



Die Rolle von Nematoden und Mikroorganismen bei der Nachbaukrankheit von Apfel

Schon 1939 beschrieb Horst Klaus im Landwirtschaftlichen Jahrbuch ausführlich das Problem der Bodenmüdigkeit im Obstbau und unterschied es deutlich von Problemen, die durch Pathogene oder Parasiten verursacht werden: "Bodenmüdigkeit ist der durch wiederholten Anbau eintretende Verlust der Eignung des Bodens einer bestimmten oder ähnlich wirkenden Pflanzenart als Substrat zu dienen, dessen Ursache nicht bekannt, aber pflanzenspezifisch ist. (...) Eine Pflanze, die auf müdem Boden bestimmte Degenerationserscheinungen zeigt, legt diese ab und geht zum normalen Wachstum über, sobald sie auf gesunden Boden kommt." Schädlinge und Parasiten könnten deshalb niemals die direkte Ursache der Bodenmüdigkeit sein, weil sie mit der kranken Pflanze zusammen transferiert würden. Diese Umkehrbarkeit sei ein wesentliches Merkmal der Bodenmüdigkeit (Abb. 1). Die Ursache für die Bodenmüdigkeit - mit Bezug auf die Pflanze auch Nachbaukrankheit genannt - ist immer noch nicht gefunden. Aber heute haben wir die technischen Möglichkeiten, die Zusammensetzung der Organismen im wurzelnahen Bodenbereich näher zu analysieren. Im Teil 5 unserer Serie mit Berichten aus dem BMBF-Projekt ORDIAmur haben wir gezeigt, dass es im Boden deutliche Verschiebungen in der Zusammensetzung der Gemeinschaft von Mikroorganismen gibt. In diesem Teil 6 werden die Nematoden und die mit ihnen assoziierten Mikroorganismen betrachtet.

Nachbau von Apfel verändert die Artenzusammensetzung im Boden

Für das Forschungskonsortium ORDIAmur haben die Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein und die Leibniz Universität Hannover Versuchsfelder angelegt. Diese enthalten zufällig verteilte Parzellen mit mehrfach nachgebauten Apfelpflanzen sowie Parzellen ohne Nachbau, in denen Apfel nach Gras neu gepflanzt wurde. Mithilfe moderner Verfahren konnte gezeigt werden, dass sich die Artenzusammensetzung von Pilzen, Oomyceten, Bakterien und Nematoden im wurzelnahen Boden sehr deutlich zwischen Nachbau und Neupflanzung unterscheidet. Schädliche Nematoden, die in Wurzeln eindringen (endoparasitär), oder pflanzenpathogene Mikroorganismen wurden in unseren Versuchsfeldern kaum gefunden und konnten die beobachteten Wurzelschäden im müden Boden nicht verursacht haben. Auch unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus konnten deutliche Veränderungen in der Artenzusammensetzung an Wurzeln junger Apfelpflanzen in müden Böden gezeigt werden. Große Unterschiede zwischen Nachbauböden und neu bepflanztene Kontrollböden zeigten sich in der Zusammensetzung der Nematoden-Gemeinschaften. Wie alle Tiere tragen Nematoden spezifische Arten von Mikroorganismen auf ihrem Körper: ihr eigenes Mikrobiom. In den von uns untersuchten müden Böden standen insbesondere einige auf Nematoden lebende Pilze in einem statistischen Zusammenhang mit reduziertem Pflanzenwachstum. Doch Korrelationen bedeuten noch lange nicht, dass diese Arten auch ursächlich für die Bodenmüdigkeit sind. Und überhaupt stellt sich die Frage, welche Veränderungen im müden Boden eine Ursache oder welche eine Folge der Nachbaukrankheit sind.

