

Mittels IC-RT-PCR (immunocapture-reverse transcription-polymerase chain reaction) wurden 18 pflanzensaugende Spezies auf CLRV-Kontamination getestet. Das Virus wurde in den zwei Arten *Kleidocerys resedae* (Wanzen) und *Kybos lindbergi* (Zikaden) nachgewiesen. Dabei wurde eine CLRV-Kontamination in letzterer Spezies erstmals detektiert. Für beide Arten wurde das Ergebnis durch Sequenzierung der partiellen CLRV-3'Non coding region (NCR) bestätigt. Die CLRV-Infektion der *Betula pendula* Straßenbäume konnte ebenfalls durch IC-RT-PCR gezeigt und in zwei Bäumen durch Sequenzierung verifiziert werden.

Durch Ermittlung der Nukleotidsequenz des 362 bp langen Fragments der CLRV-3'NCR wurden die in den Insekten beziehungsweise *Betula pendula* nachgewiesenen CLRV-Varianten Verwandtschaftsgruppen zugeordnet. Es ergab sich eine relativ hohe Variabilität innerhalb der Fragmentsequenzen aus den Insekten, welche in vier phylogenetische Gruppen (A, B, D und E) clusterten. Die beispielsweise aus Baum M0291 analysierten Sequenzen wurden alle der phylogenetischen Gruppe A zugeordnet während eine CLRV-Variante von Baum M063 in die phylogenetische Gruppe E einzuordnen war. Diese Verwandtschaftsgruppe E wurde erstmals für ein CLRV-Isolat aus einer deutschen Birke ermittelt.

145 - Andrae, M.; Feilhaber, I.; Döring, V.; Jäckel, B.
Pflanzenschutzamt Berlin

Veränderung des Spektrums und der Populationsdichte von Schadorganismen im Stadtgrün von Berlin

Change of density and spectrum of pest in Berlin

In den vergangenen zehn Jahren haben sich das Spektrum und die Populationsdichte von Schadorganismen im Berliner Stadtgrün auffällig verändert. Viele Grünflächen in Berlin werden neu gestaltet. Eine breite Palette unterschiedlicher Pflanzenarten und -sorten aus verschiedenen Regionen Deutschlands und Europas werden ständig verwendet. Diese umfangreiche Pflanzenverwendung kommt als Ursache ebenso in Betracht, wie auch die stark eingeschränkten Bekämpfungsmöglichkeiten von Schaderregern im öffentlichen Grün und die zunehmende Erwärmung im Stadtgebiet. Eine Erhöhung der Jahresdurchschnittstemperatur um etwa 1,5 °C in den letzten zehn Jahren begünstigt Wärme liebende Organismen in ihrer Entwicklung.

Für ein aussagekräftiges Monitoring werden Lockstoff- und Alkoholfallen, aber auch Lichtfallen und visuelle Bonituren an ausgewählten Standorten eingesetzt. Auffällige Veränderungen im Schaderregerauftreten können somit bei der Beratung und Aufklärung der Bevölkerung frühzeitig berücksichtigt werden, um rechtzeitig Prognosen und für das Stadtgebiet angepasste Bekämpfungsstrategien zu erarbeiten.

Ausgewählte Ergebnisse des Langzeitmonitorings des Pflanzenschutzamtes Berlin werden am Beispiel einiger Organismengruppen präsentiert und diskutiert. Im Stadtgebiet sind besonders beißende Insektengruppen wie einige Schmetterlings- und Borkenkäferarten erstmalig auffällig geworden. Aber auch verschiedene saugende Insekten zeigen deutliche Abweichungen von ihrer bisherigen Dynamik. So bereiten bestimmte Vertreter der Pflanzensauger an geschützten Stadtstandorten neue Probleme. Gebietsfremde, Wärme liebende Bodenwanzen treten seit kurzem in Erscheinung, die sich zu urbanen Lästlingen im Stadtgebiet entwickeln könnten. Der Asiatische Marienkäfer als nicht heimischer Gegenspieler ist seit 2004 in Berlin zu finden und reguliert unter anderem Zierläuse an Straßenbäumen. Auch im Artenspektrum der Pilzkrankheiten an Gehölzen haben sich merkliche Veränderungen gezeigt. Pilzliche Erreger, die bisher nur als sekundär auftretende Astreinigungspilze zu finden waren, erweisen sich in den letzten Jahren zunehmend als Pflanzenpathogene.

Biologischer Pflanzenschutz

146 - Patel, A.; Jakobs, D.
Fachhochschule Bielefeld

Entwicklung innovativer Formulierungsmethoden für Agrobiologicals

Formulierungsmethoden werden in der Agrarindustrie wenig systematisch erforscht. Dabei gibt es für hochwirksame formulierte Agrobiologicals einen hohen Bedarf in Landwirtschaft und Gartenbau. Deshalb sollen wirksame Formulierungen auf der Basis von

- Kapseln,
- Sprühformulierungen und
- Saatgutcoatings

entwickelt werden. Diese Formulierungen ermöglichen eine einfache Handhabbarkeit der Agrobiologicals, einen Schutz vor extremen biotischen und abiotischen Einflüssen, eine verbesserte Haltbarkeit, eine gezielte Freisetzung in Abhängigkeit der Materialeigenschaften und Umwelteinflüssen sowie eine Erhöhung der Wirksamkeit.

Hier werden ausgewählte innovative Materialien auf Basis von Biopolymeren sowie organisch-anorganische Hybrid-materialien entworfen und eingesetzt. Damit werden innovative Formulierungsmethoden wie Mikroverkapselung, Saatgutcoating oder Sprühformulierungen entwickelt und charakterisiert. Diese Formulierungen finden Anwendung im Rahmen der Lagerung und der Anwendung von biologischen Pflanzenschutzmitteln wie z. B. bestimmten Isolaten des entomopathogenen Pilzes *Beauveria bassiana*, Pflanzenextrakten wie Knoblauchsaff und anderen Agrobiologicals.

Daten aus aktuellen Forschungsprojekten werden vorgestellt.

147 - Schütze, W.¹⁾; Daub, M.¹⁾; Grosch, R.²⁾; Hallmann, J.¹⁾; Schlathöler, M.³⁾

¹⁾ Julius Kühn-Institut; ²⁾ Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e. V.; ³⁾ P. H. Petersen Saatucht Lundsgaard GmbH

Optimierung der Biofumigation – ein Beitrag der Analytik zum biologischen Pflanzenschutz

Optimisation of biofumigation – a contribution of the chemical analysis to the biological plant protection

Unter „Biofumigation“ wird eine agronomische Technologie verstanden, die einige, die Pflanzen schützende Enzymsysteme, in diesem Fall das „Myrosinase/Glucosinolat-System“ der Brassicaceae, Capparidaceae und Moringaceae ausnützt, um bodenbürtige Schaderregern zu bekämpfen. Im Rahmen eines Screenings wurden ca. 350 Genotypen der Familie der Brassicaceen (Sorten, Stämme, Genbankmaterial) unter Einsatz der HPLC bzw. HPLC/MS auf ihren Gehalt sowie auf ihr Verteilungsmuster an Glucosinolaten im Blattmaterial, in den Wurzeln und im Samen untersucht. Für das Biofumigationsverfahren erwies sich die überwiegende Mehrzahl der untersuchten Genotypen als ungeeignet. Aussichtsreich scheint dagegen die Suche nach leistungsfähigen Formen im Genbankmaterial von *Brassica juncea*-, *Sinapis alba*-, *Bunias orientalis*- und *Raphanus sativus*-Genotypen. Interessant ist auch der extrem hohe Glucosinolatgehalt in den Wurzelknollen von *Lepidium meyenii* von über 200 µmol/g TS, überwiegend Glucotropaeolin. Hier sind jedoch die Fragen der Anbaubedingungen und der Verfügbarkeit der Glucosinolate für das Biofumigationsverfahren noch völlig offen. Untersucht wurden auch der Einfluss der Aussaatdichte (Pflanzen/m²) sowie der Einfluss von Mischungen unterschiedlicher Genotypen auf den Gesamtglucosinolatgehalt in den Pflanzen.

Die Ergebnisse werden diskutiert.

148 - Salari, E.; Ahmadi, K.; Zamani Dehyaghobi, R.

Shahid Bahonar University of Kerman, Department of Plant Protection, Iran

Study on the effects of *Datura stramonium* extracts against *Aphis fabae* Scopoli

Aphids such as *Aphis fabae* Scopoli are very important pest species of many greenhouse and field plants in the world. Recently, there has been a growing interest in research concerning the possible use of plant extracts as alternatives to synthetic insecticides.

