
Sektion 23

Biologischer Pflanzenschutz III

23-1 - *Isaria fumosorosea* - Ein Pilz - Ein Multitalent

Isaria fumosorosea - a fungal allround talent

Katharina Saar¹, Edgar Schliephake², Jasmin Philippi², Manuel Werner³, Johannes A. Jehle¹, Dietrich Stephan¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz, Heinrichstraße 243, 64287 Darmstadt

²Julius Kühn-Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

³Technische Universität Darmstadt, Fachbereich Biologie, Schnittspahnstraße 10, 64287 Darmstadt

Im Rahmen des EU Projektes BIOCAMES, dessen Zielsetzung es war, neue Mittel im Bereich des integrierten Pflanzenschutzmanagements auf den Markt zu bringen, wurden das biologische Potential verschiedener entomopathogener *Isaria fumosorosea* Isolate evaluiert. Pilze dieser Gattung sind global ubiquitär zu finden. Bei den unter Laborverhältnissen getesteten Stämmen handelt es sich um Freilandisolate der Stammsammlung des JKI Darmstadt, welche aus verschiedenen Ländern sowie von verschiedensten Schadinsekten isoliert wurden.

Ziel der Untersuchungen war es, möglichst wirksame Isolate zu identifizieren, welche nebst Umweltstabilität, eine gute Wirksamkeit gegen verschiedene Schaderreger wie der Weißen Fliege (*Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum*) sowie der Zuckerrübenmotte (*Spodoptera exigua*) aufweisen. Neben einer Rekonstruktion ihrer phylogenetischen Verwandtschaft wurden diese auf molekulare Merkmale untersucht, welche für eine gesteigerte Wirksamkeit verantwortlich sein können.

Darüber hinaus wurde mittels der Electrical Penetration Graph Methode (EPG) untersucht, ob es, zusätzlich zu dem pathogenen Einfluss, weitere Effekte auf genannte Schadinsekten gibt. So wurde im Falle des Schadinsektes *Bemisia tabaci* untersucht, ob es im Laufe des Infektionsprozesses, unter Verwendung des effektivsten Isolates JKI-BI-1496-01, zu Änderungen im Saugverhalten kommt. Durch diese Untersuchung konnte gezeigt werden, dass es signifikante Unterschiede bspw. in der Virusübertragrate sowie in der Häufigkeit des Einstechens des Saugorgans des Insekts in das Blatt kam.

23-2 - Cellulase verbessert den Endophytismus von verkapseltem *Metarhizium brunneum* an Kartoffelpflanzen

Cellulase enhances endophytism of encapsulated Metarhizium brunneum in potato plants

Desiree Jakobs-Schönwandt¹, Vivien Krell¹, Stefan Vidal², Anant Patel¹

¹Fachhochschule Bielefeld, Fakultät für Ingenieurwissenschaften und Mathematik; Arbeitsgruppe: Fermentation and Formulation of Biologicals and Chemicals

²Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Agrarentomologie

Die Entwicklung von neuen und effektiven Pflanzenschutzstrategien gegen Schädlinge ist eine der zentralen Herausforderungen der Agrarforschung. Derzeitige Erkenntnisse, dass entomopathogene Pilze wie z. B. *Metarhizium brunneum* auch als Endophyten im Pflanzengewebe wachsen können und somit einen Schutz „von innen“ bieten, bilden die

Basis für neue Pflanzenschutzstrategien. Jedoch besteht ein großes Forschungsdefizit bei der Anwendung dieser Pilze, da sie umformuliert an Effektivität einbüßen können.

Zur Verbesserung der Kolonisierung von Kartoffelknollen wurde Mycel des Nutzpilzes *M. brunneum* CB 15 in einem neuartigen Kapselsystem, mit Cellulase, Cellulose und inaktiver Bäckerhefe als Additive, verkapselt. Dabei gingen wir der Fragestellung nach, ob der Zusatz von Cellulase zu einer Verbesserung der Penetration der Pflanzenzellwände und somit zu einer Erhöhung der Kolonisierung führt.

