

## **Einfluß der Extraktionsbedingungen auf die Wirksamkeit wässriger Kompostextrakte gegenüber *Alternaria solani* an der Tomate**

**The influence of the mode of extraction on the effectiveness of watery extracts on *Alternaria solani* on tomato**

BASILIOS PAPAGEORGIOU, JÜRGEN HELBIG & CARMEN BÜTTNER  
Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Phytomedizin

### **Zusammenfassung**

Durch die Behandlung von Tomatenblättern mit wässrigen Kompostextrakten konnte *Alternaria solani* erfolgreich bekämpft werden. Die Temperatur sowie die Häufigkeit des Umrührens des Kompost – Wasser Gemisches während der Extraktion hatten einen wesentlichen Einfluß auf die Anzahl der Mikroorganismen im Extrakt und die Wirksamkeit der Extrakte gegenüber *A. solani*. Das Umrühren des Gemisches hat die Koloniedichte (cfu/ml) um das siebenfache erhöht und den Befall um 27% reduziert im Vergleich zur einmaligen Durchmischung zu Beginn der Extraktion. Bei einer Umgebungstemperatur von 20°C während der Extraktion war die Anzahl der Mikroorganismen im Kompostextrakt um den Faktor zehn höher verglichen mit der 30°C-Variante. Durch den bei 20°C gewonnenen Extrakt war der Befall um 43% im Vergleich zur Kontrolle vermindert, während die Befallsreduktion in den anderen Varianten erheblich geringer war.

**Stichwörter:** Komposteextrakt, *Alternaria solani*, Tomate

### **Summary**

Influence of the extraction conditions on the effectiveness of watery compost extracts against *Alternaria solani* on tomato

Applications of watery compost extracts successfully suppressed *Alternaria solani* infection on tomato. Temperature and frequency of stirring during the extraction period positively influenced the density of microorganisms in the extracts and the effectiveness against *A. solani*. Daily stirring of the compost water mixture increased the microorganism sevenfold and suppressed the disease incidence by 27% as compared to a treatment using only one initial stirring. The number of microorganisms in the extracts incubated at 20°C was tenfold as compared to extracts incubated at 30°C. The extract incubated at 20°C reduced incidence of *A. solani* by 43% as compared to the control, whereas the other variants were less effective.

**Key words:** Compost extract, *Alternaria solani*, Tomato

## Einleitung

Im Rahmen eines internationalen und interdisziplinären Forschungsprojektes wurde in mehreren westafrikanischen Städten, unter anderem in Dakar (Senegal), organischer Hausmüll gesammelt und kompostiert. Der Kompost diente als Ausgangsmaterial zur Herstellung von wässrigen Kompostextrakten, die zur Bekämpfung von Blattpathogenen an verschiedenen Kulturpflanzen eingesetzt wurden. Eine der Kulturpflanzen ist die Tomate, da sie in Dakar zu den bedeutendsten Kulturen in der periurbanen Landwirtschaft zählt. Als Pathogen wurde *Alternaria solani* als eine der gefährlichsten Krankheiten an der Tomate ausgewählt (Anonymus, 1981).

Die Erforschung der Wirkung von Komposten auf die Pflanzengesundheit wurde bisher überwiegend auf die Anwendung der Komposte im Wurzelsubstrat beschränkt. Boden- anwendungen konnten das antiphytopathogene Potential des Bodens steigern und den Befall mit bodenbürtigen Krankheitserregern unterdrücken (ERHART et al., 1999; HOITINK and FAHY, 1986). Die Wirkung von wässrigen Kompostextrakten bei Anwendung im SPROSSBEREICH wurde demgegenüber wenig untersucht. Die wenigen Untersuchungen zeigten jedoch eine recht gute Wirkung auf Blattpathogene, wobei offensichtlich verschiedene Wirkmechanismen aufgetreten sind (MCQUILKEN et al., 1993; WELTZIEN et al., 1986). Neben einer Wirkung durch Antibiose, die von in den Extrakten vorhandenen Bakterien hervorgerufen wurde, scheint auch die Aktivierung pflanzeigener Abwehrmechanismen (Lignifizierung, Pappilaebildung) eine Rolle zu spielen (STINDT, 1990; SAMERSKI und WELTZIEN, 1988).

