

# **Forschungsbericht**

**Nr. 200**

## **Herbizide Wirkung von Mikroorganismen und Naturstoffen**

**Verfasser: Dr. Sylvia Schleker**

**Projektbearbeiter: Mengmeng Huang, Andreas Ahring**

**Betreuer/Projektleiter: Dr. Sylvia Schleker, Prof. Florian Grundler**

**Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz –  
Molekulare Phytomedizin**

**Herausgeber:** Lehr- und Forschungsschwerpunkt „Umweltverträgliche und Standortgerechte Landwirtschaft“, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meckenheimer Allee 172 15, 53115 Bonn  
Tel.: 0228 – 73 2285; Fax.: 0228 – 73 1776  
www.usl.uni-bonn.de

Forschungsvorhaben im Auftrag des Ministeriums für Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen

Bonn, Februar 2025

ISSN 1610-2460

**Projektleitung:** Dr. Sylvia Schleker, Prof. Dr. Florian Grundler

**Projektbearbeiter:** Mengmeng Huang, Andreas Ahring

Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz  
Molekulare Phytomedizin  
Karlrobert-Kreiten-Straße 13  
53115 Bonn

**Zitiervorschlag:**

SCHLEKER, A.S.S., AHRING, A., HUANG, M., GRUNDLER, F.M.W. (2025): Herbizide Wirkung von Mikroorganismen und Naturstoffen. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, 200, 15 Seiten.

## **Inhaltsverzeichnis**

- 1. Einleitung**
  - 1.1 Problemstellung/Wissensstand
  - 1.2 Zielsetzung
  
- 2. Material und Methoden**
  - 2.1 Organismen
  - 2.2 Rhamnolipide
  - 2.3 Anzucht der Bakterien
  - 2.4 Applikationsversuche
  
- 3. Ergebnisse und Diskussion**
  - 3.1 Wirksamkeit einer Vorauflaufbehandlung
  - 3.2 Wirksamkeit einer Nachauflaufbehandlung
  
- 4. Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis**
  
- 5. Literaturverzeichnis**
  
- 6. Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsaktivitäten**
  
- 7. Liste über Veröffentlichungen**
  
- 8. Kurzfassung in Deutsch und Englisch**

## 1. Einleitung

### 1.1 Problemstellung/Wissensstand

Neue politische Vorgaben stellen den integrierten und ökologischen Landbau vor große Herausforderungen. Ein Aspekt ist das Ziel der Reduktion des Einsatzes und des Risikos von Pflanzenschutzmitteln um 50 % bis 2030. Jedoch fehlen noch vielfach die Mittel, diesen Wandel sinnvoll und nachhaltig gestalten zu können.

Der Ertrag von Kulturpflanzen kann erheblich durch Unkräuter reduziert werden, was eine Kontrolle dieser unabdingbar macht [1,2]. Um unerwünschte Pflanzen im Ackerbau zu kontrollieren, gibt es verschiedene Maßnahmen, die z.B. mechanische Unkrautbekämpfung durch Bodenbearbeitung vor der Saat, Striegeln oder Hacken, sowie die Applikation chemischer Pflanzenschutzmittel im Vor- oder Nachauflaufverfahren beinhaltet. Mechanische Unkrautkontrolle erfordert jedoch einen hohen Zeit- und Betriebsmittelaufwand bei häufig unzureichender Effektivität. Chemische Herbizide können richtig eingesetzt einen sehr guten Wirkungsgrad aufweisen. Der Einsatz dieser Mittel kann jedoch auch Probleme mit sich bringen. Begrenzte Verfügbarkeit durch auslaufende Zulassungen, die Entstehung resistenter Unkräuter gegen bestimmte Wirkstoffe (z.B. beim Weißen Gänsefuß, einem Problemunkraut v.a. im Zuckerrübenanbau) [3], sowie umwelttoxikologische Gesichtspunkte führen daher dazu, dass der Eintrag synthetischer Mittel in die Umwelt reduziert werden soll. Das Verbot von Glyphosat stellt vor allem konservierende Anbausysteme wie die Direktsaat vor ein großes Problem, da hier auf Bodenbearbeitung verzichtet wird. Vor diesem Hintergrund ist es dringend erforderlich, neue umweltfreundliche und alternative Verfahren zur selektiven sowie nicht-selektiven Unkrautkontrolle zu entwickeln.

Das Auffinden und Analysieren von Naturstoffen und Organismen mit herbizider Aktivität ist seit Jahrzehnten Gegenstand der Forschung und Entwicklung. Seit der Zulassung des Bioherbizids DeVine 1981 in den USA, welches den Pilz *Phytophthora palmivora* enthält, gab es aber nur eine überschaubare Anzahl weiterer zugelassener herbizider Organismen und Naturstoffe, wovon in Deutschland lediglich das Pelargonsäure-basierte Produkt BELOUKHA für eine Anwendung im Ackerbau (nur Spezialanwendungen in Kartoffeln (Krautabtötung), Tabak, Erdbeere, Hopfen, Wein; kein Einsatz zur Unkrautkontrolle) verfügbar ist [4,5]. Damit gibt es in Deutschland für die Bewirtschaftung landwirtschaftlicher Nutzflächen bisher kein biobasiertes Mittel als Alternative zu chemisch-synthetischen Herbiziden. Hier soll dieses Projekt einen Beitrag leisten. In diesem Zusammenhang liegt der Fokus auf der Charakterisierung und Nutzbarmachung von Mono-Rhamnolipiden und Bakterienisolaten, die Metabolite mit Tenseideigenschaften produzieren. Rhamnolipide sind Sekundärmetabolite von u.a. *Pseudomonas* und *Burkholderia* Arten. Die amphiphilen Moleküle gehören zu den sogenannten Biotensiden. Sie sind biologisch abbaubar, wirken nicht mutagen oder östrogen, weisen eine niedrige Toxizität auf [6] und werden bereits heute z.B. in der landwirtschaftlichen Praxis (Biofungizid Zonix™,

