

Bewertung alternativer Pflanzenschutzmittel gegen Wurzelkropf (*Agrobacterium* spp.) in biologischen Himbeerkulturen

September 2023

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	1
Einleitung	2
Material und Methoden.....	3
Ergebnisse	6
Diskussion und Schlussfolgerungen.....	9
Referenzen.....	10

Autoren

André Ançay¹
Frédéric Grossmann Schlupe²
Louis Sutter^{1*}
Michael Bochsler³
Bastien Christ¹

¹ Agroscope
² Biohof Feld
³ Watair GmbH

* Korrespondierender Autor

Zusammenfassung

Wurzelkropf wird durch pathogene Stämme von *Agrobacterium* spp. und *Rhizobium* spp. verursacht. Es bilden sich nach einer Infektion Tumore an Wurzelhals und Wurzeln von krautigen und verholzenden Pflanzen vieler Pflanzenfamilien. Beerenkulturen wie Him-, Brom- und Heidelbeeren können von der Krankheit stark betroffen sein. Bei hohem Befall kann die Wuchskraft der Pflanze beeinträchtigt werden und der Ertrag kann erheblich sinken.

Derzeit ist in der Schweiz kein Produkt (konventioneller oder biologischer Pflanzenschutz) zur Bekämpfung der Ausbreitung von tumorerzeugenden Bakterien im Feld zugelassen, und die einzigen bekannten wirksamen Massnahmen sind (1) die Verwendung gesunder Jungpflanzen, (2) die Entfernung infizierter Pflanzen und (3) ein Fruchtwechsel.

Ziel dieser im Jahr 2021 durchgeführten Studie war es, die Wirksamkeit verschiedener Strategien zur Bekämpfung von tumorbildenden Bakterien in Himbeerkulturen, die auf alternativen Pflanzenschutzmitteln basieren, zu beurteilen. Unsere Daten deuten darauf hin, dass die Zugabe von Xeral® in das Bewässerungswasser eine sehr effiziente, heilende Behandlung gegen die Krankheit sein könnte.



Abbildung 1: Wurzelkropf an den Wurzeln einer Himbeerpflanze.



Einleitung

Bakterien, die Tumore und übermässige Wurzelwucherungen verursachen, können verschiedene Pflanzenarten infizieren und dabei erhebliche Verluste in der Obst- und Gemüseproduktion verursachen (Pulawska, 2010). Wurzelkropf wird bei Himbeeren (*Rubus idaeus* L.; Abbildung 1) und anderen *Rubus*-Arten durch tumorbildende Stämme von *Agrobacterium*- und *Rhizobium*-Arten (nachfolgend als *Agrobacterium* spp. bezeichnet) ausgelöst und tritt weltweit in den meisten Anbaugebieten auf (De Cleene and De Ley, 1976; Weller et al., 2004). Diese Bakterien leben im Boden oder auf der Oberfläche von Pflanzen. Sobald sie in einer Parzelle vorhanden sind, können sie sich jahrelang als Saprophyten im Boden halten. Sie werden durch Regentropfenspritzer, über das Bewässerungswasser, Schnittwerkzeuge, Wind, Insekten, landwirtschaftliche Maschinen und kontaminiertes Vermehrungsmaterial (Stecklinge, Pfropfmaterial) verbreitet. Diese Bakterien sind Wundpathogene und die Infektion erfolgt über Verletzungen im Bereich des Wurzelhalses und der Wurzeln. Natürlicherweise treten Wunden bei der Entwicklung von Seitenwurzeln, bei Blattnarben und Winterschäden auf. Mechanische Verletzungen entstehen beim Schnitt, bei der Vermehrung und bei der Ernte. Bei starkem Befall kann die Wuchskraft der Pflanze beeinträchtigt werden und der Ertrag kann erheblich sinken (De Cleene and De Ley, 1976; Weller et al., 2004).

In der Schweiz ist zurzeit kein konventionelles oder biologisches Pflanzenschutzmittel zur Bekämpfung von *Agrobacterium* spp. im Feld zugelassen. Die einzigen bekannten wirksamen Massnahmen sind (1) die Verwendung gesunder Jungpflanzen, (2) die Entfernung infizierter Pflanzen und (3) der Fruchtwechsel. Es wurde über eine wirksame biologische Bekämpfung von tumorauslösendem *Agrobacterium* spp. mit Stämmen von *Agrobacterium radiobacter* (wie K-84 und K-1026) berichtet, aber in der Schweiz sind im Handel keine Produkte erhältlich, da die meisten Stämme als gentechnisch verändert gelten.