Das antagonistische Potential der Bakterien auf der Blattoberfläche wurde bereits mehrfach untersucht und bestätigt (BLAKEMAN und BRODIE, 1976). Durch den Einsatz von Kompostextrakten erhöht sich die Mikroorganismendichte in der Phyllosphäre und das Reservoir an Nährstoffen, das wiederum zur Vermehrung der natürlichen Mikroflora beiträgt. Frühere Untersuchungen zeigten, dass durch eine Erhöhung der Antagonistendichte die Krankheitserreger effektiver unterdrückt werden (DUIJFF et al., 1999). Die meisten Bakterien sind in der Lage, relativ schnell auf unterschiedliche Temperaturen ihrer Umgebung zu reagieren und sich physiologisch und sogar morphologisch auf die neue Situation einzustellen. Ausschlaggebend für ihre enorme Anpassungs- und Wandlungsfähigkeit ist dabei die Einwirkdauer eines oder mehrerer Parameter. Ist die Temperaturveränderung kurzfristig (wenige Stunden), kann die Zelle die Anzahl ihrer Enzyme um ein mehrfaches steigern; ist sie hingegen langfristig (mehrere Wochen oder Monate), so wird ein entsprechendes genetisch fixiertes "Überlebensprogramm" aktiviert, das den "Umbau" der gesamten Zelle zur Folge haben kann (SELLNER, 1997).

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss der Temperatur und der Häufigkeit des Umrührens des Kompost – Wasser Gemisches während der Extraktion auf die Populationsdichte der Mikroorganismen in den Kompostextrakten und deren Wirksamkeit im Pathosystem Tomate – *A. solani* geprüft..

## Material und Methoden

Herstellung der Kompostextrakte und Bestimmung der Mikroorganismendichte

Zur Gewinnung der Extrakte wurde 1 Teil Kompost mit 4 Teilen Leitungswasser überschichtet (V/V). Nach einer Extraktionszeit von 3 Tagen wurde das Wasser – Kompost Gemisch durch ein Mulchtuch filtriert.

Für die Erfassung der Koloniedichte (cfu/ml) in den Kompostextrakten und in der Waschlösung wurde eine dezimale Verdünnungsreihe ( $10^{-1} - 10^{-4}$ ) hergestellt und jeweils 50µl auf einem selektiven Nährboden (KAB) mit einem Drigalsky – Spatel ausplattiert. Die Platten wurden bei 27° C inkubiert und nach 48 Std. ausgewertet.

### **Inokulation der Tomatenpflanzen mit *Alternaria solani***

Die Pflanzen (Blühstadium) wurden mittels einer Handspritze mit einer Suspension ( $3 \times 10^3$  Konidien / ml) künstlich inokuliert. Die Pflanzen standen nach der Inokulation für 48 Std. in der Klimakammer. Die Bedingungen in der Klimakammer entsprachen während der Infektion 95% Luftfeuchtigkeit, 25°C am Tage und 23°C in der Nacht, bei einem Hell – Dunkel Rhythmus von 14 zu 10 Stunden. Zur Aufrechterhaltung einer nahezu 100% Luftfeuchtigkeit wurden die Tomatenpflanzen mit Polyethylen tüten abgedeckt. Anschließend wurden sie ins Gewächshaus überführt. Der Pilz *A. solani* wurde auf einem künstlichen Nährmedium (SNA) bei 20 °C angezogen. Die ersten 24 Std. waren die Kulturen einem Hell – Dunkel Rhythmus 12/12 Std. (UV – Licht) ausgesetzt, anschließend standen sie in der Dunkelheit (Rotem, 1994).

### **Einfluß der Häufigkeit des Umrührens**

Der Kompost aus Conakry (Guinea) wurde im Verhältnis 1 zu 4 mit Wasser überstaut und während der Extraktion in unterschiedlicher Frequenz umgerührt. In einer Variante wurde das Gemisch nur einmal direkt nach dem Ansatz gerührt, in der zweiten Variante wurde täglich umgerührt. Die fertigen Extrakte wurden an Tomatenpflanzen (Sorte Rheinlandsruhm) appliziert, die nach 48 Std. künstlich mit *A. solani* ( $3 \times 10^3$  Konidien / ml) inokuliert wurden. Die Auswertung erfolgte nach 7 Tagen durch Ermittlung der Anzahl der befallenen Blätter pro Blatttage.

