
Sektion 38 - Biologischer Pflanzenschutz I

38-1 - Schneider, D.; Jehle, J.

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Transkriptomanalyse des *Cydia pomonella* Granulosevirus (CpGV)

Baculoviren sind insektenpathogene Viren einer diversen Gruppe, die weltweit als zur biologischen Bekämpfung von Schadlepidopteren angewendet werden. Das *Cydia pomonella* Granulosevirus (CpGV) wird in Europa auf mehr als 150.000 ha gegen den Apfelwickler *Cydia pomonella* eingesetzt. In den Jahren 2003/2004 konnte zum ersten Mal eine Resistenz von Apfelwicklerpopulationen gegen das Virus nachgewiesen werden. Bis heute wurden mehrere Isolate gefunden, welche in der Lage sind diese Resistenz wieder zu brechen.

Im Projekt zur "Charakterisierung der molekularen Virulenzfaktoren des CpGV durch Transkriptomanalysen" wird ein Expressionsprofil erstellt, durch das Informationen über den relativ unbekanntem Infektionszyklus gewonnen werden. Über eine quantitative reverse transcriptase PCR (qRT-PCR) wird der spezifische, zeitliche Rahmen der Infektion im Mitteldarm und dem Fettkörper untersucht. Ziel des Projektes ist es, neue Wege des Resistenzmanagements zu finden und neue Erkenntnisse zur Genregulation bei Baculoviren zu erhalten.

38-2 - Kleespies, R.¹⁾; Ritter, C.²⁾; Zimmermann, G.³⁾; Burghause, F.⁴⁾; Feiertag, S.⁵⁾; Leclerque, A.¹⁾

¹⁾ Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

²⁾ Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern

³⁾ privat

⁴⁾ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinhessen-Nahe-Hunsrück

⁵⁾ Technische Universität Darmstadt

Natürliches Vorkommen mikrobieller Antagonisten von Drahtwürmern (*Agriotes* spp., Coleoptera: Elateridae) in Deutschland und Italien

Natural occurrence of microbial antagonists of wireworms (Agriotes spp., Coleoptera: Elateridae) in Germany and Italy

Drahtwürmer der Gattung *Agriotes* (Coleoptera: Elateridae) sind weit verbreitete landwirtschaftliche Schädlinge, die in vielen Kulturen weltweit Schäden von großer wirtschaftlicher Bedeutung verursachen. Zwischen 2008 und 2011 erfolgte eine Erhebung über das Auftreten natürlicher mikrobieller Antagonisten von *Agriotes* spp. Insgesamt wurden 3420 Drahtwürmer und 2 tote Käfer von verschiedenen Orten in Deutschland und 700 Drahtwürmer aus einer Laborzucht in Italien untersucht. Die natürliche Infektionsrate lag bei 0,66 %. Das diagnostische Screening von insgesamt 283 moribunden und toten *Agriotes*-Proben durch Licht- und Elektronenmikroskopie ergab folgendes Ergebnis: In 66 Drahtwürmern wurden unbestimmte Bakterien nachgewiesen, und 86 Proben zeigten Pilzwachstum. Davon waren 25 Drahtwürmer mit den entomopathogenen Pilzen *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, *Isaria* spp. und *Lecanicillium* sp. infiziert. Nematoden wurden in 29 erkrankten Larven beobachtet, und 141 Drahtwürmer wiesen keine Krankheitserreger auf. In einer toten *Agriotes*-Larve wurde ein intrazelluläres Bakterium des neuen Rickettsiella-Pathotypen '*Rickettsiella agriotidis*' identifiziert.

Genetische Untersuchungen zur Charakterisierung ausgewählter *Agriotes*-Pathogene werden vorgestellt. Die Möglichkeit der Nutzung dieser Krankheitserreger als biologische Bekämpfungsmittel wird diskutiert.

38-3 - Koch, E.¹⁾; Wunderle, J.¹⁾; Orlik, M.¹⁾; Spieß, H.²⁾

¹⁾ Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

²⁾ Forschung und Züchtung Dottenfelderhof

Untersuchungen zur Entwicklung alternativer Saatgutbehandlungsmittel mit Wirksamkeit gegen Flugbrand

Studies on the development of alternative seed treatments with activity against loose smut

Die Flugbrände an Gerste und Weizen (*Ustilago nuda* und *U. tritici*) sind mit chemisch-synthetischen, fungiziden Saatbeizmitteln in der Regel gut zu bekämpfen. Da im Ökoanbau diese Mittel nicht erlaubt sind, sollten im Rahmen eines vom "Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft" geförderten Projektes neue Ansätze für die Bekämpfung mit ökokompatiblen Saatgutbehandlungsmitteln erarbeitet werden.