Ziel dieser im Jahr 2021 auf einem Betrieb in Schnottwill (SO) durchgeführten Studie war es, die Wirksamkeit verschiedener alternativer Pflanzenschutzmittel zur Bekämpfung von *Agrobacterium* spp. in biologischen Himbeerkulturen zu bewerten. Es wurden folgende Produkte und Wirkstoffe bzw. Mikroorganismen (mit Angabe der vermuteten Wirkungsweise) getestet:

- **RV**, RhizoVital42 (Andermatt Biocontrol), *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, Konkurrenz mit *Agrobacterium* spp. im Boden
- **XED**, Xeral® (Watair), hypochlorige Säure, Desinfektion des Bewässerungssystems, Bekämpfung von *Agrobacterium* spp. in den oberen Bodenschichten, Stimulierung von Pflanzenwachstum und Abwehrkräften
- **SB**, S-system - Brotaverd (Idai Nature), S-system (Mangansulfat 1% und Zinksulfat 1%), Brotaverd (Dünger), Stimulierung von Pflanzenwachstum und Abwehrkräften
- **BB**, Bactosand (Agribort phyto), Kupferkomplex, Stimulierung von Pflanzenwachstum und Abwehrkräften

Im Rahmen von drei unabhängigen Versuchen mit drei 2019 und 2021 gepflanzten Himbeersorten wurden unterschiedliche Strategien geprüft.

Material und Methoden

Behandlungen

Die in dieser Studie untersuchten Behandlungen und Produkte sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Zusammenfassung der in dieser Studie verwendeten Produkte und Strategien.

ID	Behandlung	Produkt	Wirkstoff	Vermutete Wirkungsweise	Dosierung	Art der Behandlung	Häufigkeit der Anwendung
UN	Unbehandelte Kontrolle	-	-	-	-	-	
RV	RhizoVital42	RhizoVital42 (Andermatt Biocontrol)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 (mind. $2,5 \times 10^{10}$ Sporen/ml)	Konkurrenz mit <i>Agrobacterium</i> spp. im Boden	2 l/ha	Bewässerung (punktuell)	Zwei Mal pro Saison
XED	Xeral® (Dosatron)	Xeral® (Watair)	Hypochlorige Säure (330 ppm)	Desinfektion des Bewässerungssystems, Bekämpfung von <i>Agrobacterium</i> spp. in den oberen Bodenschichten, Stimulierung von Pflanzenwachstum und Abwehrkräften	2,0% im Bewässerungssystem	Bewässerung (kontinuierlich mit Dosatron)	Bei jeder Bewässerung
RV+ XE	Xeral® und Rhizovital	Xeral® (Watair) und Rhizovital	Hypochlorige Säure (330 ppm) und <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 (mind. $2,5 \times 10^{10}$ Sporen/ml)	Konkurrenz mit <i>Agrobacterium</i> spp. im Boden + Bekämpfung von <i>Agrobacterium</i> spp. in den oberen Bodenschichten, Stimulierung von Pflanzenwachstum und Abwehrkräften	RV, 2 l/ha XE, 5%, 2 l/m	Bewässerung (punktuell)	RV, zwei Mal pro Saison; XE, einmal vor der ersten Behandlung mit RV
SB	S-system - Brotaverd	S-system und Brotaverd (Idai Nature)	S-system (Mangansulfat 1% und Zinksulfat 1%); Brotaverd (Dünger; Cu 3,6 %, Mn 1,6 %, Zn 1 %).	Stimulierung von Pflanzenwachstum und Abwehrkräften	S-system, 5 l/ha; Brotaverd, 8 l/ha	Bewässerung (punktuell)	Alle drei Wochen über die ganze Saison
BB	Bactosand	Bactosand Forte (Agribort phyto)	Kupferkomplex (Cu 12 %, Chitosan 2 %)	Stimulierung von Pflanzenwachstum und Abwehrkräften	8 l/ha	Bewässerung (punktuell)	Alle drei Wochen über die ganze Saison

Studiendesign

Die Studie wurde 2021 in Schnottwill (SO, Schweiz; 47.10042, 7.39787) mit drei Sorten ('Tulameen', 'Amira' und 'Regina') wie in Abbildung 2 beschrieben durchgeführt.