US-EPA Zulassung, Jeneil Biotech Inc.), in Waschmitteln und Kosmetikprodukten (Rehance® One, Evonik) verwendet. Xu et al. (2019) zufolge sind Di-Rhamnolipide des Pilzes *Colletotrichum gloeosporioides* BWH-1 konzentrationsabhängig phytotoxisch gegenüber einigen Unkräutern ( $IC_{50}$  29 bis 217 mg/L) in Reis mit deutlich niedrigerer Aktivität gegenüber der Kulturpflanze [7]. Des Weiteren erwiesen sich Di-Rhamnolipide als wirkungssteigernde Zusatzstoffe zu Herbiziden [7,8]. Unsere Versuche zeigten, dass Mono-Rhamnolipide eine deutlich höhere Phytotoxizität als Di-Rhamnolipide aufwiesen, wobei letztere in unseren Versuchen das Pflanzenwachstum nicht bis positiv beeinflussten und zudem die getesteten Konzentrationen unterhalb derer von Xu et al. (2019) lagen [7]. Einen synergistischen Effekt von Rhamnolipiden in Kombination mit einem nematizid wirkenden bakteriellen Metabolit konnten wir ebenfalls nachweisen [9]. Die herbizide Wirkung weiterer Biotenside ist bisher nicht beschrieben.

## **2.2 Zielsetzung**

Mikroorganismen und mikrobielle Metabolite bieten ein riesiges Repertoire an natürlich vorkommenden Antagonisten und Wirkstoffen, die zum Schutz landwirtschaftlicher Kulturpflanzen nutzbar gemacht werden können. Ziel dieses 6-monatigen Projektes ist es, bakteriell produzierte Mono-Rhamnolipide sowie verschiedene Bakterienisolate auf ihre phytotoxische Wirkung gegenüber einer Auswahl von Kulturpflanzen und Unkräutern zu testen, um deren Wirksamkeit sowie Selektivität und das sich daraus ergebende mögliche Einsatzspektrum in einem ersten Schritt festzustellen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Organismen

**Bakterien:** Es wurde eine Auswahl von neun Bakterienisolaten, die in vorangegangenen *in vitro* Versuchen die Wurzelentwicklung sowie die Biomasse von *Arabidopsis thaliana* unterschiedlich beeinflussten, verwendet. Hier wurden Isolate ausgewählt, die die ganze Bandbreite (negativ bis positiv) abdecken.

**Kulturpflanzen, Unkräuter und Ungräser:** Die Untersuchungen wurden an Zuckerrübe (*Beta vulgaris*), Futtererbse (*Pisum sativum*), Winterweizen (*Triticum aestivum*), Mais (*Zea mays*), Raps (*Brassica napus*), Wintergerste (*Hordeum vulgare*), Gemeiner Windhalm (*Apera spica-venti*), Mariendistel (*Silybum marianum*), Vogelknöterich (*Polygonum aviculare*), Wilder Möhre (*Daucus carota* subsp. *carota*), Weißer Gänsefuß (*Chenopodium album*), Flughafener (*Avena fatua*), Geruchlose Kamille (*Tripleurospermum inodorum*) und Gemeine Quecke (*Elymus repens*) durchgeführt.

### 2.2 Rhamnolipide

Bakteriell produzierte Mono-Rhamnolipide wie beschrieben in Bredenbruch et al. 2023 [10].

### 2.3 Anzucht der Bakterien

Die Bakterienisolate wurden in LB-Medium bei 28°C und 150 rpm drei Tage kultiviert. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation und der Überstand wurde filtriert (0,22 µm). Das Filtrat wurde für die Applikationsversuche im Gewächshaus, lebende Bakterien wurden zusätzlich für die Laborversuche verwendet.

### 2.4. Applikationsversuche

Die Samen der Pflanzen wurden auf mit den Testpräparaten behandeltem Agarmedium ausgelegt und die Anzahl der Keimlinge nach 5 bzw. 10 Tagen ausgezählt (Experiment 1a). Für die Gewächshausversuche wurden die Samen der Pflanzen in Saatschalen in Erde unterschiedlich tief gesät (0,5 bis 4 cm). Die Applikation der Testpräparate (Mono-Rhamnolipide in Wasser, Bakterienüberstände) und Kontrollen (Wasser, LB-Medium) erfolgte mit einem Gloria Drucksprüngerät zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Saat. In Experiment 1b wurde im Voraufbau einen Tag nach der Saat behandelt. In Experiment 2 wurden die aufgelaufenen Pflanzen im Keimblattstadium (BBCH 10) und in Experiment 3 nach der Bildung der ersten beiden Laubblätter (BBCH 12) behandelt. Maßgeblich war das Entwicklungsstadium der Unkräuter. Die Auswertung erfolgte durch Auszählen der Keimlinge und Laubblätter zu unterschiedlichen Zeitpunkten bis 28 Tage nach

der Saat (Experiment 1b), durch Messung der oberirdischen Frischmasse und Bestimmung des BBCH Stadiums sechs Wochen nach der Saat (Experiment 2 und 3).

