

## Influence of fungicides used in organic orchards on the net-photosynthesis of apple trees

Roland Mittersteiner<sup>1</sup>, Markus Kelderer<sup>2</sup>

### Abstract

A diploma thesis was carried out to evaluate under field conditions the effects of fungicides used in organic orchards on net photosynthesis ( $P_N$ ) and other foliar parameters (chlorophyll, C/N ratio) of apple trees (*Malus domestica*). The applied treatments included Copper-hydroxide 'Kocide' (DuPont), lime sulphur (Polisenio), sulphur 'Thiamon' (DuPont) and the clay-mixture 'Ulmasud' (Biofa).

The influence of the fungicides on  $P_N$  was low, except in the case of Ulmasud, which led from the first treatment to a reduction of  $P_N$  up to 30%, holding on for several days. Copper led the lowest reduction followed by sulphur and lime sulphur.

The other evaluated foliar parameters revealed no significant effect of the applied products. Only trees treated with copper (Kocide) showed a lower C/N ratio, which had no influence on the chlorophyll content on the leaves. Some parameters indicated a shade acclimatisation of the leaves, which however could not be confirmed.

The conclusion for the growers is that the influence of these 'organic fungicides' on  $P_N$  is too low to be considered for the choice of a fungicide, which should rather be based on primary criteria like efficacy and russetting effects.

### Keywords

Apple, organic orchards, copper, lime sulphur, sulphur, Ulmasud, photosynthesis, chlorophyll, C/N ratio

### Einleitung

Im biologischen Obstbau sind einige wenige Kontaktfungizide (Schwefel-, Kupfer-, Tonerdenpräparate) zur Schorfregulierung zugelassen. Aus der Literatur ist bekannt, daß sich diese Fungizide unterschiedlich auf die Netto-Photosynthese ( $P_N$ ) der Pflanzen auswirken. (HOFFMAN 1935, CLORE 1936, MURPHY 1939, SOUTHWICK & CHILDERS 1939).  $P_N$  spiegelt den Kohlenstoffgewinn abzüglich des Energieverbrauchs durch Atmung wieder. Deshalb hängen Ertrag, Fruchtqualität und Wachstum von Apfelbäumen, neben der Verwertung und Verteilung des Kohlenstoffs innerhalb der Pflanze, auch davon ab, wieviel insgesamt davon aufgenommen wird (LANGE & LENZ 1997, HANSEN 1978).

In dieser Arbeit wurde untersucht, wie sich Behandlungen mit Kupfer, Schwefel, Schwefelkalk und Ulmasud auf  $P_N$  der Apfelbäume und den damit zusammenhängenden Faktoren, wie z.B. Chlorophyll- und Stickstoffgehalt der Blätter, auswirken.

<sup>1</sup> Institut für Botanik, Universität Innsbruck 6020 Innsbruck, Email: Roland.Mittersteiner@uibk.ac.at

<sup>2</sup> VZ-Laimburg, 39040 Post Auer, Italien; Email: Markus.Kelderer@provinz.bz.it

## Material & Methode

### Versuchsfläche

Dieser Freilandversuch wurde von Mai bis Juli 1999 in einer 3000 m großen Versuchsfläche am Versuchszentrum Laimburg im Südtiroler Unterland bei Auer, Bozen an 144 Apfelbäumen (*Malus domestica* Borkh.) der Sorte Golden Delicious Klon Smothee auf der Typenunterlage M9 durchgeführt. Die randomisierte Blockanlage, mit 8 Bäumen/Variante, wurde konventionell behandelt. Die zu untersuchenden Fungizide wurden zusätzlich insgesamt 5x aufgetragen (Tab. 2). Die Dosierung entsprach dabei den Empfehlungen des Sachbereiches Bioanbau Laimburg und ist in Tab. 1 aufgelistet. Die Ausbringung der Präparate erfolgte tropfnaß mit einer motorbetriebenen Rückenspritze der Marke „Echo“.