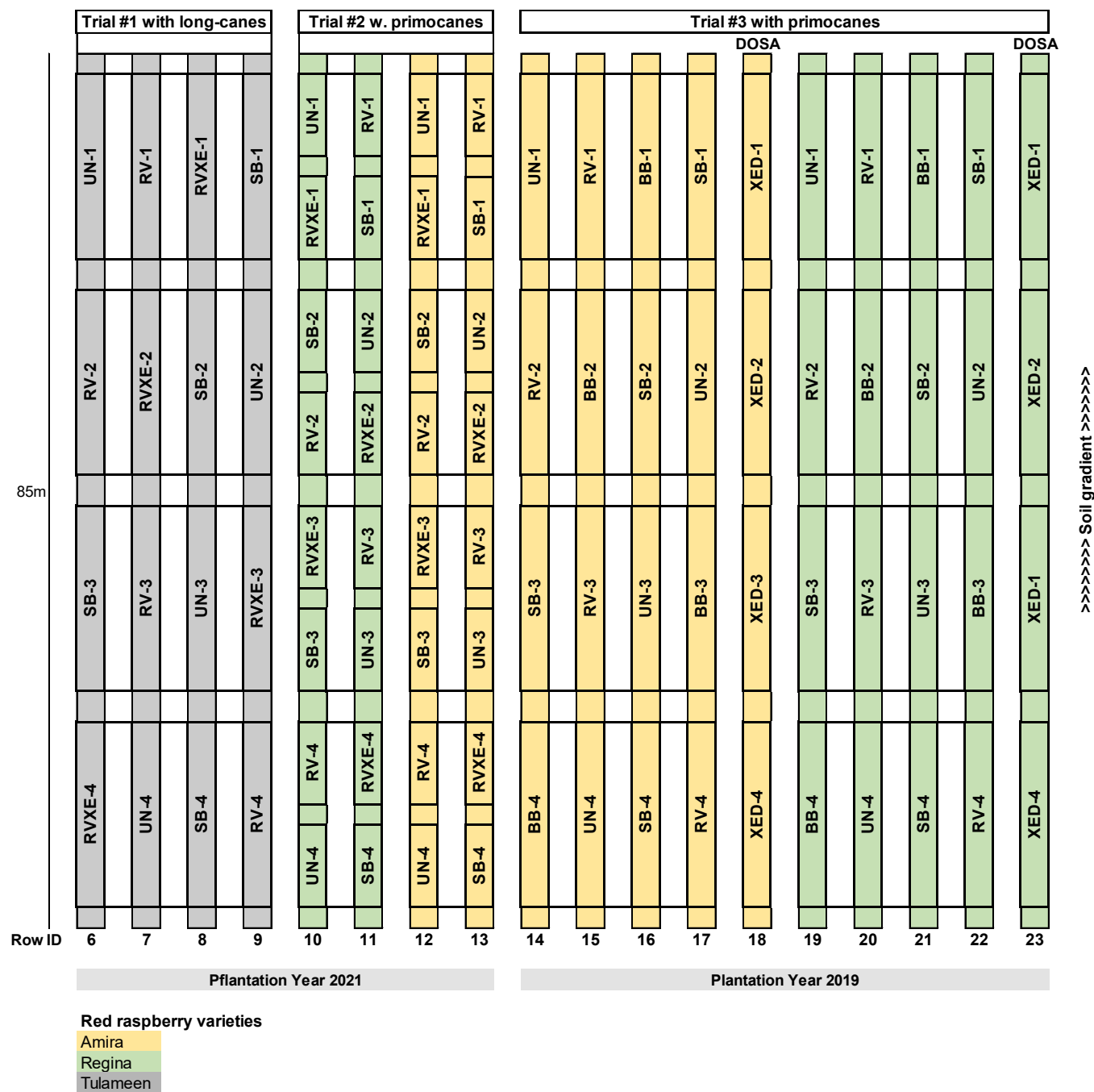


Abbildung 2: Überblick über das Studiendesign. Für jede Behandlung und Sorte wurden vier räumliche Wiederholungen durchgeführt. Das angegebene Bodengefälle über die Parzellen beruht auf kartografischen Daten des Kantons (SO). DOSA: Linien, bei denen Xeral® (XED) mit einem wasserangetriebenen Proportionaldosierer (Dosatron) in das Bewässerungssystem eingebracht wurde.