Wir konnten nachweisen, dass in Kapseln mit Cellulose allein oder in Kombination mit inaktivierter Bäckerhefe eine signifikante Erhöhung der Cellulase-Aktivität und ein verbessertes Myzelwachstum mit 12.6 % bzw. 13.6 % vorlag. Eine höhere Enzymaktivität, z. B. durch eine Co-Formulierung mit Cellulase, führte darüber hinaus zu einem Shift von Myzel- zu Sporenbildung zu maximal $2.5 \times 10^8 \pm 6.1 \times 10^7$ Sporen pro Kapsel. Dies korrelierte mit einem verbesserten Endophytismus von 61,2 % im Vergleich zur Applikation von Kapseln ohne Additive. Unsere Studie lieferte somit erste Erkenntnisse, dass Enzyme als Penetrationshilfsmittel eine Verbesserung der Pflanzenkolonisierung hervorrufen können.

23-3 - Verbesserung der Stresstoleranz von Kartoffelpflanzen durch den Einsatz einer Formulierung des endophytischen Nutzpilzes *Metarhizium brunneum* CB15

Endophytic Metarhizium brunneum mitigates nutrient deficits in potato plants and improves plant vitality and productivity

Desiree Jakobs-Schönwandt¹, Vivien Krell¹, Stephan Unger², Anant Patel¹

¹Fachhochschule Bielefeld, Fakultät für Ingenieurwissenschaften und Mathematik; Arbeitsgruppe: Fermentation and Formulation of Biologicals and Chemicals

²Fachhochschule Bielefeld, Department of Experimental and Systems Ecology

In den vergangenen Jahren zeigte sich, dass einige entomopathogene Pilze als Bionten im Pflanzengewebe eine wichtige Rolle für die Pflanzengesundheit spielen. Jedoch ist wenig über das Potential dieser Pilze bekannt abiotischen Stress, z. B. durch Nährstoffmangel ausgelöst, abzumildern. Daher wurde der Einfluss des Bodennährstoffgehaltes auf die endophytische Kolonisierung von Kartoffeln durch *Metarhizium brunneum* (CB 15) untersucht und geprüft, ob ein Zusammenhang zwischen Kolonisierung der Pflanzen und Pflanzengesundheit besteht.

Ein Vergleich zwischen nährstoffreichen und -armen Böden ergab, dass die Kolonisierung in nährstoffarmen Böden um 13,1 % höher war, was mit einer signifikanten Verbesserung der effektiven und maximalen Quantenausbeute des Photosystems II mit 0.72 ± 0.01 bzw. 0.82 ± 0.01 korrelierte. Durch den Rückgang der CO₂ Assimilierung und stomatären Leitfähigkeit wurde deutlich, dass der Endophyt die Pflanzen vor Wasserverlust schützen kann. So stieg die Wassernutzungseffizienz um den Faktor 1,5. Auch das Pflanzenwachstum wurde verbessert. So zeigte sich in nährstoffreichen und -armen Böden eine Erhöhung von Biomasse und Blattoberfläche von 2.04 ± 0.08 g auf 3.99 ± 0.11 g bzw. 89.50 ± 5.99 cm² auf 357.98 ± 8.97 cm².

Ein Anstieg des Stickstoff- und Phosphorgehaltes in den Blättern wies darüber hinaus auf eine durch den Pilz induzierte Nährstoffmobilisierung hin. In Pflanzen, die im nährstoffreichen Boden gewachsen waren, war der Phosphorgehalt durch die Behandlung von 2.47 ± 0.48 mg auf 6.27 ± 0.28 mg, signifikant erhöht.

