

With the objective to answer the question if these insecticides are still effective in controlling the cotton jassid, *J. lybica*, and the possibility to calculate a discriminating dose for future monitoring the development of insecticide resistance. The study also investigated the persistence of the three tested insecticides on sprayed cotton leaves using field recommended rate. The results showed that the insecticide dimethoate showed a lower values at different levels of toxicity (i. e. LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> and LC<sub>99</sub>) after 48 h exposure to tested insects compared to other tested insecticides. The ratio of field recommended rate to the calculated LC<sub>99</sub> during the study were found to be 19, 3 and 0.04 for dimethoate, endosulfan and avaut, respectively. This indicates that the obtained LC<sub>99</sub> for dimethoate and endosulfan can be used as discriminating dose for future monitoring the development of insecticide resistance. The median lethal time generated from persistence tests showed that the LT<sub>50</sub> for dimethoate, endosulfan and avaut were 97.4, 66.6 and 371.7 hours after exposure, respectively.

29-8 - Heger, M.; Robin, F.; Heck, W.  
BASF SE

### **GOLDOR BAIT® – Ein neues Ködergranulat zur Bekämpfung von Drahtwürmern in verschiedenen Kulturen**

GOLDOR BAIT® ist ein Ködergranulat, das speziell zur Bekämpfung des Drahtwurms, der Larven des Saatschnellkäfers, entwickelt wurde. Durch die speziell abgestimmten Komponenten des Ködergranulates werden die Drahtwürmer angelockt. Nach Aufnahme des Köders kommt es sehr schnell zur Inaktivierung der Larven. GOLDOR BAIT® enthält den insektiziden Wirkstoff Fipronil aus der Gruppe der Phenylpyrazole (IRAC-MoA 2B). Dieser wird durch Kontakt oder Fraß von Schadinsekten aufgenommen und gelangt durch weitere Verteilung zu den Nervenzellen. Dort hemmt es den Einstrom von Chloridionen durch Blockade der GABA-regulierten Chloridkanäle. Die resultierende Übererregung führt zum Absterben der Insekten.

Dargestellt werden Ergebnisse zur Wirkungsweise des Wirkstoffes und zur Bekämpfung von Drahtwürmern durch das vorgestellte Ködergranulat.

### **Sektion 30 – Wirt-Parasit-Beziehungen II**

30-1 - Horbach, R.<sup>1</sup>); Graf, A.<sup>1</sup>); Weihmann, F.<sup>1</sup>); Antelo, L.<sup>2</sup>); Mathea, S.<sup>3</sup>); Liermann, J.C.<sup>4</sup>); Opatz, T.<sup>4</sup>)

<sup>1</sup>) Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg; <sup>2</sup>) Institut für Biotechnologie und Wirkstoff-Forschung  
Kaiserslautern;

<sup>3</sup>) Max-Planck-Forschungsstelle für Enzymologie der Proteinfaltung; <sup>4</sup>) Universität Hamburg

### **Die Sfp-4'-Phosphopantetheinyltransferase CgPPT1 des Maispathogens *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson aktiviert Pathogenitätsfaktoren**

The *Colletotrichum graminicola* Sfp-4'-Phosphopantetheinyltransferase CgPPT1 is indispensable for pathogenicity

Sfp-Typ 4'-Phosphopantetheinyltransferasen (PPTasen) aktivieren in filamentösen Pilzen Enzyme des primären ( $\alpha$ -Aminoacidat-Reduktase) und sekundären Metabolismus (Polyketidsynthasen und Nichtribosomale Peptid-synthasen) durch die Übertragung der Phosphopantetheinylgruppe vom Coenzym A auf Acyl- bzw. Peptidyl-Carrier-Proteine. Die Genome phytopathogener Ascomyceten enthalten zahlreiche PKS und NRPS. Einige dieser Enzyme sind von essentieller Bedeutung für die erfolgreiche Etablierung der kompatiblen Wirt-Parasit-Interaktion. PPTase-defiziente Mutanten ( $\Delta$ Cgppt1) des hemibiotrophen Maispathogens *Colletotrichum graminicola* wurden erzeugt und phänotypisch charakterisiert.  $\Delta$ Cgppt1-Isolate waren auxotroph für Lysin, hypersensitiv gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies und nicht in der Lage, auf Medien mit komplexierten Eisenionen zu wachsen bzw. Siderophore oder Polyketide zu synthetisieren. In differentiellen Metabolitanalysen von Wildtyp und  $\Delta$ Cgppt1 konnten fünf bisher unbekannte Polyketide isoliert und mit Hilfe von NMR-Methoden strukturell charakterisiert werden. Darüber hinaus wurden zehn weitere Metabolite aus dem Kulturüberstand von *C. graminicola* isoliert. Untersuchungen zum Infektionsverlauf zeigten, dass die in geringer Anzahl gebildeten  $\Delta$ Cgppt1-Appressorien auf intakten Mais- und Zwiebelepidermen lysieren. Verletzte Maisblätter wurden dagegen invasiv besiedelt, wobei es jedoch weder zur Entstehung von Symptomen noch zur Bildung asexueller Sporen kam.

