

# Applikation von freien und mikroverkapselten Zellen bakterieller Antagonisten in Zuckerrübenpillen

Application of sugar beet seed with free and microencapsulated cells of bacterial antagonists

TILCHER, R. 1); BEITZEN-HEINEKE, W. 2); PATEL, A. 3)

1) KWS SAAT AG, Grimsehlstraße 31, D-37555 Einbeck, Tel ++49 (5561) 311-188, R.Tilcher@kws.de; 2) BIOCARE GmbH, Dorfstr. 4, 37574 Einbeck, biocare@t-online.de; 3) Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Institut für Technologie und Biosystemtechnik, Bundesallee 50, 38116 Braunschweig, anant.patel@fal.de

## Einleitung

Pseudomonaden und andere Bakterien stellen einen Pool effektiver Antagonisten gegen Schadpilze (*Pythium ultimum*, *Aphanomyces cochlioides*) der keimenden Zuckerrübe dar. Die Schwierigkeit, dieses Potenzial zu nutzen besteht darin, lebende Bakterienzellen in die im Zuckerrübenanbau übliche Samenpille zu integrieren. Speziell die im Pillierprozess auftretenden Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen führen zu einem verstärkten Absterben vegetativer Bakterienzellen. Diese negativen Effekte sollen durch eine spezielle Mikroverkapselung von Bakterienzellen vermieden bzw. verhindert werden.

In einem Kooperationsprojekt wurden Mikro kapseln im Rahmen eines scale-up-Verfahrens (Entwicklung durch die FAL Braunschweig) bei der Firma BIOCARE hergestellt und bei der KWS SAAT AG in Zuckerrübenpillen eingearbeitet und anschließend getestet. Als Orientierung zur Praxisrelevanz des Systems erfolgte 2004 nach vorangegangenen Laborversuchen die Anlage von Feldversuchen.



## Material & Methoden

Monogermes Zuckerrübensaatgut der Sorten DORENA (diploid, Rizomania-resistent) bzw. PHILIPPA (diploid) wurden für die Versuche eingesetzt. Für die Laborversuche wurden verschiedene Kapsel-Formulierungen (Kapselgröße < 200 µm) eines antagonistischen Bakteriums (*Pseudomonas* sp., Isolat BA2002) getestet und in die Zuckerrübenpille eingearbeitet. Zum Vergleich erfolgte die Pillierung freier Bakterienzellen. In 2004 wurden Wirksamkeitstests im Feld angelegt. Dabei kamen drei verschiedene antagonistische Bakterienisolate zum Einsatz. Als Bewertungsparameter gilt das Niveau von Früh- und Endzählung des Feldaufgangs, die Jugendentwicklung des Pflanzenbestandes und das Ertragsniveau. Die Versuche sollen Aussagen erbringen zum Einfluss verschiedener Bakterienisolate, der Bakterienformulierung (freie Zellen in Flüssigkultur, Mikro kapseln) und des Kapselmaterials.



## Ergebnisse

### 1. Technische Einarbeitung von Mikro kapseln in Zuckerrüben-Pillen

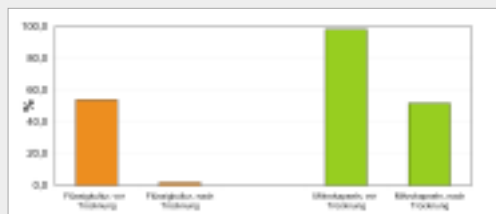
Versuche zur Integration von Mikro kapseln unterschiedlicher Größe in den KWS-Standard-Pillierprozess machten deutlich, daß sich Kapseln des Durchmessers 100–200 µm als Hüllmassenbestandteile eignen. Die Produktion dieser definierten Kapseln ist mit der neuartigen Strahlschneidertechnologie möglich.



Wiederfindung unterschiedlicher Größen von Alginat-Mikro kapseln nach Einarbeitung in ZR-Pillen (% von theoretischer Menge).

### 2. Überlebensrate von Antagonisten nach Applikation als Flüssigkultur/Mikro kapseln

Erste Versuche zeigten, daß die Überlebensrate von vegetative Zellen eines bakteriellen Antagonisten nach dem Pillier- und anschließenden Trocknungsprozess höher ist, wenn die Zellen in mikroverkapselter Form statt in reiner Flüssigkultur appliziert werden.



Überlebensrate von *Pseudomonas* sp. (Stamm BA2002) nach Einarbeitung in die ZR-Pille (% von theoretischer Menge =  $7,8 \cdot 10^8$  cfu/Pille)

### 3. Überlebensraten von Antagonisten nach Applikation verschiedener Kapselsysteme

Sowohl die Einarbeitung von Alginatkapseln als auch von Kapseln auf Pektinbasis (ohne Trocknungshilfsmittel) führte zu Überlebensraten, die der vorläufigen Zielgröße von  $10^4$ – $10^5$  cfu/Pille entsprechen. Diese Werte konnten jedoch nur bei feuchten Pillen, nicht bei den anschließend – wie für den kommerziellen Einsatz der ZR-Pillen unabdingbaren – getrockneten Pillen konstatiert werden. Beim Vergleich der theoretisch applizierten Bakterienmenge mit den tatsächlich detektierten Bakterienzellzahlen wurden Wiederfindungsraten bis zu 75 % ermittelt. Dieser Wert ist deutlich höher als die Vergleichszahlen nach Einarbeitung freier Bakterienzellen.