In order to control *A. fabae*, the relative susceptibility of 3 to 4 days-old individuals of the aphid to acetonic seed extract of *Datura stramonium* (Solanaceae) was studied by bioassay laboratory condition (topical test) at 25 ± 1 °C temperature, relative humidity of 60 ± 10 % and 16 hours of artificial light at an intensity of about 4000 lux. In control treatments only distilled water and DMSO (dimethyl sulfoxide) were applied. Treated aphids were placed on the freshly excised broad bean leaf discs (4.5 cm diameter) were placed in the round plastic Petri dishes (5.5 cm diameter). The round plastic Petri dishes were filled with 0.5 cm-thick-layer of 0.7 % agar gel, and with a meshed hole in the lid to allow air exchange. The results showed that the concentration of 80 µL/L (acetonic extract/water and DMSO) caused 86 % mortality of the aphids after 24 h. It seems that the destructive effects of synthetic pesticides on the human and the environment to study more on the botanical compounds and determining their proper dose, their recommendations could be a better substitute for conventional synthetic pesticides.

149 - Zamani Dehyaghoobi, R.; Ahmadi, K.; Salari, E.
Shahid Bahonar University of Kerman, Department of Plant Protection, Iran

Insecticidal activity of two botanical extracts on *Aphis gossypii* Glover

Aphis gossypii Glover is one of the most important pests of crop and vegetable plants in Asia and Europe. However, such sufficient knowledge of insecticidal activity of botanical insecticides on aphids is still lacking in the literature. Therefore, the efficacy of acetonic leaf extracts from *Otostegia persica* (Labiatae) and *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) were evaluated using 3 to 4 days-old individuals of the *A. gossypii*.

In order to obtain the crude extracts, the dried leaves were extracted with acetone. Water and DMSO (Dimethyl sulfoxide) were used as control treatments. Topical treated aphids with two acetonic extract emulsion (in distilled water with DMSO) were placed on the broad bean leaf discs (4.5 cm diameter) in the round plastic Petri dishes (5.5 cm diameter), filled with a 0.5 cm-thick agar gel layer. The highest percentage of mortality (66 %) was observed in the acetonic leaf extract of *O. persica* in the concentration of 70 µL/l. While, the percentage of mortality (58 %) was recorded in the *Calotropis* leaf extract in 100 µL/l. It could be concluded that these plant extracts may be applicable as a safe insecticide to control *A. gossypii*.

150 - Schulze-Bopp, S.¹⁾; Fritsch, E.²⁾; Undorf-Spahn, K.²⁾; Huber, J.²⁾; Kienzle, J.³⁾; Jehle, J.²⁾

¹⁾ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz; ²⁾ Julius Kühn-Institut; ³⁾ Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e. V.

Comparison of methods for monitoring the resistance of codling moth populations to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV)

In organic as well as integrated apple production the *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) is the most successful biological control agent to control the worldwide occurring pest *Cydia pomonella* (codling moth, CM). It is an efficient tool to reduce fruit damages and CM population densities of the following generations and is therefore often applied in combination with chemical insecticides. All commercial products contain the same isolate CpGV-M. CpGV is applied in Germany for nearly 20 years, but since first local observations of CM populations resistant to CpGV-M had been reported (Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzd. 57, 29-34 (2005)) various approaches were made to elucidate the resistance mechanism (Science 317, 1916-18 (2007)) and to select new different CpGV isolates, e.g. CpGV-I12, which overcome the CpGV resistance of CM (J. Invertebr. Pathol. 98, 293-98 (2008); Appl. Environm. Microbiol. 75, 925-30 (2009)).

However, implementation of resistance monitoring including fast prediction of potentially resistant field populations is a prerequisite for an effective resistance management. In this study two different methods for monitoring CpGV resistance were evaluated:

In method A, neonate offspring (F1 generation) of diapausing larvae, collected from local field populations in late summer, were submitted to bioassays to estimate their susceptibilities to CpGV-M. In addition, coherent units of the F1 generations were maintained in a laboratory rearing on artificial diet for further investigations. Bioassay diet was mixed with virus at concentration ranging from 10³-10⁸ OB/ml diet and the plates were stored at 26 °C and 16/8 h photoperiod. Larval mortalities were determined after 7 and 14 days and the lethal concentrations (LC₅₀) were calculated from concentration mortality curves using a probit analysis. From 2003 to 2008 a systematic survey of several organic orchards in Germany indicated the existence of different resistance levels (LC₅₀ values of 10⁵-10⁸). In 2008, two populations from different orchards although treated with new resistance overcoming virus isolates, proved to be resistant to these viruses. The used method allows an accurate determination of different resistance levels of local CM populations. LC₅₀ values and their corresponding slopes of the probit regression lines reveal the heterogeneity of a population. A disadvantage of this method is the hibernation of insects (up to nine months), which is rather time consuming and labour- and cost-intensive. Furthermore the results of the tests are available only in the following year and thereby the prognosis of evidence of resistance is delayed.

Therefore, a rapid test system (method B) was developed using first to fourth instar larvae removed directly from infested apples for bioassay treatments with a single discriminating concentration (2 x 10⁵ OB/ml diet) of CpGV-M or CpGV-I12. This virus concentration caused 95-98 % mortality of CpGV-M sensitive larvae and approximately < 30 % mortality of resistant individuals in 14 days bioassays (conducted as described for method A). This method provides a very fast screening (in average 3 weeks) of resistant field populations. From 2007 to 2009 about 14000 apples from 32 different orchards in Germany, Austria, Switzerland, Italy and The Netherlands were examined for larvae and their susceptibility to CpGV-M.

During the studies seven populations were identified as resistant to CpGV-M. Further 12 populations showed 100 % mortality to the resistance overcoming CpGV-I12. The described method is appropriate to give a reliable and fast

prognosis of CpGV resistant populations in the field. However, disadvantages are that only few insects can be tested without any repetition of trials. Thus, both methods have pros and cons: for detailed analysis method A is superior, if fastness and high-throughput is needed, then method B is more efficient.

151 - Eberle, K.¹⁾; Radtke, P.¹⁾; Jehle, J.²⁾

¹⁾ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz; ²⁾ Julius Kühn-Institut

The genomic variety of CpGV isolates: comparison of four genotypes

The *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV) is an economically important agent for the biological control of codling moth (*Cydia pomonella*, CM). Recently, the emergence of CM populations highly resistant to CpGV products (Science 317, 1916-18 (2007)) as well as the identification of new CpGV isolates overcoming CpGV resistance (J. Invertebr. Pathol. 98, 293-98 (2008)) were reported. Here we describe the genome sequencing and comparative genomic analyses of CpGV isolates vulnerable to resistance (CpGV-M) and of isolates overcoming resistance (CpGV-I12, -S) as well as an isolate with reduced virulence to susceptible CM larvae (CpGV-I07).

The isolate CpGV-M1 was one of the first fully sequenced granulovirus genomes. By restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis, further CpGV isolates had been previously identified and were designated due to their geographic origin. Applying phylogenetic analysis of ten CpGV isolates based on the polyhedrin/granulin (polh/gran) and late expression factor-8 (lef-8) genes, CpGV isolates could be recently grouped into genome types A to E, replacing the previous classification. To gain insight into the genomic variety and plasticity of CpGV genomes, four CpGV genome types were completely sequenced: CpGV-I12 (type D genome), -S (type E genome), -I07 (type C genome) and compared to CpGV-M (type A genome), which was re-sequenced as reference. Genome analysis revealed differences in genome size and genetic content between the four isolates. Several insertions and deletions ranging from few nucleotides to 2.5 kbp were found, concerning non-coding as well as putative coding regions. Regarding the site of these indel mutations, it is striking that the genome regions between 18-22 kbp and 50-60 kbp reveal a multiplicity of insertions, deletions and duplication events when comparing the four genomes, suggesting that these events are associated with the homologous repeat (hr) regions. Analysis of these genomic rearrangements, open reading frame (ORF) content and codon usage give insight into the evolutionary forces driving the micro-evolution of baculovirus genomes. As type D and type E genome overcome the previously described resistance of codling moth to CpGV, the comparisons of the four genomes revealed first evidence for the molecular factors involved in the virulence of CpGV to susceptible and resistant codling moth.

152 - Wennmann, J.T.¹⁾; El-Menofy, W.²⁾; Essam, W.²⁾; Abdallah, N.²⁾; Jehle, J.¹⁾

¹⁾ Julius Kühn-Institut; ²⁾ Cairo University, Giza, Egypt

Development of a PCR based method for identification, discrimination and quantification of baculoviruses specific for cutworms, *Agrotis* sp.