30-2 - Münch, S.; Deising, H.B.

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

### **Characterization of virulence genes of *Colletotrichum graminicola* discovered by ATMT**

Using a modified *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation protocol with acetosyringone present only during co-cultivation of *C. graminicola* and *A. tumefaciens*, we generated a collection of approx. 2,000 transformants. Analysis of 105 randomly chosen single-spore isolates indicated that almost 70 % of the transformants had single T-DNA integrations. Of 500 independent transformants tested, 19 exhibited attenuated virulence in infection assays on whole plants. Microscopical analysis primarily revealed defects at different pre-penetration stages of infection-related morphogenesis. Cytorrhizes experiments showed that appressorial penetration defects are not due to reduced turgor in appressoria. In seven transformants T-DNA integration sites were identified by amplification of genomic DNA ends after endonuclease digestion and polynucleotide tailing. Mostly 5' flanks of genes encoding hypothetical proteins were disrupted by the T-DNA, one transformant showed integration into the coding region of a putative gene of other Ascomycota. Compared to plant infections by the wild-type isolate of *C. graminicola*, one transformant seems to exhibit an altered influence on plant responses as it elicits a significantly increased number of papillae. To characterize candidate genes functionally and to confirm the results obtained by ATMT, the entire genes were deleted. Expression profiling and GFP tagging will address the role of these genes during specific steps of the infection process.

30-3 - Köllmer, S.; Krijger, J.-J.; Deising, H.B.

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

### **Development of a transformation system to address gene functions in *Bipolaris sorokiniana***

Two strategies are being followed to identify genes of *Bipolaris sorokiniana* that are relevant for host-pathogen interaction and can be used as targets for host-induced gene silencing.

Random mutagenesis followed by screening for pathogenicity and virulence mutants and

- EST sequencing and targeted knock-out of candidate genes selected by sequence features (secreted) and transcript profile, as determined by microarray hybridization.
- A GFP-tagged strain was generated by homologous integration of a GFP cassette into a non-coding region. This strain will be used for random mutagenesis and for training of the Hyph Area software for analysis of *B. sorokiniana* growth in planta.

During GFP-tagging, using various DNAs and transformation methods, it became clear that *B. sorokiniana* shows very low rates of non-homologous (i. e. random) integration of DNA, in contrast to most other fungi. On the other hand, homologous integration works efficiently, which is beneficial for knock-out of target genes, but makes *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation (ATMT) unsuitable for random mutagenesis in this fungus.

As an alternative, we will establish a transposon-based method for integration of foreign DNA in *Bipolaris*. This method was previously shown to work well in other filamentous ascomycetes. As its mechanism of integration is independent of the host, we expect this method to efficiently generate high rates of random integration in *B. sorokiniana*. mRNA from *B. sorokiniana* grown in vitro under various nutrient conditions was used to generate a normalized cDNA library. About 15,000 ESTs were obtained and are used for microarray design.

30-4 - Löhner, M.; Botterweck, J.; Schaffrath, U.

Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen

### **Novel insights into the infection mechanism of Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*)**

*Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust, causes severe yield losses in commercial soybean cultivation worldwide. Since soybean plants with resistance to all isolates of the pathogen are not available yet, and fungicidal treatments are expensive, soybean cultivation in areas invaded by *P. pachyrhizi* might become limited. Understanding the infection process will help in developing strategies to combat the disease threat.

