51-75%	76-100%	Prozent
111 Referenz	82	18	0	0	0	100
211 0-Variante	61	34	4	0	1	100
221 Blattapplikation	70	28	2	0	0	100
231 Dimethomorph	68	30	1	1	0	100

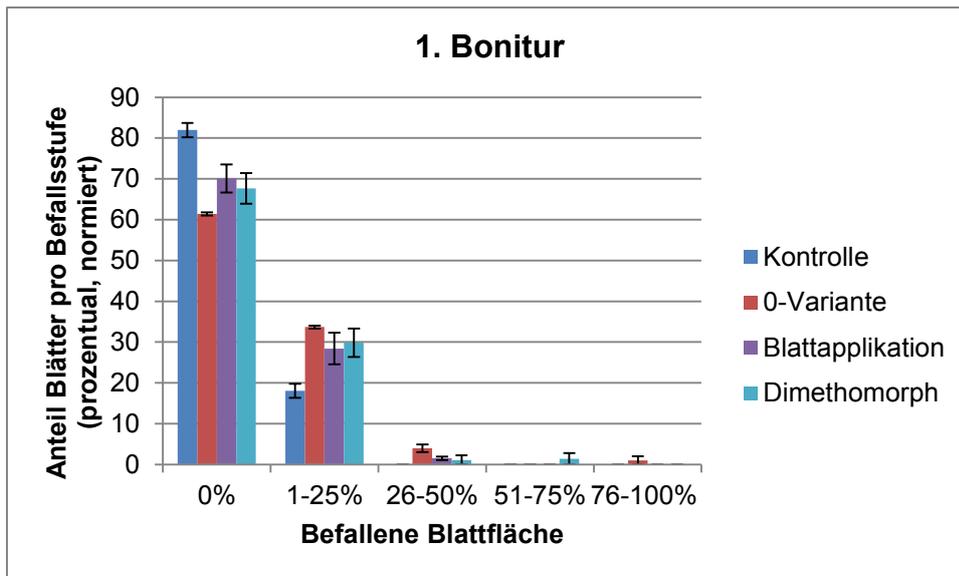


Abb.2: Übersichtsdarstellung der 1. Bonitur

Die Grafiken der Einzeldarstellung wurden so gestaltet, dass jeweils die 0-Var und DMM gegen eine der Varianten dargestellt ist.

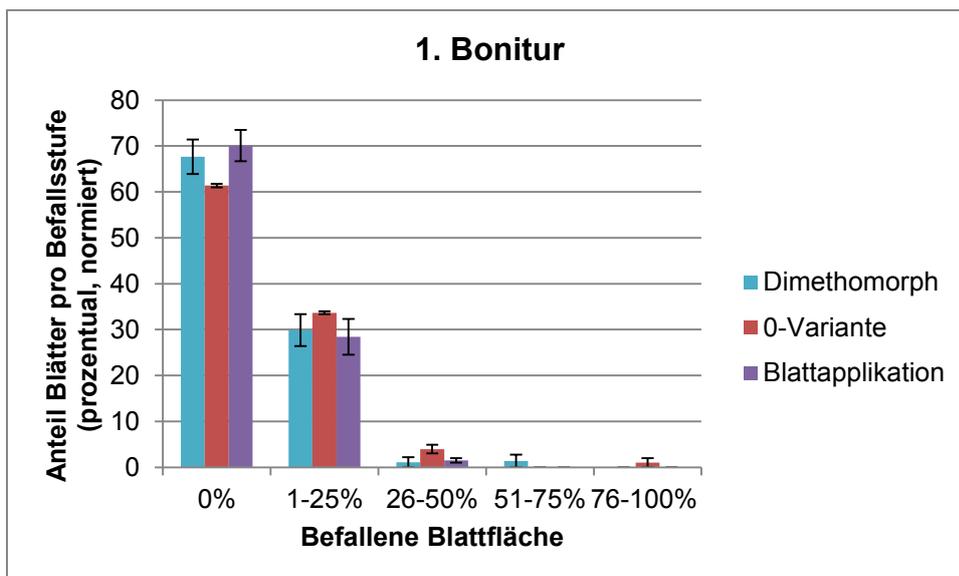


Abb.3: Vergleichsdarstellung der 1. Bonitur mit den Referenzen und **Siproplant®**

3.1.2 Zweite Bonitur

Die zweite Bonitur ergab die in **Tabelle 6** dargestellten Werte. Die Darstellung entspricht derjenigen in Kapitel **3.1.1**.