### **Einfluß der Temperatur**

Kompost aus Dakar (Diocoul, Senegal) wurde im Verhältnis 1 zu 4 mit Wasser überstaut und während der Extraktion ( 3 Tage) einer Umgebungstemperatur von 20, 30 oder 35°C ausgesetzt. Nach der Herstellung der Extrakte wurde die Populationsdichte der darin befindlichen Mikroorganismen mittels oben beschriebener Methode ermittelt. Außerdem wurden die bei den verschiedenen Temperaturen gewonnenen Extrakte an Tomatenpflanzen appliziert, die 48 Std. danach künstlich mit *A. solani* ( $3 \times 10^3$  Konidien / ml) inokuliert wurden. Die Auswertung erfolgte nach 7 Tagen mittels Auszählung der Anzahl der befallenen Blätter pro Blatttage.

## **Ergebnisse**

Einfluß der Temperatur während der Extraktion auf die Wirksamkeit des Extrakts und die Populationsdichte der Mikroorganismen

Die Inkubation des Kompost – Wasser Gemisches während der Extraktion bei 20°C führte zu einer höheren Anzahl an Mikroorganismen und zu einer besseren Wirksamkeit im Pathosystem Tomate – *A. solani* (Abb. 1) im Vergleich zu den Varianten, die einer Umgebungstemperatur von 30 oder 35°C ausgesetzt waren. In der Variante mit 20°C betrug der Befall 7 Tage nach der künstlichen Inokulation 21 %, bei 30°C waren es 58

%, bei 35 °C 38 % und in der Kontrolle 64 %. Nach einer Extraktionszeit von 3 Tagen betrug die Anzahl der Mikroorganismen im Kompostextrakt der 20°C –Variante das zehnfache verglichen mit den anderen Varianten (Abb. 2).

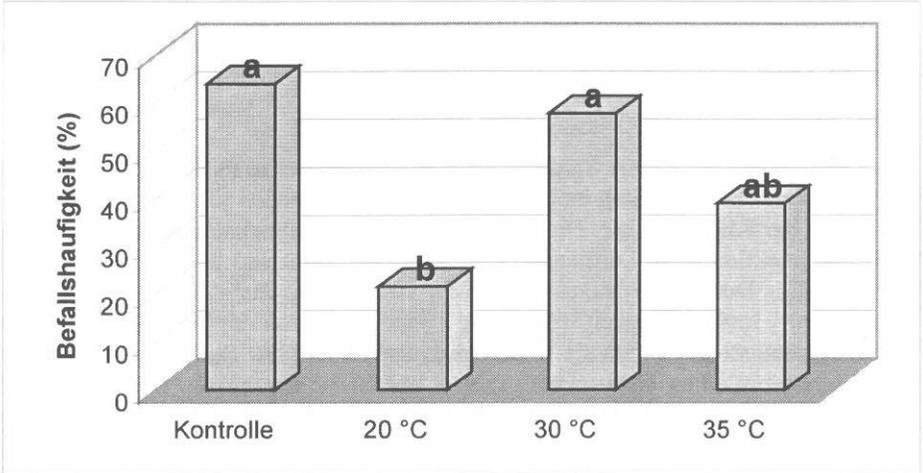


Abb. 1: Wirkung der Kompostextrakte (Kompost aus Dakar, Diocoul - Senegal) auf *A. solani* an der Tomate in Abhängigkeit von der Temperatur während der Extraktionszeit (signifikant bei  $\alpha = 0,1$  im Nemenyi – Test).