Tabelle 1 Verwendete Fungizide, prozentueller Anteil des Wirkstoffs und Aufwandmenge. Dosis = verwendete Spritzmittelmenge; Brühe = Menge der applizierte Brühe in hl; Mittel = verwendete Menge des Spritzmittels für 15 l Spritzbrühe; Menge/Baum = Spritzbrühe, die pro Baum verwendet wurde; Wirkstoffanteil in Prozent von Reinkupfer (K), Schwefel (S) Silikat (SiO<sub>2</sub>) Aluminiumoxid (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

Handelsprodukt	Wirkstoff	Dosis [g/hl]	Brühe [hl]	Mittel [g]	Menge/Baum[l]	Wirkstoffanteil [%]
Kocide	Kupferhydroxid	25	0,15	3,75	1,9	K 25
Polisolfuro di Calcio	Schwefelkalk	1500	0,15	225	1,9	S 22,5-23
Thiamon	Netzschwefel	267	0,15	40	1,9	S 80-90
Ulmasud	Gesteinsmehl	1000	0,15	150	1,9	SiO <sub>2</sub> 14-16 Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 12-16 S 10-12

**Tabelle 2:** Datum der Fungizidbehandlungen und klimatische Faktoren während der Applikation

Datum	Uhrzeit der Behandlung	Lufttemperatur 2 m [C]	Rel. Feuchte [%]	Wetter
11.05.99	10.00	19	68	Sonne
22.05.99	13.00	17	68	Bewölkt
31.05.99	09.00	22	69	Sonne
10.06.99	09.00	19	74	Sonne
05.07.99	09.00	25	62	Sonne

### Messung der NettoPhotosynthese und weitere Parameter

Es wurden unmittelbar bis einige Tage nach der Applikation der CO<sub>2</sub>- und H<sub>2</sub>O-Gaswechsel im offenen Prüfluftsystem an Einzelblättern bei natürlichem CO<sub>2</sub>-Partialdruck (Bestand) und einer Lichtintensität (PPFD) von 1500 mol Photonen m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> gemessen. Dazu wurde das tragbare Gaswechselmeßsystem CIRAS-1 (PP-Systems, Hertfordshire, England) mit der Blattküvette PLC6 Universal verwendet.

Die photosynthetischen Parameter wurden nach dem Modell von CAEMMERER & FARQUHAR (1981) berechnet.

Um festzustellen, ob die Fungizide die Gasdurchlässigkeit der Epidermis oder die Chloroplastenfunktionen beeinflussen, wurden die stomatäre Leitfähigkeit der Blätter für Wasserdampf (gWs) und der interzelluläre  $\text{CO}_2$ -Partialdruck ( $p_i$ ) im Blatt gemessen. Zusätzlich wurden Licht- und  $\text{CO}_2$ -Abhängigkeitskurven ( $P_N/\text{PPFD}$ ,  $P_N/p_i$ ) erstellt und daraus die Carboxylierungseffizienz (CE), die Elektronentransportrate (J), sowie die Carboxylierungsrate bei sättigendem  $p_i$  ( $V_{cmax}$ ) abgeleitet. Am Ende der Behandlungen wurden mittels eines CHN-Analysators die Kohlen- und Stickstoffgehalte ermittelt. Der Chlorophyllgehalt der Blätter wurde in einem Dimethylformamidextrakt nach MORAN & PORATH (1980) bestimmt.

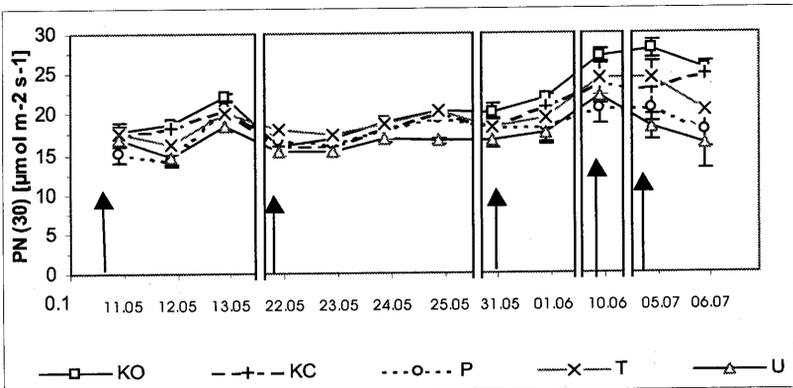
### Statistische Auswertung

Wegen der großen Streuung innerhalb der Varianten wurde der H-Test nach Kruskal und Wallis verwendet.

