

Nachweis von Iprodion-resistenten *Alternaria*-Pilzen auf Karottensaatgut

Karotten sind mengenmässig das am häufigsten angebaute Gemüse in der Schweiz (66 575 t im Jahr 2002). Gesundes Karottensaatgut ist daher von grosser wirtschaftlicher Bedeutung. Weil das Saatgut oft von pathogenen Pilzen infiziert ist, kann der Karottenanbau nicht auf einen hohen Aufwand an Pflanzenschutzmitteln verzichten. Wie an dieser Stelle schon früher berichtet, sind Karottensamen am häufigsten von *Alternaria*-Pilzen befallen. Diese können bis 60% Ertragsausfall verursachen, wenn die Kulturen nicht behandelt werden.

Catherine A. Baroffio, Fatma Kivrak und Werner E. Heller, Extension Gemüsebau, Agroscope FAW Wädenswil

Biologie der *Alternaria*-Pilze

Alternaria-Pilze gehören zu den Deuteromyceten (*Fungi Imperfecti*). Sie können über mehrere Jahre als Spore oder Myzel auf Samen überleben. Keimeninfizierte Samen werden die Keimlinge befallen, und die Jungpflanzen sterben teilweise ab. Viele *Alternaria*-Arten produzieren Toxine, welche die Wirtszellen abtöten, was zu den schwarzbraunen Flecken auf dem Karottenlaub führt. Eine wiederholte Verwendung des gleichen Fungizides kann resistente Stämme aus der *Alternaria*-Population im Feld fördern.

Chemische Beizung des Karottensaatguts

Eine chemische Beizung der Samen reduziert das Wachstum der samenbürtigen Pilze. Gegen *Alternaria*-Pilze werden oft Captan, Iprodion, Thiram und Maneb eingesetzt. Iprodion ist ein Dicarboximid-Wirkstoff und wird seit der Zulassung 1980 als Saatbeizmittel und Fungizid in Karotten angewendet. Es hemmt die Sporenkeimung und das Mycelwachstum.

Probleme mit Fungizid-resistenten pathogenen Pilzen

In einem Versuch der Forschungsan-



Abb. 1: Gebeizte Karottensamen (Bolero) auf Wasser-Agar mit steigenden Konzentrationen von Iprodion (0–300 mg/l). Samen mit einem schwarzen «Hof» sind von *Alternaria*-Pilzen befallen (Reihenfolge im Uhrzeigersinn, oben links beginnend). (Foto: FAW)

Fig. 1: Semences de carotte traitées (Bolero) sur agar, avec iprodione en concentrations croissantes (0–300 mg/l). Les graines entourées d'un halo noir sont infectées par le champignon *Alternaria* (séquence dans le sens des aiguilles d'une montre, en commençant en haut à gauche).

stalt Wädenswil wurde bei Verwendung von Iprodion-gebeiztem Karottensaatgut bis 100% Befall durch *Alternaria* spp. auf der heranwachsenden Kultur nachgewiesen. Die chemische Beizung des Saatgutes war in diesem Fall unwirksam. Ziel der vorliegenden Untersuchung war deshalb festzustellen, ob die auf dem Karottensaatgut vorhandenen *Alternaria*-Pilze bereits resistent gegen Iprodion sind und ob resistente *Alternaria*-Isolate häufig gefunden werden können.

Untersuchte Sorten

Für die Untersuchung wurde Saatgut der folgenden Sorten verwendet: Bolero, unbehandelt, und Bolero, gebeizt (Thiram, Iprodion und Metalaxyl; Vilmorin) sowie Nantaise (unbehandelt; Mauser).

Isolierung von Iprodion-sensiblen und -resistenten *Alternaria*-Pilzen

Je 50 Karottensamen wurden auf Kartoffel-Dextrose-Wasser-Agar (PDA-WA)-Petrischalen mit Iprodion-Kon-

zentrationen von 0–500 mg/l (0, 100, 200, 300, 400, 500) ausplattiert. Anschliessend wurden die Petrischalen verschlossen und bei 20°C inkubiert (Abb. 1). Die Experimente wurden 3-mal wiederholt.

Nach zehn Tagen wurden Iprodion-empfindliche und -resistente *Alternaria*-Isolate von Bolero und Nantaise für die weiteren Experimente ausgewählt. Die empfindlichen Isolate wurden jeweils von den ungebeizten Karottensamen selektioniert. 12 empfindliche und 11 resistente Isolate wurden auf PDA- bzw. Iprodion-Petrischalen (PDA + 100 mg/l Iprodion) übertragen. Sowohl aus gebeizten wie auch aus nicht gebeizten Samen konnten somit Iprodion-resistente *Alternaria*-Isolate gewonnen werden.