23-4 - Osmoadaptation and compatible solutes accumulation by *Kosakonia radicincitans* enhance its capacity as endophyte in radish plants

Mauricio Cruz Barrera, Desiree Jakobs-Schönwandt¹, Silke Ruppel², Matthias Becker², Helmut Junge³, Kristin Dietel³, Anant Patel¹

¹Fachhochschule Bielefeld

²Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren

³ABiTEP GmbH

Recent studies on endophytic *Kosakonia radicincitans* DSM 16656T demonstrated a wide plant growth-promoting activity. The application of this Gram-negative bacterium as a biofertilizer is limited due to the lack of adequate formulation that protects the cells during drying and storage and supports plant colonization. Here we set out to elucidate the compatible solutes accumulation influence of *K. radicincitans* triggered by osmotic stress on its capacity as an endophyte in radish plants. We found that physiological modifications by osmotic stress treatments and accumulation of compatible solutes during cultivation, improve the capability of *K. radicincitans* formulated in dry beads to colonize and to promote radish growth. Thus, pre-conditioning of cells with NaCl 4% and by adding compatible solutes such as hydroxyectoine during cultivation induced a positive effect on relative gene expression response, enhancing significantly the ability to colonize plant tissue up to 10 fold. Additionally, when this osmolyte was added, either dry matter of tuber or leaves increased by 3 % and 13.59 %, respectively in comparison to beads without the bacterium. These first results indicate that a systematic approach to cultivation and formulation may increase the endophytic capacity of this bacterium.

23-5 - Einfluss ausgewählter *Serendipita* Arten auf *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in Tomate

Effects of selected Serendipita species on Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* in tomato

Negar Ghezel Sefloo¹, Constanze Hauser¹, Markus Gorfer², Krzysztof Wieczorek¹, Siegrid Steinkellner¹, Karin Hage-Ahmed¹

¹Universität für Bodenkultur Wien, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzenschutz,

²AIT Austrian Institute of Technology GmbH, Center for Health & Bioresources, Bioresources

Bodenbürtige Pathogene wie *Fusarium oxysporum* stellen aufgrund ihres Überdauerungsvermögens im Boden eine besondere Herausforderung für den Pflanzenschutz dar. Ein möglicher Teil einer Gesamtbekämpfungsstrategie kann der Einsatz von antagonistischen Mikroorganismen sein. Interessante Kandidaten stellen dabei endophytische Pilze der Gattung *Serendipita* dar. Diesen Pilzen ist es möglich, die Wurzeln ihrer Wirtspflanzen zu kolonisieren, die Physiologie dieser zu verändern und dadurch bedingt die Wirtspflanzenresistenz zu erhöhen. Für *Serendipita indica* (syn. *Piriformospora indica*) liegen schon mehrere Untersuchungen vor, die diese positiven Effekte auf die Pflanzengesundheit zeigen. Andere Arten, darunter auch europäische Isolate, sind wissenschaftlich noch wenig bearbeitet und stellen eine mögliche Quelle für neue Kandidaten für die biologische Kontrolle von bodenbürtigen Pathogenen dar. In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung ausgewählter *Serendipita* Arten auf das Welkepathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) in vitro und im Glashaus an Tomatenpflanzen der Sorte „Kremser Perle“ untersucht.

In Petrischalenkonfrontationstests wurde Fol alleine oder gemeinsam mit *Serendipita indica*, *S. williamsii*, *S. herbamans* oder *S. vermifera* inkubiert. Nach 14 Tagen wurde der

Koloniedurchmesser von Fol bestimmt, um das antagonistische Potential bestimmen zu können. In Glashausversuchen wurden die Tomatenkeimlinge der Sorten „Kremser Perle“ vor dem Topfen in ein Gemisch aus Sand, Erde und Leca (1:1:1, v:v:v) mit den unterschiedlichen *Serendipita* Arten inokuliert. Die Inokulation mit Fol erfolgte über die Zugabe einer Chlamydosporensuspension (5000 Chlamydosporen/g Substrat) in das Substrat. Nach 8 Wochen wurden Fusariumbefall und Wachstumsparameter der Tomatenpflanzen erhoben.

In den Petrischalenkonfrontationstests konnte keine direkte antagonistische Wirkung gegen Fol festgestellt werden. In den durchgeführten Glashausversuchen konnte gezeigt werden, dass der Einsatz der untersuchten *Serendipita* Arten negative Effekte von Fol auf Wurzel- und Sproßgewichte der Pflanzen 8 Wochen nach der Inokulation kompensierte. Weiters konnte durch den Einsatz von *S. herbamans* und *S. vermifera* die Befallshäufigkeit von 84 % signifikant auf 49 bzw. 38 % reduziert werden. Bei der Befallsstärke konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

In weiteren Versuchen muss nun geklärt werden, ob induzierte Resistenz hinter diesen krankheitsunterdrückenden Effekten steht und inwiefern sich diese Effekte auch an anderen Tomatensorten zeigen.