Nematoden-Fraktion aus müdem Boden löst Nachbaukrankheit aus

Nematoden können aus dem Boden mit einer Lösung hoher spezifischer Dichte extrahiert, auf einem 20 µm Sieb gesammelt und gewaschen werden. Was dann vom Sieb in ein Gefäß gespült wird, nennen wir Nematoden-Fraktion, weil es vor allem Nematoden aber auch andere Organismen enthält. Die Nematoden-Fraktion aus müdem Boden haben wir an junge M.26 Apfelpflanzen gegeben, um die Wirkung auf die Wurzel zu beobachten. Zum Vergleich wurde die Nematoden-Fraktion aus nicht-müdem Boden vom gleichen Versuchsfeld genommen. Kombiniert wurden die Nematoden mit Suspensionen von Mikroorganismen aus den beiden Böden. Die Nematoden-Fraktion aus müdem Boden, aber nicht die aus dem nicht-müden Boden, induzierte Symptome der Nachbaukrankheit: reduzierte Wurzelmasse, Verbräunung



der Wurzeln und erhöhter Gehalt an Phytoalexinen, also bei Stress gebildete Abwehrstoffe (Teil 4 unserer Serie). Bei Wurzelschäden durch Nematoden denkt der Praktiker natürlich gleich an den endoparasitären Nematoden *Pratylenchus penetrans*, der aber in unseren untersuchten Böden keine Rolle spielte und in den Wurzeln nicht zu finden war.

Nematoden und Mikroorganismen wirken zusammen

Es ist uns bisher kein plausibler Mechanismus bekannt, wie freilebende Nematoden allein die beobachteten Symptome an der Wurzel verursachen könnten. Spielen also die Mikroorganismen in den Nematoden-Fractionen eine entscheidende Rolle? Durch unsere Untersuchungen haben wir eine gute Vorstellung davon, welche Arten von Bakterien und Pilzen mit den Nematoden im müden Boden assoziiert sind. Im nicht-müden Boden war die Zusammensetzung dieser Mikroorganismen deutlich anders. Insbesondere bestimmte Nematoden-assoziierte Pilze standen in Beziehung zu reduzierter Wurzelmasse der Apfelpflanzen im müden Boden. Um dies näher zu untersuchen, extrahierten wir eine Mikroorganismen-Fraktion (< 5 µm) und eine Nematoden-Fraktion (> 20 µm) aus müdem Boden und gaben sie entweder getrennt oder kombiniert an junge Apfelpflanzen. Die Reaktion der Wurzeln wurde anhand der Bildung von Phytoalexinen gemessen, die bei Stress in der Wurzel gebildet werden (Abb. 2). Die Mikroorganismen lösten eine geringere Stressantwort der Wurzeln aus als die Nematoden-Fraktion. Aber wirklich interessant war die kombinierte Wirkung von beiden, die um ein Vielfaches stärker war als die der einzelnen Fraktionen. Müssen also erst bestimmte Nematoden und Mikroorganismen zusammentreffen, um im Wurzelraum die Nachbaukrankheit auszulösen? Tatsächlich ist aus anderen Zusammenhängen bekannt, dass einige Mikroorganismen biologisch aktive Substanzen bilden, wenn sie mit Nematoden zusammenkommen.

Tagetes verbessert die Zusammensetzung der Nematoden-Arten

Es scheint also, dass bestimmte freilebende Nematoden - wahrscheinlich zusammen mit assoziierten Pilzen - Symptome der Nachbaukrankheit auslösen können. Die Wurzeln von Tagetes geben Thiophene in den Boden ab, die im wurzelnahen Boden gegen Nematoden wirken. Könnte man diese nematizide Wirkung von Tagetes nutzen, um die Nematoden-Gemeinschaft positiv zu beeinflussen? In einem Topfversuch haben wir *Tagetes patula* oder *Tagetes tenuifolia* in müdem Boden angezogen. Kontrollen blieben brach. Die Pflanzen wurden nach acht Wochen entweder in den Boden eingearbeitet oder entfernt. Die Nematoden-Fractionen aus den Töpfen wurden an junge M.26 Apfelpflanzen gegeben. Die Nematoden-Fraktion aus dem mit Tagetes behandelten Boden reduzierte das Wurzelwachstum nicht, im Gegensatz zu den Kontrollen ohne Tagetes. Tagetes-Art oder ihre Einarbeitung in den Boden machten hier keinen wesentlichen Unterschied. Die Wirkung von Tagetes auf die Nematoden wurde in Baumschulen und Apfelbetrieben bestätigt. In Parzellen wurde entweder Tagetes oder Gras auf müdem Boden angebaut. Nematoden-Fractionen von Tagetes-Parzellen reduzierten die Wurzelmasse von M.26 Apfelpflanzen signifikant weniger als Nematoden-Fractionen aus Grasparzellen. Letztere bewirkten eine deutliche Verbräunung der Wurzeln (Abb. 3). Apfelpflanzen auf Tagetes-behandelten Parzellen wiesen eine signifikant höhere Zunahme des Durchmesser der Triebbasis auf als auf unbehandelten Parzellen. Dieser positive Effekt unterschied sich allerdings von Betrieb zu Betrieb und war dort am größten, wo das Wachstum insgesamt besser war. In allen Betrieben waren endoparasitäre Nematoden nicht für Wuchsreduktion der Apfelpflanzen verantwortlich. Eine Studie über die nematiziden Thiophene in den Wurzeln verschiedener Tagetes-Arten ergab die größte Menge pro Fläche bei *T. minuta*, gefolgt von *T. patula*, *T. erecta* und *T. tenuifolia*. Allerdings bestimmt nicht die Menge der Wirkstoffe in der Wurzel, sondern die Abgabe aus der Wurzel in den Boden die Effektivität. Hohe Konzentrationen von Thiophenen in der Wurzel könnten sogar auf eine geringe Absonderung in den Boden hinweisen. Die Wirksamkeit verschiedener Tagetes-Arten gegen Nematoden im Wurzelraum müsste daher noch systematischer untersucht werden.