### **3. Ergebnisse und Diskussion**

#### **3.1 Wirksamkeit einer Voraufbehandlung**

Um einen ersten Hinweis auf eine Wirksamkeit der Testpräparate zu erhalten sowie eine Auswahl der Bakterienisolate treffen zu können, die im weiteren Verlauf der Untersuchungen im Gewächshaus getestet wurden, wurden zunächst *in vitro* Versuche durchgeführt (Experiment 1a). Hierzu erfolgte eine Behandlung der Samen mit den Bakterien, Bakterienüberständen und zwei Konzentrationen der Mono-Rhamnolipide auf Agarmedium. Die Wirksamkeit der Behandlung wurde durch Bestimmung der Keimungsrate sowie dem Einfluss auf die Entwicklung des Keimlings im Vergleich zur Kontrolle ermittelt. Die Daten sind in Abbildung 1 dargestellt. Festzustellen war, dass die Pflanzen sehr unterschiedlich auf die Testpräparate reagierten. Grundsätzlich war die Keimungsrate der Unkräuter und Ungräser größtenteils sehr niedrig, was bei der Beurteilung der Ergebnisse berücksichtigt werden muß. Keimungsraten von Gemeinem Windhalm, Wilder Möhre und Mariendistel waren zufriedenstellend. Mono-Rhamnolipide beeinträchtigten die Keimung von Zuckerrüben nicht und Überstände der Isolate 1 bis 8 wirkten überwiegend neutral bis positiv auf die Keimung von Erbse, Weizen und Mais. Gemeiner Windhalm wies eine reduzierte Keimungsrate nach Behandlung mit Überständen der Isolate 3, 4 und 7 bis 9 auf. Die Keimung der Mariendistel hingegen war weder durch Mono-Rhamnolipide noch durch die Bakterienüberstände verändert. Obwohl die Keimungsrate der Mariendistel nicht beeinträchtigt war, hemmten Mono-Rhamnolipide und Isolate 4 und 9 die weitere Entwicklung des Keimlings (Abbildung 2). Auf Grundlage der erhobenen Daten wurden die Isolate 3, 4, 7, 8 und 9 für die weiteren Versuche ausgewählt und zudem nur mit Gemeinem Windhalm, Mariendistel und Wilder Möhre gearbeitet.

	mRL		Lebende Bakterien								
	10 ppm	25 ppm	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zuckerrübe	100	100	95	90	100	100	95	100	100	95	90
Erbse	95	95	89	106	100	89	106	106	106	106	100
Weizen	81	75	80	87	87	87	60	100	107	113	87
Mais	90	85	100	106	111	111	111	94	111	89	106
Raps	87	67	63	81	106	75	75	88	94	88	94
Gerste	Keimrate zu gering		Keimrate zu gering								

	Kulturüberstand								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zuckerrübe	100	85	95	85	85	95	85	100	80
Erbse	111	106	100	94	100	94	106	111	100
Weizen	80	100	100	93	93	113	67	107	87
Mais	100	111	100	94	111	100	111	106	89
Raps	69	81	75	88	94	94	88	69	94
Gerste	Keimrate zu gering								

	mRL		Bakterienüberstand								
	10 ppm	25 ppm	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Gemeiner Windhalm	82	91	100	93	50	71	93	114	64	64	64
Mariendistel	105	105	105	105	100	105	105	105	105	105	105
Vogelknöterich	25	38	Keimrate zu gering								
Wilde Möhre	Keimrate zu gering		75	50	25	100	75	25	75	75	100
Weißer Gänsefuß	89	61	nicht auswertbar								
Flughafner	Keimrate zu gering		Keimrate zu gering								
Geruchlose Kamille	Keimrate zu gering		Keimrate zu gering								
Gemeine Quecke	Keimrate zu gering		Keimrate zu gering								

Abb. 1: Einfluss einer Voraufbehandlung mit Mono-Rhamnolipiden und Bakterienisolaten auf die Keimung verschiedener Pflanzenarten auf Agarmedium. Dargestellt ist die durchschnittliche prozentuale Veränderung der Keimung im Vergleich zur Kontrolle (2 Experimente). mRL = Mono-Rhamnolipide, Bakterienüberstände bzw. lebende Zellen der Isolate 1 bis 9.

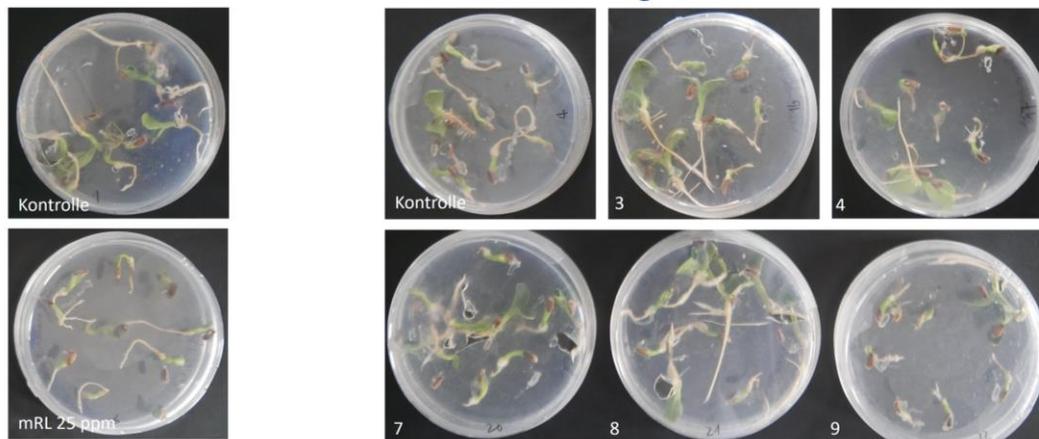


Abb. 2: Einfluss einer Voraufbehandlung mit Mono-Rhamnolipiden (mRL) und Bakterienisolaten 3 bis 9 auf die Entwicklung von Keimlingen der Mariendistel auf Agarmedium.