Tab. 6: Boniturwerte der zweiten Bonitur

2. Bonitur:	1	2	3	4	5	
Normiert	0,00	1-25%	26-50%	51-75%	76-100%	Prozent
111 Referenz	66,67	32,22	1,11	0,00	0,00	100
112 Referenz	76,09	21,74	2,17	0,00	0,00	100
211 0-Variante	32,91	49,37	13,92	2,53	1,27	100
212 0- Variante	20,51	66,67	7,69	5,13	0,00	100
221 Blattapplikation	60,47	36,05	3,49	0,00	0,00	100
222 Blattapplikation	63,74	30,77	5,49	0,00	0,00	100
231 Dimethomorph	82,22	15,56	2,22	0,00	0,00	100
232 Dimethomorph	79,63	16,67	2,78	0,93	0,00	100

Tab. 7: Mittelwerte der zweiten Bonitur

2. Bonitur:	1	2	3	4	5	
Normiert, Durchschnitt	0	1-25%	26-50%	51-75%	76-100%	Prozent
111 Referenz	71	27	2	0	0	100
211 0-Variante	27	58	11	4	1	100
221 Blattapplikation	62	33	4	0	0	100
231 Dimethomorph	81	16	3	0	0	100

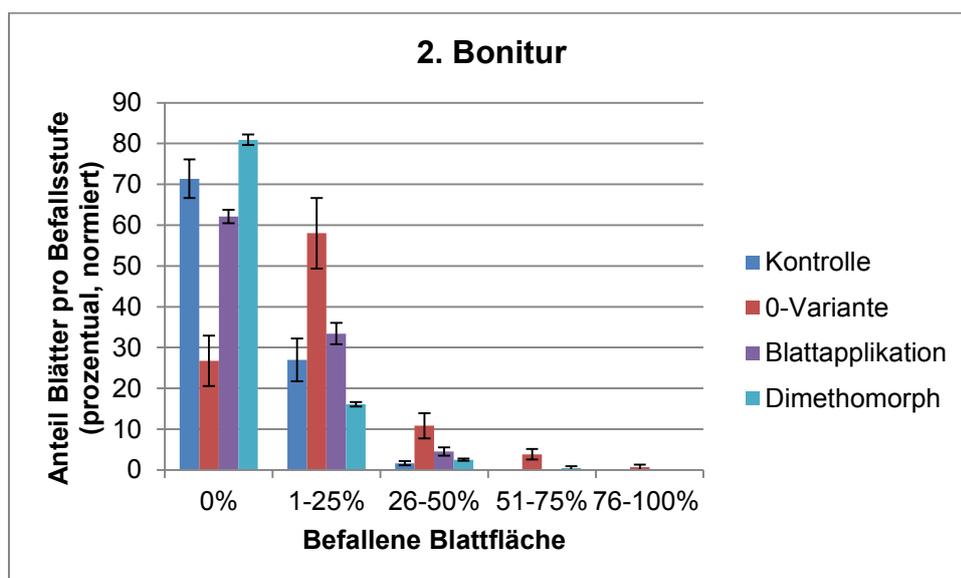


Abb.4: Übersichtsdarstellung der 2. Bonitur

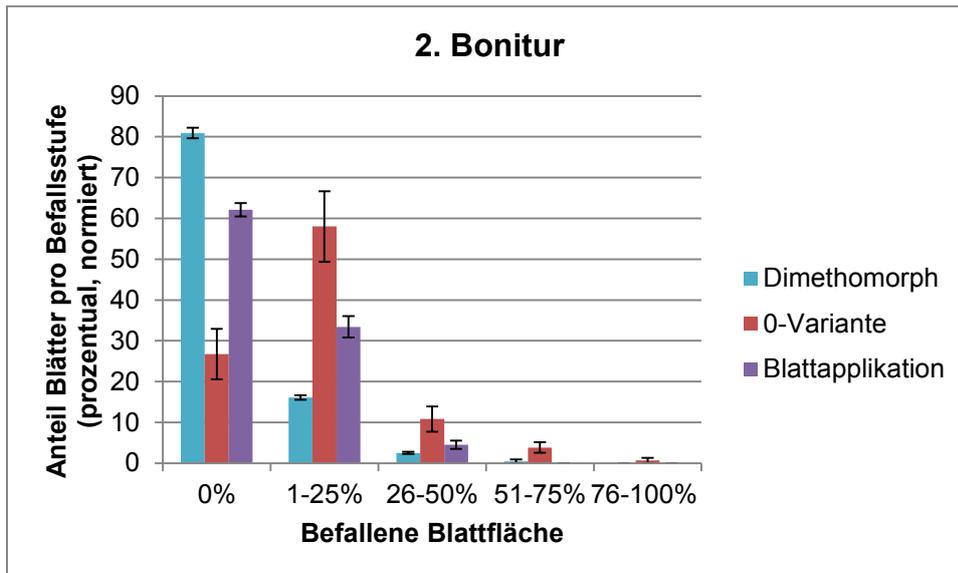


Abb.5: Vergleichsdarstellung der 2. Bonitur mit den Referenzen und **Siproplant**®

4 Diskussion:

4.1 Bonituren

4.1.1 Erste Bonitur

Erwartungsgemäß war die unbehandelte Kontrolle (Referenz) kaum befallen, wohingegen die 0-Variante (inokuliert aber weder gebeizt noch behandelt) schon zum ersten Boniturtermin den stärksten Befall aufwies.