Dazu wurde zunächst die Ausbreitung der Flugbrandpilze in der Pflanze mikroskopisch untersucht und das Pilzmycel mit einem ELISA und q-PCR quantifiziert. Schon wenige Tage nach der Keimung wurden die Hyphen der Brandpilze im Apikalmeristem und den Blattprimordien gefunden. Im 1-Knotenstadium waren die Ährenanlagen meist völlig vom Pilz besiedelt. Ein Protokoll für die q-PCR wurde entwickelt und zur Quantifizierung des Pilzes in Jungpflanzen angewendet. Die erhaltenen Daten stimmten gut mit den Ergebnissen von parallel durchgeführten ELISA-Untersuchungen überein und zeigten, dass eine Vorhersage des Ährenbefalls mit der q-PCR bereits im 2-Blattstadium möglich ist.

Im nächsten Schritt wurden Pflanzenextrakte und Präparationen von Mikroorganismen auf potentielle Flugbrandaktivität untersucht. Von 34 wässrigen Pflanzenextrakten führten nach Inkorporation in PDA (Endkonzentration 5 %) neun zu einer vollständigen Hemmung der Brandsporenkeimung. Auch ein zweiprozentiger ethanolischer Soxhlet-Extrakt aus Rhabarberwurzeln hemmte die Keimung der Brandsporen vollständig. Weiterhin wurden mehr als 600 Mikroorganismen-Isolate auf Hemmung der Sporenkeimung untersucht. In diesen Tests betrug der Anteil wirksamer Isolate bei den Trichoderma-Isolaten 43 %, bei den Aktinomyceten 30 % und bei den übrigen Bakterien 11 %.

In mehrjährig durchgeführten Kleinarzellenversuchen mit flugbrandinfizierter Gerste und Weizen wurden mit einigen ausgewählten Saatgutbehandlungen Bekämpfungserfolge erzielt. Die Effekte waren aber meist zu gering für die praktische Anwendung und nur bedingt reproduzierbar. Auch mit unterschiedlichen Applikationsverfahren, wie Tauchen in verdünnte Extrakte oder Kulturbrühen, Aufbringen von Pflanzenmehlen oder gefriergetrockneten Mikroorganismen auf die Oberfläche der Körner sowie Kombinationen mit Ethanol führten zu keiner deutlichen Verbesserung der Wirksamkeit. Topfversuche im Gewächshaus mit hochinfizierten Saatgutchargen erbrachten ähnliche Ergebnisse.

Die Wirksamkeit gegen Haferflugbrand wurde nur einmal überprüft. Wie im Falle von Gersten- und Weizenflugbrand war der Bekämpfungserfolg auch beim Haferflugbrand unbefriedigend. Eine Ausnahme bildete die Saatgutbehandlung mit Ethanol (70 %). Mit ihr wurde bei Hafer eine Flugbrandwirksamkeit von 75 bis 80 % erzielt.

38-4 - Grosch, R.¹⁾; Dietel, K.²⁾; Junge, H.²⁾; Chowdhury, S. P.³⁾; Hartmann, A.³⁾; Borriss, R.²⁾

¹⁾ Leibniz Institut für Gemüse und Zierpflanzenbau

²⁾ ABiTEP GmbH

³⁾ Helmholtz-Zentrum München

Interaktion von *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 mit dem Salatfäuleerreger und der mikrobiellen Rhizosphärengemeinschaft von Salat

Interaction of Bacillus amyloliquefaciens FZB42 with the bottom rot pathogen and the microbial rhizosphere community of lettuce

Bacillus amyloliquefaciens FZB42 wurde als pflanzenassoziiierender, endosporenbildender Bakterienstamm charakterisiert (*Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*). Die Sequenzierung des Genoms von FZB42 zeigte, dass 9 Gencluster die Information zur nicht ribosomalen Synthese von 5 bioaktiven Peptiden, 3 Polyketiden und einem unidentifizierten Peptid mit antifungaler und antibakterieller Aktivität enthalten.