Tabelle 2: Behandlungen und Bewertungsschema

Datum	Anwendung des Produkts
31.03.2021	Versuch Nr. 3 - Behandlung Nr. 1 [RV, SB, BB] in den Reihen 14 bis 23; Xeral® [XED] Injektion zu 2 % [Reihen 18 und 23]
21.04.2021	Versuch Nr. 3 - Behandlung Nr. 2 [SB, BB] in den Reihen 14 bis 23
21.05.2021	Versuch Nr. 1 - Behandlung Nr. 1 [RV, SB, RVXE] in den Reihen 6 bis 9 Versuch Nr. 3 - Behandlung Nr. 3 [RV, SB, BB] in den Reihen 14 bis 23
16.06.2021	Versuch Nr. 1 - Behandlung Nr. 2 [RV, SB, RVXE] in den Reihen 6 bis 9 Versuch Nr. 2 - Behandlung Nr. 1 [RV, SB, RVXE] in den Reihen 10 bis 13 Versuch Nr. 3 - Behandlung Nr. 4 [SB, BB] in den Reihen 14 bis 23
19.07.2021	Versuch Nr. 3 - Xeral® [XED] @ 0% [Reihen 18 und 23]
09.08.2021	Versuch Nr. 1 - Behandlung Nr. 3 [BB] in den Reihen 6 bis 9 Versuch Nr. 2 - Behandlung Nr. 2 [RV, SB, RVXE] in den Reihen 10 bis 13 Versuch Nr. 5 - Behandlung Nr. 5 [SB, BB] in den Reihen 14 bis 23
20.09.2021	Versuch Nr. 1 - Behandlung Nr. 4 [SB] in den Reihen 6 bis 9 Versuch Nr. 2 - Behandlung Nr. 3 [SB] in den Reihen 10 bis 13 Versuch Nr. 3 - Behandlung Nr. 6 [SB, BB] in den Reihen 14 bis 23
15.02.2022	Detaillierte Wurzelkropf-Bewertung

Prüfung der Wirksamkeit

Eine detaillierte Bewertung der Wirksamkeit wurde am 15.02.2022 vorgenommen, indem der Anteil der Pflanzen mit Wurzelkropf pro Wiederholung bestimmt wurde. Insgesamt wurden 8 Pflanzen (Block zu 16 m) oder 4 Pflanzen (Block zu 7 m) wie nachfolgend beschrieben bewertet. Erfasst wurden die obersten 10 cm des Wurzelsystems der Pflanzen, das zur Aussenseite (180°) der Reihe zeigte. Dazu wurde der Boden mit einer kleinen Schaufel und den Händen abgetragen und festgehalten, ob das Wurzelsystem Wurzelkropf-Wucherungen aufwies. Die statistische Analyse wurde wie in den Legenden zu den Abbildungen beschrieben durchgeführt.

Ergebnisse

Produktwirksamkeit

Die Bewertung der Produktwirksamkeit wurde am 15.02.2022 durchgeführt. Der prozentuale Anteil der Pflanzen mit Wurzelkropf im Versuchsfeld ist in Abbildung 3 dargestellt.