Sowohl die Dimethomorph-Beize als auch die Blattapplikation mit **Siproplant**® lagen in etwa gleich mit ca. 70% nicht befallener Blätter und ca. 30% der Blätter in Befallsstufe 1.

4.1.2 Zweite Bonitur

Hier zeigte sich bereits der starke Befallsdruck in der 0-Variante mit zusammen ca. 69% Befall in den Stufen 2 bis 3 und nur noch 27% nicht befallener Blätter.

Die Kontrolle wies einen moderaten Befall auf, der möglicherweise auf eine unbeabsichtigte Infektion während der Pflegemaßnahmen zurückzuführen ist.

Der Befall in der Blattapplikation war leicht fortgeschritten, jedoch mit 62% nicht befallener Blätter gegenüber der 0-Variante deutlich langsamer.

4.2 Vergleichende Betrachtung

Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die Boniturwerte durch Interpolierung als Verlaufskurven dargestellt. Das Fortschreiten des Befalls ist durch Verlagerung der Kurvenmaxima entlang der x-Achse zu erkennen (Abbildungen Anhang 2-1 bis 2-9). Die zusammengefasste Darstellung erlaubt den übersichtlichen optischen Vergleich der Befallsausbreitung zwischen beiden Bonituren (Abbildungen 19 u. 19).

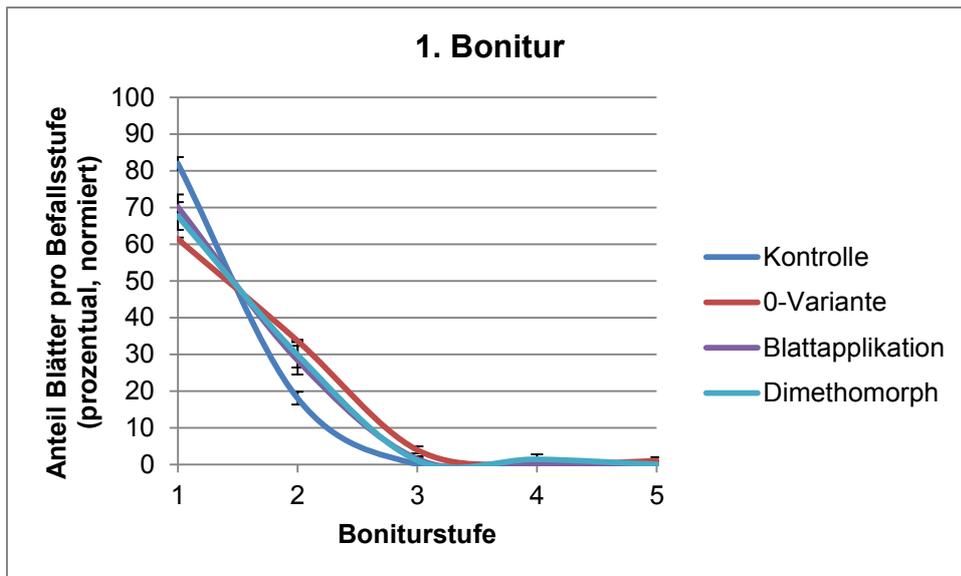


Abb.18: Funktionskurven über die Boniturnote aller Varianten in der ersten Bonitur

