

**Josef G. Knoll-Wissenschaftspreisträger 1994**

**Josef G. Knoll-Science Award Winner 1994**

**Abbasher Awad Abbasher „Mikroorganismen an *Striga hermonthica* und Möglichkeiten ihrer Verwendung zur biologischen Bekämpfung“, Universität Hohenheim, 1994**

Resümee

### 1. Rahmenbedingungen

Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) gehört zur Familie der Süßgräser (Poaceae) und stellt eine Hauptnahrungsquelle für Millionen Menschen Afrikas dar. Im Sudan ist Sorghum die wichtigste Getreidekultur, die unter Bewässerung, aber weitaus häufiger im Regenfeldbau angebaut wird. Die gesamte Getreideanbaufläche des Sudan wird auf 6,3 Millionen Hektar geschätzt, von denen 70 % mit Sorghum bepflanzt sind. Die Produktion von Sorghum ist besonders gefährdet durch das parasitische Unkraut *Striga hermonthica* (Del.) Benth. Selbst neu in Kultur genommene Flächen zeigen oft einen hohen Befall von Sorghum mit *Striga*. In Gebieten mit einer reduzierten Fruchtfolge, v. a. im Regenfeldbau, ist der Befall mit *Striga* besonders gravierend und führt nicht selten zum Totalverlust der Erträge, mit der Folge, daß diese Felder häufig aufgegeben werden müssen.

Außer im Sudan ist der Wurzelparasit *Striga* auch der wichtigste biotische Begrenzungsfaktor der Getreideproduktion Afrikas. Die gesamte mit *Striga* infizierte Getreideanbaufläche Afrikas wird auf 21 Millionen Hektar geschätzt. Die Gesamtverluste in der Getreideproduktion belaufen sich auf 4,1 Millionen Tonnen. Die dadurch verursachten Einkommensverluste bei Mais, Millet und Sorghum werden auf 2,9 Billionen US\$ hochgerechnet.

### 2. Zielsetzung

Zur Bekämpfung von parasitischen Unkräutern stehen verschiedene Methoden zur Verfügung, die zur Lösung des Problems in einer integrierten Bekämpfungsstrategie kombiniert werden müssen. Eine Integrierte Bekämpfung könnte von der Einbeziehung von Pathogenen profitieren. Obwohl bereits in einigen wissenschaftlichen Arbeiten Pilze von *Striga* isoliert wurden, wurde keiner dieser Pilze auf seine mögliche Anwendung bei der biologischen Bekämpfung von *Striga* untersucht.

Daher waren die Ziele dieser Studie die folgenden:

- erkrankte Pflanzen von *Striga hermonthica* im Sudan zu sammeln,
- die verschiedenen Pilze und Bakterien, die an *Striga* vorkommen, zu isolieren und zu identifizieren,
- die Pathogenität der isolierten Pilze und Bakterien gegenüber *Striga hermonthica* unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus zu erfassen,
- das Wirtspflanzenspektrum der aggressivsten Isolate zu bestimmen,

- die optimalen Bedingungen zur Reduzierung von Striga durch die erfolgversprechenden Isolate zu determinieren: wie Einfluß von Temperatur, relativer Luftfeuchte, Alter der Pflanzen, Inokulumarten und -konzentration sowie Applikationszeitpunkt,
- die Pilze, die sich als effektiv gegen Striga und als wirtsspezifisch herausstellen unter Freilandbedingungen zu testen,
- eine Massenproduktion der virulentesten Pilzisolat, eine entsprechende Formulierung, und schließlich Mycoherbizide zu entwickeln.

### 3. Ergebnisse

Bei den Erhebungen im Sudan wurden 28 Pilz- und zwei Bakterienarten von Striga-Pflanzen isoliert: 3 *Alternaria* spp.; 4 *Aspergillus* spp.; 2 *Bipolaris* spp.; 3 *Curvularia* spp.; *Diplodia* spp.; 3 *Drechslera* spp.; *Exerohilum rostratum*; *Erysiphe cichoracearum*; 5 *Fusarium* spp.; 2 *Phoma* spp.; *Pithomyces* spp. und *Rhizopus oryzae*. Die beiden Bakterienarten wurden als *Bacillus subtilis* und *Pantoea agglomerans* (*Enterobacter agglomerans*) identifiziert. Mit Ausnahme von *Aspergillus* spp., *Drechslera longirostrata* und *Rhizopus oryzae* wurde erstmals über das Vorkommen der genannten Pilzarten auf Striga im Sudan berichtet. Achtzehn dieser Pilzarten wurden auf *S. hermonthica* erstmals beschrieben.