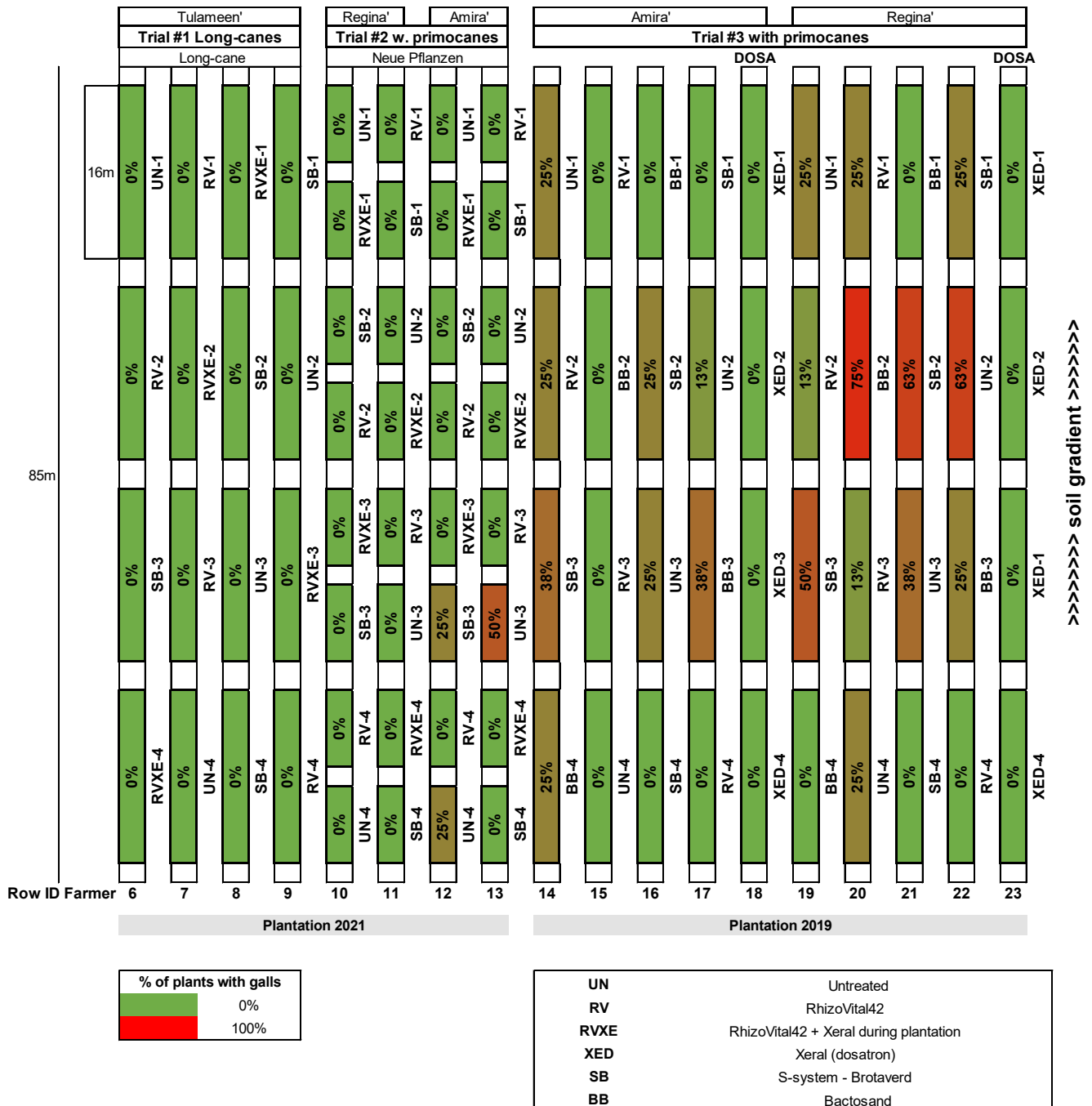


Abbildung 3: Prozentualer Anteil der Himbeerpflanzen mit Wurzelkropf in jeder räumlichen Wiederholung.

Himbeeren, die 2021 gepflanzt wurden (Versuch Nr. 1 und 2, Reihen 6-13), waren nicht oder nur schwach mit *Agrobacterium* spp. befallen. Bei den 2019 mit 'Amira' und 'Regina' bepflanzten Reihen (Versuch Nr. 3, Reihen 14-23) wurden höhere Befallsraten beobachtet. Trotz einer recht hohen Variabilität zwischen den räumlichen Wiederholungen könnten unsere Daten darauf hindeuten, dass RhizoVital42 (RV) und Xeral® (XED) die Befallsrate verringern, wie in den Abbildungen 3 und 4 dargestellt. Der Unterschied zwischen der unbehandelten Kontrolle und RhizoVital 42 ist allerdings statistisch nicht signifikant. Die Befallsrate der kontinuierlich mit Xeral® (2 % im Bewässerungswasser) behandelten Pflanzen betrug 0 %, da wir bei den 8 Wiederholungen dieser Behandlung keine Pflanzen mit Wurzelkropf fanden. Die statistische Analyse zeigt, dass die Behandlung mit Xeral® eine statistisch signifikante Reduktion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle bei den 2019 gepflanzten 'Regina'-Pflanzen bewirkte (p-Wert = 0,0095; Versuch Nr. 3), bei denen die Befallsrate insgesamt höher als bei der Sorte 'Amira' war. Schliesslich scheinen die Behandlungen BB und SB, die auf Nährstoffen und Kupfer basieren, keinen Einfluss auf den Befall der Pflanzen mit *Agrobacterium* spp. zu haben.