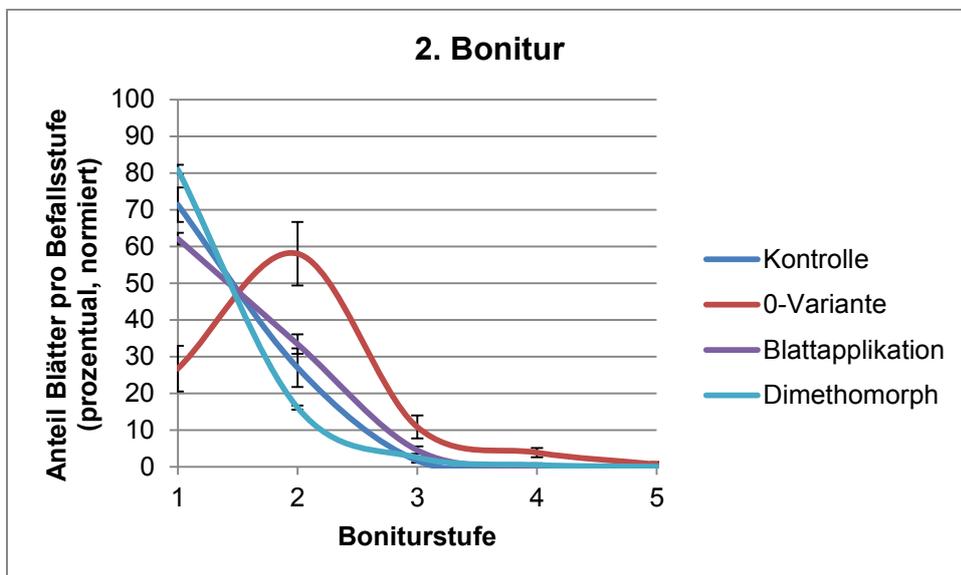


Abb.19: Funktionskurven über die Boniturnote aller Varianten in der zweiten Bonitur

Besonders ist zu erkennen, dass

- die Dimethomorph-Variante und die Kontrolle ihre näherungsweise lineare Form zwischen Boniturnote 1 und 3 beibehielten
- die 0-Variante eine Welle beschrieb, deren Fläche sich entlang der x-Achse ausbreitete
- die Blattapplikation in ihrer Wirkung hinter der Dimethomorph-Beize zurückblieb, jedoch ebenfalls zwischen den Stufen 1 und 3 elediglich in einen etwas flacheren Verlauf überging

4.3 Mathematische Auswertung

Anerkannte statistische Verfahren beruhen auf der Voraussetzung, dass die zu vergleichenden Grundgesamtheiten normalverteilt sind. Dies traf aufgrund des Versuchsaufbaus in der vorliegenden Untersuchung nicht zu.

Wenn auch untypisch, wurde daher die Gewichtung der Boniturstufen untersucht.

Dazu wurden die Boniturstufen 1 bis 5 als unabhängige Variablen x_1 bis x_5 angesehen und die zugehörigen Verlaufsfunktionen gebildet.

Die Funktionen wurden dann in die Intervalle $I_a = [1, 3]$ und $I_b = [3, 5]$ geteilt und darüber näherungsweise die Integrale a und b gebildet.

Ist der Befall stärker, begrenzt die entsprechende Funktion eine im Vergleich größere Fläche im Intervall I_b . Es muss dann gelten $a_2 < a_1$ und $b_2 > b_1$ und damit $(b/a)_2 > (b/a)_1$ und umgekehrt (**Anhang I**).