Lag ein signifikanter Unterschied vor, so wurden die Varianten einzeln mit dem U-Test nach Mann und Whitney verglichen.

### Ergebnisse

Die Ergebnisse der Messungen sind in Abbildung 1 dargestellt. 2 Stunden nach der ersten Applikation kam es bei Polisolfuoro di calcio und Ulmasud zu signifikanten Unterschieden zur Kontrolle. Ab dem dritten Tag nach der Behandlung erholte sich die Polisolfuoro-Variante. Nach der 2. und 3. Applikation zeigt nur Ulmasud ein signifikant geringeres  $P_N$  als die Kontrolle. Bei der 4. Applikation waren alle Varianten signifikant schlechter als die Kontrolle. 3 Stunden nach der 5. Applikation waren alle Varianten außer Thiamon schlechter als die Kontrolle. Einen Tag nach der Applikation erholte sich die Kupfervariante, während alle anderen Varianten signifikant unter der Kontrolle lagen.



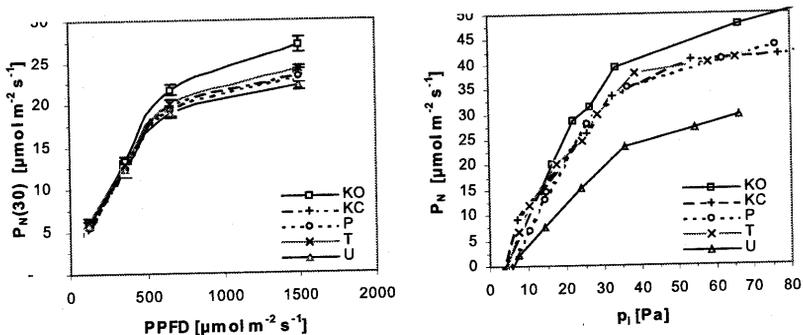
**Abb. 1:** Verlauf der Netto-Photosynthese (PN(30)) nach den 5 Behandlungen. Jeder Pfeil kennzeichnet den Termin der Behandlungen. Die ersten Messungen wurden bereits 2 h nach der Applikation bis max. zur Mittagszeit bei PPFD  $1500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und  $p_a$  30 Pa durchgeführt; KO=Kontrolle, KC=Kocide, P=Polisolfuoro di Calcio, T=Thiamon, U=Ulmasud (MW $\pm$ SE; n=16).

### Lichtabhängigkeit der Netto-Photosynthese

$P_N$  wurde am 31.05.99 in Abhängigkeit der photosynthetisch aktiven Strahlung (PPFD) gemessen (Abb. 2).  $P_N$  folgte mit zunehmendem Licht einer Sättigungskurve. Im lichtabhängigen Anfangsanstieg des  $P_N$  gab es keine signifikanten Unterschiede der Varianten zur Kontrolle. Erst bei höherer Lichtintensität, ab PPFD  $650 \text{ mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  lag  $P_N$  in allen Varianten signifikant unterhalb der Kontrolle (Abb. 2).

### CO<sub>2</sub>-Abhängigkeit der Netto-Photosynthese

Am 06.07.99 wurde die CO<sub>2</sub>-Abhängigkeit von  $P_N$  gemessen. PPFD betrug  $1500 \text{ mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Das geringste  $P_N$  bei allen CO<sub>2</sub>-Partialdrücken erreichte die Variante Ulmasud, gefolgt von Schwefelkalk, Kupfer und Schwefel.



**Abb. 3:** Abhängigkeit von  $P_N$  vom blattinternen CO<sub>2</sub>-Partialdruck ( $p_i$ ). Die Messungen wurden am 06.07.99 zwischen 10:00 und 11:00 an einem Blatt pro Variante unter PPFD von  $1500 \text{ µmol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  durchgeführt.