23-6 - Sapindosid B – ein neuer fungizider Wirkstoff zur Bekämpfung von *Venturia inaequalis* und *Botrytis cinerea*?

Sapindoside B – a new fungicidal substance to control Venturia inaequalis and Botrytis cinerea?

Franziska M. Porsche¹, Daniel Molitor², Marco Beyer², Sophie Charton², Christelle André², Andreas Kollar³

¹Julius Kühn Institut, Institut für biologischen Pflanzenschutz, Heinrichstraße 243, 64287 Darmstadt, franziska.porsche@julius-kuehn.de

²LIST – Luxembourg Institute of Science and Technology, Environmental Research and Innovation (ERIN) Department, 41, rue du Brill, 4422 Belvaux, Luxembourg

³Julius Kühn Institut, Institut für Obst- und Weinbau, Schwabenheimer-Straße 101, 69221 Dossenheim

Saponine sind oberflächenaktive, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe (Glycoside) die eine fungizide Wirkung aufweisen und von Pflanzen als natürlicher Schutz vor Pathogenbefall gebildet werden (Osborn 1996, Saha et al. 2010). Saponinhaltige Extrakte aus dem Pericarp der indischen Waschnuss (*Sapindus mukorossi*) wurden *in vitro* auf ihre fungizide Wirkung gegen den Apfelschorferreger *Venturia inaequalis* und den Erreger der Grauschimmelfäule *Botrytis cinerea* untersucht. Die Extrakte führten bei einer Konzentration ≥ 500 ppm zu einer vollständigen Hemmung der Konidienkeimung bei *V. inaequalis*. Die Keimung der Konidien von *B. cinerea* wurde bei einer Konzentration von $\geq 250,000$ ppm vollständig gehemmt.

Die präventive Behandlung von Sämlingen der Sorte 'Jonagold' im Gewächshaus mit einem 1%igen Waschnussextrakt führte zu einer Reduktion des Befalls um 99 % gegenüber der unbehandelten Kontrolle. Eine Behandlung der Sämlinge 6 h nach der erfolgten Inokulation zeigte ebenfalls eine gute Wirkung. Die Sporulation des Erregers war nahezu vollständig reduziert (96 %).

Im Freiland wurde der *Botrytis*-Befall an Trauben der Sorte 'Pinot gris' durch einen 1% Saponinextrakt um bis zu 63% reduziert werden. Der Zeitpunkt an dem 5 % der Beeren befallen waren konnte um durchschnittlich 11,6 Tage gegenüber der unbehandelten Kontrolle verzögert werden. Die Wirkung war vergleichbar mit einem herkömmlichen Standardfungizid (Teldor).

Für die Analyse der wirksamen Inhaltsstoffe wurde der Waschnussextrakt mittels Hydrophober Interaktionschromatographie aufgereinigt. Der aufgereinigte Extrakt wurde an der HPLC fraktioniert und in Mycelhemmtests auf seine fungizide Wirkung untersucht. Eine Fraktion konnte das Mycelwachstum von *Venturia inaequalis* um 45 % und das Mycelwachstum von *Botrytis cinerea* um 43 % hemmen. Mit Hilfe von UPLC-Triple TOF Analysen konnte Sapindosid B als wirksamer Inhaltsstoff identifiziert werden (98 %).

Literatur

OSBOURN, A., 1996: Saponins and plant defence – A soap story. *Trend Plant Sci.* 1:4-9.

SAHA, S., WALIA, S., KUMAR, J., PARMAR, B.S., 2010: Structure and biological activity relationships in triterpenic saponins: The relative activity of protobassic acid and its derivatives against plant pathogenic fungi. *Pest Manage. Sci.* 66:825-831.