Cutworms of the species *Agrotis segetum* and *A. ipsilon* (Lepidoptera, Noctuidae) are serious pest insects in Africa, Europe and Asia, as they feed on many field crops and vegetables.

In the past, four baculoviruses were isolated from *A. segetum* and *A. ipsilon* larvae and characterized on molecular level: Two nucleopolyhedroviruses (NPVs) were isolated from *A. segetum* larvae in Poland (AgseNPV-A) (J. Invertebr. Pathol. 90, 64-8 (2005)) and United Kingdom (AgseNPV-B) (Arch. Virol. 75, 43-54 (1983)), one AgipNPV (J. Invertebr. Pathol. 74, 289-294 (1999)) was found in *A. ipsilon* larvae and a granulovirus (AgseGV) was also isolated from *A. segetum*. Bioassays showed that both cutworm species are susceptible to all AgseNPV-A, -B, AgipNPV and AgseGV. To develop an environmentally safe biocontrol agent the narrow host range of baculoviruses is one of their advantages. For resistance management, however, the usage of a combination of different baculoviruses is regarded to be useful. Both requirements make AgseNPV-A, -B, AgseGV and AgipNPV excellent candidates as agents for the biological control of cutworms. In order to discriminate the different *Agrotis*-specific baculoviruses a reliable method for identification and quantification is essential.

In this work, we focused on the optimization of AgseNPV and AgseGV purification protocols and show that the yield of NPVs and GVs in mixed infections depends on the established purification method. Furthermore, multiplex polymerase chain reaction (PCR) and quantitative real time PCR (qRT-PCR) based methods were established allowing the specific amplification of discriminating fragments of their polyhedrin (polh) and granulin (gran) genes (fragment lengths: AgseNPV-A 199 bp, AgseNPV-B 263 bp, AgseGV 347 bp and AgipNPV 527 bp). Thus, a rapid and robust method to detect the amounts of AgseNPV-A, -B, AgseGV and AgipNPV in mixed infections becomes possible. It also provides an important tool in the quality control of production of baculoviruses specific for *Agrotis* species.

153 - Kleespies, R.G.; Leclerque, A.
Julius Kühn-Institut

Erstmaliger Fund einer natürlichen Infektion von *Agriotes* sp. mit *Rickettsiella*-Bakterien First discovery of a natural infection of *Agriotes* sp. with *Rickettsiella*-bacteria

Im Rahmen diagnostischer Untersuchungen an kranken und toten Drahtwürmern, *Agriotes* spp., wurde erstmals eine Infektion mit intrazellulären Bakterien der Gattung *Rickettsiella* licht- und elektronenmikroskopisch nachgewiesen. Die Probe stammte aus einem Feld in Offenbach am Main, die bei Grabungen zur Ermittlung von Drahtwurmbefall entnommen wurde.

Die phylogenetische Analyse der Proben auf der Basis einer 1357bp umfassenden Teilsequenz der für die kleine Untereinheit der ribosomalen RNA (16S rRNA) kodierenden genomischen DNA ordnete das Bakterium der Gattung *Rickettsiella*, Ordnung Legionellales (Gammaproteobakterien) zu. Die taxonomische Binnenstruktur dieser Gattung, die gegenwärtig neben drei anerkannten Arten zahlreiche Pathotypen umfasst, ist insbesondere hinsichtlich der Artabgrenzungen problematisch. Die ausgeprägte Homologie (Sequenzidentität von über 99 %) der untersuchten 16S rRNA zu orthologen Sequenzen aus den Pathotypen *Rickettsiella melolonthae* und *Rickettsiella tipulae*, welche gegenwärtig als Synonyme der Art *Rickettsiella popilliae* aufgefasst werden, legt eine Zuordnung zu letzterer nahe. Die vorläufigen Ergebnisse zusätzlicher phylogenetischer Analysen unter Verwendung alternativer proteinkodierender Marker sind mit den vorstehenden Ergebnissen konsistent.

154 - Von Bargen, S.¹); Henniger, T.¹); Ulrichs, C.¹); Taye, T.²); Büttner, C.¹)

¹) Humboldt-Universität zu Berlin; ²) Plant Protection Research Center, Ambo, Ethiopia

Identifizierung potentieller Vektorinsekten einer Phytoplasmose an *Parthenium hysterophorus* in Äthiopien

Putative vectors transmitting phytoplasmas associated with *Parthenium phyllody*

Eine durch Phytoplasmen hervorgerufene Erkrankung an *Parthenium* (*Parthenium hysterophorus* L.), die zur Blütensterilität führt, wurde von Taye et al. (2004) als geeignete biologische Bekämpfungsmaßnahme dieses invasiven Wildkrautes in Äthiopien diskutiert.

Die Identifizierung möglicher Vektorinsekten, die diese Phytoplasmose auf Kulturpflanzen übertragen könnten, ist eine Voraussetzung, das Risikopotential für eine Übertragung der Erreger auf wichtige Nutzpflanzen der Region abzuschätzen. Ziel der Untersuchungen waren der Nachweis von Phytoplasmen in pflanzensaugenden Insekten der Gruppe *Hemiptera* sowie die Klassifizierung potentieller Vektorinsekten mittels morphologischer und molekularer Methoden.

Die von erkrankten *Parthenium*-Pflanzen in verschiedenen Regionen (Ambo, Kambolcha und Nazreth) Äthiopiens entnommenen Pflanzensauger gehörten zu den Zwergzikaden (Cicadellidae) der Gattungen *Orosius* sp., *Austroagallia sinuata* (MULSANT und REY) bzw. *Balclutha* sp. Zudem wurden Adulte und Larvenstadien der Art *Hilda minerva* (LINNAVUORI) innerhalb der Familie der Tettigometridae anhand morphologischer Parameter identifiziert und molekular bestätigt. In allen Entwicklungsstadien dieser Art konnten Phytoplasmen nachgewiesen und anhand hoher Sequenzidentität des 16S rDNA-Gens zur selben Phytoplasmen-Gruppe „16Sr-II“ (Peanut witches broom) zugeordnet werden wie die in erkrankten *Parthenium*-Pflanzen nachgewiesenen Phytoplasmen.

Daraus resultierend wurden erstmalig Vertreter der Tettigometridae als potentielle Vektoren für Phytoplasmen beschrieben. Zudem wurde *Orosius cellulosus* eine Zikadenart, die in Äthiopien sowohl an *Parthenium* als auch an Kulturpflanzen gefunden wurde, als potentieller Vektor klassifiziert. Die Akquisition der Phytoplasmose durch diese Art in Übertragungsversuchen konnte gezeigt werden. Der Erreger-Nachweis in Köder-*Parthenium*-Pflanzen gelang 40 Tage nach Inokulation konnte jedoch zu einem späteren Zeitpunkt nicht reproduziert werden. Zudem entwickelten die *Parthenium*-Pflanzen keine charakteristischen Symptome der Phytoplasmose.

Literatur

Taye, T., Obermeier, C., Einhorn, G., Seemüller, E., Büttner, C., (2004): Phyllody disease of *Parthenium* weed in Ethiopia. Pest Mgt. J. Eth. 8, 39-50.

155 - Plate, J.-K.; Scholz, A.; Goßmann, M.; Junge, H.; Bandte, M.; Büttner, C.
Humboldt-Universität zu Berlin

Untersuchungen mit *Enterobacter radicincitans* zur biologischen Kontrolle und potentieller Wachstums- und Qualitätssteigerung an Spargel

The investigation of *Enterobacter radicincitans* as a biocontrol agent and for potential increase of growth and quality on asparagus

Die in der Phyllo- und Rhizosphäre von Pflanzen vorkommenden „plant-growth-promoting rhizobacteria“ (PGPR), darunter *Enterobacter radicincitans* und *Bacillus amyloliquefaciens*, sind in der Lage, die Nährstoffversorgung von Pflanzen zu verbessern und den Befall mit Pathogenen zu reduzieren [1, 2].

In Labor- und Feldversuchen soll nun die Eignung von *E. radicincitans* zur biologischen Kontrolle von Wurzel- und Kronenfäule verursachenden *Fusarium*-Arten an der Kultur Spargel überprüft werden. Hierzu wurde im Frühjahr 2009 unter Berücksichtigung der Vorfrucht ein Freilandversuch angelegt. Er umfasst eine Spargel-Nachbau- und eine Raps-Vorfruchtfläche. Die Behandlungsvarianten der Spargelpflanzen mit Suspensionen von *E. radicincitans* und *B. amyloliquefaciens* beinhalten eine Wurzeltauchung, eine Gießapplikation bzw. die Kombination beider Behandlungen.