Aufgrund des Wirkmechanismus sollte Tagetes möglichst lange im Boden stehen. Die Einarbeitung von Tagetes in den Boden vor der Pflanzung von Apfel kann einen zusätzlichen Gründüngungseffekt bringen.

Gelöstes Ozon als Option zur Bodenbehandlung gegen Nematoden

Nematoden reagieren sehr empfindlich auf Ozon im Bodenwasser. Die Entwicklung kompakter energieeffizienter Elektroden, die ozonisiertes Wasser vor Ort kostengünstig erzeugen, hat eine Anwendung im Gartenbau nähergebracht. In Topfversuchen haben wir die Wirkung von ozonisiertem Wasser auf die Nachbaukrankheit in müdem Boden getestet. Das Wachstum von jungen Apfelpflanzen in müdem Boden verbesserte sich signifikant durch eine Behandlung mit 1/10 Volumen ozonisiertem Wasser vor Pflanzung. Die Wurzelmasse war mehr als verdoppelt im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. In einem zweiten Gewächshausexperiment war die Wirkung vergleichbar zur Dämpfung des müden Bodens (Abb. 4). Elektrochemisch erzeugtes ozonisiertes Wasser hat das Potenzial, andere Maßnahmen der Bodendesinfektion im Gartenbau zu ersetzen. Wasser kann vor Ort mit wenig Energie ozonisiert werden, ist sicher in der Anwendung und hinterlässt nach kurzer Wirkdauer keine Rückstände. Allerdings muss die Reproduktion unserer Ergebnisse unter Praxisbedingungen erst zeigen, ob eine Behandlung mit ozonisiertem Wasser als Maßnahme gegen die Nachbaukrankheit empfohlen werden kann. Die nächsten Entwicklungsschritte werden darin bestehen, die bereits auf dem Markt verfügbaren Geräte an die Anforderungen landwirtschaftlicher Anwendungen anzupassen und die technische und wirtschaftliche Machbarkeit im Freilandbetrieb zu untersuchen. Unerwünschte Wirkungen auf das Bodenleben müssten im Vergleich mit anderen Maßnahmen der Bodendesinfektion in ihrer Stärke und Dauer bewertet werden. Aufgrund des schnellen und restlosen Abbaus von Ozon im Boden sind hier klare Vorteile zu erwarten.

