



Doctoral Thesis

Biologische Bekämpfung der Schwarzbeinigkeit des Weizens durch Einsatz von *Pseudomonas fluorescens* Stamm CHA0 im Feld und Mechanismen der Krankheitsunterdrückung

Author(s):

Wüthrich, Beat

Publication Date:

1991

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000608104> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

18. Okt. 1991

Diss. ETH Nr. 9447

**Biologische Bekämpfung der Schwarzbeinigkeit des
Weizens durch Einsatz von *Pseudomonas fluorescens*
Stamm CHA0 im Feld und Mechanismen der
Krankheitsunterdrückung**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

Beat Wüthrich

Dipl. Ing.-Agr. ETH
geboren am 23. Juni 1960
von Trub BE

Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. G. Défago, Referentin
Prof. Dr. M. S. Wolfe, Korreferent

1991

Zusammenfassung

Die Schwarzbeinigkeit des Weizens, verursacht durch *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt), ist weltweit eine der wichtigsten Weizenkrankheiten. Bei geregelter Fruchtfolge tritt sie nie in Erscheinung. Bei Weizenmonokultur kann sie nach 2 bis 3 Jahren starke Ertragseinbussen bewirken. Nach langjährigem Anbau nimmt der Krankheitsdruck manchmal je nach Standort wieder ab ("Decline-Effekt"), was auf der vermehrten Aktivität antagonistischer Mikroorganismen beruhen könnte.

In einem Feld mit Weizen als Vorfrucht in Eschikon (CH) führte die Zugabe von *G. graminis* var. *tritici* schon im 2. und 3. Anbaujahr zu einer Induktion des "Decline-Effekts". Der Ertrag stieg in diesen beiden Jahren um durchschnittlich 90 %, verglichen mit den Pflanzen ohne Ggt-Zugabe. Ein Ertragsanstieg von 65 % resultierte aus der Zugabe des antagonistischen Bakteriums *Pseudomonas fluorescens* Stamm CHA0 zur Weizensaat. Während eine Ggt-Inokulation als Bekämpfungsmassnahme technisch aufwendig ist, können die Bakterien als wässrige Suspension im Feld auf einfache Art ausgebracht werden.

In einem Feld mit Mais als Vorfrucht führte die Zugabe von Ggt zu einer starken Ertragsreduktion beim Weizen. *P. fluorescens* Stamm CHA0 schützte den Weizen so effizient vor den Krankheitserregern, dass der Ertrag wieder gleich hoch war wie in der Parzelle ohne Krankheitsdruck. Stamm CHA0 zeigte jedoch im Boden von Eschikon keine suppressive Wirkung gegen die schwarze Wurzelfäule des Tabaks, verursacht durch *Thielaviopsis basicola*. Dieses Ergebnis ist erstaunlich, denn Stamm CHA0 wurde aus einem *Thielaviopsis*-suppressiven Boden isoliert. Wahrscheinlich sind unterschiedliche Bodeneigenschaften dafür verantwortlich.

Für die Untersuchung der Mechanismen der Unterdrückung der Schwarzbeinigkeit des Weizens durch *P. fluorescens* Stamm CHA0 wurde ein gnotobiotisches System entwickelt. Der Weizen wurde steril angezogen, wuchs 3 Wochen in künstlichem Boden in 1 l-Erlenmeyerkolben, welche je nach Verfahren eine definierte Menge von Ggt und *P. fluorescens* enthielten. Einige Untersuchungen wurden auch in Topfexperimenten in natürlicher Erde unter Gewächshausbedingungen durchgeführt. Wenn einerseits der künstliche Boden in die Töpfe gegeben wurde und andererseits die natürliche Erde in das gnotobiotische System, führte dies zu keinen nennenswerten Unterschieden zwischen den Ergebnissen, weshalb Resultate von Versuchen in künstlichem Boden auf Verhältnisse in natürlicher Erde übertragbar sind.

Die vorliegenden Resultate zeigten unter gnotobiotischen Bedingungen zum ersten Mal klar die Zusammenhänge zwischen den in der Literatur beschriebenen Einflüssen von Boden-pH, Höhe der Manganversorgung und Art der Stickstoffform auf die Schwarzbei-

nigkeit des Weizens. Ammonium als Stickstoffform reduzierte bei tiefem Boden-pH im Gegensatz zu Nitrat das Pflanzengewicht, und diese Reduktion beruhte nicht auf einem pH-Effekt. Die genannten Parameter hatten keinen Einfluss auf den Befall durch Ggt, und *P. fluorescens* Stamm CHA0 schützte den Weizen unabhängig von Boden-pH, Art der Stickstoffquelle und Manganversorgung effizient vor der Schwarzbeinigkeit. Weitere in der Literatur beschriebene Wirkungen müssen somit auf bisher unbekannte Komponenten in der Rhizosphäre zurückgeführt werden.