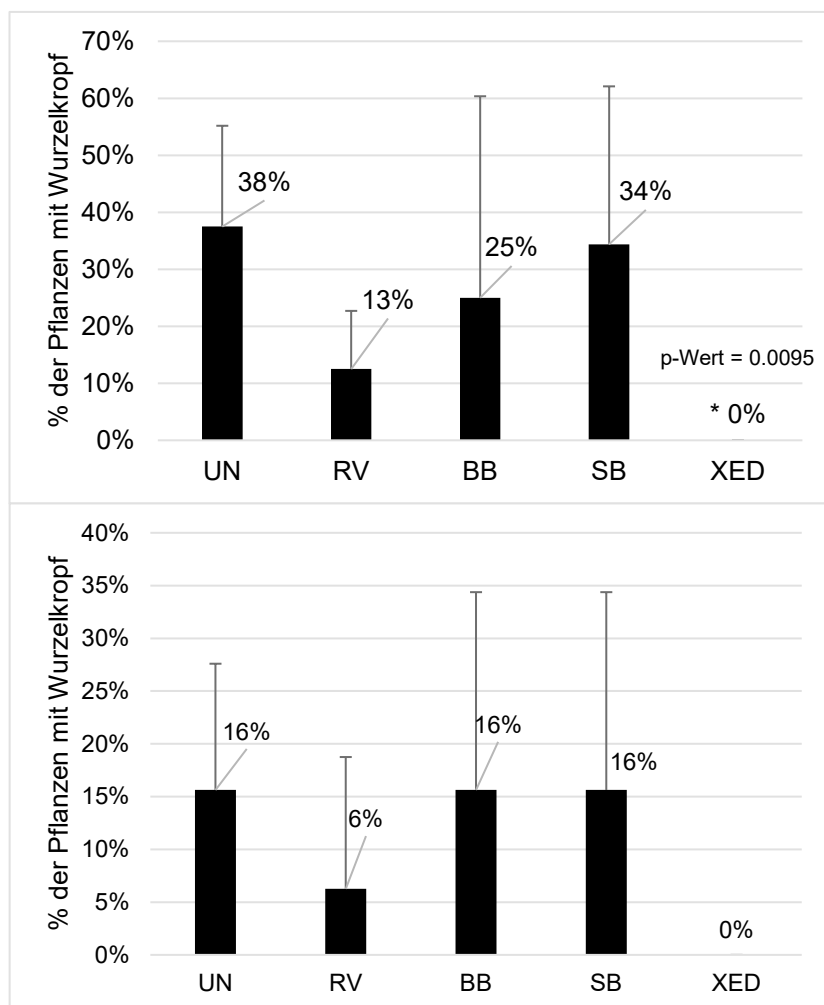


Abbildung 4: Mittlere Befallsrate (% der Pflanzen mit Wurzelkropf) bei den Sorten 'Regina' (oben) und 'Amira' (unten), die 2019 gepflanzt wurden. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung. * kennzeichnet Behandlungen, die im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (UN) statistisch signifikant sind, basierend auf dem Kruskal-Wallis-Test, gefolgt von einer post-hoc FDR-Behandlung zur Anpassung des p-Wertes.

Chloratrückstände

Die Verwendung von chlorhaltigen Produkten kann zur Bildung von Chloratrückständen führen (Hakme et al., 2022). Die mit LC-MS/MS durchgeführten Messungen der Chloratrückstände in den Beeren bei Eurofins (ISO-akkreditiert) sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Chlorat-Konzentration in den Beeren am 29.07.2022. Der Rückstandshöchstgehalt (MRL) für Himbeeren ist in der Verordnung (EU) 2020/749 der Kommission bei 0,05 mg/kg festgelegt.

Reihe und Sorte	Typ der Probe	Sorte	Behandlung	Chloratgehalt (mg/kg)
Reihe 18 - Amira	Beeren	Amira	Xeral® (Dosatron) 2% [31.03 - 19.07.2022]	< 0,01 mg/kg
Reihe 23 - Regina	Beeren	Regina	Xeral® (Dosatron) 2% [31.03 - 19.07.2022]	< 0,01 mg/kg

Die Bodenproben wurden am 15.02.2022 entnommen und die Chloratrückstände wurden bei Eurofins nach der internen Methode SPG-14.169.4 gemessen (Tabelle 4).