Im Herbst 2009 erfolgte eine erste Erfassung der ausgetriebenen bzw. abgestorbenen Triebe und der Trockenmasse des Spargelkrautes. Für die Prüfung der Wechselwirkung von *E. radicincitans* und *Fusarium* spp. *ad planta* wurden in einem Gewächshausversuch die Spargelpflanzen durch eine Saatgutbeizung bzw. eine Gießapplikation bakterisiert und mittels Gießen mit Sporensuspensionen von *F. oxysporum* bzw. *F. proliferatum* inokuliert. In einem Dualkulturentest wurde der Einfluss von *E. radicincitans* auf das Myzelwachstum von *F. oxysporum* und *F. proliferatum* untersucht.

Am Ende der ersten Vegetationsperiode ergaben sich sowohl zwischen den verschiedenen Behandlungen und den Applikationsarten als auch zur unbehandelten Kontrollvariante keine Unterschiede bezüglich der Anzahl der Triebe und des Trockengewichtes des Spargelkrautes. Allerdings zeigten beide Parameter signifikant niedrigere Werte auf der Spargel-Nachbaufläche als auf der Raps-Vorfruchtfläche. Dies ist vermutlich auf die zunehmende Belastung der Spargel-Nachbaufläche mit *Fusarium* spp. zurückzuführen.

Bei den Dualkulturentests zeigten sich keine Hemmungen des radialen Wachstums von *Fusarium* spp. durch das Bakterium *E. radicincitans*. Die Überprüfung der Ergebnisse aus den Infektionsversuchen, einschließlich des Einflusses der Bakterisierung, wird im Herbst 2010 vorliegen.

Dieses Projekt wird finanziell gefördert durch das BM für Wirtschaft und Technologie (Förderkennzeichen: KF2167801MD9) und erfolgt in Kooperation mit dem Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e. V. und dem Unternehmen ABiTEP GmbH.

Literatur

- [1] Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., Barka, E. A. (2005): Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 9, 4951-4959.
- [2] Ruppel, S. (1999): Bedeutung der Rhizospären- und endophytischen Bakterien für die Pflanzenernährung. *Arch. Acker- Pfl. Boden*, 2000, 45, 329-341.

156 - Sultan, M.
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Einfluss von *Bacillus amyloliquefaciens* auf die Expression von PR1a-mRNA in Tomatenblättern nach Infektion mit *Phytophthora infestans*

Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* on differential expression of PR1a-mRNA in tomato leaf tissue infected with *Phytophthora infestans*

Bacillus amyloliquefaciens, re-isolated from the biocontrol agent FZB 24[®] (Biotechnik GmbH, Germany) has shown promising results in biological control of late blight caused by *Phytophthora infestans*.

To gain a better understanding of the mode of action of the bacteria and their metabolites the effects on differential expression of PR1a- mRNA in tomato leaf tissue infected with *P. infestans*. PR1-a is a salicylic acid responsive gene which is described to be involved in induced resistance (SAR) in different plants. *Bacillus amyloliquefaciens*

cells and metabolites harvested 72 hours of culturing were applied on the first bottom leaf pairs of 5-week old tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. 'Money Maker'. 24 hours after bacterial application, 10^5 sporangia/ml of pathogen isolate of *P. infestans* (Mont.) de Bary were sprayed on the first and second full expanded leaf pairs. The whole plants were kept until visible symptoms developed and significant protection was evaluated.

The sampling points were in corresponding with the pathogen development and the samples were divided into two groups healthy and diseased plants, each one is consisted of three subgroups water-treated (untreated), cell-treated, and metabolite-treated plants. Leaf samples were immediately frozen in liquid nitrogen after collection and then stored at -80 °C. Total RNA isolation was performed using the NucleoSpin RNA isolation Kit (Machery-Nagel, Germany) and further DNase treatment were performed to remove DNA contamination using amplification grade kit (Invitrogen). An ABI Prism 7000 SDS was used for real time PCR. iTaq™ SYBR® Green Supermix (Applied biosystem), forward and reverse primers (LEPR1A-fw5' TCT-TGT-GAG-GCC-CAA-AAT-TC 3' and LEPR1A-rv 5' ATA-GTC-TGG-CCT-CTC-GGA-CA 3'; and TIP41-fw 5' ATG-GAG-TTT-TTG-AGT-CTT-CTG-C 3' and TIP41-rv 5' GCT-GCG-TTT-CTG-GCT-TAG-G 3') were used in the assay. The expression levels of transcripts were described relatively to the transcript of TIP41 gene. The expression profile of the PR1a gene showed an increase over the course time of infection. Interestingly, the expression level was higher in the treated leaves than in non-treated ones showing elevation in plant activation over the pathogen existence more strongly in the treated leaves. Two hours post-inoculation (hpi) – the time of appressorium formation and initial penetration – an up-regulation in the gene expression level in diseased non-treated bottom leaves followed by down-regulation 6 hpi in all treatments with exception of metabolite-treated samples was observed. Highest level of expression has been found 48 hpi, the time of transition phase between biotrophy and necrotrophy, in inoculated non-treated leaves compare to all other treatments.

The second approach was then focused on the activation time of gene of interest in upper induced leaves of plants that their bottom treated leaves were detached after different times of bacterial suspensions application. No alterations in the gene expression levels were observed before 12 hpi. The change was significant 12 hpi either in case of detaching the treated leaves 24 or 36 hours post-application. That means sustainable the altered leaves could lead to increase the defense responses in the plant. The expression of PR1a-mRNA was enhanced in all treated plants providing evidence for an activation of plant defense responses.

The metabolites produced by *B. amyloliquefaciens* can stimulate a systemic defense response in tomato leading to protection against *P. infestans*. Microarray analysis of gene expression profile induced by the *B. amyloliquefaciens* cells and metabolites in tomato leaf tissue is carried on for more details.

157 - Preiss, U.; Mather-Kaub, H.; Albert, G.
Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinhessen-Nahe-Hunsrück

Verringerung des Schadpotentials von *Plasmodiophora brassicae* Wor. durch den Einsatz von Mikroorganismen und Champost

Reducing the harmful potential of *Plasmodiophora brassicae* Wor. through the use of microorganisms and Champost

Für die direkte Bekämpfung von Kohlhernie (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) sind derzeit keine Pflanzenschutzmittel verfügbar. Bei anfälligen landwirtschaftlichen Kulturen wie Raps- oder Senfarten gibt es kaum kohlhernieresistente Sorten.

Das Ministerium für Wirtschaft Verkehr Landwirtschaft und Weinbau des Landes Rheinland-Pfalz förderte daher eine Studie zur Identifikation möglicher Bekämpfungsstrategien und Gegenmaßnahmen. Besonderes Interesse liegt dabei bei der Zielkultur Raps, da es hier lediglich eine teilresistente Rapssorte am Markt gibt. Demgegenüber wurde die Intensität und der Umfang des Rapsanbaus in Rheinland-Pfalz in den vergangenen zehn Jahren um 55 % gesteigert, so dass das Gefahrenpotential durch den Fruchtfolgeschadorganismus enorm ansteigt.

In witterungsbegünstigten Jahren wie 2005 und 2009 kam es wegen Starkinfektionen mehrfach zu Totalausfällen von Rapsschlägen. Dringend sollten Bekämpfungsmöglichkeiten für den sehr lang überdauerungsfähigen Organismus gefunden werden.

In Gewächshausversuchen wurde das Potential verschiedener antagonistisch wirkender Mikroorganismen getestet. Das Screening umfasste verschiedenste pilzliche und bakterielle Organismen von bekannten *Seratia*- oder *Trichoderma*-Arten bis hin zu neu isolierten potentiellen bakteriellen Organismen. Die Beizung von Saatgut führte dabei zu keinem erfolgreichen Ergebnis, da mit dieser Methode der Eintrag von Antagonisten zu gering ausfällt. Durch direktes Einmischen oder Gießen der Antagonisten in das Substrat konnten bessere Ergebnisse erzielt werden. Neben dieser Methode zeigen erste Ergebnisse, dass mit der Trägersubstanz „Champost“, einem

Restsubstrat aus der Champignon-Produktion, die in Kultursubstrate eingebrachten Organismen die Infektion mit *P. brassicae* erfolgreich verhindern konnten. Der verwendete Champost besitzt bereits als Singlesubstanz das Potential zur Minderung der *P. brassicae*-Infektionen und konnte in hohen Konzentrationen eine Infektionsminderung um bis zu 40 % bewirken. Dieses Ergebnis konnte in den vorliegenden Untersuchungen lediglich durch chemische Vergleichspräparate erzielt werden.