23-7 - Süßholzblattextrakt gegen Tomatenbraunfäule – auf dem Weg vom Labor in die Praxis

Licorice leaf extract as plant protection agent against tomato late blight - on the way from lab to field

Annegret Schmitt¹, Emilia Markellou², Athanasia Mandoulaki², Ina Kleeberg³, Stavroula Konstantinidou-Doltsinist⁴

¹Julius Kühn-Institut, Heinrichstrasse 243, 64287 Darmstadt

²Benaki Phytopathological Institute, 8 St. Delta Street, GR-145 61 Kifissia, Athen, Griechenland

³Trifolio-M GmbH, Dr.-Hans-Wilhelmi-Weg 1, 35633 Lahnau

⁴National Agricultural Research Foundation, Institute of Plant Protection, Amerikis and National Road, 26004 Patras, Griechenland

Extrakt aus Süßholzblättern (*Glycyrrhiza glabra*) zeigte gegenüber dem Erreger der Braunfäule (*Phytophthora infestans*) und gegen Falschen Mehltau an Gurken, beides Erreger aus der Gruppe der Oomyceten, sehr gute Wirkung (Scherf *et al.*, 2010; Schuster *et al.*, 2010). Derzeit wird ein Pflanzenschutzmittel auf der Basis von Süßholzextrakt entwickelt.

Die Untersuchung des Extraktes zur Nutzung gegenüber *P. infestans* an Tomaten erfolgte in Versuchen in Labor, Gewächshaus und Freiland. An abgetrennten Tomatenblättern hatte der Blattextrakt (2,5 % (w/v)) bei protektiver Applikation eine 100 %ige Wirkung. Eine kurative Wirkung lag nicht vor. An getopften Tomatenpflanzen zeigte der 1 %ige (w/v) Blattextrakt die gleiche Wirkung wie das Vergleichsfungizid Fosetyl-Al. Hier hielt die Wirkung bei einmaliger Applikation und künstlicher Inokulation über einen Zeitraum von 20 Tagen an. Auch unter semikommerziellen Gewächshausbedingungen (Ökologischer Anbau) wurde der Befall mit Tomatenbraunfäule durch Anwendung eines 5 %igen (w/v) Süßholzextraktes gegenüber der Kontrolle stark verringert. Hier wurde auch eine Verringerung des Befalls mit Grauschimmel beobachtet.

In einem Vorversuch in Kleinparzellen im Freiland (5 % Extrakt (w/v)) erreichte die Befallsreduktion zu Versuchsende 64 %. Die Ergebnisse wurden in einem großen Feldversuch bestätigt. Hier konnte mit der Anwendung des 5 %igen (w/v) Süßholzextraktes die Befallsstärke der Blätter zu 76 % und die Befallshäufigkeit zu 57 % im Vergleich zu den Kontrollpflanzen reduziert werden. Am Ende des Versuchs waren die Kontrollpflanzen aufgrund des hohen Befallsdrucks komplett ausgefallen. Zu diesem Zeitpunkt hatte der Süßholzextrakt noch immer 50 % Wirkung. Der Extrakt wird nun in dem EU-Projekt RELACS für die Praxisnutzung an Tomate und anderen Kulturen weiterentwickelt.

Der Versuch unter semi-kommerziellen Gewächshausbedingungen und der Vorversuch im Freiland wurden von Frau Heike Sauer (Staatliche Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau

Heidelberg (LVG)) bzw. Dr. Barbara Jäckel (Senatsverwaltung für Umwelt, Verkehr und Klimaschutz, Berlin) durchgeführt. Der andere Freilandversuch erfolgte im Rahmen des EU-Projekts CO-FREE (Projektnr. 289497; www.co-free.eu). Das Projekt wurde von der Europäischen Kommission unter dem 7. Rahmenprogramm gefördert.

Literatur

- SCHERF, A., SCHUSTER, C., MARX, P., GÄRBER, U., KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS, S., SCHMITT, A. (2010): Control of downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) of greenhouse grown cucumbers with alternative biological agents. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, **75**(4), 541-554.
- SCHUSTER, C., KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS, S., SCHMITT, A. (2010): *Glycyrrhiza glabra* extract protects plants against important phytopathogenic fungus. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, **75**(4), 531-540.