Tabelle 4: Chloratgehalt der am 15.02.2022 entnommenen Bodenproben

Reihe und Sorte	Typ der Probe	Behandlung	Chloratgehalt (mg/kg)
Reihe 17 - Amira	Boden	UN - kein Xeral®	< 0,01 mg/kg
Reihe 18 - Amira	Boden	XED (Xeral® (Dosatron)) 2% [31.03 - 19.07.2022]	< 0,01 mg/kg
Reihe 22 - Regina	Boden	UN - kein Xeral®	< 0,01 mg/kg
Reihe 23 - Regina	Boden	XED (Xeral® (Dosatron)) 2% [31.03 - 19.07.2022]	< 0,01 mg/kg

Diskussion und Schlussfolgerungen

Dieser Versuch, der im Jahr 2021 in einem landwirtschaftlichen Betrieb durchgeführt wurde, zeigt, dass die Behandlung mit Xeral® (Lösung mit hypochloriger Säure) eine effiziente Lösung sein könnte, um die Ausbreitung von *Agrobacterium* spp. in der Kultur zu verhindern (mit potenziell kurativer Wirkung). Auch wenn wir die Herkunft von *Agrobacterium* spp. im Versuchsfeld nicht untersucht haben, ist es wahrscheinlich, dass der Erreger über kontaminierte Pflanzen eingeschleppt wurde. Die Bakterien konnten sich dann vermutlich über das Bodenwasser und landwirtschaftliche Praktiken im Boden ausbreiten. Xeral® schränkt wahrscheinlich die Ausbreitung der Bakterien in der oberen Bodenschicht ein, indem es eine teilweise und vorübergehende Desinfektion bewirkt.

Der Chloratgehalt in den Beeren lag unter der Nachweisgrenze ($< 0,01$ mg/kg). Ausserdem scheint sich Chlorat in diesem Versuch nicht im Boden anzureichern, da die Analyse der Bodenproben am 15.02.2022 ergab, dass die Chloratwerte unter der Nachweisgrenze lagen. Im Rahmen weiterer Versuche sollten die Chloratrückstände erneut kontrolliert werden und dabei auch andere Gewebe wie Blätter untersucht werden, um sicherzustellen, dass keine Anreicherung in den Beeren und in der Umwelt stattfindet.

Auch bei RhizoVital 42 (*Bacillus amyloliquefaciens* FZB42) liess sich beobachten, dass die Befallsrate tendenziell eingeschränkt wurde (Wirkung statistisch nicht signifikant im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen). Sollte sich dieser Effekt in weiteren Versuchen bestätigen, könnte es sinnvoll sein, eine Xeral®-Behandlung (während einer Saison) mit einer RhizoVital 42-Anwendung (in der folgenden Saison) zu kombinieren, da sich die Wirkmechanismen der beiden Produkte ergänzen könnten.

Wir schlagen vor, im Rahmen weiterer Versuche eine vorübergehende Injektion von Xeral® in Bewässerungswasser bei einer Konzentration von 2 % über drei Monate (April, Mai und Juni; Injektion bei jedem Bewässerungszyklus) zu testen, mit anschliessender Anwendung von Rhizovital 42 im Juli und August desselben Jahres und im April und Mai des folgenden Jahres. Wir vermuten, dass diese kombinierte Behandlung, die Ausbreitung von *Agrobacterium* spp. wirksam eindämmt. Es kann auch empfohlen werden, Xeral® zwei Monate lang nach dem Anpflanzen neuer Pflanzen anzuwenden, da dadurch die Ausbreitung von *Agrobacterium* spp. ausgehend von infizierten Jungpflanzen verhindert werden könnte.