Unter Feldbedingungen wurde unter Berücksichtigung der Applikationsweise mit *B. amyloliquefaciens* FZB42 die Wirkung auf das Wachstum von Salat unter natürlichem und erhöhtem Befallsdruck (nach zusätzlicher Erregerinokulation) mit *Rhizoctonia solani* AG1-IB ermittelt. Zu verschiedenen Zeitpunkten während der Vegetation von Salat wurde sowohl die Besiedlungsdichte von FZB42 in der Rhizosphäre von Salat als auch der Einfluss der Applikation des pflanzenassoziiierenden Bakterium FZB42 auf die mikrobielle Gemeinschaft der Salatrhisosphäre

untersucht. Geprüft wurde der Einfluss einer alleinigen Jungpflanzenbehandlung (JB) sowie einer kombinierten Jungpflanzenbehandlung und Bodenapplikation (JB/BB) auf den Befall von Salat mit *R. solani* und das Wachstum von Salat.

Im Ergebnis der Untersuchungen zeigte sich, dass FZB42 die Befallsstärke der Salatfäule sowohl bei natürlichem als auch bei erhöhtem Befallsdruck signifikant reduziert. Im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle war bei kombinierter Behandlung (JB/BB) mit FZB42 eine signifikant erhöhte Trockenmasse von Salat gegeben. In der Rhizosphäre von Salat konnte FZB42 in ausreichender Dichte während der Vegetation nachgewiesen werden. Ein Einfluss auf die mikrobielle Gemeinschaft war durch FZB42 nicht festzustellen.

38-5 - Weiss, A.; Kunz, S.

bio-ferm Research GmbH

Strategischer Einsatz von *Aureobasidium pullulans* als Resistenzmanagement gegen *Botrytis* an Erdbeeren

Fruchtfäulen gehören zu den bedeutendsten Pilzkrankheiten und verursachen besonders im Erwerbsobstbau hohe wirtschaftliche Schäden. Ihre Bekämpfung ist in der Regel sehr aufwändig und oft nur von mäßigem Erfolg, da das Auftreten der Erkrankungen multifaktoriellen Ursachen unterliegt. Der Hauptfruchtfäuleerreger in Erdbeeren ist *Botrytis cinerea*. Dieser infiziert geöffnete Blüten. Ob es dann zu einem Ausbruch einer Fruchtfäule kommt, hängt stark von den Witterungsverhältnissen während der Ernteperiode ab. Da der Erreger also nur vorbeugend bekämpft werden kann, müssen herkömmliche Fungizidbehandlungen so erfolgen, dass möglichst jede sich öffnende Blüte vor einer Infektion durch einen Fungizidbelag geschützt wird.

Charakteristisch für die zur Bekämpfung von *Botrytis* eingesetzten Wirkstoffgruppen ist, dass ihr Wirkmechanismus hoch spezifisch ist (Single site Inhibitoren) und der wiederholte Einsatz zur Selektion von Resistenzen geführt hat (1). Eine Möglichkeit, einer Resistenzbildung vorzubeugen, ist der schonende, reduzierte Einsatz der gefährdeten Wirkstoffgruppen und konsequenter Wechsel der Wirkstoffe. Der strategische Einsatz alternativer Mittel in Spritzstrategien mit chemischen Fungiziden würde das Resistenzmanagement unterstützen. Der Einsatz von gegen den Schaderreger antagonistisch wirkenden Bakterien oder Pilzen stellt eine Alternative zu chemischen Fungiziden dar.

Mit Boni Protect forte auf Basis von *Aureobasidium pullulans*, einem antagonistisch wirkenden Hefepilz, dessen Wirksamkeit gegen zahlreiche Schaderreger im Obstbau gezeigt werden konnte (2-4), können einzelne Behandlungen mit chemischen Fungiziden ersetzt werden und damit bestehende Lücken im Resistenzmanagement geschlossen werden.

In 2011 und 2012 wurden an je zwei Standorten in Baden Württemberg Freilandversuche an der Erdbeersorte 'Clery' und in 2011 zusätzlich ein Himbeerversuch nahe Lublin, Polen mit Boni Protect forte durchgeführt. Die Versuche wurden in randomisiertem Blockdesign mit vier Wiederholungen angelegt. Behandelt wurde ab Blühbeginn (BBCH 62) bis Blühende (BBCH 69) wöchentlich. Mit beginnender Reife der Erdbeeren (BBCH 85) wurde der *Botrytis* Befall von Blüten und Früchten an jeweils 28 Pflanzen jeder Wiederholung bonitiert. Bei dem Himbeerversuch wurde aus der Ernte von acht Pflücken der Anteil der *Botrytis* befallener Früchte pro Variante und Wiederholung ermittelt und der gesamt Durchschnitt pro Variante errechnet.