Uredospores of *P. pachyrhizi* germinate on the surface of soybean leaves and form specialized infection structures, so-called appressoria, which facilitate direct penetration into epidermal host cells. We hypothesized that direct penetration of the fungus into the plant epidermis would require high mechanical force applied by the penetration hypha of the appressorium; a feature known from other fungi e. g. *Magnaporthe oryzae*. However, in contrast to the latter fungus *P. pachyrhizi*'s appressoria are not melanized and it is an open question to what extent they could withstand osmotic pressures. We addressed this question using a novel non-invasive method of living-cell imaging

which uses dual-beam transmission-light interference microscopy. This method highlights regions of different refractive index which correlate with the concentration of solutes and the osmotic water potential of the structure. A striking advantage of this method is the extreme accuracy in measuring optical path differences without the need for fixation or staining. The data obtained can be used to calculate the osmotic potential of appressorial contents via the determination of dry mass. We will present data on the osmotic pressure generated inside the appressoria of *P. pachyrhizi* in comparison to other infection structures of *P. pachyrhizi* and in comparison to *M. oryzae*, verified by classical incipient cytorrhysis studies.

After initial penetration of the epidermis, *P. pachyrhizi* colonizes the leaf tissue of its soybean host. Feeding structures, so-called haustoria, are formed inside mesophyll cells by invagination of the plasma membrane. This leads to the formation of an area of intimate contact between host and pathogen and exchange of signal molecules is likely. *P. pachyrhizi* might exploit this opportunity to interfere with the host defense machinery to avoid recognition or to actively down-regulate initiation of resistance. Aiming at the identification of such pathogen-derived molecules, we sequenced the transcriptome of isolated haustoria using next-generation sequencing tools. The obtained data were screened for genes encoding small unknown proteins with a signal peptide and compared to already known secreted proteins of other rust fungi. An update on the analyses of *P. pachyrhizi*'s putative haustorial effectors will be presented.

30-5 - Kassemeyer, H.-H.; Tisch, C.; Schmalstieg, N.  
Staatliches Weinbauinstitut Freiburg

### **Der Infektionsprozess von *Erysiphe necator* und frühe Stadien der Besiedelung verschiedener Genotypen der Weinrebe**

The infection process of *Erysiphe necator* and early events in the colonization of different grapevine genotypes

Der Echte Mehltau der Weinrebe, *Erysiphe necator*, stammt ursprünglich aus Nordamerika und hat dort eine Reihe von *Vitis*-Arten als Wirtspflanze. Diese Wildarten zeigen eine mehr oder weniger ausgeprägte Resistenz gegen das Pathogen, während die klassischen Sorten der Weinrebe (*Vitis vinifera*) anfällig sind. Allerdings zeigt diese Anfälligkeit innerhalb der verschiedenen Sorten eine deutliche Abstufung. Um einen Einblick in die Interaktion zwischen *E. necator* und *Vitis* zu erhalten, wurden die ersten Infektionsstadien an verschiedenen Genotypen der Weinrebe charakterisiert. Im Vordergrund stand die Analyse der zeitlichen Dynamik des Infektionsprozesses auf den unterschiedlichen Wirtsgenotypen. Zu diesem Zweck wurden Pflanzen bzw. Blattscheiben von *Vitis vinifera* cv. 'Müller-Thurgau' und *Vitis riparia* unter definierten Bedingungen mit *E. necator* inokuliert. In bestimmten Zeitabständen wurden Proben entnommen und es wurden die einzelnen Phasen der Infektion mittels Fluoreszenzmikroskopie und Tieftemperatur-Rasterelektronenmikroskopie analysiert. Um Einblicke in die subzellulären Vorgänge im Pathogen während der Konidienkeimung, Appressorienbildung und des Hyphenwachstums zu erhalten, wurden subzelluläre Strukturen z. B. Mitochondrien, Cytoskelett und Endoplasmatisches Retikulum mit spezifischen Fluoreszenzmarkern angefärbt. Dadurch konnte der zeitliche und räumliche Ablauf von Konidienkeimung, Bildung von Appressorien und Haustorienbildung sowie die Besiedelung der Wirtsoberfläche von der Ausbildung der ersten Hyphe bis zur Verzweigung der primären Hyphe erfasst werden. Parallel zu den strukturellen Analysen wurde die Antwort der Wirtsgenotypen auf die Infektion durch *E. necator* untersucht. Dazu wurde von den inokulierten Blättern der *Vitis*-Genotypen in bestimmten Zeitabständen Proben entnommen, und es wurde nach Extraktion der RNA und cDNA-Synthese die Menge an Transkript von putativen Abwehrgenen mit spezifischen Primern mittels quantitativer PCR bestimmt. Die Ergebnisse zeigen, dass Infektionsprozess und Besiedelung auf den verschiedenen Wirtsgenotypen mit unterschiedlicher Dynamik verlaufen. In gleicher Weise ist die Kinetik der Abwehrantwort in den resistenten und anfälligen Genotypen unterschiedlich.