Die Lebensmittelproduktion ist stark auf den Pflanzenschutz angewiesen. Es wurde geschätzt, dass ohne Krankheits- und Schädlingsbekämpfung mindestens 30 % der Erträge verloren gehen würden (Oerke and Dehne, 2004). Konventionelle Produktionssysteme sind dabei in hohem Masse von der Verwendung synthetischer Pflanzenschutzmittel abhängig, die negative Auswirkungen auf die Umwelt und die menschliche Gesundheit haben können (Pimentel and Burgess, 2013). Aus diesem Grund wird die Anwendung synthetische Pflanzenschutzmittel mit neuen Sicherheitsvorschriften immer stärker eingeschränkt (Chandler et al., 2011). Ausserdem nimmt das Interesse der Verbraucher an nachhaltig produzierten Lebensmitteln ständig zu (Yiridoe et al., 2005). Um diese grosse Herausforderung zu bewältigen, sind wissenschaftliche Innovationen erforderlich, mit denen neuartige Produkte entwickelt werden können, die den Schutz gegen Schädlinge und Krankheitserreger verbessern und gleichzeitig den Ertrag steigern. Diese Studie über *Agrobacterium* spp. zeigt, dass innovative Produkte wie Xeral® ein Schritt in diese Richtung sind. Xeral® hat eine starke Wirkung gegen Bakterien, Pilze und Viren, ist kostengünstig (0,02 CHF/l), mit einem geringen Risiko für Mensch und Umwelt verbunden und einfach und sicher in der Handhabung (Kim et al., 2000; Landa-Solis et al., 2005; Rivera-Garcia et al., 2019; Block and Rowan, 2020). Aufgrund der zurzeit zugelassenen Anwendungen in verschiedenen Bereichen wie Lebensmittelindustrie, Behandlung von Verbrennungen und Hautkrankheiten bei Mensch und Tier, Wasserdesinfektion und Virenbekämpfung (einschliesslich Covid-19) gehen wir davon aus, dass sich Xeral® auch für die Gesundheit und Produktivität von Nutzpflanzen als sehr nützlich erweisen wird, wobei die negativen Auswirkungen der landwirtschaftlichen Systeme auf die Umwelt verringert, die Gesundheit der Anwender geschützt und die Lebensmittelsicherheit verbessert werden können.

Referenzen

- Block MS, Rowan BG** (2020) Hypochlorous Acid: A Review. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **78**: 1461-1466
- Chandler D, Bailey AS, Tatchell GM, Davidson G, Greaves J, Grant WP** (2011) The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **366**: 1987-1998
- De Cleene M, De Ley J** (1976) The host range of crown gall. *The Botanical Review* **42**: 389-466
- Hakme E, Herrmann SS, Poulsen ME** (2022) Chlorate and perchlorate residues in food products on the Danish market. *Food Additives & Contaminants: Part A* **39**: 551-559
- Kim C, Hung Y-C, Brackett RE** (2000) Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology* **61**: 199-207
- Landa-Solis C, Gonzalez-Espinosa D, Guzman-Soriano B, Snyder M, Reyes-Teran G, Torres K, Gutierrez AA** (2005) Microcyn: a novel super-oxidized water with neutral pH and disinfectant activity. *J Hosp Infect* **61**: 291-299
- Oerke EC, Dehne HW** (2004) Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection* **23**: 275-285
- Pimentel D, Burgess M** (2013) Environmental and Economic Costs of the Application of Pesticides Primarily in the United States. *Integrated Pest Management* **3**: 47-71
- Pulawska J** (2010) Crown gall of stone fruits and nuts, economic significance and diversity of its causal agents: tumorigenic *Agrobacterium* spp. *Journal of Plant Pathology* **92**: S87-S98
- Rivera-Garcia A, Santos-Ferro L, Ramirez-Orejuel JC, Agredano-Moreno LT, Jimenez-Garcia LF, Paez-Esquiliano D, Andrade-Esquivel E, Cano-Buendia JA** (2019) The effect of neutral electrolyzed water as a disinfectant of eggshells artificially contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Food Science & Nutrition* **7**: 2252-2260
- Weller SA, Stead DE, Mazzucchi U** (2004) Crown and cane gall of a blackberry-raspberry hybrid caused by *Agrobacterium rhizogenes* in northern Italy. *Journal of Plant Pathology* **86**: 161-165
- Yiridoe EK, Bonti-Ankomah S, Martin RC** (2005) Comparison of consumer perceptions and preference toward organic versus conventionally produced foods: A review and update of the literature. *Renewable Agriculture and Food Systems* **20**: 193-205

Imprint

Publisher	Agroscope Route des Eterpys 18 1964 Conthey www.agroscope
Information	louis.sutter@agroscope.admin.ch
Copyright	© Agroscope 2023
Download	www.agroscope.ch/transfer

Disclaimer

Agroscope disclaims all liability in connection with the implementation of the information contained herein. Current Swiss jurisprudence is applicable.