158 - Sylla, J.¹⁾; Krüger, E.¹⁾; Alsanus, B.W.²⁾; Becker, D.¹⁾; Wohanka, W.¹⁾

¹⁾ Forschungsanstalt Geisenheim; ²⁾ Schwedische Universität für Agrarwissenschaften (SLU)

Einsatz und Kompatibilität Mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Graufäule und Echem Mehltau an Erdbeeren unter Freilandbedingungen

In zahlreichen Untersuchungen konnte unter kontrollierten Bedingungen eine effiziente Wirksamkeit von mikrobiologischen Präparaten (BCAs) gegenüber Graufäule (*Botrytis cinerea*) und Echem Mehltau (*Podosphaera aphanis*) an Erdbeeren nachgewiesen werden. Im Freiland ist die Regulierung von *B. cinerea* und *P. aphanis* durch BCAs nicht zuverlässig: Abiotische Faktoren beeinträchtigen die Etablierung, Aktivität und das Überleben der ausgebrachten mikrobiellen Antagonisten auf den Pflanzen. Daneben fehlen umfassende Kenntnisse über die Kompatibilität von BCAs mit anderen BCAs, Pflanzenstärkungsmitteln und biologischen Pflanzenschutzmitteln.

Der Einfluss der BCA-Kompatibilität auf den Behandlungserfolg von mikrobiologischen Präparaten wurde an der Forschungsanstalt Geisenheim im Freiland untersucht: Ausgewählte BCAs und BCA-Kombinationen wurden gegen *B. cinerea* und *P. aphanis* an Erdbeeren eingesetzt. Ziel war es, positive sowie negative Effekte von kompatiblen bzw. inkompatiblen BCA-Kombinationen hinsichtlich der Kontrolle von *B. cinerea* und *P. aphanis* im Feld und während der Lagerung zu demonstrieren. Daneben wurden Effekte der BCA-Behandlungen auf Nichtzielorganismen erfasst. Die Ergebnisse sollen dazu beitragen, Behandlungsstrategien für einen erfolgreichen Einsatz von mikrobiologischen Präparaten gegen Pflanzenkrankheiten im ökologischen Erdbeeranbau zu entwickeln.

159 - Dealtry, S.¹⁾; Grosch, R.²⁾; Berg, G.³⁾; Cardinale, M.³⁾; Mendonca-Hagler, L.⁴⁾; Smalla, K.¹⁾

¹⁾ Julius Kühn-Institut; ²⁾ Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e.V.; ³⁾ Technische Universität Graz, Österreich; ⁴⁾ Universidad Federal Rio de Janeiro, Brasilien

Biokontrolle von *Rhizoctonia solani*: Nutzung molekularer Methoden zur Charakterisierung von komplexen Wechselwirkungen von Biokontrollstämmen, Pathogenen und der mikrobiellen Gemeinschaft in der Rhizosphäre von Salat

Biocontrol of *Rhizoctonia solani*: complex interaction of biocontrol strains, pathogen and indigenous microbial community in the rhizosphere of lettuce unravelled by molecular methods

Rhizoctonia solani is one of the most important soil-borne pathogens causing several economically important diseases on a wide range of plant species throughout the world (Gonzalez-García et al., 2006). The control of this soil-borne pathogen is difficult because of its wide host range and its ability to survive as sclerotia under adverse environmental conditions. In the past *R. solani* was mainly controlled with methyl bromide (MeBr). The complete ban of MeBr, the lack of other efficient chemical fungicides and the increasing demand of consumers for food less contaminated with pesticides stimulated research on alternative control strategies, e.g. by biological control. Recently, bacteria and fungi with *in vitro* antagonistic activity were isolated and characterized from cultivable bacterial and fungal fractions from bulk or rhizosphere soils (Berg et al., 2005, 2006).

In the present study we aimed to explore whether biocontrol efficacy could be improved by combining antagonists that supposedly colonize different niches in the rhizosphere and target *R. solani* via different mechanisms. *Trichoderma viride* strain GB7 (Grosch et al., 2007) and *Serratia plymuthica* strain 3Re4-18 (Berg et al., 2005) were selected for growth chamber experiments. Different monitoring strategies were used to study the colonization of the inoculants and to compare the effects of the inoculation of single and of the combined antagonists in the presence of *R. solani* AG1-IB on the composition of bacterial and fungal communities in the rhizosphere of lettuce.

In addition, biocontrol efficiency and plant growth promotion were measured. At two time points during plant development lettuce plants were destructively sampled and total community DNA extracted from the microbial pellets obtained from composite samples of roots with adhering soil were analyzed by molecular fingerprinting methods. The study showed that the applied cultivation-independent methods provided insights into the response of indigenous microbial communities to the pathogen presence and to biocontrol strain inoculation. The 16S rRNA gene and ITS fragments were amplified from total community DNA and analyzed by denaturing gradient gel

electrophoresis (DGGE). The combined inoculation of 3Re4-18 and GB7 in the presence or absence of *R. solani* had a pronounced effect on the bacterial and fungal community composition compared to the application of single inoculants (Dealtry et al., in preparation).

The profiles of all treatments with 3Re4-18-GB7 showed less dominant bands (increased evenness). An increased abundance of a band with the electrophoretic mobility of GB7 in all treatments with GB7 indicated that the inoculant strain successfully established in the rhizosphere. Interestingly, the presence of the pathogen had stimulated significantly the density of bacterial antagonists, whereas the fungal antagonists did not affect the cell density of 3Re4-18. This observation suggests a strong interaction between the pathogen and the bacterial inoculant. Both inoculants had plant growth promoting effects on lettuce neither in single nor in combined application and independently of the inoculants' application strategy. The biocontrol effect was strongly dependent from the inoculation strategy. Both inoculants were able to efficiently suppress *R. solani* in experiment II. The best biocontrol effect was observed in the combined treatment of 3Re4-18 and GB7.

Literature

- Berg, G., Krechel, A., Ditz, M., Faupel, A., Ulrich, A., Hallmann, J. (2005): Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbiol Ecol* 51: 215-229.
- Berg, G., Opelt, K., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R., Smalla, K. (2006): The rhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site. *FEMS Microbiol Ecol* 56: 250-261.
- González-García, V., Portal Onco, M. A. Rubio, S. V. (2006): Review. Biology and Systematics of the form genus *Rhizoctonia*. *Span J Agric Res* 4: 55-79.
- Grosch, R., Rehn, V. N. C., Rehn, K. G., Mendonça-Hagler, L., Smalla, K., Lottmann, J., Berg, G. (2007): Analysis of antagonistic interactions between *Trichoderma* isolates from Brazilian weeds and the soil-borne pathogen *Rhizoctonia solani*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 114: 167-175.
- Martin, F. N. (2003): Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with methyl bromide. *Ann Rev Phytopathol* 41: 325-350.

160 - Knopp, J.; Grunewaldt-Stöcker, G.; Von Alten, H.
Leibniz Universität Hannover

Prüfung antagonistischer Fähigkeiten von Ericoiden Mykorrhizapilzen (ERMP) gegenüber Wurzelpathogenen *in planta* unter Gewächshausbedingungen

Testing the antagonistic potential of ericoid mycorrhizal fungi (ERMF) against root pathogens *in planta* in the greenhouse

Wurzelpathogene, u. a. Oomyceten, stellen ein ernst zu nehmendes Problem in der Pflanzenproduktion bei *Ericaceen* dar. An *Calluna vulgaris* und *Rhododendron* spp. treten insbesondere die Oomyceten *Phytophthora cinnamomi* sowie *Pythium* spp. auf. Ein antagonistisches Potential von selektierten ericoiden Mykorrhizapilzen (ERMP) gegenüber *Phytophthora cinnamomi* und *Pythium* spp. wurde im System Pflanze-Symbiont-Pathogen bereits unter *in vitro* Bedingungen festgestellt.

Im Rahmen der hier vorgestellten Untersuchung sollte die Schutzwirkung von ERMP-Isolaten an *Rhododendron*- und *Calluna*-Pflanzen in gärtnerischem Substrat unter Gewächshausbedingungen überprüft werden. Bewurzelte, mykorrhizafreie Jungpflanzen von *Calluna vulgaris* 'Juliane' und der *Rhododendron* Hybride 'Cunningham's White' wurden in ein Torf-Sandsubstrat pikiert, das mit ERMP-Isolaten beimpft war. Verwendet wurden vier ERMP-Isolate, darunter zwei *Oidiodendron maius* Stämme sowie zwei ERMP-Isolate aus kommerziellem *Rhododendron*substrat. Nach acht Wochen erfolgte die Inokulation mit *Phytophthora cinnamomi* bzw. *Pythium* spp. Schließlich wurde die Symbioseentwicklung sowie der Pathogenbefall in den Wurzeln anhand einer mikroskopischen Bonitur quantifiziert.