Vier Behandlungen mit Boni Protect forte führte in allen Versuchen zu einer signifikanten Befallsreduktion von 40 bis 73 % im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Die Wirkung des chemischen Standards (vier Behandlungen mit wechselnden Fungiziden) unterschied sich in den Erdbeerversuchen nicht von den mit Boni Protect forte behandelten Varianten.

In Spritzstrategien (zweimal chemisches Fungizid gefolgt von zwei Behandlungen mit Boni Protect forte) konnten mit *A. pullulans* in allen Versuchen Wirkungsgrade zwischen 59 und 86 % erzielt werden (5). Diese Wirkungsgrade waren vergleichbar mit denen der chemischen Standardbehandlungen.

Boni Protect forte war in allen Versuchen in der Lage, den Befall mit *Botrytis cinerea* in Erd- und Himbeeren signifikant zu reduzieren. *A. pullulans* ist daher sowohl für den Einsatz im ökologischen Beerenanbau wie auch in Strategiespritzungen im integrierten Anbau geeignet. Durch den Einsatz von Boni Protect forte an Stelle chemischer Fungizide können Pflanzenschutzmittelrückstände reduziert und die Resistenzentwicklung von *Botrytis cinerea* gegen chemische Pflanzenschutzmittel vermindert werden.

Literatur

(1.) WEBER, R. W. S., *Plant Disease* 95, 1263 (2011/09/19, 2011).

(2.) WEISS, A., S. WEISSHAUPT, M. HINZE, P. LEISTRA, S. KUNZ, in *Proc. of the 15th Int. Conf. on Oranic Fruit-Growing*, Ed. (FÖKO e.V., Weinsberg, 2012) pp. 228-234.

- (3.) WEISS, A., G. MÖGEL, S. KUNZ, in *12th Int. Conf. on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing*, Ed. (FÖKO e.V., Weinsberg, 2006) pp. 113-117.
- (4.) KUNZ, S., in *11th Int. Conf. on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing and viticulture*, Ed. (FÖKO e.V., Weinsberg, 2004) pp. 108-114.
- (5.) WEISS, A., S. WEISSHAUPT, P. KRAWIEC, S. Kunz, *Acta Horticulturae*, in press (2012).

38-6 - Schreiter, S.¹⁾; Zimmerling, U.¹⁾; Zocher, P.²⁾; Grosch, R.²⁾; Smalla, K.¹⁾

¹⁾ Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

²⁾ Leibniz Institut für Gemüse und Zierpflanzenbau

Einfluss des Bodentyps auf die Biokontrolle von *Rhizoctonia solani* durch bakterielle Antagonisten und die mikrobielle Diversität in der Rhizosphäre von Salat

*Impact of soil type on biocontrol of *Rhizoctonia solani* by bacterial antagonists and on microbial diversity in the rhizosphere of lettuce*

Die krankheitsunterdrückende Wirkung von biologischen Agenzien kann unter Feldbedingungen unter dem Einfluss von biotischen wie auch abiotischen Bedingungen deutlich variieren. Bisher gibt es kaum Kenntnisse dazu, welche Faktoren diese Variation wesentlich bedingen. Ein entscheidender Faktor könnte der Bodentyp sein, der sowohl durch seine physikochemischen als auch mikrobiologischen Eigenschaften Einfluss auf die Aktivität von biologischen Agenzien nehmen kann.

Ziel eines von der DFG unterstützten Projektes ist daher, den Einfluss des Bodentyps auf die krankheitsunterdrückende Wirkung von biologischen Agenzien zu untersuchen. Ein besseres Verständnis der Interaktionen von mikrobieller Gemeinschaft, der Pflanzenrhizosphäre und dem Boden könnte zur Erhöhung der Effektivität der biologischen Bekämpfung beitragen.

In verschiedenen Gefäß- und ersten Feldversuchen zeigten die bakteriellen Antagonisten *Pseudomonas jessenii* RU47 und *Serratia plymuthica* 3Re4-18 gegenüber dem Salatfäuleerreger *Rhizoctonia solani* an Salat eine effektive krankheitsunterdrückende Wirkung. Auf einem Versuchsstandort des IGZ besteht die Möglichkeit, den Einfluss von drei Bodentypen (lehmigem Sand, sandigem Lehm, Lößlehm) unabhängig von anderen Einflussfaktoren, wie klimatischen Bedingungen, auf die krankheitsunterdrückende Wirkung der genannten Antagonisten und deren Interaktion mit der mikrobiellen Rhizosphärengemeinschaft am Pathosystem Salat/*R. solani* zu untersuchen. Nach einer Kulturdauer von fünf Wochen wurde der Einfluss der Antagonisten auf die Biomasse von Salat sowohl ohne als auch nach künstlicher Inokulation mit *R. solani* ermittelt. In den mit *R. solani* inokulierten Varianten erfolgte gleichzeitig die Bonitur der Befallsstärke (BS) der Salatfäule. Zwei und fünf Wochen nach der Pflanzung wurde die Besiedlung der Rhizosphäre mit den Antagonisten sowie die Zusammensetzung der mikrobiellen Rhizosphärengemeinschaft untersucht.