Ein hypothetisches Modell der Nachbaukrankheit

Die Ursache der Nachbaukrankheit ist noch nicht bekannt und möglicherweise komplex. Aus den hier dargestellten Befunden lässt sich jedoch ein Arbeitsmodell ableiten, das zwischen der frühen Entwicklung der Bodenmüdigkeit und den späten Folgen differenziert (Abb. 5). In unseren Versuchen wurde die Wuchsreduktion der Apfelpflanzen schon ab dem ersten Nachbau sichtbar. In der frühen Phase der Bodenmüdigkeit verstärkt möglicherweise eine Rückkopplungsschleife zwischen jungen Wurzeln und Nematoden-Pilz-Komplexen sowohl die Interaktion im wurzelnahen Boden als auch die Stressreaktion der Wurzeln. Einfacher gesagt: Die Apfelwurzel begünstigt bestimmte Nematoden und Pilze; wenn die sich treffen, bilden die Pilze Substanzen, die Stress in der Wurzel auslösen; die gestresste Wurzel begünstigt dann um so mehr den Nematoden-Pilz-Komplex. In einer späten Phase der Bodenmüdigkeit ist dann die Lebensgemeinschaft im Boden durch die physiologisch veränderten Wurzeln drastisch beeinflusst. Eine ungerichtete Abwehrreaktion erschöpft die Abwehrkraft der Pflanze gegen nachfolgende Pathogene. Dies führt in der späten Phase der Nachbaukrankheit dazu, dass an Apfelwurzeln eine Vielzahl verschiedener Schadorganismen nachzuweisen sind, die aber nie konsistent auftreten, sondern abhängig von Standort und Zeitpunkt. Diese Pathogene und der Nematode *Pratylenchus penetrans* rückten bei der Erforschung der Nachbaukrankheit nach den frühen Arbeiten von Horst Klaus zunehmend in den Vordergrund und lenkten so von der Suche nach den Ursachen ab. Das Forschungskonsortium ORDIAmur ist nun dabei, wesentliche neue Einblicke in das komplexe Bodenleben in Zusammenhang mit der Bodenmüdigkeit unter Apfel zu erarbeiten.

**Xorla Kanfra (JKI), Holger Heuer (JKI), Benye Liu (TU Braunschweig), L. Beerhues (TU Braunschweig),
Andreas Wrede (LKSH)**

Literatur

Kanfra, X., Liu, B., Beerhues, L., Sørensen, S. J., and Heuer, H. (2018). Free-living nematodes together with associated microbes play an essential role in apple replant disease. *Front. Plant Sci.* 9, 2679. doi: 10.3389/fpls.2018.01666

Kanfra, X., Obawolu, T., Wrede, A., Strolka, B., Winkelmann, T., Hardeweg, B., et al. (2021). Alleviation of nematode-mediated apple replant disease by pre-cultivation of *Tagetes*. *Horticulturae* 7, 433. doi: 10.3390/horticulturae7110433

Kanfra, X., Elhady, A., Thiem, H., Pleger, S., Höfer, M., and Heuer, H. (2021). Ozonated water electrolytically generated by diamond-coated electrodes controlled phytonematodes in replanted soil. *J. Plant Dis. Prot.* 128, 1657–1665. doi: 10.1007/s41348-021-00524-0

Marotti, I.; Marotti, M.; Piccaglia, R.; Nastro, A.; Grandi, S.; Dinelli, G. (2010). Thiophene occurrence in different *Tagetes* species: Agricultural biomasses as sources of biocidal substances. *J. Sci. Food Agric.* 90, 1210–1217.

Kirschen noch bei Einjahrspflanzen, bei denen wiederholter Nachbau angegeben worden ist, festgestellt werden. Ein wesentliches feststehendes Merkmal der Bodenmüdigkeit ist aber, wie schon erwähnt, die Umkehrbarkeit der Abbauerscheinungen am Pflanzenkörper; d. h. eine Pflanze, die auf müdem Boden bestimmte Degenerationserscheinungen zeigt, legt diese ab und geht zum normalen Wachstum über, sobald sie auf gesunden Boden kommt. Die Pflanze ist also zunächst nicht eigentlich krank, sondern physiologisch umgestimmt. Schädlinge und Parasiten können deshalb auch niemals die direkte Ursache der Bodenmüdigkeit sein.

Vogel legte in seinen ersten Arbeiten (1931–34) besonderen Wert auf Untersuchungen des physikalischen und chemischen Bodenzustandes, in der Annahme, die Müdigkeitsercheinungen auf ganz einfache Ver-