Der *in planta* Versuch bestätigte die vorangegangenen Dualplattentests und die *in vitro* Versuche mit Pflanzen: Die ERMP führten zu einer Reduktion des Pathogenbefalls, in Abhängigkeit von der Kombination von Wirtspflanze, ERMP-Isolat und Pathogen zeigte sich eine signifikant geringere Befallsstärke, bei manchen Kombinationen blieb die Schutzwirkung jedoch ungenügend. Eine Anwendung von ERMP mit antagonistischem Potential in der Praxis setzt eine verlässliche, stabile Symbioseausbildung auf hohem Intensitäts-Niveau voraus. Trotz methodischer Optimierungsversuche während der hier vorgestellten Untersuchungen variierte die Besiedlung der Wurzeln mit ERMP in Abhängigkeit vom Mykorrhizaisolat und der Wirtspflanzenart relativ stark. In diesem Bereich werden noch signifikante Probleme für eine einfache Produktion von ERMP-Impfmateriale und deren Anwendung im Biologischen Pflanzenschutz gesehen.

161 - Barreto-da-Silva, M.¹⁾; Paula-Junior, T.²⁾; Hudson, T.

¹⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Sao Matens, Brasilien; ²⁾ Empresa de Pequisá Agropecuaria de Minas Gerais (EPAMIG), Brasilien

In vitro* interaction among *Trichoderma* species isolated from commercial products and *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli

The bean *Fusarium* dry rot is caused by the fungus *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* is one the most important bean disease, specialty in irrigated areas. One time in the field, the *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* leading frequently to an expressive loss, if disease is not adequately controlled. The economic and sustainable control of this disease is a challenge for beans producers.

Chemical control is usually ineffective and cause undesirable impacts to the environment in this case. An alternative to manage this disease is the use of products that has *Trichoderma* spp. as control agents. The purpose with this study was to compare the interaction of different *Trichoderma* isolates, obtained from five commercial products and one isolate of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. To do this study it was used the matching of cultures method [1].

Isolates of *Trichoderma* spp., were obtained from commercial products available on the market: TRICHODERMAX PLUS, TRICHODERMAX CE, TRICHODERMA JCO, TRICHOMERMIL SC, TRICHODERMIL T-110 and QUALITY WG. Fractions of the products were dispersed in Petri plates containing PDA and left at room temperature for 24 hours. After this period, fragments of medium containing mycelium of *Trichoderma* spp. were transferred to new PDA plates and placed to grow at room temperature. After 48 hours, it was chosen the mycelium colony that showed uniform morphological features of *Trichoderma* spp.. The plates were then stored at 10 °C until starting the tests. Mycelium discs of 0.8 cm in diameter containing *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* with 192 hours of culture were placed at the edges of Petri plate with PDA. After 240 hours, discs of mycelium obtained from cultures of *Trichoderma* spp with 48 hours were transferred to the opposite side of the Petri plate containing the colonies of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. The radial growth of mycelium of both fungi was measured. From the mycelium meeting of the two colonies was quantified the overlap of the fungal colony antagonist on the pathogen. Of the five isolates of *Trichoderma* spp. tested in this study, only three (TRICHODERMA JCO, TRICHODERMIL T-110 and QUALITY WG) showed good ability to control colonies of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. These products have potential to be used in field.

Tab. Percentage of overlap of the mycelium of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* by the mycelium of *Trichoderma* spp. (São Mateus, Brazil, 2008)

Origin of <i>Trichoderma</i> isolate	Percentage of overlap (%)
TRICHODERMAX PLUS	30,66 A B
TRICHODERMAX CE	23,91 A B C
TRICHODERMA JCO	82,52 A
TRICHOMERMIL SC	00,00 A B C
TRICHODERMIL -110	99,42 A
QUALITY WG	98,82 A

Literature

[1] Mariano, R. L. R. (1993): Métodos de seleção in vitro para o controle microbiológico de patógenos de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas, v1, p. 369-409.

162 - Schildberger, B., Arnold, M., Wurm, L.

Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau Klosterneuburg, Österreich

Beobachtungen des Entwicklungszyklus des Birnengitterrostes (*Gymnosporangium sabinae*) zur Ermittlung des optimalen Bekämpfungszeitpunktes im Freiland

Der Birnengitterrost (*Gymnosporangium sabinae*) ist in den letzten Jahren in Österreich zu einem sehr wichtigen Schaderreger geworden, da Birnenanlagen, Siedlungen und Hausgärten immer enger zusammen liegen. Dadurch wird es dem Erreger erleichtert, seinen Wirtwechsel vom Nebenwirt der Birne zum Hauptwirt dem Wacholder (*Juniperus* sp.) und umgekehrt durchzuführen. Der Pilz verringert den Ertrag der befallenen Bäume und kann diese sogar so stark schwächen, dass der Baum abstirbt. In österreichischen Regionen wie dem Mostviertel und der Steiermark sind alte Streuobstbäume sehr gefährdet, da die Applikation von Pflanzenschutzmitteln bei Hochstämmen sehr schwierig ist.

Es sind einige Pflanzenschutzmittel zu nennen, die gegen den Birnengitterrost (*Gymnosporangium sabinae*) eine Registrierung haben und deren Wirkung durchaus zufriedenstellend ist, wodurch der Erreger in der integrierten Birnenproduktion selten ein Problem darstellt. Jedoch sollte diese Art der Bekämpfung nicht angestrebt werden.

Eine umweltverträglichere Lösung wäre das Entfernen der Hauptwirtspflanze, dem Wacholder (*Juniperus* sp.). Der Erreger des Birnengitterrostes (*Gymnosporangium sabinae*) gehört zu den wirtswechselnden Basidiomyceten der Familie der Pucciniaceae. So könnte durch das Fehlen des Hauptwirtes der Kreislauf des Pilzes unterbrochen werden. Dies ist auch im biologischen Birnenanbau die einzige wirklich sinnvolle Lösung, hier stehen nur wenige Pflanzenstärkungsmittel und das anorganische Fungizid Kupfer zur Verfügung, welche eine schlechte bzw. geringe Wirkung gegen Birnengitterrost (*Gymnosporangium sabinae*) aufweisen. Die Verwendung resistenter oder wenig anfälliger Birnensorten ist im Erwerbsobstbau schwierig, da erstens keine Sorten mit diesen Eigenschaften vorhanden sind und zweitens der Handel bestimmte Sorten verlangt.

In dieser Arbeit wurde die Biologie des Birnengitterrost (*Gymnosporangium sabinae*) genau mitverfolgt und untersucht; zusätzlich wurden diese Ergebnisse mit den Wetterdaten abgestimmt. Es konnte festgestellt werden, dass die Beobachtungen mit den Literaturstellen übereinstimmen und diese dadurch bestätigt werden können. Die einzigen Unstimmigkeiten gibt es darüber, wie weit die Basidiosporen vom Wacholder (*Juniperus* sp.) auf die Birne übertragen werden können. Die Literaturangaben schwanken dabei von 50 Metern bis zu einem Kilometer.

Im Mostbirnensorten Quartier befand sich die biologische mit Kupfer (Kupferoxychlorid) behandelte Variante, und in diesem Quartier konnte an einigen der 23 Mostbirnensorten Befall von Birnengitterrost (*Gymnosporangium sabinae*) festgestellt werden.

Die statistische Auswertung der Bonitur hat ergeben, dass sich nur die 'Luxemburger Mostbirne' signifikant von den übrigen Sorten unterscheidet und signifikant anfälliger ist. Weiterhin wurde bei der Auswertung festgestellt, dass die Unterlagen Quitte A und Pyrodwarf keinen Einfluss auf den Befall mit Birnengitterrost (*Gymnosporangium sabinae*) haben.

163 - Kühnel, A.; Neubauer, C.; Jordan, B.; Heitmann, B.
Fachhochschule Osnabrück

Wirkung verschiedener entomopathogener Nematoden gegenüber *Otiiorhynchus sulcatus* in Abhängigkeit von der Temperatur

Efficacy of entomopathogenic nematodes against *Otiiorhynchus sulcatus* depending on temperature

Der gefurchte Dickmaulrüssler *Otiiorhynchus sulcatus* gilt als wichtiger Schädling in der Baumschulproduktion. Die Anwendung entomopathogener Nematoden der Gattung *Heterorhabditis* zur Bekämpfung der Larven gilt als Standard-maßnahme in der Praxis.