Bestimmung der Iprodion-Empfindlichkeit von *Alternaria*-Isolaten (ED50-Werte)

Eine Woche später wurden die *Alternaria*-Isolate auf neue Schalen mit Iprodion-Konzentrationen von 0–500 mg/l (0, 0,25, 2,5, 25, 250, 500) übertragen. Jede Schale enthielt 3–4 Inokulationen desselben Isolates. Die

Schalen wurden fünf Tage bei 20°C inkubiert. Abschliessend wurde das Myzelwachstum jedes Isolates ausgemessen. Der ED50-Wert bezeichnet die Empfindlichkeit von Pilzen für Fungizide. Es handelt sich dabei um die Wirkstoffkonzentration, die notwendig ist, um das Pilzwachstum um 50% zu hemmen. Diese ED50-Werte der Isolate wurden gemäss dem entsprechenden Programm von Bayer berechnet. Die ED50-Werte der 12 Iprodion-empfindlichen Isolate lagen zwischen 0,68 und 10,63 mg/l Iprodion. Dagegen wurde das Myzelwachstum der resistenten Isolate auch durch hohe Konzentrationen von Iprodion nicht gehemmt (Abb. 2, s. S. 5). Die ED50-Werte für die resistenten Isolate lagen bei über 1000 mg/l Iprodion.

Virulenz-Test

Um die Virulenz der empfindlichen und resistenten *Alternaria*-Isolate zu testen, wurden kleine Würfel der Isolate auf oberflächlich desinfizierte Karottenscheiben aufgetragen. Nach vier Tagen wurde das Wachstum der Isolate auf den Karottenscheiben gemessen. Alle Isolate waren in der Lage, die inokulierten Karottenscheiben zu befallen.

Schlussfolgerungen

Auf dem untersuchten Saatgut fanden sich relativ häufig *Alternaria*-Isolate, die hoch resistent gegen Iprodion sind. Die Samenbeizung mit Iprodion unterdrückt die Konkurrenz durch sensible Pilze. Dadurch werden die resistenten Individuen in der *Alternaria*-Population auf dem Saatgut in ihrer Entwicklung und Verbreitung gefördert. Die Iprodion-resistenten *Alternaria*-Pilze können sich nach der Saat im Bestand schnell verbreiten und stellen damit ein Risiko für den Karottenanbau dar, weil spätere Anwendungen von Iprodion auf der Kultur unwirksam sind. Es stellt sich die Frage, ob eine weitere Verwendung von Iprodion als Saatbeizmittel noch sinnvoll ist.

Mise en évidence de champignons du genre *Alternaria* résistants à l'iprodione utilisé pour la désinfection des semences de carottes

(Trad.) Les carottes sont, en quantité, le légume le plus cultivé en Suisse (66 575 t en 2002). Aussi la qualité sanitaire des semences a-t-elle une grande importance économique. Ces semences sont souvent infestées de champignons pathogènes, d'où la nécessité d'un important recours à la phytopharmacie. Nous avons déjà rapporté précédemment que les semences de carottes sont infectées le plus souvent par des champignons du genre *Alternaria*, qui peuvent occasionner des pertes de rendement allant jusqu'à 60% si les cultures ne sont pas traitées.

Catherine A. Baroffio, Fatma Kivrak et Werner E. Heller, vulgarisation en cultures maraîchères, Agroscope FAW Wädenswil

Biologie des champignons du genre *Alternaria*

Les *Alternaria* sont des deutéromycètes (*Fungi Imperfecti*). Ils peuvent survivre plusieurs années sur les graines, sous forme de spores ou de mycélium. A la germination, les graines infectées donnent des plantules malades dont beaucoup meurent. De nombreuses espèces d'*Alternaria* sécrètent des toxines qui tuent les cellules hôtes, d'où les taches brun-noir sur les fanes des carottes. L'utilisation répétée du même fongicide peut provoquer le développement de souches résistantes au sein de la population d'*Alternaria* d'une parcelle de culture.

La désinfection chimique des semences de carottes

Le traitement chimique des semences freine la croissance des champignons présents sur les graines. Contre les *Alternaria*, on utilise souvent les matières actives captane, iprodione, thiram ou manèbe. L'iprodione fait partie des dicarboximides; il est utilisé pour

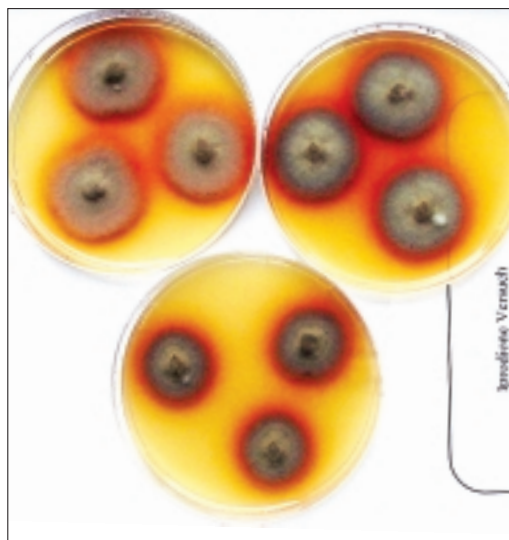


Fig. 2: Isolats d'*Alternaria* résistants sur milieu nutritif contenant 25, 250 et 500 mg d'iprodione/l (séquence dans le sens des aiguilles d'une montre, en commençant en haut à gauche). (Photo: FAW)