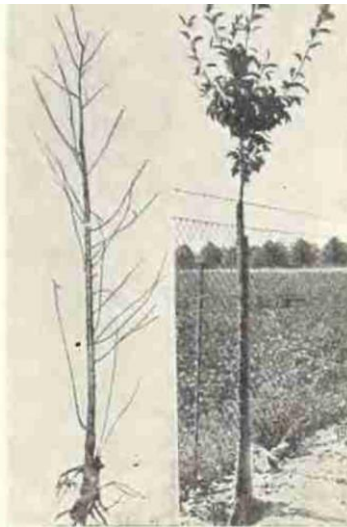
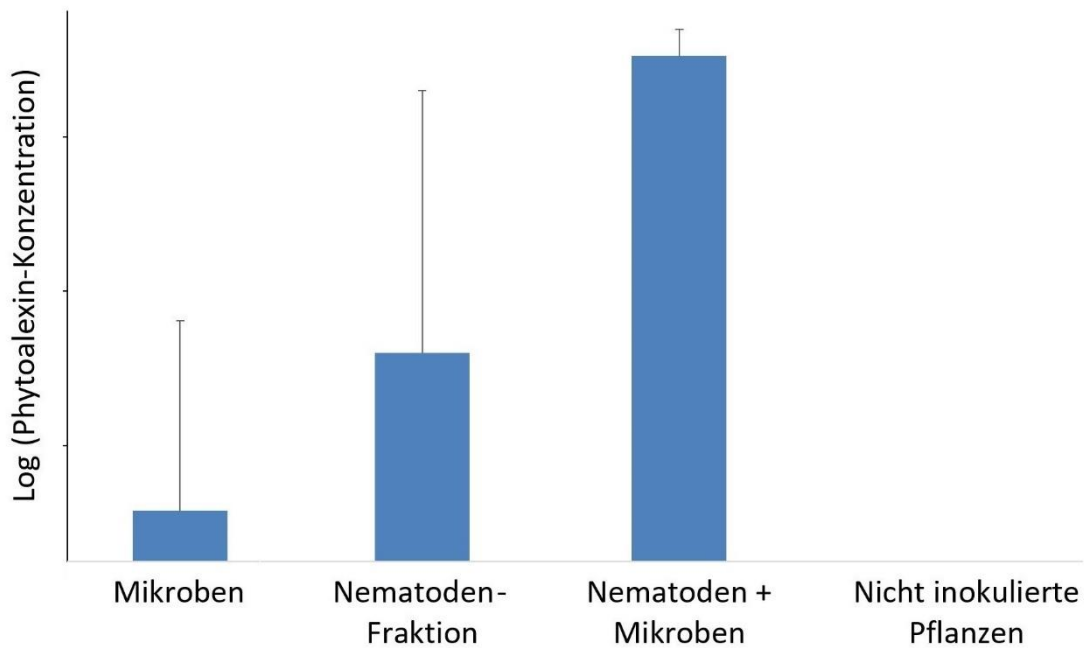


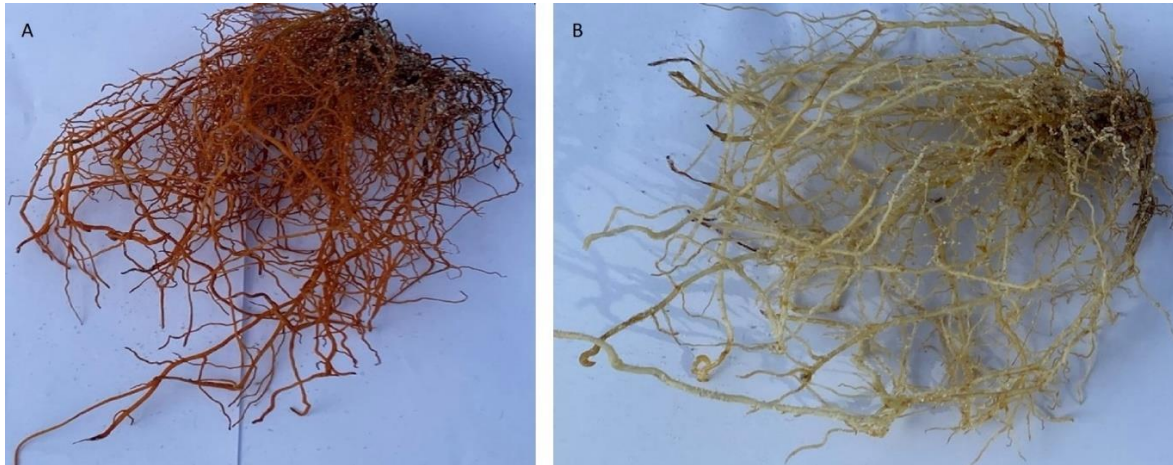
Abb. 1.
Ein Beispiel der Umkehrbarkeit nach Kemmer.
Links: Baum aus müdem Boden.
Rechts: Der gleiche Baum nach zweijähriger Kultur in gesundem Boden.