Kapselmaterial	µl/Kapsel	Antagonisten (cfu/Kapsel)	Ertrag der ZR-Pille	µl/Pille	µl/Pille	Wiederfindung %
Alginat SP	100	$1,0 \cdot 10^8$	feucht	$1,40 \cdot 10^7$	$1,40 \cdot 10^7$	71,4
Alginat SP	100	$1,0 \cdot 10^8$	feucht	$1,40 \cdot 10^7$	$3,07 \cdot 10^7$	1,4
Alginat SP	100	$1,0 \cdot 10^8$	feucht	$1,40 \cdot 10^7$	$4,18 \cdot 10^7$	1,0
Alginat SP	100	$1,0 \cdot 10^8$	feucht	$1,40 \cdot 10^7$	$4,00 \cdot 10^7$	3,5
Pektin PA	100	$1,0 \cdot 10^8$	feucht	$3,28 \cdot 10^7$	$3,28 \cdot 10^7$	67,9
Pektin PA	100	$1,0 \cdot 10^8$	feucht	$3,28 \cdot 10^7$	$3,00 \cdot 10^7$	3,0
Pektin PA	100	$1,0 \cdot 10^8$	feucht	$3,28 \cdot 10^7$	$1,00 \cdot 10^7$	30,8
Pektin PA	100	$1,0 \cdot 10^8$	feucht	$3,28 \cdot 10^7$	$3,07 \cdot 10^7$	9,3

Überlebensrate eines Bakterienisolates nach Einarbeitung in Zuckerrübenpillen. Mikro kapsel-Formulierungen Alginat SP, Pektin PA. Feuchtegehalt der Pille ca. 50 % (feucht) und ca. 8 % (trocken)

### 4. Feldaufgang 2004, Vergleich der Applikation von Flüssigkultur und Mikro kapseln

Erste Ergebnisse belegen die Verbesserung des Feldaufgangs von Pillenvarianten ohne chemische Beizmittel durch bakterielle Antagonisten. Dabei besteht die Tendenz, daß der Einsatz mikroverkapselter Zellen (ohne Trocknungshilfsmittel) höhere Werte gegenüber der Applikation freier Zellen verursacht. Das Aufgangsniveau der Standardvariante mit chemischen Beizmitteln wird nicht erreicht.

Antagonist	Formulierung	Früh- & Endzählung	% der Variante von Standard ohne chem. Beizmittel	% der Variante von Standard mit chem. Beizmittel
+	+	10,0	100,0	100,0
-	-	10,0	100,0	100,0
+	-	10,0	100,0	100,0
-	+	10,0	100,0	100,0

Antagonist	Formulierung	Früh- & Endzählung	% der Variante von Standard ohne chem. Beizmittel	% der Variante von Standard mit chem. Beizmittel
+	+	10,0	100,0	100,0
-	-	10,0	100,0	100,0
+	-	10,0	100,0	100,0
-	+	10,0	100,0	100,0

Antagonist	Formulierung	Früh- & Endzählung	% der Variante von Standard ohne chem. Beizmittel	% der Variante von Standard mit chem. Beizmittel
+	+	10,0	100,0	100,0
-	-	10,0	100,0	100,0
+	-	10,0	100,0	100,0
-	+	10,0	100,0	100,0

Antagonist	Formulierung	Früh- & Endzählung	% der Variante von Standard ohne chem. Beizmittel	% der Variante von Standard mit chem. Beizmittel
+	+	10,0	100,0	100,0
-	-	10,0	100,0	100,0
+	-	10,0	100,0	100,0
-	+	10,0	100,0	100,0

Feldversuch 2004: Aufgang von Zuckerrüben. Behandlung der Pillen mit verschiedenen Bakterienstämmen. Formulierung als Flüssigkultur bzw. Mikro kapseln. Ausstattung der Standardvariante mit Fungiziden (110 = 10 g/U Thiram, 114,7 = 14,7 g/U Hymexazol) und Insektizid (90 = 90 g/U Imidacloprid). Früher Aufgang und Endaufgang an den Standorten Kleinwanzleben und Seigenstadt, Parzellenversuch, 6 Wdh.

### 5. Feldaufgang 2004, Vergleich der Applikation verschiedener Kapselsysteme

Neuartige Kapselsysteme, die während des Projektes entwickelt wurden, zeigen gegenüber den herkömmlichen Alginatkapseln verbesserte Wirkung.



Feldversuch 2004: Aufgang von Zuckerrüben. Behandlung der Pillen mit Bakterienstammes *Pseudomonas* sp., Isolat BA2002. Formulierung als Mikro kapseln: MK1 = Guargum MG, MK2 = Alginat SP, MK3 = Pektin PA, MK4 = Guargum MF. check ohne: Applikation ohne Bakterien, ohne chemische Beizmittel, check mit: Standard-Applikation mit chemischen Beizmitteln. Früher Aufgang (links) und Endaufgang (rechts) am Standort Hilprechtshausen, Parzellenversuch, 4 Wdh.

Diese Arbeiten werden gefördert von der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FKZ: 220-036-02).