Im Freiland ist eine Applikation der Nematoden vielfach im Herbst oder Frühjahr notwendig. Da während dieser Zeiträume eine für die Wirkung erforderliche Bodentemperatur von 12 °C nicht immer erreicht wird, ist die Anwendung des biologischen Verfahrens im Freiland nur bedingt möglich. Deshalb entwickelten die Hersteller in den letzten Jahren Präparate, die kältetolerante Nematoden-Stämme der Gattung *Steinernema* enthalten und schon ab 6 bis 8 °C wirken sollen. Es gibt kaum Versuchsdaten, die dies belegen. Vor diesem Hintergrund wurde die Wirkung kommerziell verfügbarer Stämme der Gattungen *Heterorhabditis* und *Steinernema* in zweiwöchigen Klimakammer-versuchen in Abhängigkeit verschiedener Temperaturen (8, 12 und 16 °C) an getopften *Taxus baccata* mit einer Aufwandmenge von jeweils 50 Nematoden/cm² geprüft.

Heterorhabditis bacteriophora (NEMA TOP) zeigten bei 8 und 12 °C erwartungsgemäß keine ausreichende Wirkung. Bei einer Temperatur von 16 °C konnten 14 Tage nach Anwendung Wirkungsgrade von bis zu 75 % ermittelt werden. Von den beiden geprüften *Steinernema*-Stämmen erwies sich lediglich *S. kraussei* (NEMASYS L) ansatzweise als kältetolerant. Bereits bei 8 °C sowie 12 °C konnten signifikante Wirkungen ermittelt werden, die mit voranschreitender Versuchsdauer zunahmen. Wurden die an den Auswertungsterminen gefundenen lebenden Larven anschließend nochmals sieben Tage lang bei 20 °C inkubiert, war schließlich ein Teil abgestorben. Dies weist daraufhin, dass die Larven bereits vorher von den Nematoden befallen waren, die abtötende Wirkung aber aufgrund der temperaturabhängigen Aktivität des bakteriellen Symbionten erst bei höheren Temperaturen einsetzte. *Steinernema feltiae* (Nema Plus) zeigten bei 8 °C keine Wirkung, auch eine Parasitierung der Larven fand hier kaum statt. Geringe Wirkungsgrade von 20 bis 40 % wurden bei 12 °C und 16 °C festgestellt. Die schlechte Wirkung könnte mit der zu geringen Wirtspräferenz dieser Nematoden für *O. sulcatus* zusammenhängen.

Vor diesem Hintergrund ist erklärbar, warum eine im Handel angebotene Mischung von *S. feltiae* und *H. bacteriophora* (NEMA COOL) im Versuch bei 8 und 12 °C nahezu wirkungslos blieb und derzeit keine Alternative zur Anwendung von *S. kraussei* bei niedrigen Temperaturen darstellt.

166 - Götte, E.
Pflanzenschutzdienst Hamburg

Biologische Bekämpfung des Kalifornischen Blüenthrrips *Frankliniella occidentalis* in Schnittrosen im Gewächshaus – Erfahrungen aus der Praxis

Biological controlling of Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* in cut roses in greenhouses – practical experience

Der Kalifornische Blüenthrrips *Frankliniella occidentalis* ist in Schnittrosen mit chemischen Pflanzenschutzmitteln kaum noch zu bekämpfen. Daher werden in immer mehr Schnittrosenbeständen Nützlinge auch zur Bekämpfung des Kalifornischen Blüenthrrips erfolgreich eingesetzt. Eingesetzt werden die Raubmilben *Amblyseius cucumeris* in Form von bugline in einer Menge von 1000 Tieren /m². Dies muss in jedem Flor wiederholt werden.

167 - Zimmermann, O.¹⁾; Pérez, M.²⁾; De Cara, M.³⁾; Wührer, B.¹⁾

¹⁾ AMW Nützlinge GmbH; ²⁾ MIP System Agro SL., Spanien; ³⁾ Universidad de Almería, Spanien

Vergleich der Akzeptanz und der Wirksamkeit der Eiparasitoide *Trichogramma cacoeciae* und *T. achaeae* gegen die Tomatenminiermotte *Tuta absoluta*

Comparison of the acceptance and efficacy of the egg parasitoids *Trichogramma cacoeciae* and *T. achaeae* against the South American tomato moth *Tuta absoluta*

The South American tomato moth *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) is a major vegetable pest in Europe. As a leaf miner it is difficult to control. In tomatoes the established biological control strategies are in danger of being replaced again by the utilization of chemical insecticides. In South America, mainly *T. pretiosum* was the focus of research efforts to find a biological control method against *T. absoluta*. In Spain, *T. achaeae* is already used in practice in combination with predatory bugs.

However, the recommended repeated releases of high numbers of egg parasitoids are close to the economic limits. As part of a solution to control *T. absoluta* it is necessary (1) to reduce the pest pressure by any kind of control and (2) to optimize the utilization of egg parasitoids. In view of the second point we included the worldwide occurring *T. cacoeciae* in our investigations. It is thelytokous and produces only females whereas *T. achaeae* is arrhenotokous with an average sex ratio of 65 %. The use of *T. achaeae* has never before been compared with other egg parasitoids, although it is known that gelechiid Lepidoptera are suitable hosts for *Trichogramma* species. In the laboratory we demonstrated the acceptance of *T. absoluta* by *T. cacoeciae* and in cage experiments with semi-field character *T. cacoeciae* showed a sufficient parasitisation level of *T. absoluta* compared to *T. achaeae*. Further studies under field conditions will follow to develop a new and more economically feasible biological control strategy against *T. absoluta* in tomatoes with *Trichogramma* egg parasitoids.

168 - Ahmadi, K.
Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

Egg-laying preferences of the predatory flower bug *Orius niger* (Wolff) to different substrates of oviposition

The female's choice of oviposition site is important for the subsequent distribution of nymphs on prey's host plants. The physical and phytochemical structure of plants may play roles in oviposition preference by natural enemies. The preference oviposition of the predatory bug *Orius niger* (Wolff) (Het., Anthocoridae) on different plant species was determined by multiple-choice experiments in a Plexiglas cages (15 × 7.5 × 4.5 cm), with three mesh-covered holes in the lid to allow ventilation. During each experiment, leaf discs of different plant species (2.5 cm diameter) were placed in the round plastic Petri dishes (3.5 cm diameter). The round plastic Petri dishes were filled with 0.5 cm-thick-layer of 0.7 % agar gel. The round plastic Petri dishes containing different leaves of each group were randomly positioned in a Plexiglas cages during a trial at 25 ± 1 °C temperature, relative humidity of 60 ± 10 % and a photoperiod of 16 : 8 h (L : D) with an artificial light intensity of about 4000 lux in the laboratory.

The bean leaves with 11.3 eggs showed significantly the highest number of *O. niger* eggs among the crop plant species. However, among the three-greenhouse plant species used, cucumber with 19.3 eggs had significantly the highest counts of the predator eggs. Moreover, the adult females showed significantly higher preference for apple leaves than other orchard plant species as a substrate of oviposition with 19.7 eggs.

169 - Alt, S.; Jäckel, B.¹⁾; Balder, H.²⁾

¹⁾ Pflanzenschutzamt Berlin; ²⁾ Beuth-Hochschule Berlin

Fraßleistung von *Macrolophus pygmaeus* an verschiedenen Weiße-Fliegen-Arten unter Randbedingungen

Macrolophus pygmaeus feeding-rate of different whitefly species under suboptimal conditions

Weißer Fliegen zählen zu den wichtigen Schädlingen unter Glas. In den letzten Jahren machten zunehmend weitere Weiße Fliegen Arten an unterschiedlichen Kulturen Probleme, wie z. B. *Crenidorsum aroidephagus* an Araceen oder *Aleurotulus nephrolepidis* an Farnen sowie *Bemisia tabaci* an unterschiedlichen Gewächshauskulturen. Zur Optimierung biologischer Bekämpfungsmöglichkeiten ist es deshalb notwendig, die Biologie, Lebensweise und die Einsatzbedingungen der Gegenspieler wirtsbezogen zu kennen.

In aufwändigen Laboruntersuchungen wurde die Fraßleistung von *Macrolophus pygmaeus* an verschiedenen Weiße-Fliegen-Arten unter unterschiedlichen Temperatur- und Lichtbedingungen ermittelt. Zum einen wurden Tests unter Kurztagsbedingungen in den Temperaturbereichen 11 bis 13 °C und 18 bis 20 °C, zum anderen im Langtagsbereich bei 18 bis 20 °C und bei 20 bis 22 °C vorgenommen. In den Versuchen wurden Eier, Larvenstadien und Adulte der Weißen Fliegen berücksichtigt.