Abb. 1: Ausschnitt aus einem Artikel von Horst Klaus (1939) “Das Problem der Bodenmüdigkeit unter Berücksichtigung des Obstbaus”



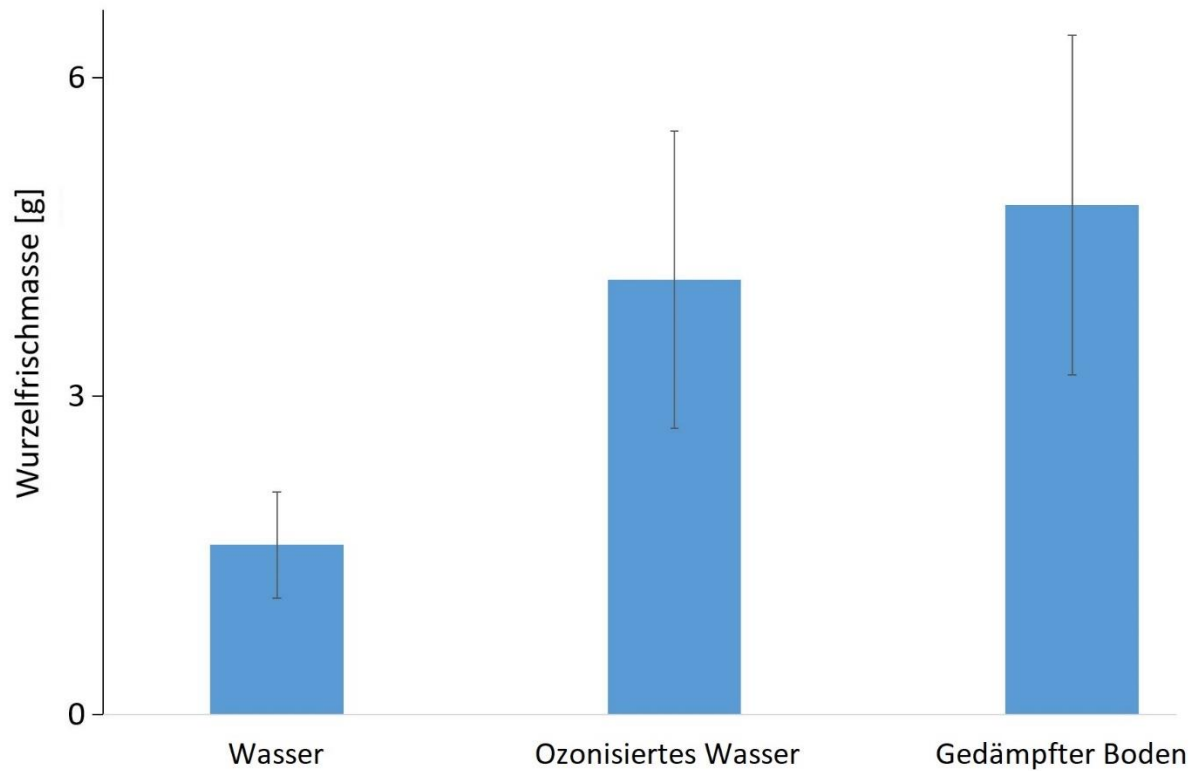
H. Heuer

Abb. 2: Durch biotischen Stress ausgelöste Abwehrstoffe (Phytoalexine) in den Wurzeln von M.26-Jungpflanzen nach Inokulation mit den aus müdem Boden extrahierten Fraktionen von Mikroorganismen (< 5 µm gesiebt), Nematoden (> 20 µm) oder beiden gemeinsam. Die Wirkung der kombinierten Organismen war um ein Vielfaches stärker als die der einzelnen, was auf eine synergistische Wirkung von Nematoden und Mikroorganismen bei der Entstehung der Nachbaukrankheit von Apfelpflanzen schließen lässt.