Zur Validierung der Daten wurde eine Voraufbehandlung im Gewächshaus durchgeführt (Experiment 1b). Hierzu erfolgte die Behandlung mit den Testpräparaten und den entsprechenden Kontrollen einen Tag nach Saat. Zur Auswertung wurde die Keimungsrate bestimmt sowie die Pflanzenentwicklung bonitiert. Die Daten sind in Abbildung 3 dargestellt. Mono-Rhamnolipide beeinflussten Zuckerrübe, Weizen, Gerste und Mais nicht, Raps und

Erbse wurden negativ beeinflusst. Keimung und Blattneubildung von Wilder Möhre und Gemeinem Windhalm waren durch die Voraufbehandlung mit Mono-Rhamnolipiden reduziert. Eine Voraufbehandlung mit den Isolaten wirkte sich mit Ausnahme von Isolat 8 durchweg positiv auf die Keimung und Entwicklung von Raps aus. Alle anderen Kulturpflanzen außer Zuckerrübe bei Isolat 8 reagierten neutral auf alle getesteten Bakterienüberstände. Die Bakterienüberstände führten nicht zu einer nennenswerten Beeinträchtigung der Unkräuter. Keimung und Entwicklung von Mariendistel wurde durch Isolat 8 gefördert.

Keimung (% zur Kontrolle)		Anzahl Blätter (% zur Kontrolle)	
	mRL		mRL
Raps	79	Raps	92
Zuckerrübe	100	Zuckerrübe	100
Weizen	100	Weizen	102
Gerste	102	Gerste	102
Mais	98	Mais	98
Erbse	90	Erbse	90
-----			
Mariendistel	111	Mariendistel	108
Wilde Möhre	67	Wilde Möhre	83
Gemeiner Windhalm	69	Gemeiner Windhalm	72

Keimung (% zur Kontrolle)					
	Bakterienüberstand				
	3	4	7	8	9
Raps	144	128	144	116	144
Zuckerrübe	98	100	100	98	100
Weizen	94	100	100	98	106
Gerste	100	100	102	94	100
Mais	108	106	106	108	100
Erbse	102	108	100	100	96
-----					
Mariendistel	100	100	113	121	95
Wilde Möhre	100	100	150	175	88
Gemeiner Windhalm	147	93	107	127	120

Anzahl Blätter (% zur Kontrolle)					
	Bakterienüberstand				
	3	4	7	8	9
Raps	139	156	161	100	128
Zuckerrübe	102	98	104	76	94
Weizen	92	100	98	96	106
Gerste	100	100	100	94	100
Mais	106	104	106	108	100
Erbse	102	104	100	98	96
-----					
Mariendistel	95	100	108	122	95
Wilde Möhre	150	125	150	275	125
Gemeiner Windhalm	147	93	93	127	113

Abb. 3: Einfluss einer Voraufbehandlung mit Mono-Rhamnolipiden und Bakterienisolat auf die Keimung und Entwicklung verschiedener Pflanzenarten in Erde im Gewächshaus. Dargestellt ist die durchschnittliche prozentuale Veränderung der Keimung und Anzahl Blätter im Vergleich zur Kontrolle 28 Tage nach Saat (4 Experimente). mRL = Mono-Rhamnolipide, Bakterienüberstände der Isolate 3, 4, 7, 8 und 9.

### **3.2 Wirksamkeit einer Nachauflaufbehandlung**

#### **Applikation im Nachauflauf (BBCH 10):**

Zur Beurteilung der Wirksamkeit einer Nachauflaufbehandlung im Keimblattstadium der Unkräuter, wurde eine Applikation in diesem Entwicklungsstadium durchgeführt und das Sproßgewicht sowie das BBCH Stadium sechs Wochen nach der Saat dokumentiert (Experiment 2).

Auch hier zeigten die Kulturpflanzen eine unterschiedliche Reaktion auf die verschiedenen Behandlungen. Isolat 9 führte zu einer Reduktion der Biomasse bei Raps, Weizen und Gerste. Mais und Erbse wurden durch Isolat 3 gefördert. Mais wies bei Behandlung mit Isolat 3 zudem eine schnellere Entwicklung auf (Daten nicht gezeigt). Mono-Rhamnolipide hatten einen negativen Effekt auf die oberirdische Pflanzenmasse von Zuckerrübe und Erbse, wohingegen Erbse positiv auf die Isolate 3, 4 und 9 reagierte. Bei den Unkräutern / Ungräsern waren keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle festzustellen (Abbildung 4).

#### **Applikation im Nachauflauf (BBCH 12):**

Um festzustellen, welchen Einfluss die Testpräparate auf die unterschiedlichen Pflanzen bei Behandlung der Laubblätter haben, wurde eine Applikation in diesem Entwicklungsstadium durchgeführt (Experiment 3). Dabei war das BBCH Stadium der Unkräuter entscheidend für die Wahl des Behandlungstermins. Zur Beurteilung der Wirkung wurde das Sproßgewicht sowie das BBCH Stadium sechs Wochen nach der Saat bestimmt.