Pathogenitätstests bewiesen, daß 19 der 24 getesteten Pilzarten unter kontrollierten Umweltbedingungen eine pathogene Wirkung auf Striga haben. Die beiden Bakterienarten erwiesen sich als nicht pathogen gegenüber Striga. In Gewächshausversuchen wurde durch den Pilz *Phoma sorghina* in einer Konzentration von  $3 \times 10^7$  Sporen/ml 70 % der inokulierten Striga-Pflanzen abgetötet. Dieses Isolat wirkte jedoch nicht spezifisch auf das Zielunkraut Striga und schädigte auch die Wirtspflanze Sorghum. *Erysiphe cichoracearum*, der Erreger des Echten Mehltaus, infizierte alle geprüften Striga-Pflanzen. Die Echten Mehltau-Pilze sind jedoch obligate Parasiten und schädigen gewöhnlich ihre Wirte nicht so stark wie fakultative Saprophyten. Vor allem haben sie ein geringeres Potential für eine schnelle und effektive Bekämpfung wie sie im Falle von Striga gefordert werden müßte.

In verschiedenen Gewächshausversuchen konnte das Auflaufen von Striga-Pflanzen vor allem durch das Einbringen von Fusarien in den Boden vor der Aussaat und unter Verwendung verschiedener Inokulumsubstrate signifikant reduziert werden. *Fusarium nygamai* und *F. semitectum* var. *majus* reduzierten das Auflaufen von Striga-Pflanzen um bis zu 97 bzw. 83 %, wobei die Anzucht auf V-8 Medium erfolgte und 20 g Inokulum pro kg Boden eingemischt wurden. Durch die effektive Bekämpfung von Striga verbesserte sich die Ertragsleistung der Wirtspflanze Sorghum signifikant gegenüber der Kontrollbehandlung. In den Boden eingearbeitete Sorghumkörner und Striga-Stroh als Substrate für die bodenbürtigen Pilze reduzierten das Auflaufen von Striga um 100 %, mit Sorghumstroh wurde es um 98 % verringert. Die Inokulumkonzentration war für den Bekämpfungserfolg wichtig und beeinflusste die Bekämpfung von Striga bei beiden *Fusarium*-Arten. Striga konnte durch die Kombination von *F. nygamai* mit *F. semitectum* var. *majus* vollkommen abgetötet werden, wenn 10 g Inokulum/kg Boden vor der Saat in den Boden eingearbeitet wurden. Striga wurde durch die zwei Pilze auch abgetötet, wenn im Nachauflauf der Striga-Pflanzen das Inokulum um die Pflanzenbasis verteilt wurde. Junge Striga-Pflanzen waren empfindlicher gegenüber *F. nygamai* und starben innerhalb kürzerer Zeit ab als alte Pflanzen. Das erste Anzeichen der Infektion bei beiden *Fusarium* Arten waren schwarze Nekrosen an den Blattspitzen der inokulierten Striga-Pflanzen. Diese Symptome breiteten sich nach unten aus und die infizierten

Stengel färbten sich dunkelbraun, gefolgt von Welke und Absterben der infizierten Pflanzen. *F. nygamai* und *F. semitectum* var. *majus* schädigten die Wirtspflanze Sorghum nicht. *Fusarium nygamai* ist sehr wirtsspezifisch. Von 18 auf Pathogenität getesteten Kulturpflanzen erkrankte keine unter Gewächshausbedingungen. Die Pathogenität von *F. semitectum* var. *majus* gegenüber anderen Pflanzenarten wurde nicht geprüft.

In Wurzelgefäßversuchen konnte gezeigt werden, daß die Fusarien auch die Samen und unterirdischen Stadien der Striga-Entwicklung beeinflussen. Es keimten keine Striga-Samen, wenn die auf Filterpapier verteilten Samen des parasitischen Unkrauts mit 10 ml einer Inokulum-Suspension von  $8 \times 10^6$  Sporen/ml von *F. nygamai* behandelt wurden. Bei gleichem Volumen und gleicher Konzentration reduzierte *F. semitectum* var. *majus* die Keimung von Striga-Samen um 93 %. Die Behandlung von Striga-Samen mit 10 ml *F. nygamai* oder *F. semitectum* var. *majus* in einer Konzentration von  $4 \times 10^6$  Sporen/ml reduzierte die Keimung der Samen um 83-88 %, verhinderte die Appressorienbildung bei gekeimten Samen zu 93-96 % und verringerte die Zahl der Striga-Sprosse um 89-90 %.

*F. nygamai* und *F. semitectum* var. *majus* wurden hinsichtlich ihrer Temperatur- und Nährstoffansprüche untersucht. Die unterschiedlichen Temperaturen, Medien und deren Wechselwirkungen hatten hochsignifikante Effekte auf die Wachstumsrate beider Pilze. Die optimale konstante Temperatur für Wachstum und Entwicklung der Pilze lag bei 25°C, bei Wechseltemperaturen bei 30/20°C. Gemüsesaft-Agar (V-8) war das beste Wachstumsmedium für *F. nygamai*. Kartoffel-Glucose-Agar (PDA) eignete sich am besten für die Anzucht von *F. semitectum* var. *majus*. Auf diesen Medien sporulierten die Pilze ausgiebig, gleichzeitig wurden alle Sporentypen, Mikro- und Makrokonidien sowie Chlamydosporen, gebildet. Die saprophytische Lebensweise von *F. nygamai* und *F. semitectum* var. *majus* ermöglicht auch die Sporulation der Pilze auf allen festen und flüssigen Medien.