Die Abstufung in der **ersten Bonitur** ergibt sich daraus wie folgt:

<u>Variante</u>	<u>Kurzbezeichnung</u>	<u>Verhältnis der Teilintegrale b/a</u>
0-Variante	211	0,05
Dimethomorph	231	0,03
Blattapplikation	221	0,02
Referenz	111	0,00

Die Abstufung in der **zweiten Bonitur** ergibt sich daraus wie folgt:

<u>Variante</u>	<u>Kurzbezeichnung</u>	<u>Verhältnis der Teilintegrale b/a</u>
0-Variante	211	0,16
Blattapplikation	221	0,04
Dimethomorph	231	0,03
Referenz	111	0,02

Eine Betrachtung beider Bonituren zeigt sofort, dass die 0-Variante stets das im Vergleich schlechteste Verhältnis hatte, ebenso wie die Referenz stets das Beste. Die Verhältnisse der DMM-Variante bleiben gleich, während diejenigen der Blattapplikation sich etwas verschlechtern, wodurch die Blattapplikation in der zweiten Bonitur aufsteigend vor der Dimethomorph-Variante liegt.

Die aufsteigenden Zahlenfolgen zeigen aber auch deutlich die Größenverhältnisse, wodurch der rapide Infektionsverlauf der 0-Variante erkennbar wird, ebenso die deutlich langsameren Verläufe in den anderen Varianten. Dies wird auch in der grafischen Darstellung sichtbar (**Abbildung 20**).

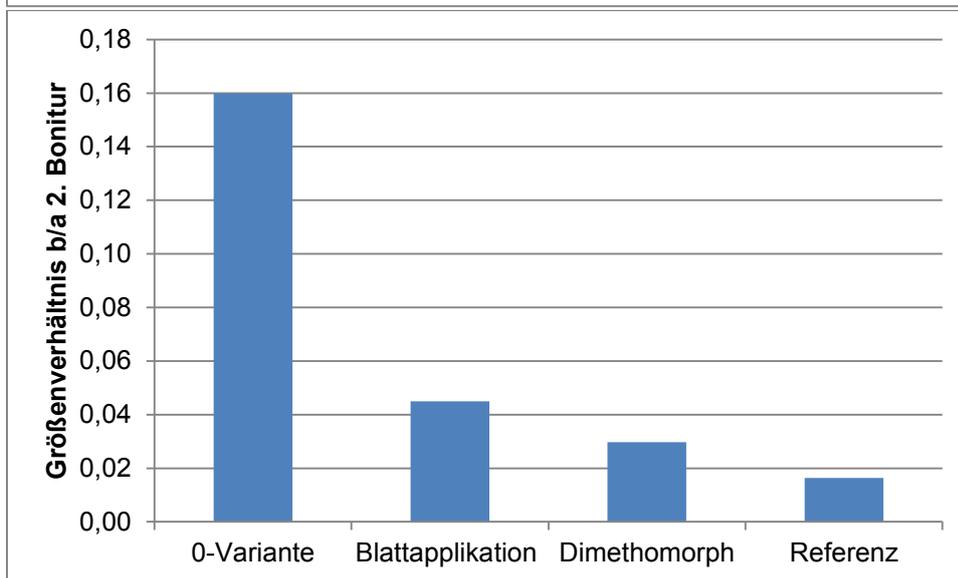
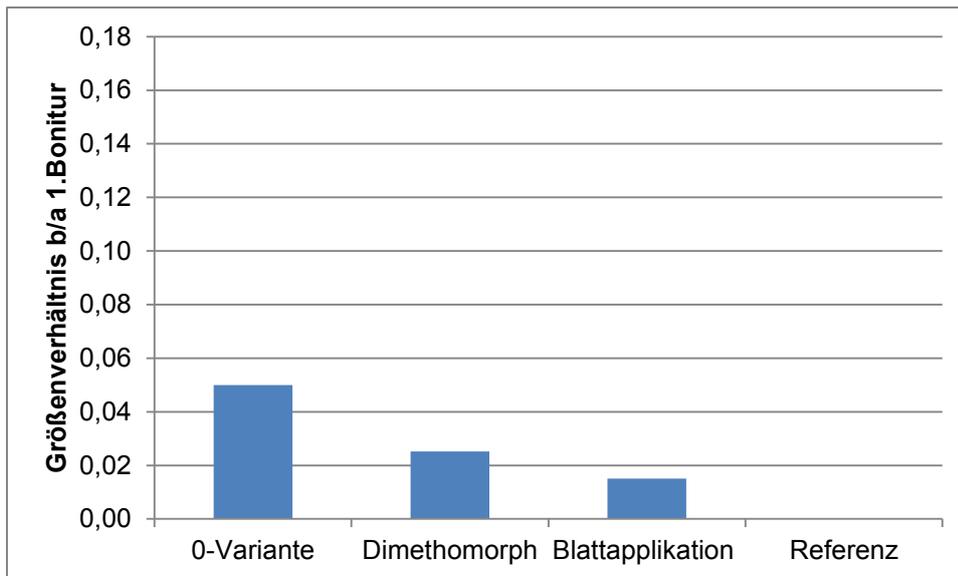


Abb.20: Verhältnisse der Teilintegrale über die Verlaufskurven der Boniturwerte aller Varianten in der ersten (oben) und zweiten Bonitur (unten)

5 Zusammenfassung

Der Infektionsverlauf von Falschem Mehltau in verschieden behandelten Varianten von Sommerraps wurde beobachtet.