Mit Ausnahme von Raps und Mais hatten Mono-Rhamnolipide eine hemmende Wirkung auf die Entwicklung der Kulturpflanzen. Mariendistel und Gemeiner Windhalm wurden tendenziell auch gehemmt. Bei den Bakterienüberständen zeigte sich, dass diese bestimmte Kulturpflanzen fördern und gleichzeitig die Entwicklung bestimmter Unkräuter/Ungräser hemmen (Abbildung 5). Solche Kombination wären für eine potentielle Anwendung interessant. Zu nennen wäre zum Beispiel Gerste und Windhalm (Isolat 4) (Abbildung 6). Auch eine Wachstumsförderung, wie dies bei Isolat 7 für Raps zu beobachten war, stellt eine potentielle Anwendung dar (Abbildung 7). Da dieses Experiment erst einmal durchgeführt werden konnte, können die Daten bisher nur als Anhaltspunkt aufgefasst werden, bevor eine notwendige Validierung erfolgt ist.

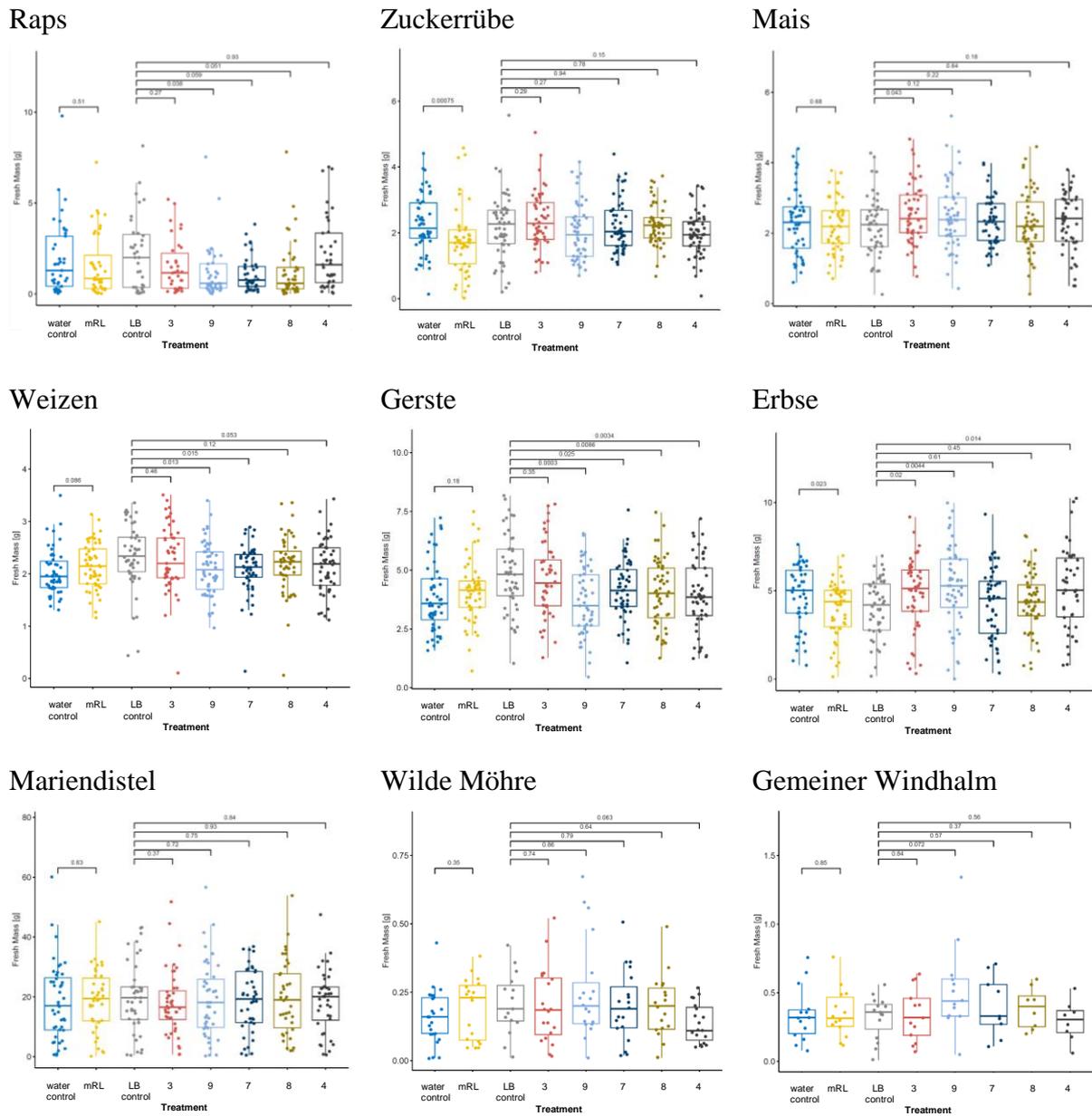


Abb. 4: Einfluss einer Nachauflaufbehandlung im Keimblattstadium der Unkräuter mit Mono-Rhamnolipiden und Bakterienisolaten auf die Biomassebildung verschiedener Pflanzenarten in Erde im Gewächshaus. Daten von drei Experimenten. Bonitur sechs Wochen nach Saat. Signifikante Unterschiede zur Kontrolle nach Mann-Whitney-U-Test ( $p < 0,5$ ). mRL = Mono-Rhamnolipide, Bakterienüberstände der Isolate 3, 4, 7, 8 und 9.