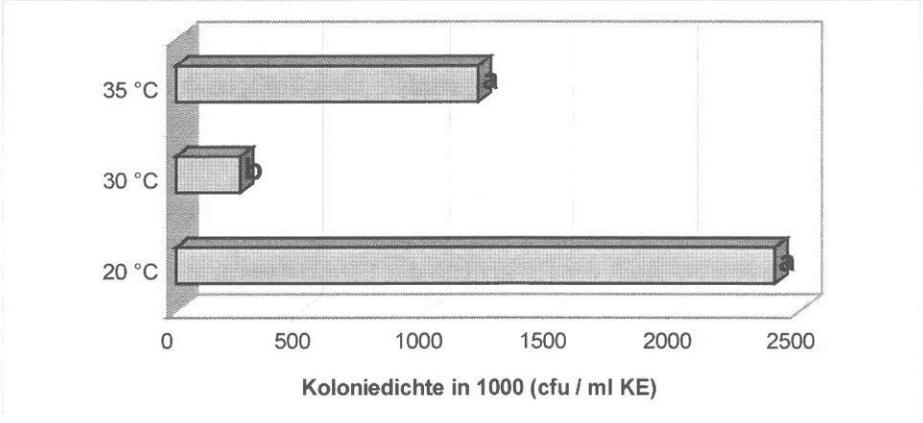


Abb. 2: Anzahl der Mikroorganismen (cfu/ ml Kompostextrakt) im Kompostextrakt (Kompost aus Dakar, Diocoul - Senegal) in Abhängigkeit von der Temperatur während der Extraktions (signifikant bei  $\alpha = 0,05$  im Welch – Test).

**Einfluß der Häufigkeit des Umrührens während der Extraktion auf die Wirksamkeit des Extrakts und die Populationsdichte der Mikroorganismen**

Eine tägliche Durchmischung des Kompost – Wasser Gemisches während der Extraktion (3 Tage) erhöhte die Anzahl der Mikroorganismen und die Wirksamkeit im Patho-

system Tomate – *A. solani* im Vergleich zu einmaligem Umrühren nach dem Überstauen. Der Befall betrug bei der Variante mit täglicher Durchmischung 33 %, bei einmaligem Umrühren 45 % und in der Kontrolle 60 % ( Abb. 3).

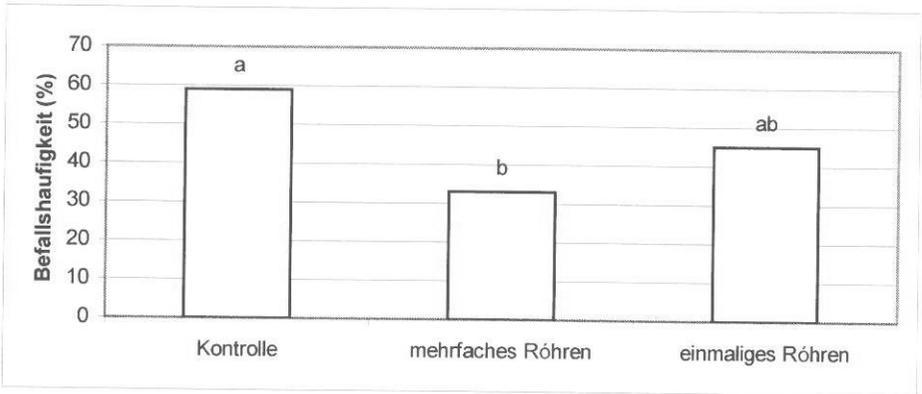


Abb. 3: Einfluß der Häufigkeit des Umrührens des Kompost – Wasser Gemisches während der Extraktion auf die Wirksamkeit des Extrakts aus Conakry gegenüber *A. solani* an der Tomate (signifikant bei  $\alpha = 0,1$  Nemenyi –Test)

Eine siebenfache Erhöhung der Mikroorganismendichte konnte bei einer 3tägigen Extraktionszeit und 1-4 Kompost – Wasser Konzentration festgestellt werden( Abb. 4)

