

# Prüfung ausgewählter Sekundärmetabolite aus *Bacillus amyloliquefaciens*-Stämmen gegen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in-vivo



S. Rietschel<sup>1</sup>, M. Bandte<sup>1</sup>, H. Junge<sup>2</sup>, R. Borriss<sup>3</sup>, C. Büttner<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Phytomedizin

<sup>2</sup> ABITEP GmbH, Berlin

<sup>3</sup> Humboldt-Universität zu Berlin, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, Institut für Biologie, Bakteriengenetik

E-mail: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

## Einleitung

*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Adernschwärze) ist weltweit eine der wichtigsten Erkrankungen an *Brassicaceae*. Es handelt sich um ein gelb-pigmentiertes, stäbchenförmiges gram-negatives Bakterium, welches monopolar begeißelt ist. Wirtschaftlich bedeutende Schäden treten bei *Bassica oleracea* (Kohl, Blumenkohl, Broccoli, Rosenkohl und Grünkohl) auf, aber auch Zierpflanzen und Unkräuter zählen zu den Wirtspflanzen. Derzeit sind keine biologischen bzw. chemischen Pflanzenschutzmittel verfügbar. Labor-

untersuchungen zeigten eine antibakterielle Wirkung von Sekundärmetaboliten aus *B. amyloliquefaciens* wie beispielsweise Bacillaen, Difficidin/Oxydifficidin und Macrolactin gegen Pflanzenpathogene (Chen et al., 2007). Im Vordergrund steht die Entwicklung eines Verfahrens zur in vivo Prüfung der Wirksamkeit von Sekundärmetaboliten unter besonderer Berücksichtigung des Pflanzenalters sowie des Infektions- und Applikationszeitpunktes.

## Material und Methoden

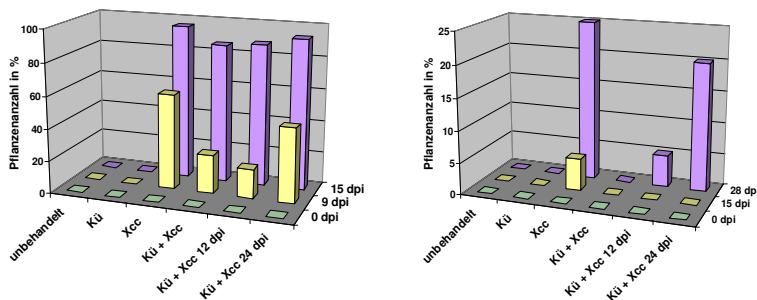
Verwendet wurden Pflanzen im Alter von 32 Tagen oder 54 Tagen. Die getopften Pflanzen wurden bei 23°C/18°C (Tag/Nacht) in Pikierkisten mit Hauben kultiviert. Es wurden jeweils mindestens 20 Pflanzen/Versuchsvariante eingesetzt.

Die Infektion wurde mit einem Treibgas-betriebenen Sprühergerät unter Verwendung einer Bakterienkonzentration von 10<sup>8</sup> (1,5 ml/Pflanze) bzw. alternativ 10<sup>7</sup> (3 ml/Pflanze) durchgeführt. Der Nachweis der Infektion erfolgte durch visuelle Bonitur (Abb. 1) und Rückisolierung auf YDC-Medium. Die Applikation der Sekundärmetabolite aus *B. amyloliquefaciens* fand mit zwei verschiedenen Kulturüberständen zu verschiedenen Zeitpunkten (12, 18, 24, 48 und 72 Stunden nach der Infektion mit *X. campestris* sowie gleichzeitig mit dieser) statt.



**Abb. 1:** Charakteristische Blattsymptome an Blumenkohl nach Infektion mit *X. campestris* pv. *campestris*  
oben: unbehandelt, 9 dpi, 11 dpi, 15 dpi, 17 dpi und 21 dpi (von links nach rechts)  
unten: v-förmige Einschnitte am Blattrand 9 dpi (links) und 11 dpi (rechts)

## Ergebnisse und Diskussion



**Abb. 2:** Anzahl *X. campestris* infizierter Pflanzen in Abhängigkeit von der Behandlungsvariante links: Pflanzenalter zum Zeitpunkt der Behandlung 30-32 Tage (n=80) rechts: Pflanzenalter zum Zeitpunkt der Behandlung 54 Tage (n=20)  
Xcc: *X. campestris* pv. *campestris* Kü: Kulturüberstand von *B. amyloliquefaciens*

Die durch *B. amyloliquefaciens* synthetisierten antibakteriellen Wirkstoffe verhindern in dem gewählten Prüfsystem nicht die Infektion der Pflanzen durch *X. campestris* pv. *campestris* (Abb. 2). Erwartungsgemäß sind jüngere Pflanzen leichter zu infizieren als ältere.

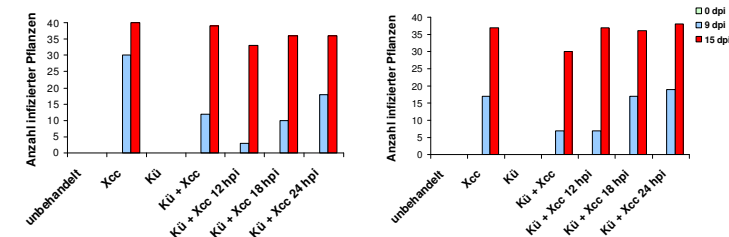
In Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt kommt es zu einer verzögerten Infektion. So führte die Behandlung an Blumenkohljüngpflanzen in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt zu einer zunächst geringeren Infektionsrate (Abb. 2, 3). Diese zeigte sich sowohl bei gleichzeitiger Behandlung als auch bei der 12 Stunden nach der Applikation der Sekundärmetabolite vorgenommenen Infektion. Der verwendete Kulturüberstand hat dabei einen Einfluss auf die Entwicklung der Infektionsrate (Abb. 3).

Die Untersuchungen sollen mit modifizierten Parametern hinsichtlich des Infektionsdruckes und der Konzentration/Zusammensetzung der Kulturüberstände (Sekundärmetabolite) weitergeführt werden.

## Zusammenfassung

Die künstliche Infektion mit *X. campestris* pv. *campestris* führt an Blumenkohljüngpflanzen nach etwa 9 d zur Entwicklung charakteristischer Symptome.

Die beiden geprüften Kulturüberstände von *B. amyloliquefaciens* führen in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt zu einer Verzögerung der Infektion mit *X. campestris*.



**Abb. 3:** Anzahl *X. campestris* infizierter Pflanzen in Abhängigkeit von der Behandlungsvariante links: Kulturüberstand A (n=40) rechts: Kulturüberstand B (n=40)  
Xcc: *X. campestris* pv. *campestris* Kü: Kulturüberstand von *B. amyloliquefaciens*