### Carboxylierungseffizienz

Die Steigung des proportionalen Anteils der CO<sub>2</sub>-Sättigungskurve drückt die Carboxylierungseffizienz (CE) in  $\text{µmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  aus und kann aus Abbildung 3 entnommen werden. CE ist in der Ulmasud-Variante um mehr als ein Drittel geringer als in der Kontrollvariante.

### Carboxylierungsrate, Elektronentransportrate

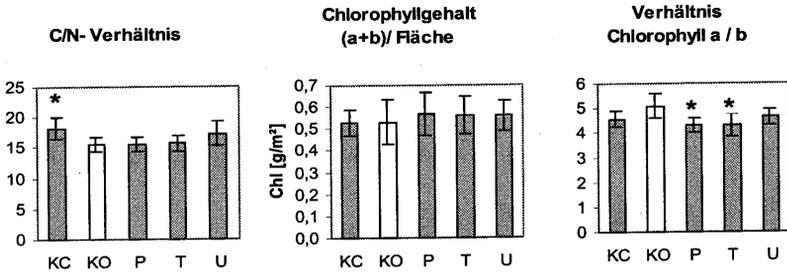
Die Carboxylierungsrate bei sättigendem  $p_i$  ( $V_{cmax}$ ) und die Elektronentransportrate (J) weisen in der Ulmasud-Variante die geringsten Werte auf.

### C/N-Verhältnis

Das Kohlenstoff-Stickstoffverhältnis ist in Abb. 4 dargestellt. Die Kupfer-Variante zeigt ein signifikant höheres C/N-Verhältnis zur Kontrolle.

### Chlorophyll

Im Chlorophyllgehalt, auf die Blattfläche bezogen, zeigt sich kein signifikanter Unterschied zur Kontrolle (Abb. 4). Die Schwefel- und Schwefelkalk-Varianten haben ein signifikant geringeres Chlorophyll a/b Verhältnis als die Kontrolle (Abb. 4).



**Abb. 4:** Kohlenstoff- Stickstoffverhältnis (C/N), Chlorophyllgehalt auf Blattfläche bezogen und Chlorophyll a/b-Verhältnis. Sternchen markieren statistisch signifikante Ergebnisse ( $p \leq 0,05$ ) ( $MW \pm 2SE$ ; C/N = n 80, Chl a+b & a/b = n 8).

## Diskussion

Bei Ulmasud trat bereits ab der ersten Behandlung eine starke Inhibition von  $P_N$  auf.  $P_N$  war in der Ulmasudvariante bis max. 30% geringer als in die Kontrolle. Der Rückgang von  $P_N$  steht im Zusammenhang mit einer verminderten Elektronentransportleistung und vor allem mit den im Calvin-Zyklus verbundenen Aktivitäten. Dies geht auch aus der geringen Carboxylierungseffizienz (CE) hervor (Abb. 3).

Die geringste Inhibition von  $P_N$  zeigte die Kupfer-Variante. Die Applikation mit Schwefelkalk verursachte eine höhere Inhibition von  $P_N$ , als die Verwendung von Netzschwefel. Ähnliche Ergebnisse gehen aus verschiedenen Arbeiten hervor, die bis in die 30-er Jahre zurück reichen (FERREE 1978).

Die Vermutung, daß die Inhibition von  $P_N$  aufgrund einer Behinderung des Öffnungs- und Schließmechanismus der Stomata (Spaltöffnung der Blätter) verursacht wurde, konnte durch die Messungen von gWs und  $p_i$  widerlegt werden. Da sich kein signifikanter Unterschied zur Kontrolle zeigte, kann eine Hemmung der Diffusion des  $CO_2$  in allen Varianten ausgeschlossen werden.

Erhöhte Kupfermengen wirken sich hauptsächlich auf Lichtreaktionsprozesse in den Chloroplasten und Photosystem I (PS I) aus. Hauptsächlich betroffen sind die Elektronentransportrate und die Ferredoxinfunktionen und davon abhängige Reaktionen (DROPPA & HORVATH 1990). Da sich in Bezug auf  $J$  und  $V_{cmax}$  kein Unterschied zur Kontrolle gezeigt hat, ergibt sich, daß die Wirkstoffmenge in den Kupferspritzungen (0,1 kg/ha) viel zu gering ist, um nach 5 Applikationen die Chloroplasten zu schädigen.