Sproßgewicht (% zur Kontrolle)	
	mRL
Raps	121
Zuckerrübe	57
Weizen	65
Gerste	74
Mais	101
Erbse	66
<hr/>	
Mariendistel	66
Wilde Möhre	229
Gemeiner Windhalm	66

BBCH Stadium	
	mRL
Raps	12,4
Zuckerrübe	12,9
Weizen	21,6
Gerste	23,0
Mais	12,8
Erbse	18,8
<hr/>	
Mariendistel	15,3
Wilde Möhre	12,7
Gemeiner Windhalm	24,5

Sproßgewicht (% zur Kontrolle)	
	Bakterienüberstand
	3      4      7      8      9
Raps	178    81    199    101    125
Zuckerrübe	142    110    138    106    66
Weizen	134    114    98    110    89
Gerste	117    123    100    64    64
Mais	77    75    107    100    115
Erbse	96    80    70    84    74
<hr/>	
Mariendistel	92    109    91    75    61
Wilde Möhre	53    129    72    114    118
Gemeiner Windhalm	69    40    97    76    133

BBCH Stadium	
	Bakterienüberstand
	Kontrolle    3      4      7      8      9
Raps	12,6    13,3    12,7    14,0    13,4    12,5
Zuckerrübe	12,9    13,7    12,8    13,5    12,8    12,8
Weizen	18,5    21,5    18,3    18,4    20,5    17,5
Gerste	21,2    22,5    22,5    21,8    19,3    19,5
Mais	12,8    12,8    12,8    12,8    12,7    12,9
Erbse	18,5    18,6    18,2    17,8    17,9    17,6
<hr/>	
Mariendistel	15,0    15,5    15,0    14,6    14,7    14,4
Wilde Möhre	13,0    12,4    13,5    12,3    13,3    12,3
Gemeiner Windhalm	25,3    24,8    23,0    24,6    23,8    25,0

Abb. 5: Einfluss einer Nachauflaufbehandlung im Laubblattstadium der Unkräuter mit Mono-Rhamnolipiden und Bakterienisolaten auf die Biomassebildung sowie Entwicklung verschiedener Pflanzenarten in Erde im Gewächshaus. Dargestellt ist die durchschnittliche prozentuale Veränderung des Sproßgewichts und des BBCH-Stadiums im Vergleich zur Kontrolle sechs Wochen nach Saat (1 Experiment). mRL = Mono-Rhamnolipide, Bakterienüberstände der Isolate 3, 4, 7, 8 und 9.

## Gemeiner Windhalm und Gerste

Kontrolle



Isolate 4



Abb. 6: Einfluss einer Nachauflaufbehandlung mit Überstand von Isolat 4 im Vergleich zur Kontrolle im Laubblattstadium auf Gerste und Gemeiner Windhalm in Erde im Gewächshaus. Bilder sechs Wochen nach Saat

## Raps

Kontrolle



Isolat 7



Abb. 7: Einfluss einer Nachauflaufbehandlung mit Überstand von Isolat 7 im Vergleich zur Kontrolle im Laubblattstadium auf Raps in Erde im Gewächshaus. Bilder sechs Wochen nach Saat

Die erhaltenen Daten weisen darauf hin, dass die Wahl des Applikationszeitpunktes einen entscheidenden Einfluss auf die Wirksamkeit haben kann. Beispielsweise war eine Applikation des Überstands von Isolat 7 zu einem frühen Entwicklungszeitpunkt tendenziell nachteilig für die Entwicklung von Rapspflanzen, wohingegen eine Applikation auf die Laubblätter oder im Voraufbau die Pflanzenentwicklung stark förderte.

Einen weiteren entscheidenden Einfluss auf den Effekt kann die verwendete Konzentration der Testpräparate haben. In den dargestellten Versuchen konnte nur mit jeweils einer Konzentration gearbeitet werden. Bei zukünftigen Versuchen sollte neben dem Applikationszeitpunkt auch die applizierte Konzentration variiert werden.

Eine besondere Schwierigkeit war, dass die meisten Unkraut-/Ungrasarten eine sehr niedrige Keimungsrate aufwiesen. Daher konnten für die Auswertung nur drei Arten verwendet werden. Auch dieser Aspekt müsste bei zukünftigen Untersuchungen bei der Versuchsdurchführung berücksichtigt werden.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass in diesem 6-monatigen Projekt Einblicke in die Wirksamkeit von Mono-Rhamnolipiden und ausgewählten Bakterienisolaten auf verschiedene Pflanzen gewonnen werden konnten sowie sich interessante Anhaltspunkte für eine vertiefende Untersuchung bestimmter Isolat – Pflanze – Kombinationen im Hinblick auf eine mögliche Anwendung in der Praxis ergeben haben.

#### **4. Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis**

Obwohl eine gewisse Begleitflora auf landwirtschaftlichen Flächen wirtschaftlich unschädlich ist und zudem nützlich sein kann, führt eine starke Verunkrautung zu erheblichen Ertragseinbußen der Kulturpflanze. Daher ist eine effektive Unkrautkontrolle unabdingbar. Politische Vorgaben, der zunehmende Wegfall von Wirkstoffen und das Aufkommen von Herbizidresistenzen stellen die Landwirtschaft vor Herausforderungen. Daher ist die Entwicklung umweltfreundlicher und alternativer Verfahren zur selektiven sowie nicht-selektiven Unkrautkontrolle dringend erforderlich, um eine nachhaltige Produktivität der heimischen Landwirtschaft zu sichern. Ein Baustein ist die Erforschung und Nutzbarmachung von Bakterien und deren Metabolite zur Unkrautkontrolle, was der Fokus dieses Projektes war.

Die Daten zeigen, dass alle Testpräparate eine selektive phytotoxische Wirkung aufweisen. Jedoch ist keines der Präparate so effektiv, dass ein alleiniger Einsatz in der Praxis ausreichend wäre. Vielmehr kommt es zu einer Unkrautunterdrückung, weshalb es als ergänzende Maßnahme einzustufen ist. Dies kann bei schwer bekämpfbaren Unkräutern aber dennoch sinnvoll sein.