Beide Antagonisten waren in der Lage, die BS der Salatfäule unabhängig von der Bodenart signifikant zu reduzieren. Ein Einfluss der Bodenart auf die Besiedlungsdichte der Antagonisten in der Rhizosphäre war nicht zu verzeichnen. Jedoch war in Abhängigkeit von der Bodenart eine unterschiedliche bakterielle Gemeinschaft in der Rhizosphäre von Salat gegeben, die jedoch nicht wesentlich von den Antagonisten beeinflusst war.

38-7 - Bisutti, I.; Stephan, D.

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von *Verticillium*-Welke und Rhizomfäule an Erdbeeren

*Application of microbials to regulate *Verticillium* wilt and crown rot on strawberries*

Im organischen wie konventionellen Erdbeeranbau werden bodenbürtige Pathogene, wie z. B. *Verticillium* spp. und *Phytophthora* spp., ein zunehmendes Problem, weil derzeit keine effiziente Bekämpfung dieser Schaderreger möglich ist. Eine Bekämpfung wird dadurch erschwert, da insbesondere *V. dahliae* im Boden in Form von Mikrosklerotien mehr als 15 Jahre überdauern kann.

Vier Mikroorganismen (*Trichoderma harzianum* T58, *T. atroviride* P1, *Metarhizium anisopliae* Ma43 und *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24) wurden nach einer *in vitro* Testserie ausgesucht und gegen *V. dahliae* und *P. cactorum* an Erdbeerpflanzen im Gewächshaus und Freiland (Saison 2010/2011) getestet. Neben den vier Mikroorganismen wurde auch eine Mischung der vier Antagonisten in die Versuche mit einbezogen.

In den Gewächshaus- und Freilandversuchen waren trotz künstlicher Inokulation beider Pathogene keine klaren Infektionssymptome sichtbar. Wurden Wachstumsparameter (z. B. Wurzellänge, Blattmasse) in Versuchen mit

Inokulation von *V. dahliae* im Gewächshaus untersucht, zeigten alle Antagonisten eine Steigerung der untersuchten Wachstumsparameter, ohne dass sich ein Antagonist besonders abheben konnte. Bei mit *P. cactorum* inokulierten Pflanzen waren keine Effekte sichtbar.

In weiteren Freilandversuchen wurde die Vitalität der Pflanzen visuell bonitiert, wobei die Pflanzen mit Hilfe von Boniturklassen zwischen 1 (sehr vital) und 5 (tote Pflanzen) bewertet wurden. Bei dem mit *V. dahliae* inokulierten Versuchsansatz befanden sich ca. 50 % der Pflanzen in der Boniturklasse 1, ausgenommen dem Gemisch mit nur 29 %, und *M. anisopliae* mit 85 % in Boniturklasse 1. Nach künstlicher Inokulation mit *P. cactorum* konnte keine Steigerung kranker Pflanzen erreicht werden. Das kann darauf zurückzuführen sein, dass die Wetterbedingungen nicht optimal für die Ausbreitung der Krankheit waren. Wurde die Vitalität erfasst, erbrachte auch hier *M. anisopliae* die höchste Anzahl an Pflanzen in der Boniturklasse 1 (92 %) und das Gemisch die Niedrigste (37 %). Allerdings kann aufgrund der Heterogenität der Versuchsfläche (teilweise starker Engerlingsbefall im Bestand, unterschiedliche Wasserkapazität) nicht ausgeschlossen werden, dass diese das Versuchsergebnisse beeinflussten.

In weiteren Versuchen wurde der Einfluss der oben aufgeführten antagonistischen Mikroorganismen auf die Bildung sekundärer Mikrosklerotien von *V. dahliae* untersucht. Es zeigte sich, dass gerade durch Mischungen mit *T. harzianum* eine Reduktion der Mikrosklerotienbildung hervorgerufen werden konnte.