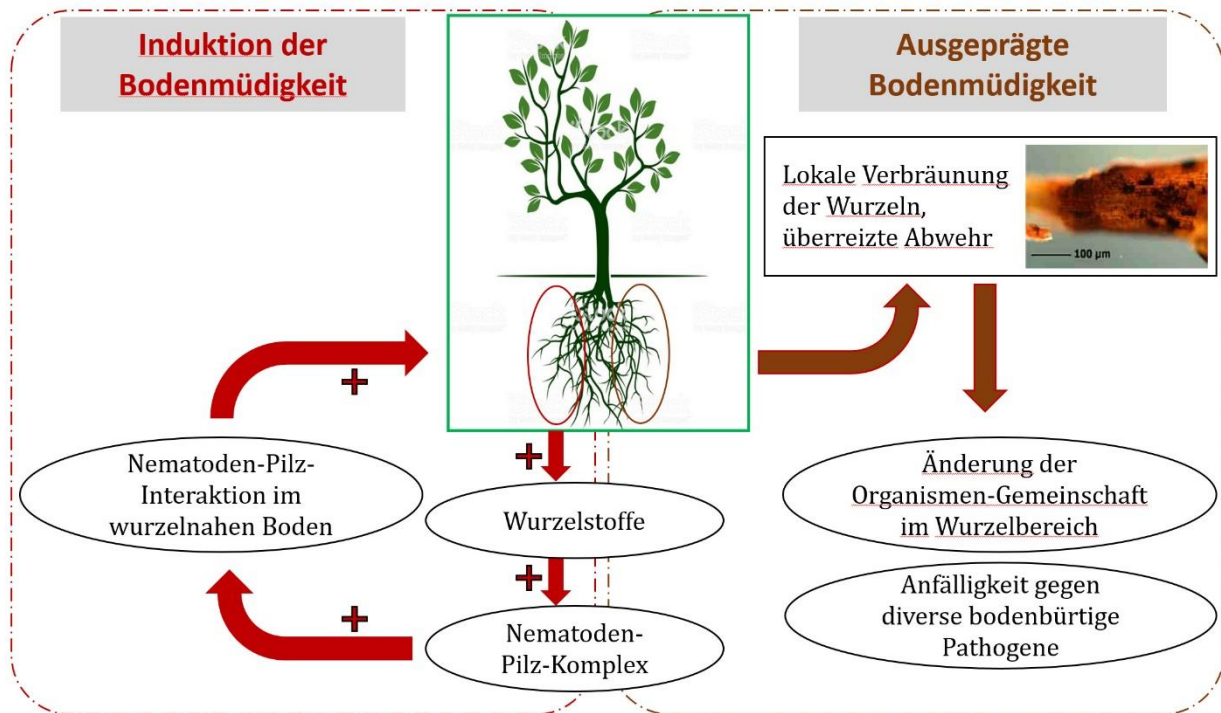
X. Kanfra

Abb. 3: Verbräunung von Wurzeln junger M.26 Apfelpflanzen, die in sterilem Substrat mit einer Nematoden-Fraktion aus müdem Boden inokuliert wurden (A). Nach Behandlung des müden Bodens mit Tagetes löste die Nematoden-Fraktion keine Verbräunung aus (B). Die Nematoden-Fractionen wurden aus Parzellen einer Baumschule mit intensivem Nachbau von Apfel gewonnen, die vor Beprobung entweder mit Gras (A) oder Tagetes (B) bepflanzt waren.



H. Heuer

Abb. 4: Einmaliges Tränken von müdem Boden mit ozonisiertem Wasser beseitigt das verminderte Wachstum junger M.26 Apfelpflanzen infolge der Nachbaukrankheit fast vollständig. In diesem Topfversuch entwickeln die nach Ozon-Behandlung des Bodens gesetzten Apfelpflanzen normale gesunde Wurzeln, vergleichbar zum gedämpften Boden. Ob dies allerdings auch unter Praxisbedingungen gelingt, muss sich erst noch zeigen.



H. Heuer

Abb. 5: Arbeitshypothese zur Bodenmüdigkeit bei Apfel, bezogen auf die Rolle der Nematoden. Eine Rückkopplungsschleife zwischen jungen Wurzeln und Nematoden-Pilz-Komplexen im wurzelnahen Boden verstärkt die Bodenmüdigkeit (Induktion). Auf den zunehmend müderen Boden reagiert die Wurzel mit physiologischen Änderungen, welche die Lebensgemeinschaft im Boden stark beeinflusst (ausgeprägte Bodenmüdigkeit). Dazu zählt eine ziellose Abwehrreaktion, die die Pflanze schwächt und nachfolgende Pathogene begünstigt.