Des Weiteren führte die Behandlung bestimmter Kulturpflanzen mit bestimmten Isolaten zu einer Wachstumsförderung. Auch dies wäre ein Ansatz, der für eine mögliche Anwendung in

der Praxis interessant ist, nicht zuletzt da eine schnelle Jugendentwicklung der Kulturpflanze dieser Vorteile gegenüber der Unkrautflora verschafft.

## 5. Literaturverzeichnis

1. Oerke E-C. Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*. 2006, 144, 31–43. Cambridge University Press. Doi:10.1017/S0021859605005708
2. Chauhan BS. Grand Challenges in Weed Management. *Frontiers in Agronomy*. 2020, 1:3. Doi: 10.3389/fagro.2019.00003
3. International Herbicide Resistance Database: <https://www.weedscience.org>
4. Kubiak A, Wolna-Maruwka A, Niewiadomska A, Pilarska A. The Problem of Weed Infestation of Agricultural Plantations vs. the Assumptions of the European Biodiversity Strategy. *Agronomy*. 2022, 12. 1808. 10.3390/agronomy12081808.
5. Online-Datenbank Pflanzenschutzmittel des Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 06.01.2023: <https://apps2.bvl.bund.de/psm/jsp/index.jsp>
6. Johann S, Seiler TB, Tiso T, Bluhm K, Blank LM, Hollert H. Mechanism-specific and whole-organism ecotoxicity of mono-rhamnolipids. *Science of the Total Environment*, 2016, 548, 155-163. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.066
7. Xu Z, Shi M, Tian Y, Zhao P, Niu Y, Liao M. Dirhamnolipid produced by the pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* BWH-1 and its herbicidal activity. *Molecules*. 2019 Aug 16;24(16):2969. Doi: 10.3390/molecules24162969
8. Adetunji C, Oloke J, Kumar A, Swaranjit S, Akpor B. Synergetic effect of rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa* C1501 and phytotoxic metabolite from *Lasiodiplodia pseudotheobromae* C1136 on *Amaranthus hybridus* L. and *Echinochloa crus-galli* weeds. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017 May;24(15):13700-13709. Doi: 10.1007/s11356-017-8983-8. Epub 2017 Apr 10
9. Kossmann DF, Huang M, Weihmann R, Xiao X, Gätgens F, Weber TM, Brass HUC, Bitzenhofer NL, Ibrahim S, Bangert K, Rehling L, Mueller C, Tiso T, Blank LM, Drepper T, Jaeger K-E, Grundler FMW, Pietruszka J, Schleker ASS, Loeschcke A. Production of tailored hydroxylated prodiginine showing combinatorial activity with rhamnolipids against plant-parasitic nematodes. Close to submission
10. Bredenbruch S, Müller C, Atemnkeng H, Schröder L, Tiso T, Blank LM, Grundler FMW, Schleker ASS: The biological activity of bacterial rhamnolipids is linked to their molecular structure. *bioRxiv* 2023.01.23.525263; doi: 10.1101/2023.01.23.525263

## **6. Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsaktivitäten**

Aus dem Vorhaben haben sich Anhaltspunkte für weitere Forschungsaktivitäten ergeben. Interessant sind zum einen Testpräparate, die die Entwicklung der Kulturpflanze nicht oder positiv beeinflussen und gleichzeitig herbizid auf Unkräuter / Ungräser wirken und zum anderen auch Testpräparate, die nur das Wachstum der Kulturpflanze fördern.

Mögliche weitere Vorhaben wären daher beispielsweise die detaillierte Untersuchung folgender Kombinationen: (1) Mono-Rhamnolipide wirkten neutral auf Zuckerrübe, Weizen, Gerste und Mais und hemmten gleichzeitig Wilde Möhre und Windhalm bei einer Voraufbehandlung. (2) Eine Voraufbehandlung mit Kulturüberständen der Isolate 3, 4, 7 und 9 förderte die Entwicklung von Raps. (3) Eine Nachaufbehandlung (Laubblätter) mit Überstand von Isolat 7 begünstigte die Entwicklung von Raps. (4) Die Applikation von Überstand von Isolat 7 im späten Nachauf (Laubblätter) förderte die Entwicklung von Gerste und hemmte das Wachstum vom Gemeinen Windhalm. (5) Mono-Rhamnolipide begünstigten die Entwicklung von Raps und hemmten Mariendistel und Gemeinen Windhalm bei einer Nachaufbehandlung (Laubblätter).

## **7. Liste über Veröffentlichungen**

Die Daten sind Teil der Bachelorarbeit von Andreas Ahring.

## **8. Kurzfassung in Deutsch und Englisch**

### **Kurzfassung:**

Der integrierte und ökologische Landbau steht vor der Herausforderung, chemische Pflanzenschutzmaßnahmen deutlich zu reduzieren. Es fehlen jedoch vielfach die Alternativen, um diesen Wandel ökonomisch und ökologisch sinnvoll vollziehen zu können. Im Ackerbau ist die Kontrolle von Unkräutern unabdingbar, da diese den Ertrag von Kulturpflanzen erheblich reduzieren können. Mechanische Unkrautregulierungsmaßnahmen sind zeit- und energieaufwändig und zudem häufig nicht ausreichend effektiv. Daher ist die Entwicklung neuer, umweltfreundlicher und alternativer Verfahren zur selektiven sowie nicht-selektiven Unkrautkontrolle dringend erforderlich. Um hierzu einen Beitrag zu leisten, wurden in dem 6-monatigen Projekt natürlich vorkommende bakterielle Metabolite (Mono-Rhamnolipide) sowie ausgewählte Bakterienisolate, die in Vorversuchen phytotoxische Wirkung aufwiesen, weitergehend charakterisiert. Die herbizide Wirkung der Testpräparate gegenüber typischen Kulturpflanzen und Unkräutern sowie Ungräsern wurde im Vor- und Nachauf bestimmt. Dadurch wurden erste Einblicke in die Wirksamkeit und Selektivität der Testpräparate sowie das mögliche Einsatzspektrum erhalten.