Der Einfluss von Cyanid, einem Sekundärmetaboliten von Stamm CHA0, auf die Unterdrückung der Schwarzbeinigkeit des Weizens wurde unter gnotobiotischen Bedingungen mit Hilfe gentechnisch hergestellter Mutanten von Stamm CHA0 untersucht. Aus den Resultaten ging hervor, dass die bakterielle Cyanidproduktion nicht direkt an der Unterdrückung der Schwarzbeinigkeit des Weizens beteiligt ist. Das Cyanid war jedoch mitverantwortlich für den Schutz des Weizens vor der *Pythium*-Wurzelfäule. Das von Stamm CHA0 ausgeschiedene Antibiotikum 2,4-Diacetylphloroglucinol scheint - im Gegensatz zu Cyanid - eine wesentliche Rolle beim Schutz des Weizens vor der Schwarzbeinigkeit zu spielen, wie Versuche in natürlicher Erde unter Gewächshausbedingungen mit Hilfe von Mutanten zeigten. Diese Resultate sind bedeutend für das Verständnis der natürlichen Regulationsmechanismen, weil damit die Isolation, die Selektion und der Praxiseinsatz von antagonistischen Pseudomonaden verbessert werden können.

Abstract

Take-all of wheat, caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt), is one of the most important diseases of wheat worldwide. If wheat is not followed by a cereal crop, the fungus cannot establish. However, severe yield reduction can occur after 2 or 3 years of consecutive wheat crop. In long-term wheat monoculture, disease incidence sometimes declines, depending on environmental factors. Increased activity of antagonistic microorganisms could be responsible for this decline.

In a field in Eschikon (CH) yield reduction was severe when wheat followed wheat. After the addition of *G. graminis* var. *tritici*, take-all decline was induced already in the second and third crop, with an average yield increase of 90 % compared to that of plants without the addition of Ggt. About 65 % of the yield increase was obtained by the addition of *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 as a biocontrol agent. Bacteria can easily be applied as a water suspension in the field, whereas the use of Ggt causes many technical problems.

In another field in Eschikon where wheat followed corn, severe yield reduction occurred after the addition of Ggt. Disease suppression by *P. fluorescens* strain CHA0 was very effective. Yield was the same as in the control treatment without the addition of microorganisms. However, strain CHA0 was not suppressive against black root rot of tobacco in the Eschikon soil. This fact is surprising, because strain CHA0 was isolated from a soil that was highly suppressive to black root rot of tobacco. Differences between the soil types are probably responsible for this failure.

A gnotobiotic system was developed to detect some mechanisms of disease suppression by *P. fluorescens* strain CHA0. A sterile wheat seedling was grown for three weeks in a 1 l-Erlenmeyer flask containing an artificial soil and placed in a growth chamber. Depending on the treatment, a known amount of Ggt and *P. fluorescens* was added. Some experiments were made in natural soil in pots under greenhouse conditions. Results from experiments in artificial soil are transferable to conditions in natural soil, because the results were the same even if the artificial soil was used in pots and the natural soil was used in Erlenmeyer flasks.

Under gnotobiotic conditions it was possible for the first time to show precisely the influence of soil acidity, nitrogen source and manganese on take-all of wheat. Ammonium as a nitrogen source reduced the plant weight at low pH but not by lowering pH. Incidence of take-all was not influenced by soil acidity, nitrogen source and manganese, nor was the protection of wheat against take-all by *P. fluorescens* strain CHA0. Other factors in the rhizosphere must be responsible for the influence of these factors on take-all, as mentioned in the literature.

Experiments with genetically modified mutants of *P. fluorescens* strain CHA0 showed the role of secondary metabolites of strain CHA0 in disease suppression. Bacterial cyanide production is not directly involved in the suppression of take-all of wheat under gnotobiotic conditions. However, cyanide is partly responsible for the protection of wheat against *Pythium* damping-off. Experiments in natural soil under glasshouse conditions confirmed that the production of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol by strain CHA0 seems to play the major role in the suppression of take-all of wheat, in contrast to the bacterial cyanide production.

These results are important in understanding natural mechanisms of disease control. They contribute to improvements in isolation methods, in selection processes and in the use in practice of antagonistic pseudomonads.