Der Infektionsdruck wurde durch Applikation einer frischen Sporensuspension auf frisch perforierte Keimblätter weitgehend gleichmäßig und überdies künstlich groß gehalten.

Die Pflanzen wurden in einer Klimakammer unter Minigewächshäusern gehalten und der Laubblattbesatz durch regelmäßigen Rückschnitt verhindert.

Mittels zweier Bonituren wurde der Infektionsverlauf dargestellt.

Die Abschlussbonitur zeigte die Stadien am Tag 15 nach der Inokulation.

Die gemittelten Ergebnisse wurden mathematisch untersucht.

- Der Wirkstoff *Dimethomorph* erzielte auch bei dem hier sehr hohen Infektionsdruck die besten Ergebnisse.
- Die Blattapplikation ist in der Wirkung deutlich schwächer, jedoch ist der Infektionsverlauf stark verlangsamt.

Abkürzungsverzeichnis

A	Fläche (von lat. area)
BBCH	Biologische B undesanstalt, B undessortenamt und C hemische Industrie, Standard zur Beschreibung der Entwicklungsstadien von Pflanzen
DMM	Dimethomorph
v.H.	von Hundert
p.i.	post infectionem
r	Radius
0-Var	unbehandelte Kontrollvariante (0-Variante)

Literatur:

- [1] § 4, Abs.1, DüMV, http://www.gesetze-im-internet.de/d_mv_2012/___4.html
- [2] Artikel 4, Abs. 2 und 3, Verordnung (EG) Nr. 1107/2009, Amtsblatt der Europäischen Union, Deutsch, L 309/9 f
- [3] Kofoet, A.; Fischer, K.; 2004: „Regulierung Falscher Mehltau Pilze an Gemüsekulturen im ökologischen Landbau am Beispiel von Salat und Zwiebeln“, Bundesamt ökologischer Landbau (Hrsg.), p 4
- [4] Paul, V.H.; 2003: „Raps- Krankheiten, Schädlinge, Schadpflanzen“, Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer, pp 28 ff
- [5] Krüger, W.; 1991: „A review on assessment of diseases in oilseed rape-comparison of various methods“, IOBC/WPRS Bulletin XIV; in: Klodt-Bussmann, E.; 1995: „Untersuchungen zur Epidemiologie und sortenspezifischen Pathogenität von *Peronospora parasitica* an Winterraps (*Brassica napus* L.), Inaugural-Dissertation an der Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn, p 26
- [6] Liu, Y.; 2004: „Untersuchung der Variabilität von *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, dem Erreger der Weißstängeligkeit an Raps (*Brassica napus* L.) unter besonderer Berücksichtigung von Infektionsbiologie, Sortenreaktionen und gezielten Bekämpfungsmaßnahmen“, Dissertation an der Universität Hohenheim, Cuvillier Verlag Göttingen, pp103 ff

Anhang I-1: Teil-Integrale der Vektorfunktionen und deren Verhältnisse zueinander