30-6 - Eiden, K.<sup>1)</sup>; Oerke, E.-C.<sup>1)</sup>; Steiner, U.<sup>1)</sup>; Deising, H.B.<sup>2)</sup>; Dehne, H.-W.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn; <sup>2)</sup> Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

### **Charakterisierung der Fitness von mit EGFP und DsRed transformierten *Fusarium* spp.**

Characterisation of fitness of different *Fusarium* species transformed with EGFP and DsRed

*Fusarium*-Arten, die zum Erregerkomplex der partiellen Taubährigkeit an Weizen gehören, unterscheiden sich in ihrer Aggressivität gegenüber den Pflanzen. Dies führt an Blättern, Stängeln und Körnern zu unterschiedlichen Symptomen und einer unterschiedlichen Befallsintensität. Treten verschiedene *Fusarium*-Arten gleichzeitig auf,

kann es während des Infektionsprozesses zu Interaktionen zwischen den Pathogenen und zur Modifikation der Mykotoxinbelastung der Pflanzen kommen.

Isolate von *Fusarium avenaceum* und *F. graminearum* wurden mit den Reporter-genen EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein) und DsRed transformiert, um artspezifische Unterschiede im Infektionsprozess und Interaktionen zwischen den Arten an Sommerweizenpflanzen zu untersuchen. EGFP besitzt ein Anregungsmaximum von 488 nm und ist in lebenden Zellen sehr stabil. DsRed-Express hingegen weist ein Anregungsmaximum von 557 nm auf. Die Markierung von Isolaten von *F. avenaceum* und *F. graminearum* erfolgte durch Protoplasten-Transformation. Die Transformation wurde im Falle des EGFP mit dem Plasmidvektor pSM1 durchgeführt, während zur Transformation mit DsRed eine Co-Transformation mit den Plasmidvektoren pPgpD-DsRed und pUCW18 durchgeführt wurde. In beiden Fällen diente Hygromycinresistenz als Selektionsmarker. Für Inokulationsexperimente wurden Einzelsporisolate der markierten Pilze hergestellt. Sowohl mit den Wildtyp-Isolaten von *F. avenaceum* und *F. graminearum* als auch mit jeweils drei unabhängigen Transformanten wurden auf PDA und SNA Myzelwachstums-Assays und Sporulations-assays durchgeführt. Zur weiteren Charakterisierung der Fitness von transformierten Isolaten und Wildtypen wurden Inokulationsexperimente an Weizenpflanzen durchgeführt. Zudem wurde die Entwicklung der Pilzbiomasse im Laufe der Infektion von Weizenblättern mit Hilfe von TAQMAN<sup>®</sup> realtime PCR quantitativ bestimmt und mittels LC-MS/MS das Vorkommen von Mykotoxinen analysiert. Zu diesem Zwecke wurden sowohl Inokulationen mit den beiden Wildtyp-Isolaten als auch mit den Transformanten FAVEGFP3 und FGRDsRed1 einzeln und in Kombination beider Arten durchgeführt. Die Konkurrenz zwischen den Arten, die in ihrer Aggressivität und Mykotoxinbelastung variieren, wurde auch mikroskopisch und anhand eines visuellen Bonitur-Index auf der Basis der Symptomausprägung (Chlorosen- und Nekrosenbildung) beurteilt.