Im Ergebnis wurde *Trialeurodes vaporariorum* unabhängig von den Bedingungen sehr gut durch *M. pygmaeus* dezimiert, es konnten Wirkungsgrade zwischen 68,4 und 79,7 % erzielt werden. Im Gegensatz dazu hat *M. pygmaeus* *B. tabaci* unter Kurztagsbedingungen bei niedrigen Temperaturen kaum reduziert (Wirkungsgrad 8,5 %). Erst bei höheren Temperaturen und Langtagsbedingungen erreichte die Raubwanze einen Wirkungsgrad von maximal 46 %. Adulte beider Weiße-Fliegen-Arten wurden von *M. pygmaeus* nicht angenommen. Die Versuche zur Bekämpfung der weiteren Arten wie *C. aroidephagus* und *A. nephrolepidis* konnten nicht vollständig realisiert werden, da die Verfügbarkeit von Material aus der Zucht Schwierigkeiten aufzeigte. Dennoch deuten die Ergebnisse an, dass die Bekämpfung dieser Arten mit *M. pygmaeus* schwierig ist.

Damit ist *M. pygmaeus* bei niedrigen Temperaturen und Kurztag eine hervorragende Ergänzung zu anderen Gegenspielern wie z. B. *Encarsia formosa* bei der Bekämpfung von *T. vaporariorum* in Gewächshäusern. Dem entgegen kann diese Erwartung bei der Reduzierung von *B. tabaci* nicht erfüllt werden.

170 - Lobach, M.; Katz, P.; Sermann, H.; Büttner, C.

Humboldt-Universität zu Berlin

Einfluss verschiedener Pollenarten auf die Entwicklung der Raubmilbe *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot

Die Raubmilbe *Amblyseius swirskii* wird zur biologischen Bekämpfung von verschiedenen Thrips-Arten (*Thrips spec.*, *Frankliniella spec.*, *Hercinothrips spec.*, *Parthenothrips spec.*) und *Trialeurodes vaporariorum* sowie *Bemisia tabaci*, - *argentifoliae* eingesetzt. Um den wachsenden Bedarf an diesem Nützling befriedigen zu können, werden erfolgreiche Züchtungsmethoden benötigt.

Ziel der Untersuchungen war es, herauszufinden, welcher Pollen sich besonders gut zur Fütterung der *A. swirskii* eignet, um eine kontinuierliche Massenvermehrung zu ermöglichen. Faktoren wie die Entwicklungsdauer, Reproduktionsrate und Lebensdauer der Adulten haben Einfluss auf die Auswahl einer bestimmten Fütterungsart. Die Versuche wurden im Zuchttraum unter Praxisbedingungen durchgeführt.

Sechs Varianten mit je vier Wiederholungen wurden mit 50 Eiern pro Zuchtplatte angesetzt. Vier Varianten bestanden aus je einer Pollenart (Apfel, Roggen, Mais und Raps), eine Variante aus einer Roggen- und Rapspollenmischung und eine aus Rapspollen und der Zufütterung aus *Tetranychus urticae*. Bonitiert wurde die Anzahl der Larven, Nymphen, adulten Männchen und Weibchen und der neu abgelegten Eier.

Die Milben in den Varianten Raps/*T. urticae* entwickelten sich mit 4,25 Tagen und Roggen/Raps mit fünf Tagen signifikant schneller als die Tiere in den Varianten Apfel, Roggen, Mais und Raps.

In der Reproduktionsleistung wurden zahlreiche signifikante Unterschiede nachgewiesen. Die Weibchen, die mit Apfelpollen gefüttert wurden, legten 0,77 Eier pro Tag ab. Insgesamt hat jedes Weibchen über den Versuchszeitraum von 29 Tagen 14,93 Eier abgelegt. Dies war die niedrigste Reproduktionsleistung. Das beste Ergebnis ergab sich in der Variante Mais. Die Eiablage pro Tag und Weibchen lag hier bei 1,28 und die Gesamteiablage bei 27,95 Eiern. Die Milben der Varianten Raps/ *T. urticae* und Raps legten weniger als ein Ei/Weibchen/Tag, während die Weibchen der Varianten Roggen und Roggen/Raps mehr als ein Ei/Weibchen/Tag

legten. Bei allen Fütterungsmöglichkeiten lebten nach 29 Versuchstagen über 50 % der adulten Tiere, bei der Variante Mais waren es 90 %.

Somit war mit dem am Besten bewerteten Maispollen eine vollständige Entwicklung und Reproduktion der *A. swirskii* möglich und kann in der Praxis eingesetzt werden.

171 - Scharf, M.
Pflanzenschutzdienst Hamburg

Einflussfaktoren auf die Entwicklung der biologischen Schädlingsbekämpfung im Unterglasgemüsebau im Hamburger Anbaubereich Vier- und Marschlande

Parameters of the development of biological pest control in vegetables in greenhouses in the growing region Vier- und Marschlande near Hamburg

Durch intensive Beratung konnte der biologische Pflanzenschutz in den Gemüsebaubetrieben der Vier- und Marschlande rasch verbreitet werden, jedoch nicht alle wenden diese Verfahren an. Einfluss auf die Bereitschaft, Schädlinge mit Nützlingen zu bekämpfen, haben u. a. die Beratungsintensität, die Verfügbarkeit gut wirkender Insektizide, die Aufgeschlossenheit der Betriebsleiter und die Forderungen der Qualitätssicherungssysteme der Vermarktungsorganisationen.

Pflanzenschutz im ökologischen Landbau

172 - Hinze, M.¹⁾; Haug, P.²⁾; Schmitt, A.³⁾; Bald, K.³⁾; Von Eitzen-Ritter, M.³⁾; Kunz, S.

¹⁾ Universität Konstanz; ²⁾ Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e. V.; ³⁾ Julius Kühn-Institut

Strategien zur Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau

Strategies for fire blight control in organic fruit growing

Der Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* kann an Apfel und Birne große wirtschaftliche Schäden verursachen. Deshalb benötigen die ökologisch wirtschaftenden Kernobstproduzenten eine wirksame Bekämpfungsstrategie. Viele potenzielle Präparate wurden zur Feuerbrandbekämpfung angeboten, für die aber oft keine ausreichenden Daten zur Wirksamkeit vorlagen.

Seit 2004 werden ökotaugliche Präparate systematisch auf ihre Wirkung gegen den Feuerbranderreger geprüft. Von 44 Präparaten reduzierten 13 die Symptombildung an abgeschnittenen Blüten im Labor um mehr als 60 %.

An jeweils zwei Standorten wurden seit 2004 Freilandversuche mit künstlicher Inokulation von Einzelbäumen durchgeführt. Aus den Ergebnissen dieser Wirksamkeitsprüfungen wurden Bekämpfungsstrategien entwickelt, die wiederum in den Freilandversuchen nach EPPO-Richtlinie PP1/166 (3) überprüft wurden. In den bis 2008 durchgeführten neun Freilandversuchen bestätigten sich die im Labor an Blüten gefundenen Ergebnisse (1).

Von den Präparaten, die auch für die Obstbaupraxis verfügbar sind, war BLOSSOMPROTECT das wirksamste Präparat (durchschnittlicher Wirkungsgrad 78 %), gefolgt von MYCOSIN (65 %). BLOSSOMPROTECT wurde in diesen Versuchen meist viermal während der Blüte eingesetzt. Aufgrund des Risikos einer Mehrberostung und der gleichzeitig durchzuführenden Schorfbekämpfung sollte die Anzahl der Behandlungen mit BLOSSOMPROTECT jedoch reduziert werden, ohne das Befallsrisiko zu erhöhen. Deshalb werden weiterhin neue Präparate und Strategien in Freilandversuchen geprüft.

In 2009 wurden im Freilandversuch in Darmstadt im Vergleich zu BLOSSOMPROTECT der Resistenzinduktor TEMAUXIN A, eine Strategie aus TEMAUXIN A und BLOSSOMPROTECT und eine Strategie aus abwechselndem Einsatz von BLOSSOMPROTECT und einer Mischung aus MYCOSIN und NETZSCHWEFEL STULLN getestet. An den sekundär infizierten, unbehandelten Bäumen zeigten 20,5 % der Blütenbüschel Feuerbrandsymptome. Durch vier Behandlungen mit BLOSSOMPROTECT wurde der Befall signifikant um 81 % reduziert und mit zwei Behandlungen (Vorblüte und Blühbeginn) mit TEMAUXIN A um 38 %. Ergänzten man die TEMAUXIN A Behandlungen mit drei BLOSSOMPROTECT Behandlungen war der Befall signifikant um 78 % reduziert. Auch der abwechselnde Einsatz von BLOSSOMPROTECT (2x) und der Mischung aus MYCOSIN und NETZSCHWEFEL STULLN (2x) reduzierten den Befall signifikant um 78 %.