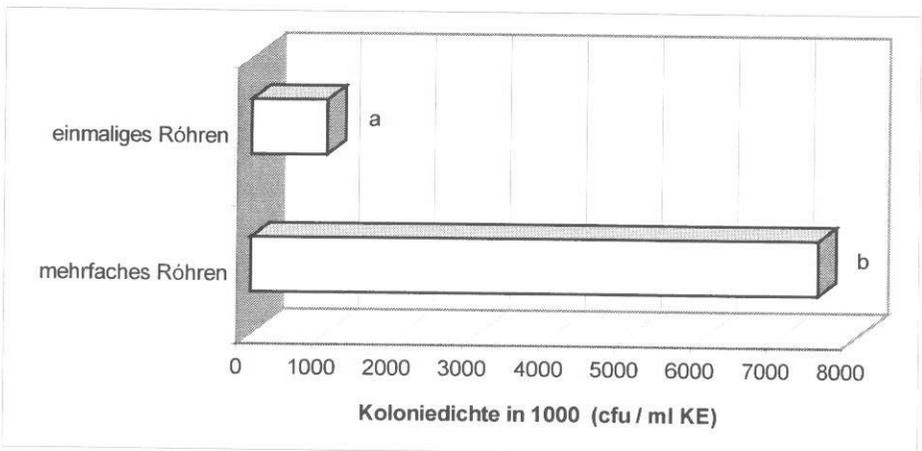


Abbildung 4: Anzahl der Mikroorganismen (cfu/ ml KE) im Kompostextrakt (Kompost aus Conakry, Guinea) in Abhängigkeit von der Häufigkeit des Umrührens während der Extraktion ( signifikant bei  $\alpha = 0,05$  im Welch – Test)

## Diskussion

Die Wirksamkeit der Kompostextrakte wurde offensichtlich von der Umgebungstemperatur während der Extraktion maßgeblich beeinflusst. Die beste Wirksamkeit wurde für den bei einer Temperatur von 20°C hergestellten Extrakt mit einer Verminderung des Befalls um 43% im Vergleich zur Kontrolle ermittelt. Die bessere Unterdrückung des Befalls bei der 20°C-Variante könnte auf die höhere Anzahl der Mikroorganismen zurückzuführen sein, da in dieser Variante mit Abstand die höchste Koloniedichte ermittelt wurde. Dieses Ergebnis steht scheinbar im Widerspruch zu den Temperaturoptima der in den Extrakten dominanten Bakterien, *Pseudomonas* spp. und *Bacillus* spp.. Deren Temperaturoptima liegen eher im Bereich der anderen Varianten, da für *Pseudomonas* spp. etwa 28°C und für *Bacillus* spp. etwa 30°C angegeben sind (Sneath et al. 1984). Eine mögliche Ursache für das beobachtete Ergebnis könnte aber gerade die höhere Vermehrungsrate bei höherer Temperatur gewesen sein. Eine höhere Vermehrungsrate, verbunden mit einer höheren Stoffwechselaktivität, führt zu einem schnelleren Verbrauch der verfügbaren Nährstoffe und könnte als Folge eine hohe Mortalität bewirken haben.

Eine tägliche Durchmischung des Wasser – Kompost Gemisches während der Extraktion erhöhte die Wirksamkeit des Extraktes sowie die Anzahl der Mikroorganismen. Ursache dafür könnte die durch das Umrühren gewährleistete bessere Sauerstoffzufuhr in dem Gemisch gewesen sein, da dadurch die aeroben Mikroorganismen gefördert wurden. Brinton und Tränker (1994) berichteten ebenfalls von einem positiven Einfluß des Umrührens auf die Wirksamkeit der Extrakte, wobei dieses seiner Ansicht nach aber nicht zu stark sein sollte.

In beiden Versuchen wurde in den Kompostextrakten mit der höchsten Wirksamkeit auch die höchste Populationsdichte der Mikroorganismen festgestellt. Da aufgrund von eigenen Voruntersuchungen die Antibiose als primärer Wirkmechanismus angenommen werden kann, sind offensichtlich die mit den Extrakten ausgebrachten Antagonisten, oder deren schon während der Extraktion gebildete Stoffwechselprodukte, für die Hemmung des Pathogens verantwortlich. Die Bedeutung der Populationsdichte für die Wirksamkeit von Antagonisten wurde bereits in mehreren Untersuchungen beobachtet. MONA und RAGAB (1994) isolierten die natürliche Mikroflora aus Maisblättern und konnte sowohl *in vitro* als auch *in vivo* das Pathogen *Ustilago maydis* unterdrücken. FOKKEMA et al. (1975) zeigten, dass eine Erhöhung der Mikroflora auf der Blattoberfläche des Roggens die Entwicklung des Erregers *Cochliobolus sativus* verhindern konnte. Selbst wenn die Wirkung nicht durch Antibiose hervorgerufen wird, scheint die Populationsdichte der Mikroorganismen von großer Bedeutung zu sein. Eine erhöhte Anzahl von Mikroorganismen auf der Phyllosphäre reduzierte den Befall von Reis durch *Cochliobolus miyebanus*, ohne dass eine direkte Wirkung auf das Pathogen zu beobachten war (AKAI und KURAMOTO, 1968).