30-7 - Bürling, K.; Hunsche, M.; Noga, G.  
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

### **Pre-symptomatische Detektion von *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* an verschiedenen Weizensorten mittels UV-laserinduzierter Fluoreszenzspektroskopie**

Pre-symptomatic detection of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* in different wheat (*Triticum aestivum*) cultivars by UV laser-induced fluorescence spectroscopy

Der Erreger des Echten Mehltaus, *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, hat in allen intensiven Weizenanbaugebieten eine große wirtschaftliche Bedeutung. Das frühzeitige Erkennen mit dem Erreger befallener Pflanzen ist daher von wesentlicher Relevanz, um den ökonomischen Schaden so gering wie möglich zu halten. Darüber hinaus ist die Kultivierung gegenüber Stress resistenter Sorten, insbesondere pathogenresistenter Sorten, ein wesentlicher Bestandteil moderner Landwirtschaft. Herkömmliche Verfahren zur Evaluierung des Resistenzgrades neuer Sorten sind jedoch sehr zeit- und kostenintensiv. Methoden zur schnellen, objektiven und nicht-destruktiven Bewertung eines Pathogenbefalls sind somit von großem Interesse. Es ist bekannt, dass Pflanzen aufgrund eines Pathogenbefalls spezifische Substanzen wie Salizylsäure, Zimtsäure, Stilbene und Flavonoide als Schlüsselkomponenten der Pflanzenresistenz akkumulieren. Andererseits können phenolische Verbindungen auch als Stressantwort bei anfälligen Sorten synthetisiert werden. Solche Veränderungen der Pflanzenphysiologie können in vielen Fällen mittels Fluoreszenzverfahren detektiert und quantifiziert werden.

In unserer Arbeit wurde daher die Hypothese aufgestellt, dass eine Detektion von *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* zu einem sehr frühen, pre-visuellen Stadium möglich ist. Darüber hinaus wurde eine Unterscheidung zwischen resistenten ('Türkis' und 'Esket') und anfälligen ('Magister' und 'Magnus') Weizensorten in Bezug ihrer Reaktion auf Mehltaubefall angestrebt. Dazu sollte eine innovative Technik, die eine kombinierte Information von UV-laserinduzierten Fluoreszenzspektren und -lebenszeiten des Spektralbereiches von 370 – 800 nm ermöglicht, herangezogen werden. Die Versuche wurden unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer durchgeführt. Bei Erreichen des 2-Blattstadiums wurden einzelne Blätter gezielt und lokalisiert mit dem Erreger des Echten Mehltaus inokuliert. Die Fluoreszenzmessungen wurden ein bis drei Tage nach der Inokulation durchgeführt, bevor am darauf folgenden Tag erste weiße Myzelstrukturen auf der Blattoberfläche sichtbar wurden. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigten, dass in diesem Zeitraum eine Detektion des Pathogenbefalls anhand veränderter spektraler Signaturen (F451/F522, F522/F687 und F522/F736) als auch des Fluoreszenzabklingverhaltens (bes. zwischen 500 und 620 nm) möglich ist.

In diesem Stadium konnte eine robuste Differenzierung verschiedener Sorten jedoch nicht realisiert werden. Daher wurde darüber hinaus die Wirt-Parasit Interaktion bereits 10 – 12 Stunden nach Inokulation untersucht, um die ersten Reaktionen der Pflanze auf den Befall mit dem Pathogen zu bewerten. Bei dieser Herangehensweise lieferten unsere Ergebnisse der Fluoreszenzlebenszeiten, gemessen bei 530 und 560 nm, Hinweise für eine mögliche Genotypen-klassifizierung in Bezug auf Weizenmehltau-Resistenz. Zusammenfassend ermöglicht die UV-

laserinduzierte Fluor-eszenztechnik eine pre-visuelle Detektion von *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* und liefert Anhaltspunkte zur möglichen Unterscheidung sensibler und resistenter Wirt-Parasit Interaktionen.