Kontrolle

$$a1 = \int_1^3 f(x) dx = 100,00$$

$$b1/a1 = 0,00$$

$$b1 = \int_3^5 f(x) dx = 0,00$$

$$a2 = \int_1^3 f(x) dx = 100,00$$

$$b2/a2 = 0,02$$

$$b2 = \int_3^5 f(x) dx = 1,64$$

0-Variante

$$a1 = \int_1^3 f(x) dx = 99,00$$

$$b1/a1 = 0,05$$

$$b1 = \int_3^5 f(x) dx = 4,95$$

$$a2 = \int_1^3 f(x) dx = 95,54$$

$$b2/a2 = 0,15$$

$$b2 = \int_3^5 f(x) dx = 15,27$$

Blattapplikation

$$a1 = \int_1^3 f(x) dx = 100,00$$

$$b1 = \int_3^5 f(x) dx = 1,50$$

$$a2 = \int_1^3 f(x) dx = 100$$

$$b2 = \int_3^5 f(x) dx = 4,49$$

$$b1/a1 = 0,02$$

$$b2/a2 = 0,04$$

Dimethomorph

$$a1 = \int_1^3 f(x) dx = 98,61$$

$$b1 = \int_3^5 f(x) dx = 2,94$$

$$a2 = \int_1^3 f(x) dx = 99,54$$

$$b2 = \int_3^5 f(x) dx = 2,96$$

$$b1/a1 = 0,03$$

$$b2/a2 = 0,03$$

Anhang I-2: Übersichtsdarstellung pro Variante beider Bonituren

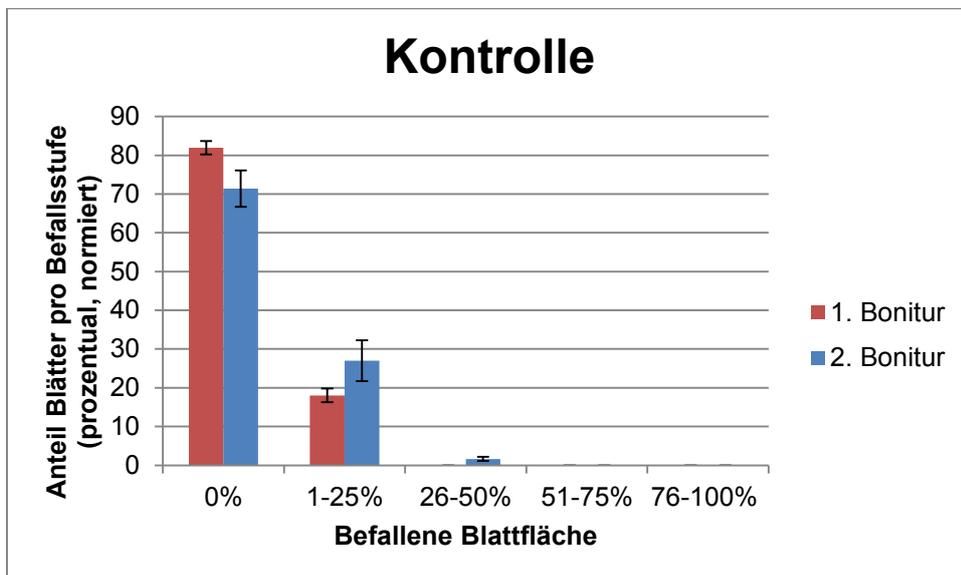


Abb. Anhang 2-1: Funktionskurven über die Boniturwerte der unbehandelten Kontrolle