Einige der untersuchten Parameter (Chlorophyll a/b Verhältnis) verhalten sich beim Vergleich der fungizidbehandelten Proben mit den Kontrollen analog wie Schatten- und Sonnenblätter. Doch kann die Annahme, daß es sich um schattenakklimatisierte Blätter handelt, durch mehrere Gründe widerlegt werden:

- Die Elektronentransportraten ( $J$ ), die Rubisco-Mengen und -Aktivität pro Chlorophyll sind in Schattenblättern deutlich geringer als in Sonnenblättern (HOFLACHER & BAUER 1984, BOARDMAN 1977, LARCHER 1994). Dies trifft in keiner Variante zu, außer in der Ulmasud-Variante, wo es aber durch andere Streßfaktoren verursacht wurde.

- Eine Schwachlicht-Akklimatisierung äußert sich in der Lichtabhängigkeitskurve (Abb. 2) durch eine vorzeitige Lichtsättigung (BOARDMAN 1977, LARCHER 1994). Dies trifft aber in keiner Variante zu.

Vergleich der eingesetzten Mittel untereinander

Aufgrund dieses geringen Einflusses auf  $P_N$ , können Ertragseinbußen oder Qualitätsminderungen, bedingt durch eine reduzierte Assimilatbildung, vernachlässigt werden. Ähnliches geht auch aus anderen Freilandversuchen, die mit Kupfer und Schwefel durchgeführt wurden, hervor (BELZ & RUESS 2001). Einzig bei der Behandlung mit Ulmasud könnte sich die Inhibition von  $P_N$  längerfristig auf Ertrag und Qualität auswirken. Ob dieser Effekt nur durch eine zu saure Spritzbrühe, eine zu hohe Dosierung oder durch andere Faktoren verursacht wurde, konnte in dieser Versuchsreihe nicht abgeklärt werden.

### Literature Cited

- Belz, J. & Ruess, F. (2001) Auswirkungen unterschiedlicher Pflanzenschutzstrategien auf Ertrag, Qualität und Kostenaufwand von schorfresistenten Apfelsorten Erwerbs-Obstbau 43(2):33-38
- Boardman, N.K. (1977) Comparative photosynthesis of sun and shade plants. Plant Physiol. 28:355-377
- Caemmerer, von S. & Farquhar, G.D. (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. Planta 153:376-387
- Clore, W. J. (1936) The effect of bordeaux, copper, and calcium sprays upon carbon dioxide intake of Delicious apple leaves. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 33:177-179
- Droppa, M. & Horvath, G. (1990) The role of copper in photosynthesis. CRC Critical Reviews in Plant Sciences 9:111-123
- Ferree, D.C. (1978) Cultural factors influencing net photosynthesis of apple trees. HortScience 13(6):650-652
- Hansen, P. (1978) Blatt/Frucht- Verhältnisse, Assimilatverteilung und Fruchtentwicklung. Erwerbsobstbau 20:228-231
- Hoffman, M. B. (1935) The effect of lime-sulphur sprays on the respiration rate of apple leaves. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 33:173-176
- Hofflacher, H., Bauer, H. (1982) Light acclimation in leaves of the juvenile and adult life phases of ivy (Hedera helix) Plant Physiol. 56:177-182
- Lange, K. & Lenz, F. (1997) Wieviel Kohlenstoff entziehen die Früchte und das Laub dem Apfelbaum? Erwerbsobstbau 39:147-148
- Lichtenthaler, H.K. (1981) Adaption of leaves and chloroplasts to light quanta fluence rates. Photosynthesis Balaban internat. Science Service, Philadelphia 273-287
- Moran, R. & Porath, D. (1980) Chlorophyll determination in intact tissues using N,N-dimethylformamide. Plant Physiol. 65:478-479
- Murphy, M. L. (1939) The effect of fungicides on the photosynthetic activity of sour cherry leaves. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 37:375-378