*Bacillus subtilis* zeigte sich antagonistisch zu *Fusarium* spp. und anderen Pilzen, die sich bei in vitro-Tests pathogen gegenüber *S. hermonthica* erwiesen. Dieses Bakterium dürfte einen natürlichen Schutz für Striga gegenüber einer Infektion durch pathogene Pilze darstellen. Indem es entfernt wird, können Striga-Samen und Striga-Pflanzen dem Abbau durch pathogene Pilze ausgesetzt werden.

Abschließend kann zusammengefaßt werden, daß viele Pilze mit *S. hermonthica* assoziiert sind, von denen sich einige als pathogen erwiesen haben und die Samenkeimung und andere Wachstumsstadien des parasitischen Unkrauts beeinträchtigen. Die endemischen Pathogene *F. nygamai* und *F. semitectum* var. *majus* reduzierten sehr effektiv die Keimung und/oder töten *S. hermonthica* ab. Diese beiden Isolate genügen den meisten Anforderungen für eine Nutzung als Mycoherbizide. Sie sind virulent, besitzen eine stabile Pathogenität, sporulieren reichlich in allen getesteten flüssigen und festen Medien, wachsen innerhalb eines weiten Temperaturbereichs, benötigen keine ergänzende Feuchtigkeit und *F. nygamai* ist wirtsspezifisch.

#### 4. Schlußfolgerungen

Aufgrund dieser Arbeiten konnten weiterführende Untersuchungen zur Überprüfung dieser erfolgversprechenden Ergebnisse unter Feldbedingungen, zur Massenproduktion des Pilzes, zur Formulierung der Sporen und zur Entwicklung eines Mycoherbizides in einer Kooperation zwischen der Universität Hohenheim und der Firma Ciba-Geigy (Basel, Schweiz) 1992 eingeleitet werden. Zur Bekämpfung von Striga mit *F. nygamai* unter Feldbedingungen wurden im Juni 1993 im Norden der Côte d'Ivoire in einem natürlich infizierten Feld Versuche

durchgeführt. Dies war das erste Mal, daß versucht wurde, Striga unter Feldbedingungen mit einem Pilz zu bekämpfen. Dabei wurden feste und flüssige Medien in den Boden eingearbeitet. Das feste Medium wurde auf sterilisierten Sorghumsamen hergestellt. Für die Zubereitung des flüssigen Mediums wurden lyophilisierte Sporen (Microkonidien) von *F. nygamai*, Zuckerkonzentrat (10 %) und Gemüsesaft (20 %) in 10 Liter Wasser aufgelöst. Die Sporenkonzentration betrug dann 107 Sporen pro ml. Die Bekämpfung von Striga wurde sehr deutlich durch die Art des Inokulums beeinflusst. Die größte Wirkung wurde durch die Einarbeitung von 800 g/m<sup>2</sup> festem Inokulum in den Boden vor der Aussaat von Mais erreicht. Verglichen mit der Kontrolle konnte der Biomasseertrag von Sorghum (Korn+Stroh) zu 50 % und der Kornertrag zu 70 % erhöht. Das feste Medium reduzierte ebenfalls das Auflaufen von Striga zu 33 % und die Anzahl blühender Striga-Pflanzen zu 30 % im Vergleich zur Kontrolle. Aufgelaufene Striga-Pflanzen zeigten in unterschiedlichen Entwicklungsstadien typische Krankheitssymptome, wie sie auch unter kontrollierten Bedingungen zu beobachten waren (Aufhellung der Spitzen der infizierten Pflanzen gefolgt von Welkeerscheinungen und dem Absterben der Pflanzen).

Die Applizierung von flüssigem Medium vor der Aussaat in einer Konzentration von 20 bzw. 40 ml pro Pflanzloch, und 20 bzw. 40 ml pro Pflanzloch mit einer weiteren Gabe von 20 bzw. 40 ml im Nachauflauf 2 bis 4 Wochen nach der Applikation, erbrachte einen 70-80 %igen Bekämpfungserfolg von Striga. Eine genaue Aussage über die richtige Anwendungsdosierung kann nach diesen ersten Versuchen nicht getroffen werden.

Der Feldversuch machte deutlich, daß sich *F. nygamai* zur Bekämpfung von *S. hermonthica* eignet und der Ertrag der Wirtspflanze Mais erhöht wird. Die wirksamste Behandlung in Hinsicht auf Striga Bekämpfung und Pflanzenwachstum wurde mit dem auf festem Medium vermehrten Inokulum erreicht. Die Arbeiten an der Entwicklung von entsprechenden Formulierungen, welche die Lebensfähigkeit, die Effizienz und Applikationsmethode von *F. nygamai* verbessern, werden zwischen der Universität Hohenheim und Ciba Geigy fortgesetzt.

Abbasher Awad Abbasher: Microorganisms associated with *Striga hermonthica* and possibilities of their utilization as biological control agents, Universität Hohenheim, 1994