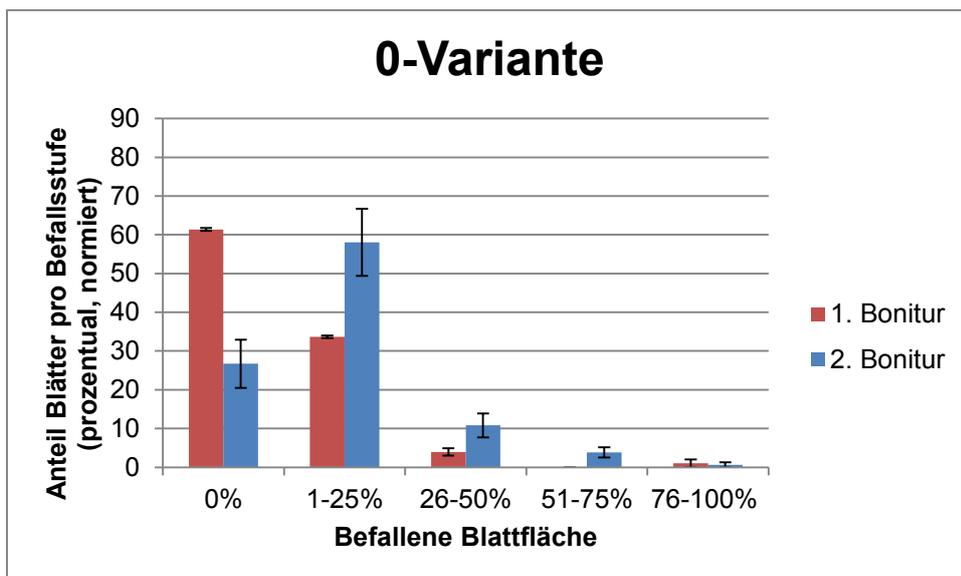


Abb. Anhang 2-2: Funktionskurven über die Boniturwerte der 0-Variante

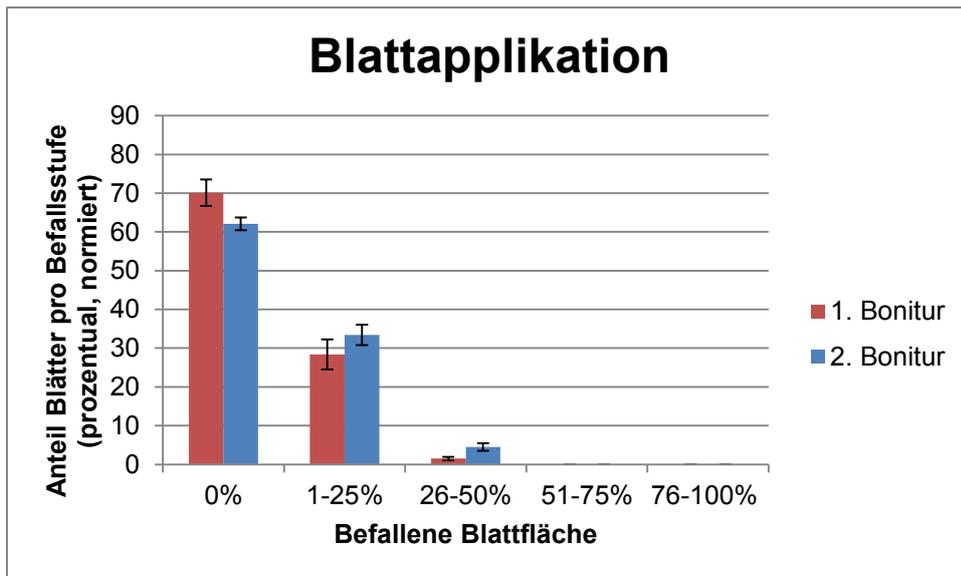


Abb. Anhang 2-3: Funktionskurven über die Boniturwerte der Blattapplikation

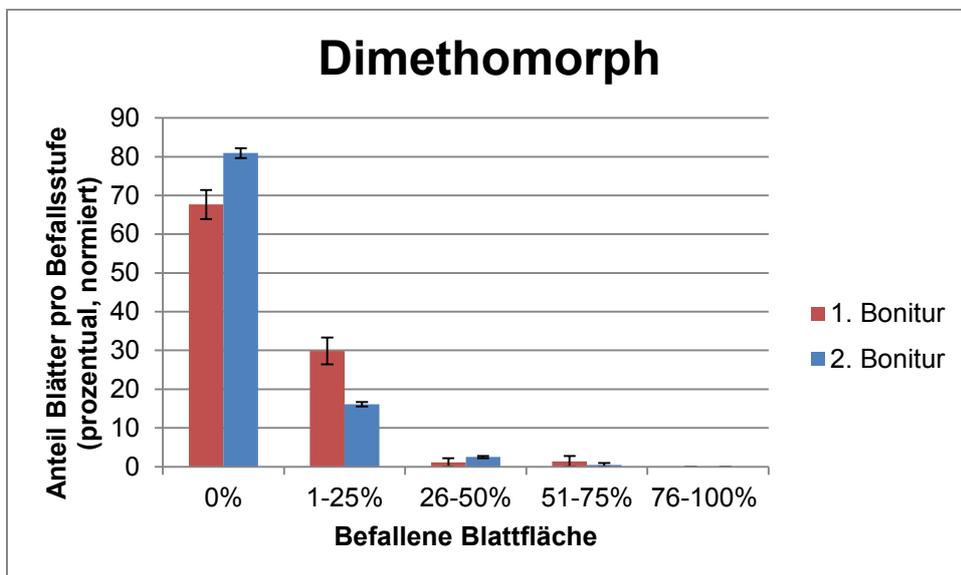


Abb. Anhang 2-4: Funktionskurven über die Boniturwerte der Dimethomorph-Variante