## Literatur

AKAI, S., KURAMOTO, T.: Microorganisms existing on leaves of rice plants and the occurrence of brown leaf spot. *Annals of Phytopathological Society of Japan* 34, 313 – 316, 1968.

ANONYMUS: Les principaux ennemis des cultures maraîchères au Sénégal, Centre pour le Développement de l'Horticulture, 14, 1981.

BLAKEMAN, J. P., BRODIE, I. J. S.: Inhibition of pathogens by epiphytic bacteria on aerial plant surfaces. p. 529-557 In: C. H. Dickinson and T. F. Preece (eds.). Microbiology of Aerial Plant Surfaces. Academic Press, London, 1976.

BRINTON, F. W., TRÄNKER, A.: Investigations into liquid compost extracts (Teas) for the control of plant pathogenic fungi.-[http://www.woodsend.org/compost\\_tea.pdf](http://www.woodsend.org/compost_tea.pdf), 1994.

DUIJIFF, J. B., RECORBET, G. P., BAKKER, A. H. M., JOYCE E. LOPER, J. E., LEMANCEAU, P.: Microbial Antagonism at the root level is involved in the suppression of *Fusarium* wilt by the combination of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358. - Phytopathology 89, 1073 - 1079. 1999.

ERHART, E., BURIAN, K., HARTL, W., STICH, K.: Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. Journal of Phytopathology 147 (5), 299-305, 1999.

FOKKEMA, N. J., LAAR, J. A. J., VAN DE NELIS – BLOMBERG, A. L., SCHIPPERS, B.: The buffering capacity of the natural mycoflora of rue leaves to infection by *Cochliobolus sativus*, and its susceptibility to benomyl. – Netherlands Journal of Plant Pathology 81, 176 – 186, 1975.

HOITINK, H. A. J., FAHY, C.: Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. Ann. Rev. Phytopath. 24, 93-114; 1986.

MCQUILKEN, M. P., WHIPPS, J. M., LYNCH, J. M.: Some effects of water extracts of compost on *Botrytis cinerea*. Bulletin OILB srop: IOBC wprs bulletin (France), v. 16(11), 4 tables; 4 ref. Summary (En), Montfavet (France), INRA, 12-15, 92-9067-058-4, En, 1993.

MONA, M., RAGAB, M. : Antagonism between Epiphytic Microorganisms and *Ustilago maydis* Causing Common Smut of Maize.- Egypt.J.Phytopathology., Vol. 22, No.1, 1994.

SAMERSKI, C., WELTZIEN, H. C.: Untersuchungen zur Wirkung und Wirkungsmechanismen von Kompostextrakten im Pathosystem Gurke – Echter Gurkenmehltau (*Sphaerotheca fuliginea*).- Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 52/2a, 1988.

SELLNER, B. R.: Ein kleiner Blick in die Welt der Bakterien. - Biologische Stoffwechselvorgänge im Aquarium am Beispiel der Stickstoffoxidation (Nitrifikation). D. Aqu. u. Terr. Z. (DATZ). Teil 2 12: 802-806, 1997.

SNEATH, P. H. A., MAIR, N.S., SHARPE, M.E., HOLT, J.G.: Bergey `s manual of systematic Bacteriology, Volume2 Section 4. Gram – Negative aerobic Rods and Cocci, p.146, Section 13. Endospore-forming Gram-Positive Rods and Cocci, 1122-1123, 1986.

STINDT, A.: Untersuchungen zur Wirkung und zu den Wirkungsmechanismen von Kompost-extrakten auf *Botrytis cinerea* Pers. ex Nocca & Balb an Erdbeeren, Kopfsalat und Buschbohnen. Diss. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn, 169; 1990.

ROTEM, J.: The Genus *Alternaria*. - Sporulation, 74, 1994.

WELTZIEN, H. C., KETTERER, N., SAMERSKI, C., BUDDE, K., MEDHIN, G.: Untersuchungen zur Wirkung von Kompostextrakten auf die Pflanzengesundheit.- Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt fuer Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem (Germany, F.R.), 0067-5849, (no.232), 257, 1986.

(Manuskript eingelangt am 29. Jänner 2002, angenommen am 1. Februar 2002)