Durch Versuche zur Keimung und Entwicklung der Pflanzen nach Behandlung der Samen auf Agarmedium wurde die Auswahl der Bakterienisolate auf fünf für die Gewächshausversuche

eingegrenzt. *In vitro* zeigte sich bereits, dass die verschiedenen Pflanzen sehr unterschiedlich auf die Testpräparate reagierten.

In den nachfolgenden Erdversuchen führte eine Voraufbehandlung mit Mono-Rhamnolipiden nach der Saat zu einer reduzierten Keimrate und Blattneubildung von Gemeinem Windhalm und Wilder Möhre wohingegen Zuckerrüben, Weizen, Gerste und Mais neutral reagierten. Eine Voraufbehandlung mit den Kulturüberständen von vier Bakterienisolaten wirkte sich positiv auf die Keimung und Entwicklung von Raps aus. Eine Beeinträchtigung der Unkräuter durch die Isolate konnte nicht festgestellt werden.

Die Effekte einer frühen Nachaufbehandlung im Keimblattstadium waren je nach Pflanze unterschiedlich. Auch entwicklungshemmende Effekte waren zum Beispiel bei der Applikation von Mono-Rhamnolipiden bei Zuckerrübe und Erbse festzustellen. Mais wurden durch Isolat 3 gefördert, sowohl die Biomassebildung als auch die Entwicklungsgeschwindigkeit. Erbse reagierte positiv auf die Isolate 3, 4 und 9. Bei den Unkräutern waren bei der frühen Nachaufbehandlung keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle festzustellen.

Eine Nachaufbehandlung mit Mono-Rhamnolipiden im Laubblattstadium bewirkte eine Reduktion des Sproßgewichts und der Entwicklung von Mariendistel und Gemeinem Windhalm. Gleichzeitig wurde Raps positiv und Mais nicht beeinflusst. Bei der Nachaufbehandlung mit den Bakterienüberständen im Laubblattstadium konnte festgestellt werden, dass einzelne Isolate die Entwicklung und Biomassebildung bestimmter Kulturpflanzen fördern und gleichzeitig diese Parameter bei bestimmten Unkräutern reduzieren.

Die in dem kurzen Projekt erhaltenen Daten geben interessante Ansatzpunkte für weitere Untersuchungen, wie zum Beispiel die Förderung von Gerste durch Isolat 7 bei gleichzeitiger Unterdrückung des Gemeinen Windhalms. Jedoch ist keines der Präparate so effektiv, dass ein alleiniger Einsatz in der Praxis ausreichend wäre. Vielmehr kommt es zu einer Unkrautunterdrückung, weshalb es als ergänzende Maßnahme einzustufen ist. Dies kann bei schwer bekämpfbaren Unkräutern aber dennoch sinnvoll sein.

### **Summary:**

Integrated and biological farming faces the challenge to significantly reduce the application of synthetic pesticides. Unfortunately, alternatives to economically and ecologically reasonably accomplish this change are largely missing. Weed control in agriculture is mandatory as weeds can reduce crop yield substantially. Mechanical weed control measures are time- and energy-intensive as well as often insufficiently effective. Therefore, development of novel, environmentally friendly and alternative means for selective and non-selective weed control are urgently required. In order to contribute to this need within this 6-month project, naturally

occurring bacterial metabolites (mono-rhamnolipids) and selected bacterial isolates, which exhibited phytotoxic activity in preliminary experiments, were further characterized. The herbicidal activity of the candidates against typical crop plants and weeds were determined when applied before and after germination. Thereby, a first indication about the efficacy and selectivity of the compounds and isolates as well as possible applications were received.

Lab experiments revealing the impact of the bacterial isolates on the germination and development of the plants on agar medium limited the number of isolates to five for the greenhouse studies. The reaction of the different plants towards the test material already varied *in vitro*.

Subsequent experiments in soil revealed that application of mono-rhamnolipids one day after seeding reduced germination and leaf development of loose silky bentgrass and wild carrot whereas sugar beet, wheat, barley, and corn were not impaired. The application of four bacterial culture supernatants before plant emergence promoted germination and development of rapeseed. Weeds were not affected by any of the isolates when applied at this time point.

The effect of applying the test substances in cotyledon stage varied between the plants. Inhibition of plant development could for example be observed for sugar beet and pea when treated with mono-rhamnolipids. Biomass as well as leaf emergence of corn was promoted by isolate 3. Pea reacted positive on the application of isolates 3, 4, and 9. No difference of the application of bacterial supernatants in the cotyledon stage could be observed for the tested weeds compared to the control.

Application of mono-rhamnolipids on the first two true leaves resulted in reduced biomass and development of milk thistle and loose silky bentgrass. Concurrently, rapeseed was promoted and corn was unaffected. When applying bacterial supernatants at this developmental stage it could be observed that specific isolates promoted development and biomass of certain crop plants while these parameters were impaired for certain weeds.

This short project resulted in interesting observations suitable for further investigations. For instance, the promotion of barley and concurrent inhibition of loose silk bentgrass by application of isolate 7 is one example for future studies. However, none of the tested isolates or mono-rhamnolipids are effective enough to be applied as sole herbicide in agricultural practice but can rather be seen as complementary means. This can though be useful in strategies against weeds that are hard to combat.