30-8 - Mosbach, A.<sup>1)</sup>; Leroch, M.<sup>1)</sup>; Kretschmer, M.<sup>1)</sup>; Mernke, D.<sup>1)</sup>; Walker, A.-S.<sup>2)</sup>; Fillinger, S.<sup>2)</sup>; Hahn, M.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Universität Kaiserslautern; <sup>2)</sup> UMR 1290 BIOGER-CPP, INRA-AgroParisTech

### **Mutationen im Transkriptionsfaktor Mrr1 führen zur Überexpression des Effluxtransporters AtrB und zur multiplen Fungizidresistenz in Weinbergisolaten von *Botrytis cinerea***

Mutations in transcription factor Mrr1 leading to overexpression of efflux transporter AtrB and multiple drug resistance in *Botrytis cinerea* field strains

Multiple drug resistance (MDR) is a great medical problem for chemical treatment of cancer or microbial infections. MDR is often caused by mutations leading to the overexpression of ABC- or MFS-type membrane efflux transporters. Due to their low substrate specificity, overexpression of these transporters can result in the increased export and thereby reduced sensitivity to many different natural or synthetic drugs.

In French and German winegrowing regions, three *B. cinerea* MDR phenotypes (MDR1, 2 and 3) with low to intermediate resistance against different fungicides have been distinguished. The phenotypes were correlated with increased fungicide efflux activities and constitutive overexpression of genes encoding drug efflux transporters. In MDR1 strains, the ABC transporter gene *atrB* was found to be constitutively overexpressed compared to the *B. cinerea* wild type. Sequencing of *mrr1* revealed that all MDR1, but none of the sensitive, strains carried one of at least eight different point mutations, leading to amino acid changes in the transcription factor and its activation. Disruption of *atrB* or *mrr1* resulted in complete loss of the MDR1 phenotype, while expression of a constitutively active *mrr1* allele from an MDR1 strain conferred an MDR1-like phenotype to a sensitive strain.

Promoter-reporter gene constructs of *atrB* are currently analysed to identify the binding site of Mrr1. The drug-induced activation of Mrr1, and its interaction with the *atrB* promoter will be investigated using *in vivo* (yeast one-hybrid) and *in vitro* (electrophoretic mobility shift) assays.

## **Sektion 31 – Rechtliche Rahmenbedingungen III**

31-1 - Gimm, U.

DuPont de Nemours (Deutschland) GmbH

### **Fordert die Richtlinie 2009/128/EG eine Risiko- oder Gefahrenreduktion beim Einsatz von Pflanzenschutzmitteln?**

What is the interpretation of "to reduce risks" in the context of Art. 4 para 1 of Directive 2009/128/EC establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides?

Die Richtlinie 2009/128/EG über einen Aktionsrahmen der Gemeinschaft für die nachhaltige Verwendung von Pestiziden ist am 25.11.2009 in Kraft getreten. Die Mitgliedstaaten haben die Rechts- und Verwaltungsvorschriften, die erforderlich sind, um dieser Richtlinie nachzukommen, bis spätestens 14.12.2011 in Kraft zu setzen.

Ein Kernelement des neuen Gesetzes ist der in Art. 4 Abs. 1 enthaltene Auftrag an die Mitgliedstaaten, nationale Aktionspläne mit Zielvorgaben für beispielsweise den Schutz der Arbeitnehmer, den Umweltschutz, Rückstände, den Einsatz bestimmter Techniken oder die Verwendung für bestimmte Kulturpflanzen zu erlassen. Diese sind der Kommission und den anderen Mitgliedstaaten bis zum 14.12.2012 zu übermitteln (vgl. Art. 4 Abs. 1 UA 1 der Richtlinie). In den nationalen Aktionsplänen sollen quantitative Vorgaben, Ziele, Maßnahmen und Zeitpläne zur Verringerung der Risiken und der Auswirkungen der Verwendung von Pestiziden u. a. auf die menschliche Gesundheit und die Umwelt festgelegt werden. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass der Begriff „Pestizid“ gemäß Art. 3 Nr. 10 der Richtlinie als Oberbegriff für Pflanzenschutzmittel und Biozid-Produkte verwendet wird. Die Verringerung des Risikos durch die Anwendung von Pestiziden ist der Leitgedanke der Richtlinie, der sich nicht nur aus Art. 1 „Gegenstand“, sondern auch aus den Erwägungsgründen 3, 10, 12, 15, 18, 20 und 22 ergibt. Dabei wird ausweislich im Erwägungsgrund 18 eine eindeutige Abgrenzung vorgenommen zwischen Risiko- und Mengenreduktion mit dem eindeutigen Schwerpunkt bei der Risikoreduktion. Die Förderung