Abb. 2: Iprodion-resistenter *Alternaria*-Isolat auf Nährmedium mit 25, 250 und 500 mg Iprodion/l (Reihenfolge im Uhrzeigersinn, oben links beginnend).

le traitement des semences et comme fongicide en culture de carottes, depuis son homologation en 1980. Il inhibe la germination des spores et la croissance du mycélium.

Problèmes posés par les champignons pathogènes résistants aux fongicides

Dans un essai à la station de recherches de Wädenswil, on a mis en évidence une infestation des cultures par *Alternaria* spp. pouvant atteindre 100%, en utilisant des semences de carottes désinfectées à l'iprodione. Dans ce cas, le traitement chimique était resté inefficace.

Le but du présent travail de recherche est en conséquence d'établir si les champignons *Alternaria* présents sur les semences sont résistants à l'iprodione, et s'il est fréquent de trouver des souches résistantes d'*Alternaria*.

Les variétés testées

Pour cet essai, on a utilisé des semences des variétés suivantes: Bolero non traité et Bolero traité (thiram, iprodione et métalaxyle; Vilmorin), ainsi que Nantaise (non traité; Mauser).

Isolation de champignons *Alternaria* sensibles ou résistants à l'iprodione

50 graines de chaque variété ont été déposées dans des boîtes de Pétri sur substrat de pomme de terre-dextrose-eau-agar (PDA-WA), avec des concentrations d'iprodione de 0–500 mg/l (0, 100, 200, 300, 400, 500). Les boîtes ont été fermées et incubées à 20 °C (fig. 1, v. p. 4). Les essais ont été faits à trois reprises.

Au terme de dix jours, des isolats d'*Alternaria* sensibles ou résistants à l'iprodione, prélevés sur Bolero et Nantaise, ont été sélectionnés pour la suite de l'expérimentation. Les isolats sensibles furent prélevés sur les semences de carottes non traitées. 12 isolats sensibles et 11 résistants furent transférés dans des boîtes de Pétri sur PDA pur, ou avec iprodione (PDA + 100 mg/l d'iprodione). Ainsi, des isolats d'*Alternaria* résistants à l'iprodione ont été prélevés tant sur des semences traitées que sur des semences non traitées.

Détermination de la sensibilité à l'iprodione d'isolats d'*Alternaria* (valeurs ED50)

Une semaine plus tard, les isolats d'*Alternaria* furent transférés dans

des nouvelles boîtes dans lesquelles la concentration d'iprodione variait de 0 à 500 mg/l (0, 0,25, 2,5, 25, 250, 500). Chaque boîte a reçu 3–4 inoculums du même isolat. Ces boîtes ont été incubées pendant 5 jours à 20 °C. Pour terminer, on a mesuré la croissance du mycélium de chaque isolat. La valeur ED50 indique la sensibilité des champignons aux fongicides. Il s'agit de la concentration de matière active nécessaire pour freiner la croissance du champignon de 50%. Les valeurs ED50 des isolats ont été calculées selon les tables correspondantes de Bayer. Les valeurs ED50 des 12 isolats sensibles se situaient entre 0,68 et 10,63 mg/l d'iprodione. Par contre, même des concentrations élevées d'iprodione n'ont pas freiné la croissance du mycélium des isolats résistants (fig. 2). Les valeurs ED50 des isolats résistants étaient supérieures à 1000 mg/l d'iprodione.

Test de virulence

Pour tester la virulence des isolats sensibles ou résistants, on a posé des petits cubes d'isolats d'*Alternaria* sur des rondelles de carotte désinfectées en surface. Après 4 jours, on a mesuré la croissance des isolats. Tous se sont montrés capables d'infecter les rondelles de carotte inoculées.

Conclusions

Des souches d'*Alternaria* hautement résistantes à l'iprodione étaient sur les semences examinées. Le traitement des semences à l'iprodione inhibe la concurrence par des champignons sensibles, ce qui favorise le développement et la prolifération des individus résistants. Après le semis, les *Alternaria* résistants à l'iprodione peuvent rapidement envahir tout le champ, ce qui met en danger la culture mise en place: les applications ultérieures d'iprodione sur la végétation deviennent inefficaces. Il faut dès lors se demander si le traitement des semences à l'iprodione reste judicieux.